

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro vétérinaires et biologiques

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En Vue de l'obtention Du Diplôme De Master 2 En Biologie

Option : Biologie Cellulaire et Moléculaire / Immunologie

THEME

**DIFFERENTS MOYENS DE DIAGNOSTIC ANATOMOPATHOLOGIQUES
DES CANCERS**

Par

Wafa NAIMI

Devant le jury composé de :

Président de jury :.....Mr OUMOUNA

Promotrice :.....Pr LAMOUTI

Co-promotrice :.....Mme MAZARI Maitre assistante A

Examinatrice :.....Mme Ayadi Maitre assistante A

Examineur :.....Mr khaled Maitre assistant A

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions le bon Dieu qui nous a donné le courage, la volonté et la santé à fin d'accomplir notre travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice Mme LAMOUDI qui a bien voulu nous consacrer tout son temps pour nous transmettre son savoir avec une bonne volonté.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre co-promotrice Mme MATAOUI.H pour son aide et de nous avoir supporté pendant tout notre travail.

Nous remercions également Mr OUMOUNA d'avoir fait l'honneur de présider le jury examinant ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

.Avant tout, mes parents pour leur amour, leur compréhension et l'aide précieuse (tant morale que matérielle) qu'ils m'ont toujours apportée.

.Mes grands parents pour tout ce qu'ils ont fait pour m'encourager.

.Mes frères adorés Nadir et Mounir.

.Ma très chère sœur Amina.

.Mes oncles et mes tantes pour le soutien qu'ils m'ont apporté.

.Mes cousines grandes et petites.

.Toutes les familles NAIMI et ELHAOUARI.

.Toutes ceux et celles que j'aime de près ou de loin.

Wafa

TABLE DES MATIERES

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

1

CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Biologie du cancer

2

I.1.1.Définition

2

I.1.2.Facteurs de risque

2

I.1.3.Anomalies des gènes intervenant dans la transformation maligne

3

I.1.4.Caracteristiques de la cellule cancéreuse

6

I.1.5.caracteristiques du tissu tumoral

8

I.1.6.déroulement de la maladie cancéreuse

8

I.1.7.Classification des cancers

10

I.2.Moyens anatomopathologiques de diagnostic des cancers 14

I.2.1.Examen cytophatologique

14

I.2.2.Examen histopathologique

15

I.2.3.Examen immunohistochimique

15

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

17

II.1.1.Matériel biologique

17

II.1.2.Matériel non biologique, réactifs et colorants

17

II.2. Méthodes

17

II.2.1.Méthode cytopathologique	17
II.2.2. Méthde histopathologique	18
II.2.3. Méthode immunohistochimique	22

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats	27
III.1.Examen cytopathologique	28
III.2.Examen histopathologique	34
III.3. Examen immunohistochimique	40
Discussion	44

CONCLUSION 48

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE 1

ANNEXE 2

GLOSSAIRE

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Caractéristiques morphologiques des cellules cancéreuses	7
Tableau II	Carcinomes (types, sièges, âge, sites métastatiques)	12
Tableau III	Sarcomes (Types, sièges, âge, sites métastatiques)	13
Tableau IV	Différents anticorps primaires utilisés pour l'immunohistochimie	25
Tableau V	Répartition des patients selon la malignité	Annexe 2
Tableau VI	Répartition des patients selon le sexe	Annexe 2
Tableau VII	Répartition des patients selon la tranche d'âge	Annexe 2
Tableau VIII	Répartition des patients selon le type et le siège du cancer	Annexe 2
Tableau IX	Répartition des patients selon la malignité	Annexe 2
Tableau X	Répartition des patients ayant une tumeur maligne selon le sexe	Annexe 2
Tableau XI	Répartition des patients selon la tranche d'âge	Annexe 2
Tableau XII	Répartition des patients selon le type et le siège du cancer	37
Tableau XIII	Répartition des cas positifs et des cas négatifs à l'IHC ainsi que le type de cancer identifié	41

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1	Mécanismes d'action des oncogènes	5
Figure 2	Différents stades de la maladie cancéreuse (cancer du colon)	9
Figure 3	Dissectio d'une piece d'oesogastrectomie	15
Figure 4	Disposition des prélèvements dans des cassettes	19
Figure 5	Confection des blocs	20
Figure 6	Réalisation des coupes	21
Figure 7	Méthode indirecte (peroxydase- anti peroxydase)	22
Figure 8	Interprétation des résultats du marquage à l'IHC	26
Figure 9	Répartition des patients en pourcentage selon la malignité	28
Figure 10	Répartition des patients en pourcentage selon le sexe	29
Figure 11	Répartition des patients en pourcentage selon la tranche d'âge	30
Figure 12	Répartition des patients en pourcentage selon le type et le siège du cancer	31
Figure 13	Adénocarcinome du sein	32
Figure 14	Carcinome urothelial	33
Figure 15	Répartition des patients en pourcentage selon la malignité	34
Figure 16	Répartition des patients en pourcentage selon le sexe	35
Figure 17	Répartition des patients en pourcentage selon la tranche d'âge	36
Figure 18	Adénocarcinome de l'estomac	38
Figure 19	Carcinome spinocellulaire	38
Figure 20	Leiomyosarcome	39
Figure 21	Adénocarcinome mammaire marqué avec l'anti ER	43
Figure 22	Adenocarcinome mammaire marqué avec l'anti HER2	43

LISTE DES ABREVIATIONS

ADK	: Adenocarcinome.
CHU	: Centre Hospitalo Univeritaire.
CK	: Cytokeratine.
DAB	: 3,3-Diaminobenzidine.
EMA	: Epithelial Membrane Antigen.
ER	: Estrogen Receptor.
HE	: Hematoxyline Eosine.
HER2	: Herceptin Receptor 2.
IHC	: Immunohistochimie.
PAP	: Peroxydase anti peroxydase.
PR	: Progesterone Receptor.
TBS	: Tri Bufferd Saline.
TTF1	: Thyroid Transcription Factor 1.

RESUME

Différents moyens de diagnostic anatomopathologique des cancers

En premier, un examen cytopathologique a été réalisé pour orienter le diagnostic de 720 prélèvements dont 20 cas étaient malins et 70 cas étaient suspects malins. Par la suite, un examen histopathologique a été effectué sur des biopsies ou des pièces opératoires provenant de ces 70 patients suspects d'avoir une tumeur maligne, dont on a pu identifier 65 cas de cancer. Pour les deux examens une dominance du cancer du sein est apparue. Ultérieurement, un marquage immunohistochimique sur 24 cas parmi les 65 a été nécessaire pour faire : i) La mise en évidence de molécules (récepteurs des œstrogènes, récepteurs des progestérones, récepteurs de l'Herceptin 2) ayant une valeur pronostic ou thérapeutique dans le cancer du sein, ii) La classification des lymphomes dont le lymphome malin à cellules B a été le plus fréquent au niveau du ganglion, iii) La catégorisation des tumeurs malignes indifférenciées (épithéliales ou mésenchymateuses), iiiii) La détermination de l'origine des tumeurs métastatiques (au niveau de la plèvre). Ainsi, pour certains types de cancer, les deux examens (cytopathologique et l'histopathologique) sont suffisants pour poser le diagnostic comme le cancer épidermoïde, le carcinome papillaire, carcinome spinocellulaire, le carcinome urothélial, la leucémie lymphoïde chronique et le leiomyosarcome. Pour d'autres cancers, l'immunohistochimie est indispensable pour la mise en évidence de molécules exprimées par les cellules tumorales comme pour le cancer du sein, le lymphome, le carcinome indifférencié, les métastases et certains adénocarcinomes.

Mots clés : Cancer, examen cytopathologique, examen histopathologique, examen immunohistochimique, prélèvement.

Abstract

Different means of anatomopathological diagnosis of cancers

Firstly, a cytopathological exam has been realized to put the diagnosis of 720 samples in which 20 have been malignant and 70 has been suspected to be malignant. Later, a histopathological exam has been carrying out on biopsies or on operating pieces which are came from the 70 malignant suspected patients in which we could identify 65 cases of cancer. For the two exams, we saw a dominance of the breast cancer. Subsequently, an immunohistochemical exam of 24 cases among 65 has been necessary for: i) Highlight molecules (Estrogen receptors, Progesterone receptors, Herceptin receptors 2) which have a prognosis or therapeutic value in the breast cancer, ii) Classification of lymphoma in which malignant lymphoma of B cells was the most frequently in the swollen glands, iii) Categorization of undifferentiated malignant tumors (epithelial or mesenchymatose), iv) Determination of the origin of metastatic tumors (in the plever). As well as ,for some of cancers, the two exams (cytopathological and histopathological) are enough to the diagnosis such as the epidermoid cancer, the papillary carcinoma, the spinocellular carcinoma, the urothelial carcinoma, the chronically lymphoid leukemia and the leiomyosarcoma). For others cancers, the IHC is indispensable to highlight molecules which are expressed by tumoral cells like for the breast cancer, the lymphoma, the undifferentiated carcinoma, the metastases and some adenocarcinoma.

Key words: cancer, cytopathological exam, histopathological exam, immunohistochemical exam, samples.

مختلف طرق التشخيص الانتوموبتولوجي للسرطانات

أولاً، قمنا بفحص سيتوبتولوجي لتوجيه التشخيص على 720 عينة، من بينها تحصلنا على 20 حالة خبيثة و70 حالة مشكوك أنها خبيثة، وفي التالي، قمنا بفحص هيستوبتولوجي على 70 حالة الأخيرة التي تحصلنا منها على 65 حالة سرطان. من خلال نتائج الفحصين وجدنا سيادة سرطان الثدي. فيما بعد، التعليم الامنوهيستوكيميائي على 24 حالة من بين 65 كان ضرورياً (أ) لإظهار جزيئات (مستقبلات الأستروجينات، مستقبلات البروجيستيرون، مستقبلات الهرسيتين 2) لها قيمة تشخيصية أو : علاجية لسرطان الثدي، (ب) لتصنيف السرطانات اللمفاوية التي وجدنا أن السرطان اللمفاوي ذو الخلايا البائية الأكثر تواجداً، (ج) لتصنيف الأورام الخبيثة الغير متميزة (خاصة بالغشاء المخاطي أو النسيج المتوسط)، (د) لتحديد مصدر الأورام المتنقلة (إلى غشاء الرئة المصلي). فلهذا، عند بعض أنواع السرطانات، الفحص السيتوبتولوجي و الفحص الهيستوبتولوجي معا، يكون كافياً لوضع التشخيص (السرطان الأدمي، السرطان الغددي الحليمي، السرطان السبينوخلوي، سرطان المثانة، اللوكيميا اللمفاوية المزمنة، سرطان العضلات الملساء)، و في أصناف أخرى من السرطان، الإمينوهستوكيمياء تكون ضرورية لإظهار جزيئات موجودة في الخلايا السرطانية مثلما في سرطان الثدي، السرطان الغير متميز، الأورام المتنقلة، بعض السرطانات الغددية

الكلمات الجوهرية: سرطان , فحص سيتوبتولوجي, فحص هيستوبتولوجي, فحص امينوهيستولوجي , عينة

INTRODUCTION

En Algérie, l'incidence de cancer est de 100 cas pour 100 000 habitants (Djedi., 2004). Les différentes formes de cette maladie représentent la première cause de mortalité devant depuis quelques années les maladies cardiovasculaires. Chez l'homme, les décès par cancers sont dus d'abord aux cancers du poumon (23%), aux voies aérodigestives supérieures (12%), à la prostate (11%), aux cancers colorectaux (10%). Chez la femme, la première cause de décès par cancer provient des cancers du sein (19%), des cancers colorectaux (13%), du poumon (6%), de l'ovaire (6%), de l'utérus (5%) (Ferlay et *al.*, 2001). La maladie cancéreuse frappe d'une manière sensiblement égale l'homme et la femme et augmente avec l'âge mais d'une façon nettement plus marquée au delà de 40 ans (Djedi., 2004).

Dans le monde, le cancer progresse à raison de plus de dix millions de nouveaux cas et six millions de mort par an. Selon l'organisation Mondiale de la Santé (OMS), qui prévoit un accroissement des cas de cancers dans la plupart des pays en raison du vieillissement des populations, ces chiffres devraient doubler d'ici l'an 2020 (Van beek., 2001).

Chaque jour, la cancérologie utilise des techniques d'investigation plus complexes, plus sophistiquées et plus spécialisées tels : l'examen cytopathologique, l'examen histopathologique, l'immunohistochimie, l'hybridation *in situ*, la cytogénétique et autres qui sont d'autant plus importantes que la prévention, le dépistage précoce, le traitement et la surveillance du patient après traitement et qui ont une influence déterminante sur la mortalité cancéreuse (Cortan., 2000).

