



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1
Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Evaluation immunohistochimique de statut MSI dans les cancers colorectaux dans une série des patients suivis au niveau du Centre Pierre et Marie Curie d'Alger.

Présenté par : *M^{lle} BOUDJERDA Farida*
M^{lle} BOULENOIR Samah

Devant le Jury :

<i>DJAZOULI ALIM.FZ</i>	<i>PR</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>ZEROUTI.K</i>	<i>MAA</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>BENAHMED.M</i>	<i>MCA</i>	<i>EHS-CPMC, ALGER</i>	<i>Promotrice</i>
<i>MOKRANE.A</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Session 2019 / 2020



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le bon dieu de nous avoir donné santé et volonté pour terminer ce travail.

A notre maîtresse et présidente de mémoire Professeur DJAZOULI ALIM. FZ

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury. Nous garderons de vous l'image d'une femme dont la présence rassure et la parole apaise. Très chère Maîtresse les mots nous manquent pour vous exprimer toutes nos reconnaissances et toutes nos affections. Nous vous remercions de votre patience, votre disponibilité, et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail. Nous vous remercions de nous avoir honorés par votre présence. Vos qualités humaines nous servent d'exemple. Veuillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre grand respect.

A notre maîtresse et juge Professeur ZEROUTI.K

Vous avez accepté aimablement de juger ce mémoire. Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer notre profonde reconnaissance. Veuillez accepter, chère maîtresse, dans ce travail l'assurance de notre estime et notre profond respect.

Aux enseignants du primaire, du secondaire, du lycée

Et à tous nos maîtres de la faculté de sciences de la nature et de vie

Un mémoire est le fruit de plusieurs années d'études et nous ne saurons oublier dans notre dédicace l'ensemble de nos professeurs et maîtres qui ont contribués de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Au Professeur BENAHMED.M

Merci de nous avoir donné ce sujet, vous avez été pour nous un patron, un guide et un conseiller. Votre disponibilité, votre rigueur, votre courage ont fait de vous une maîtresse admirée, auprès de vous nous avons acquis l'amour de la recherche scientifique. Merci pour vos conseils, merci pour tous les bons moments passés ensemble. Vous avez toujours été rigoureuse tout en gardant l'esprit familial dans le service. Que ce travail vous rende fier de nous et fasse votre joie ! Puisse Dieu vous récompenser et vous accorder longue vie.

Au Docteur MOKRANE.A

Chère maîtresse vous nous avez enseignez en plus du savoir faire, le Savoir être. Votre sens de l'écoute fait de vous une maîtresse remarquable. Que le bon Dieu vous préserve dans toute ta vie. Merci !



Dédicaces

Ce moment est l'occasion d'adresser nos remerciements et notre reconnaissance et de dédier ce mémoire,...

A nos très chers parents

On ne trouve pas les mots pour traduire ce qu'on ressent envers des parents exceptionnels. Et si on en arrivait là, ce n'est que grâce à vous, vous nous avez toujours conseillés et orientés dans la voie du travail et de l'honneur, vous avez toujours su être à nos écoute, nous réconforter, calquer nos humeurs. On vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous nous portez depuis notre enfance et nous espérons que votre bénédiction m'accompagne toujours. Ce modeste travail qui est avant tout le tien, n'est que la considération de vos efforts et de vos immenses sacrifices. Nous espérons réaliser ce jour un de vos rêves et être digne de vos noms, votre éducation, votre confiance et des hautes valeurs que vous nous avez inculqués. On vous dédie ce travail, à vous, l'être le plus cher, dont nous avons la fierté d'être les filles. Puisse dieu, le tout puissant, vous protéger, préserve votre sourire et vous accorde meilleure santé et longue vie afin que nous puissions se rendre un minimum de ce que nous devons.

A nos chers frères

Walid, Imed, khalil, Yaakoub et Kheir el din

On vous dédie ce travail en guise de gratitude et de remerciement, que dieu puisse vous procurer un avenir prospère et plein de succès et vous comble de bonheur et de prospérité.

A nos chères sœurs

Rania, Hayat, Nourhen, et Ihcen

On vous dédie ce travail, pour tous les moments de joie, de complicité, et de taquinerie qu'on a pu partager ensemble. Puisse Dieu le tout puissant vous préserver du mal, et vous tracer le chemin que vous souhaitez.

A nos chers(e) amis(es)

Rim, Wissem, Lamia, Manel, Hadjer et Imen

Merci pour les agréables moments qu'on a passés ensemble. Vous avez été tous formidables avec nous. Merci pour la sympathie et l'affection que vous avez toujours portées, qu'elles demeurent éternelles. Puisse Dieu vous procurer bonheur, santé et réussite.

Aux familles BOUDJERDA, BOLENOIR, et BOUEUBDALLAH

On vous dédie ce travail en guise de notre profonde affection. Puisse Dieu vous comble de bonheur et de prospérité.

A tous ceux qu'on a omis involontairement de citer.

A tous nos enseignants tout au long de nos études.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	01
CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	03
I.1. Rappels :.....	03
I.1.1. Rappels anatomiques.....	03
I.1.1.1.Colon.....	03
I.1.1.2. Rectum.....	04
I.1.2. Histologie normale de la paroi colique et rectale.....	04
I.2. Le cancer colorectal.....	05
I.2.1. Données épidémiologiques.....	05
I.2.2. Etiopathogénie.....	06
I.2.3. Aspects anatomopathologiques.....	07
I.2.4. Facteurs pronostiques.....	09
I.2.4.1. le stade tumoral.....	09
I.2.4.2. La localisation du cancer.....	10
I.2.4.3. Les critères histopronostiques.....	10
I.2.4.4. Les marqueurs moléculaires.....	11
I.3. Aspects moléculaires du développement de cancer colorectal.....	12
I.3.1.Voie de l'instabilité chromosomique (CIN).....	13
I.3.2.Voie de l'instabilité des locus microsatellites (MSI).....	14
I.3.3. Modifications épigénétiques (La méthylation de l'ADN).....	15
I.4. Modifications de Phénotype MSI.....	17
I.4.1. Définitions.....	17
I.4.2.Les conséquences de l'inactivation du système MMR.....	19
I.4.3. La détermination du statut MMR.....	24
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	28
II.1. Etude rétrospective.....	28
II.2. MATERIEL.....	28
II.2.1. Matériel biologique.....	28
II.2.2. Matériel non biologique.....	28

II.3. METHODES.....	29
II.3.1. Techniques histologique.....	29
II.3.1.1. La fixation.....	29
II.3.1.2. Déshydratation et éclaircissement.....	29
II.3.1.3. Inclusion et confection des blocs de paraffine.....	30
II.3.1.4. Confection et étalement des coupes.....	30
II.3.1.5. Coloration des coupes histologiques.....	31
II.3.1.5.1. Déparaffinage et réhydratation.....	31
II.3.1.5.2. Coloration des coupes par Hématoxyline-Eosine (HE).....	32
II.3.1.5.3. Coloration des coupes par Trichrome de Masson	32
II.3.1.6. Montage.....	32
II.3.2. Immunohistochimie.....	32
II.3.1. principe.....	32
II.3.2. procédure.....	33
CHAPITRE III : RESULTATS.....	37
III.1. Caractéristiques épidémiologiques	37
III.2. Etude analytique.....	40
III.2.1. Etude comparative des caractéristiques histologiques immunohistochimiques du CCR entre le groupe de patients de moins de 50ans et celui de plus de 50 ans.....	40
III.2.2. Etude comparative de caractéristiques cliniques et histologiques et immunohistochimiques du cancer colorectal avec extinction de protéine (s) MMR par rapport au cancer colorectal avec conservation de protéine (s) MMR.....	42
III.3. Illustration des données de l'analyse Immunohistochimique.....	44
CHAPITRE V : DISCUSSION.....	53
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Liste des figures

Figure 01 : Anatomie du côlon	03
Figure 02 : Histologie normale de la paroi colique	05
Figure 03 :Aspects macroscopiques des adénocarcinomes coliques.....	07
Figure 04 : Différents types histologiques des carcinomes colorectaux.....	08
Figure 05 : Stades d'extension pariétale ou pT (taille tumorale) dans le cancer colorectal.....	10
Figure 06 : Séries typiques de mutations acquises au cours du développement d'un cancer colorectal.....	12
Figure 07 : Séquence d'adénome colorectal-carcinome.....	13
Figure 08 :Représentation du système MMR	15
Figure 09 : Les 2 principales voies de carcinogénèse colorectale.....	16
Figure 10 : Représentation schématique du fonctionnement du système MMR chez les mammifères.....	18
Figure 11 :Représentation non exhaustive des gènes cibles de l'instabilité micro-satellitaire dans les cancers MSI.....	20
Figure 12 : Localisation des microsatellites au sein du génome.....	21
Figure 13 : IHC des protéines MMR : perte d'expression conjointe de hMLH1 et hPMS2.....	25
Figure 14 : Profil d'instabilité moléculaire.....	27
Figure 15 : Sections ultrafines.....	33
Figure 16 : Coloration IHC en automate VENTANA.....	34
Figure 17 : Références des AC utilisés en automate VENTANA.(AC pré dilué).....	35
Figure 18 : Détection du complexe anticorps / antigène.....	35
Figure 19 : Système biotine/avidine.....	35
Figure 20 : Répartition selon l'âge, en deux tranches de ≤ 50 ans et > 50 ans.....	37
Figure 21 : Répartition des patients selon le sexe.....	37
Figure 22 : Répartition selon la Différenciation du cancer colorectal.....	38
Figure 23 :Répartition selon la profondeur pariétale d'infiltration (T) du cancer colorectal.....	38
Figure 24 : Répartition selon l'atteinte ganglionnaire (N) du cancer colorectal.....	39

Figure 25 : Répartition selon la perte de l'expression des protéines MMR des cas étudiés de cancer colorectal.....	39
Figure 26 : Répartition des patients selon la protéine MMR éteinte.....	40
Figure 27 : Répartition des patients des deux groupes selon la différenciation du CCR.....	40
Figure 28 : Répartition des patients des deux groupes d'âge selon le stade pT de CCR	41
Figure 29 : Répartition des patients des deux groupes selon le statut ganglionnaire (N) du CCR.....	41
Figure 30 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon l'âge.....	42
Figure 31 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le sexe.....	42
Figure 32 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal.....	43
Figure 33 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le stade d'infiltration pariétale.....	43
Figure 34 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le statut ganglionnaire locorégional.....	44
Figure 35 : Adénocarcinome colique bien différencié	45
Figure 36 : Adénocarcinome colique mucineux	46
Figure 37 : Muqueuse colique infiltrée par un Adénocarcinome bien différencié	47
Figure 38 : Adénocarcinome colique bien différencié	48
Figure 39 : Adénocarcinome colique bien différencié	49
Figure 40 : Adénocarcinome colique de type mucineux	50
Figure 41 : Adénocarcinome colique bien différencié	51
Figure 42 : Matériel non biologique pour examen macroscopique et inclusion.....	74
Figure 43 : Matériel non biologique pour la coupe.....	74
Figure 44 : Matériel non biologique pour déshydratation, inclusion, étalement et lecture.....	75

Liste des tableaux

Tableau 1 : les facteurs de risques.....	06
Tableau 2 : (tableau récapitulatif de nos patients).....	62
Tableau 3 : Gènes impliqués dans l'ADN MMR	69
Tableau 4 :Répartition des cas en fonction de l'âge.....	78
Tableau 5 : Répartition des patients par sexe.....	78
Tableau 6 : Répartition des malades selon la différenciation histologique.....	78
Tableau 7 :Répartition selon la profondeur pariétale d'infiltration (T) du cancer colorectal.....	78
Tableau 8 : Répartition selon le stade p N.....	78
Tableau 9 : Répartition des patients selon la protéine MMR éteinte.....	79
Tableau 10 : Comparaison selon la taille tumorale.....	79
Tableau 11 : Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique.....	79
Tableau 12 : Répartition des patients des deux groupes selon le stade pT du CCR.....	79
Tableau 13 : Répartition des patients des deux groupes selon le statut ganglionnaire (N) du CCR.....	80
Tableau 14 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon l'âge.....	80
Tableau 15 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le sexe.....	80
Tableau 16 : Comparaison selon la taille tumorale.....	80
Tableau 17 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal.....	81
Tableau 18 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal.....	81
Tableau 19 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le statut ganglionnaire locorégional.....	80

Liste des abréviations

ADK:	Adénocarcinome
ADN:	Acide Désoxyribo-Nucléique
AC:	Anticorps
APC:	Adenomatous Polyposis Coli
BAX:	BCL2- Associated X
BCL10:	BCL10 Immune Signaling Adaptor
BRAF:	B-Raf Proto-oncogene, Serine/Threonine Kinase
CCR:	Cancer Colorectal
CIMP:	CPG Island Methylator Phenotype
CIN:	Chromosome 21 Mal Instability
CPG:	Cytosine–Phosphate–Guanine
DCC:	Deleted in Colorectal Carcinoma
DMMR:	Deficient MisMatch Repair
EGF:	Facteur De Croissance Epidermique
EGFR:	Epidermal Growth Factor Receptor
EXO1:	Exonuclease 1
GDP:	Guanosine Di-Phosphate
GTP:	Guanosine Tri-Phosphate
HNPCC:	Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer (Syndrome de Lynch)
IHC:	Immuno-Histochimie
KRAS:	KRAS proto-oncogene, GTPase
LOH+:	Loss of Heterozygoty
MMR:	Mismatch Repair
MLH1:	Mut L Homologue 1
MLH3:	MutL Homolog 3
MSH2:	Mut S Homologue 2
MSH6:	Mut S Homologue 6
MSI:	Microsatellite Instability
MSS:	Microsatellite Stability

p53 : Protéine De 53 000 Dalton régulant le cycle cellulaire.
PAF : Polypose Adénomateuse Familiale
PCR: Polymerase Chain Reaction
PMS2: Postmeitotic Segregation Increased 2
PTEN: Phosphatase and Tensin Homolog
SAMD2: Mothers Against De Capentaplegic Homolog
SMAD4: Mothers against decapentaplegic homolog
TNM: Tumor Node Metastasis
TGF-β: Transforming Growth Factor-β TGF-β
WNT : Widely Conserved Family

الملخص

مع وجود ما يقارب من مليون حالة جديدة كل عام وأكثر من مليون حالة وفاة، يشكل سرطان القولون والمستقيم جزءاً كبيراً من العبء العالمي للمرض والوفاة بسبب السرطان. كما أنه يمثل مشكلة صحية عامة لدى السكان الجزائريين يتزايد تواترها تدريجياً. ترتبط مخاطر هذه الحالة المرضية بعدة عوامل بما في ذلك العمر والوراثة والنظام الغذائي والتدخين والكحول والشيخوخة. نلاحظ، في الواقع، زيادة مذهلة في الإصابة مع تقدم العمر، ويرجع ذلك على الأرجح إلى تراكم مخاطر أنواع معينة من السرطان طوال الحياة، إلى جانب حقيقة أن آليات إصلاح الحمض النووي تميل بشكل عام لتفقد فعاليتها مع تقدم العمر. ينتج سرطان القولون والمستقيم عن التراكم التدريجي للزيغ الوراثي والمتوالي في الخلايا. يحدث التطور من الورم الحميد في القولون والمستقيم إلى الورم السرطاني عن طريق ثلاثة مسارات رئيسية: عدم استقرار الميكروساتيليتات، وعدم استقرار الكروموسومات، وتغير النمط الظاهري الذي يكمن في منطقة الفوسفات السيتوزين الجوانين والميثيلات.

يعتمد عملنا على دراسة استرجاعية من يناير 2018 إلى مارس 2020، بما في ذلك 38 حالة من حالات سرطان القولون والمستقيم (20 امرأة و 18 رجلاً) في "مركز بياري ماري كوري بالجزائر العاصمة" بعد أن استفادوا من دراسة حالة عدم استقرار الميكروساتيليت. تتمثل أهدافنا في تقييم الخصائص البيولوجية المرضية لسرطان القولون والمستقيم وربطها بالمعايير السريرية، ولا سيما عمر المرضى. أظهرت النتائج غلبة جنس الإناث بنسبة تبلغ 0.9. كان متوسط عمر مرضانا يبلغ من العمر 53 عامًا. 52.6% هم تحت سن الخمسين. النوع النسيجي السائد هو السرطان الغدي بغالبية الأشكال المتميزة جيداً (68.4%). يبلغ متوسط حجم الورم حوالي 7 سم. ثلاث أرباع المرضى يصل السرطان لديه للمرحلة الثالثة الناتجة عن تسلل الورم الذي يصل إلى العضلة ويتجاوزها. ما يقرب من ثلثي المرضى ليس لديهم إصابة في العقدة الليمفاوية. 90% من المرضى فوق سن الخمسين يعانون من سرطان في المرحلة الثالثة مقارنة بـ 56% ممن هم دون سن الخمسين. تم العثور على طفرة على مستوى بروتين إصلاح عدم التطابق في 16% من المرضى، وتم تأكيد عدم استقرار الميكروساتيليت في 6 حالات من سلسلتنا بعد إجراء دراسة كيميائية مناعية لجميع الحالات.

الكلمات المفتاحية: سرطان القولون والمستقيم، السرطان الغدي، الكيمياء الهيستولوجية المناعية، بروتينات إصلاح عدم التطابق، عدم استقرار الميكروساتيليتات.

Résumé

Avec près d'un million de nouveaux cas par an et plus de ½ million de décès, le cancer colorectal (CCR) constitue une part importante de la charge mondiale de morbidité et de mortalité du cancer. Il représente aussi un problème de santé publique dans la population Algérienne, avec une fréquence en croissance progressive. Les risques de cette pathologie sont liés à plusieurs facteurs dont l'âge, l'hérédité, l'alimentation, le tabagisme, l'alcool et le vieillissement. On observe, en effet, une augmentation spectaculaire de l'incidence avec l'âge, très vraisemblablement due à l'accumulation des risques de cancers spécifiques tout au long de la vie, conjuguée au fait que les mécanismes de réparation de l'ADN tendent généralement à perdre de leur efficacité avec l'âge. Le cancer colorectal résulte de l'accumulation progressive de multiples aberrations génétiques et épigénétiques dans les cellules. La progression de l'adénome colorectal en carcinome est causée par trois voies principales: l'instabilité des microsatellites, l'instabilité chromosomique et le phénotype CpG et méthylateurs.

Notre travail repose sur une étude rétrospective de Janvier 2018 à mars 2020, incluant 38 cas de cancers colorectaux (20 femmes, et 18 hommes) au niveau du « Centre Pierre et Marie Curie » ayant bénéficié d'une étude du statut MSI. Nos objectifs sont d'évaluer les caractéristiques immuno-phénotypiques du CCR et de les corrélés à des paramètres cliniques notamment l'âge des patients. Les résultats obtenus ont révélé une prédominance féminine avec un sexe ratio de 0.9. L'âge moyen de nos patients est de 53 ans. 52.6% sont âgés de moins de 50 ans. Le type histologique prédominant est l'adénocarcinome avec une prépondérance des formes bien différenciées (68.4%). la taille tumorale moyenne est importante de près de 7cm. Les ¾ des patients ont un stade pT3 correspondant à une infiltration tumorale qui dépasse la musculature. Près des 2/3 des patients n'ont pas d'atteinte ganglionnaire. 90% des patients de plus de 50 ans sont pT3 contre 56% des moins de 50 ans. L'extinction de l'expression des protéines MMR a été trouvée chez 16 % des patients avec perte d'expression d'une ou plusieurs protéines MSI, le profil MSI a été confirmé chez 6 cas de notre série, après avoir mené une étude immunohistochimique pour tous les cas.

Mots Clés : Cancer colorectal, Adénocarcinome, Immunohistochimie, Protéines de réparation des mésappariements, instabilité microsatellitaire.

Abstract

With nearly one million new cases per year and over 1/2 million deaths, colorectal cancer (CRC) constitutes a significant part of the global burden of disease and death from cancer. It also represents a public health problem in the Algerian population, the frequency of which is gradually increasing. The risks of this pathology are linked to several factors including age, heredity, diet, smoking, alcohol and aging. We observe, in fact, a spectacular increase in the incidence with age, very likely due to the accumulation of risks of specific cancers throughout life, combined with the fact that the DNA repair mechanisms tend generally to lose their effectiveness with age. Colorectal cancer results from the progressive buildup of multiple genetic and epigenetic aberrations in cells. The progression from colorectal adenoma to carcinoma is caused by three main pathways: microsatellite instability, chromosomal instability, and CpG phenotype and methylators.

Our work is based on a retrospective study from January 2018 to March 2020, including 38 cases of colorectal cancer (20 women, and 18 men) at the "Center Pierre et Marie Curie" having benefited from a study of MSI status. Our objectives are to evaluate the immunophenotypic characteristics of CRC and to correlate them with clinical parameters, in particular the age of the patients. The results obtained revealed a female predominance with a ratio sex of 0.9. The average age of our patients was 53 years old. 52.6% are under the age of 50. The predominant histological type is adenocarcinoma with a preponderance of well-differentiated forms (68.4%). The average tumor size is significant of almost 7cm. the 3/4 patients have a pT3 level correspond to a tumor infiltration that happens to the muscular with exceeding it. Nearly 2/3 of patients do not have nodes involvement. 90% of the patients over 50 years are pT3 compared with 56% of less than 50 years. The extinction of the expression of MMR proteins was found in 16% patients with loss of expression of one or more MSI proteins. The MSI profile has been confirmed in 6 cases our cohort, after conducting an Immunohistochemical study for all cases.

