

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE BLIDA I

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie et Physiologie cellulaire

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master
En Biologie**

Option : biosignalisation cellulaire et moléculaire: génétique du cancer

**L'ETUDE ANATOMOPATHOLOGIQUE
SEROLOGIQUE ET IMMUNOHISTOCHIMIQUE DES
CARCINOMES DU NASOPHARYNX**

Présenté par :

IDJELLIDINE Mohamed

Soutenu le : 09/10/2014. Devant le jury composé de:

Présidente :	OUARAB S	MCB	Université Blida I
Promotrice :	KALEM. kh.	Professeur	CHU Hussein Dey
Examinatrice :	BENAZOUZ F	MAA	Université Blida I
Examinatrice :	ANANE A	MAA	Université Blida I

2013/2014

Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon dieu le tout puissant qui m'as donné le courage, la volonté et la santé afin d'accomplir ce travail.

Je tiens tout d'abord à faire savoir au Professeur Kalem, combien je suis gêné de ne pouvoir trouver les justes mots pour lui exprimer mes sentiments de reconnaissance pour sa prise en charge, sa disponibilité, son savoir et son savoir faire dont elle m'a gratifié tout le long de ce travail.

Je remercie le chef de service de cancérologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Sidi Gheles à Cherchell, Dr. Benmoufak pour son accueil et son aide. Qu'il trouve dans ces lignes l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire d'anatomopathologie du CHU Hussein Dey et ceux de service de cancérologie de l'EPH de Sidi Ghiles, pour leur accueil, leur disponibilité et leurs conseils techniques.

Mes remerciements vont aussi aux Docteurs OUARAB S, BENAZOUZ F et ANANE A qui m'ont fait l'honneur de juger mon travail.

Et je me saurais trouver le moyen d'exprimer mes remerciements et ma reconnaissance à mes parents pour leur soutien sans limites tout le long de mon parcours.

Et enfin, toute ma famille et tous mes amis pour leurs encouragements, leur soutien et leur présences. Merci à tous.

Tables des Matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abreviations

Resumé

Introduction

Partie Bibliographique

Chapitre I. LE CARCINOME DU NASOPHARYNX

I.1. Anatomie	1
I.2. Histologie.....	2
I.3. Définition.....	2
I.4. La répartition à travers le monde.....	3
I.5. Diagnostic cliniques.....	4
II.6. Classification TNM des carcinomes nasopharynx.....	5

Chapitre II. VIRUS EPSTEIN-BARR

II.1.Taxonomie.....	6
II.2.Structure.....	6
II.3. Génome de virus Epstein Barr.....	7
II.4. Le cycle d'infection de virus Epstein Barr.....	8
II.5. Les types d'infection par le virus Epstein Barr.....	9
II.5.1. L'infection latente.....	10
II.5.1.3. Les protéines de latence de type II.....	12
II.5.2. L'infection lytique.....	13
II.6. La sérologie de l'infection par le virus Epstein Barr.....	15

Chapitre III. LE CARCINOME DU NASOPHARYNX ET LE VRUS EPSTEIN BARR

III.1. La protéine LMP et La voie NF- κ B (Nuclear Factor kappa B)	16
III.2. LMP1 et l'apoptose.....	18

Partie Pratique

Chapitre IV. MATEREIL ET METHODES

IV.1. Matériel.....	21
IV.2. Méthodes.....	21
IV.2.2. Etude histologique.....	21
IV.2.3. La technique immunohistochimie.....	25

Chapitre V. RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Étude épidémiologiques.....	28
V.2. Étude sérologiques.....	32
V.3. L'étude anatomopathologique et immunohistochimiques.....	34
V.3.2. Anatomopathologie.....	34
V.I.3.3. L'étude immunohistochimiques.....	36
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	39

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARN :	Acide ribonucléique
BCL2 :	B-cell lymphoma 2
CNP :	Le carcinome de nasopharynx
CTAR :	C terminal Activatig Region
DAB :	Diaminobenzidine
EA:	Early antigen
EBER:	Epstein-Barr encoded RNA
EBNA1 :	Epstein-Barr nuclear antigen 1
EBV :	Epstein-Barr virus
IgA:	Immunoglobulines de type A
IgG:	Immunoglobulines de type G
IHC:	Immunohistochimie
IKK	IkB Kinase
IKβ	Inhibitor of NF κ B
IR :	Internal Repeats
LMP1:	Latent membrane protein 1
LSAB:	Labelled streptavidine Biotin 2
MNI:	La Mononucléose Infectieuse
MT :	Marqueurs tumoraux
NF-κB:	Nuclear factor-kappa B
PBS :	Phosphate buffered saline
TES :	Transforming Effector Sites
TNF :	Tumor necrosis factor
TNM :	Tumeur primitive, ganglions lymphatiques (node), métastases.
TR :	Terminal Repeats
UCNT :	Carcinome indifférencié de type nasopharyngé
UL :	Unique Long
US :	Unique Short
VADS :	Voies aéro-digestives supérieures
VCA:	Viral capsid antigen
X²:	Test de Khi deux

Liste Des Figures

Figure 1. Anatomie du pharynx.....	1
Figure 2. Histologie du nasopharynx.....	2
Figure 3. La répartition des zones endémiques dans le monde.....	3
Figure 4. Les différentes étapes de diagnostic.....	4
Figure 5. Les différentes familles des Herpesvirus.....	5
Figure 6. Structure de virus Epstein-Barr.....	6
Figure 7. Structure de génome de virus Epstein-Barr.....	8
Figure 8. Le cycle d'infection de virus Epstein Barr.....	9
Figure 9. Les différentes types de latence virales.....	11
Figure 10. Structure de la protéine LMP1.....	12
Figure11. Structure de la protéine EBNA1.....	13
Figure12. La sérologie de l'infection EBV	15
Figure 13. Les différentes voies de signalisations activées par la protéine LMP1	16
Figure14. Les différents rôles de facteurs NF-κB.....	17
Figure 15. L'activation de la voie NFκB par la protéine LMP1.....	18
Figure 16. La structure des proteines de la famille Bcl 2.....	19
Figure 17. Mode d'action de la proteine Bcl 2.....	19
Figure 18. La structure de la proteine P53.....	20
Figure 19. Mode d'action de la proteine P53.....	20
Figure 20. Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie.....	28
Figure 21. La répartition des hommes et femmes	28
Figure 22. Répartition des adultes et des jeunes.....	30
Figure 23. La répartition des malades selon les différents stades de la maladie.....	31
Figure 24. La répartition des différentes biopsies.....	33
Figure 25. Image histologique d'un carcinome du nasopharynx de type UCNT coloration HE (×400)	35
Figure 26. Immunohistochimie de la proteine LMP1.....	36
Figure 27. Immunohistochimie de la proteine P53.....	37
Figure 28. Immunohistochimie de la proteine Bcl-2.....	38

Liste Des Tableaux

Tableau 1. La classification TNM des carcinomes du nasopharynx.....	5
Tableau 2. Les fonctions des protéines de latence virale.....	11
Tableau 3. Les protéines du cycle lytique du virus Epstein Barr.....	14
Tableau 4. La répartition des hommes et femmes.....	29
Tableau 5. La répartition des jeunes et des adultes	30
Tableau 6. La sérologie des malades.....	32

Résumé

L'objectif de cette étude est de contribuer à l'étude de carcinome du nasopharynx on s'intéressant aux différentes caractéristiques de celui-ci : épidémiologiques, anatomopathologiques et immunohistochimique et de démontrer la relation entre ce carcinome et le virus d'Epstein Barr et l'importance de cette relation dans le suivi post thérapeutique.

Nous avons réalisé notre étude à travers une étude rétrospective qui s'est déroulé du 1er janvier 2011 au 31 aout 2014 ; concernant l'épidémiologie et la sérologie et la seconde est l'étude anatomopathologique et immunohistochimique a partir des blocs de paraffine des biopsies.

Dans le cadre l'étude rétrospective nous avons consulté 37 dossiers des malades admis au service de cancérologie de l'EPH de Sidi Ghiles à Cherchell pour une chimiothérapie. Cette étude montre qu'il y a une répartition bimodale, la première chez les jeunes entre 12-25 ans et la deuxième chez les adultes entre 42-64 ans, et la plupart des malades se trouvent dans des stades avancés (stade III et IV).

Concernant l'étude sérologique celle-ci montre que les malades présentent un profile sérologique particulier avec des titres élevés des IgA anti-VCA et IgG anti-EA.

L'étude anatomopathologiques montre que la totalité des patient (100%) sont atteint du carcinome indifférencié de type nasopharyngé (UCNT). Et pour l'étude immunohistochimique des protéines virales de latence de type II exprimé dans les cellules cancéreuses surtout la protéine membranaire LMP1 considérée comme la protéine oncogénique principale du virus et les protéines cellulaires intervenus dans le phénomène de l'apoptose Bcl-2 et P53, cette étude a montré que les protéines sont fortement exprimées dans les cellules cancéreuses suggèrent leurs role dans le phénomène de cancérisation des cellules du nasopharynx.

Mot clés : carcinomes du nasopharynx, virus Epstein-Barr, Histopathologie immunohistochimie, sérologie.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو المساهمة في دراسة هذا السرطان و هذا بالاهتمام بخصائصه الوبائية التشريح المرضي و المناعة النسيجية الكيميائية و استبيان العلاقة بين هذا السرطان و الفيروس Epstein Barr و أهمية هذه العلاقة في المتابعة العلاجية للمرضى.

ومن اجل هذا قمنا بدراستنا على مرحلتين الأولى وهي دراسة الرجعية التي تهتم بالخصائص الوبائية و المصلية و الثانية تهتم التشريح المرضي و المناعة النسيجية الكيميائية.

وفي إطار الدراسة الرجعية قمنا بفحص 37 ملف للمرضى في مصلحة الأمراض السرطانية في المؤسسة الاستشفائية العمومي في سيدي غيلاس شرشال و قمنا باستخلاص المعلومات خاصة الجنس و السن و مختلف المعايير المصلية.

هذه الدراسة بينت هذا المرض يمس شريحتين الأولى لدى الشباب بين 12-25 سنة و الثانية لدى البالغين بين 42-64 سنة و أيضا أغلبية المرضى يتواجدون في المراحل المتقدمة من المرض (في المراحل III و IV).

والدراسة المصلية بينت أن المرضى يملكون في المصل اجسام مضادة محددة مع نسب مرتفعة خاصة الاجسام المضادة من نوع-IgA anti-VCA و IgG anti-EA.

و فيما يخص الدراسة التشريحية المرضية قمنا بها في مصلحة التشريح المرضي في المستشفى الجامعي لحسين داي.

هذه الدراسة تبين ان كل المرضى مصابين سرطان الانسجة غير المتميز (UCNT) و قمنا بدراسة كل المميزات هذا السرطان التي تسمح بتشخيص المختلف عن السرطانات الأخرى للخيشوم.

و في الأخير فيما يخص الدراسة المناعة النسيجية الكيميائية كان اهتمامنا يخص البروتينات الفيروسية في الخلايا السرطانية و خاصة البروتين الغشائي LMP1 و الذي يعتبر البروتين المسرطن الأهم للفيروس و البروتينات الخلوية التي تتدخل في الموت الخلوي Bcl-2 و P53. هذه الدراسة تبين أن هذه البروتينات متواجدة بكثرة في الخلايا السرطانية مما يرجح دور هذه البروتينات في عملية سرطنة هذه الخلايا.

مفتاح الكلمات: سرطان الخيشوم, فيروس Epstein-Barr مرض الانسجة , المناعة النسيجية الكيميائية , الدراسة المصلية.

Abstract

The objective of this study is to contribute to the study of this cancer is interested in the different characteristics of it: epidemiological, pathological and immunohistochemical and demonstrate the relationship between squamous cell carcinoma and Epstein Barr virus and the importance of this relationship in the post therapy followed.

for this our study was conducted in two stages: The first is a retrospective study on the epidemiology and serology and the second is the pathological and immunohistochemical study

Under the retrospective study we consulted 37 records of patients admitted to the cancer ward of the EPH Sidi Ghiles Chercell for chemotherapy and on which there were different epidemiological settings especially age and sex and different serological parameters.

This study shows that there is a bimodal distribution, the first youth between 12-25 years and the second in adults between 42-64 years. In addition, most patients are found in advanced stages (stage III and IV).

And serological study shows that patients have a particular serological profile with high titers especially VCA IgA and IgG EA

For histopathological and immunohistochemical study of this carcinoma, we did it at the service of the University Hospital of pathological Hussein Day.

The pathological study showed that all patients (100%) were infected with undifferentiated nasopharyngeal carcinoma-type (UCNT)

And finally, for the immunohistochemical study was concerned for viral latency proteins type II expressed in cancer cells especially LMP1consideré membrane protein as the main oncogenic protein of the virus and occurred in the phenomenon of cellular apoptosis proteins Bcl-2 and P53. This study showed that the proteins are highly expressed in cancer cells

Keywords : Nasopharyngeal carcinoma, Epstein Barr virus, Epstein Barr virus, immunohistochemical, serology.

Introduction

Les cancers des voies aérodigestives supérieures (VADS) : cavité buccale, pharynx et larynx, représentent le sixième cancer le plus fréquent au monde au monde, ils atteignent des zones anatomiques qui sont essentielles à la vie pour respirer, avaler et communiquer. Ces cancers se répartissent dans tout les pays de monde à cause de leur association avec 2 substances cancérigènes : tabac et alcool. **(Bouhris et Eschweget. 2006)**

Cependant, les carcinomes du nasopharynx représentent une entité clinique, biologique et histologique unique par rapport à ces cancers.

L'une des plus importantes caractéristiques de la maladie est sa distribution géographique à travers le monde, Elle est rare dans la plupart des régions du monde mais endémique dans le Sud Est de l'Asie, et d'endémie intermédiaire à l'Afrique du Nord et surtout en Algérie.

De plus, ce carcinome se caractérise par sa relation avec le virus Epstein-Barr (EBV), l'absence de relation avec l'alcool tabagisme et sa radio-chimio sensibilité, et son étiologie est probablement multifactorielle, impliquant des facteurs génétiques, viraux et environnementaux. **(Busson, Ooka et al .2004)**

En Algérie les carcinomes du nasopharynx sont les premiers cancers ORL avec 1500 à 2000 cas et représentent 6% de l'ensemble des cancers enregistré chaque année, ce cancer pose un sérieux problème de santé publique pour plusieurs raisons malgré son radio-chimio sensibilité. **(Ayadi W.2010)**

En effet, Cette tumeur est remarquable sur le plan clinique par son diagnostic tardif généralement dans les stades III et IV. En plus, l'envahissement ganglionnaire et la dissémination métastatique viscérale (l'os, les poumons, le foie et les structures cérébrales qui sont concernés) est très fréquent au moment du diagnostic ce qui explique une partie les échecs thérapeutiques. Et sur le plan biologique, la seule méthode de confirmer le diagnostic est l'étude anatomopathologique après une biopsie parce que contrairement aux d'autres cancers, cette tumeur n'a pas de marqueur tumoral associé. **(Hasbini et al. 2000)**

Cependant, son association avec le virus Epstein-Barr donne une opportunité de développer certaines approches sérologiques de diagnostic et dépistage. Ces approches ont pour objectif de mettre en évidence des changements de la relation virus-hôte qui précéderaient ou accompagneraient le développement de la tumeur ou en cas de récurrence post thérapeutiques.

Toute ces caractéristiques rendent le carcinome indifférencié de type nasopharyngé (UCNT) un modèle d'étude unique dans le domaine de la biologie des cancers.

L'objectif de notre travail est d'étudier les aspects morphologique et moléculaire du ce carcinome (maitriser les différentes étapes techniques : déshydratation, coupe au microtome, confection de lame, coloration des lames a l'hématéine éosine, apprendre la technique d'immunohistochimie et l'appliquer au CNP et la recherche des facteurs histopronostiques de cette tumeur.

Nous présenterons successivement quelques rappels sur les carcinomes du nasopharynx puis quelques voies de signalisation des protéines LMP1, P53 et Bcl-2.

La deuxième partie sera consacrée au matériel et méthodes utilisées dans ce travail. Il est suivi du chapitre « Résultats ». Ces derniers seront discutés par comparaison aux données la littérature, puis nous terminerons par une conclusion générale.

Partie Bibliographique

CHAPITRE I
CARCINOME DU
NASOPHARYNX

I.1. Anatomie

Le nasopharynx, appelé aussi rhinopharynx ou cavum, est l'étage supérieur du pharynx. Il constitue un carrefour entre la région cranio encéphalique et les espaces profonds de la face. On distingue trois régions :

- une paroi postéro-supérieure ou toit du cavum.
- deux parois latérales, avec l'orifice tubaire et la fossette de Rosenmüller (appelée aussi récessus pharyngé latéral).
- une paroi inférieure, constituée par la face supérieure du voile du palais (**Tortora et Grabowski. 1994**).

Le nasopharynx a plusieurs rôles : rôle pressonnier pour l'oreille : Trompe d'Eustache, rôle phonatoire : module le son, et un rôle dans la déglutition : fermeture du cavum par la contraction du voile pour éviter le reflux nasal

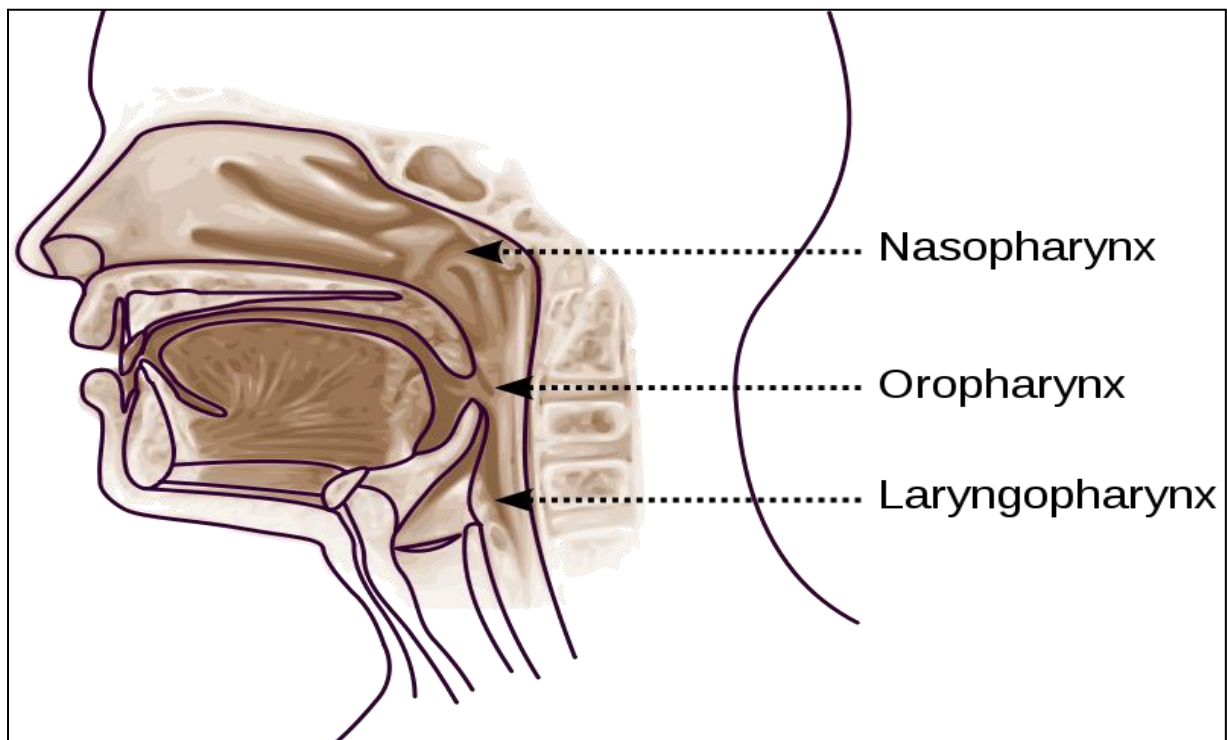


Figure 1. Anatomie du pharynx (Stevence et lowe .1997)

I.2. Histologie

Le nasopharynx est bordé par un épithélium respiratoire, il comporte de nombreuses structures lympho-épithéliales qui se retrouvent aussi diffusément dans la muqueuse des parois latérales et postérieures.