Le présent travail a été établi dans le cadre d'une étude anatomopathologique dans l'intérêt d'étudier les méthodes de diagnostic utilisées au niveau du CHU de BLIDA. Nous avons réalisé, comme première technique de diagnostic, l'examen cytopathologique, qui permet d'identifier les anomalies cytonucléaires, la deuxième technique utilisée est l'examen histopathologique, qui permet d'identifier les anomalies tissulaires et cellulaires et permettre la classification des différents cancers. Finalement, nous avons établi un examen immunohistochimique pour préciser la nature et l'origine des cellules tumorales.

Le stage s'est déroulé au niveau du laboratoire d'anatomopathologique du CHU de Blida pendant 4 mois (du mois de mars au mois de juin 2010).

Tout d'abord on a réalisé un examen cytopathologique sur 720 cas, par la suite nous avons établi un examen histopathologique sur 70 cas qui ont été suspects malins par l'examen cytopathologique et parmi ces 70 cas 24 d'entre eux ont subi un examen immunohistochimique.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique qui nous a fallu pour la réalisation de notre travail était constitué :

D'éléments cellulaires pour la méthode cytopathologique provenant de 720 patients suivant dans le service d'anatomie pathologique de CHU de Blida, ces éléments provenant : de la surface des lésions tumorales par desquamation spontanée ou par grattage ; de tumeurs solides par ponction à l'aiguille fine ; de l'urine, de crachats ; du sang.

De biopsies ou de pièces opératoires pour la méthode histopathologique provenant de 70 patients opérés au niveau du service CAC (Centre Anti Cancer) de Blida dans l'année 2010 dont l'examen cytopathologique a suspecté l'existence de tumeurs malignes.

Pour la méthode immunohistochimique de coupes préparées par la méthode histopathologique de 24 patients dont le diagnostic n'était pas complet.

II.1.2. Matériel non biologique, réactifs et colorants (Annexe 1)

II.2 Méthodes

II.2.1 Méthode cytopathologique

- Principe (Yaker., 1984)

Les éléments cellulaires une fois obtenus, sont étalés sur des lames porte-objet séchés à l'air ou fixés dans un mélange d'alcool-éther, à parties égales et en fin colorés par la solution de Giemsa .

- Mode opératoire

Pour la coloration les étapes à suivre sont les suivantes :

1/ Les lames sont plongées pendant 1 heure dans la solution suivante :

- Eau distillée : 98 ml

- Solution de Giemsa : 2 ml

2/Les lames sont retirées de cette solution et mises dans 100 ml d'eau distillée additionnées de 3 à 4 gouttes d'acide acétique glacial non dilué, agiter doucement les lames pendant quelques secondes ,les différencier légèrement (2 à 3 secondes),puis immédiatement les faire passer dans,

3/L'alcool éthylique à 96% où la différenciation continue jusqu'à obtention de la teinte désirée, vérifier au microscope.

4/Les lames sont passées ensuite dans :

- 3 bains d'isopropanol pendant 2 mn chacun, pour bloquer la différenciation et les déshydrater ;

- 3 bains successifs de xylène pendant 2 mn chacun ;

5/ Montage des lames avec l'Eukkit.

- Résultats de la coloration

ARN et ADN en bleu (basophile) ; cytoplasme : basophile en bleu ou acidophile en rouge.

II.2.2. Methode histopathologique

-Principe (Belarbi et al., 2006)

La technique histopathologique utilisée pour l'étude morphologique de routine des tissus comporte plusieurs étapes qui passent par la fixation, la circulation , l'imprégnation dans la paraffine ,la confection des coupes ,la coloration et le montage, qui doivent faire l'objet d'une attention particulière pour permettre la confection de préparations histologiques susceptibles de bénéficier d'un diagnostic histopathologique satisfaisant.

-Mode opératoire

Les prélèvements tissulaires doivent être de petite taille. Ils sont déposés dans des cassettes en plastique numérotées (numéro de pièce en chiffre arabe, et la nature de prélèvement en chiffre romain (Fig.4).



Figure 4 : Disposition des prélèvements dans des Cassettes

Les différentes étapes de cette technique sont :

1- Fixation

Elle consiste à figer les structures tissulaires dans un état aussi près que possible de l'état vivant par la coagulation des gels protéiques constituant les cellules et les structures extracellulaires.

La fixation est réalisée par l'immersion du prélèvement biopsique ou de la pièce opératoire dans un liquide fixateur (formol à 10% pour la technique de routine) dont le volume doit être égal à 10 fois au moins celui de la pièce intéressée. Cette fixation doit être aussi précoce et rapide que possible.

2-Inclusion

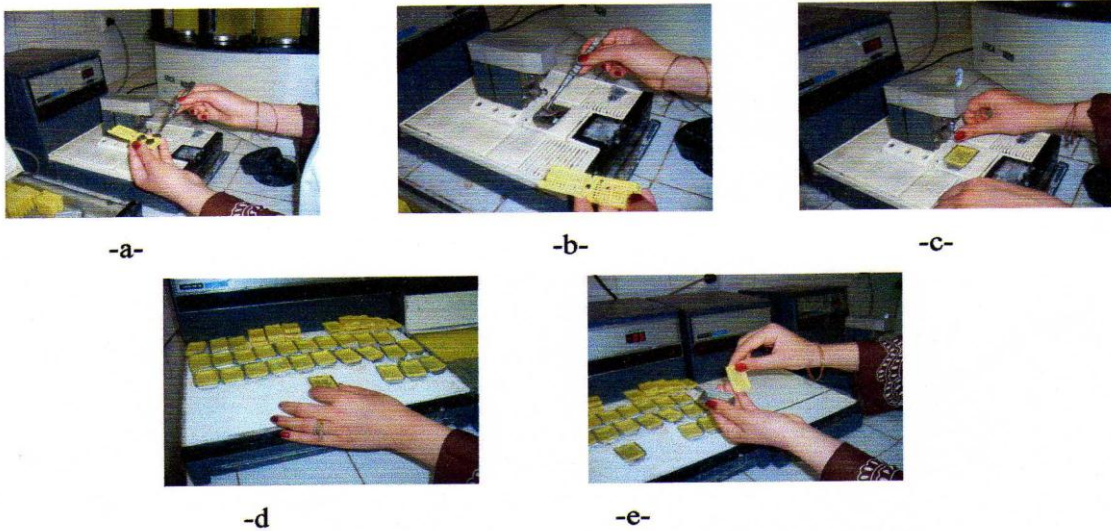
La nécessité de changer de liquide a donné lieu à l'élaboration d'une opération appelée circulation, qui s'effectue en trois étapes :

- Déshydratation : où l'eau est retirée, du tissu. Elle est réalisée par un passage des fragments tissulaires dans six bains d'alcool éthylique de concentration croissante (75°, 80°, 85°, 90°, 95°, 100°). Chaque bain dure une heure, le cinquième et le sixième bain durent deux heures chacun.
- L'éclaircissement : après un passage dans trois bains de xylène de cinq heures (deux bains de 1h30 chacun et le dernier de 02 heures).
- Imprégnation : où le tissu est pénétré par la paraffine. L'imprégnation est effectuée à chaud dans deux cuves en acier inoxydable et chauffées (60°) contenant de la paraffine liquéfiées. Chaque bain dure une heure de temps.

- Enrobage: pour permettre la confection de coupes minces à partir du prélèvement biopsique ou de pièce opératoire, il est nécessaire d'imbiber et d'enrober les tissus dans des substances de consistance ferme, susceptibles d'être débitées en tranches minces, puis d'être éliminées secondairement ; la paraffine est la substance la plus largement utilisée à cet effet.

La phase d'enrobage qui dure 24h environ se déroule comme suit :

Les prélèvements ayant séjourné dans la paraffine liquide à 56-57°C sont placés dans des moules. On procède alors au remplissage de ces moules par de la paraffine liquide dont le refroidissement rapide permet la réalisation de blocs solides (Fig.5) prêts à être débités en coupes minces.



Dépôt et orientation du tissu dans le moule (a et b)

Inclusion (c)

Disposition du moule sur la plaque froide (d)

Démoulage (e)

Figure 5: Confection des blocs

3- Confection des coupes

Cette opération consiste à réaliser des tranches fines de 3 à 5 microns d'épaisseur, elle se fait à l'aide d'un microtome, sous forme de rubans puis étalés à la surface d'un bain marie régulé à 50°C, ensuite recueillis sur des lames gélatinées préalablement gravées avec un diamant par le numéro correspondant (Fig.6). Les lames sont mises dans l'étuve à 75°C dont le but d'éliminer la paraffine du prélèvement et d'augmenter l'adhérence des coupes.

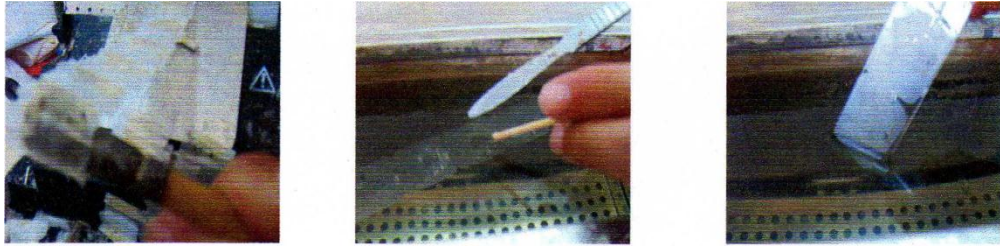


Figure 6 : Realisation des coupes

4-Coloration des préparations histologiques

Les tranches fines ainsi obtenues sont collées sur des lames porte-objet puis colorées après déparaffinage, par des colorants aux teintes variées qui présentent des affinités particulières pour les structures tissulaires et cellulaires. Ces matières colorantes confèrent, d'une manière stable et constante, les mêmes teintes aux mêmes structures.

La coloration la plus couramment utilisée est celle effectuée grâce à l'hémalum et l'éosine (HE).

Les étapes de la coloration HE sont les suivantes : (Belarbi *et al.*, 2006)

- Déparaffiner et hydrater les coupes dans l'eau courante : faire passer les coupes dans deux bains de xylène, pendant 3 à 5 minutes chaque fois puis réhydrater avec de l'alcool à des concentrations décroissantes ;
- Rincer à l'eau distillée ;
- Colorer avec l'hémalum pendant 15 minutes ;
- Laver les coupes à l'eau de robinet ;
- Différencier les coupes dans l'alcool acide 1 à 2 plongées,
- Laver à l'eau de robinet 2 à 3 minutes ;
- Bleuir dans l'eau ammoniacale,
- Laver à l'eau de robinet pendant 15 minutes,
- Colorer dans la solution d'éosine 15 secondes à 2 minutes,
- Déshydrater sur lame, éclaircir et monter à l'Eukkit.

-Résultats pour l'HE

Les noyaux sont colorés en bleu violet.

Le cytoplasme est coloré en rose.

Les fibres conjonctives en rose tirant vers l'orange.

Les globules rouges en rouge clair à jaune.

5-Montage

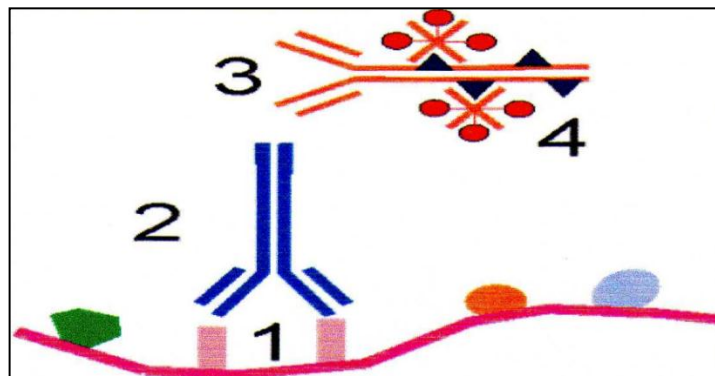
Une fois la coloration réalisée, le montage de la préparation est effectué en recouvrant le tissu intéressé d'un liquide adéquat (l'Eukitt) permettant de fixer une lamelle couvre-objet qui facilitera l'examen et la conservation prolongée de la coupe histologique.

II.2.3 Méthode immunohistochimique

-Principe (Tidadini et al., 2006)

L'examen immunohistochimique (IHC) consiste à révéler sur coupe histologique, par réaction antigène- anticorps, la présence de récepteurs antigéniques cellulaires intranucléaires par une méthode indirecte PAP. Après étalement, déparaffinage, démasquage des coupes, l'anticorps primaire est déposé directement sur le tissu et reconnaît s'il existe le récepteur antigénique recherché.

Un deuxième anticorps susceptible de se fixer à l'anticorps primaire est complexé à un système Avidine - biotine - peroxydase permettant la révélation, est appliqué (Fig.6).



1- Antigène

3- Anticorps secondaire

2- Anticorps primaire

4- complexe Avidine-biotine- peroxydase.

Figure 6 : Méthode indirecte (peroxydase- anti peroxydase)

(Tidadini et al., 2006)

La Diaminobenzidine (DAB) révèle la réaction en brun foncé qui est visualisée sous microscope.

Une contre coloration douce avec l'hématoxyline recoloré le tissu en bleu et rend possible une détermination topographique du marquage.