Key-words: Colorectal cancer, Adenocarcinoma, Immunohistochemistry, Repair Proteins
Microsatellite Instability.



Introduction

Le cancer colorectal (CRC) est l'une des formes les plus fréquentes de cancers solides dans le monde, et de ce fait, représente un problème majeur de santé publique. Il regroupe toutes les tumeurs malignes développées sur la portion du gros intestin, situées en aval de la jonction iléocœcale jusqu'au rectum. Les principaux facteurs prédisposant connus sont les syndromes génétiques de prédisposition (syndrome de Lynch) et les maladies inflammatoires chroniques du colon, qui rendent compte d'une minorité de CCR (**Camilo et Thomas, 2010**).

Au niveau cellulaire, le cancer colorectal résulte de l'accumulation progressive d'altérations génétiques et épigénétiques qui conduisent à la transformation des cellules épithéliales normales du côlon en cellules tumorales. La perte de stabilité génomique semble être une étape moléculaire et pathogénique clé qui se produit au début du processus de genèse tumorale et sert à créer un environnement permissif pour l'apparition d'altérations dans les gènes suppresseurs de tumeurs et les oncogènes. Au moins trois formes d'instabilité génomique ont été identifiées dans le cancer du côlon: instabilité micro-satellitaire (MSI), instabilité chromosomique (c.-à-d. Aneusomie, gains et pertes de régions chromosomiques) (CIN), et translocations chromosomiques.

L'instabilité des microsatellites survient dans environ 15% des cancers du côlon et résulte de l'inactivation du système de réparation des mésappariements de mutations (MMR) par des mutations du gène MMR ou par une hyperméthylation du promoteur MLH1. MSI favorise la tumorigénèse en générant des mutations dans les gènes cibles qui possèdent des répétitions microsatellites codantes, telles que TGFBR2 et BAX. La CIN se trouve dans la majorité des cancers du côlon et conduit à un modèle différent d'altérations géniques qui contribuent à la formation de tumeurs. Le CIN semble résulter principalement de la déréglementation des points de contrôle de répllication de l'ADN et des points de contrôle du fuseau mitotique. Les mécanismes qui induisent et influencent l'instabilité génomique dans le cancer en général et plus particulièrement dans le cancer du côlon ne sont que partiellement compris et font par conséquent l'objet de recherches approfondies. Espérons que la découverte de la cause et du rôle spécifique de l'instabilité génomique dans le cancer du côlon donnera lieu à des stratégies de chimiothérapie plus efficaces qui tirent parti de cette caractéristique unique des cellules cancéreuses (**Williamet Grady, 2004**).

Nous nous proposons dans ce travail de rapporter une série de 38 Cas de cancers colorectaux, ayant bénéficié d'une étude du statut MSI, colligés sur une période de 2 ans allant de janvier 2018 à janvier 2020 au niveau du « Centre Pierre et Marie Curie » d'Alger.

Notre travail a pour but de préciser les caractères anatomo-pathologiques des CCR, la caractérisation des tumeurs colorectales qui présentent un phénotype MSI positif et le compléter par une étude immunohistochimique des anticorps anti-MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2.

Pour atteindre les objectifs que nous nous sommes assignés, nous avons adopté la stratégie suivante :

Dans un premier temps, nous avons fait une description générale de notre échantillon en étudiant la distribution de toutes nos variables indépendantes : âge, sexe, paramètres histologiques et immunohistochimiques.

Par la suite, nous avons effectué des comparaisons entre :

- Le groupe de patients jeunes âgés de moins de 50 ans et le groupe de patients âgés de plus de 50 ans.
- Le groupe de patients avec expression conservée des protéines MMR et le groupe de patients avec perte d'expression des protéines MMR.

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Rappels:

I.1.1. Rappels anatomiques

I.1.1.1 . Colon

Le colon est la partie du tube digestif qui s'étend de la fin de l'intestin grêle dans la fosse iliaque droite au niveau de la valvule iléocœcale jusqu'à la jonction recto-sigmoïdienne au niveau de la troisième vertèbre sacrée. Il mesure environ 1,5mètre de long (Traore, 2007).

Il se distingue des anses grêles par son calibre, sa fixité partielle, et sa situation en cadre autour de l'étage sous méso colique. Seul le transverse et le sigmoïde sont mobiles dans la cavité péritonéale (Bahri, 2017).

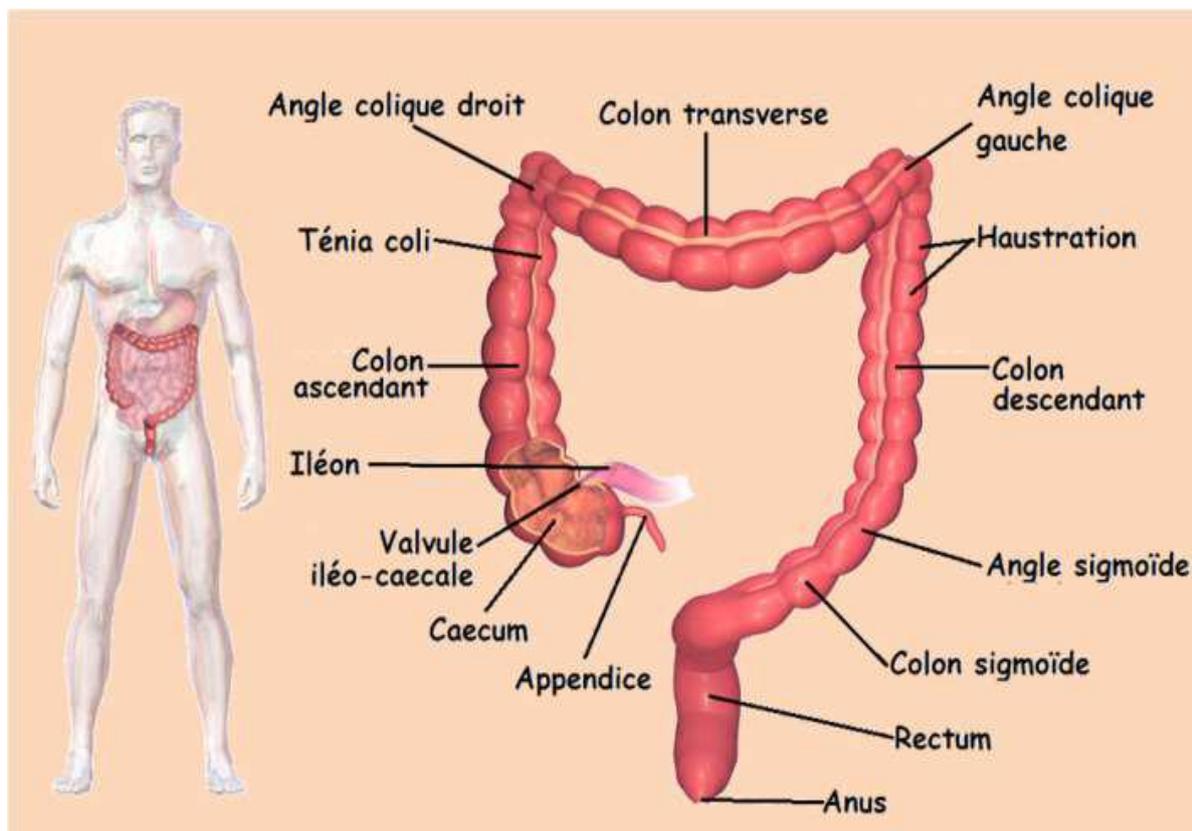


Figure 1 : Anatomie du côlon.(l'URL http://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/grain8b_1.html)

D'un point de vue strictement morphologique, on peut lui décrire les différents segments suivants dans l'ordre (Figure : 1) :

- **Le caecum** : cul de sac situé au dessous de la valvule de Bauhin et à 2cm de celle-ci, il porte l'appendice vermiculaire.
- **Le côlon droit** : (12-17 cm), est représenté par le colon ascendant et l'angle colique droit. Il occupe les fosses iliaque et lombaire droites (**Traore, 2007**), il se coude au niveau de la face inférieure du foie. Le côlon ascendant vertical jusqu'à l'angle colique droit, est fixé par l'accolement du méso-côlon (**Dao Kenaiba, 2008**).
- **Le côlon transverse**: (50 à 60 cm), va de l'angle colique droit à l'angle colique gauche (**Traore, 2007**), il barre la carte abdominale jusqu'à l'angle splénique ou angle colique gauche. Il décrit une courbe concave en arrière et en haut sa face supérieure et suit le grand épiploon. Sa face inférieure surplombe les anses de l'intestin grêle (**Dao Kenaiba, 2008**).
- **Le côlon gauche** : comprend l'angle colique gauche et le colon descendant (14-20cm), qui est cylindrique et de calibre plus réduit (**Traore, 2007**), il est rétro-péritonéal et suit le bord externe du rein gauche (**Dao Kenaiba, 2008**).
- **Le côlon sigmoïde** : (45-51cm), il est intra pelvien (**Traore, 2007**), flexueux et se prolonge par le rectum qui se termine par le canal.

I.1.1.2. Rectum :

Le rectum est le segment terminal du tube digestif. Faisant, suite au sigmoïde, au niveau de la troisième vertèbre sacrée, il se termine à la ligne ano-cutanée ou marge anale (**Egyir, 2017**), il est dépourvu de bandelettes d'haustation et d'appendice omental, ce qui le différencie du côlon (**Meilleroux, 2016**). On distingue au rectum deux segments : L'un supérieur ou pelvien (ampoule rectale), contenu dans la concavité pelvienne; l'autre, périnéal ou (canal anal), compris dans l'épaisseur de la paroi inférieure du bassin ou périnée. Le segment périnéal est muni d'un double sphincter assurant la continence anale. La longueur totale est, chez l'homme adulte, de 12 cm en moyenne, (**Traore, 2007**).

I.1.2. Histologie normale de la paroi colique et rectale :

La paroi colique et la paroi rectale sont sensiblement identiques et sont constituées chacune de quatre couches superposées, qui sont de la lumière vers l'extérieur (Figure : 2) :

- ✓ **Muqueuse**, qui est dépourvu de plis circulaires (valvules conniventes) et de villosités (contrairement à l'intestin grêle). Recouverte d'un épithélium de surface, elle se compose de cryptes ou glandes entourées d'un tissu conjonctivo-vasculaire de soutien

ou chorion. Elle est délimitée en profondeur par une fine lame musculaire lisse (la musculaire muqueuse ou muscularis mucosae).

- ✓ **Sous muqueuse**, tissu conjonctif vascularisé, réseau de nerfs sympathiques, lâche (plan de glissement entre les deux couches adjacentes) (Meilleroux, 2016).
- ✓ **Muscleuse**, formée de la superposition de deux couches de cellules musculaires lisses, l'une interne circulaire et l'autre externe longitudinale. Entre ces deux couches, on observe des plexus nerveux, les plexus d'Auerbach, responsables de l'innervation végétative du tube digestif (Meilleroux, 2016).
- ✓ **Séreuse**, constituée par le péritoine viscéral (Bahri, 2017), entoure la surface libre du côlon, jusqu'aux zones fixes. Au niveau du côlon, la sous-séreuse correspond à un tissu adipeux et vascularisé, bordé de la séreuse (péritoine) en périphérie. Au niveau du moyen et du bas rectum, il n'existe pas à proprement parler de séreuse. Le tissu adipeux péri-rectal au-delà de la muscleuse est nommé mésorectum (Meilleroux, 2016).

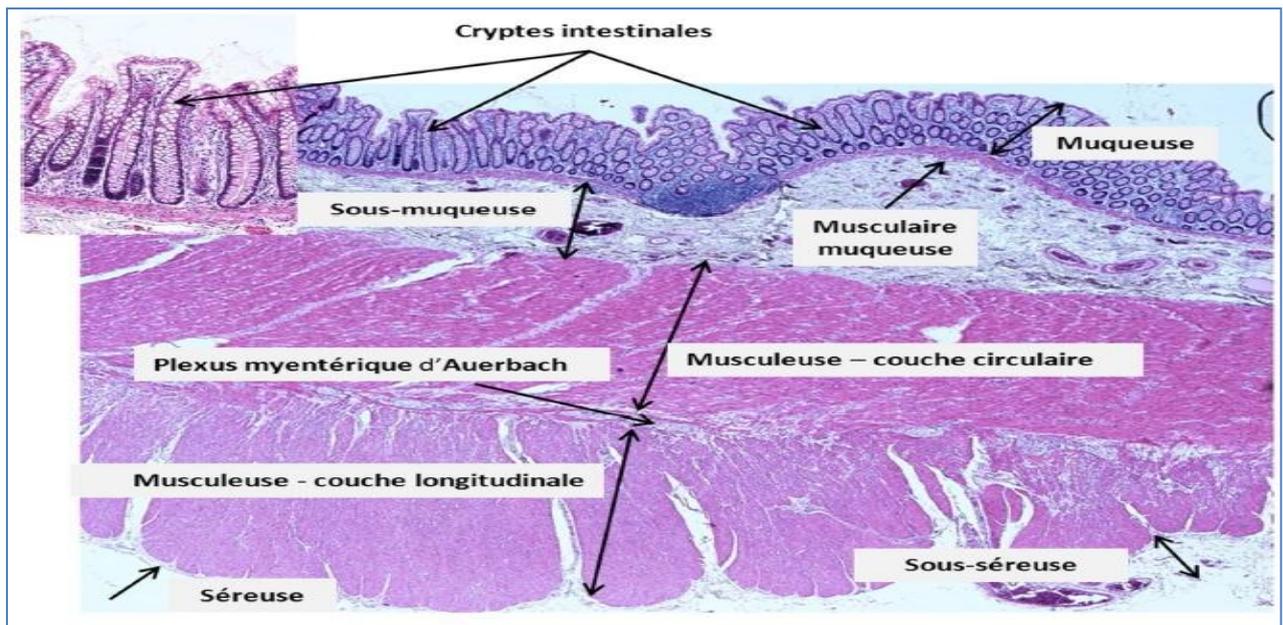


Figure 2 : Histologie normale de la paroi colique (Mihalache, 2016).

I.2. Le cancer colorectal :

I.2.1. Données épidémiologiques :

Le cancer colorectal (CCR) représente près de 15 % de l'ensemble des cancers dans le monde (Sekal, 2012), et près de 55% des cas surviennent dans les pays développés (Sedkaoui, 2015). Son incidence est de 50 cas pour 100 000 habitants par an avec près de 40 000 nouveaux cas par an. Si le cancer colorectal peut survenir à l'âge de 15 ans, le risque ne

devient important qu'à partir de 45 ans avec un pic d'incidence dans la septième décade (**Traore, 2007**). Une prédominance masculine est observée. Les symptômes varient selon la localisation de la tumeur, anémie et perte de poids sont communs, mais rectorragies et constipation sont typiques de l'atteinte recto-sigmoïdienne. Le sigmoïde et le rectum sont les sites les plus touchés. Plus de 90% des cancers colorectaux sont des adénocarcinomes. Les métastases sont observées dans 40 à 60 % des cas. Dans certains pays, le cancer colorectal est la cause la plus fréquente de décès par cancer non lié au tabac. En Algérie, le CCR se situe à la deuxième place des cancers les plus fréquents après le cancer du sein chez la femme 8177cas et après le cancer des poumons chez l'homme avec 2201 cas (**Amier et Mezaache, 2018**).

I.2.2. Etiopathogénie :

Il existe certains facteurs qui peuvent être à l'origine du cancer de colon, résumés dans le tableau n°1.

Tableau 1 : les facteurs de risques (Gramont et al., 2018).

les facteurs de risques
<ul style="list-style-type: none"> • Facteurs alimentaires : régimes riches en protéines (viandes rouges, brûlées), graisses saturées, graisses animales (charcuterie, viandes grasses), sucres.
<ul style="list-style-type: none"> • Age • obésité • sédentarité • excès calorique
<ul style="list-style-type: none"> • Tabac • Alcool
<ul style="list-style-type: none"> • Facteurs génétiques (héréditaires) : <ul style="list-style-type: none"> - polypes et polyposes familiales... - Syndrome de Lynch ou cancers colorectaux sans Polypose (HNPCC) - Syndrome de Gardner - Syndrome de Turcot: Polypose recto colique familiale - Syndrome de Peutz Jeghers - Polypose juvénile (Traore, 2007). • Pathologies recto-coliques favorisantes... <ul style="list-style-type: none"> - Adénome - Maladies inflammatoires chroniques : Rectocolite ulcero-hémorragique, Maladie de Crohn • un antécédent familial ou personnel d'adénome ou de CCR • Les sels biliaires et la pullulation bactérienne (Kasper et al. 2005). • Diabète et insulino-résistance (Fearon et Vogelstein, 1990).

I.2.3.Aspects anatomopathologiques :

Les cancers colorectaux forment des tumeurs bourgeonnantes le plus souvent (figure : 3) et infiltrent la paroi, et s'ulcèrent parfois en surface.

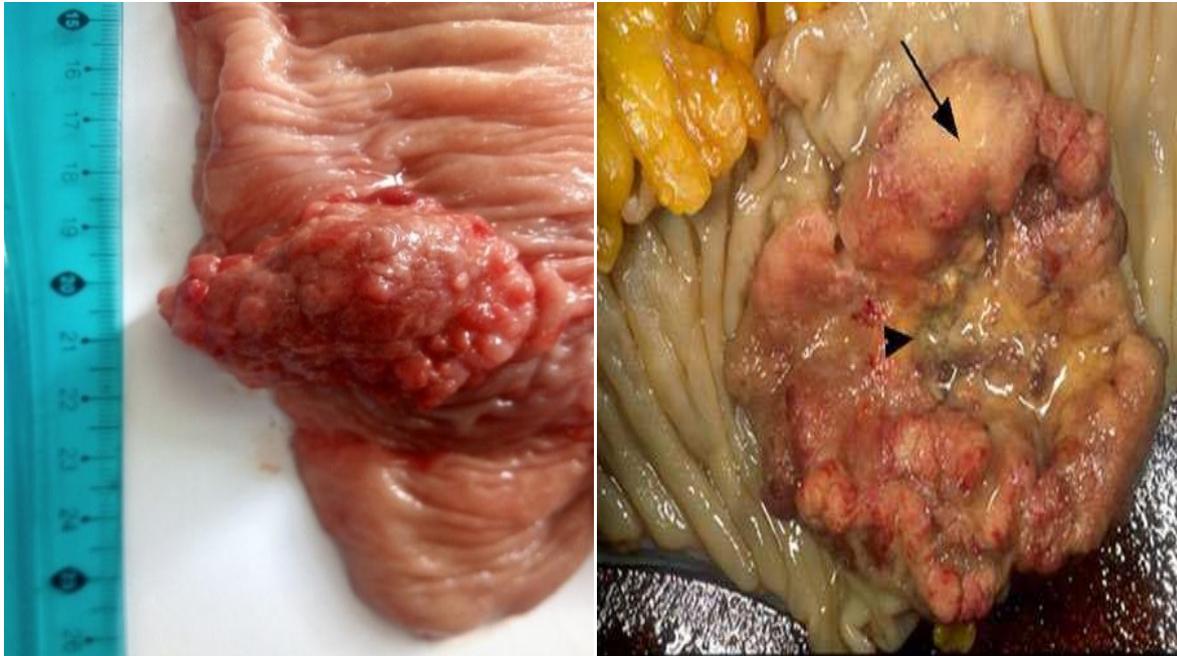


Figure 3 : Aspects macroscopiques des adénocarcinomes coliques (photos personnelles)

Au plan morphologique, l'**adénocarcinome** est la forme histologique la plus courante : Il s'agit adénocarcinome lieberkühnien. Selon les caractères d'organisation des cellules tumorales (architecture glandulaire), et selon le degré de mucosécrétion, on les classe en :

- a. L'adénocarcinome bien différencié (70% à 75%):** Caractérisé par une structure glandulaire avec des tubes réguliers, bordés par un revêtement fait de cellules cylindriques à noyau uniforme en taille et en forme. La polarité cellulaire est bien visible. L'épithélium glandulaire reste unistratifié. La mucosécrétion est conservée ou diminuée.
- b. L'adénocarcinome moyennement différencié (10 %) :** Caractérisé par des tubes glandulaires légèrement irréguliers, riches en mitoses. On note également des massifs cellulaires pleins creusés de cavités cribriformes. Polarité cellulaire peu nette ou absente. La mucosécrétion est peu visible.
- c. L'adénocarcinome peu ou indifférencié (5 %) :** Caractérisé par de très rares tubes glandulaires très irréguliers. Au sein d'un stroma fibro- inflammatoire abondant baignent des cellules isolées, ou groupées en amas ou des travées de

cellules indifférenciées. La sécrétion de mucus très minime est mise en évidence par la coloration periodic acid schiff (PAS) (**Bahri, 2017**).