La muqueuse respiratoire comprend un épithélium pseudostratifié cilié riche en cellules caliciformes et un chorion contenant des glandes séromuqueuses, des formations lymphoïdes, et de nombreux vaisseaux et nerfs. **(Stevens et Lowe. 1999).**

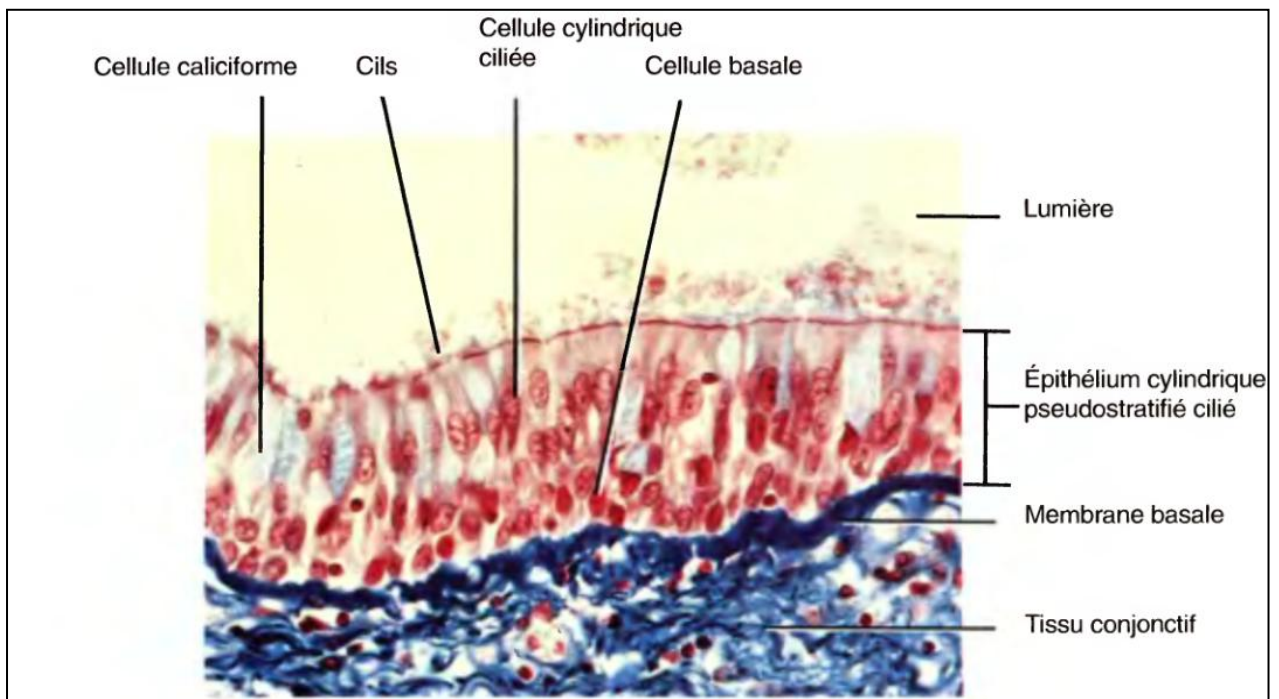


Figure 2. L'histologie du nasopharynx (Stevens et Lowe. 1999)

I.3. Définition

Le carcinome du nasopharynx est une tumeur qui se développe aux dépens de l'épithélium localisé dans la partie postérieure du cavum. Cette pathologie a été décrite pour la première fois en 1921 par Regaud et Schmincke.

Ces carcinomes sont d'origine épidermoïde et représentent 90 % des tumeurs nasopharyngées). C'est l'une des tumeurs les plus agressives de la tête et du cou avec une évolutivité tumorale importante et un potentiel métastatique élevé **(Bouhris et Eschweget. 2006)**

I.4. La répartition à travers le monde

Le carcinome du nasopharynx est rare dans la majorité des pays du monde sauf dans certaines zones endémiques. Il existe 3 zones :

-une zone à haute fréquence avec le Chine du sud où l'incidence annuelle est de (> 10) pour 100.000 habitants.

-Une zone à fréquence intermédiaire où l'incidence varie entre 3 à 3.5 pour 100.000 habitants avec principalement le bassin méditerranéen (Maghreb et Moyen Orient) et le sud-est asiatique

.-Une zone à faible fréquence représentée par l'Europe et l'Amérique de nord où l'incidence varie entre ≤ 1.7 pour 100.000 habitants (Busson, Ooka et al .2004).

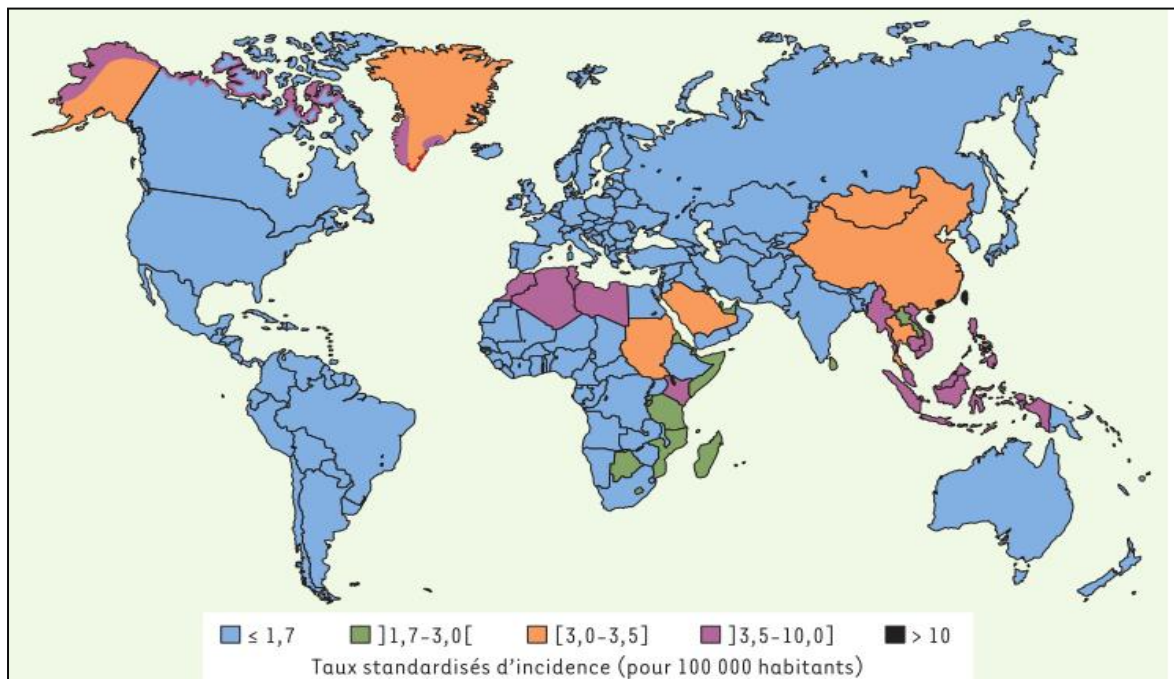


Figure 3. La répartition des zones endémiques pour le carcinome du cavum (Busson, Ooka et al .2004)

II.3. Les différentes démarches de diagnostic clinique

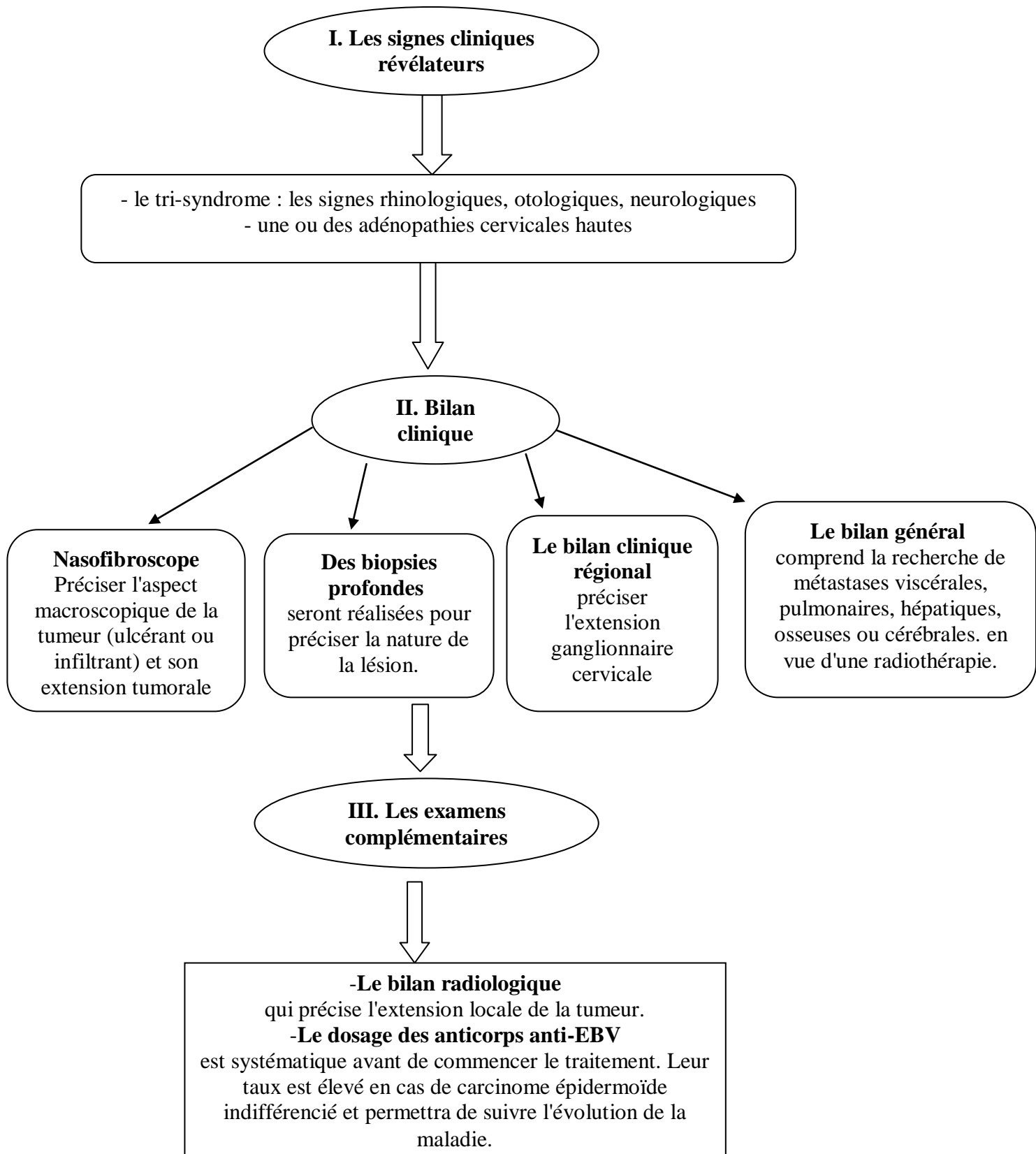


Figure 4. Les différentes démarches pour le diagnostic de carcinome du nasopharynx (Bouhris et Eschweget . 2006)

II.4. Classification TNM des carcinomes nasopharynx

Au terme de ce bilan, la tumeur sera classée selon la classification TNM. Plusieurs systèmes de classification sont utilisés dans les différents pays du monde. Mais, la classification de l'UICC/AJC modifiée en 1997 est la plus utilisée, elle introduit des éléments de l'imagerie moderne (TDM/IRM) non encore utilisée dans la classification classique (Kerboua , Bouzid. 2003).

Tableau 1. La classification TNM des carcinomes nasopharynx (Kerboua, Bouzid . 2003).

T	N	M
T1 : tumeur localisée à un seul site du nasopharynx. T2 : tumeur étendue aux parties molles de l'oropharynx et /ou aux fosses nasales. T3 : tumeur envahissant les structures osseuses ou les sinus maxillaires. T4 : tumeur avec extension intracrânienne et /ou atteinte des nerfs crâniens.	N1 : adénopathie métastatique unique unilatérale ≤ 3 cm dans sa plus grande dimension. N2 : adénopathie métastatique unique unilatérale >3 cm mais ≤ 6 cm dans sa plus grande dimension. N3 : adénopathie métastatique >6 cm dans sa plus grande dimension.	M0 : absence de métastase viscérale à distance. M1 : présence de métastases à distance.
Stades		
Stade I : T1N0M0 Stade II : T1N1M0 T2N0M0 T2N1M0 Stade III : T3N0-2M0 T1-2N2M0 Stade IV : T4N3M1		

CHAPITRE II
LE VIRUS EPSTEIN BARR

II.1. Taxonomie

Le virus Epstein Barr (EBV) appartient à la famille des Herpesviridae humains, Ces herpesvirus humaines sont regroupés en trois sous-familles : les Alpha-herpesvirinae, beta-herpesvirinae et Gamma-herpesvirinae dont le virus Epstein-Barr appartient (OUK . 2008).

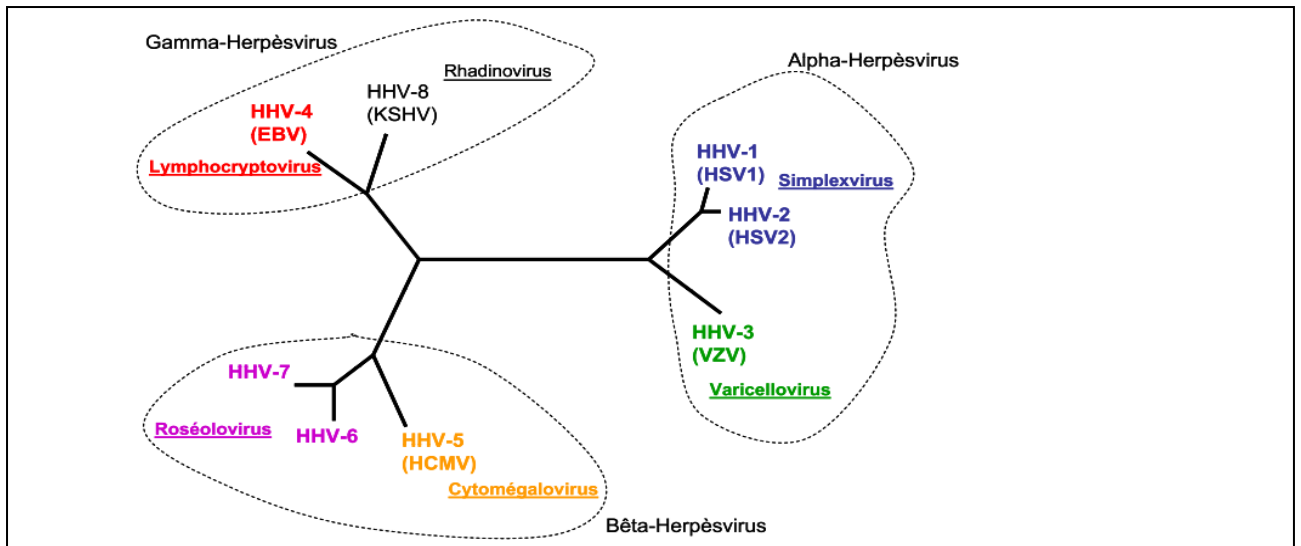


Figure 5. Les différentes sous-familles des Herpesvirus (OUK. 2008)

II.2. Structure

La particule virale a une forme plus ou moins sphérique et une taille de 120-200 nm. Elle est constituée de différentes parties:

- une nucléocapside constituée du génome viral linéaire et d'une capsidie icosaédrique formée de 162 unités structurales ou capsomères.
- un tégment qui se trouve entre la nucléocapside et l'enveloppe. La protéine de 152 kDa est majoritaire dans le tégment.
- une enveloppe externe avec des spicules de glycoprotéines. La gp350/220 est la protéine la plus abondante dans l'enveloppe (Van Regenmortel et Mahy. 2010).

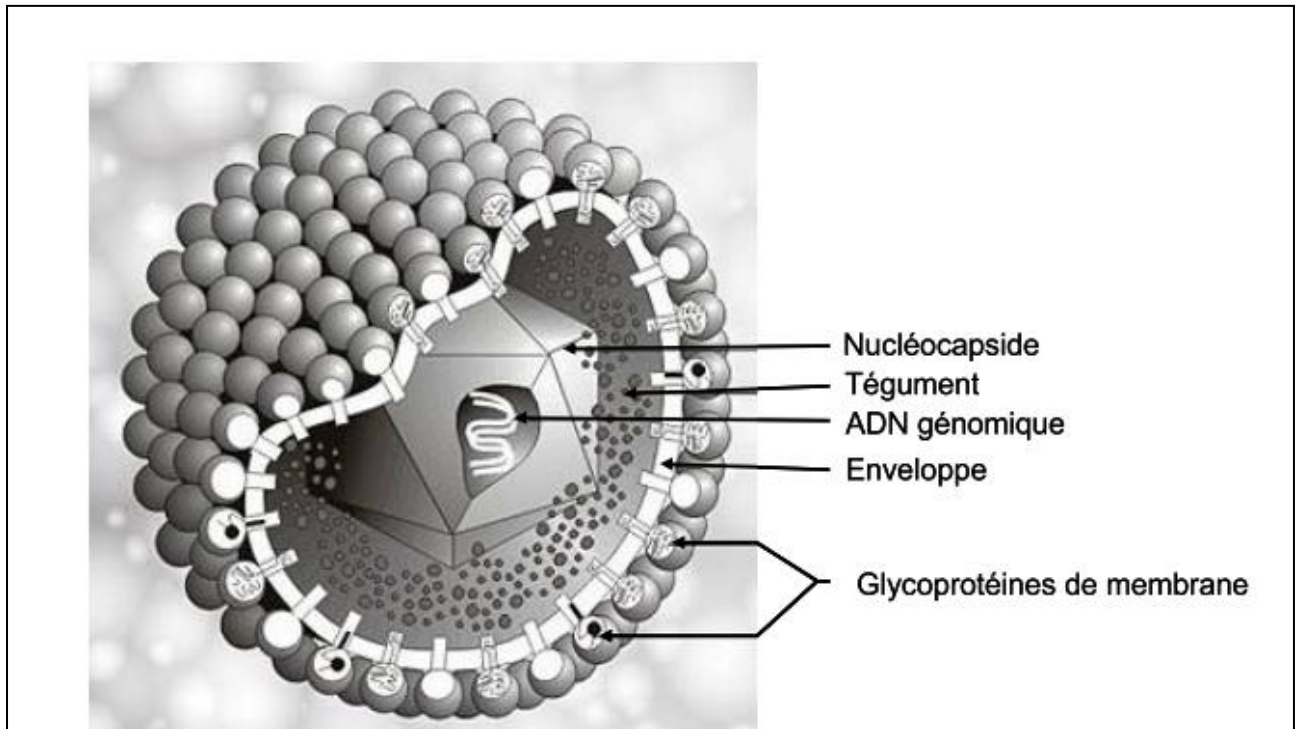


Figure 6. Structure de virus Epstein-Barr (MORALES. 2009)

II.3. Génome de virus Epstein Barr

Le génome de l'Epstein Barr c'est une molécule d'ADN double brin de 172 Kpb, et une capacité de codage pour 100 à 150 protéines.