Il est indispensable de s'assurer par des témoins positif et négatif (interne ou externe) de la fiabilité des réactions.

-Mode opératoire :1- Déparaffinage et réhydratation :

- xylène 2X5 min
- Alcool (100%) 5 min
- Alcool (90%) 5 min
- Alcool (70%) 5 min
- Eau distillée 5min

2- Démasquage antigénique par la chaleur au bain marie

-Transférer les lames dans le bac de solution de démasquage préchauffé (40 min). Il est essentiel de transférer le portoir dans le bac de solution de démasquage chaud et non pas les lames une par une pour éviter qu'elles ne sèchent au contact de la vapeur d'eau.

- Sortir le bac du bain mari et laisser refroidir sur la paillasse (20 min).

-Transférer le portoir dans un bac d'eau distillée

Les lames sont encore chaudes, il est essentiel de transférer le portoir dans le bac d'eau et pas les lames une a une pour éviter qu'elles sèchent.

- Deuxième lavage en eau distillée (5 min).

- Lavage en TBS (Tri Bufferd Saline) (5 min).

3- Immunomarquage

- Préparation d'une chambre humide (plateau + une compresse humide).

-Cerclage des fragments avec un gel hydrophobe (Dakopen).

- Blocage des peroxydases endogènes en utilisant de l'eau oxygène (H₂O₂) à 3% (10 min).

- Rinçage a l'eau distillée, puis plonger les lames dans un bain de TBS (Tri Bufferd Saline) (5 min).

- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.

- Application suffisante des gouttes de l'anticorps primaire (30 min) (Tableau IV).

-Rinçage en eau ammoniacale.

-Rinçage à l'eau courante, puis dans trois bains d'alcool (70%,90%,100%) et dans un bain de xylène (5 min). - Rinçage dans deux bains de tampon TBS (5 min).

-Tapotage pour éliminer le tampon en excès.

-Incubation avec l'anticorps secondaire biotinyle (10 min).

- Rinçage dans deux -bains de tampon TBS (5 min).
- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.
- Système d'amplification à la streptavidine (5 min).
- Rinçage dans un bain de tampon de TBS (5 min).
- Tapotage pour éliminer le tampon en excès.
- Révélation utilisant le chromogène de la peroxydase qui est le DAB (3,3-Diaminobenzidine) (10 min).
- Rinçage en eau distillée
- Contre coloration à l'hématoxyline: incuber les lames dans une solution d'hématoxyline (5 min).
- Rinçage en eau distillée.

4-Montage et observation

L'ajout d'une petite goutte de milieu de montage alcoolique (EUKITT) sur la lamelle permet un montage parfait et rapide sur la lame.

Tableau IV : Différents anticorps primaires utilisés pour l'immunohistochimie

Siege du prélèvement	Anticorps primaire utilisé	Intérêt de l'utilisation
Sein	Anti ER Anti PR Anti HER2	Identification des adénocarcinomes du sein et de l'ovaire
Ganglion	Anti CD20 Anti CD30 Anti CD3	.Identification des lymphomes malins à cellules B .Identification des lymphomes malins hodgkinien .Identification des lymphomes à cellules T
Cavum	Anti CK Anti Ki67 Anti CD20 Anti CD5	.Identification des carcinomes indifférenciés .Identification du degré de prolifération .Identification des lymphomes malins non hodgkinien .Identification des leucémies lymphoblastiques et des lymphomes
Plèvre	Anti CK7 Anti CK20 Anti TTF1 Anti calretinine	.Identification de métastases des adénocarcinomes de la vésicule biliaire, ovaire, thyroïde .Identification de métastases des adénocarcinomes du tube digestif .Identification de métastases des adénocarcinomes de la thyroïde et du poumon .Identification de métastases des adénocarcinomes du poumon
Estomac	Anti CD45 Anti CD3	.Identification des lymphomes .Identification des lymphomes

Interprétation des résultats du marquage à l'IHC

Les résultats de l'examen immunohistochimique sont selon l'intensité du marquage soit négatifs soit positifs comme le montre la figure 8.

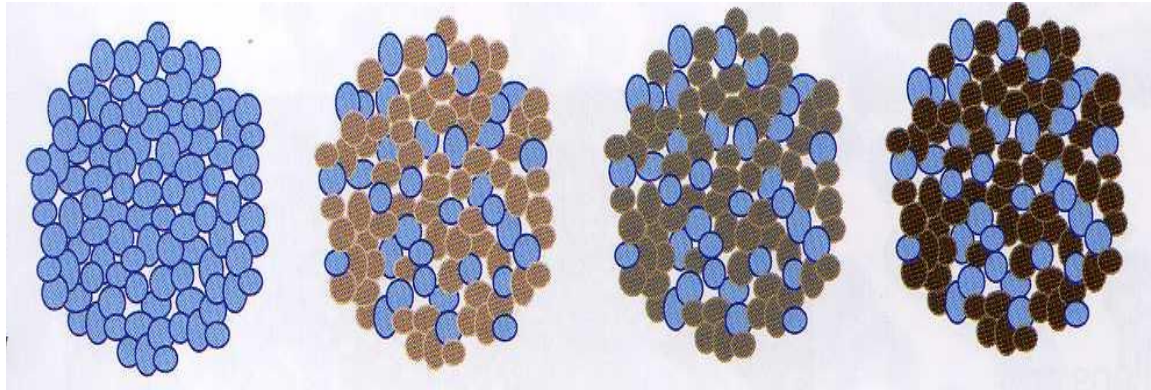
**Négatif****Négatif****Positif****Positif**

Figure 8 : Interprétation des résultats du marquage à l'IHC

(Guinebretière et al.,2009)

Bleu: cellules normales, marron claire: marquage faible, marron foncé: marquage intermédiaire, marron noir: marquage intense.

Nos résultats ont été présentés en trois parties selon les trois examens utilisés dans le diagnostic du cancer: examen cytopathologique, examen histopathologique et examen immunohistochimique.

Pour l'examen cytopathologique et histopathologique, nous avons repartis nos résultats en premier lieu selon la malignité. On s'est intéressé après uniquement pour les cas malins qui ont été étudiés selon : le sexe, la tranche d'âge, le type et le siège du cancer. Pour ces deux examens nous avons illustré quelques types de cancers par des photos obtenues après observations au microscope photonique.

Pour l'examen immunohistochimique nous avons repartis nos cas selon la positivité ou la négativité du marquage et selon le type de cancer identifié. Le marquage immunohistochimique est illustré par quelques photos obtenues au microscope photonique.

III.1 Examen cytopathologique

1/ Répartition des prélèvements selon la malignité

Les résultats de cet examen réalisé sur 720 cas nous ont permis de déterminer la malignité des prélèvements qui ont été représentés en pourcentage dans la figure 9.

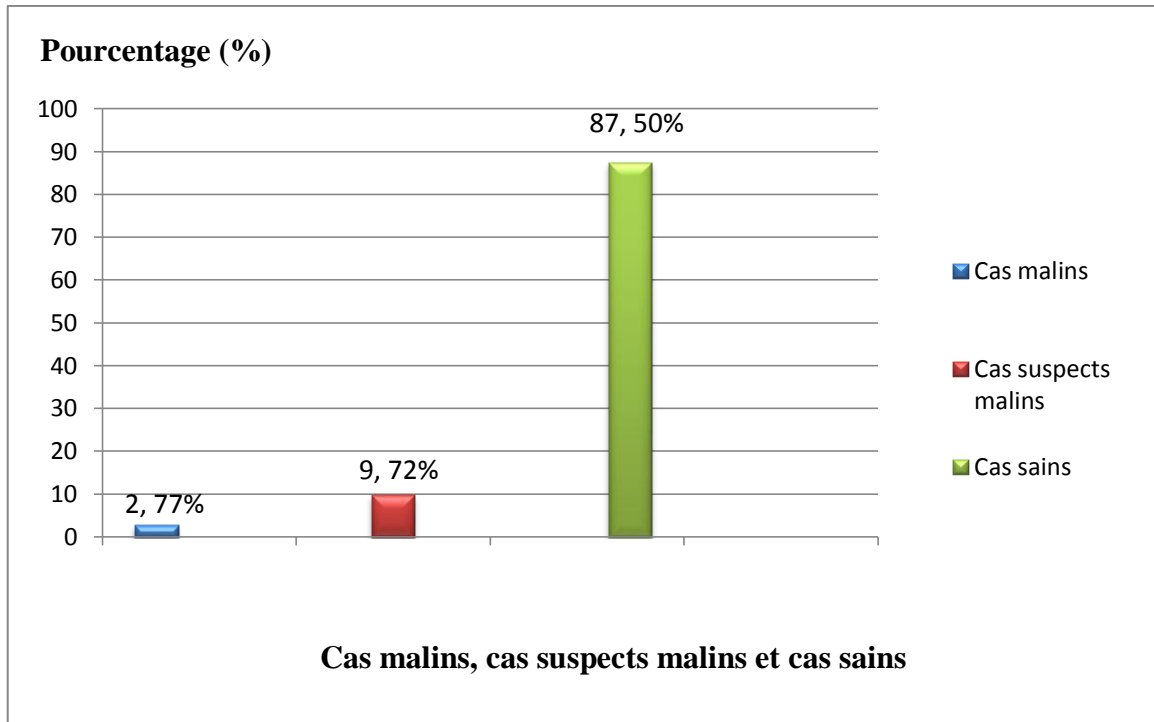


Figure 9 : Répartition des patients en pourcentage selon la malignité

La figure montre que 2,77% des prélèvements étaient malins et 9,72% étaient des prélèvements suspects malins. Ces derniers n'ont pas pu être classés et ont fait recourt à un examen histopathologique pour confirmer ou affirmer leur malignité. Enfin les 87,50% qui restaient étaient des cas sains (Tableau V (Annexe 2)).

2/ Répartition des cas malins

Parmi les 720 cas qui ont subi un examen cytopathologique on s'est intéressé seulement aux cas malins qui ont été répartis selon le sexe (Fig.10), l'âge (Fig.11), le type et le siège du cancer (Fig.12).

a/ Répartition des patients selon le sexe

Les 2,77% cas malins qui ont été étudié selon le sexe, ont été présentés en pourcentage dans la figure10.

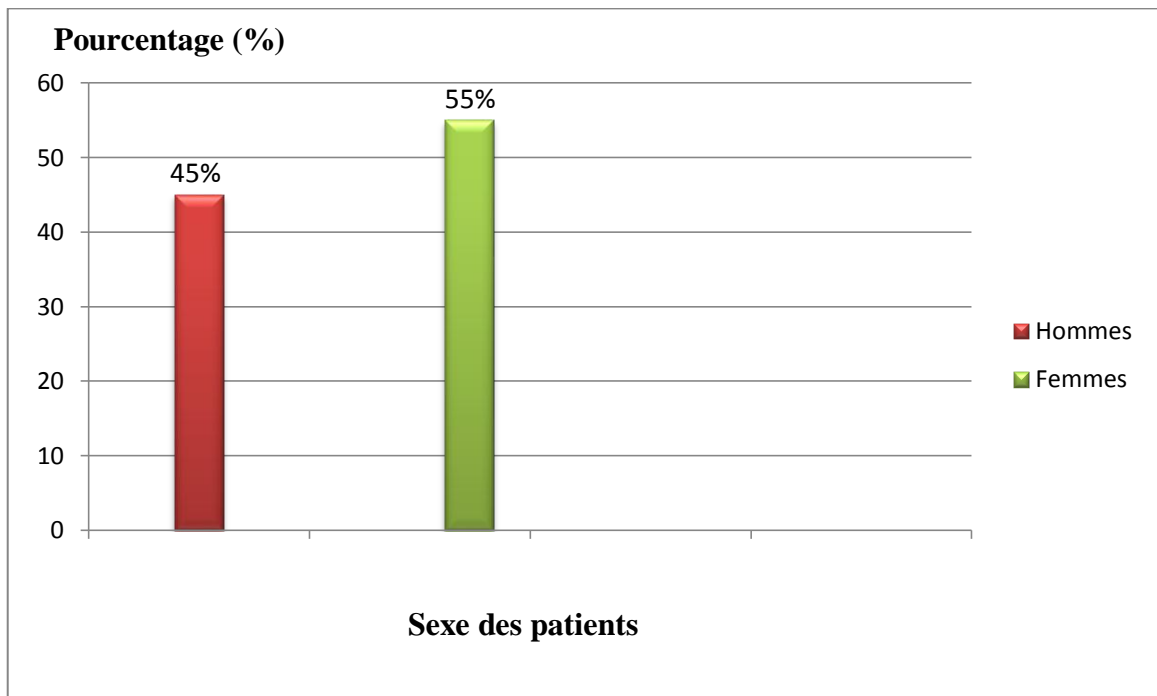


Figure 10: Répartition des patients en pourcentage selon le sexe

Nous avons trouvé que dans les 20 cas malins (2,77%), l'incidence du cancer chez l'homme était de 45% alors que chez la femme était supérieure de 55%(Tableau VI (Annexe 2)).

b/Répartition des patients selon la tranche d'âge

Nous avons reparti nos patients ayant un âge minimum de 20 ans et maximum de 79 ans selon quatre tranches d'âge avec une différence de 15 ans pour chaque tranche dans la figure 11.