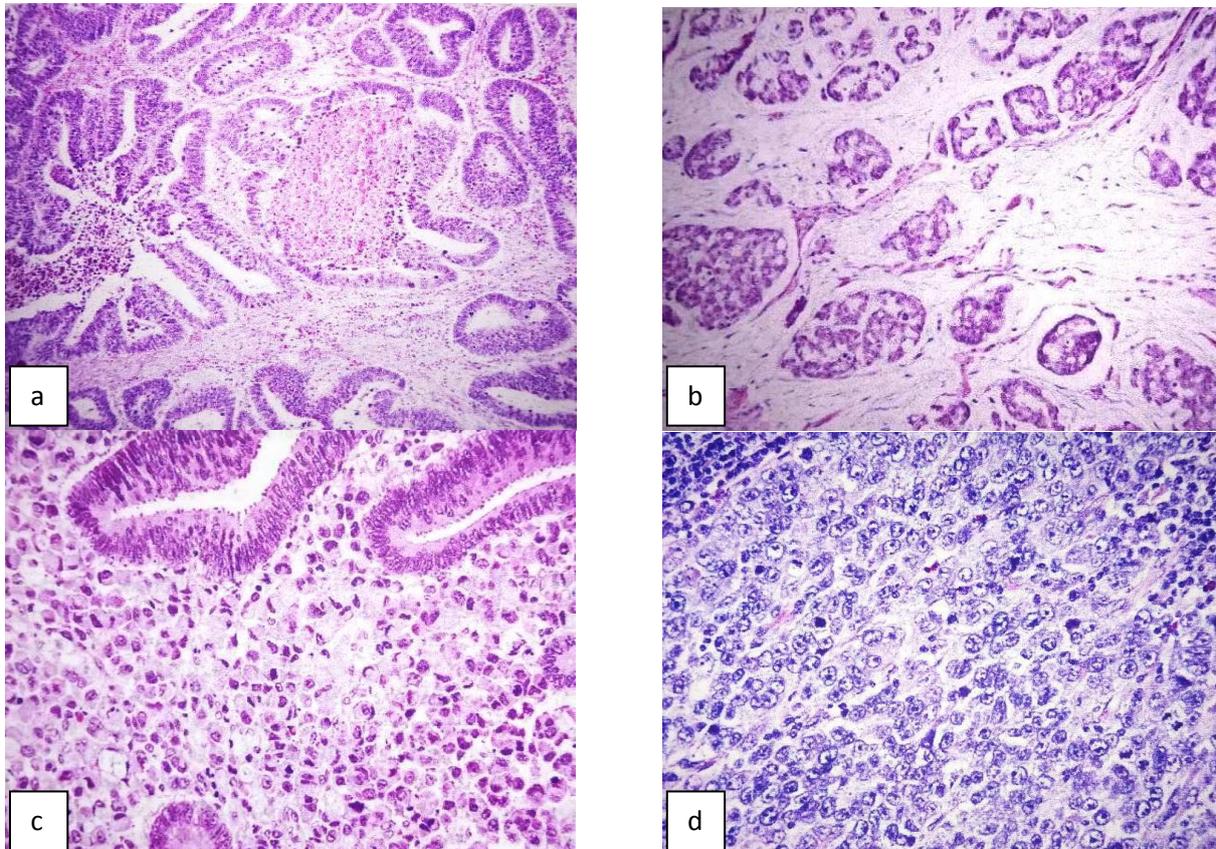


Figure 4 : Différents types histologiques des carcinomes colorectaux.

a : Adénocarcinome bien différencié lieberkuhnien. b : Carcinome mucineux. c: Carcinome à cellules indépendantes en bague à chaton. d : carcinome médullaire (Bosman et al, 2010).

D'autres types histologiques peuvent se voir, certains associés à des caractéristiques moléculaires spécifiques :

- *L'adénocarcinome mucineux* : plus de 50% de la lésion est composée de mucus extracellulaire dans lequel baignent des structures carcinomateuses acineuses ou trabéculaires ou des cellules isolées. L'adénocarcinome mucineux est généralement MSI-H (haut niveau d'instabilité micro-satellitaire) (**Bosman et al., 2010**).
- *Le carcinome à cellules isolées en bague en chaton* : Ce type histologique est rare, environ 0,1 à 2,4% des CCR. Il est défini dans la classification OMS 2010 par la présence d'un contingent de cellules isolées de plus de 50%. Ces cellules renferment une vacuole de mucus intra cytoplasmique refoulant le noyau en périphérie, et leur donnant l'aspect d'une bague à chaton. Elles peuvent être associées à de larges flaques de mucus, ou infiltrer la paroi colorectale sur un mode plus diffus

et moins mucineux, donnant alors des aspects de limite. Dans environ 1/3 des cas, un phénotype MSI est associé. Dans l'étude de Kakar et al. ce phénotype MSI, pourtant reconnu pour être de meilleur pronostic d'une façon générale, n'apparaît pas comme un facteur prédictif de survie dans le cas des carcinomes à cellules isolées colorectaux. La présence d'un contingent à cellules isolées même inférieur à 50% doit être signalée dans le compte-rendu (**Kakar et Smyrk, 2005**).

- Le carcinome médullaire : Il s'agit d'un type histologique encore plus rare, dont l'incidence rapportée est d'environ 0,03%. D'un point de vue morphologique, il est caractérisé par des cellules aux noyaux vésiculeux, avec des nucléoles proéminents, et un cytoplasme éosinophile. Il s'y associe une abondante réaction lymphocytaire, avec la présence de nombreux lymphocytes intra-épithéliaux. Ce type histologique est dans la majorité des cas de phénotype MSI, et est associé à un bon pronostic avec un risque plus faible de métastases ganglionnaires ou à distance (**Thirunavukarasu et al. 2010**).
- Le carcinome indifférencié : Tumeur sans marqueurs morphologiques de différenciation glandulaire, est par définition de haut grade et associée à un mauvais pronostic. La majorité des CCR sont négatifs pour la cytokératine 7 et positifs pour la cytokératine 20, et exprime CDX2, facteur de transcription (**Meilleroux, 2016**).
- Autres variantes plus rares : serrated adenocarcinoma, carcinome de type cribriforme, adénocarcinome micropapillaire, carcinome adénosquameux...

I.2.4. Facteurs pronostiques :

Sans traitement, le cancer colorectal évolue vers le décès du patient. Tous stades confondus, le taux de survie à 5 ans est de 56% et celui à 10 ans est de 50%. De nombreux facteurs influencent le pronostic du cancer colorectal (**Mihalache, 2016**).

I.2.4.1. le stade tumoral :

Le stade tumoral, c'est-à-dire l'extension anatomique locorégionale et à distance du cancer, au moment du diagnostic : la classification TNM (clinique et/ou pathologique). Elle est l'indicateur principal de groupes pronostiques utilisé pour la décision thérapeutique avec les meilleures chances de guérison pour ceux découverts à un stade précoce (**Camille, 2017**).

Principes et buts de la classification TNM : Elle reflète l'évolution de la tumeur: T (taille de la tumeur), N (Métastase ganglionnaire) et M (Métastase à distance). La classification TNM et pTNM (p : anatomopathologique) repose sur des critères dépendant du site anatomique. C'est une classification évolutive.

Intérêts :

- Précis: T x 4, N x 3, Mx 2 = 24 catégories évolutives
- Valeur pronostique pour la plupart des tumeurs
- Définit des groupes homogènes de survie

Limites : la classification pTNM dépend de :

- l'extension de la résection chirurgicale
- exhaustivité de l'analyse (Mihalache, 2016).



Figure 5 : stades d'extension pariétale ou pT (taille tumorale) dans le cancer colorectal (annexe 3).

1.2.4.2. La localisation du cancer :

Les tumeurs du côlon droit sont associés à un moins bon pronostic que les tumeurs du côlon gauche quel que soit le stade du cancer (Brungs et al., 2017). De plus, les cancers du côlon droit métastatiques répondent moins bien à la chimiothérapie que les cancers du côlon gauche. Ceci suggère que pour les CCR métastatiques la localisation de la tumeur primitive doit être prise en compte, en plus du statut RAS pour la décision thérapeutique (He et al., 2017). Les cancers du côlon gauche et du rectum ont le même pronostic (Lee YC et al., 2013).

1.2.4.3. Les critères histopronostiques :

Les critères histopronostiques sont des critères pronostiques évalués après analyse microscopique de la tumeur ou de biopsies tumorales. L'examen microscopique des CCR est

toujours précédé d'un examen macroscopique, celui-ci est capital pour prélever l'ensemble des ganglions du méso-côlon/rectum. En dépit d'une recherche exhaustive de ganglions péricoliques, lorsque le nombre total de ganglions est inférieur à 12, le pronostic est moins bon (**Niedzwiecki et al., 2011**). Il se peut aussi qu'aucun ganglion ne soit observé mais que le pathologiste retrouve des dépôts tumoraux péri-coliques/rectaux qui sont considérés dans le TNM de 2009 comme équivalent à une atteinte ganglionnaire : stade pN1c. La présence de dépôts tumoraux péri-coliques/rectaux est associée à un mauvais pronostic (**Nagtegaal et al., 2017**). Les embolies vasculaires ou lymphatique et les engainements périnerveux sont également des facteurs de mauvais pronostic (**Compton et al., 1999**).

Le sous-type histologique d'adénocarcinome peut aussi influencer le pronostic. Les adénocarcinomes mucineux du rectum sont associés à une mauvaise réponse à la radiochimiothérapie (RCT) pré-opératoire (néo-adjuvante) et à un mauvais pronostic global (**McCawley et Wang, 2016**). L'impact pronostique n'est pas clairement établi dans les cancers coliques (**Chang et al., 2016**). Les adénocarcinomes à cellules en bague à chaton et de type micropapillaire sont associés à un mauvais pronostic (**Arifi et al., 2015**). La mauvaise différenciation et la perte d'expression du marqueur de différenciation intestinale CDX2 en immunohistochimie sont aussi associés à une moins bonne survie, notamment dans les stades II et III, ainsi qu'à une moins bonne réponse à la chimiothérapie (**Dalerba et al., 2016**).

L'inflammation stromale par des lymphocytes T CD3+, CD8+, CD45RO+ est indicatrice de bon pronostic (**Galon et al., 2006**).

La prédiction pronostique de l'infiltration stromale serait même meilleure que celle donnée par le TNM (**Galon et al., 2014**). La réponse histologique complète ou presque complète sur le site primitif et les métastases est associée à une meilleure survie sans progression (**Kim et al., 2016**).

1.2.4.4. Les marqueurs moléculaires :

Les biomarqueurs utilisés en pratique clinique à l'heure actuelle dans la prise en charge des CCR sont à visée diagnostique, prédictive, ou pronostique. L'évaluation de ces biomarqueurs peut se faire aussi bien sur la pièce opératoire que sur une biopsie de la tumeur primitive, ou, sur une métastase (**Meilleroux, 2016**). Aussi, il est recommandé d'effectuer une recherche :

- de phénotype MMR pour le diagnostic de syndrome de Lynch et comme facteur prédictif de réponse à la chimiothérapie chez certains patients de stade II
- de mutations *RAS* chez les patients métastatiques dans le but de prédire la réponse au traitement par anti-EGFR.

- Et de mutation *BRAF* associée à un très mauvais pronostic pour l'inclusion dans d'éventuels essais thérapeutiques ou pour intensification du traitement.

Les CCR sporadiques MSI-H ont un meilleur pronostic et répondent moins bien aux chimiothérapies à base de 5-Fluorouracile ou d'oxaliplatine que les CCR MSS (Cohen et al., 2009). La présence de mutation *RAS* chez les patients CCR métastatiques est indicatrice de non-réponse au traitement aux thérapies ciblées anti-EGFR. La présence d'une mutation *BRAFV600E* dans les CCR est un facteur indépendant de mauvais pronostic reconnu dans plusieurs études (Palomba et al., 2016). Le phénotype CIMP-H est également un facteur indépendant de mauvais pronostic pour les CCR colorectaux (Juo et al., 2014).

I.3. Aspects moléculaires du développement de cancer colorectal

Le cancer colorectal est une maladie hétérogène mais dont le développement suit un modèle assez classique de carcinogénèse multi-étapes (Figure : 6).

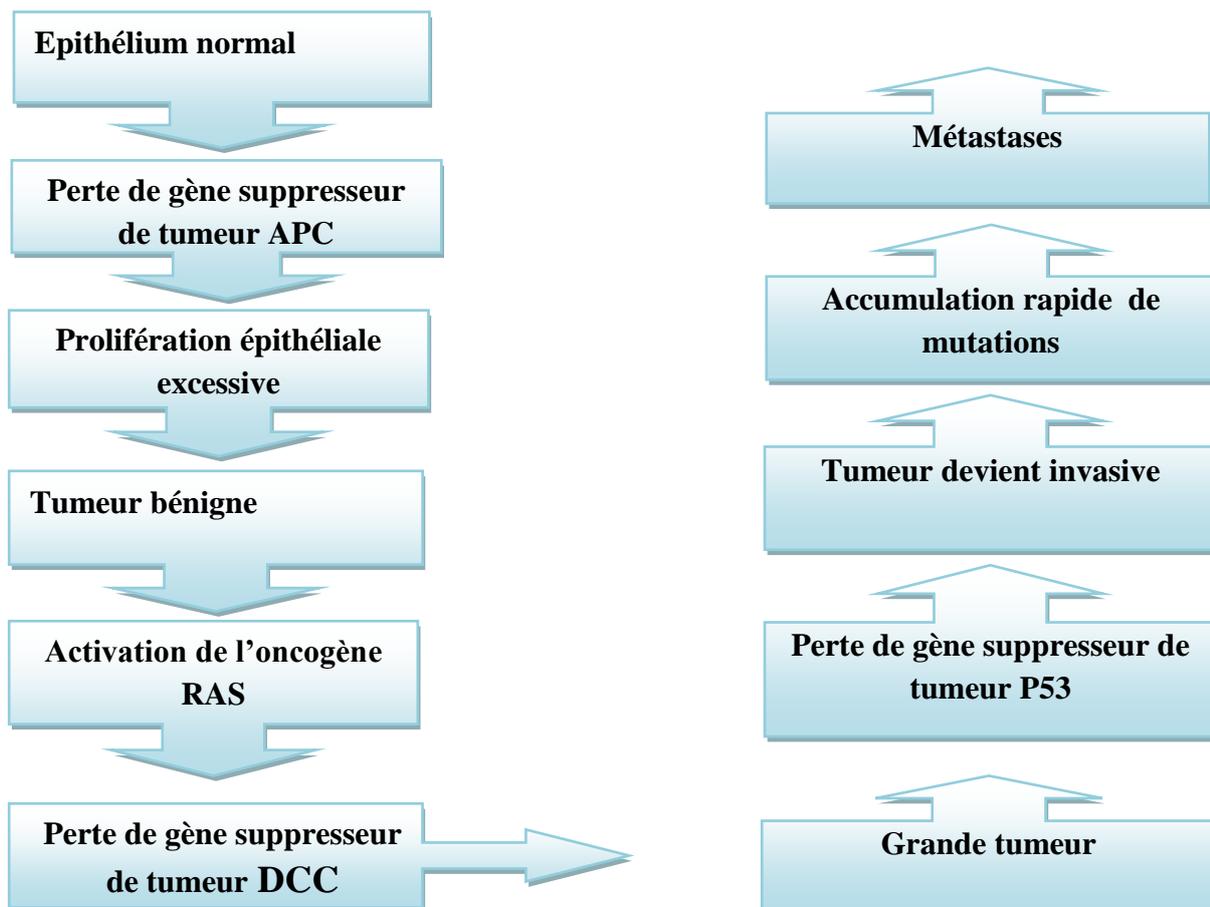


Figure 6 : Séries typiques de mutations acquises au cours du développement d'un cancer colorectal (Parham, 2014).

La transformation d'une cellule épithéliale colique normale en cellule cancéreuse serait liée à l'accumulation successive de mutations activatrices d'oncogènes et de mutations inactivatrices de gènes suppresseurs de tumeurs. Trois principaux mécanismes de carcinogénèse colorectale ont été décrits (Haet al., 2014) (Figure : 7).

I.2.3.1. Voie de l'instabilité chromosomique (CIN ou cancers LOH+) :

Ces cancers sont appelés LOH+ (Loss of Heterozygoty). Ces mécanismes sont présents dans 80 % de cas pathologiques. Les cellules cancéreuses ont un contenu anormalement élevé en ADN (hyperploïdie), des pertes chromosomiques fréquentes (17p, 18q et 5q) et es mutations fréquentes des gènes APC, p 53 et KRAS2(Parham, 2014).

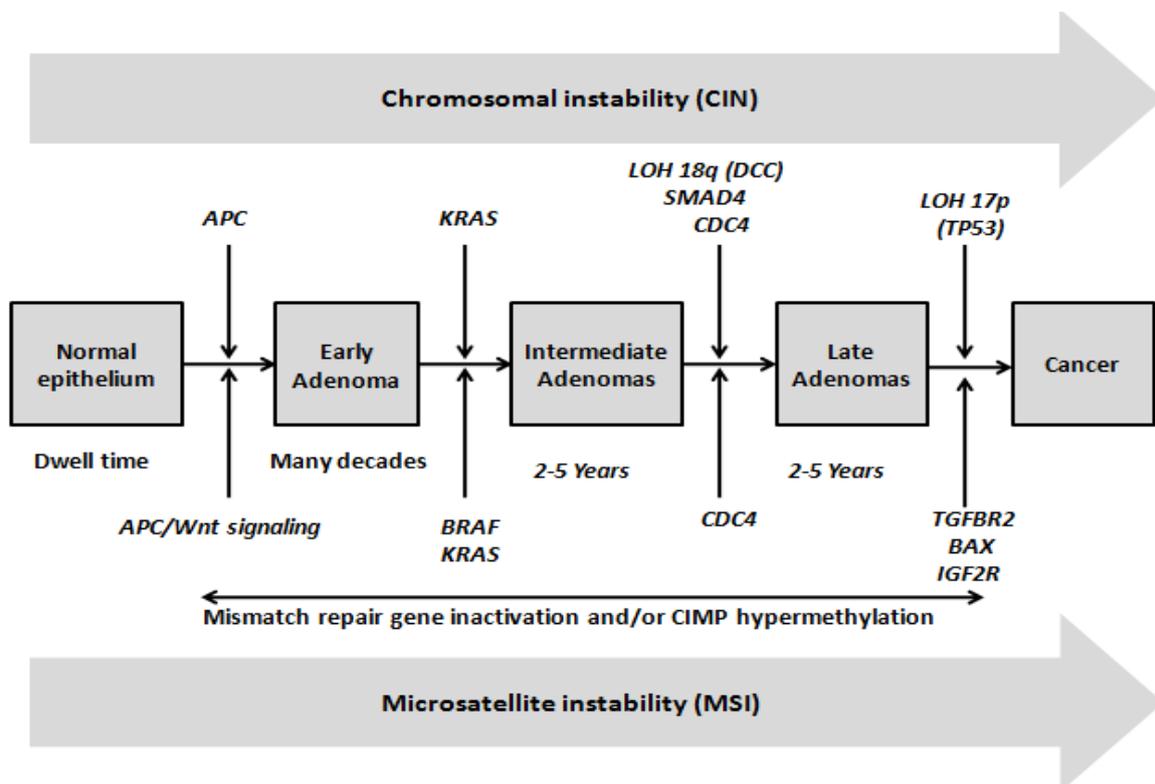


Figure 7 : Séquence d'adénome colorectal-carcinome (Ha et Hong, 2018).

La mutation APC est la première étape de transformation de l'épithélium colorectal normal en adénome. La séquence adénome-carcinome est causée par trois voies principales: CIN, MSI et CIMP. CIN, instabilité chromosomique; MSI, instabilité des microsatellites; CIMP, phénotype de méthylateur d'îlot CpG; APC, polypose adénomateuse; KRAS, KRAS proto-oncogène GTPase; BRAF, B-Raf proto-oncogène sérine / thréonine kinase; TP53, protéine tumorale 53; LOH, perte d'hétérozygotie; HNPPC, cancer colorectal héréditaire sans polypose; MLH1, homologue mutL 1; MSH2, homologue mutS 2; DCC, récepteur DCC netrin 1; TGFBR, transformant le récepteur du facteur de croissance β ; BAX, régulateur d'apoptose X associé à BCL2; IGF2R, récepteur du facteur de croissance analogue à l'insuline 2; CDC4, protéine de contrôle de la division cellulaire.

Le principal gène impliqué dans l'initiation des cancers colorectaux est le gène APC (Adenomatous Polyposis Coli). La perte d'APC (un gène suppresseur de tumeur) conduit à une activation constitutionnelle de la voie de signalisation WNT/ β -caténine et à une prolifération anarchique et continue des cellules coliques. Le polype qui résulte de cette mutation est susceptible d'acquérir d'autres mutations, dont une mutation activatrice dans le gène KRAS (un oncogène) qui conduit à une augmentation de la prolifération cellulaire (KRAS est une enzyme impliquée dans les voies de signalisation en réponse à divers facteurs de croissance dont l'EGF). D'autres mutations s'en suivent, créant ainsi plusieurs sous populations clonales. Il s'agit en particulier de gènes suppresseurs de tumeurs localisés sur le chromosome 18q (entre autres DCC, deleted in colorectal cancer, SMAD 2 et 4, impliqués dans la voie de signalisation TGF- β , ...) et le suppresseur de tumeur p53 dont le rôle est celui de « gardien du génome ». Leur rôle est de bloquer le cycle cellulaire, permettant la réparation des lésions de l'ADN, et induisant la mort cellulaire si les lésions n'ont pu être réparées. Une mutation inactivatrice conduit finalement à la formation d'un adénocarcinome (**El-Murr, 2014**).