Il est divisé en plusieurs domaines uniques, séparés par des répétitions internes (Internal Repeats) (IR1-IR4). La séquence IR1 divise le génome en un domaine unique long (UL pour Unique Long) et un domaine unique court (US pour Unique Short).

Chaque extrémité comporte des répétitions terminales (TR pour Terminal Repeats) de 538pb, qui permettent la circularisation du génome sous forme circulaire dans certaines circonstances lors de la réplication de l'ADN. Mais, à l'intérieur du virion, la molécule d'ADN se présente toujours sous forme linéaire. (MORALES. 2009)

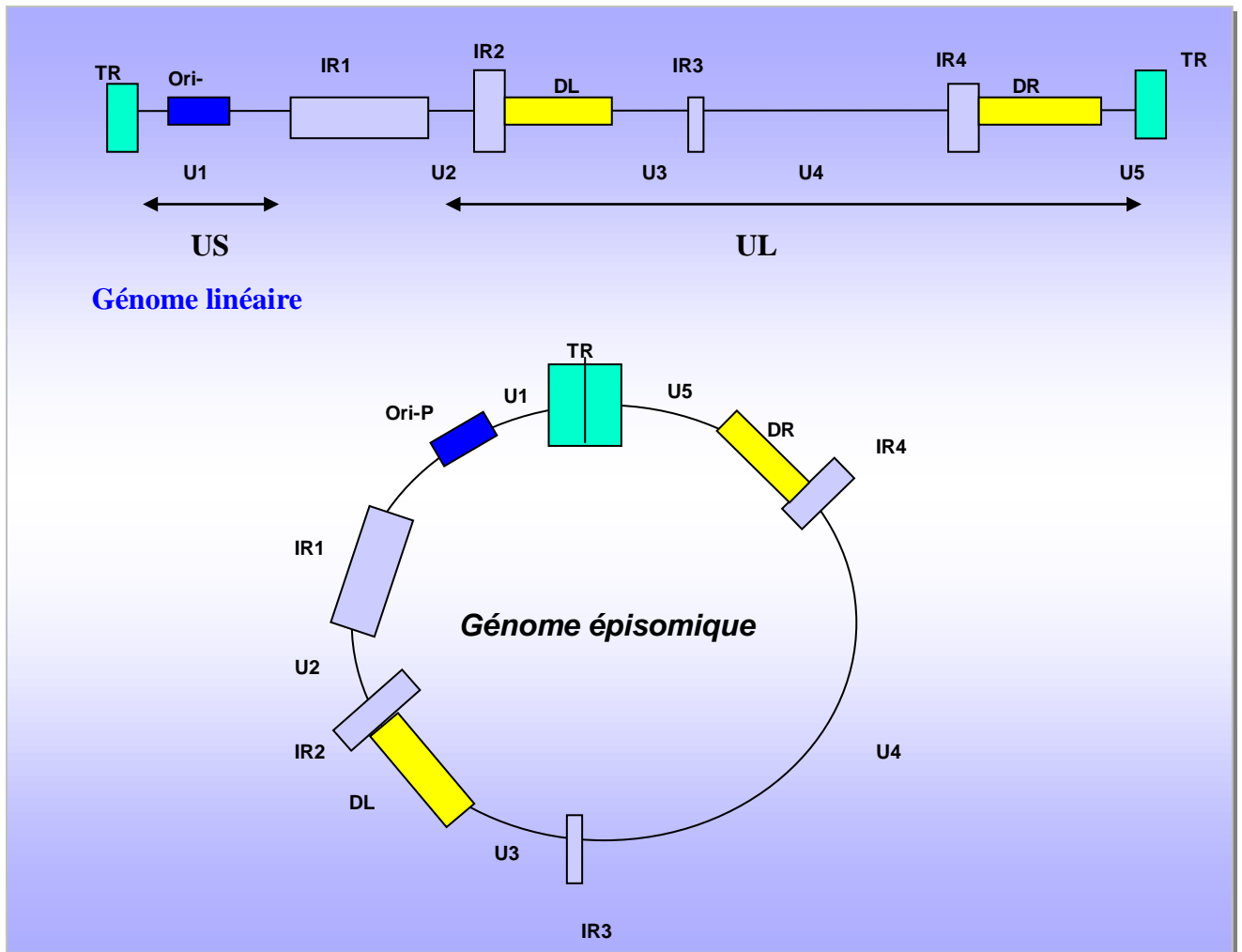


Figure 7. Structure de génome de virus Epstein-Barr (MORALES. 2009)

II.4. Le cycle d'infection de virus Epstein Barr

La primo-infection par EBV se fait le plus souvent par la salive. Les muqueuses pouvant être en contact avec la salive contaminée sont très infiltrées de lymphocytes, ce qui pourrait permettre un contact direct entre le virus et des lymphocytes B à ce niveau.

A partir de là, le virus se répand à travers les tissus lymphoïdes sous la forme de cellules B infectées et proliférantes, certaines réussissent à échapper à la réponse immunitaire T en diminuant l'expression de leurs antigènes et établissent alors un réservoir viral stable.

Occasionnellement ces cellules infectées peuvent être recrutées dans les centres germinatifs, dans ce cas, les cellules se dirigent probablement vers des muqueuses de l'oropharynx et activent leur cycle lytique au cours de la différenciation.

Les virions produits à cet endroit peuvent engendrer des foyers de réplication virale en infectant des cellules épithéliales permissives. Cela permet alors un relargage de particules virales infectieuses dans la cavité oropharyngée, ainsi que de nouvelles infections transformantes de cellules B naïves ou mémoires. (Seigneurin. 2006)

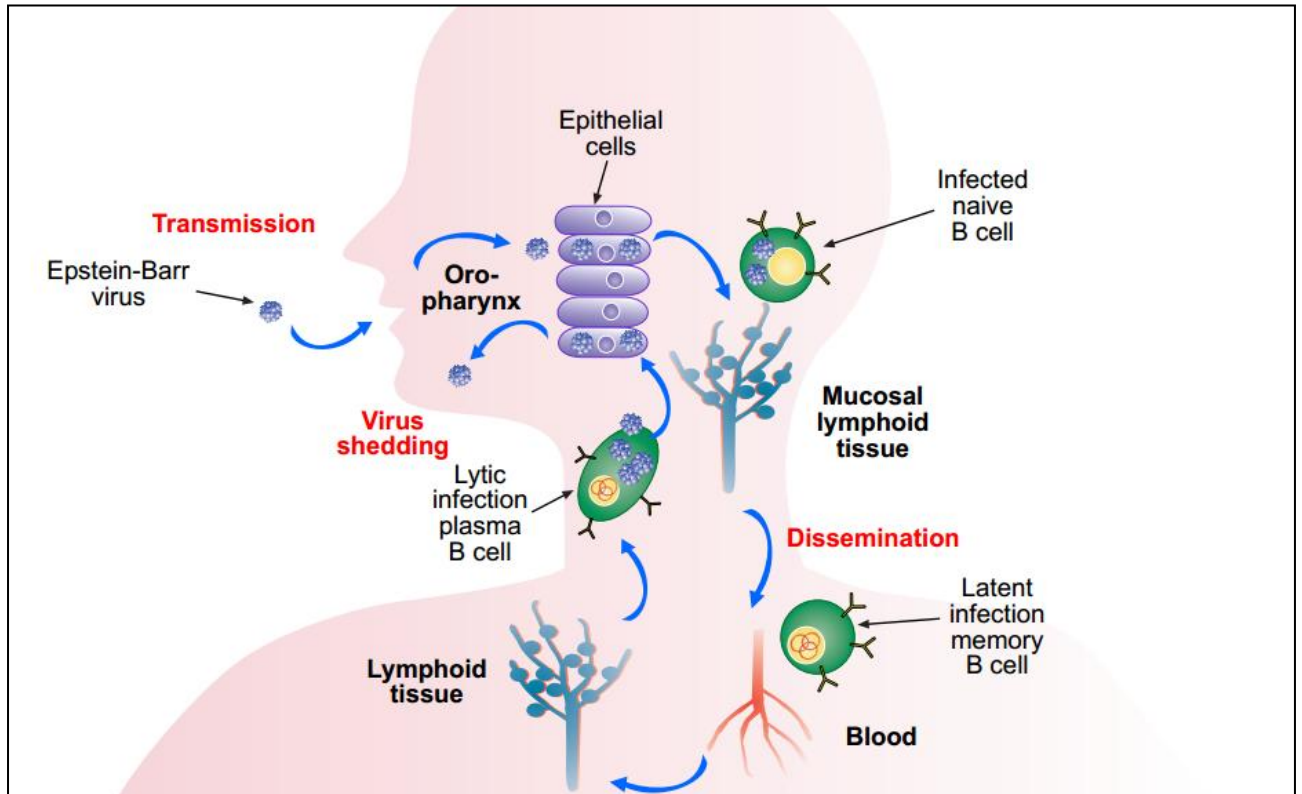


Figure 8. Le cycle d'infection de virus Epstein Barr (Seigneurin. 2006)

II.5. Les types d'infection par l'EBV

Comme tous les membres de la famille des herpesvirus, deux types d'infection sont décrits : une infection latente et une infection lytique.

L'infection latente permet le maintien du génome viral sous forme d'épisome à l'intérieur des noyaux cellulaires des cellules infectées, favorisant ainsi leur prolifération et la persistance de l'EBV. Alors que, l'infection lytique déclenche la production et la libération de nouvelles particules virales, pouvant infecter les cellules avoisinantes (Van Regenmortel et Mahy. 2010).

II.5.1. L'infection latente

Lors de l'infection latente, seuls quelques gènes viraux, appelés gènes de latence, sont transcrits, elles comprennent 6 protéines nucléaires (EBNAs) et 3 protéines membranaires (LMPs) ; de plus 2 gènes sont transcrits en grande quantité, (Epstein-Barr Encoded small RNAs, ou EBERs), mais non traduits en protéines.

II.5.1.2. Les différents types de latences virales

Le profil d'expression des gènes de latence n'est pas identique dans tous les contextes cellulaires d'infection par le virus Epstein Barr.

En effet, on distingue quatre types de latence virale en fonction des différents gènes exprimés :

-**Latence I:** est celle que l'on trouve dans le lymphome de Burkitt, seule EBNA 1 est exprimée.

- **Latence II:** (appelée aussi programme par défaut) est caractéristique du carcinome du nasopharynx (CNP), de la maladie de Hodgkin et de certains lymphomes T/NK et se caractérise par l'expression des protéines EBNA1 + LMP1 + LMP2.

- **Latence III:** (appelée aussi programme de croissance) se retrouve dans les LCL transformées in vitro par EBV et dans les lymphoproliférations des sujets immunodéprimés. Elle s'accompagne de l'expression des 9 protéines de latence (toutes les protéines de latence).

Ces trois types de latence ont en commun l'expression des ARN non transcrit EBER
(Ballout M. 2005).

Chez les personnes infectées de façon persistante et asymptomatique, le réservoir viral majeur est une partie des lymphocytes B mémoires de l'hôte, où l'EBV se maintient en latence de type 0 (appelée aussi programme latent). Durant cette latence, les EBER sont transcrits mais aucune protéine virale n'est exprimée (OUK . 2008).

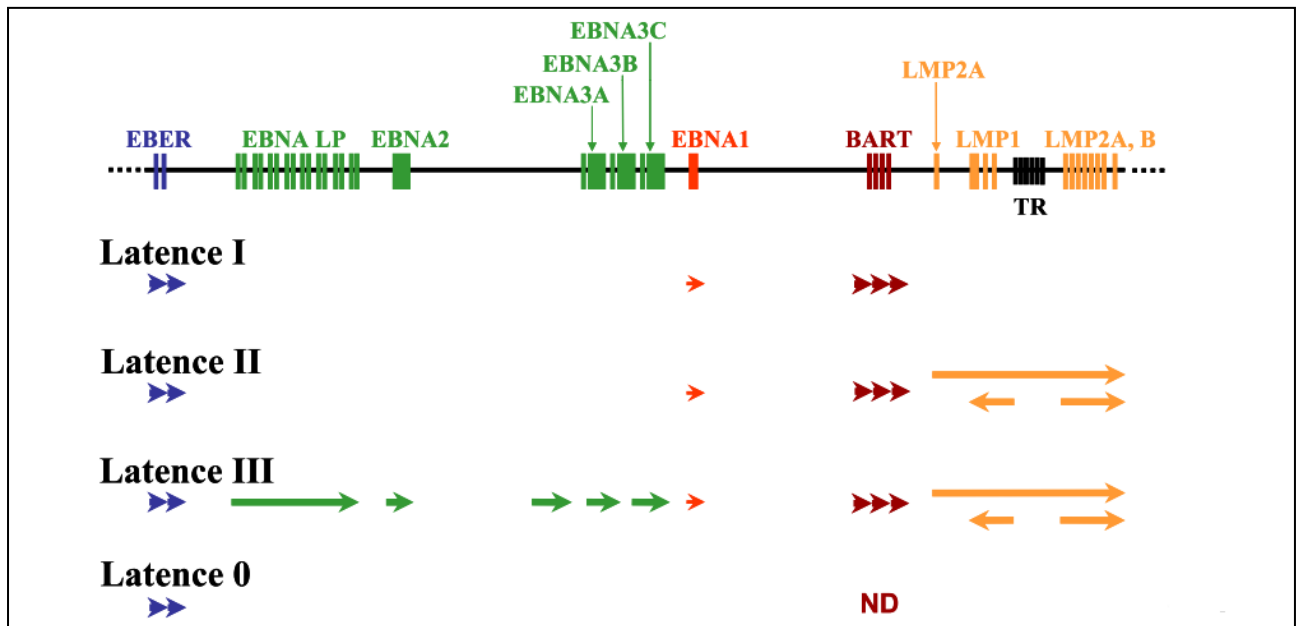


Figure 9. Les différents types de latences virales (OUK. 2008)

Tableau 2. Les fonctions des protéines de latence du virus Epstein Barr

Protéines virales	Latence	Localisation	Fonctions principales
EBNA1	I, II, III	Nucléaire	Maintien du génome viral sous forme épisomale
EBNA2	III	Nucléaire	Immortalisation des LB, activateur de transcription cellulaire et virale
EBNA3A (ou EBNA3)	III	Nucléaire	Répresseur de l'action d'EBNA2, se lie à RBP-Jkappa, participe à l'immortalisation des LB
EBNA3B (ou EBNA4)	III	Nucléaire	Inconnue, se lie à RBP-Jkappa
EBNA3C (ou EBNA6)	III	Nucléaire	Répresseur de l'action d'EBNA2, action sur le cycle cellulaire, se lie à RBP-Jkappa, participe à l'immortalisation
EBNALP (ou EBNA5)	III	Nucléaire	Cofacteur de EBNA2, interagit avec p53 et Rb
LMP1	II, III	Membranaire	Oncogène majeur Transducteur de signaux via TRAF vers NF-KB et JNK, induit bcl2

II.5.1.3. Les protéines de latence de type II

➤ La protéine LMP1

LMP-1 est une protéine membranaire de 63 kDa et dont la séquence primaire comporte 386 acides aminés. La structure de LMP-1 peut être subdivisée en trois parties : un segment N-terminal cytosolique de 24 acides aminés, de 6 domaines transmembranaires, ainsi qu'une queue C-terminale cytosolique de 200 acides aminés.

Les domaines N-terminal et transmembranaire sont responsables de l'ancrage de LMP1 à la membrane et de son agrégation constitutive. Le domaine C-terminal cytoplasmique est impliqué dans l'activation des voies de signalisation cellulaire induites par LMP1 (Clorennec . 2006).

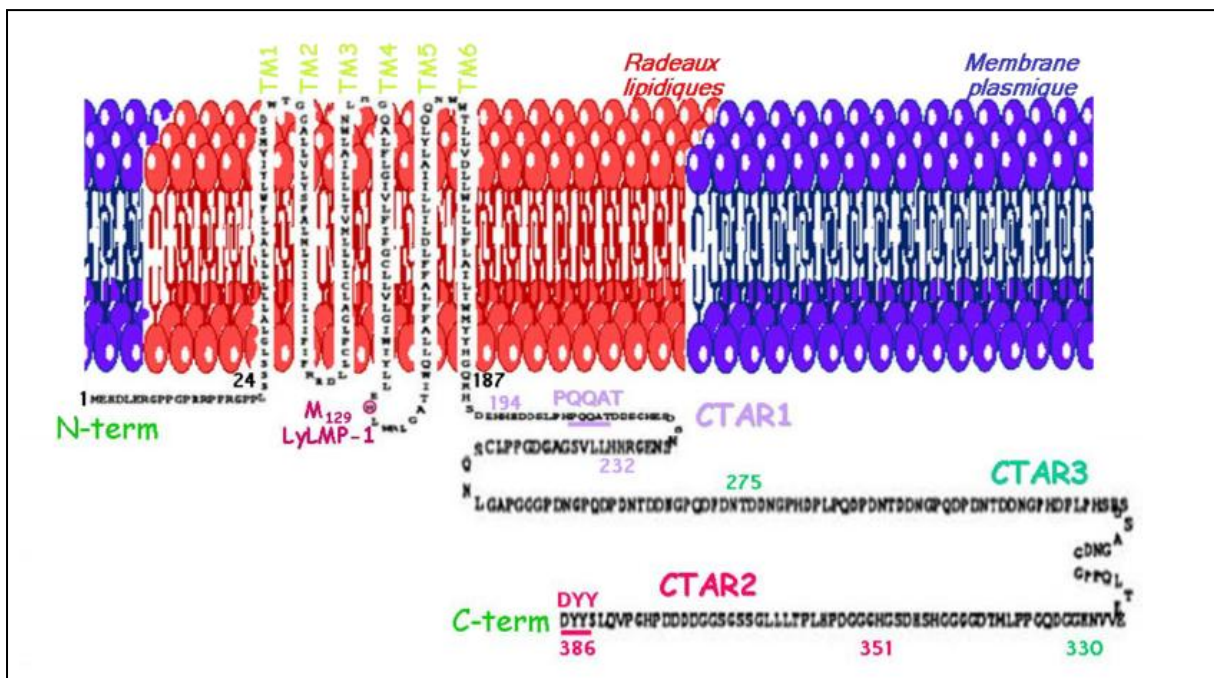


Figure 10. Structure de la protéine LMP1 (Clorennec. 2006)

➤ La protéine EBNA I

La protéine EBNA-1 est la protéine de latence requise pour la réplication et la maintenance de l'épisome viral durant les divisions cellulaires.