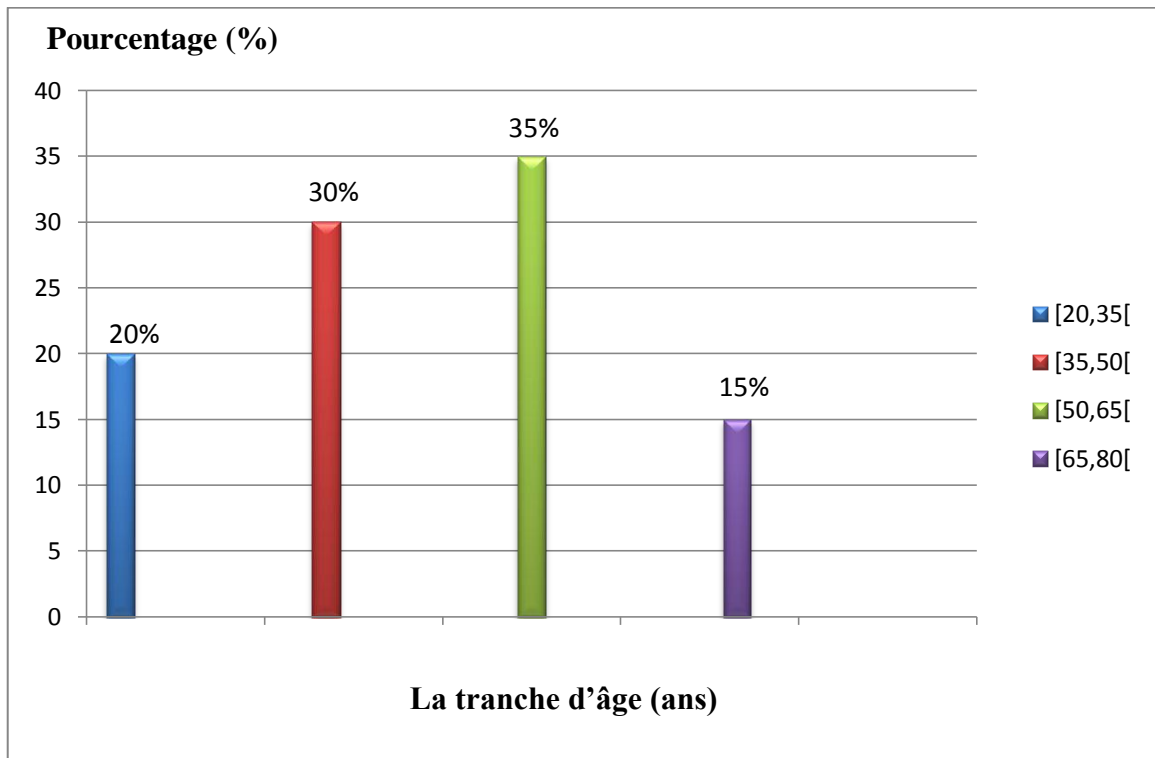


Figure11: Répartition des patients en pourcentage selon la tranche d'âge

La figure montre que la prévalence du cancer augmente avec l'âge, mais le pic de fréquence se situe entre 50 et 65 ans et représente 35%. L'âge moyen est de 57,5 ans (Tableau VII (Annexe 2)). Après 65 ans le taux diminue à 15% car le nombre de personnes âgées entre 65 et 80 ans est faible.

c/ Répartition des patients selon le type et le siège du cancer

Les 20 cas malins (2,77%) qui ont été étudiés ont été repartis en pourcentage selon le type et le siège du cancer dans la figure 12.

Nous avons préféré de commenter cette figure en tenant compte du cancer le plus fréquent.

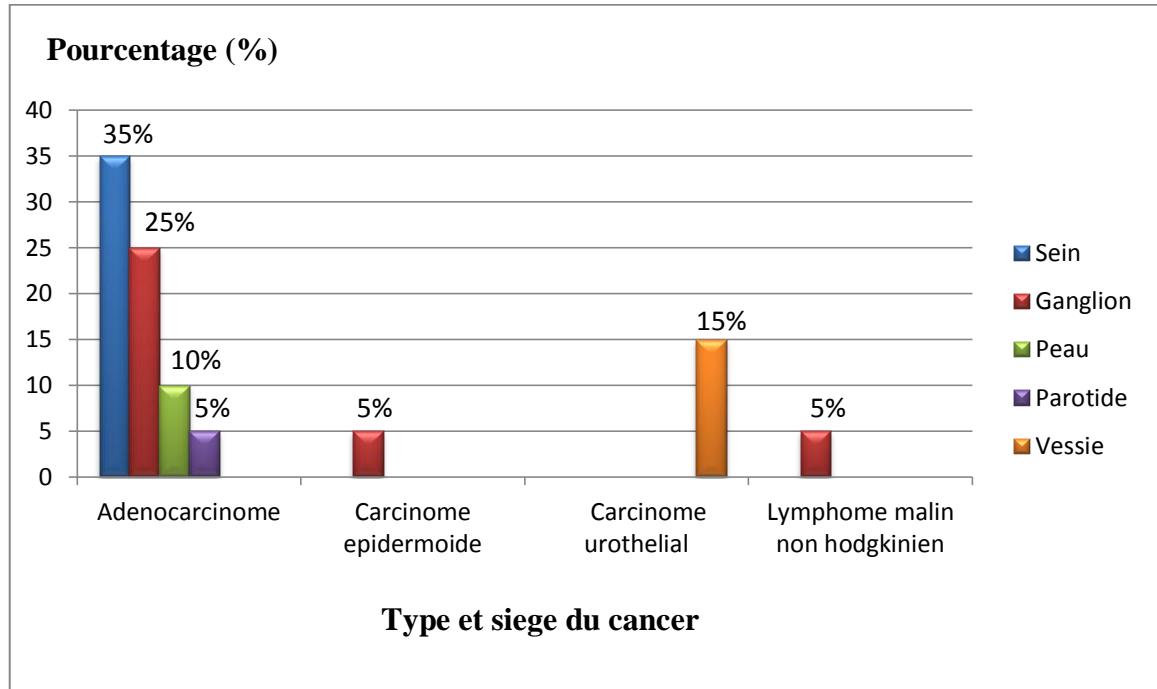


Figure 12 : Répartition des patients en pourcentage selon le type et le siège du cancer

La figure montre que le type de cancer le plus fréquent chez nos patients était l'adénocarcinome avec une prévalence de 75% dont le siège le plus touché est le sein avec une incidence de 35% (Tableau VIII (Annexe 2)).

3/ Présentation photographique des résultats cytopathologiques

Parmi les différents types de cancer qu'on a identifié, on a choisis de présenter les plus traduisant les anomalies cellulaires qu'on peut rencontrer dans un cancer.

La figure 13 représente un adénocarcinome mammaire qui montre la présence de cellules tumorales monstrueuses par rapport aux cellules normales et des anomalies nucléaires qui se traduisent par l'augmentation du rapport nucleocytoplasmique, la répartition inégale de la chromatine et la présence de nucléoles volumineux.

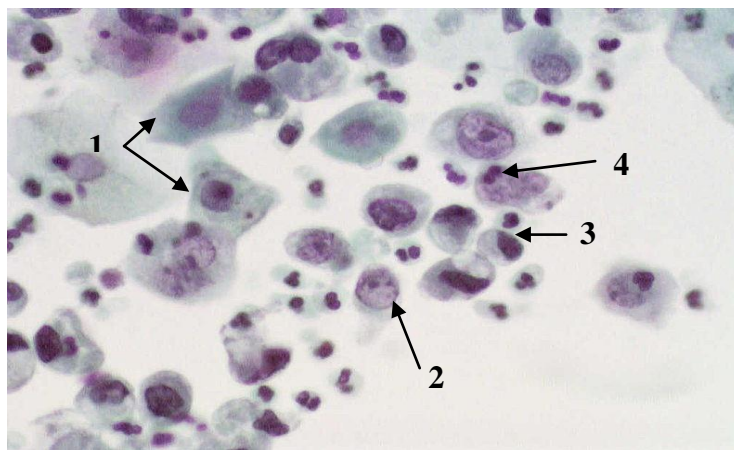


Figure 13 :Adénocarcinome du sein

(Coloration Giemsa.Grossissement X 40)

(1) Cellules tumorales monstrueuses, anomalies nucléaires : (2) haut rapport nucleocytoplasmique , répartition inégale de la chromatine(3) ; nucléole volumineux(4).

La figure 14 représente un carcinome urothelial qui montre la présence d'un petit groupe de cellules malignes à noyaux volumineux et de tailles différentes et à cytoplasme peu abondant.

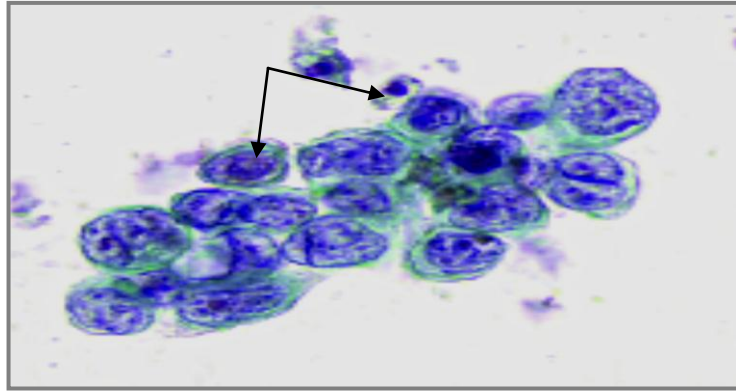


Figure14 : Carcinome urothelial

(Coloration Giemsa. Grossissement X 40)

Groupe de cellules malignes à noyaux très irréguliers (flèches), de type urothélial de haut grade.

III.2 Examen histopathologique

1/ Répartition des prélèvements selon la malignité

Les résultats de cet examen réalisé sur les 70 cas suspects malins par l'examen cytopathologique, nous ont permis de déterminer la malignité des prélèvements qui ont été présentés en pourcentage dans la figure 15.

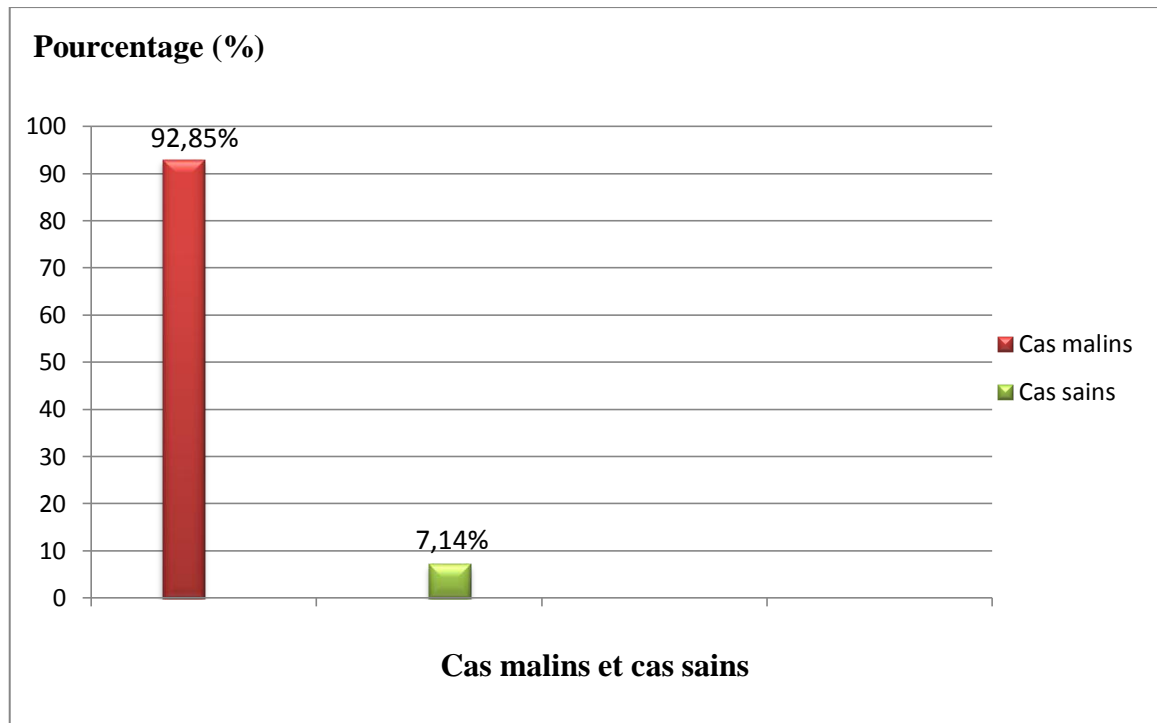


Figure15 : Répartition des patients en pourcentage selon la malignité

La figure montre que 92,86% des prélèvements étaient malins et 7,14% étaient des prélèvements sains (Tableau IX(Annexe 2)). Cela veut dire que l'examen précédent (examen cytopathologique) est fiable à 92,86%.