I.2.3.2. Voie de l'instabilité des locus microsatellites (cancers RER+ ou MSI) :

Ces cancers sont appelés RER+ (replication error) ou MSI (microsatellite instability) qui sont représentés dans 12 à 15% des cancers. Les cellules cancéreuses ont un contenu en ADN normal (diploïdie), n'ont pas de pertes chromosomiques mais elles ont des anomalies des gènes MMR (mismatch repair). Ces gènes codent pour des protéines dont le rôle est de détecter et de réparer les erreurs de réplication de l'ADN survenues au cours de la mitose. La mutation ou la méthylation de la région promotrice des gènes MMR induit une déficience de ce système de réparation et les mutations vont s'accumuler, préférentiellement au niveau des microsatellites, régions du génome particulièrement sujettes aux erreurs de réplication. La chronologie des mutations des cancers RER+ est mal connue : la mutation du récepteur de type II du TGF β apparaît la plus précoce (**Amier et Mezaache, 2018**).

Les quatre gènes clés de ce système identifiés à ce jour chez l'homme sont :

- mut L homologue 1 (MLH1),
- mut S homologue 2 (MSH2),
- mut S homologue 6 (MSH6) and
- postmitotic segregation increased 2 (PMS2), ainsi nommés en rapport avec leur homologie avec les gènes MMR de la bactérie Escherichia coli.

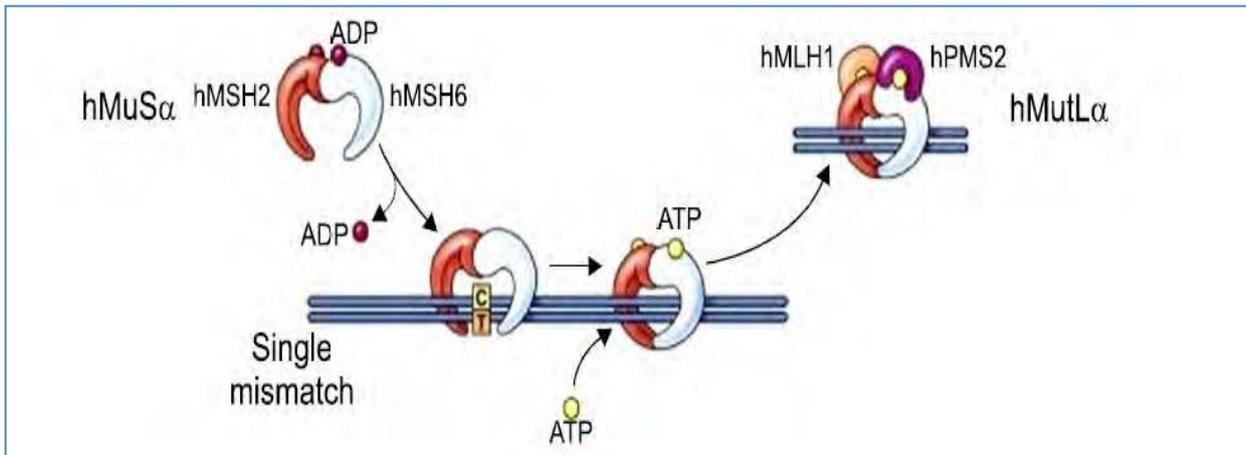


Figure 8 : Représentation du système MMR (William et John, 2008).

Ces gènes codent pour des protéines qui, chez les eucaryotes, fonctionnent sous la forme d'hétérodimères. Les protéines MSH2 et MSH6 (mutS α) forment un hétérodimère qui va identifier l'erreur de mésappariement et initier le système de réparation. La liaison de ce complexe en regard du mésappariement entraîne un changement conformationnel ATP-dépendant permettant de recruter l'hétérodimère MuL α formé par les protéines MLH1 et PMS2. (Fig.8) Ce recrutement permet de guider l'exonucléase qui élimine plusieurs bases du brin néo-synthétisé. La réplication peut ensuite reprendre avec appariement correct des bases. Lorsque le système MMR est défaillant, cela entraîne un phénotype tumoral particulier appelé « phénotype RER (Replicative Error) » ou « phénotype dMMR (déficient MisMatch Repair) ». Ce phénotype va se traduire d'une part par un défaut de production des protéines MMR détectables en immunohistochimie et d'autre part, par une instabilité de séquences hautement répétées du génome, les microsatellites (phénotype MSI).

I.3.3. Modifications épigénétiques : La méthylation de l'ADN

Jusqu'à récemment, on pensait que la cancérogénèse n'était due qu'à des modifications de la séquence de l'ADN. Il est maintenant admis que les mécanismes épigénétiques jouent un rôle aussi important dans la cancérogénèse que les mécanismes génétiques. Lorsqu'on aborde la question de la méthylation et du cancer, deux événements majeurs et indépendants semblent étroitement liés et impliqués dans la tumorigénèse; l'hypométhylation et l'hyperméthylation (Bianchini, 2012) (Figure 9).

L'Hypométhylation joue un rôle dans le cancer en activant des gènes impliqués dans l'invasion et le processus métastatique. L'hypométhylation du génome de cellules cancéreuses se caractérise par une baisse de 20 à 60% de la teneur en 5-

méthylcytosine par rapport à des cellules normales. Bien que les mécanismes responsables de cette hypométhylation ne soient pas clairement définis, les conséquences n'en sont pas moins bien établies, entraînant : - une activation d'éléments transposables (séquence d'ADN capable de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans un génome) responsable d'une instabilité génomique ; - une augmentation des recombinaisons homologues responsables d'un taux plus élevé de mutations par réarrangements géniques ; et une activation d'oncogènes.

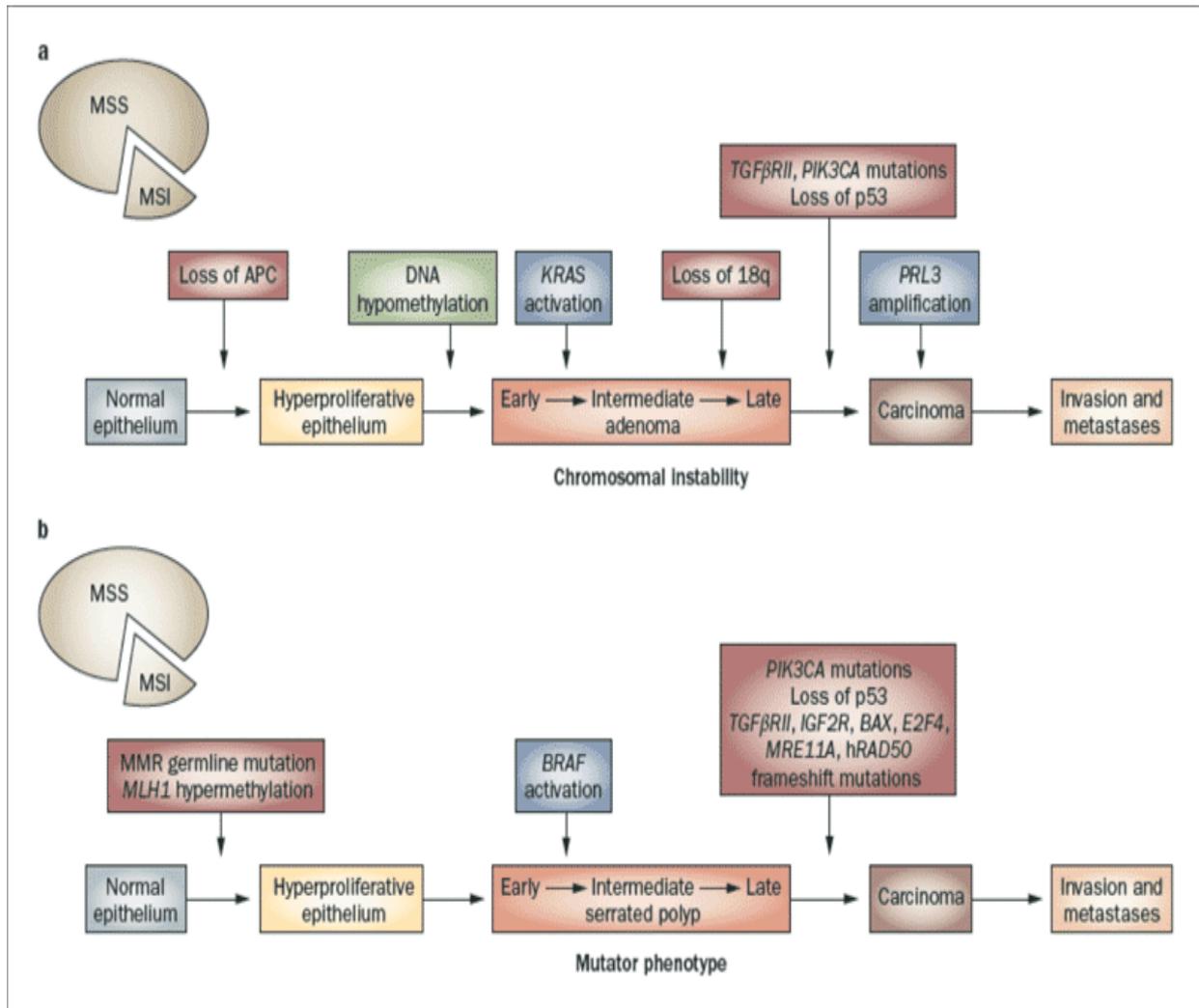


Figure 9 : Les 2 principales voies de carcinogénèse colorectale (Vilar et al., 2010).

a) voie CIN (ou LOH) une mutation au niveau d'*APC* conduit à la prolifération de l'épithélium, l'hypométhylation de l'ADN + l'activation de *KRAS* provoque l'instabilité chromosomique (perte de 18q), l'accumulation de facteur de croissance et inhibition de *P53* qui vont amplifier la protéine *PRL3* et la formation de carcinome métastatique.

b) voie MSI une mutation dans le gène de *MMR* et l'hyperméthylation de *MLH1*, la prolifération de l'épithélium, activation de *BRAF*, inhibition de *P53* et la formation de carcinome métastatique.

Parallèlement à cette déméthylation, une **hyperméthylation** se produit au niveau des îlots CpG situés au niveau des promoteurs ayant un mécanisme épigénétique mutagène qui conduit à l'arrêt d'une fonction génétique responsable, de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (**Morere et Mitry, 2010**).

I.1.4. Modifications de Phénotype MSI :

I.4.1. Définitions :

Contrairement aux tumeurs MSS (*Microsatellite Stable*), caractérisées par une instabilité génomique liée à des remaniements chromosomiques, les tumeurs MSI sont caractérisées par un caryotype normal dans la majorité des cas (75%) et par une accumulation d'altérations (insertions ou délétions) nucléotidiques au niveau de séquences micro-satellitaires suite à l'inactivation d'un des systèmes de réparation de l'ADN, le système MMR (*MisMatch Repair*), responsable de la reconnaissance et de la réparation des mésappariements de paires de bases au niveau de l'ADN. Les microsatellites constituent environ 3% du génome et sont présents tout au long du génome, aussi bien dans les régions codantes que non codantes. (**Duval et al., 2011**). Il s'agit de répétitions en tandem d'un motif (de 1 à 5 nucléotides), réparties dans tout le génome avec une prépondérance au niveau des régions non codantes. En raison de leur nature, ces séquences sont des points chauds de mutation dues à des erreurs de réplication via le glissement de l'ADN polymérase sur la séquence d'ADN, et qui sont normalement réparées par le système MMR. Ainsi, l'instabilité au niveau de ces séquences se traduit par des insertions ou des délétions d'une ou de plusieurs bases, qui peuvent se voir lors de la réplication d'ADN, des recombinaisons génétiques ou de dommages d'origine chimique ou physique (Figure.10). Les protéines appartenant au système MMR sont MLH1, PMS2, MSH2, MSH6, MLH3, MSH3, PMS1 et Exo1. Ces protéines forment des hétérodimères qui réparent l'ADN endommagé. Au cours de la réplication de l'ADN avec un système MMR compétent, les petites erreurs de mésappariement sont initialement détectées et attachées par les hétérodimères MSH2/MSH6 et MSH2/MSH3. Puis les hétérodimères MLH1/PMS2 sont recrutés pour les scinder et resynthétiser de nouveaux brins corrigés. Toutefois, une déficience du système ou dMMR résulte d'un phénotype mutateur appelé « instabilité micro-satellitaire » (**De'Angelis et al., 2018**).

MSI est l'une des voies majeures de carcinogénèse des CCR, notamment au CCR héréditaire sans polypose ou hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) connu sous le nom de Syndrome de Lynch (LS).

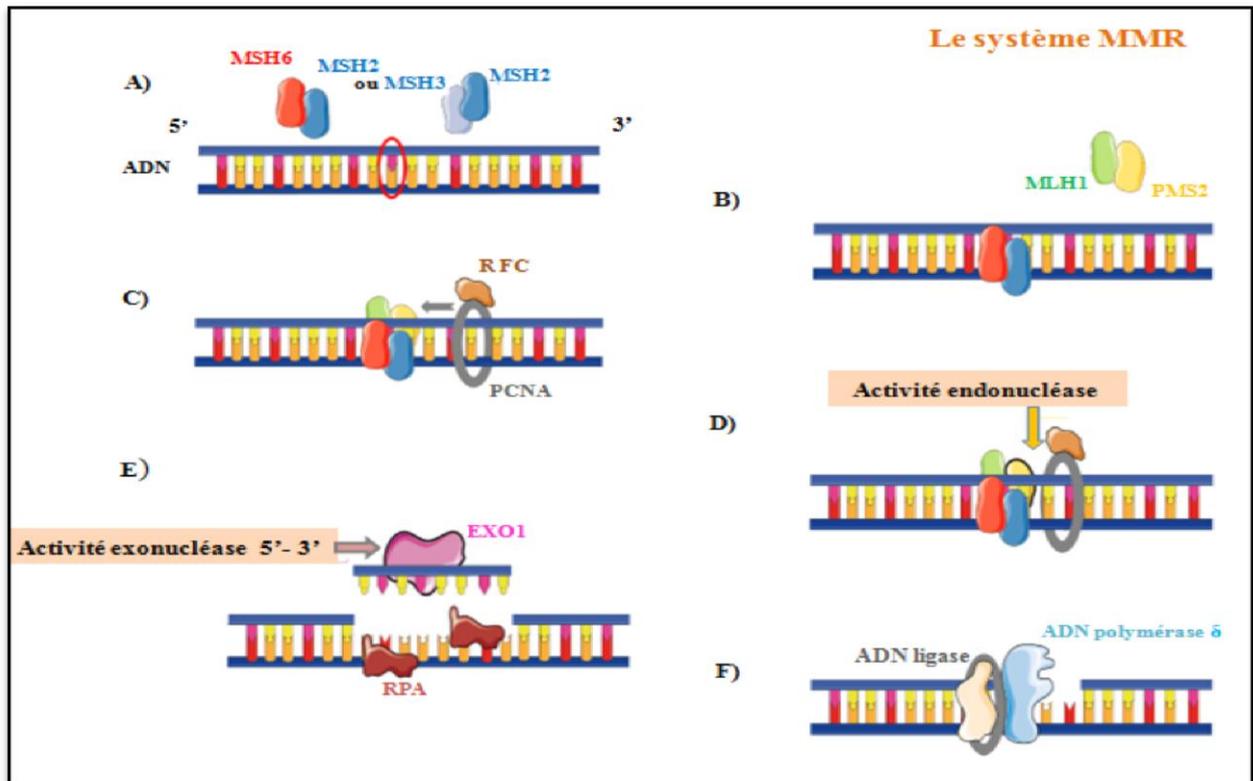


Figure 10: Représentation schématique du fonctionnement du système MMR chez les mammifères. (Colgan et al., 2003).

(A) Les mésappariements au niveau de l'ADN (cercle rouge) sont reconnus (i) soit par le complexe MutS α (MSH2-MSH6), capable de reconnaître les mésappariements de base et de petites structures en épingles suite à l'insertion ou délétion de bases (IDL) de 1-2 paires de bases ; (ii) soit par l'hétérodimère MutS β (MSH2-MSH3), responsable de la reconnaissance de structures en épingles causés par les IDL (> 2 paires de base). (B) Suite à la reconnaissance de ces mésappariements, le complexe MutL α (MLH1-PMS2) subit une modification conformationnelle (ATP dépendante), lui permettant d'être recruté au niveau du mésappariement. (C) La protéine PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) est alors recrutée au niveau de l'ADN par le facteur de réplication RFC (Replication Factor C), (D) lui permettant d'interagir avec MutL α . Cette interaction entraîne l'activation de l'activité endonucléasique de PMS2 (jaune), nécessaire à l'excision en 3' du mésappariement. (E) L'exonucléase 5'-3' EXO1 (rose) est ensuite recrutée et induit l'excision du brin d'ADN contenant le mésappariement alors que les protéines RPA se lient à l'ADN simple brin généré par l'excision afin de le protéger de la dégradation. Lorsque le mésappariement est éliminé, (F) l'ADN polymérase δ ainsi que l'ADN ligase sont recrutées au niveau de l'ADN excisé afin de synthétiser et de relier le nouveau brin d'ADN correspondant. (Adapté de S. Li et al., 2016)

Les patients LS sont porteurs d'une mutation mono-allélique germinale au niveau d'un des gènes du système MMR, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*, prédisposant au cancer (Peltomäki, 2005). Selon le modèle de KNUDSON (Knudson, 1971), une inactivation épigénétique, une altération somatique ou une perte d'hétérozygotie (LOH) suffit à inactiver l'allèle sauvage restant, contribuant ainsi au développement tumoral MSI. Le groupe InSIGHT (*International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumors*) a établi une base de données permettant

d'identifier les mutations prédominantes, principalement faux-sens et non-sens, observées chez ces patients. Ainsi, il a été observé que les mutations sur le gène *MLH1* représentent 45% des mutations héréditaires retrouvées, alors que les gènes *MSH2*, *MSH6* et *PMS2* sont mutés respectivement dans 33%, 18% et 7% des cas (**Plazzer et al., 2013**).

I.4.2. Les conséquences de l'inactivation du système MMR

La déficience du système MMR est responsable du phénotype hypermutateur des tumeurs MMR-déficientes (dMMR) ou MSI. Cette inactivation induit l'accumulation de mutations au niveau de séquences répétées micro-satellitaires et non répétées de l'ADN (**Berthenet et al., 2014; Boissiere et al., 2014**). Il convient de préciser que l'inactivation du système MMR n'est pas en soi un évènement transformant pour la cellule dMMR, mais elle est responsable d'un processus général d'instabilité génomique favorisant le développement tumoral.

➤ **Les microsatellites codants**

Environ 20% des gènes humains contiennent au niveau de leur région codante une répétition microsatellitaire supérieure ou égale à 7 nucléotides (**Olszak et al., 2014**), ce qui rend très élevé le nombre potentiel de gènes cibles de l'instabilité micro-satellitaire, aussi appelés gènes cibles MSI. Les altérations au niveau de ces répétitions entraînent majoritairement un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré au niveau du transcrit messager. Une inactivation fonctionnelle de la protéine correspondante est alors observée, conférant un avantage sélectif à la cellule tumorale MMR-déficiente (**Grivennikov et al., 2009**).

Divers travaux ont rapporté l'existence de nombreuses mutations au niveau de microsatellites codants dans des cancers MSI (côlon, estomac, endomètre). Ces mutations affectent des gènes impliqués dans de nombreux processus incluant la régulation du cycle et/ou de la prolifération cellulaire (*TGFBR2*, *IGF2R*, *TCF4*, *AXIN2*, *PTEN*, *RIZ...*), la régulation de l'apoptose (*BAX*, *CASP5*, *BCL10*, *APAF1*, *FAS...*), ou encore la réparation ou la signalisation des dommages de l'ADN (*RAD50*, *BLM*, *MSH3*, *MSH6*, *MBD4*, *MLH3*, *CHK1*, *ATR...*) (Figure : 11)(**Bollrath et al., 2009; Waldner et al., 2012**). Au cours des dernières années, de nouveaux gènes cibles MSI ont été mis en évidence incluant des gènes impliqués dans la maturation et l'export nucléaire des micro-ARN (miRNA) ainsi que dans la régulation de l'état de la chromatine (**Yamamoto et Imai, 2015**).

Outre l'identification de gènes cibles MSI, la véritable problématique, aujourd'hui, est de mettre en évidence les gènes impliqués dans le développement tumoral MSI, parmi la

multitude de gènes mutés ne contribuant pas à la genèse tumorale dans ce contexte (bruit de fond MSI). De manière attendue, les gènes contenant un microsatellite codant sont, dans la majorité, des points chauds de mutations du fait de l'instabilité micro-satellitaire dans ces tumeurs. Cependant, les fréquences de mutations semblent varier en fonction de la contribution de ces gènes à l'oncogénèse.