Composée de 641 acides aminés, elle est constituée d'un domaine amino-terminal basique, riche en répétition Glycine-Alanine, d'un court domaine également basique contenant un signal de localisation nucléaire et d'un long domaine carboxy-terminal hydrophobe contenant les domaines de dimérisation et de fixation à l'ADN (OUK. 2008).

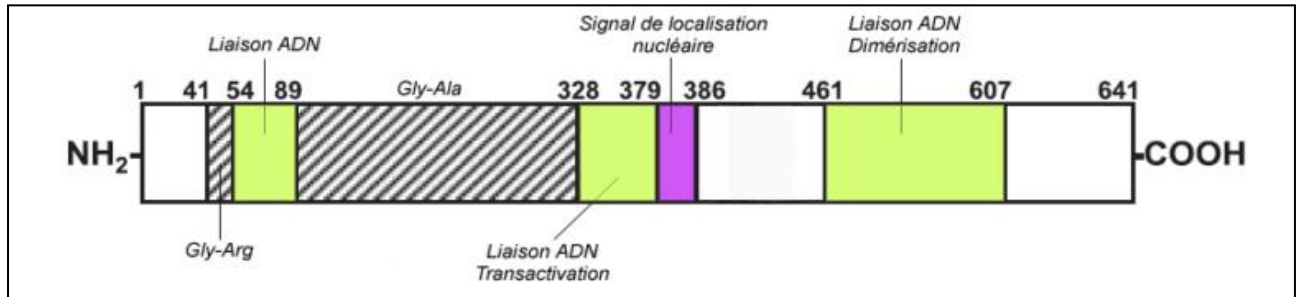


Figure 11. Structure de la protéine EBNA1 (OUK. 2008)

➤ Les ARN viraux EBER

Les ARN EBER (EBV Encoded RNA) sont des petits ARN nucléaires non polyadénylés qui sont exprimés dans tous les programmes de latence d'EBV.

La particularité de ces petits ARN est leur très grande quantité (plus d'une centaine de copies par cellule). Ils sont complexés à des protéines nucléaires pour former des complexes ribonucléoprotéiques très stables. Les ARN EBER semblent impliqués dans l'épissage des transcrits EBNA et LMP (Chanut. 2010).

II.5.2. L'infection lytique

Le cycle lytique aboutit à l'amplification du génome viral, la production de nouveaux virions et la diffusion de l'EBV.

Le passage de la phase de latence à la phase lytique peut-être influencé par l'environnement dans lequel se trouve la cellule qui devient alors permissive à la réplication virale. Le cycle lytique peut être induit en utilisant des agents chimiques comme le butyrate de sodium et des esters de phorbol (OUK. 2008).

La fabrication d'une particule virale nécessite la synthèse de protéines dites tardives (protéines de structure), précédée obligatoirement par celle de protéines dites précoces et de

protéines très précoces (ou « précoces immédiates »).

La transcription des gènes « très précoces » du génome viral, notamment les facteurs de transcription nucléaires (ZEBRA), conduit à l'activation de l'expression des gènes précoces. Les produits de ces derniers, comme l'ADN-polymérase virale et d'autres enzymes responsables de la synthèse de l'ADN, répliquent l'ADN à partir de l'origine de réplication « lytique » (ou Ori-Lyt). C'est à partir de ces nouvelles molécules linéaires de génome EBV que les gènes tardifs sont transcrits : les protéines synthétisées sont celles de la capsid et des glycoprotéines de l'enveloppe (MORALES. 2009).

Tableau 03. Les protéines du cycle lytique du virus Epstein Barr

Les protéines du cycle lytique	Fonction ou caractère de la protéine
<i>Les protéines précoces</i>	
BSMLF1 et BMRF1	Transactiver l'expression d'autres gènes EBV précoces
BALF2	Protéine majeure de liaison à l'ADN
BHRF1 EA-R nuclear antigen	Composant du complexe antigène précoce
BALF5	ADN polymérase ADN-dépendante
BORF2 et BaRF1	Ribonucléotide réductase
BXLF1	Thymidine kinase
BGLF5	Exonucléase alcaline ou ADNase
BKRF3	Uracile ADN-glycosidase
BGLF4	Protéine kinase Sérine/thréonine
BRRF1, BKRF4 et autres	n'ont pas de fonction connue
<i>Quelques protéines tardives</i>	
BNRF1	Protéine du tégument
BXRF1	Protéine de fusion
BILF2	glycoprotéine
BLLF1	gp350/220
BALF4	glycoprotéine B
BXLF2	glycoprotéine H
ILF2	gp55/80
BDLF3	gp42

II.6. La sérologie de l'infection par le virus Epstein Barr

L'EBV c'est un virus ubiquitaires qui infecte pres de 95% de la population adulte. Après la primo-infection, l'EBV persiste à l'état de latence toute la vie dans l'organisme, le plus souvent sans aucune conséquence pathologique apparente pour l'hôte infecté, on peut ainsi parler de « persistance normale du virus chez l'individu »

La plupart des patients diagnostiqués au cours de la phase aiguë de l'infection présente un titre conséquent en anticorps IgM anti-VCA qui disparaît par la suite, et un taux croissant d'IgG anti-VCA et EBNA, jusqu'à atteindre un niveau stable et elles persisteront toute la vie, témoignant d'une infection ancienne (**Seigneurin. 2006**).

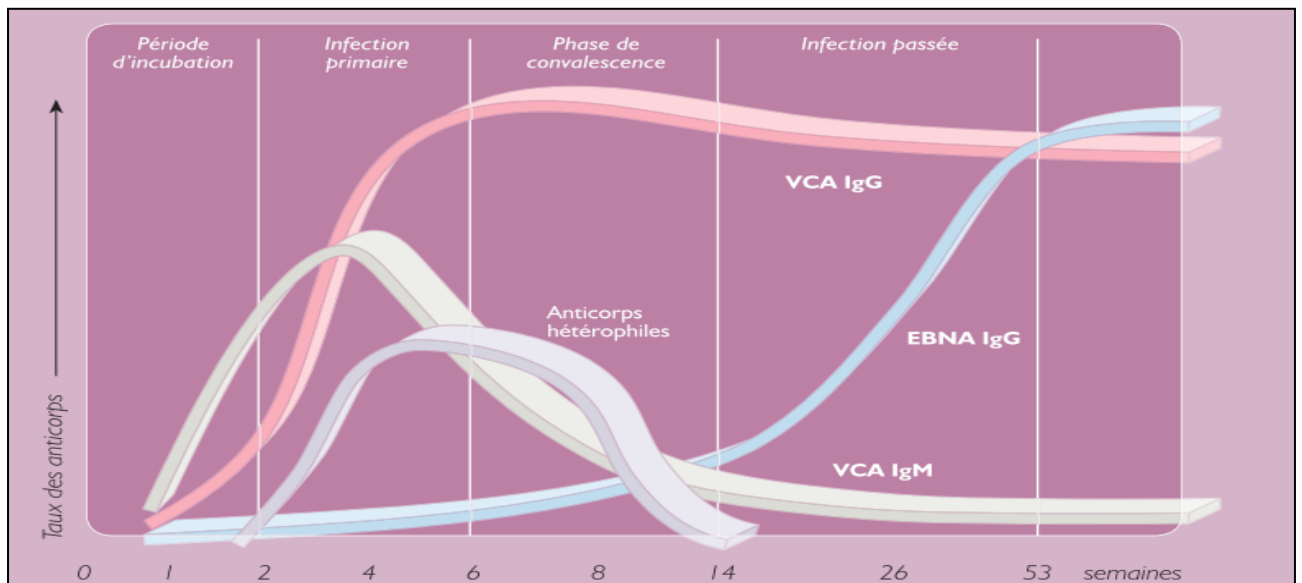


Figure 12. La sérologie de l'infection EBV (Seigneurin. 2006)

CHAPITRE III

LE CARCINOME DU

NASOPHARYNX ET VIRUS

EPSTEIN BARR

Le virus Epstein-Barr (EBV) est l'un des facteurs étiologiques les plus importants, son génome est détecté dans toutes les noyaux des cellules tumorales ou il se maintient dans sa phase de latence II.

Les protéines de latence dérèglent un certain nombre de fonctions cellulaires en détournant la régulation transcriptionnelle et différentes voies de signalisation cellulaire, aboutissant à l'immortalisation de la cellule-hôte (annexe I). LMP-1 est considéré comme l'oncogène majeur du virus et grâce à sa signalisation, LMP1 présente des propriétés immortalisantes et transformantes, et est responsable de nombreux changements phénotypiques dans les cellules infectées par l'EBV (Brocqueville. 2011).

III.1. La protéine LMP et La voie NF-κB (Nuclear Factor kappa B)

La région de LMP1 responsable de l'induction des voies de signalisation cellulaire est incluse dans la partie C-terminal cytoplasmique de la protéine.

Cette région se subdivise en 2 domaines importants «C terminal Activating Region» CTAR1 et CTAR-2 qui incluent eux-mêmes les sites « Transforming Effector Sites » TES1 et TES2, dont les rôles dans la signalisation et la transformation se recouvrent en grande partie. Ces 2 domaines sont responsables de l'activation des voies p38 et JNK/AP1 et de NF-κB (OUK. 2008).

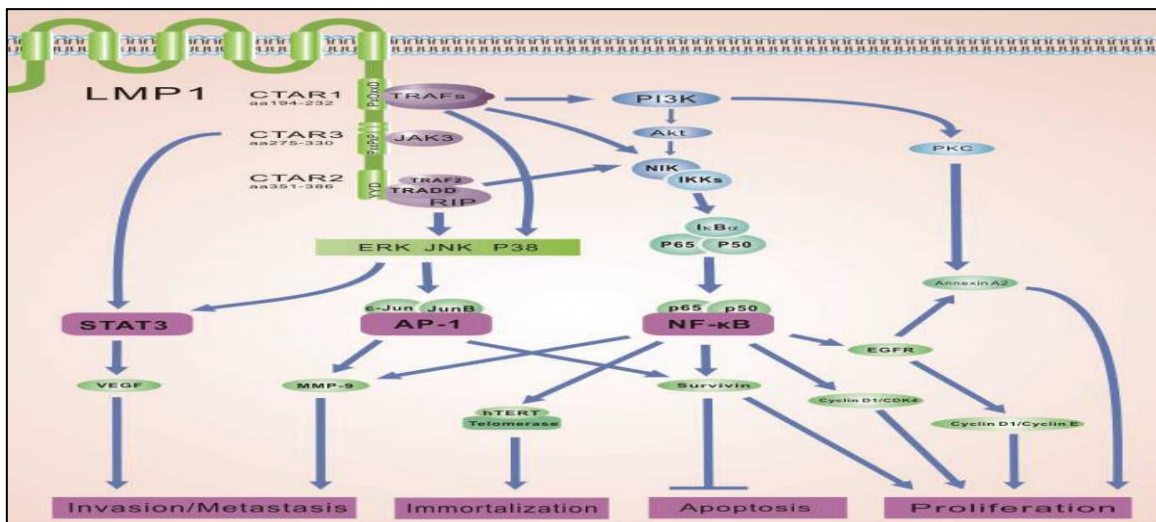


Figure 13. Les différentes voies de signalisations activées par la protéine LMP1 (BROCQUEVILLE. 2011)

III.1.1. La voie NF- κ B (Nuclear Factor kappa B)

De toutes les voies de signalisation activées par la protéine LMP-1, les voies d'activation de NF κ B sont prédominantes. Le facteur NF- κ B est ubiquitaire. Il est impliqué dans le contrôle d'un grand nombre de processus cellulaires, comme la réponse immunitaire, la croissance cellulaire et l'apoptose (Chanut. 2010).

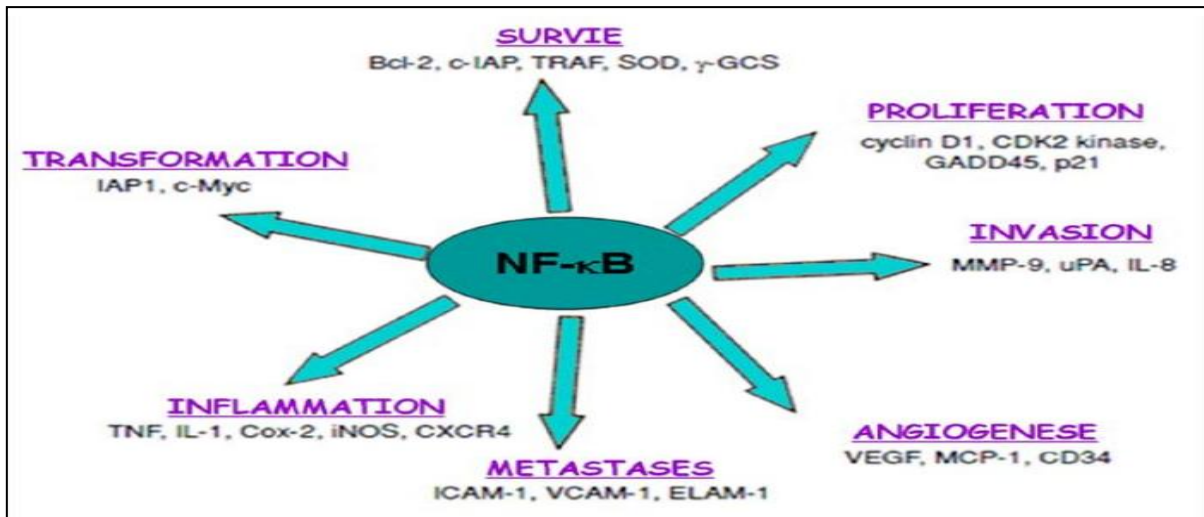


Figure 14. Les différents rôles de facteur NF- κ B (Chanut. 2010)

III.1.1.3. La protéine LMP1 et la voie de signalisation NF κ B

L'activation de la voie NF κ B nécessite, au préalable, l'oligomérisation de LMP-1. Deux domaines sont particulièrement essentiels, CTAR1/TES1 qui active la voie canonique et CTAR2/TES2 qui active la voie non canonique. Et, contrairement aux récepteurs cellulaires dont l'activation dépend d'un ligand, LMP-1 est constitutivement actif et son expression se traduit par un détournement et une dérégulation chronique de voies de transduction et de leurs gènes cibles impliqués notamment dans des processus prolifératifs (Chanut. 2010).

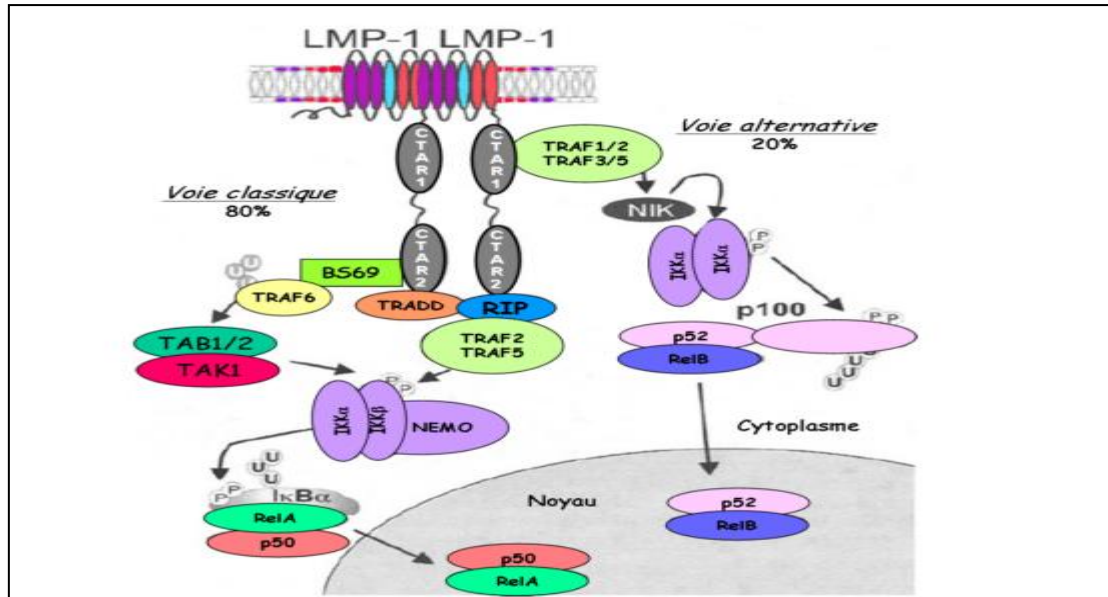


Figure 15. L'activation de la voie NFκB par la protéine LMP1 (Chanut. 2010)

III.2. LMP1 et l'apoptose

LMP-1 intervient dans différentes fonctions cellulaires par l'intermédiaire de l'activation des complexes NF-κB favorisant le processus de transformation en favorisant la protection contre l'apoptose, la prolifération, l'inflammation et l'instabilité génétique, en induisant l'expression de molécules anti-apoptotiques comme la protéine Bcl-2 et réprime l'expression des molécules pro-apoptotique Bax et probablement la protéine P53 (OUK . 2008).

III.2.1. L'oncogène Bcl-2

Bcl-2 est une protéine d'une famille de gènes qui peuvent être soit pro-apoptotiques entre autres Bax, Bak, Bok, Bad Bid et Bim ou anti apoptotiques parmi lesquels Bcl-2, Bcl-xL.

La protéine Bcl-2 est une protéine de 239 acides aminés dont le gène est situé, chez l'homme, sur le chromosome 18 au locus q21.33. Elle est constituée de quatre domaines d'homologie qui sont aussi présents chez d'autres protéines de la même famille. Ce sont ces domaines, ainsi que son domaine transmembranaire qui lui permettent d'avoir une action sur l'apoptose (Yip et Reed .2008).