2/ Répartition des cas malins

Parmi les 70 cas qui ont subi un examen histopathologique, on s'est intéressés uniquement aux cas malins qui ont été répartis selon le sexe (Fig.15), l'âge (Fig.16), le type et le siège du cancer (Fig.17).

a/Répartition des patients selon le sexe

Les 92,86% cas malins qui ont été étudiés selon le sexe ont été présentés en pourcentage dans la figure 16.

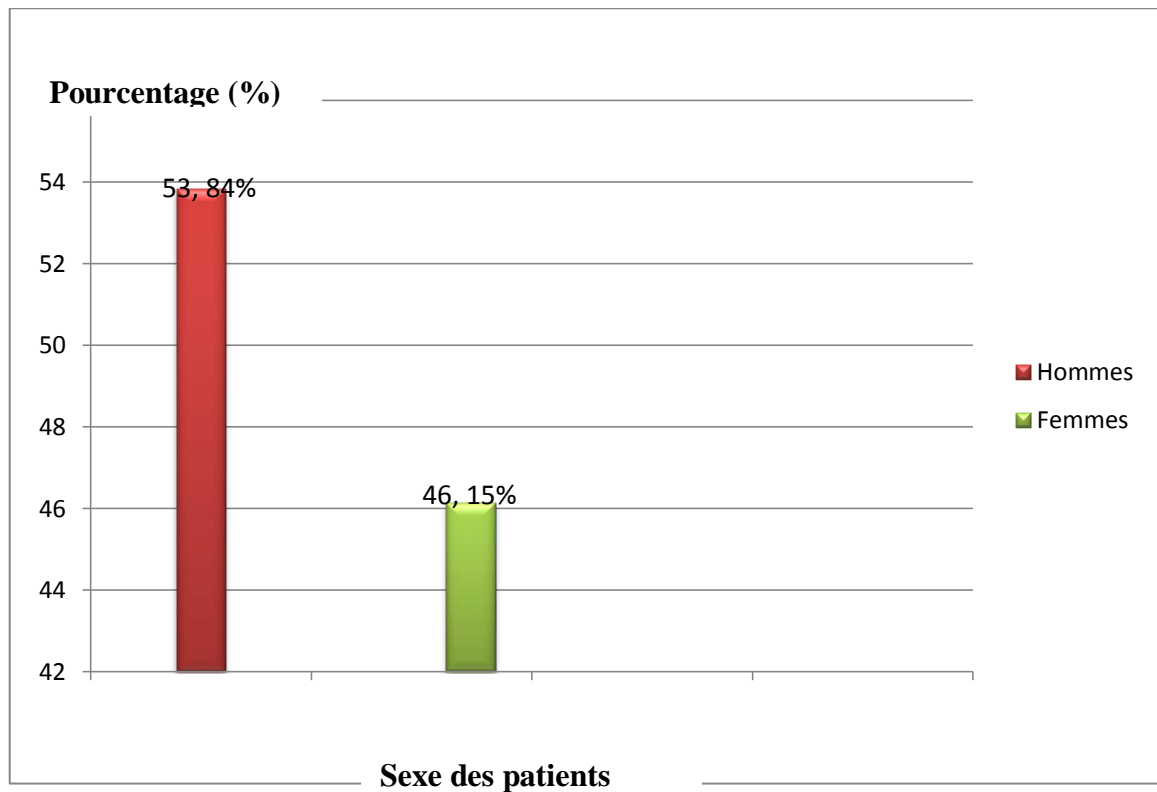


Figure 16 : Répartition des patients en pourcentage selon le sexe

Nous avons trouvé que 53,84% des patients étaient des hommes et 46,15% étaient des femmes (Tableau X (Annexe 2)).

b/ Répartition des patients selon la tranche d'âge

Nous avons reparti nos 65 patients (92,86%) dont l'âge minimum est de 9 ans et l'âgemaximum est de 84 ans selon cinq tranches d'âges avec une différence de 15 ans dans chaque tranche dans la figure 17.

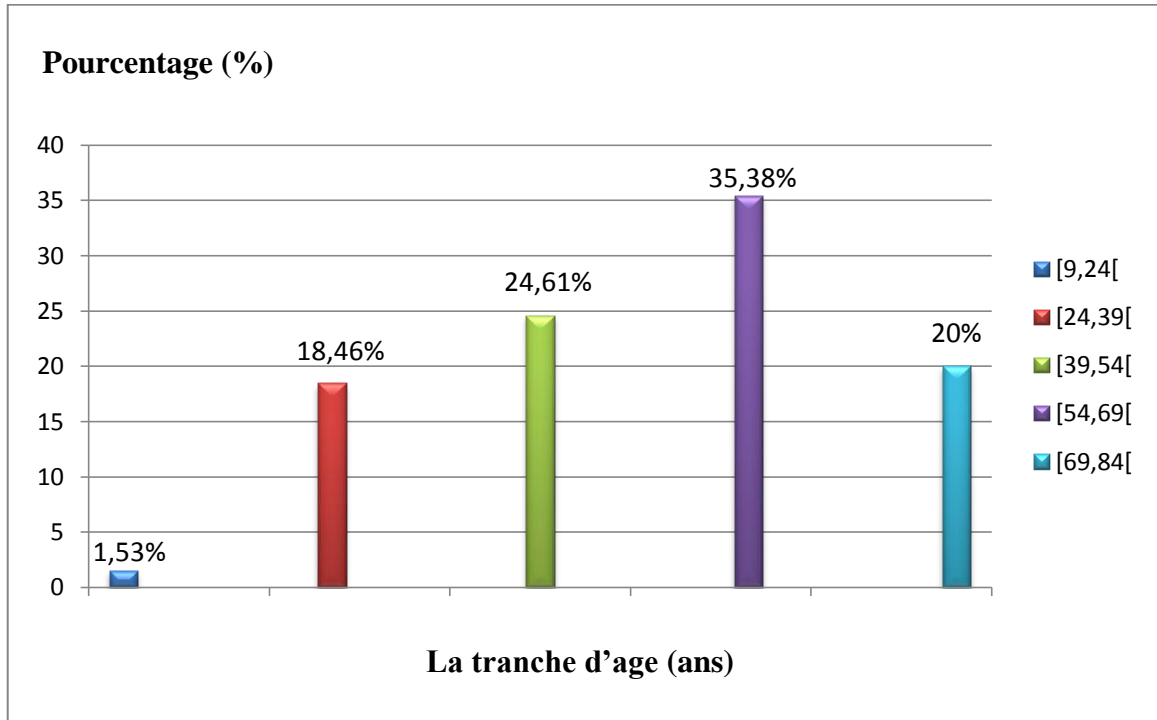


Figure17: Répartition des patients en pourcentage selon la tranche d'âge

La figure montre que le cancer peut survenir à tout âge et ce risque de survenue augmente avec l'âge mais le pic de prévalence se situe entre 54 et 69 ans et représente 35,38%. L'âge moyen est de 61,5 ans. (Tableau XI (Annexe 2)).

c/Répartition des patients selon le type et le siège du cancer

Les 65 cas malins (92,86%) qui ont été étudiés selon le type et le siège du cancer ont été repartis en nombre et en pourcentage dans le tableau .Nous avons préféré de commenter le tableau en tenant compte du cancer le plus fréquent.

Tableau XII : Répartition des patients selon le type et le siège du cancer

Type de cancer	Siège de cancer	Nombre de cas	Pourcentage
Adenocarcinome	.Sein	9	13,84%
	.Plèvre	3	4,61%
	.Prostate	2	3,07%
	.Estomac	4	6,15%
	.Utérus	1	1,53%
	.Duodénum	1	1,53%
	.Péritoine	1	1,53%
	.Rectum	2	3,07%
	.VB	1	1,53%
	.Foie	1	1,53%
	.poumon	1	1,53%
Total		26	40%
Carcinome urothelial	.Vessie	10	15,38%
	.Prostate	2	3,07%
Total		12	18,46%
Carcinome epidermoide	.Cordes vocales	3	4,61%
	.Langue	1	1,53%
	.Larynx	1	1,53%
	.Cavum	1	1,53%
	.Parotide	1	1,53%
Total		7	10,76%
Carcinome papillaire	.Thyroïde	3	4,61%
Total		3	4,61%
Carcinome spinocellulaire	.Peau	2	3,07%
Total		2	3,07%
Carcinome indifferencie	.Cavum	3	4,61%
Total		3	4,61%
Leiomyosarcome	.Parties molles	1	1,53%
Total		1	1,53%
Leucemie lymphoïde chronique	.Moelle osseuse	2	3,07%
Total		2	3,07%
Lymphome	.Ganglion	7	10,76%
	.Estomac	2	3,07%
Total		9	13,83%
Total général		65	100%

Le tableau montre que le type de cancer le plus répandu est l'adénocarcinome avec une incidence de 40 % dont le siège le plus fréquent est le sein avec une incidence de 13.84%.

3/ Présentation photographique des résultats histopathologiques

Nous avons illustré des présentations des résultats histopathologiques qui sont plus parlantes de l'intérêt des moyens anatomopathologiques en diagnostic des cancers.

La figure 18 représente un adénocarcinome du sein qui montre des structures glandulaires de tailles différentes tapissés d'un épithélium pseudo-stratifié. Les lumières glandulaires sont encombrées de débris cellulaires nécrosés.

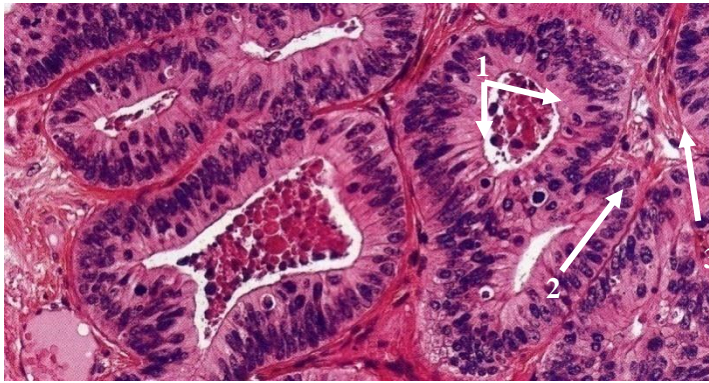


Figure 18: Adénocarcinome de l'estomac

(Coloration HE. Grossissement X60)

- (1) Structures glandulaires irrégulières. (2) Epithélium cylindrique pseudo-stratifié.
- (3) Lumières glandulaires encombrées de débris cellulaires nécrosés.

La figure 19 représente un carcinome spinocellulaire qui montre des cellules malignes agencées en lobules et en cordons, des globes cornes et un stroma inflammatoire.

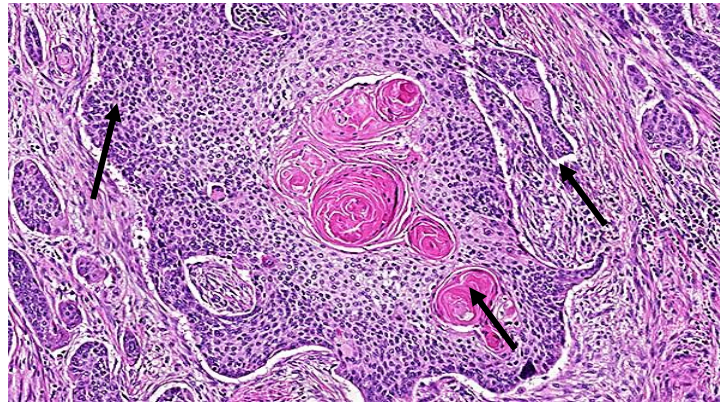


Figure 19 : Carcinome spinocellulaire

(Coloration HE. Grossissement X60)

(1) Cellules malpighiennes malignes agencées en lobules et en cordons.(2)Globes cornes.(3) Stroma inflammatoire.

La figure 20 représente un leiomyosarcome qui montre des cellules fusiformes agencées en faisceaux avec noyau monstrueux.

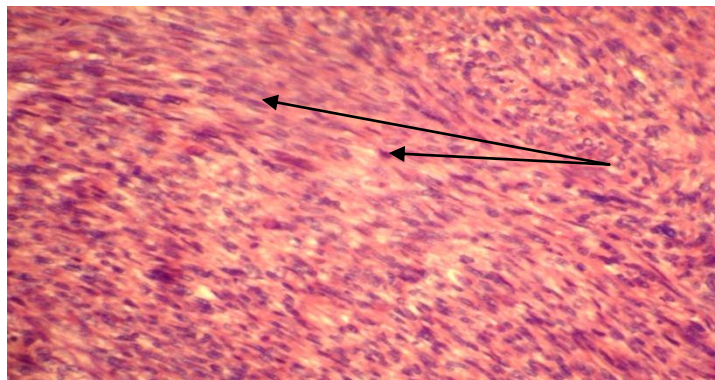


Figure 20: Leiomyosarcome

(Coloration HE. Grossissement X10)

(Flèches) Cellules fusiformes agencées en faisceaux avec noyaux monstrueux.