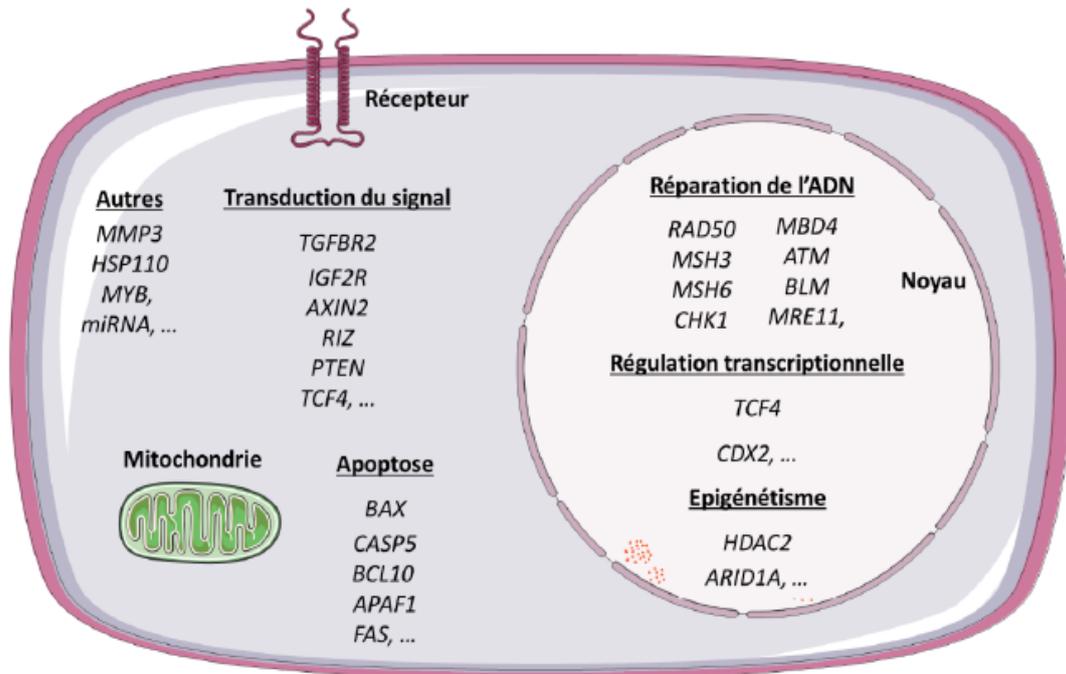


Figure 11: Représentation non exhaustive des gènes cibles de l'instabilité micro-satellitaire dans les cancers MSI (Yamamoto et al., 2015).

Par exemple, le gène *TGFBR2* (*Transforming Growth Factor β Receptor 2*), codant pour une sérine/thréonine kinase, est muté dans environ 90% des tumeurs coliques MSI alors que 40% de ces tumeurs présentent une mutation sur le gène *BAX* (*Bcl-2-Associated X protein*), codant pour une protéine pro-apoptotique. En 2002, un modèle a été suggéré afin d'associer la fréquence mutationnelle au rôle du gène cible dans la cellule tumorale. Ainsi, l'existence de classe de gènes cibles MSI a été proposé incluant (i) les gènes dits « transformateurs », dont les mutations sont soumises à une pression de sélection positive et qui donc présentent un taux de mutation élevé ; (ii) les gènes dits « survivors », soumis à une pression de sélection négative et qui donc seraient mutés à très basse fréquence dans les cellules tumorales MSI. (Duval et Hamelin, 2002).

En 2013, Kim et ses collaborateurs ont réalisé un séquençage génomique (*Exome* et *Whole-Genome*) à haut débit sur 27 tumeurs coliques et 30 tumeurs de l'endomètre MSI, afin de

mettre en évidence un profil génomique des tumeurs MSI. De manière intéressante, une surreprésentation de l'instabilité microsatellitaire a été identifiée dans les régions euchromatiques et introniques en comparaison des régions hétérochromatiques et intergéniques, représentatives des mutations somatiques non répétées (Kim et al., 2013).

➤ **Les microsatellites non codants :**

La majorité des séquences répétées micro-satellitaires est localisée au niveau de régions non codantes incluant les régions inter-géniques ou intra-géniques (introns, régions 5' et 3' UTR et promoteurs de gènes) (Figure 12).

Les mutations introniques sont sans conséquence dans la majorité des cas et peu d'études se sont intéressées à la fonction de telles répétitions (Buisine et al., 2008; Hienonen et al., 2005).

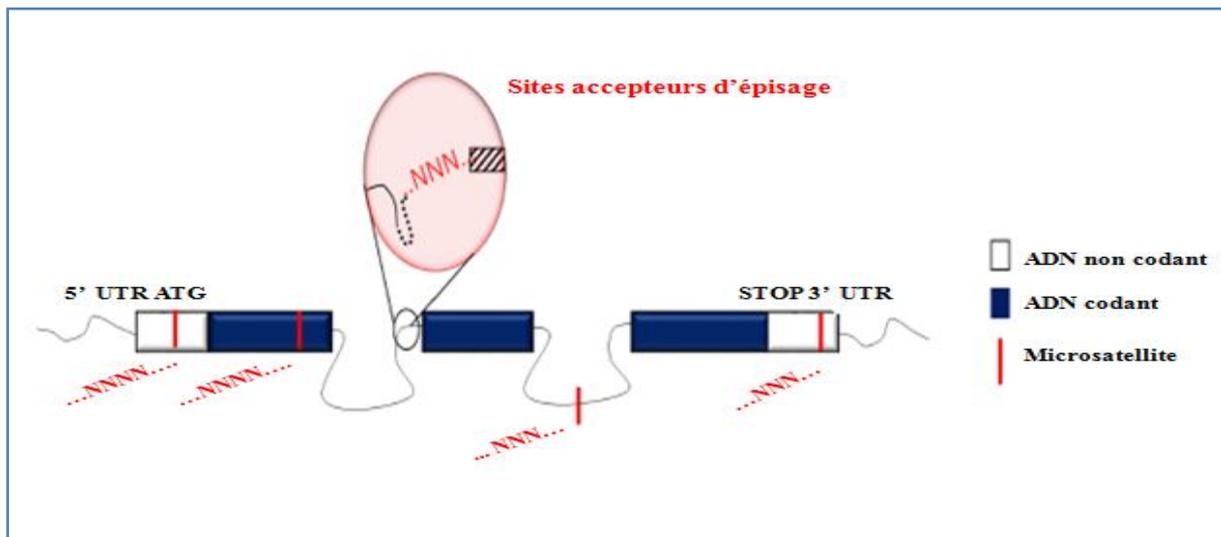


Figure 12 : Localisation des microsatellites au sein du génome (Buisine et al., 2008).

L'oncogène *MYB* a été décrit comme cible de cette instabilité microsatellitaire particulière en 2006. Ce gène contient une séquence répétée, composée de 19 thymidines (T19), au niveau de l'intron 1, jouant un rôle dans la régulation de la transcription de cet oncogène. Ainsi, des mutations au niveau de ce microsatellite ont été observées dans les cancers colorectaux MSI, entraînant une augmentation de l'expression de *MYB* (Hugo et al., 2006). De manière intéressante, une forte expression de ce gène a été suggérée comme marqueur pronostique de survie chez les patients atteints de CCR, indiquant un rôle oncogénique de cette mutation (Biroccio et al., 2001).

Dans d'autres cas, les mutations peuvent affecter des microsatellites non codants ayant un rôle fonctionnel dans l'homéostasie des gènes. En 2004, le gène *MRE11* a été décrit comme cible de l'instabilité microsatellitaire dans les cancers gastriques et colorectaux MSI

(Giannini et al., 2004; Ottini et al., 2004). Une délétion du microsatellite T11, localisé dans une région intronique au niveau du site accepteur d'épissage de l'intron 4, entraîne un épissage aberrant (saut de l'exon 5) et la production d'un transcrit mutant. Cela se traduit par une perturbation de l'hétérotrimère composé des protéines MRE11/NBS1/RAD50, jouant un rôle dans la réparation de cassures doubles brins *via* le processus de réparation par jonction d'extrémités non homologues (NHEJ pour *Non-Homologous End Joining*) et par recombinaison homologue **(Giannini et al., 2004).**

De manière similaire, une instabilité microsatellitaire au niveau de sites accepteurs d'épissage du gène *ATM* (*Ataxia Telangiectasia Mutated*), une sérine-thréonine kinase impliquée dans la signalisation des cassures double brin et dans les systèmes de surveillance de l'intégrité du génome, aboutie à un épissage aberrant dans des lignées de cancers colorectaux (saut de l'exon 8 et 12) MSI. Ces mutations ont été associées à une perte d'expression de la protéine sauvage et à la production d'une protéine tronquée perte de fonction **(Kim et al., 2013).**

D'autres régions régulatrices non codantes telles que les promoteurs de gènes peuvent aussi être riches en microsatellites et donc être les cibles d'une instabilité microsatellitaire dans un contexte dMMR. Par exemple, une instabilité au niveau d'un microsatellite localisé dans le promoteur du gène *MMP-3* (*Matrix MetalloProteinase-3*) a été associée à une perte d'expression de la protéine correspondante dans des tumeurs colorectales MSI **(Morán et al., 2002).** Outre les promoteurs de gènes, les régions UTR (*Untranslated Region*), peuvent posséder des séquences répétées ciblées par cette instabilité particulière. Dans un contexte MSI, l'instabilité de ces microsatellites pourrait jouer un rôle dans la régulation de l'expression de certains gènes impliqués dans le développement tumoral **(Suraweera et al., 2001).** Par ailleurs, de récentes données obtenues à partir d'analyses génomiques et transcriptomiques issues de cancers gastriques MSI ont mis en évidence 139 gènes pour lesquels une association a été trouvée entre la perte d'expression et l'instabilité au niveau de microsatellites présents dans les régions UTR associées **(Yoon et al., 2013).**

➤ **Les mutations non répétées**

Bien que la majorité des mutations identifiées soit présente au niveau de séquences répétées, quelques mutations récurrentes au niveau de séquences non répétées ont été rapportées dans les cancers MSI. Ces mutations ponctuelles ont été recherchées dans les principales voies de signalisation impliquées dans la transformation maligne des cellules épithéliales coliques.

Des mutations inactivatrices du gène *APC* (*Adenomatous Polyposis Coli*), appartenant à la voie de signalisation *Wnt*, ont ainsi été rapportées dans 20% des tumeurs coliques MSI

(Domingo et al., 2004). De manière similaire à *APC*, le gène suppresseur de tumeurs (*GST*) *TP53*, codant pour un facteur de transcription régulant les réponses au stress, n'est retrouvé muté que dans 20-30% des tumeurs coliques MSI (**Samowitz et al., 2001**). Toutefois, un de ces gènes cibles *BAX*, qui est aussi un gène cible MSI, est fréquemment muté dans les tumeurs MSI (50%) (**Duval et Hamelin, 2002**).

Il est intéressant de noter que les tumeurs MSS sont mutées dans 50-75% des cas sur le gène *TP53* (**Leslie et al., 2002**), suggérant que les tumeurs MSI et MSS partagent certaines voies de signalisations altérées en commun contribuant au développement tumoral. En opposition aux gènes suppresseurs de tumeurs, dont les mutations sont majoritairement responsables d'une perte de fonction, les mutations sur les oncogènes sont principalement associées à leur activation. *KRAS* appartient à la voie de signalisation des RAS/RAF/MAPK. Son altération (au niveau des exons 12 et 13) est fréquemment observée (30-40%) dans les tumeurs coliques de type MSS. Cependant, dans les tumeurs MSI, son altération n'est présente que dans seulement 10-20% des cas (**Samowitz et al., 2003**). À l'inverse, les tumeurs gastriques MSI sont plus fréquemment touchées par les mutations sur le gène *KRAS* (17-20%) (**Van Grieken et al., 2013**).

BRAF, un autre oncogène appartenant à la voie des RAS/RAF/MAPK, est aussi muté dans les CCR. Les mutations touchant cet oncogène sont surtout caractérisées par des transversions (T-A) qui surviennent au niveau du nucléotide 1799, situé dans l'exon 15. Cette mutation activatrice correspond à un changement d'acide aminé, une valine (V) remplacée par un acide glutamique (E), en position 600 de la protéine. Contrairement à *KRAS*, *BRAF* est fréquemment muté (30-60%) dans les tumeurs CCR MSI sporadique en comparaison des tumeurs MSS (5-10% des cas) Il est intéressant de noter que les mutations aux niveaux des gènes *BRAF* et *KRAS* sont mutuellement exclusives dans les tumeurs coliques MSI, en rapport avec la redondance des effets liés à ces mutations (**Oliveira et al., 2003; Funkhouser et al., 2012**).

D'autres points chauds de mutation ont été identifiés dans certains cancers MSI. Par exemple, des altérations somatiques touchant le gène *PIK3CA* (*Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase Catalytic subunit α*) et *MLK3* (*Mixed Lineage Kinase 3*), codants respectivement pour une sous-unité catalytique de la protéine kinase PI3K (*Phosphatidylinositol 3-Kinase*) et une serine/thréonine kinase, ont été identifiées dans les tumeurs coliques de type MSI (**Corso et al., 2011**). Grâce au séquençage à haut débit, de nouvelles mutations fréquentes au niveau de séquences non répétées ont été identifiées dans des tumeurs colorectales MSI. De manière intéressante, la mutation faux-sens (Arg261Trp) identifiée au niveau du gène *ZBTB2* semble

impacter la prolifération cellulaire (Gylfe et al., 2013). Récemment, de nouvelles données issues d'une analyse à plus grande échelle, provenant de la base de données « *The Cancer Genome Atlas* » (TCGA), ont proposé que certains points chauds de mutations favorisent le développement tumoral MSI, comme les mutations des gènes *POLE* (*DNA Polymerase ε, catalytic subunit*; 23%) et *POLD1* (*DNA Polymerase δ, catalytic subunit*; 27%), impliqués dans la réparation de l'ADN (Cortes et al., 2016).

I.4.3. La détermination du statut MMR :

A visée diagnostique, afin de permettre le dépistage du syndrome de Lynch ou à visée thérapeutique et pronostique, la détermination du statut MMR d'une tumeur peut s'effectuer par deux méthodes fortement corrélées : soit par méthode immunohistochimique, très largement utilisée en pratique quotidienne par les pathologistes et visant à étudier l'expression des protéines MMR ; ou par génotypage en biologie moléculaire permettant d'étudier l'instabilité des microsatellites.

a) L'immunohistochimie (IHC)

La technique d'immunohistochimie représente une bonne alternative au génotypage. En effet, les altérations génétiques ou épigénétiques des gènes *MMR*, se traduisent le plus souvent au niveau protéique par une perte de fonction et d'expression des protéines MMR. A l'état normal, ces protéines sont ubiquitaires et de localisation nucléaire. Elles sont exprimées dans les cellules de l'épithélium des cryptes coliques, dans les lymphocytes, les cellules endothéliales, et les cellules du stroma, ce qui constitue un excellent témoin interne pour la technique IHC. L'expression des principales protéines du système MMR est étudiée à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre ces protéines : hMLH1, hMSH2, hPMS2, hMSH6.

La perte d'expression des protéines hMLH1 et hMSH2 est exclusive, c'est-à-dire qu'elle ne concerne généralement que l'une des deux protéines. En revanche en cas de perte d'expression de hMLH1, une perte conjointe de hPMS2 sera observée. De la même manière une perte de hMSH2 sera toujours accompagnée d'une perte de hMSH6. Il existe toutefois de rares cas de perte isolée de hPMS2 ou de hMSH6 (Figure : 13).

L'extinction des protéines hMSH2, hMSH6 et hPMS2 est un bon argument pour une origine constitutionnelle. L'extinction de hMLH1 peut en revanche être liée soit à une mutation constitutionnelle, soit à une hyperméthylation de son promoteur, phénomène épigénétique secondaire à la sénescence fréquent dans les CCR sporadiques. La perte d'expression de la protéine hMLH1 en IHC devra donc être complétée par une recherche d'hyperméthylation du

promoteur du gène *MLH1*, afin de discriminer une origine sporadique, d'une origine héréditaire.

L'IHC est donc une technique peu onéreuse et particulièrement sensible, (plus de 90% de sensibilité) pour détecter une déficience du système MMR et de la protéine défectueuse, permettant ainsi d'orienter les généticiens vers le gène *MMR* à séquencer. Cette technique peut toutefois être mise en défaut en cas de mutation faux-sens, responsable d'une perte de fonction mais pas d'expression de la protéine (Meilleroux, 2016).

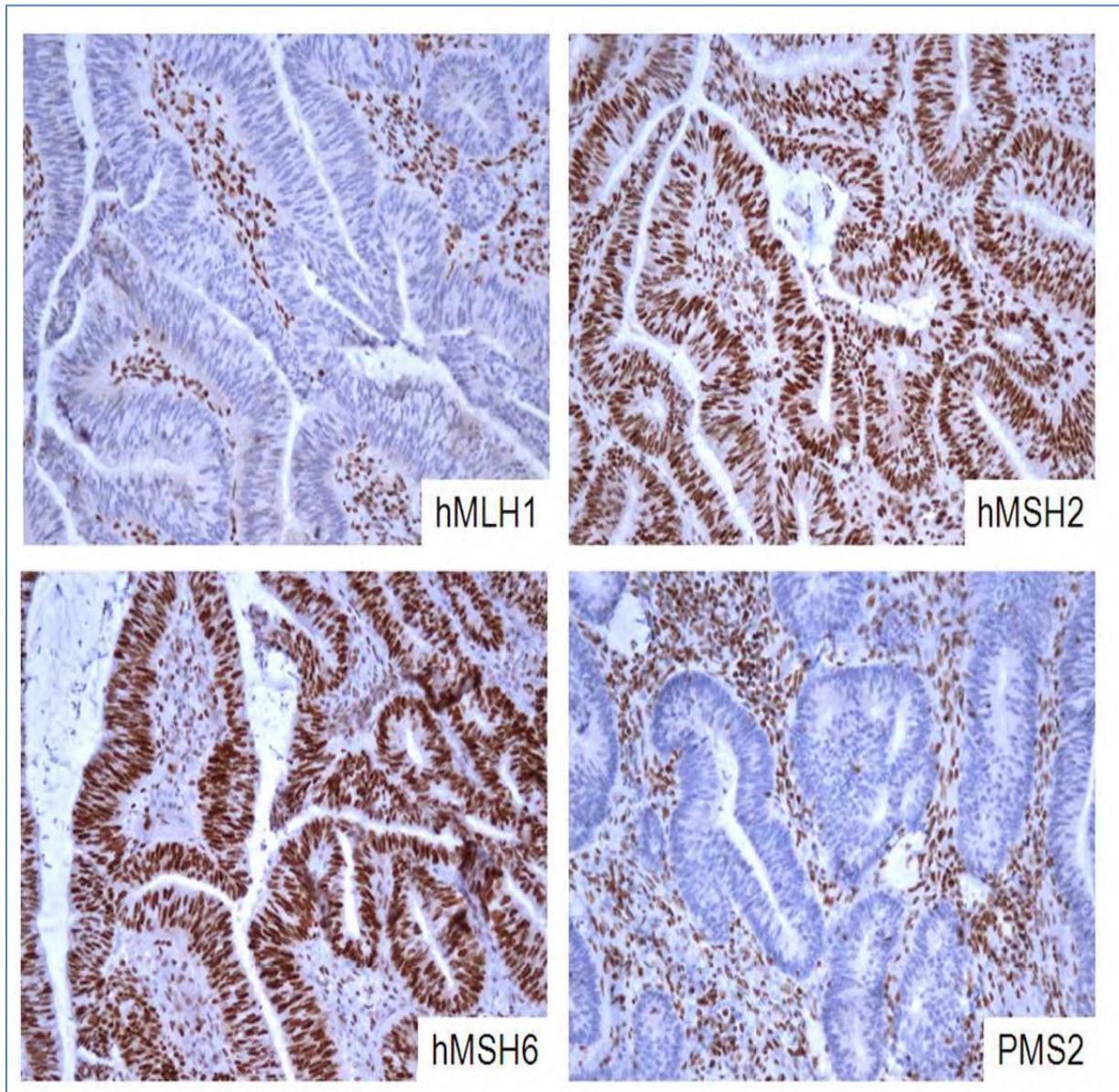


Figure 13: IHC des protéines MMR : perte d'expression conjointe de hMLH1 et hPMS2 (Meilleroux, 2016).

b) La recherche d'instabilité micro-satellitaire (MSI) :

Cette technique consiste à rechercher en biologie moléculaire, La présence d'une instabilité des microsatellites, qui sont des petites séquences d'ADN non codantes répétées tout le long du génome humain. Ces séquences sont constituées d'une à cinq paire de bases répétées quinze à trente fois. Du fait de ces répétitions, ils sont fréquemment sujets aux erreurs de réplifications et nécessitent donc très souvent l'intervention du système MMR. Lorsque ce système est défaillant, les microsatellites cumulent les erreurs. Ces erreurs conduisent à l'apparition de nouveaux allèles de tailles différentes de ceux de l'ADN germinale. Ce phénotype instable est constant dans les CCR et associés à l'inactivation d'un des gènes MMR principaux.

L'analyse est réalisée à partir de l'ADN extrait du tissu tumoral, amplification, préparation du mélange PCR, et analyse de fragment par séquençage. Un panel permettant l'étude de 5 marqueurs nucléotidiques quasi monomorphes (c'est-à-dire présentant peu de variation de taille) dans la population mondiale (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-22, NR-24 ou NR27) a été recommandé (Figure : 14) (**Umar et al., 2004**).