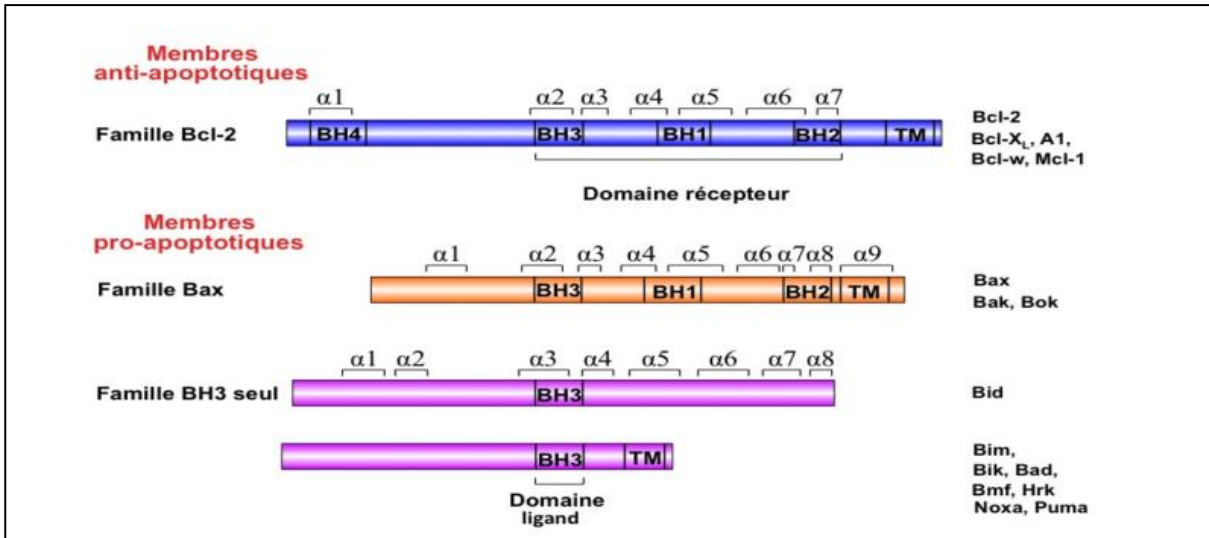


Figure 16. La structure des protéines de la famille Bcl 2 (Maamer. 2013)

III.2.1.1. Fonction de la protéine Bcl-2

La protéine Bcl-2 est capable d'inhiber l'apoptose. L'homodimère de Bax se fixe à la membrane externe mitochondriale. Cette fixation entraîne une perforation de la membrane mitochondriale et un relargage de cytochrome c dans le cytosol. Grâce à sa localisation dans la membrane mitochondriale, elle empêche l'homodimérisation de Bax, de Bak et de certaines autres protéines pro-apoptotiques multi-domaines de la même famille (Yip and Reed. 2008).

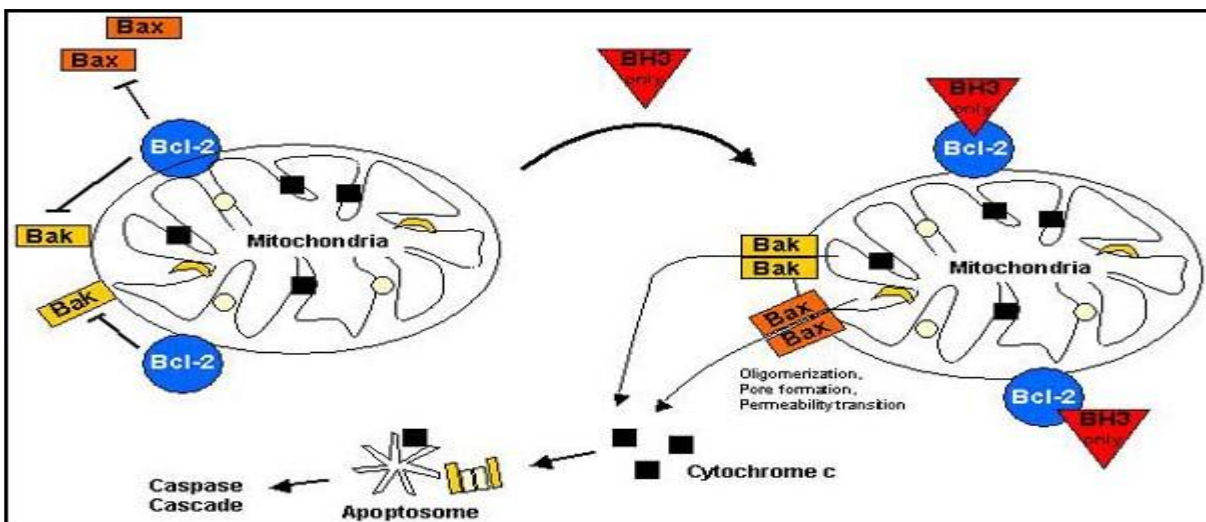


Figure 17. Mode d'action de la protéine Bcl 2 (Yip and Reed .2008)

III.2.2. La protéine P 53

La protéine P53 est constituée de 6 différents domaines fonctionnels : le domaine d’activation de la transcription (TAD), une région riche en proline (PRR), le domaine de liaison à l’ADN (DBD) la région contenant le signal de localisation au noyau, le domaine d’oligomérisation et le domaine C-terminal régulatrice.

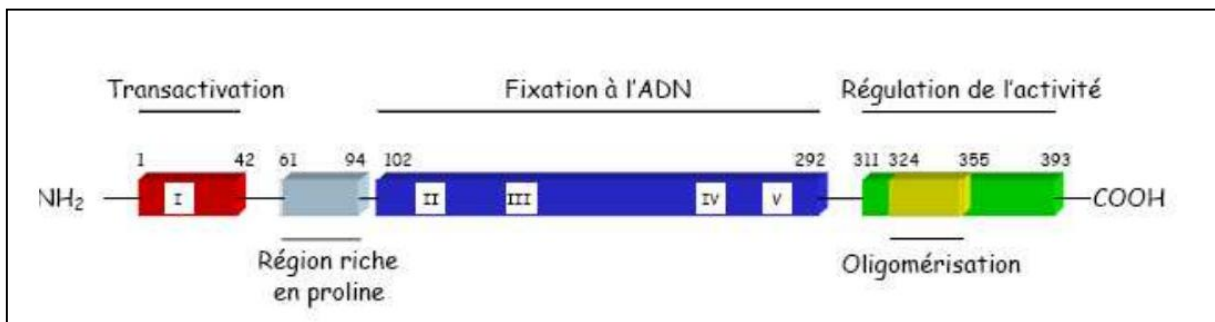


Figure 18. La structure de la protéine P 53

III.2.2.1. Fonction de la protéine P53

La fonction première de la protéine p53 est d’agir en tant que facteur de transcription. Lorsque la cellule se trouve en situation de stress, l’association entre p53 et mdm2 est abolie ce qui conduit à une augmentation de la quantité de p53 dans la cellule la p53 activera la transcription d’un grand nombre de gènes dont le rôle est d’assurer la stabilité génétiques de la cellule (Effert et al.1992).

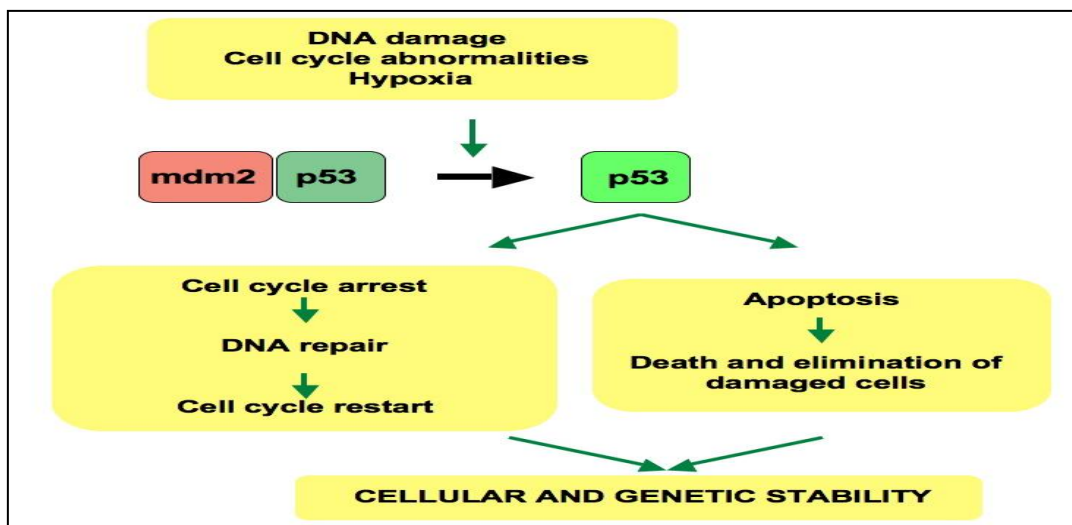


Figure 19. Mode d’action de la protéine P 53 (Effert et al.1992)

Partie Pratique

CHAPITRE IV
MATERIEL ET METHODES

Notre travail a été réalisé à travers une étude rétrospective qui s'est déroulée du 1er janvier 2011 au 31 août 2014 durant notre stage effectué au Service de cancérologies de l'EPH de Sidi Ghiles à Cherchell et au service d'Anatomie Pathologique du CHU de Hussein Dey sur une période de cinq (05) mois allant de mai 2014 à Août 2014.

IV.1. Matériels (annexe II)

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Etude rétrospective

Une étude rétrospective a été développée à partir de 37 dossiers de malades sur un intervalle de trois années s'étalant de janvier 2011 à janvier 2014. Les paramètres étudiés sont : l'âge du malade, le sexe, le type histologique et l'étude sérologiques.

IV.2.2. Étude histologique et immunohistochimique

Une étude histologique a été réalisée sur les 37 cas atteints par le carcinome du nasopharynx et une autre étude immunohistochimique concernant une protéine virale LMP1 et deux protéines cellulaires P53 et Bcl-2 réalisée sur seulement 12 cas.

IV.2.2.1. technique de coloration HE (Hématoxyline, Éosine)

➤ Principe

La coloration HE est une coloration universelle de routine permettant l'identification des caractères histologiques de tissus en associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris à une coloration cytoplasmique par l'éosine. L'hématoxyline de Harris est un colorant basique qui colore le noyau en bleu tandis que l'éosine de nature acide colore le cytoplasme en rose.

❖ Les étapes de la technique HE

➤ L'acheminement jusqu'au laboratoire

L'acheminement d'une biopsie vers un laboratoire se fait dans un flacon bien bouché. ce flacon est mis dans une boîte hermétique avec la fiche de renseignements cliniques correspondante au patient et envoyé dans un laboratoire d'anatomie pathologique.

Cette fiche comporte : nom, prénom, date de naissance du patient, aspect clinique des lésions, zone prélevée pour la biopsie, diagnostic suspecté.

➤ **L'identification et la numérotation**

Après avoir vérifié que le nom du patient sur la fiche est bien le même que celui sur le flacon, il est procédé à une numérotation par étiquetage. Ainsi le flacon portera le même numéro que sa fiche de renseignements cliniques. A chaque numéro correspond un dossier de patient pour une date donnée.

Le fragment biopsié va subir 6 étapes successives : fixation, inclusion, coupe et coloration, montage, l'observation et l'interprétation.

➤ **La fixation**

Réalisée grâce à un agent fixateur, le formol, qui préserve les tissus en immobilisant leurs structures, inhibe l'autolyse tissulaire et donc leur altération et entraîne un durcissement des tissus permettant la confection des coupes. La fixation est effectuée par immersion des échantillons durant 48h, dans du formol à 10%.

➤ **L'inclusion**

La fixation permet d'obtenir une rigidité au prélèvement, mais qui demeure insuffisante, pour leur durcir davantage l'imprégnation par de la paraffine est nécessaire.

La paraffine liquide n'est pas miscible à l'eau dont les tissus sont imprégnés et ne pourra donc pas les pénétrer. Pour y remédier, les tissus doivent passer dans des liquides intermédiaires miscibles entre eux, à l'eau et à la paraffine. Ce passage dans des liquides intermédiaires constitue l'étape appelée circulation qui dure 24h. La circulation est réalisée en 3 phases : la déshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

Les cassettes sont plongées tout d'abord dans un premier bain de formol pour une fixation supplémentaire puis une déshydratation dans 5 bains d'alcool (agent déshydratant) de concentration croissante de 70% à 100% pour éviter l'apparition trop rapide d'une distorsion des structures du tissu. Ainsi l'alcool miscible à l'eau va pénétrer dans les tissus tout en chassant l'eau tissulaire. Les cassettes sont ensuite immergées dans 4 bains de xylène (agent éclaircissant) pour éclaircissement. Le xylène miscible dans l'alcool, mais également dans la paraffine, va remplacer dans un premier temps l'alcool dans le tissu, le rendant transparent et

dans un second temps, laisser place à la paraffine. Enfin, les prélèvements sont trempés dans 2 derniers bains de paraffine chauffés à 60°C, point de fusion de la paraffine.

Les prélèvements sont alors imprégnés par la paraffine liquide, puis la paraffine est placée dans de petits moules, à température ambiante, ce qui provoque son durcissement et donc la rigidification des fragments tissulaires prélevés.

On procède alors au démoulage, on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

➤ **Microtomie**

Elle consiste en la confection à partir d'un bloc, de coupes minces de 3 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome, qui fait avancer le bloc sur un rasoir : le bloc avance d'environ 2 à 3 µm à chaque fois. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire.

➤ **Étalement**

Pendant la coupe, les tissus inclus dans la paraffine sont très comprimés afin d'atténuer cette compression et d'enlever les plis du tissu. Les coupes sont étalées dans un bain marie réglé à 45°C et les plis sont enlevés grâce à des aiguilles. Les lames sont par suite placées dans un panier pour lames et séchées à 120°C dans une étuve pendant 20min.

➤ **Étapes préparatoires à la coloration**

Elles servent à préparer la coupe et à recevoir les colorants qu'on veut lui imprégner ; ce sont le déparaffinage et l'hydratation. Le déparaffinage sert à retirer la paraffine des tissus ; pour cela, le xylène dissout le mieux la paraffine. L'hydratation a pour objectif de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau.

Dans l'étuve, la paraffine fond complètement, ce qui facilite le déparaffinage. Une fois la paraffine fondue, les lames sont immédiatement plongées dans un bain de xylène pendant 15 min. elles sont ensuite immergées dans 4 bains d'alcool (2min chacun) de concentrations décroissantes. Après le dernier bain d'alcool, les lames sont rincées dans un bain d'eau du robinet.

➤ **Coloration à l'Hématoxyline et à l'Eosine**

Les lames sont d'abord plongées dans le bac à Hématoxyline de Harris durant 3 à 4 min, rincées dans un bain d'eau du robinet (à renouveler après chaque rinçage) puis plongées une à deux fois dans l'eau acidifié et rincées à l'eau du robinet pendant 2min. elles sont ensuite plongées une à deux fois dans l'eau ammoniacale puis rincées à l'eau du robinet pendant 2min. les lames sont colorés à l'Eosine pendant 2 min, rincées à l'eau du robinet puis plongées une à deux fois dans l'alcool absolu (3 bains) pour la déshydratation des coupes, ensuite dans le xylène (2 bains) pendant 30 s pour leur éclaircissement. Enfin, les lames sont séchées à l'étuve.

La déshydratation et l'éclaircissement constituent les étapes préparatoires au montage.

➤ **Montage**

Opération qui consiste à fixer une lamelle sur une coupe histologique en imprégnant celle-ci d'une colle synthétique, ce qui confère une protection contre les bris mécaniques et la dégradation chimique des colorants.

Une lamelle (24 x 40mm, 24 x 50 mm, 24 x 60) est fixée sur la coupe histologique en appliquant une goutte de colle (EUKITT) et quelques gouttes de xylène pour aider à la diffusion de la colle sur toute la surface que recouvre la lamelle. A l'aide d'une pincette, les bulles d'air emprisonnées entre lame et lamelle sont chassées. Les lames sont ensuite séchées à l'air libre.

➤ **Lecture des lames**

La lecture des lames est effectuée au grossissement (X 100, X 400, et X 1000). L'Hématoxyline colore les noyaux en bleu. L'éosine colore le cytoplasme en rose.

IV.2.2.2. La technique immunohistochimie

C'est une technique d'analyse permettant de détecter et quantifier une protéine par l'utilisation d'un anticorps spécifique de l'antigène que l'on étudie.

La révélation se fait en générale par méthode colorimétrique, l'intensité de la coloration étant proportionnelle au niveau d'expression de la protéine étudiée (LMP1, P53 et Bcl-2).

IV.2.2.2.1. Principe

Le principe d'une réaction immuno histochimique repose sur quatre éléments essentiels :

- La préparation du tissu contenant l'antigène a étudié.
- Un anticorps primaire dirigé contre l'antigène recherché
- Un anticorps secondaire couplé à la biotine.
- Le système révélateur représenté par le complexe streptavidine-biotine couplée à une enzyme, la peroxydase qui sera révélée par le substrat chromogène ; la DAB qui donne la coloration marron ce qui permet de visualiser l'immuno réaction. (André. 2006)

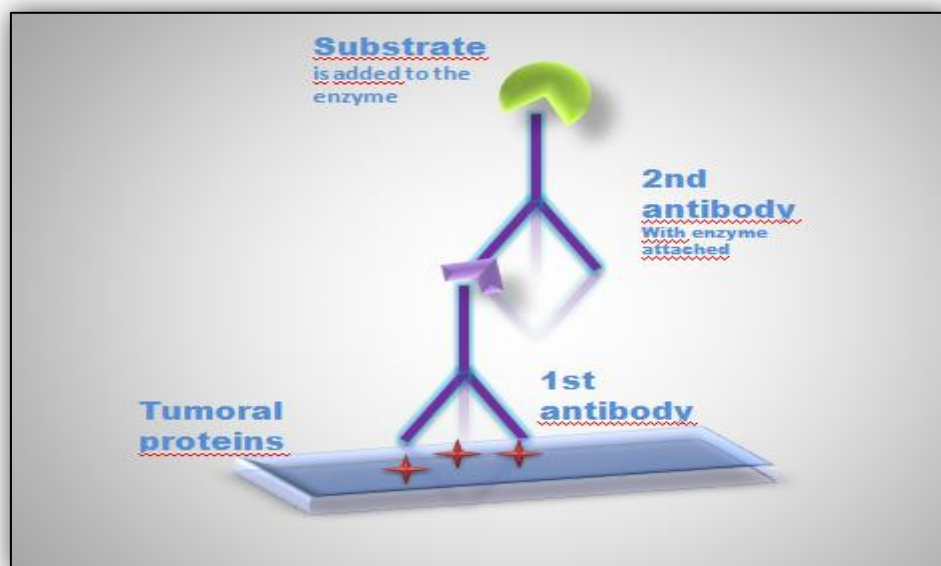


Figure 20. Schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie (Karray. 2009)

➤ **Mode opératoire**

Le marquage immunohistochimique est effectué par plusieurs étapes :

➤ **Préparation des lames**

- Déparaffinage des lames par passage dans 2 bains de xylène (5 minutes chacun), puis dans 3 bains d'alcool 96°-80°-70° (5 minutes chacun) puis laver dans l'eau distillé pendant 5 minutes.
- Démasquage antigénique : les lames sont immergées dans du tampon Tris-EDTA buffer, pH 9.0 et incubé dans un bain marie pendant 40 minutes.
- refroidissement sur paillasse pendant 20 minutes.
- Transfère du portoir dans un bac d'eau distillé (5 minutes) puis on effectue un deuxième lavage par l'eau distillé (5 minutes).
- Lavage en TBS (5 minutes)

➤ **Immunomarquage**

- les fragments déposés sur les lames ont été encerclés par un gel hydrophobe (Dako pen) pour empêcher les anticorps de diffuser sur toute la lame.
- Le blocage des peroxydases endogènes par incubation dans du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) 30% pendant 10 minutes.
- Rinçage à l'eau distillé.
- Application suffisante des gouttes du premier anticorps (LMP1, Bcl-2 ou P53) dilués à 1/50 pendant 30 minutes dans une chambre humide à température inférieure à 25°C.
- Immersion ensuite dans le PBS pendant 5 minutes.
- Application suffisante des gouttes de l'anticorps secondaire, BIOTINYLATED-LINK.
- Rinçage dans un bain PBS à pH= 7.4 pendant 5 minutes.
- Application suffisante des gouttes de réactif (STREPTAVIDINE –HRP) pendant 10 minutes.
- Application suffisante du substrat chromogène DAB (3,3 diamino-benzidine).
- Après le virage de la couleur brune entre 3 et 5 minutes, la coloration a été stoppée par immersion des lames dans un bac contenant de l'eau distillé pendant 5 minutes.