III.3 Examen immunohistochimique

Parmi les 65 cas malins (92,86%) qui ont subi un examen histopathologique, 24 cas (36,92 %) ont subi un examen immunohistochimique. Cet examen est utilisé pour connaître le phénotype et la variété de chaque type de cancer et pour mettre en évidence l'origine des métastases qui ont eu lieu pour entreprendre une thérapie ciblée. Cette détermination est basée sur la positivité ou la négativité du marquage immunohistochimique.

1/Répartition des cas positifs et des cas négatifs à l'IHC ainsi que le type de cancer identifié

Les résultats de l'examen immunohistochimique ont été présentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Répartition des cas positifs et des cas négatifs à l'IHC ainsi que le type de cancer identifié

Siege du prélèvement	Nombre de cas utilisés	Anticorps primaire utilisé	Résultats	Type de cancer identifié
Sein	9	ER PR HER2	+ + +	Adénocarcinome mammaire
Ganglion	7	CD20	+	Lymphome malin à cellules B
	1	CD30	+	Lymphome malin hodgkinien
Cavum	1	CK Ki67 EMA CD20 CD5	+ + - - -	Carcinome indifférencié
	1	CK	+	Carcinome indifférencié
Plèvre	1	CK7 CK20 TTF1 ER PR HER2	+ - + - - -	Métastase d'un adénocarcinome d'origine pulmonaire
	1	Calretinine CK7 ER PR HER2	- + + + -	Métastase d'un adénocarcinome d'origine mammaire
Estomac	1	CD45 CD3 CD20	+ - -	Adénocarcinome de l'estomac
	1	CD20	+	Lymphome à petite cellules B
Poumon	1	CK7	+	Adénocarcinome pulmonaire

Le tableau montre que grâce à l'immunohistochimie nous avons pu trouver que le cancer du sein le plus fréquent est de phénotype ER+,PR+,HER2+ (9/9 cas).L'examen a montré aussi que le lymphome malin à cellules B dont le phénotype est CD30+,était le plus répandu des lymphomes malins (8/9cas = 88,88%).L'IHC a identifié également l'origine des métastases au niveau de la plèvre dont le premier cas est d'origine pulmonaire et le deuxième cas est d'origine mammaire. Nous avons pu déterminer aussi grâce à l'IHC la nature de deux tumeurs au niveau du cavum (carcinomes indifférenciés) dont le phénotype est CK+,EMA- et deuxadénocarcinomes dont le premier au niveau de l'estomac et le second au niveau du poumon.

2/ Présentation photographique des résultats immunohistochimiques

Nous avons préféré de choisir quelques figures qui traduisent le plus le marquage immunohistochimique.

La figure 21 montre un adénocarcinome du sein dont les cellules ont été marquées (couleur marron) avec un anticorps dirigé contre les récepteurs œstrogènes (ER) qui sont présents au niveau nucléaire.

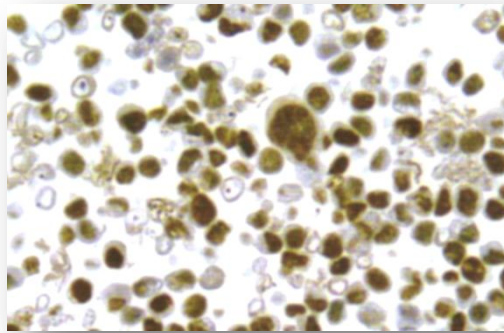


Figure 21: Adénocarcinome mammaire marqué par l'anticorps des ER

(Grossissement X40)

La figure 22 un adénocarcinome du sein dont les cellules ont été marquées (couleur marron) avec un anticorps dirigé contre la protéine HER2 qui est présente au niveau membranaire.

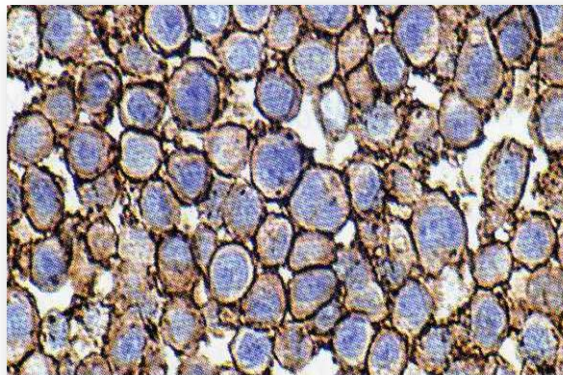


Figure 22: Adénocarcinome mammaire marqué par l'anticorps de HER2

(Grossissement X40)

Pour discuter nos résultats on a préféré tout d'abord de discuter l'examen cytopathologique et l'examen histopathologique simultanément et cela selon: l'incidence du cancer, l'incidence du cancer chez l'homme et chez la femme, l'incidence du cancer selon l'âge et le type de cancer le plus fréquent.

Et pour l'examen immunohistochimique, les résultats ont été discuté selon: la mise en évidence de molécules ayant une valeur pronostique ou thérapeutique, la classification des lymphomes, la catégorisation des tumeurs malignes et la détermination de l'origine des tumeurs métastatiques.

Cette discussion sera faite en fonction de la littérature disponible.

L'examen cytopathologique et l'examen histopathologique réalisé sur nos prélèvements présents au niveau du service anatomopathologique du CHU de Blida, nous a permis de constater que l'incidence du cancer est de 11,80 % (pourcentage des cas malins identifiés par les deux examens: 20 cas identifié par l'examen cytopathologique et 65 cas identifié par l'examen histopathologique sur un total de 720 cas). D'autres auteurs qui ont travaillé sur l'épidémiologie du cancer ont trouvés qu'en Algérie, le cancer a une fréquence de 0,1% (Djedi et *al.*, 2004). Cela veut dire que le risque de survenue du cancer augmente avec le temps et a augmenté de plus de dix fois en 6 ans. Ces résultats pourraient s'expliquer d'une part, par le fait, que la transformation maligne est un phénomène complexe qui résulte de l'interaction de nombreux facteurs (facteurs de risque) qui ne cessent de croître avec le temps (tabagisme, les agents chimique, la pollution, les radiations, etc). D'autre part, les moyens de diagnostic anatomopathologiques sont devenus chaque année de plus en plus sophistiqués, ce qui sensibilise les personnes pour avoir recourt à un examen anatomopathologique pour identifier les différents types de cancer à un stade précoce qui a de bons résultats pour les traitements administrés.

L'examen histopathologique établit sur les 70 cas suspects malins par l'examen cytopathologique, nous a permis de confirmer la malignité de 92,85% d'entre eux, cela veut dire que la fiabilité de l'examen cytopathologique est de 92,85%. Selon les données de la littérature, Ferrero et al qui ont réalisé en 2000, une étude cytopathologique sur le cancer urothelial ont trouvé que la fiabilité de cette technique (cytopathologique) varie de 77 à 93%.

Nous avons trouvé par l'examen cytopathologique que le cancer est un peu plus fréquent chez la femme (55%) que chez l'homme (45%). Cela est probablement dû au nombre élevé de cancer du sein identifié chez les femmes. Tandis que par l'examen histopathologique nous avons trouvé le contraire, il est plus fréquent chez l'homme (53,84%) que chez la femme (46,15%). Cela pourrait être dû au nombre élevé de cancers urotheliaux identifiés et se trouvant beaucoup plus chez les hommes que chez les femmes avec un ratio de 9/2 (9 hommes pour 2 femmes). Selon Yaker (1984), la maladie cancéreuse frappe d'une manière sensiblement égale l'homme et la femme. Et selon d'autres auteurs l'incidence du cancer est de 47,9% chez l'homme et chez la femme est de 52,1% (Kourta ; 2005).

L'étude cytopathologique et histopathologique que nous avons établis nous a permis de remarquer que le risque de survenue du cancer augmente avec l'âge mais il atteint son pic de 35% entre 54 et 69 ans (pour l'examen cytopathologique) et de 35,38% entre 50 et 65 ans (pour l'examen histopathologique). Cela veut dire que le cancer atteint son maximum (incidence moyenne de 35,19%) au delà de 50 ans. Nos résultats concordent avec ceux de la littérature car Hoerni qui a fait une étude épidémiologique sur le cancer (2005), a trouvé que les cancers les plus fréquents n'apparaissent qu'à partir de 40 à 50 ans.

Parmi les différents types de cancer qu'on a identifié par les deux examens (cytopathologique et histopathologique), nous avons trouvé que le type le plus fréquent est l'adénocarcinome (75% pour le premier examen et 40% pour le second). Ces résultats pourraient s'expliquer du fait, que de nombreux organes soient tapissés par un revêtement cylindrique (tube digestif, organes génitaux, voies aériennes, etc) ou par parenchyme glandulaire (glande mammaire, poumon, prostate, foie, ect)(Yaker., 1984). Et nous avons constaté aussi que l'organe le plus touché par ce type de cancer (ADK) est le sein avec une incidence de 35% pour l'examen cytopathologique et de 13,84% pour l'examen histopathologique. Cela laisse supposer que la plupart des adénocarcinomes surtout ceux qui sont au niveau du sein, soient identifiables par examen cytopathologique. Selon Ferrero *et al* qui ont fait une étude épidémiologique descriptive sur le cancer du sein (1999), ont constaté que l'incidence du cancer du sein était de 18% alors que Abid en 2009 a trouvé que son incidence est de 37,7%. Cela veut dire que le risque d'avoir un cancer du sein a augmenté de 19.7 % en 10 ans.

Donc l'examen cytopathologique que nous avons réalisé nous a permis de détecter des lésions cancéreuses et de poser un diagnostic pour certains cas (2,77%) mais pour d'autres cas, l'examen histopathologique a été nécessaire pour confirmer leur malignité (92,85%), mais cela n'a pas empêché que parmi ces 92,85%, 36,92% ont eu besoin d'un examen supplémentaire (l'immunohistochimie) pour préciser l'origine des métastases et pour déterminer la variété et le phénotype de certains cancers.

Notre examen immunohistochimique nous a permis de mettre en évidence des molécules ayant une valeur pronostique ou thérapeutique sur la tumeur. Au niveau du sein, le marquage immunohistochimique des récepteurs hormonaux (œstrogène/progestérone) et de la protéine HER2 dans 9 cas de cancer, montre que les 9 cas (100%) étaient de

phénotype ER+,PR+,HER2+ et qui est de meilleur pronostique, c'est ce qui a été confirmé par Cortan et al en 2000. Ces résultats se rapprochent à ceux d'autres auteurs qui ont trouvé que pour le cancer du sein, le triple positif est le plus fréquent avec une incidence de 70% et qui heureusement de meilleur pronostique (Andrieu et al ; 1999).

D'autres part l'examen immunohistochimique nous a permis la classification des lymphomes qui a été confirmé par Cortan et al en 2000. Alors parmi les 9 cas de lymphomes on a trouvé 8/9 cas (88,88%) de lymphome malin à cellules B de phénotype CD 20+ et 1 cas de lymphome malin non hodgkinien de phénotype CD30+. Ces résultats sont confirmés par d'autres auteurs qui ont trouvés que le lymphome le plus répandu est le lymphome malin à cellules B avec une incidence de 90% (Bouché., 2005).

Notre examen nous a permis aussi la catégorisation de tumeurs malignes indifférenciées qu'on a détecté par l'utilisation de marqueur de la CK et de l'EMA d'où nous avons pu confirmer l'existence de deux carcinomes indifférenciés au niveau du cavum dont le phénotype est CK+,EMA-. Cette catégorisation a été confirmée par d'autres auteurs (Cotran et al.,2000).

Enfin, l'examen immunohistochimique nous a permis la détermination de l'origine des tumeurs métastatiques. Ainsi nous avons pu identifier l'origine de deux adénocarcinomes au niveau de la plèvre, par l'utilisation des anticorps CK7, TTF1 pour l'origine pulmonaire et par l'utilisation des anticorps CK7, ER, PR pour l'origine mammaire. Ce rôle de l'IHC a été souligné par d'autres auteurs (Cortan et al., 2000).

Bien que l'histopathologie et la cytopathologie soient les méthodes les plus communément employées dans le diagnostic du cancer, l'immunohistochimie est autant un moyen supplémentaire très utile et largement utilisée à l'anatomie pathologique. (Cortan et al., 2000).

Ces différents moyens qu'on a utilisés pour le diagnostic du cancer sont d'un grand intérêt pour la compréhension de la maladie cancéreuse .Toutefois, l'examen cytopathologique a permis de différencier les cellules cancéreuses des cellules normales et de poser le diagnostic pour certains cancers. Pour d'autres, le diagnostic préliminaire n'a pu être posé qu'à la suite de l'examen histopathologique qui permet d'identifier les différents types de cancer.