BAT-25 localisé dans l'intron 16 du gène *c-kit* ; BAT-26 localisé dans l'intron 5 du gène *MSH2* ; NR-21 localisé dans la région 5' non traduite du gène *SLC7AB* ; NR-24 localisé dans la région 5' non traduite du gène *ZNF-2* et NR-27 (MONO-27) localisé dans la région 5' non traduite du gène *IAP-1*. Ces microsatellites sont dits quasi-monomorphes, c'est-à-dire qu'ils sont caractérisés par un nombre de répétitions, et donc une taille, très homogène dans une population donnée (entre les différents individus et pour les 2 allèles d'un même individu). Les polymorphismes ne sont cependant pas exclus, en particulier pour les marqueurs BAT-25 et NR-21. Ils se traduisent par la présence de 2 pics distincts après amplification. La mise en évidence d'un profil identique après amplification de l'ADN constitutionnel permet de retenir ce diagnostic et d'éliminer un phénomène d'instabilité au niveau tumoral. Le kit utilisé en routine comporte également deux marqueurs polymorphes de type penta-nucléotides qui permettent de valider la concordance entre le tissu sain et le tissu tumoral étudié et de vérifier l'absence de contamination inter-échantillon car chaque individu a des marqueurs spécifiques. La technique correspond à une amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) des marqueurs étudiés. L'amplification des 5 marqueurs testés est généralement simultanée. On parle de PCR multiplex. L'étude des produits d'amplification est réalisée par migration en électrophorèse capillaire sur un séquenceur qui permet une discrimination au nucléotide près. En cas d'approche multiplex, chaque marqueur est marqué avec un fluorophore différent, ce qui permet de les distinguer. Il faut noter que la Taq polymérase n'est pas suffisamment fidèle

pour synthétiser le nombre exact de répétitions de nucléotides de telle sorte que, en l'absence de facteurs de réparation *in vitro*, les profils obtenus correspondent, pour chaque marqueur, à plusieurs pics autour d'un pic principal. C'est le pic principal, qui est caractérisé par la plus forte intensité, qui est utilisé pour évaluer la taille du marqueur. L'instabilité est définie, pour un marqueur donné, par la présence de deux pics principaux voire de deux groupes de pics bien séparés après amplification à partir de l'ADN extrait du tissu tumoral (**Bruno et al., 2011**).

Ce panel permet d'établir le statut MSI d'une tumeur avec une sensibilité et une spécificité de 100%, sans nécessité de recourir à une analyse comparative de l'ADN constitutionnel (**Buhard et al., 2006**). Comme il existe tout de même de rares variantes alléliques (polymorphisme), une tumeur ne sera considérée MSI que si au moins 3 des 5 marqueurs sont instables dans la tumeur.

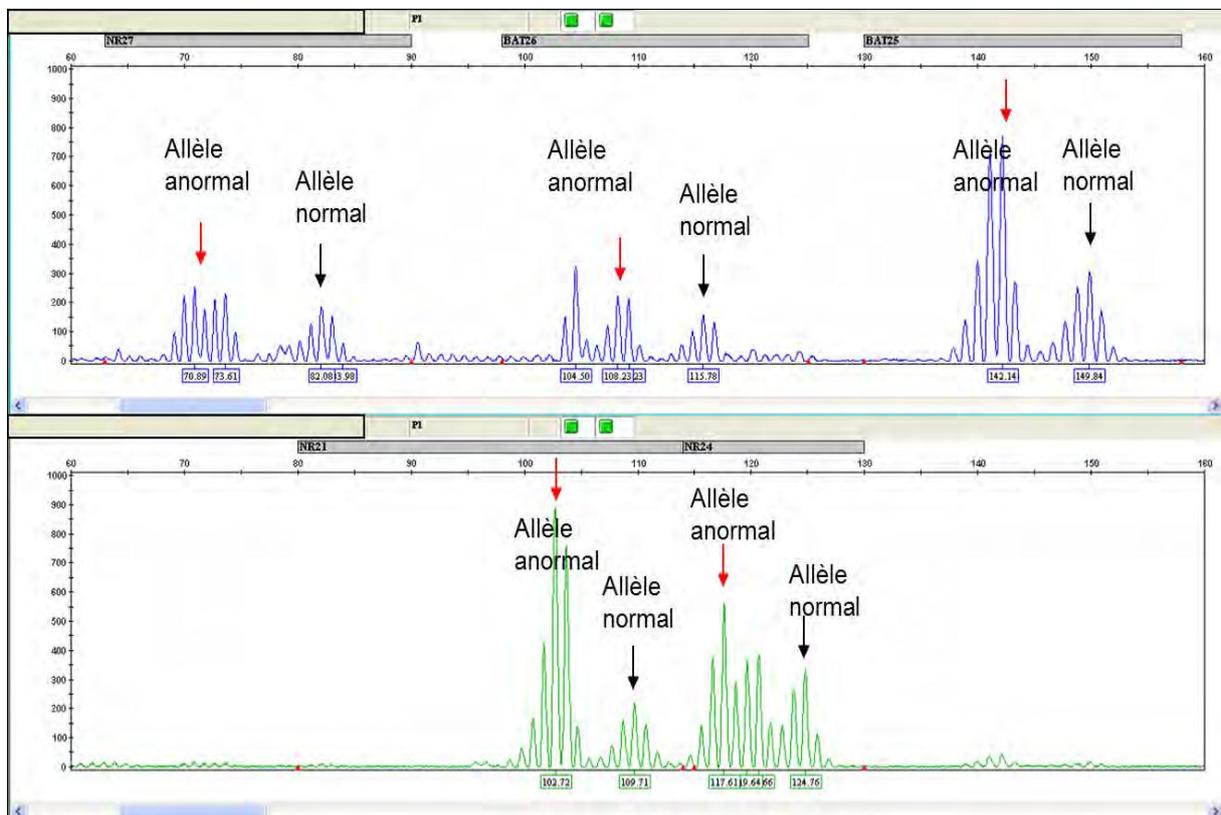


Figure 14 : Profil d'instabilité moléculaire (Umar et al., 2004).

Cette technique moléculaire est une méthode fiable et robuste, mais nécessitant suffisamment de matériel tumoral de bonne qualité. Par ailleurs, elle ne permet pas de déterminer la protéine et donc le gène en cause, contrairement à la technique d'IHC. Ces deux méthodes sont par ailleurs fortement corrélées. (**annexe 2**)

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Etude rétrospective :

Notre étude rétrospective, a portée sur une période de 2 ans, a colligé 38 cas (20 femmes et 18 hommes) présentant un cancer colorectal qui ont pris en charge au centre Pierre et Marie Curie d'Alger durant la période allant de janvier 2018 à janvier 2020.

Pour la réalisation de ce travail nous avons consulté :

- Les registres d'hospitalisation et des consultations et de l'hôpital de jour de service.
- Les dossiers cliniques des malades comportant l'observation clinique, les examens para cliniques, les comptes rendus d'anatomie-pathologique

La compilation des données sur dossiers nous a permis d'établir les critères d'inclusion et d'exclusion :

➤ **Critères d'inclusion :**

- On a inclus dans notre étude tous les patients présentant des tumeurs malignes colorectales dans le service d'oncologie et pris en charge durant ces deux ans.
- Ont été retenus tous les diagnostics de cancers colique et rectal confirmés histologiquement et ayant bénéficiés d'une étude immunohistochimique du statut MSI.

➤ **Critères d'exclusion :**

- les patients atteints de rectocolites ulcéreuses et de colites infectieuses.

II.2. MATERIEL :

II.2.1. Matériel biologique :

Notre matériel biologique consiste en des prélèvements tissulaires biopsiques et/ou opératoires de tumeurs recto-coliques, inclus en bloc de paraffine.

II.2.2. Matériel non biologique :

Gants, Cassettes, Moule (inox), Pincette, Microtome, Bain marie, Etuve, Lames et lamelles et Microscope optique.

PRODUITS DIVERS

- Eau
- Xylène
- Alcool à 90%
- Alcool 70%
- Formol 10%
- Paraffine
- Colorants :
 - Hématoxyline de Mayer
 - Eosine

II.3. METHODES

II.3.1. Techniques histologiques :

II.3.1.1. La fixation :

La fixation est indispensable pour conserver les caractéristiques morphologiques et moléculaires tissulaires. Cette étape pré-analytique est réalisée immédiatement après le prélèvement de l'échantillon à observer, par immersion de ce matériel dans un grand volume de liquide fixateur (formol à 10%).

La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de 6h à 8h pour un petit fragment biopsique à 48h à 72h pour les pièces opératoires). Le fixateur recommandé est le formol à 10% (dilution à 10% du formol officinal qui est le formaldéhyde à 36%).

II.3.1.2. Déshydratation et éclaircissement :

✓ Déshydratation :

Elle permet d'extraire toute l'eau du tissu par l'alcool éthylique, qui est miscible dans l'eau, comme il agit assez rapidement. On évite d'y laisser les tissus trop longtemps : 2 heures dans chaque bain. Les cassettes contenant l'organe étudié, subissent une déshydratation à concentrations croissantes : 70° (1 bain), 80° (1 bain), 95° (1bain). Car une trop forte concentration risque de causer la déformation, la rétraction et le durcissement des tissus. Puis le trempage dans 3 bains d'alcool 100° à la fin du processus assure une bonne déshydratation et permet à l'agent clarifiant de bien pénétrer le tissu. La durée pour chaque bain est d'une heure chacun.

✓ Éclaircissement :

Elle permet de remplacer l'agent déshydratant par un produit miscible dans la solution d'imprégnation, un bon agent clarifiant est un produit miscible dans un solvant anhydre dont l'indice de réaction est élevé et permet d'augmenter la transparence du tissu.

Elle se fait par immersion dans 3 bains de xylène afin de rendre les pièces transparentes La durée est d'une heure pour chacun. Ça consiste à éliminer l'alcool utilisé dans la déshydratation. C'est ce qui permet une miscibilité entre l'alcool et la paraffine par conséquent préparer le tissu à l'imprégnation.

✓ **Imprégnation à la paraffine :**

Elle est la dernière étape de la circulation, le milieu utilisé est le même qu'à l'étape de l'enrobage. Un mélange à base de paraffine est le milieu le plus utilisé puisqu'il permet de bien remplir tous les cavités tissulaires, de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne au tissu à l'enrobage, ce mélange offrira un support externe à la coupe. Elle s'effectue à chaud dans deux bains de paraffine liquéfiée à chaud (60°C), le premier pendant 1h et le deuxième est de 7h pour remplacer le xylène par la paraffine.

II.3.1.3. Inclusion et confection des blocs de paraffine :

• **Inclusion d'un bloc :**

A pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières, le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce.

• **L'enrobage :**

L'enrobage consiste à préparer un bloc de paraffine dans lequel on introduit une pièce de tissu qui a subi les étapes de circulation, grâce à un appareil d'inclusion. Il permet de fournir au tissu un support externe pour la coupe au microtome et d'assurer une meilleure conservation du tissu par la suite. Selon les étapes suivantes ; préchauffage des moules de métal et des cassettes en plastiques dans une console thermique, par la suite mise en place du tissu au centre du moule qui est à moitié rempli de paraffine puis entièrement rempli et couvert par la cassette portant la référence de l'échantillon, à l'aide d'une pince. L'ensemble est placé sur la plaque froide ou plaque réfrigérante, après refroidissement, le bloc de paraffine peut être démoulé. Détaché du moule, un bloc de paraffine dur est obtenu. La température de la paraffine ne doit pas dépasser 60°C . Il faut conserver le tissu à la chaleur pendant l'étape d'enrobage afin d'éviter que la paraffine ne fige et ne cause la formation d'artéfacts. Au cours de l'enrobage, une vérification permet de s'assurer que le numéro du cas est correctement inscrit sur la cassette.

II.3.1.4. Confection et étalement des coupes :

✓ **Réalisation des coupes :**

Les coupes du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur; les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

✓ **Étalement :**

L'étalement permet de redonner au tissu sa forme initiale avant de le récupérer sur une lame pour l'examiner au microscope. Le mode d'étalement le plus répandu est sur bain marie.

II.3.1.5. Coloration des coupes histologique :

Le but de la coloration est de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires: la coloration de routine à l'hématoxyline-Éosine (HE), coloration Trichrome de Masson.

Avant toute coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine et réhydratées. Les colorants sont hydrophiles tandis que la paraffine est hydrophobe; c'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation.

II.3.1.5.1. Déparaffinage et réhydratation :

- a. Déparaffinage :** Pour cela, il est nécessaire de préparer le tissu. Tout d'abord des lames doivent être plongées par l'automate de coloration dans un bain de xylène pendant 20 minutes afin d'éliminer la paraffine des tissus. Cette étape permet une meilleure imprégnation de ces derniers par le colorant.
- b. Réhydratation :** Ensuite on procède à l'hydratation dont le but est le de chasser le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau étant donnée que la plus part des colorants sont de nature aqueuse. Elle se traduit par le passage de panier des lames à colorer par l'automate dans trois bains d'éthanol à concentration décroissante ; respectivement 100° pendant 1 minute, 95° et 75° pendant pendant 30 secondes, puis un bain d'eau courante pendant 10 minutes pour le rinçage des lames.

II.3.1.5.2 Coloration des coupes par Hématoxyline-Eosine (HE) :

C'est une coloration de routine où l'Hématoxyline colore les noyaux en bleu violet car c'est un colorant basique qui colore les structures basophiles (acide), et l'Eosine colore le cytoplasme car est un colorant acide qui colore les structures acidophiles (basique) en rouge

ou en rose. Pour la coloration d'hématoxyline éosine (HE), les coupes ont été colorées dans un automate de coloration.

II.3.1.5.3. Coloration Trichrome de Masson :

C'est une coloration histologique trichromique, associant une coloration nucléaire par l'hématoxyline, une cytoplasmique par un mélange de colorants acides (Fushine-Ponceau) et une autre du collagène par vert lumière ou bleu d'aniline.

Elle est utilisée pour mettre en évidence les éléments du tissu de soutien, en particulier le collagène ainsi les altérations tissulaires tels que les fibroses et les inclusions.

Les résultats : le collagène coloré en bleu ou en vert, le cytoplasme en rose à rouge, les noyaux en bleu foncé ou brun, les hématies et la granulation éosinophile en rouge.

II.3.1.6. Montage :

Est la fixation par une substance appropriées d'une lamelle sur l'échantillon histologique, il s'agit d'Eukitt, qui permet l'adhérence entre la lame et lamelle, une légère pression sur la lamelle permettant de chasser les bulles d'air. Ce processus offre une protection contre la décoloration causée par l'oxydation par l'air ambiant ou les vapeurs de certains produits chimiques, en plus de protéger le tissu des aléas de la manipulation. Après montage, les lames sont séchées sur papier absorbant, nettoyées au xylène puis observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos numérique (**annexe 4**).

II.3.2. Immunohistochimie :

II.3.2.1. Principe :

L'immunohistochimie (IHC) est une méthode utilisée pour déterminer l'expression de biomarqueurs dans les tissus.

II.3.2.2. Procédure :

1. Couper les blocs de tissu inclus en paraffine en sections ultra-fines (~ 4 µm) et les placer sur les lames de verre.



Figure 15 : Sections ultra-fines.

2. Déparaffinage : Etape assurant la réhydratation de la coupe afin de la colorer.
Xylène, alcool 100°, 90°, 70°, eau.
 →
 - Pour cela, il nécessaire de préparer le tissu. Tout d'abord les lames doivent être plongées dans **6** bains de xylène pendant **5** minutes pour chacun afin d'éliminer la paraffine des tissus.
 - Ensuite on procède à l'hydratation dont le but de chasser le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau. Elle se traduit par le passage de panier des lames a étudiées dans 6 bains d'alcool à concentration décroissante : respectivement (100°, 90°, 70°) pendant 5 minutes pour chacun, puis un bain de l'eau courante pour le rinçage des lames.
3. Démasquage : Les lames doivent être plongées ou immergées dans du tampon (une solution TRS), et les incubées à 98° - 99° C dans un bain marie pendant 40 minutes. (Cette solution permet de révéler les antigènes masqués par des molécules antagonistes).
4. Refroidissement : sortir les lames à température ambiante et les laisser refroidir pendant 15 à 20 minutes sur la paillasse.
5. Préparation de la chambre humide pour les lames et les couvrir par un plateau afin de conférer une incubation dans le noir.
6. Laver à l'eau distillée pendant 5 minutes.
7. Séchage des lames.
8. Entourer l'échantillon sur lame par le DaKopen (Dako SA, Trappes, France) pour limiter la diffusion des réactifs.
9. Rinçage des lames par l'eau distillée.

10. Bloquer les peroxydases endogènes en incubant les lames dans du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) pendant 5 à 10 minutes.
11. Rinçage avec l'eau distillée.
12. Rinçage avec le PBS (dilué) dans 2 bains pendant 5 minutes pour chacun.
13. La coloration est la partie analytique du processus IHC. Il comprend la récupération d'antigène, l'application de l'anticorps primaire et le système de visualisation, qui se terminent par une contre-coloration:

Incubation d'anticorps primaire pendant 30 minutes. Un anticorps primaire est appliqué à l'antigène d'intérêt sur le tissu.

- anti-MSH2 (lot:138611, LEICA NOVOCASTRA, dilution : 1/100),
- anti-MSH6 (lot:6007331, LEICA NOVOCASTRA, dilution : 1 /100),
- anti-MLH1 (lot 6002572: LEICA NOVOCASTRA, dilution : 1/50)
- et anti-PMS2 (lot 6006841: LEICA NOVOCASTRA, dilution : 1/50)



Figure 16 : Coloration IHC en automate VENTANA

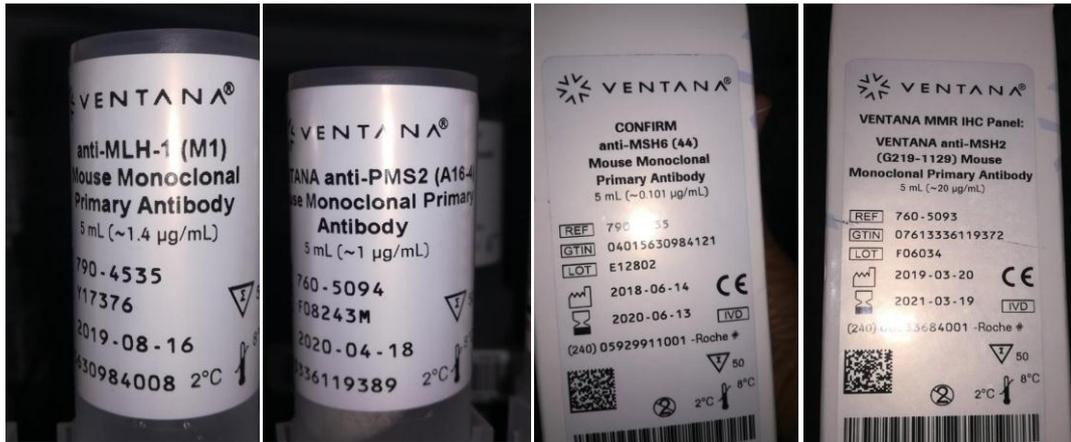


Figure 17 : Références des AC utilisés en automate VENTANA (AC pré dilué).

- Mettre L'anticorps secondaire (enzyme) qui se lie à l'anticorps primaire; pendant 30 minutes.
- Rinçage par le PBS dans 2 bains pendant 5 minutes pour chacun.
- Révélation (1 ml substrat DAB +une goutte de chromogène) entre 5 à 10 minutes. Le chromogène est appliqué pour le complexe anticorps / antigène.

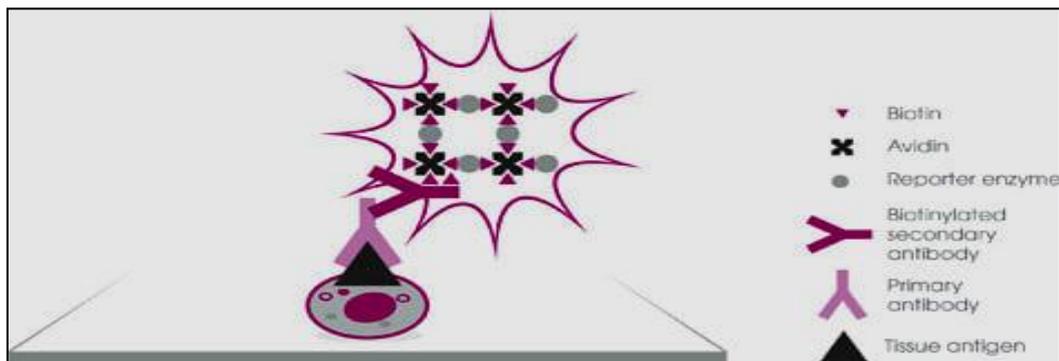


Figure 18 : Détection du complexe anticorps / antigène.

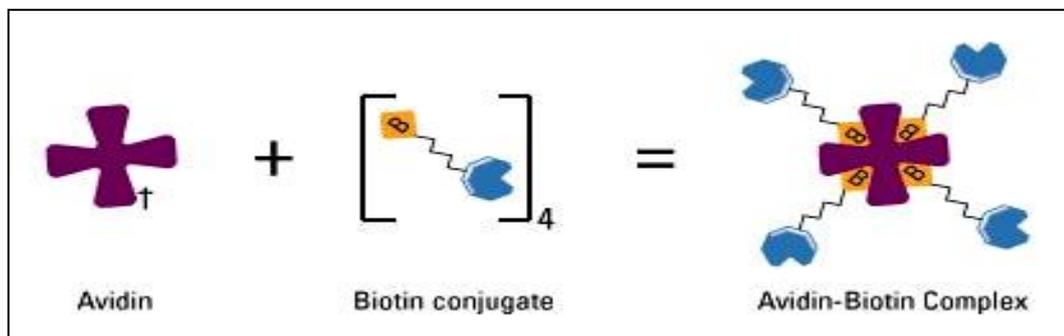


Figure 19 : Système biotine/avidine.

Divers types de traceurs peuvent être utilisés pour conjuguer un anticorps secondaire (ou la protéine biotine). Les deux types de molécules les plus utilisés sont les

enzymes et les radio-isotopes. On parle alors d'enzymo-immunodosage. Les principales enzymes utilisées sont la phosphatase alcaline, la peroxidase de raifort (horseradish peroxidase), le glucose oxydase et la b-galactosidase.