➤ **La contre coloration à l'hématoxyline**

Les lames ont été incubées dans une solution d'hématoxyline de Mayer pendant 5 minutes, puis elles ont été rincées dans un bain d'eau distillé.

- Trempage à dix reprises dans un bain ammoniacé (0.037mol/l).
- Rinçage à l'eau courante pendant 5 minutes.
- Trempage dans l'alcool à 90° puis à 100° puis dans le xylène.
- Montage entre lames et lamelles se fait avec le milieu de montage identique à celui de la technique histologique de routine.
- Observation à la microscopie optique.

➤ **Lecture**

L'intensité de la coloration brune a été évaluée comme indicateur de l'expression de ces protéines au niveau cellulaire.

CHAPITRE V
RESULTATS ET
DISCUSSION

Notre étude consiste en une réévaluation de 37 cas de carcinome du nasopharynx colligés dans le service de Pathologie du CHU Hussein Dey sur une période de 4 ans allant de 2011 à 2014.

V.1. Etude rétrospective

Pour l'ensemble de nos analyses statistiques, nous avons utilisé le logiciel SPSS version 17, nous avons traité nos échantillons par le test d'indépendance le Khi-deux (test de χ^2).

V.1.1. La répartition des patients en fonction du sexe

La répartition des patients selon le sexe montre que le carcinome du nasopharynx est plus répandu chez les hommes (59.45%) que chez les femmes (40.55%) et le sexe ratio est 1,5 dans notre série. (Figure22)

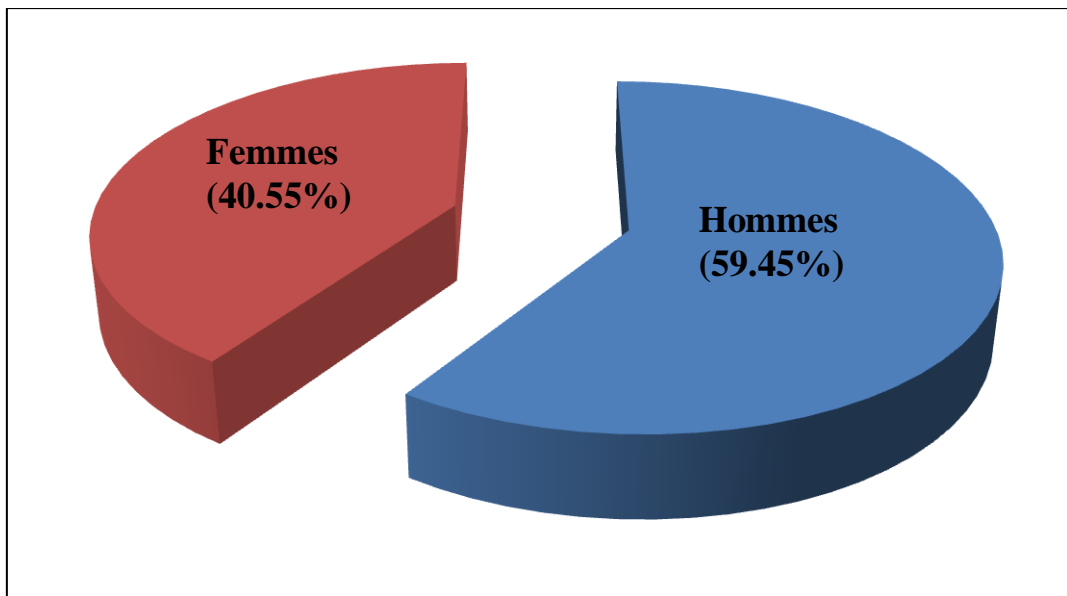


Figure 21. La répartition des hommes et femmes

Les différentes études Bouguermouth et al, (2003) ; Ayadi, (2010) ; Bendjemana et al, (2013) ont démontrés que les carcinomes du nasopharynx ont une incidence plus élevée chez hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 2/3.

Pour la comparaison de ces résultats grâce au test Khi 2 avec un risque de 5% avec ceux trouvés dans notre échantillon, une présentation est mentionnée dans le tableau 5.

Tableau 4. Répartition des hommes et des femmes

	hommes	femmes
Effectif observé	21	16
Effectif calculé théorique	2/3	1/3

$X^2 = 1.409$, $dl = 1$, $p > 0,05$ la différence est Non significative

Le teste d'indépendance (Khi deux) est Non significatif, le pourcentage de la distribution en fonction du sexe, dans notre échantillon, est non différent.

Par ailleurs les carcinomes du nasopharynx sont liés à des facteurs génétiques (Hasbini et al, 2000 ; Hamdi-Cherif, Laouamri , 2009) parce qu'il existe des cas familiaux d'UCNT chez les hommes dans les zones d'endémie.

Nous n'avons pas pu vérifier cette éventualité vu la période courte de l'étude et le nombre peu important des cas.

V.1.2. La répartition des malades selon l'âge

La répartition des patients selon l'âge montre une répartition bimodale avec un premier pic moins important qui se situe au dessous de 25 ans et un deuxième pic d'incidence entre 40 et 60 ans.

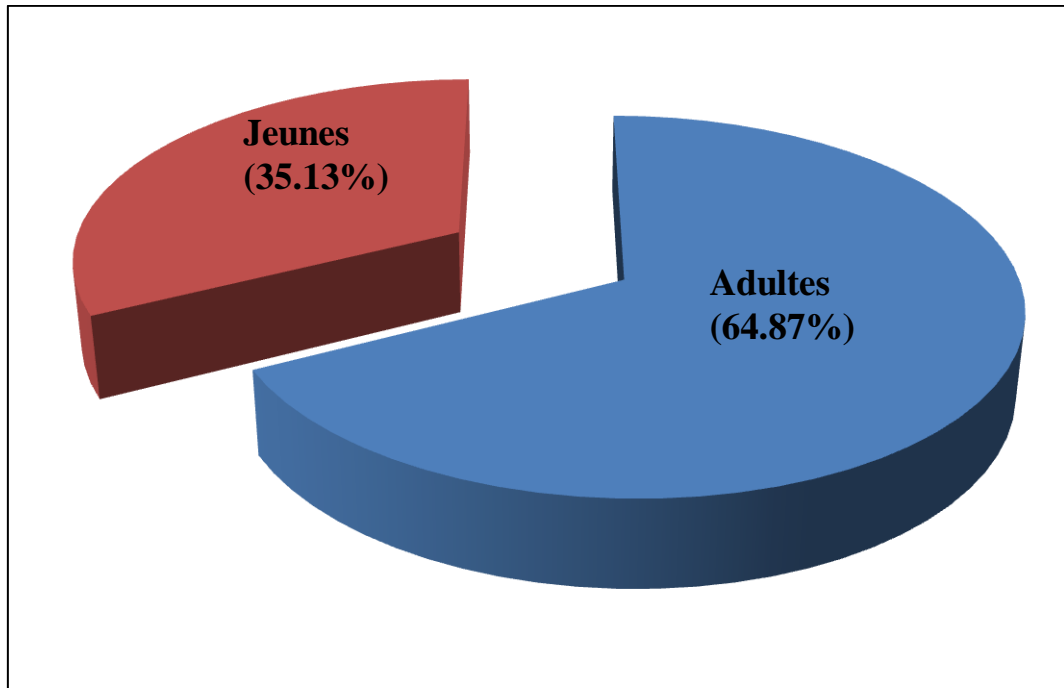


Figure 22. Répartition des adultes et des jeunes

Cette forme juvénile est absente ou rare dans les autres régions du monde mais en Afrique du Nord comme dans le pourtour méditerranéen, elle représente environ 20% (Toumi N et al. 2010 ; Ayadi W.2010).

Pour la comparaison de ces résultats grâce au test Khi 2 avec un risque de 5% avec ceux trouvés dans notre échantillon, une présentation est mentionnée dans le tableau 6.

Tableau 5. Répartition des adultes et des jeunes

	Adultes	Jeunes
Effectif observé	26	11
Effectif calculé théorique	0.8	0.2

$X^2 = 2.189$ dl = 1 p > 0,05 la différence est Non significative

Le teste d'indépendance (Khi deux) est Non significatif, le pourcentage de la distribution selon l'âge, dans notre échantillon, est non différent.

Plusieurs études (Ali Hasbini et al. 2000 ; Hamdi-Cherif M, Laouamri S. 2009) ont montré que l'exposition dès le jeune âge à des préparations alimentaires épicées ou contenant

de la harissa est associée à une incidence élevée d'UCNT car ils contiennent des substrats cancérigènes comme les nitrosamines.

V.1.3. La répartition des malades selon les stades de la maladie lors de diagnostic

La répartition des malades selon les stades de la maladie montre que plus de la moitié des malades se trouve dans des stades avancés surtout le stade III avec 57% des cas.

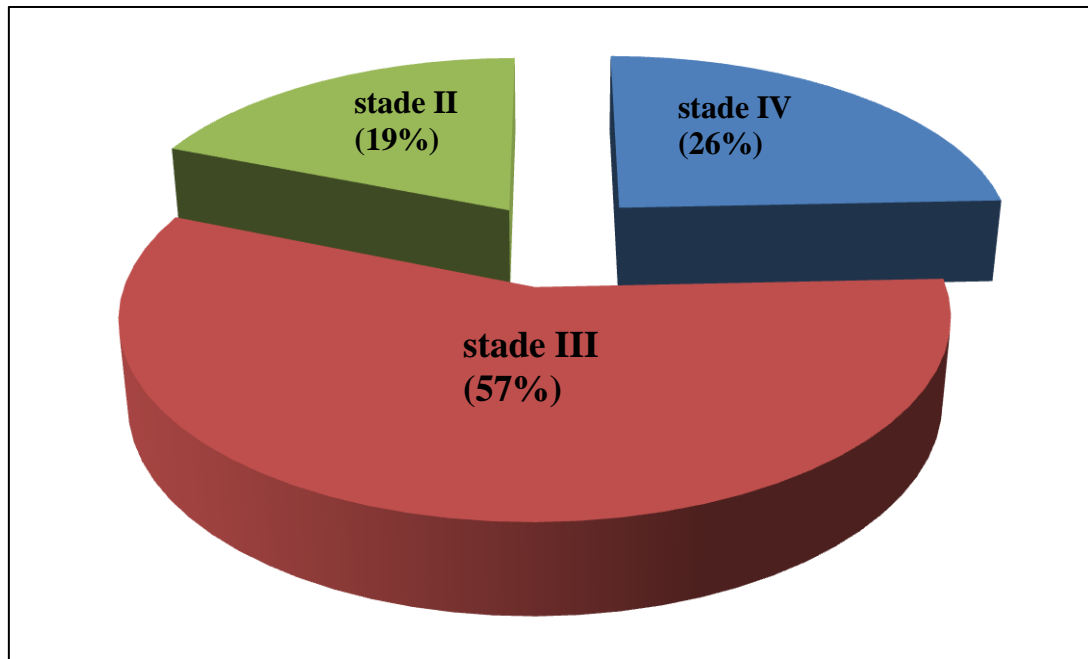


Figure 23. La répartition des malades selon les différents stades de la maladie

Ces résultats concordent avec ceux de Toumi et al. (2010) ; Ammor et al. (2003) qui ont rapporté que 50 à 85 % des patients se présentent avec une tumeur classée au stade III.

Généralement, le diagnostic tardif de ce carcinome est dû à son développement dans une cavité profonde, d'accès difficile, et à une symptomatologie d'emprunt diverse, liée à l'atteinte des structures voisines, les patients peuvent souffrir au moment du diagnostic d'un ou de plusieurs symptômes dont aucun n'est typique, ce qui rend leur interprétation souvent difficile (Kerboua, Bouzid. 2003 ; Ammor et al. 2003).

V.2. Étude sérologiques

Le titrage des anticorps contre plusieurs antigènes EBV conduit à établir pour chaque maladie associé à l'EBV un profil sérologique caractéristique (annexe I).

Les patients atteints d'un carcinome du nasopharynx présentent un profil sérologique anti-EBV particulier avec un titre élevé d'anticorps dirigés contre des différents antigènes précoces du virus, et surtout avec des titres élevés en IgA anti-VCA, IgG anti VCA et les IgG EA, ces anticorps sont détectés à un taux élevé lors de diagnostic.

Dans notre série, 100% des malades aussi bien les adultes que les jeunes possèdent des titres élevés des IgA anti-VCA et les IgG anti EA (**tableau 5**) mais Karray H et Ayadia W (2008) ont trouvé ces marqueurs 89.4% patients adultes mais seulement chez 50% patients jeunes.

Tableau 6. La sérologie des malades

	IgA anti-VCA	IgG anti EA
Adultes	852 UA/mL	692 UA/mL
Jeunes	453 UA/mL	285 UA/mL
Infection ancienne (latente)	< 5	< 5-10

La sérologie spécifique de l'EBV à un rôle important pour le suivi post thérapeutique car leur titre est corrélé à l'extension de la maladie et à la réponse au traitement (Karray H ,2009).

c'est deux marqueurs ne peuvent pas être utilisés pour le diagnostic précoce (Bouguermouth A, Melouli H et al ,2003) parce que ils manquent de sensibilité surtout chez les patients jeunes ce qui explique que l'absence de titres élevés de ces anticorps ne peut pas exclure le diagnostic de NPC surtout chez le sujet jeune .

De plus, ces marqueurs ont montré leur manque de spécificité et en particulier les IgA anti-VCA qui ont été démontrées dans d'autres maladies associées à l'EBV comme les lymphomes non hodgkiniens, le lupus.

V.3. L'étude anatomopathologique et immunohistochimie

V.3.1. Les différents niveaux de biopsies

Le carcinome du cavum est l'un des cancers les plus agressives de la tête et de cou, son diagnostic se fait généralement tard et en phase ganglionnaire. Dans notre échantillon la majeure partie des biopsies (66%) sont réalisées au niveau du nasopharynx et 34% au niveau des ganglions cervicaux. (**Figure 28**)

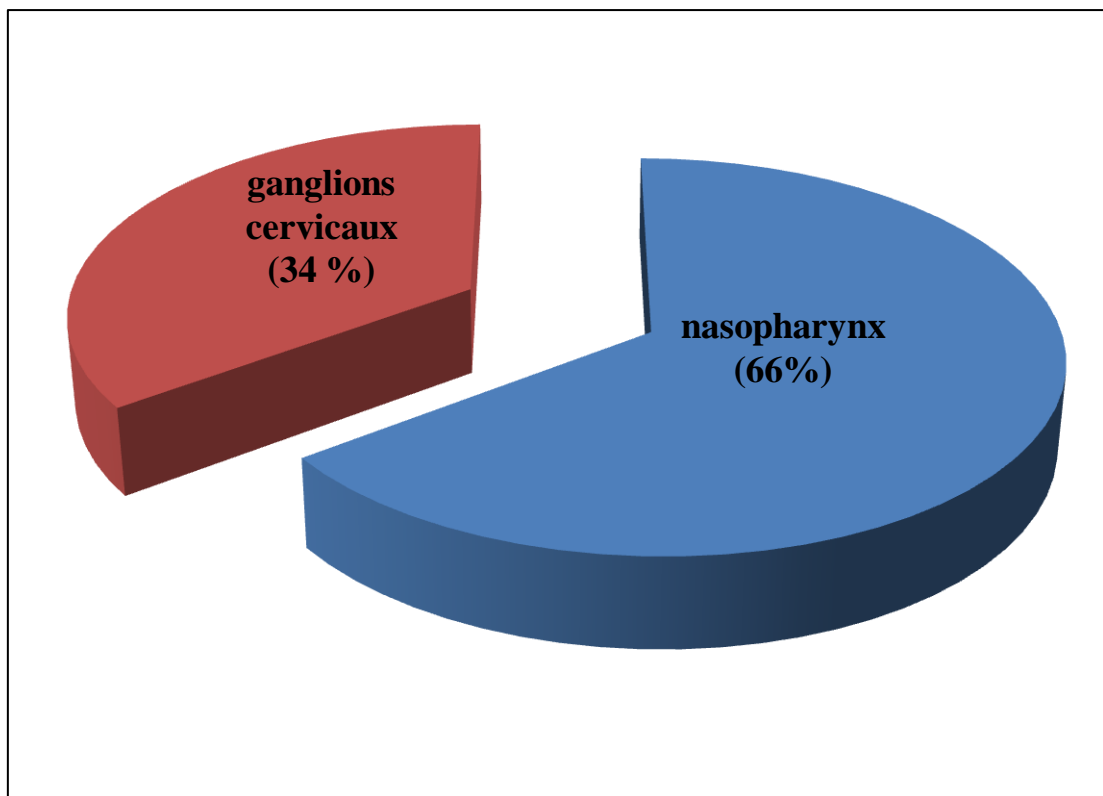


Figure 24. La répartition des différentes biopsies

Hasbini et al. (2000) ont trouvé l'atteinte ganglionnaires dans 40% des cas. Cette atteinte est causée par la richesse des réseaux lymphatiques sous muqueux dans ce compartiment. En plus, la dissémination métastatique viscérale (l'os, les poumons, le foie et les structures cérébrales qui sont concernés) est fréquent ce qui explique une partie des échecs thérapeutiques. (Hasbini et al. 2000)

V.II.3.2. Anatomopathologie

Un diagnostic anatomopathologique précis et fiable est nécessaire avant d'entreprendre toute thérapeutique afin de différencier entre les différentes tumeurs qui peuvent développer dans ces compartiments.

L'étude anatomopathologique permet de distinguer trois types, la classification utilisée est celle de l'OMS, basée sur le degré de différenciation :

OMS type 1 : Carcinome épidermoïde kératinisant (bien différencié).

OMS type 2 : Carcinome épidermoïde non kératinisant : appelé peu différencié.

OMS type 3 : Carcinome indifférencié de type nasopharyngé (UCNT) (Amrani M et al. 2004).

Dans notre échantillon, toutes les malades (100%) sont atteintes du carcinome du nasopharynx de type III (UCNT), ces résultats concordent avec ceux trouvés dans les pays du Maghreb (Ammor S et al. 2003 ; Ayadi W.2010) où l'UCNT représente le type histologique le plus fréquent avec 70-100%.