Bien que la cytopathologie et l'histopathologie soient des méthodes les plus couramment employées dans le diagnostic du cancer, de nouvelles technique qui apparaissent régulièrement sont autant de moyens supplémentaires utiles à l'anatomie pathologique. Certaines d'entre elles, comme l'IHC est aujourd'hui bien pratiquée et largement utilisée pour connaitre le phénotype et la variété de chaque type de cancer ainsi que pour la dermination de l'origine des metastases .

Ainsi, pour certains types de cancer la cytopathologie et l'histopathologie en combinaison sont suffisent pour poser le diagnostic (cancer epidermoide, carcinome papillaire, carcinome spinocellulaire, etc). Pour d'autres cancer, l'immunohistochimie est indispensable pour la mise en évidence des caractéristiques moléculaires (membranaire, cytoplasmique ou nucléaire) des cellules cancéreuses (cancer du sein, lymphome, carcinome indifférencié, métastase, etc).

Dans la majorité des cas, plus un cancer est diagnostiqué tôt, moins les traitements sont lourds et meilleures sont les chances de guérison. La radiothérapie et la chimiothérapie qui sont les traitements actuels du cancer, entraînent des effets secondaires car ils tuent non seulement les cellules cancéreuses, mais également les cellules normales. C'est pour cette raison que les médecins doivent choisir avec soin la dose et le rythme du traitement, afin de permettre aux tissus normaux de récupérer.

I.1. Biologie du cancer

I.1.1. Définition

Une tumeur cancéreuse se définit comme la prolifération d'une même cellule souche d'un tissu ou d'un organe. Cette prolifération est irréversible, génétiquement altérée, autonome, anarchique, indépendante des mécanismes normaux de contrôle de croissance et d'inhibition de contact. Dans une tumeur maligne, les cellules sont très indifférenciées et acquièrent la capacité de métastaser : elles peuvent se séparer de la tumeur, pénétrer les tissus avoisinants et les voies de circulation et envahir tout le corps (Van beek., 2001).

Les anomalies génétiques responsables de la transformation maligne se répercutent sur l'apparence de la cellule cancéreuse (aspect, noyau, nucléole). En effet, la lésion maligne possède malgré tout une architecture (plus ou moins différenciée) et présente des relations avec les tissus normaux voisins (Lennan et *al.*, 2006).

Alors, d'un point de vue cellulaire, les cellules cancéreuses présentent des anomalies caractéristiques: les mitoses sont fréquentes, le rapport nucléoplasmique est augmenté et il existe des anomalies caryotypiques.

Pathogéniquement, une tumeur cancéreuse peut être mortelle par action mécanique sur les tissus ou organes vitaux avoisinants ou par sécrétion de substances toxiques pour l'organisme. Le plus fréquemment, ce sont métastases dans les organes tels que le poumon, le foie, la moelle osseuse qui sont fatales (Van beek., 2001).

I.1.2. Facteurs de risque

Le processus de transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse est un phénomène complexe résultant de l'interaction de plusieurs éléments, parmi ces facteurs de risque on distingue (Lathrop et *al.*, 2008) :

-Facteurs héréditaires :

On estime que seulement 20 % des cancers sont dus à une prédisposition héréditaire.

-Facteurs viraux :

Les virus sont à l'origine de nombreux cancers chez l'Homme, le virus d'Epstein-Barr est à l'origine du lymphome de Burkitt. Le virus de l'hépatite B peut provoquer un hépatocarcinome.

- Rayonnements :

Les rayonnements ionisants sont responsables de modifications de l'ADN, telles que des mutations, des ruptures et des transpositions. Elles déclenchent le phénomène de carcinogenèse, qui se traduira par un cancer après quelques années de latence.

- Facteurs chimiques :

De nombreux agents chimiques (tabac, alcool) sont susceptibles de provoquer directement des cancers à la suite d'une seule exposition (promoteurs), tandis que d'autres sont des initiateurs de cancers, ceux-ci se développant souvent après une longue période de latence ou après la rencontre avec un autre agent dit promoteur.

-Facteurs immunitaires :

Un cancer ne se développe que lorsque le système immunitaire ne peut plus assumer son rôle. Aussi, tout facteur induisant un déficit immunitaire est susceptible de favoriser le développement d'un cancer. On compte parmi ces facteurs : le sida, les immunodéficits congénitaux et la prise de médicaments immunosuppresseurs.

-Facteurs environnementaux :

On estime que 80 % des cancers sont liés à l'environnement. La fumée de cigarette, inhalée activement ou passivement, est un facteur prépondérant, responsable d'environ 30 % de la mortalité due au cancer. L'alimentation serait à l'origine de 40 % des décès par cancer, mais la relation de cause à effet n'est pas clairement définie. Certaines graisses et fibres seraient associées à une forte incidence de cancer du côlon.

I.1.3. Anomalies des gènes intervenant dans la transformation maligne

Trois mécanismes génétiques interviennent dans le développement de la plupart des cancers humains:

- L'expression de gènes produisant des protéines qui, dans les circonstances normales, stimulent la multiplication cellulaire. Ces gènes sont appelés oncogènes (Fig.1) et agissent de façon dominante.

- La perte d'activité des gènes, qui dans les circonstances normales inhiberaient la croissance cellulaire. Ces gènes sont appelés anti-oncogènes ou gènes suppresseurs. Ils agissent de façon récessive pour former une tumeur maligne.

- L'expression des gènes provoquant une surexpression de produits qui normalement préviennent la mort cellulaire ; ils permettent la poursuite de la croissance cellulaire (immortalisation des cellules) (Stevens et *al.*, 2001).

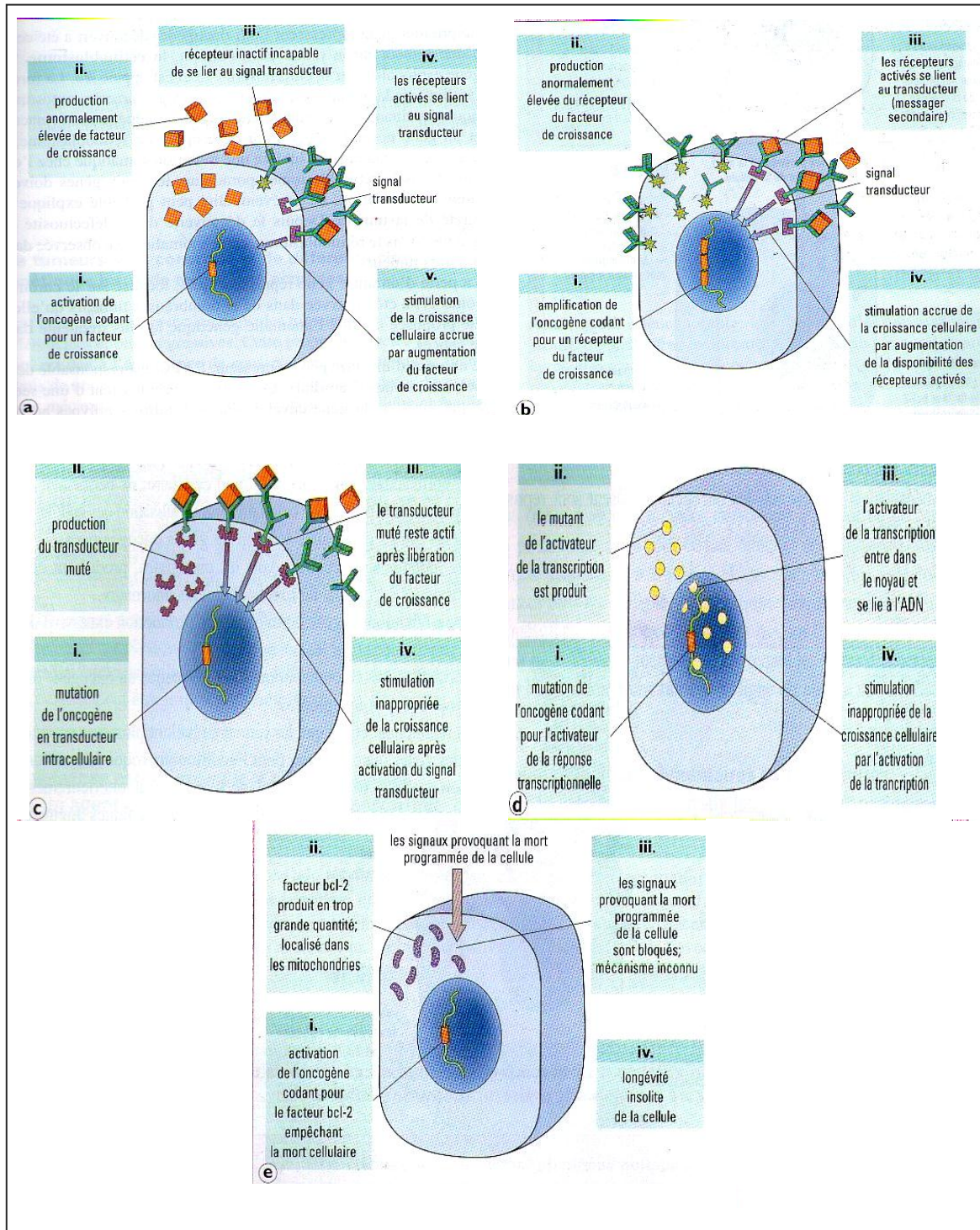


Figure 1 : Mécanismes d'action des oncogènes

(Cortan et al., 2000)

a : activation de l'oncogène codant pour un facteur de croissance ; b : amplification de l'oncogène codant pour un récepteur du facteur de croissance ; c : mutation de l'oncogène en transducteur intracellulaire ; d : mutation de l'oncogène codant pour l'activateur de la réponse transcriptionnelle ; e : activation de l'oncogène codant pour le facteur de bcl-2 empêchant la mort cellulaire.

I.1.4. Caractéristiques de la cellule cancéreuse

La transformation qui correspond au passage de la cellule normale à la cellule cancéreuse est un processus qui permet l'acquisition de propriétés caractéristiques parmi lesquelles:

- ▶ Indépendance vis à vis des signaux stimulant la prolifération
- ▶ Insensibilité aux signaux inhibiteurs
- ▶ Abolition de l'apoptose
- ▶ Capacité proliférative illimitée
- ▶ Capacité de susciter l'angiogénèse
- ▶ Acquisition d'un pouvoir invasif (Remvikos., 2002).








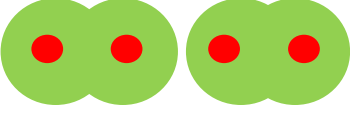

Si les caractéristiques architecturales tissulaires sont importantes pour le diagnostic, il n'empêche que dans de nombreuses situations on est amené à se déterminer par rapport à l'aspect des cellules (Remvikos., 2002).

Parmi les caractéristiques les plus discriminantes on retiendra (Remvikos., 2002):

I.1.4.1. Les caractères nucléo cytoplasmiques (Tableau I)

I.1.4.2. Les anomalies des mitoses (Tableau I)

Tableau I : Caractéristiques morphologiques des cellules cancéreuses

Cellule normale	Différents aspects de la cellule cancéreuse	Caractéristiques
		Anisocytose : irrégularité de taille des cellules avec gigantisme cellulaire
		Augmentation du rapport nucléo cytoplasmique, augmentation du volume du noyau
		Anisocaryose : irrégularité de taille des noyaux des cellules
		Irrégularité des noyaux, noyaux monstrueux polyploïde
		Répartition inégale de la chromatine
		Nucléoles volumineux, parfois multiples.
		Mitoses plus nombreuses que dans un tissu normal
		Une multipolarité

(Remvikos., 2002) modifié

Vert : cellule ; rouge : noyau ; blanc : nucléole.

I.1.5. Caractéristiques du tissu tumoral

Si une cellule tumorale possède toute une série de caractéristiques qui permettent de la définir, elle est aussi issue d'un tissu normal, dont elle conserve parfois des propriétés. Une tumeur se distingue du tissu dans lequel elle prend naissance par une organisation propre qui sert à en faire le diagnostic (Hill., 1997).

Les lésions malignes sont constituées de cellules manifestement anormales (noyau, chromatine, rapport nucléocytoplasmique, etc.), de plus:

- ▶ Elles présentent un certain degré de dédifférenciation
- ▶ Elles envahissent à terme le stroma de l'organe
- ▶ Elle présente la faculté de migration dans des organes distants soit par voie lymphatique soit par voie hématogène (métastases) (Hill., 1997).

I.1.6. Déroulement de la cancérogenèse

Le terme cancérogenèse recouvre l'ensemble des mécanismes responsables du développement des cancers, incluant toutes les formes de cancer (Riboli et *al.*, 1996).