- Rinçage à l'eau distillée et séchages des lames.
 - Une contre-coloration est réalisée par l'hématoxyline de Mayer (pendant 1 minute) pour visualiser les noyaux et l'architecture globale des tissus.
 - Rinçage avec l'eau de robinet.
 - Préparation de l'eau d'ammoniac (500 ml de l'eau de robinet + 5 gouttes d'ammoniac)
 - Rinçage à l'eau distillée.
 - Les sections sont déshydratées dans 2 bains d'alcool, montées et recouvertes de lamelles.
14. Au cours du processus post-analytique, le pathologiste interprète les tests en fonction des tests tissulaires positifs et négatifs, en utilisant le microscope photonique.
15. Les résultats sont rapportés à l'oncologue pour prendre une décision de traitement.

Les altérations génétiques ou épigénétiques des gènes *MMR*, se traduisent le plus souvent au niveau protéique par une perte de fonction et d'expression des protéines MMR. En technique d'immunohistochimie, ces protéines sont à l'état normal, de localisation ubiquitaire et nucléaire. Elles sont exprimées dans les cellules de l'épithélium des cryptes coliques, dans les lymphocytes, les cellules endothéliales, et les cellules du stroma, ce qui constitue un excellent témoin interne. La perte d'expression se traduit par l'absence de positivité nucléaire des cellules tumorales pour l'un ou plusieurs AC monoclonaux dirigés contre ces protéines : hMLH1, hMSH2, hPMS2, hMSH6. La perte d'expression des protéines hMLH1 et hMSH2 est exclusive, c'est-à-dire qu'elle ne concerne généralement que l'une des deux protéines. En revanche en cas de perte d'expression de hMLH1, une perte conjointe de hPMS2 sera observée. De la même manière une perte de hMSH2 sera toujours accompagnée d'une perte de hMSH6. Il existe toutefois de rares cas de perte isolée de hPMS2 ou de hMSH6.

L'IHC est donc une technique peu onéreuse et particulièrement sensible, (plus de 90% de sensibilité) pour détecter une déficience du système MMR et de la protéine défectueuse, permettant ainsi d'orienter les généticiens vers le gène *MMR* à séquencer. Cette technique peut toutefois être mise en défaut en cas de mutation faux-sens, responsable d'une perte de fonction mais pas d'expression de la protéine.

CHAPITRE III : RESULTATS

III.1. Caractéristiques épidémiologiques :

1. Age :

La tranche âge varie entre 30 ans et 88 ans avec un âge moyen de 53 ans.

Les âges sont repartis de la manière suivante :

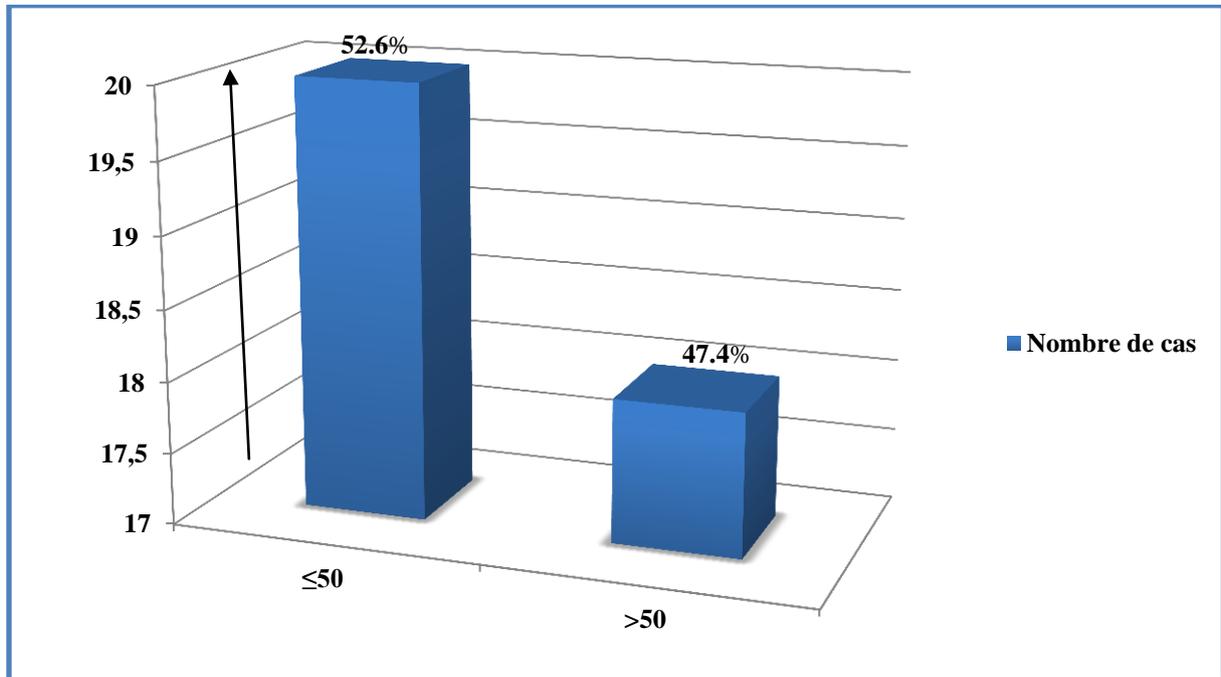


Figure 20 : Répartition selon l'âge, en deux tranches de ≤ 50 ans et > 50 ans.

2. sexe :

Dans notre étude, nous avons 38 cas dont 18 hommes (soit 47%) et 20 femmes (soit 53%), avec un sexe ratio de 0.9, avec une prévalence au sexe féminin.

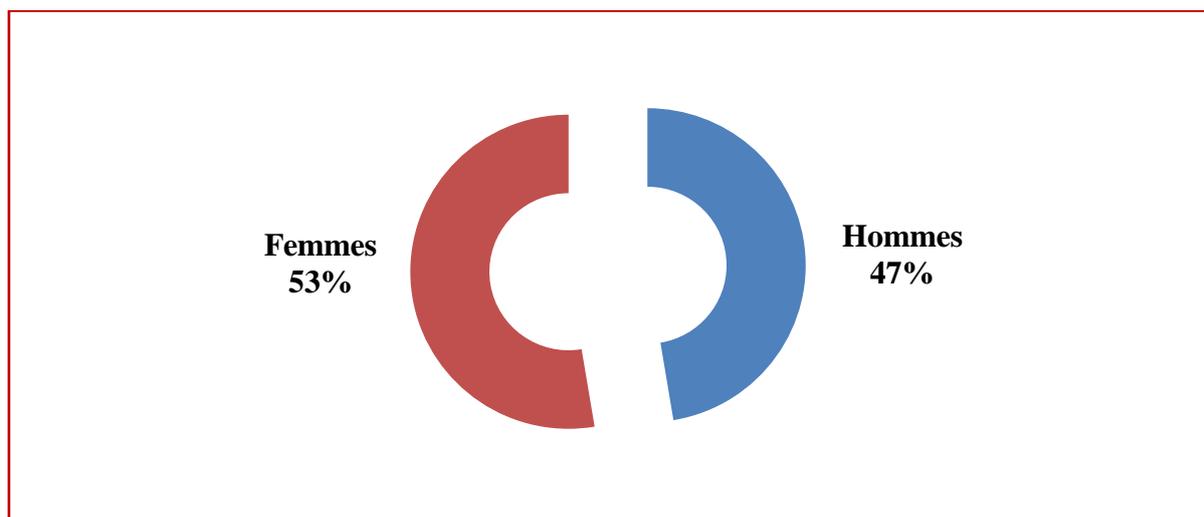


Figure 21 : Répartition des patients selon le sexe.

3. Différenciation histologique :

Tous les patients de notre série ont une preuve histologique de malignité. Dans la totalité des cas il s'agit d'un adénocarcinome lieberkhunien (ADK).

- Grade 1 : bien différenciés : dans 26 cas soit 68.4% de l'ensemble des ADK.
- Grade 2 : moyennement différenciés : dans 10 cas soit 26.3%.
- Grade 3 : peu différenciés : dans 2 cas soit 5.3%.

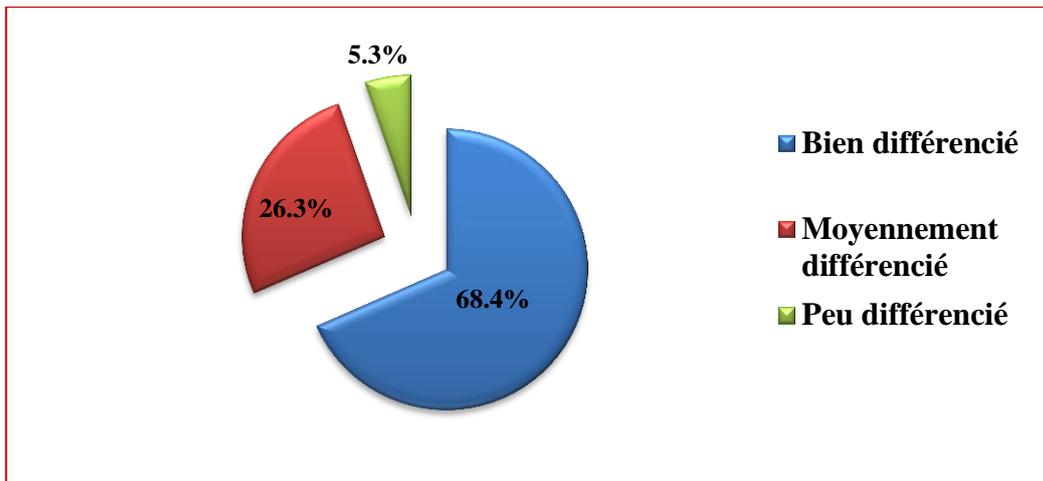


Figure 22 : Répartition selon la Différenciation du cancer colorectal.

4. Taille tumorale

La taille tumorale moyenne sur pièce opératoire est de 6.8 cm (extrêmes de 2.5 et 20 cm).

5. Stade p T

Evalue la taille tumorale (T) pour les cas opérés sans thérapeutique RCC néo-adjuvante, selon la profondeur pariétale d'infiltration. Les $\frac{3}{4}$ des patients ont un stade pT3 correspondant à une infiltration tumorale qui arrive à la musculature, sans la dépasser.

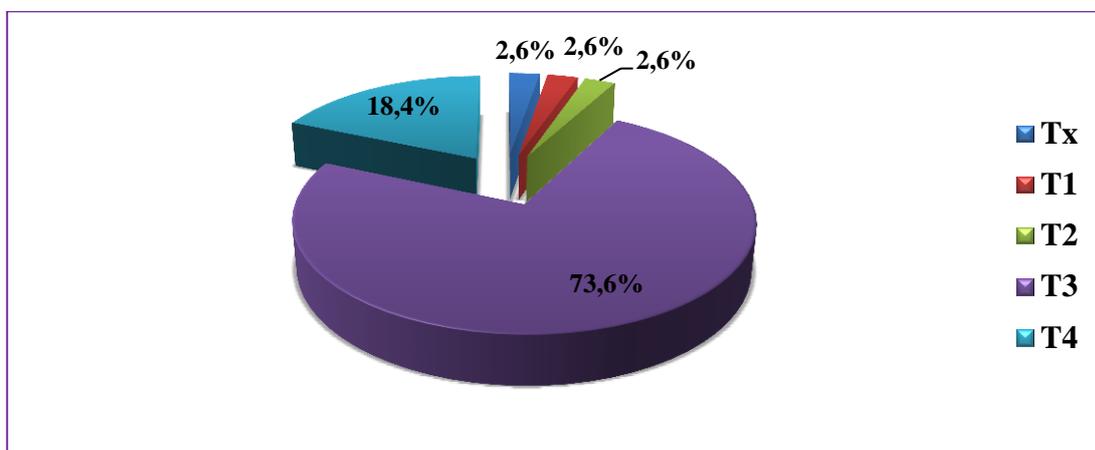


Figure 23 : Répartition selon la profondeur pariétale d'infiltration (T) du cancer colorectal.

6. Stade p N :

Evalue l'atteinte ganglionnaire (N) pour les cas opérés sans thérapeutique RCC néo-adjuvante.

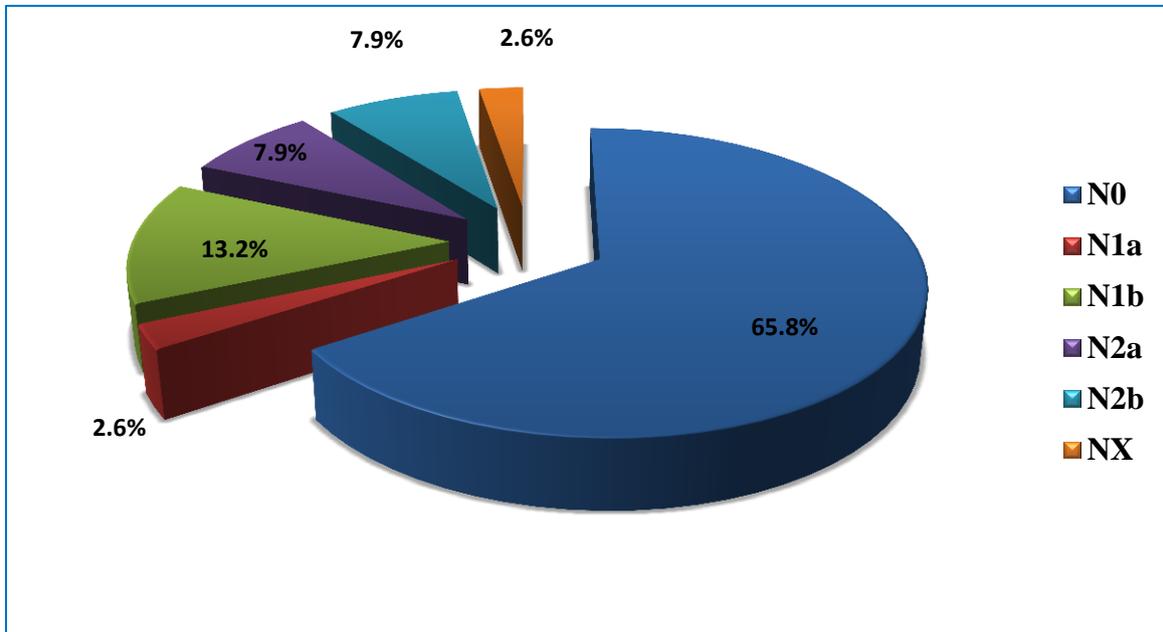


Figure 24 : Répartition selon l'atteinte ganglionnaire (N) du cancer colorectal.

Près des 2/3 des patients n'ont pas d'atteinte ganglionnaire.

7. Extinction des protéines MMR à l'IHC :

Elle intéresse 06 cas parmi les 38 cas étudiés, ce qui correspond à 16 % de cas avec perte d'expression d'une ou plusieurs protéines MSI.

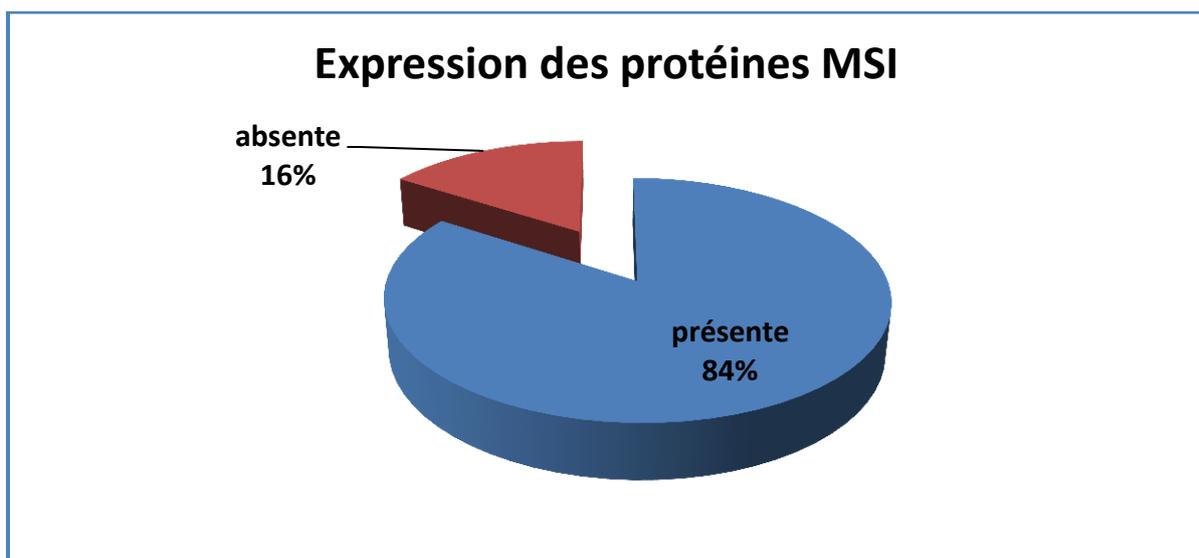


Figure 25 : Répartition selon la perte de l'expression des protéines MMR des cas étudiés de cancer colorectal.

Selon les protéines éteintes, nous observons 3 cas de perte concomitante MSH2-MSH6, 2 cas de perte de PMS2 et 1 cas de perte de MSH6

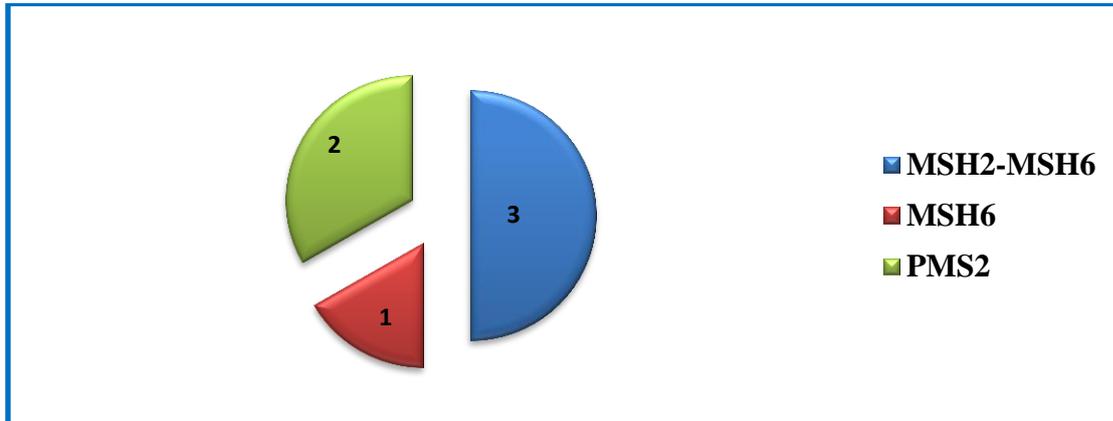


Figure 26: Répartition des patients selon la protéine MMR éteinte.

III.2. ETUDE ANALYTIQUE

III.2.1 Etude comparative des caractéristiques histologiques et immuno-histochimiques du CCR entre le groupe de patients de moins de 50 ans et celui de plus de 50 ans :

1. Comparaison selon la taille tumorale

La taille tumorale moyenne pour les Patients ≤ 50 ans est de 8cm, contre 5.5 cm pour les patients âgés de >50 ans.

2. Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique :

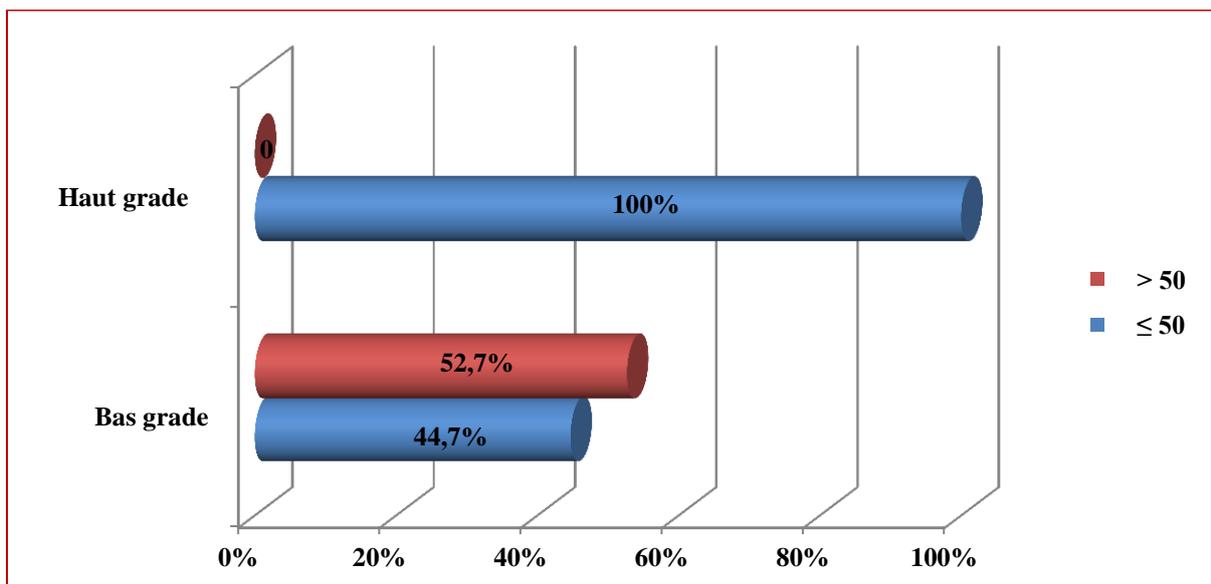


Figure 27: Répartition des patients des deux groupes selon la différenciation du CCR
 Carcinome de haut grade= Carcinome peu différencié et/ou moyennement différencié
 Carcinome de bas grade= Carcinome bien différencié.