Le carcinome indifférencié de type nasopharyngé (UCNT) se caractérise par une muqueuse des voies aérodigestives supérieures qui est siège d'une prolifération néoplasique composée d'îlots et de massifs syncytiaux, faits de cellules tumorales à noyaux vésiculeux nettement nucléolés à limites cytoplasmiques peu nettes, des mitoses atypiques sont observées, ces éléments au sein d'un stroma fibreux inflammatoire riche en cellules lymphoïdes, c'est une infiltration massive de la tumeur par des cellules lymphoïdes, majoritairement de type T. **(figure 29)**

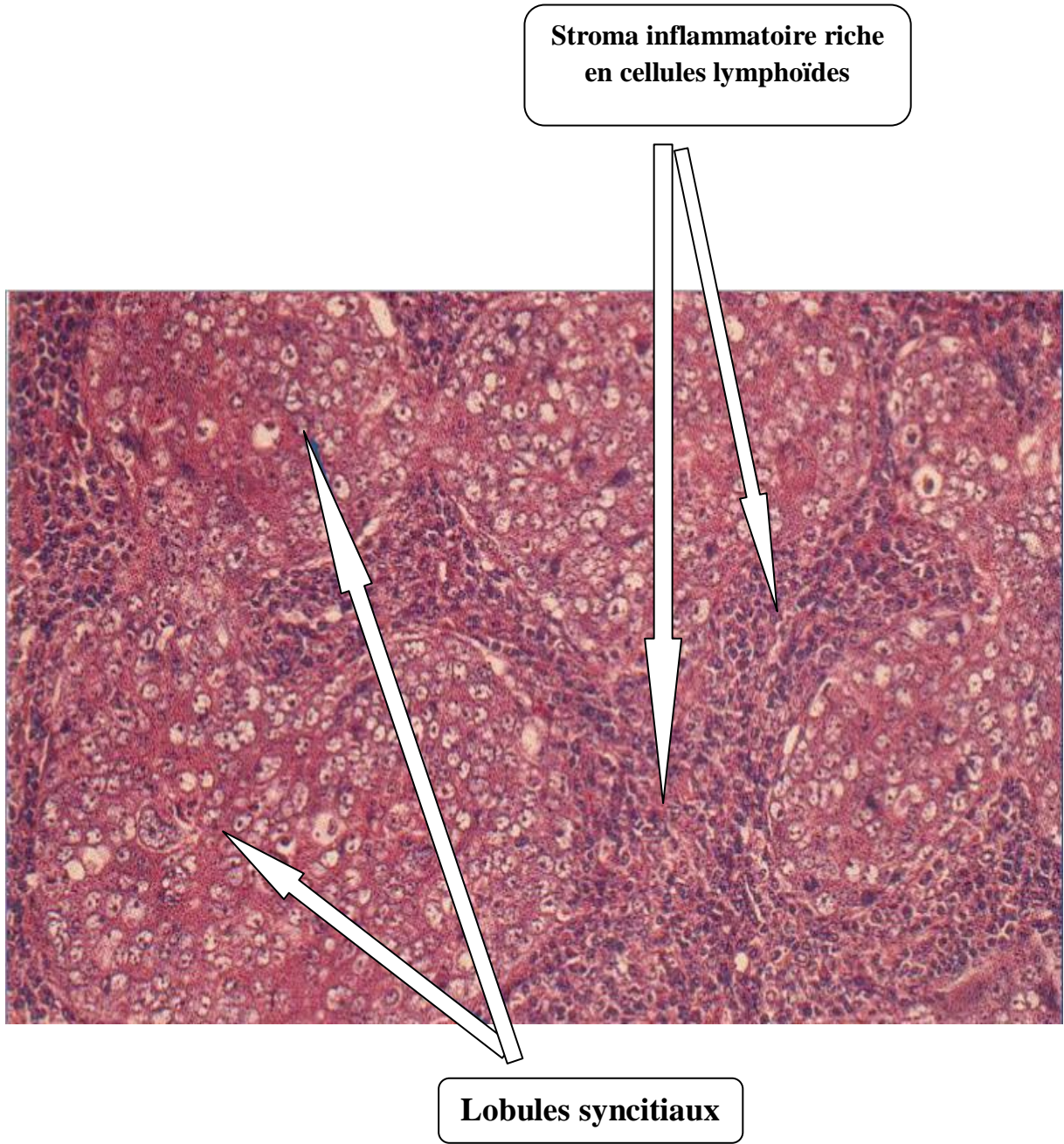


Figure 25. Image histologique d'un carcinome du nasopharynx de type UCNT coloration HE (×400)

V.3.3. Immunohistochimie de la protéine LMP1

L'étude immunohistochimie de la protéine virale LMP1 montre que cette protéine est localisée sur la membrane des cellules tumorales. Le marquage est granulaire, intense, régulièrement réparti sur tout le pourtour de la cellule. La grande majorité (>90%) des cellules tumorales sont marquées alors qu'il n'y a pas de marquage significatif des cellules non tumorales, y compris des cellules lymphoïdes. (**Figure 30**)

L'étude immunohistochimique de la protéine virale LMP1 est positive sur les 12 cas de notre étude pour lesquels la technique est effectuée. Mais selon l'étude de Busson P, Ooka T et al. (2004), elle montre que la protéine LMP1 n'est détectée que dans presque 50% des cas du malades qui se trouvent dans les stades III et IV, cela peut être expliqué que l'expression de LMP1 est nécessaire dans les lésions précoces, mais pas essentielle à l'établissement du carcinome.

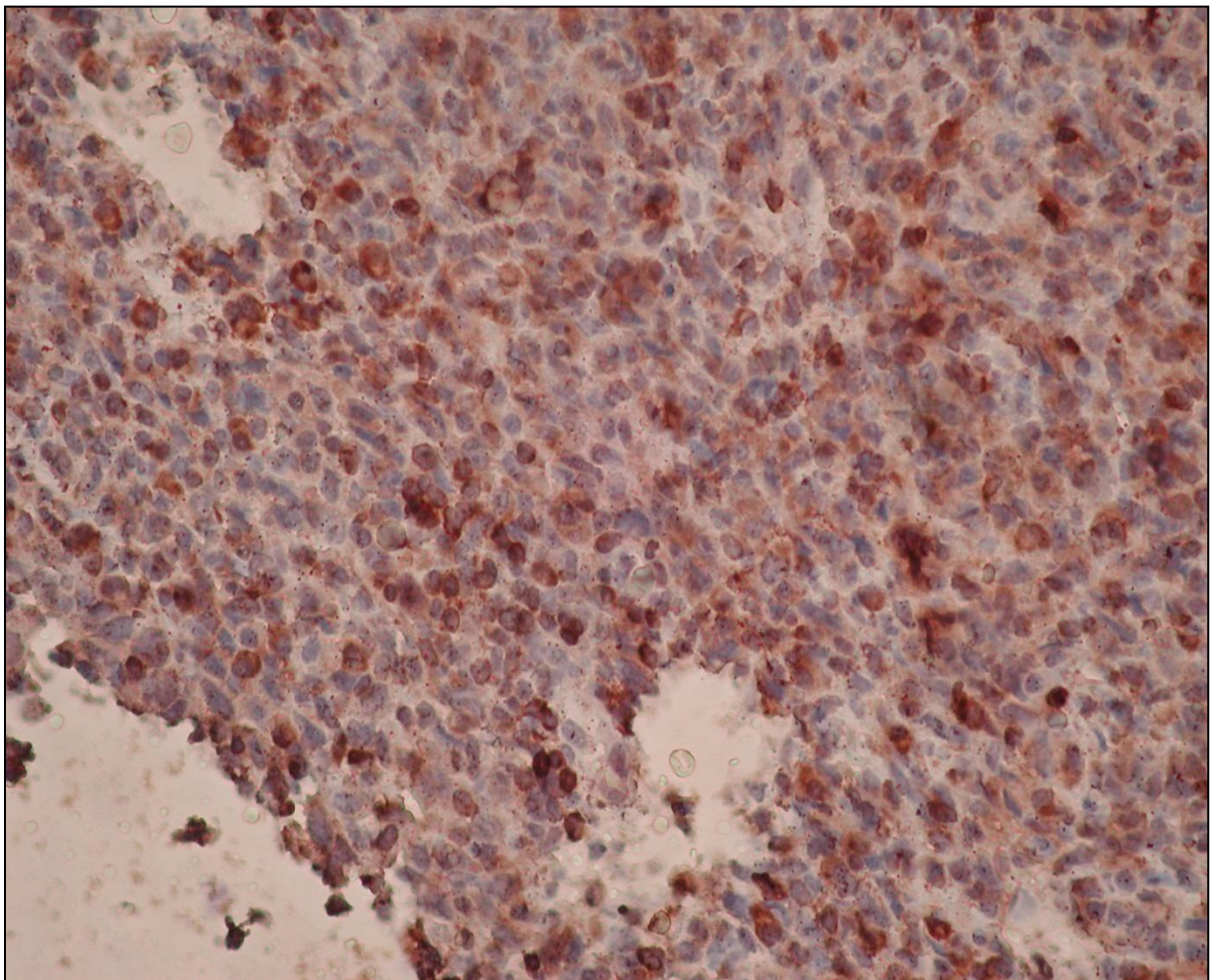


Figure 26. Immunohistochimie à l'anticorps anti LMP 1 (×400)

IV.2.4.2. Immunohistochimie des protéines P53 et Bcl-2

L'analyse immunohistochimique de la protéine P53 a mis en évidence un marquage nucléaire significatif présent dans presque toutes les cellules tumorales dans les 12 cas explorés.

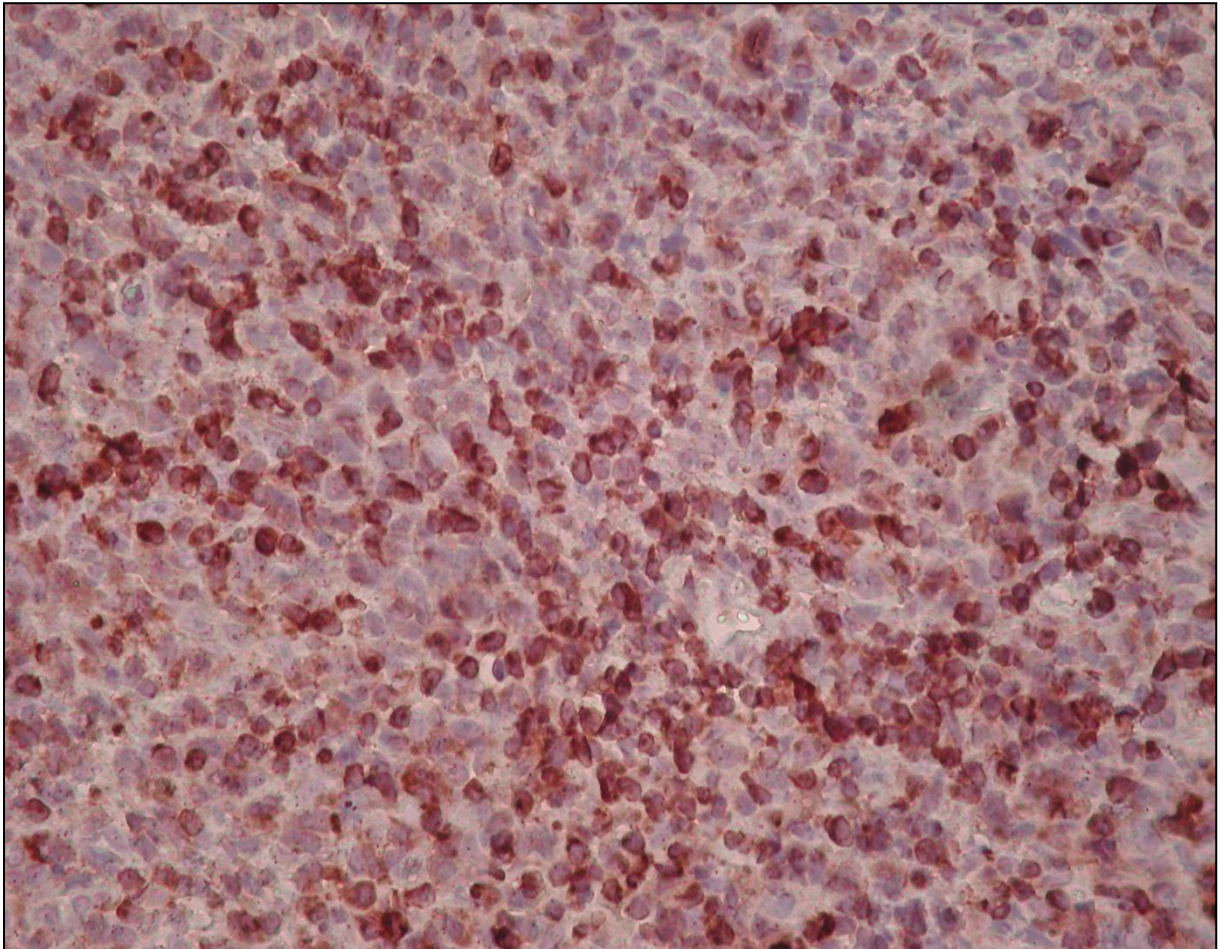


Figure 27. Immunohistochimie à l'anticorps anti P 53 (×400)

Dans la plupart des cancers, l'accumulation de P53 dans la cellule maligne est expliquée par la présence de mutations ponctuelles qui affectent la région de DNA binding du gène P53 produisant ainsi une protéine qualitativement anormale qui échappe à la dégradation via MDM2, mais dans le cas de ce carcinome le gène P53 est rarement muté, son accumulation nucléaire impliquerait des mécanismes d'inactivation fonctionnelle dont certaines pourraient mettre en jeu la protéine LMP1 ou encore la protéine Bcl2 (Tabyaoui et al. 2013).

Pour la protéine Bcl 2 cette étude montre un marquage cytoplasmique intense sur les 12 cas, cela peut expliquerait la corrélation positive entre l'expression de la protéine virale LMP1 et la protéine Bcl 2.

En plus, la protéine EBNA1 peut également jouer un rôle d'activateur transcriptionnel sur des promoteurs viraux et cellulaires surtout le gène anti apoptotique Bcl-2 suggérant son rôle oncogénique (Busson P, Ooka T et al .2004).

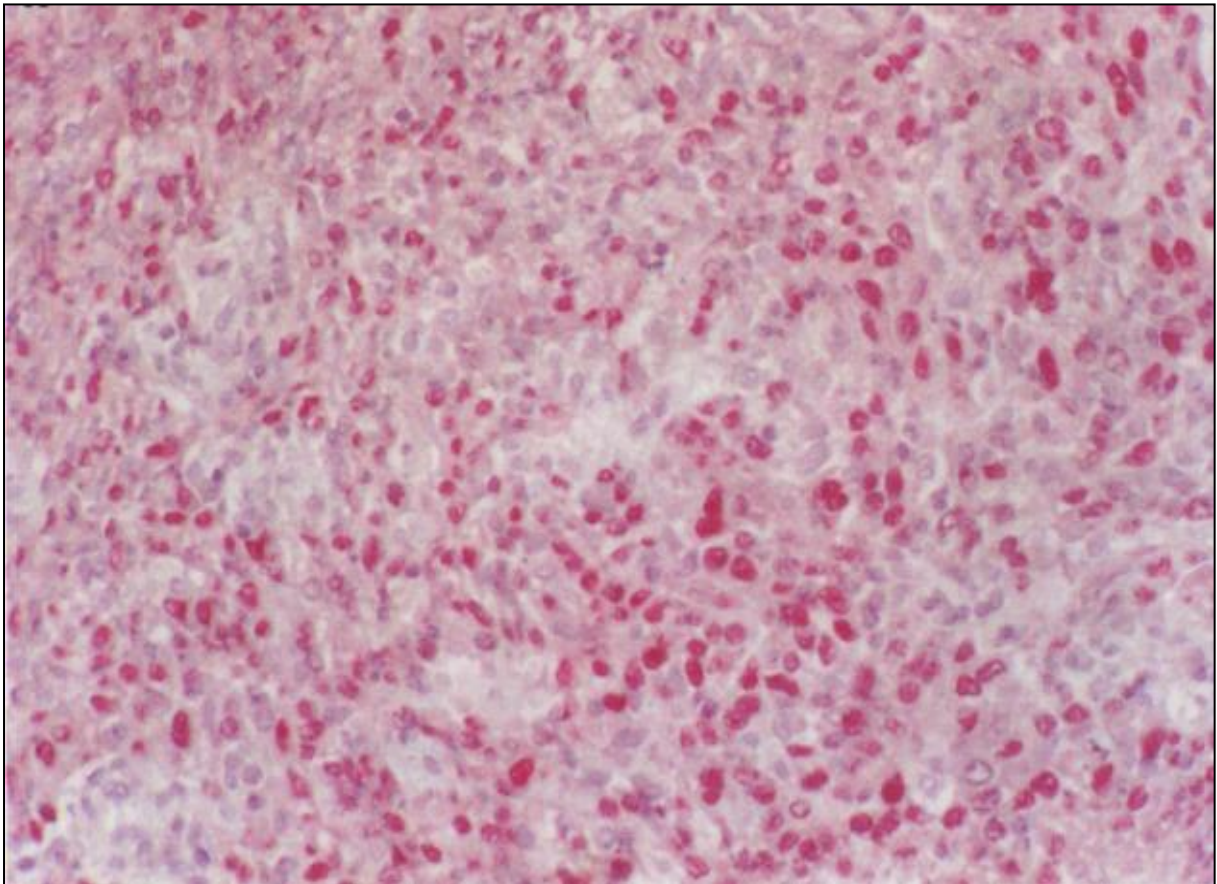


Figure 28. Immunohistochimie à l'anticorps anti Bcl 2 (×400)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Le carcinome indifférencié de type nasopharyngé (UCNT) présente un problème significatif de santé publique dans notre pays à cause du nombre de malades et le taux élevé de mortalité enregistré chaque année. Ce taux est lié généralement au diagnostic tardif de cette tumeur, en effet, la majeure partie des malades se trouvent lors de diagnostic dans des stades avancés de la maladie en général dans les stades III et IV caractérisés par une dissémination élevée des métastases.

Il est nécessaire d'alerter les pouvoirs publics pour cerner cette épidémie :

- Il est donc impératif de créer une équipe multi disciplinaire composée de médecins, oncologues et biologistes pour la prise en charge optimale des patients.
- Impliquer de plus en plus de virologues au diagnostic et banaliser les techniques sérologiques telles que les techniques ELISA et immuno assays.
- Création de registre de ce cancer sur le niveau national afin de savoir les régions les plus touchées.
- Accéder aux nouveaux moyens de diagnostic tel que la PCR Quantitative en temps réel.