Par commodité, la cancérogenèse est décrite comme un processus multiphasique (Riboli et *al.*, 1996). En effet, le processus est probablement plus continu et plus complexe (Kinzler., 1996). Le développement tumoral commence lorsqu'une cellule d'une population normale subit une mutation génétique. Celle-ci et les cellules filles vont ensuite proliférer anormalement. Selon l'aspect des cellules qui constituent la lésion, on distingue les états hyperplasiques (les cellules ont un aspect normal), les états dysplasiques (les cellules ont un aspect anormal) qui évoluent vers le cancer *in situ* puis vers le cancer invasif malin (Weinberg., 1996).

En l'absence de traitement, la majorité des cancers évoluent en suivant les mêmes étapes, mais à des vitesses très variables et selon des modalités propres à chaque type de cancer (Remvikos., 2002).

Dans le développement d'un cancer peut se résumer en trois étapes (Fig.2) :

- La maladie débute par une lésion précancéreuse, qui contient des cellules en cours de transformation. Toutes les lésions précancéreuses ne donnent pas forcément des

cancers. Une cellule cancéreuse apparaît et commence à se multiplier. Dans un premier temps, la tumeur de petite taille reste localisée dans le tissu d'origine.

- La tumeur grossit et commence à envahir les tissus voisins.
- Les métastases apparaissent. Souvent, elles touchent d'abord les ganglions lymphatiques, petits organes dispersés dans tout le corps et palpables au niveau du cou, de l'aîne et des aisselles, qui jouent un rôle clé dans la lutte contre les infections. Puis les métastases s'étendent aux autres organes. Elles sont responsables de 90% des décès par cancer (Remvikos., 2002).

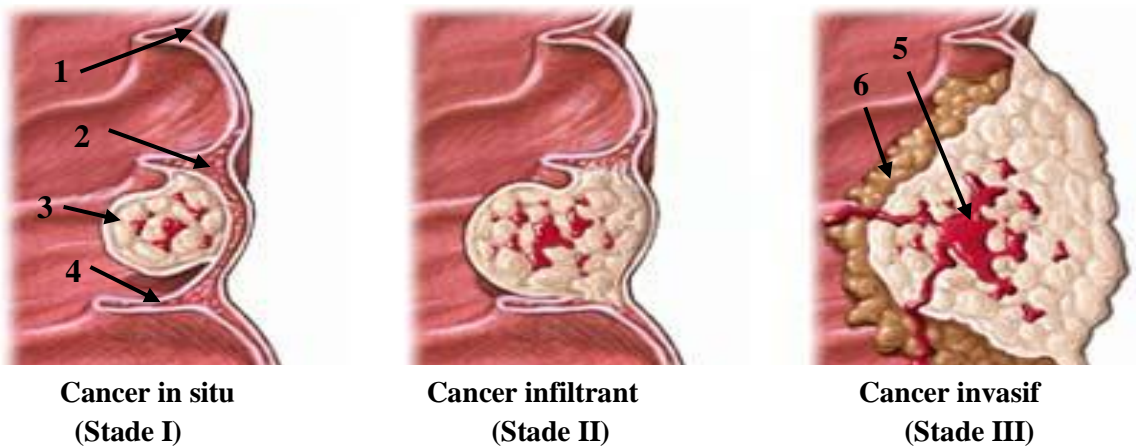


Figure 2 : Différents stades de la maladie cancéreuse (cancer du colon)

(Gund., 2008)

1:Séreuse ,2: musculuse ,3: cancer, 4:muqueuse, 5:vaisseaux sanguins, 6: remaniement hémorragique.

I.1.7. Classification des cancers

Il existe plusieurs types de cancers, qui sont déterminés en fonction de l'histologie, (la nature du tissu dans lequel ils se développent) et des caractéristiques des cellules dont ils sont formés. Ainsi, on distingue : les carcinomes, les sarcomes et les cancers hématopoïétiques (Yaker., 1984).

1-Les carcinomes

Les cellules cancéreuses apparaissent dans un épithélium. Dans cette famille, on distingue les adénocarcinomes qui se développent à partir de l'épithélium d'une glande telle que le sein et la prostate (Yaker., 1984) (Tableau II).

2- Les sarcomes

Les cellules cancéreuses apparaissent dans un tissu de support comme les os, la graisse ou les muscles. On parle d'ostéosarcomes (sarcomes des os), de liposarcomes (sarcomes des tissus graisseux) et de rhabdomyosarcomes (sarcomes des muscles striés) (Yaker., 1984) (Tableau III).

3-Les cancers hématopoïétiques

Le cancer affecte le sang ou les organes lymphoïdes, organes dans lesquels certaines cellules du sang acquièrent leur fonction (Yaker., 1984). On distingue :

3.1. Les leucémies

Caractérisées par la prolifération de cellules issues de diverses lignées de leucocytes. Les différentes variétés de leucémies sont :

A-La leucémie myéloïde chronique

Caractérisée par la prolifération de granulocytes adultes. Il existe diverses localisations du processus leucémique : cutanées, nerveuses, osseuses, etc.

B- La leucémie lymphoïde chronique

Caractérisée par la prolifération des lymphocytes. L'évolution peut comporter des localisations multiples : tissu lymphoïde des amygdales, des intestins, de la peau, atteinte pleurale, moelle osseuse, etc.

C- La leucémie aigue

Caractérisé par la prolifération des cellules jeunes (lymphoblastes ou myéloblastes) (Domart et *al.* 1981).

3.2. Les lymphomes malins

Ce sont des proliférations néoplasiques lymphoïdes réalisant des tumeurs solides. Il existe deux types de lymphomes malins :

A-Les lymphomes malins non hodgkinien

Ce sont des néoplasies malignes monoclonales qui se développent a partir des cellules constituant les organes lymphoïdes (ganglion, rate, amygdale, formations lymphoïdes du tractus digestif).

B-Les lymphomes malins hodgkinien

Ce sont des proliférations cellulaires malignes dans lesquelles la présence de cellules de Sternberg est indispensable au diagnostic de l'affection. Ces proliférations sont souvent ganglionnaires et parfois retrouvées au niveau de la rate, le foie ou la moelle osseuse (Yaker ; 1984).

Tableau II : Carcinomes (types, sièges, âge, sites métastatiques)

Tissus	Types	Sièges habituels	Age de prédilection	Sites métastatiques les plus fréquents
Revêtements malpighiens kératinisés	Carcinome spinocellulaire	.cutané : parties découvertes (visage, membres)	Après 40 ans	Ganglions
	Carcinome basocellulaire	.cutané : nez, tempes, joues		Pas de métastases
Revêtements malpighiens non kératinisés	Carcinome épidermoïde	.cavité buccale .œsophage .col utérin .vulve .vagin	Après 40 ans	Ganglions
Revêtements cylindriques	Adénocarcinome	Tube digestif : .estomac .colon .vésicule biliaire Organes génitaux : .corps utérin Voies aériennes : .fosses nasales .larynx .bronches Voies respiratoires : .bronches .larynx	Après 50 ans	Ganglions, poumon, foie, os
	Carcinome métaplasique épidermoïde		Après 40 ans	ganglions, foie, cerveau
Parenchymes glandulaires	Adénocarcinome	glande mammaire rein prostate pancréas thyroïde surrénales foie cavum	Après 45 ans	Ganglions, Poumon, Os, cerveau
			Après 50 ans	
			Après 40 ans	Pas de métastases
	Carcinome indifférencié		Après 45 ans	
Revêtements paramalpighiens	Tumeur papillaire paramalpighienne	voies excrétrices rénales, vessie	60 ans	Ganglions, Poumon, Os, Foie, péritoine
	carcinome paramalpighien	vessie	40 ans	
	carcinome épidermoïde			
	adénocarcinome	trigone vésical		

(Yaker., 1984)

Tableau III : Sarcomes (Types, sièges, âge, sites métastatiques)

Types	Sièges habituels	Age de prédilection	Sites métastatiques les plus fréquents
Fibrosarcome	Cuisse, fesse, bras, avant bras	adulte	poumon
Histiocytofibrome	Membres inférieurs, membres supérieurs, thorax, région retroperitoneale	Sujet âgé > 50 ans	poumon
Liposarcome	Membres inférieurs, épaule, creux axillaire, tissus retroperitoneaux	Adulte et sujet âgé	Poumon Foie plèvre
Rhabdomyosarcome	Cuisse Epaule Bras Muscles squelettiques Peau muqueuses	Adulte et sujet âgé Sujet jeune	Poumon Tissu sous cutané
Leiomyosarcome	Utérus, estomac, intestin grêle, appareil respiratoire	adulte	poumon
Angiosarcome	Tête et cou, foie, glande mammaire	Adulte jeune	Poumon Foie os
Lymphangiosarcome	bras	Sujet âgé	–
Hemangiopericytome	Corps utérin	adulte	Poumon Os
Sarcome ostéogénique	os	Adolescent Adulte jeune	Poumon foie
Chondrosarcome	os	Adulte âgé	poumon

(Yaker., 1984)

I.2 Moyens anatomopathologiques de diagnostic des cancers

Aujourd'hui, et avec le développement de la technologie, on utilise dans le domaine de la cancérologie des méthodes diverses avec lesquelles on essaye de mieux comprendre le processus cancérologique afin d'adresser des traitements thérapeutiques ciblés et d'améliorer le pronostic des patients (Cortan et *al.*, 2000).

Parmi ces méthodes de diagnostic, on distingue :

I.2.1. Examen cytopathologique

Le cytodagnostic est une méthode peu onéreuse, non douloureuse, permettant l'étude des cellules isolées. Il est susceptible d'apporter une aide précieuse au diagnostic de lésion cancéreuse (Cortan et *al.*, 2000) .

I.2.1.1. Objectifs de l'examen cytopathologique

Le cytodagnostic permet :

- de dépister les lésions précancéreuses (cas du col utérin par exemple) ;
- de surveiller l'évolution d'une formation tumorale soumise à un traitement radiothérapeutique en vue de détecter une récurrence ;
- de diagnostiquer les hémopathies malignes par l'étude des éléments figurés du sang ;
- de détecter précocement les lésions cancéreuses cliniquement latentes. Le diagnostic définitif ne sera toutefois arrêté qu'après examen histopathologique (Cortan et *al.*, 2000).

I.2.2. Examen histopathologique

Réalisé sur des fragments de tissus prélevés sur la tumeur soit par biopsie soit lors de son ablation chirurgicale, cet examen repose sur l'étude de la forme et de la structure des cellules (Cortan et *al.*, 2000).

I.2.2.1. Biopsie

La biopsie est un prélèvement d'un fragment de tissu effectué chez un sujet vivant dans une intention d'analyse.

Elle peut être effectuée par une intervention chirurgicale (biopsie ganglionnaire) , par un prélèvement superficiel avec une pince particulière (biopsie du col utérin), par curetage d'une cavité naturelle (biopsie d'endomètre) ou par une ponction d'un organe malade avec des aiguilles spéciales (biopsie rénale) (Yaker., 1984)

.

I.2.2.2 Pièces opératoires

Les pièces opératoires de taille importante doivent être adressées au laboratoire après avoir subi le moins de manipulation possible.

La pièce d'exérèse, une fois prélevée, peut être disséquée, mais à condition que la dissection soit faite selon les règles établies. Elle doit être, fendue de 2 Cm en 2Cm lorsqu'elle réalise une masse importante, pour permettre la pénétration homogène du liquide fixateur et éviter ainsi l'autolyse de la partie centrale de la pièce (Yaker., 1984) (Fig :3).



Figure 3: Dissection d'une pièce d'oesogastrectomie

I.2.2.3 Objectifs de l'examen histopathologique

L'examen histopathologique permet de :

- précise le type histologique rencontré ;
- effectue une étude de la différenciation ;
- précise l'état des limites d'exérèse ;
- précise l'état d'envahissement des ganglions (Yaker., 1984).

Mais pour certains cancers le résultat d'un examen histologique ne permet qu'un diagnostic sommaire dont l'essentiel se traduit par affirmation de malignité ou de bénignité de la formation tumorale (Cortan et *al.* 2000)

Alors, de nouvelles techniques qui sont d'un grand intérêt pour l'identification précise des cellules et des tissus, viennent compléter, voir parfois corriger les conclusions résultant de la seule analyse morphologique comme l'immunohistochimie (IHC), l'hybridation in situ (HIS) et autres (Tidadini., 2006).

I.2.3 Examen immunohistochimique

L'immunohistochimie est une combinaison de deux sciences : l'immunologie et l'histochimie et son but est la mise en évidence précise d'antigènes de localisation membranaire, cytoplasmique ou nucléaire sur coupes de tissu (Tidadini., 2006).

Les qualités principales de ces techniques sont la sensibilité, la spécificité, et la facilité de réalisation (Tidadini., 2006).

I.2.3.1 Objectifs de l'examen immunohistochimique

L'examen immunohistochimique permet :

- La mise en évidence et la localisation cellulaire de marqueurs tissulaires tumoraux par exemple.
- L'observation à la fois du marquage et de la morphologie cellulaire à l'aide d'un microscope optique conventionnel
- La détection de l'origine d'une métastase si elle est présente.
- La mise en évidence de molécules ayant un intérêt pronostique ou thérapeutique (Tidadini., 2006).