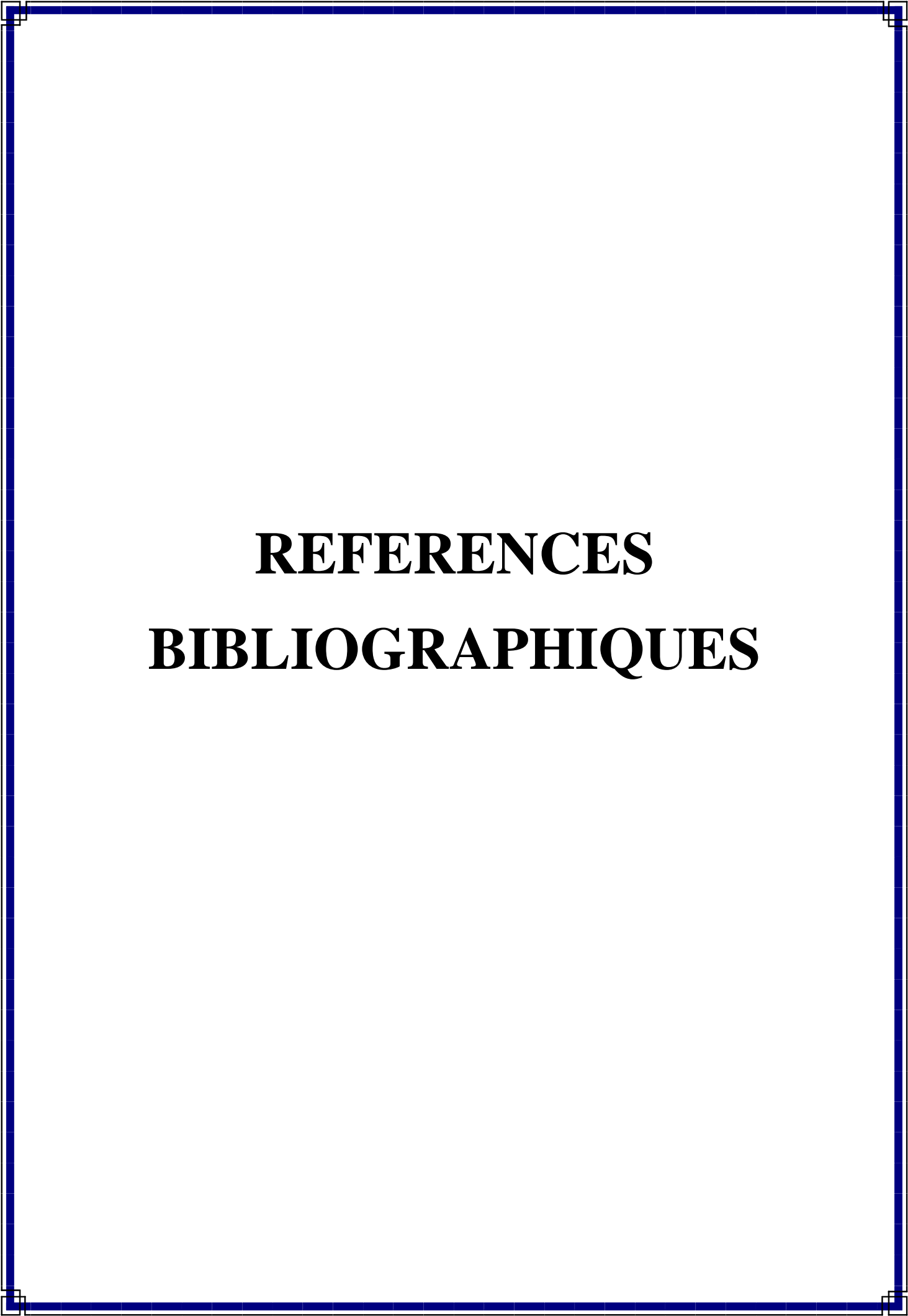
En plus, le dépistage des cancers s'effectue aujourd'hui essentiellement par les méthodes classiques qui s'appuient sur les outils tels que l'imagerie médicale, la palpation, les biopsies ... Ces méthodes ont certes montré leur efficacité mais à des stades d'évolution des cancers assez avancées.

La détection précoce augmente significativement le taux de survie à cause de la radio-chimio sensibilité de ce carcinome, c'est la raison pour laquelle la recherche sur les nouveaux marqueurs qui permettent le dépistage précoce représente l'un des objectifs majeurs de la recherche.

Récemment, plusieurs études s'intéressent au dépistage précoce qui consiste à dépister les sujets à haut risque de faire un NPC dans la population générale en zones d'endémie ou dans la fratrie d'un malade partant de fait que l'EBV peut être détecté dans les lésions pré malignes et que les marqueurs EBV se positivent bien avant l'apparition du cancer.

Les marqueurs sérologiques qui sont étudiés sont fondés sur la détection d'anticorps dirigés contre différents antigènes précoces du virus : anti-thymidine kinase, anti-DNase, anti-ADN polymérase et anti-ribonucléotide réductase.

Et en fin, Ce carcinome constitue une thématique majeure en biologie des tumeurs puisque elles sont associées de façon constante au virus d'Epstein-Barr et leur étude revêt donc une importance particulière à l'heure où le virus d'Epstein-Barr est incriminé dans d'autres carcinomes : carcinomes gastriques, mammaires et thyroïdiens.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Ai-Di G, Mu-Sheng Z et Chao-Nan Q.2013: The Criteria to Confirm the Role of Epstein-Barr Virus in Nasopharyngeal Carcinoma Initiation. IJMS: 37-47.

Ali Hasbini et al. 2000 : Les carcinomes du nasopharynx. bulletin du cancer : 21-26.

Ameera A.M et al. 2011: pathology of nasopharyngeal carcinoma in sudanese patients and its association with Epstein-Barr virus: a report from a single center in Khartoum. Libertas Academica: 1-6.

Ammor S et al. 2003 : Approche épidémiologique du cancer du rhino-pharynx dans la région de Marrakech. Antropo, 5 : 39-47.

Amrani M et al. 2004 : Apport de l'anatomie pathologique dans le cancer du cavum. Maroc Médical, tome 26 n°4 :257-261.

André N. 2006 : mise en évidence sur coupes tissulaires d'altérations moléculaires caractéristique des tumeurs humaines. MÉMOIRE Pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes: 19-20.

Ayadi W.2010 : Le carcinome nasopharyngé en Afrique du Nord et dans le Sud-Est asiatique : entre similitude et différence. Bulletin du cancer, volume 97 :1-8.

Ballout M. 2005 : Evaluation par PCR de l'activité antivirale des inhibiteurs de l'ADN polymérase du Virus d'Epstein-Barr

Bendjemana k et al. 2013 : dosage des marqueurs tumoraux CYFRA 21-1 et ACE dans le cancer du nasopharynx en Algérie. ELSEIVE MASSON : 191-194.

Bing-Jian F.2013: descriptive environmental and genetic epidemiology of nasopharynx.. Landes Bioscience and Springer Science: 23-41.

Bouguermouth A, Melouli H et al. 2003 : Existence d'un profil particulier pour les marqueurs sérologiques et moléculaires du virus d'Epstein-Barr chez les jeunes algériens porteurs d'un carcinome nasopharyngé. Atelier Nord-Sud sur les carcinomes nasopharyngés, 4-6 Décembre 2003, Institut Gustave Roussy, Villejuif- France : 2-6.

Bouhris J et Eschweget F. 2006 : Tumeurs de la cavité buccale et des voies aérodigestives supérieures (145). Université Médicale Virtuelle Francophone :1-3.

Brocqueville G. 2011 : Dualité fonctionnelle de LMP1 : implication dans l'apoptose et la transformation cellulaire THESE pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2 : 46-62.

Busson P, Ooka T et al .2004 : Carcinomes nasopharyngés associés au virus d'Epstein-Barr : de l'épidémiologie à la thérapeutique et au dépistage ». M/S : médecine sciences, vol. 20, n° 4 : 453-457.

Chanut A. 2010 : Rôle des voies d'activation classique et alternative du facteur transcriptionnel NF- κ B dans la prolifération et la protection contre l'apoptose induites par l'oncoprotéine LMP-1 du virus d'Epstein-Barr. THESE Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES : 5-51.

Chien W, Ffrench M.2006 : Régulation de p16INK4a, sénescence et oncogénèse MEDECINE/SCIENCES ; 22 : 865-71.

Clorennec C. 2006 : Etude des Cibles Transcriptionnelles du Virus d'Epstein-Barr (EBV) et Régulation de l'apoptose via le récepteur pro-apoptotique FAS (CD95) dans les lymphocytes B infectés par l'EBV : Rôle de LMP1. 15-25.

Costes V, S. Guyetant M. 2005 : Histoire naturelle du cancer (Chapitre 9) :1-9.

Dardari R, Khyatti M, Benider A et al. 2000 : Antibodies to the Epstein-Barr virus transactivator protein (ZEBRA) as a valuable biomarker in young patients with nasopharyngeal carcinoma. Int J Cancer 2000 ; 86 : 71-5.

Denesvre C. 2003 : Entrée du virus d'Epstein-Barr dans les cellules épithéliales oropharyngées. Virologie. Juillet 2003. Volume 7 Numéro 3.

Dennis Y. 2000: Molecular Prognostication of Nasopharyngeal Carcinoma by Quantitative Analysis of Circulating Epstein - Barr virus DNA. CANCER RESEARCH 60: 6878–6881.

Dumont C.2012 : Histologie de l'appareil respiratoire. UE Pneumo : 1.

Effert R et al.1992 : Alterations of the p53 Gene in Nasopharyngeal Carcinoma. JOURNAL OF VIROLOGY : 68-69.

Gullo C, Low W et Teoh G. 2008: Association of Epstein - Barr virus with Nasopharyngeal Carcinoma and Current Status of Development of Cancer-derived Cell Lines. Ann Acad Med Singapore; 37: 769-77.

Hamdi-Cherif M, Laouamri S. 2009 : Cancer du nasopharynx : épidémiologie et facteurs de risque. EUROCANCER :263-266.

Karray H et Ayadia W.2008 : Virus d'Epstein-Barr et Carcinome nasopharyngé : Actualités sur les marqueurs EBV utilisés pour le diagnostic et la surveillance du NPC. 18^{ème} congrès national d'infectiologie, Tunis, 25-26 avril 2008.

Karray H. 2009 : mise au point sur les marqueurs du virus d'Epstein-Barr utilisés pour le diagnostic primaire du cancer du cavum et détection de rechute ou métastases après traitement. Rev Tun Infectiol, vol3, n°1 :1-5.

Kerboua E, Bouzid K. 2003 : Cancer du cavum. Oncologie Médicale

Khabir A et al. 2005: EBV latent membrane protein 1 abundance correlates with patient age but not with metastatic behavior in north African nasopharyngeal carcinomas. Virology Journal :1-3.

Khabir A et Sellami A.2000 : Contrasted Frequencies of p53 Accumulation in the Two Age Groups of North African Nasopharyngeal Carcinomas. Clinical cancer research :33-34.

Korum A, Ozyar E et Ayhan A. 2006: Epstein-Barr virus genes and nasopharyngeal cancer. Turkish Journal of Cancer, Volume 36, No.3, 2006:97-107.

Le Roux.F, Joab.I. 1999 : Le virus d'Epstein-Barr et le carcinome indifférencié du nasopharynx. Virologie. Volume 3, Numéro 2 : 113-21.

Li JH, Shi W, Chia M, et al. 2003: Efficacy of targeted FasL in nasopharyngeal carcinoma. Mol Ther ; 8: 964-73.

Li-Jen L, Mei-Shu L.2012: Epstein-Barr Virus Serology in the Detection and Screening of Nasopharyngeal Carcinoma:84-94.

MAAMER-AZZABI A. 2013 : Mécanismes moléculaires de l'acquisition d'une sensibilité à l'apoptose induite par l'ABT-737 et d'une résistance à l'anoïkis de cellules humaines coliques

métastatiques. Thèse de doctorat pour obtenir le grade de DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11 : 38-43.

Masmoudi A et al.2007: Epstein-Barr virus-targeted immunotherapy for nasopharyngeal carcinoma. ELSEIVE MASSON : 499-504.

Mu-Sheng Z et Yi-Xin Z. 2010: Pathogenesis and Etiology of Nasopharyngeal

OUK T. 2008 : Rôle de la protéine LMP1 dans la balance survie/apoptose des cellules infectées par le virus d'Epstein-Barr THESE Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES : 85-106.

Prasad U.1996. nasopharyngeal carcinoma :epidemiological review in relation to its etiology.JUMMEC:23-27.

Seigneurin J.M. 2006: le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection. Cahier de formation biologie medicale. Bioforma.N°36: 60-65.

Shotelsuk K. 2000: Epstein-Barr Virus DNA in Serum/Plasma as a Tumor Marker for Nasopharyngeal Cancer Clin Cancer Res; 6: 1046-1051.

Soussi T. 2000 : Cycle cellulaire et apoptose: le gène supprimeur de tumeur p53. médecine/sciences 2000; 16: 469-472.

Stevence A et lowe J .1997 : anatomie pathologique général et spéciale. *DeBoeck université :* 317-349.

Stevens A et Lowe J. 1999 : Histologie Humaine. Deboeck Université : 162-164.

Tabyaoui I et al. 2013: Immunohistochemical expression of latent membrane protein 1 (LMP1) and p53 in nasopharyngeal carcinoma: Moroccan experience. African Health Sciences:710-713.

Tortora G.J et Grabowski S.R. 1994 : Principes d'anatomies et de physiologie. *DeBoeck université :* 921-931.

Toumi N et al. 2010 : les cancers du cavum juvéniles : aspects anatomocliniques, biologiques, thérapeutiques et évolutifs. Bulletin du cancer, volume 97, n°4 : 1-7.

Van Regenmortel M et Mahy B. 2010 : Desk Encyclopedia of Human and Medical virology. Academic Press: 574-577.

Vera-Sempere F et al. 1997: Immunohistochemical expression of Bcl-2 oncoprotein in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma correlated to histological type and survival. *Histol Histopathology* : 9-11.

Viallard J.F. et al. 2000 : Mécanismes moléculaires contrôlant le cycle cellulaire : aspects fondamentaux et implications en cancérologie. *Cancer/Radiother*; 5 : 109-29.

Viviana P et al.2008: Biomarkers for Cancers of the Head and Neck. *Clinical Medicine: Ear, Nose and Throat* 2008; 1: 5–15.

Xiu Chan G et al.2006: Genetic factors leading to chronic Epstein–Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in South East China: Study design, methods and feasibility. HENRY STEWART PUBLICATIONS: 365–375.

Yao-ling L et al. 2009: combined determination of Epstein-Barr virus related antibodies and antigens for diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. *Chinese journal of cancer* 28: 76-78.

Yip KW and Reed JC.2008: Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene*. 27:6398–6406.

Yu Wai Chan J. 2013: The Role of Plasma Epstein – Barr Virus DNA in Nasopharyngeal Carcinoma *J Mol Biomark Diagn*: 1-5.

ANNEXE

Annexe I

Les différents types de tumeurs du nasopharynx.

Bénignes	malignes
<p>➤ Tumeurs épithéliales Bénignes</p> <ul style="list-style-type: none"> -Polype dermoïde -papillome inversé (Papillome de type Schneiderian) -Adénome pituitaire ectopique -Tumeurs de type glande Salivaire -Craniopharyngiome 	<p>Tumeurs épithéliales Malignes</p> <p>➤ Carcinome nasopharyngé</p> <ul style="list-style-type: none"> -Carcinome malpighien Kératinisant -Carcinome non kératinisant : -Carcinome différencié non kératinisant Carcinome indifférencié (UCNT)

Les différents programmes de latence de virus EBV et les pathologies associées

Pathologies	Association à l'EBV (%)	Latence virale
Lymphome de Burkitt endémique (Afrique)	~95	I
Lymphome de Burkitt non-endémique	20 à 30	I
Lymphome de Hodgkin	50 à 70	II
Lymphome B immunoblastique (associé au VIH)	~95	III
Lymphome B des sujets transplantés	~95	III
Lymphome B lié à l'X (syndrome de Purtillo)	~95	III
Lymphome T périphérique	~40	II
Lymphome T/NK nasal extranodal	~95	II
Carcinome du rhinopharynx	~95	II
Carcinome gastrique	~10	II

Les différents profils sérologiques

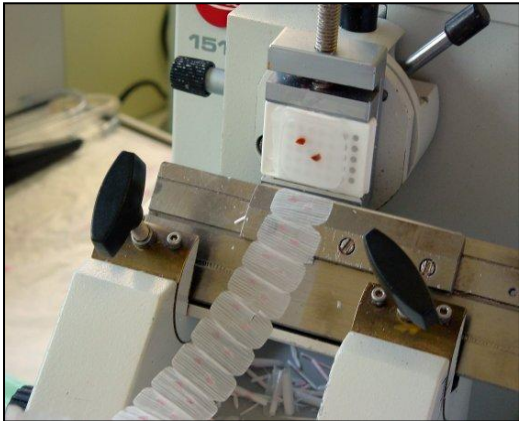
	IgG anti-VCA	IgM anti-VCA	IgA anti-VCA	IgG anti-EA	IgA anti-EA	IgG anti-EBNA
Séronégativité (sujet réceptif)	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
Primo-infection	40 - 1280	20 - 640	< 5 - 40	< 5 - 80	< 5	< 5
Infection ancienne (latente)	40 - 640	< 5-10	< 5	<5-10	< 5	20 - 320
Réactivation éventuelle	> 640	< 5 - 80	<5- 40	< 5-320	<5-40	20-320
L. de Burkitt associé à l'EBV	> 640	< 5	< 5	80-640 (*)	< 5	< 5-160
Carcinome du nasopharynx	> 640	< 5	80-1280	80-1280 (**)	40-160	80-1280

Annexe II

Matériels

Tableau 4. Appareillages et réactifs

Appareillage	Matériels et verreries	Réactifs	Kit d'immunohistochimie
<ul style="list-style-type: none">- Microscope optique avec un appareil photo numérique-Bain-marie- Microtome- Automate à circulation (Leica)-Distributeur de paraffine (Leica)- Etuve	<ul style="list-style-type: none">- Lame d'étalement- Lames silanisées type DAKO- Panier de lames- Micropipettes- Bacs de coloration et rinçage- Stylo délimitant (DAKO Pen)	<ul style="list-style-type: none">- Formol a 10%- Ethanol a 80, 90 et 100 %- Eau distillée et eau de robinet- Paraffine- Hématoxyline- Eosine- Xylène	<ul style="list-style-type: none">- Solution de PH (9, 6)- Eau oxygénée- Solution d'anticorps Iaire (spécifique) :-AC anti P53, AC anti Bcl-2. AC Anti LMP1- Solution PBS (phosphate buffered saline): chlorure de sodium, phosphate disodique, phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium.- Solution d'anticorps secondaire- Solution DAB chromogène- Hémalin- Ammoniaque







La répartition de sexe et d'âge de l'échantillon.

N°	SEXE	AGE
1	H	56
2	H	43
3	H	65
4	F	47
5	H	54
6	H	61
7	F	49
8	F	35
9	H	44
10	H	62
11	F	58
12	F	51
13	H	48
14	F	53
15	H	45
16	H	52
17	F	56
18	F	68
19	H	57
20	H	41
21	F	46
22	H	39
23	H	37
24	F	47
25	F	42
26	H	16
27	H	22
28	F	14
29	H	19
30	F	19
31	H	24
32	H	17
33	F	25
34	H	24
35	H	21
36	F	23
37	H	13

Résultat de test de X2 avec le logiciel SPSS

The screenshot displays the SPSS Statistics Viewer interface. The left-hand pane shows a tree view of the output, with 'Chi-Square Test' selected. The main window displays the following information:

Output

/EXPECTED=80 20
/MISSING ANALYSIS.

NPPar Tests

[DataSet0]

Chi-Square Test

Frequencies

age			
	Observed N	Expected N	Residual
adultes	26	29,6	-3,6
jeunes	11	7,4	3,6
Total	37		

Test Statistics

	age
Chi-Square	2,189 ^a
df	1
Asymp. Sig.	,139

a. 0 cells (.0%) have expected frequencies less than 5. The minimum expected cell frequency is 7,4.

SPSS Statistics Processor is ready