Tous les carcinomes de haut grade se voient chez des patients de moins de 50 ans, alors que les carcinomes de bas grade se voient près qu'autant chez les sujets de moins de 50 ans que ceux de plus de 50 ans.

3. Comparaison selon le stade p T

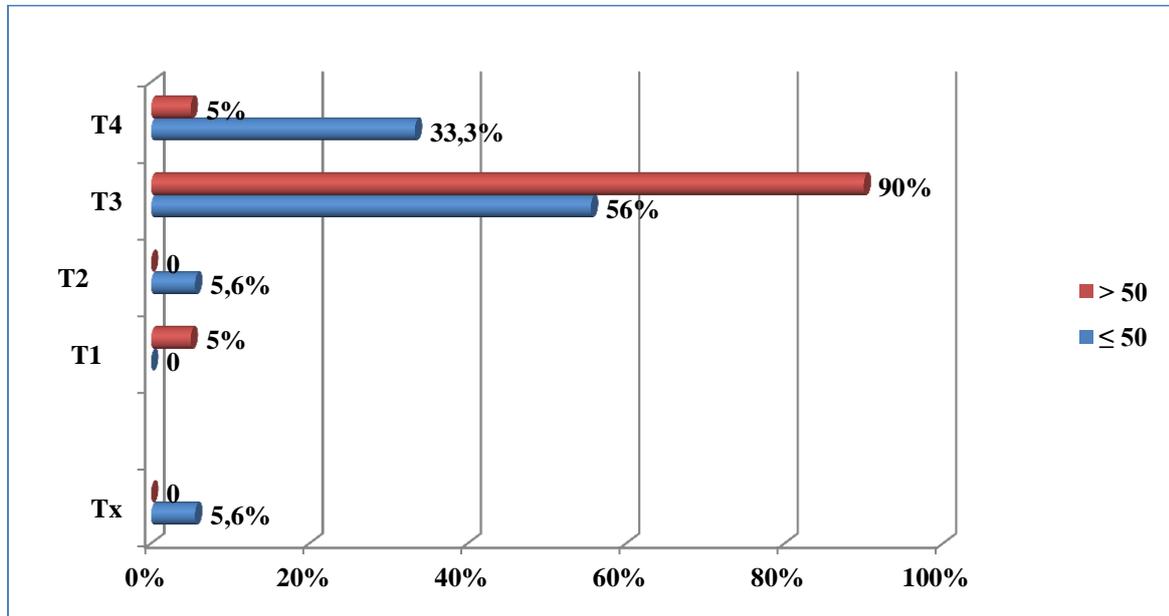


Figure 28: Répartition des patients des deux groupes d'âge selon le stade pT du CCR

90% des patients de plus de 50 ans sont pT3 contre 56% des moins de 50 ans.

4. Comparaison selon le stade p N

78.9% des patients de >50 ans n'ont pas une atteinte ganglionnaire (N0) contre 47.4% des ≤50 ans.

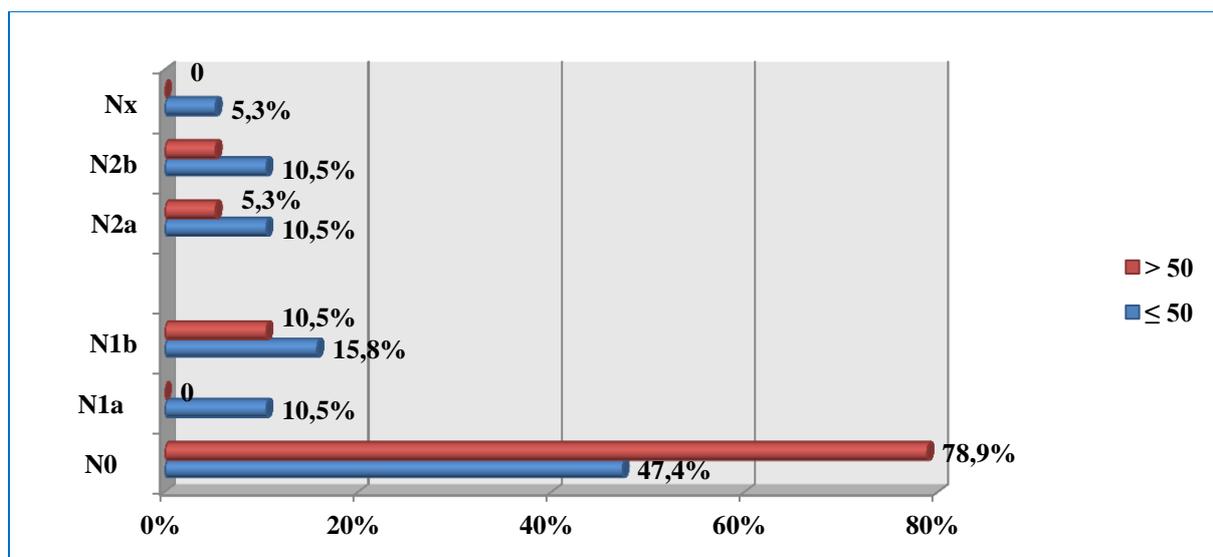


Figure 29 : Répartition des patients des deux groupes selon le statut ganglionnaire (N) du CCR.

III.2.2 Etude comparative de caractéristiques cliniques et histologiques et immuno-histochimiques du cancer colorectal avec extinction de protéine (s) MMR par rapport au cancer colorectal avec conservation de protéine (s) MMR

1. Comparaison selon l'âge

53.1% des patients avec un phénotype MSS ont plus de 50 ans et inversement 66.7% des patients avec phénotype MSI ont moins de 50 ans.

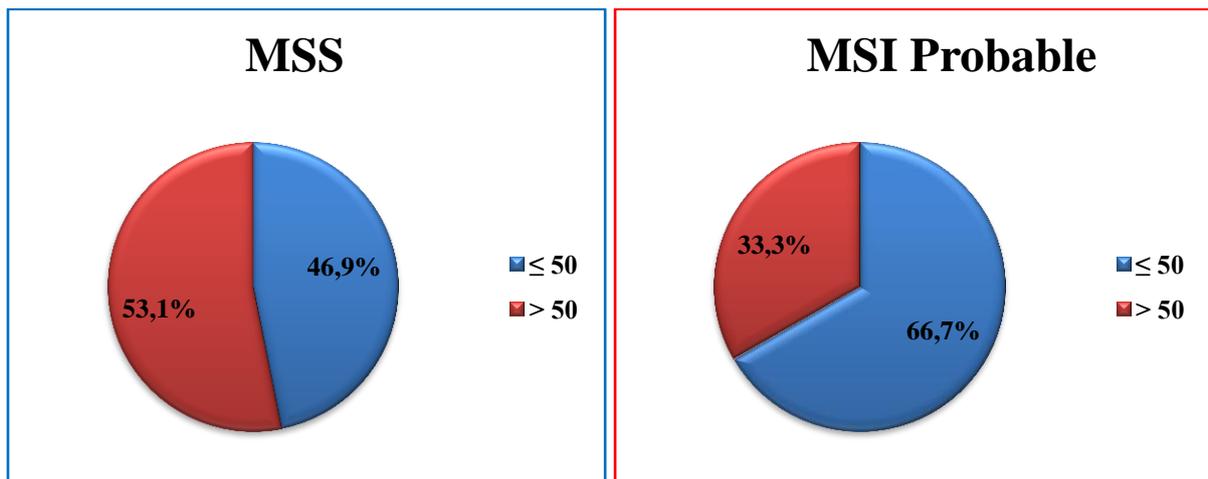


Figure 30: Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon l'âge.

2. Comparaison selon le sexe

53.1% des patients présentant un phénotype MSS sont de sexe féminin, contre 50% des patients présentant un phénotype MSI.

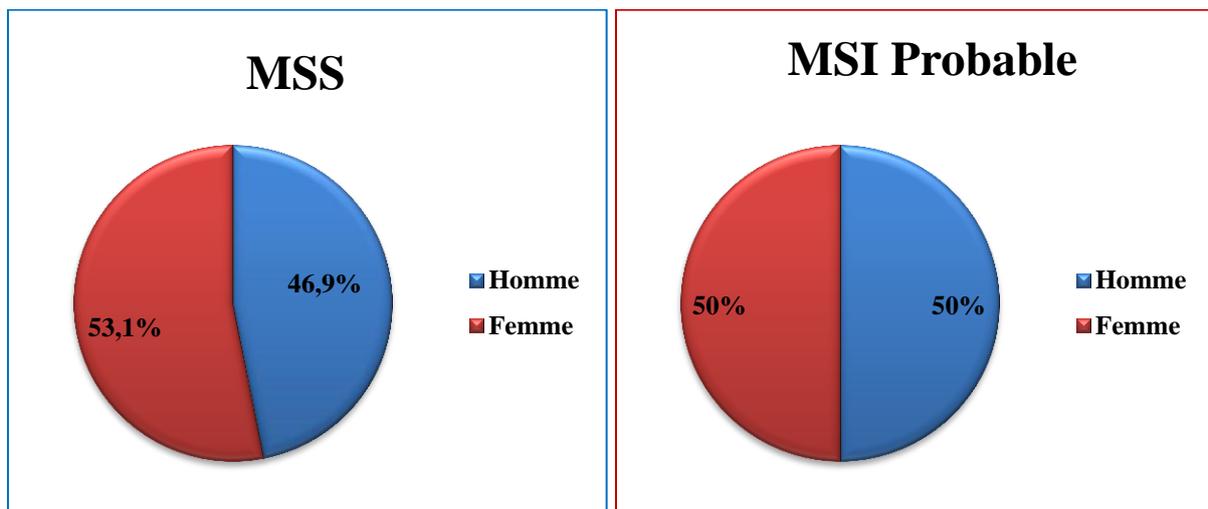


Figure 31: Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le sexe.

3. Comparaison selon la taille tumorale

La taille tumorale moyenne pour les cas MSS est de 7 cm, contre 9 cm pour les cas MSI probable.

4. Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique

Tous les patients avec un phénotype MSI probable ont un carcinome de bas grade contre 93.8% des patients ayant un phénotype MSS.

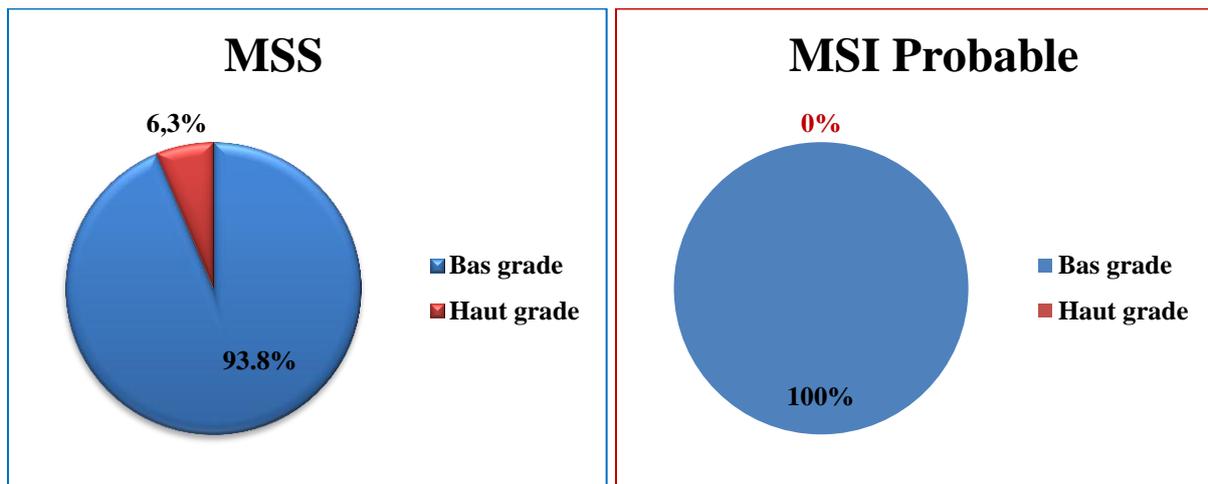


Figure 32: Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal.

5. Comparaison selon le stade p T

78.1% des patients présentant un phénotype MSS sont pT3. Les patients présentant un phénotype MSI ont à 50/50 un stade pT3 ou pT4.

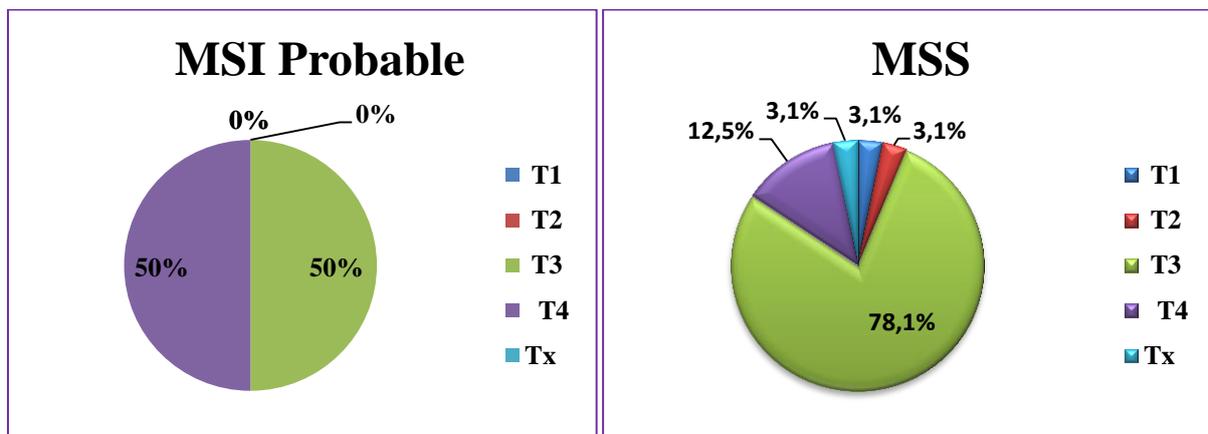


Figure 33: Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le stade d'infiltration pariétale.

6. Comparaison selon le stade p N

65.6% des patients présentant un phénotype MSS ont une atteinte ganglionnaire N1a, alors que 66.7% des patients présentant un phénotype MSI sont N0.

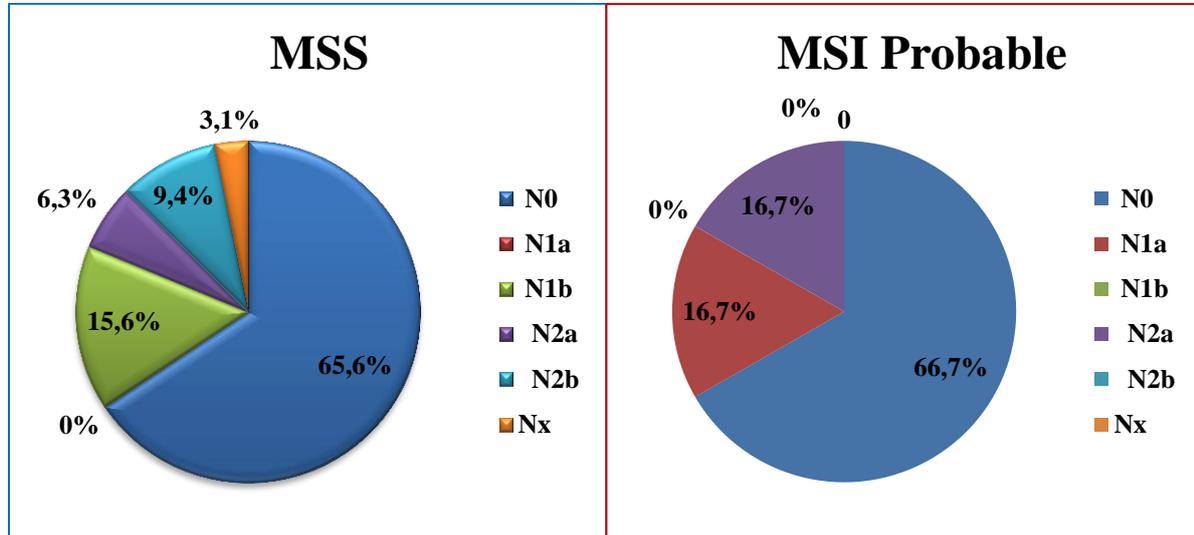


Figure 34 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le statut ganglionnaire locorégional.

III.3. Illustration des données de l'analyse Immunohistochimique :

L'analyse immunohistochimique des protéines MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 retrouve :

- un marquage positif des protéines MMR au niveau des cellules tumorales dans 32 cas (84%) répondant à des adénocarcinomes bien différenciés, suggérant des tumeurs MMR- non déficientes (MSS) : Figures 35, 36 et 37.
- Une absence totale de marquage au niveau des cellules tumorales a été retrouvée pour PMS2 dans 02 cas (33.33%) : Figure 38.
- Pour MSH6, l'absence totale d'expression de cette protéine au niveau des cellules tumorales a été retrouvée dans seul cas répondant à un adénocarcinome bien différencié de 5 cm (Figure 39).
- Une absence totale de marquage au niveau des cellules tumorales a été retrouvée pour MSH2 et pour MSH6, dans 3 cas 50% répondant à un adénocarcinome mucineux de 11.3 cm de moyenne (Figure : 40).
- Pour MLH1, l'absence totale d'expression de cette protéine au niveau des cellules tumorales n'a été retrouvée dans aucun cas. Pour cette protéine, l'interprétation de l'immunomarquage était délicat car dans la grande majorité des cas le marquage était

faible et diffus aussi bien pour les cellules carcinomateuses que les cellules normales : lymphocytes, fibroblastes et cellules endothéliales (Figure : 41) (annexe 5).

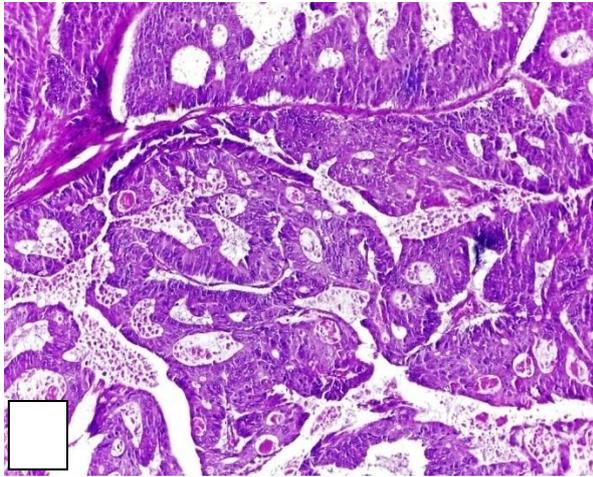
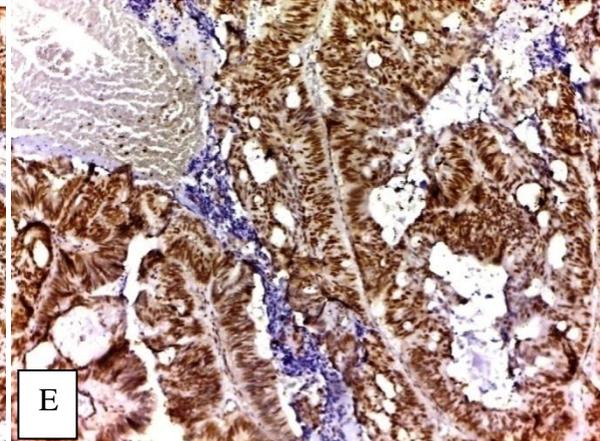
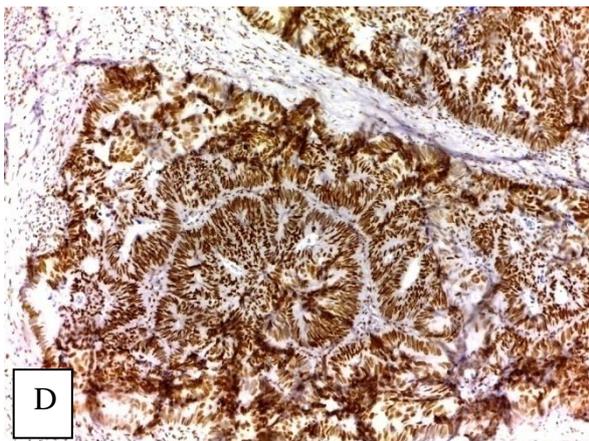
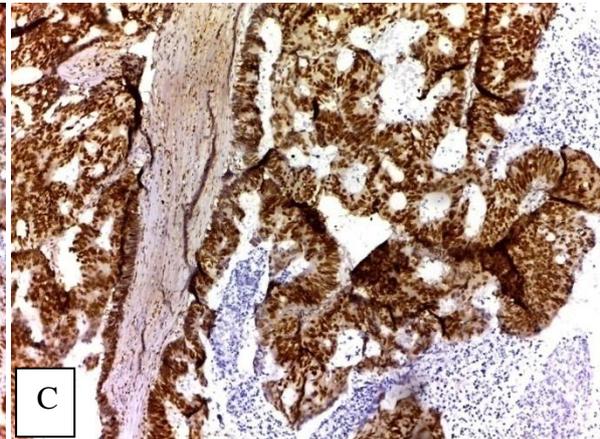
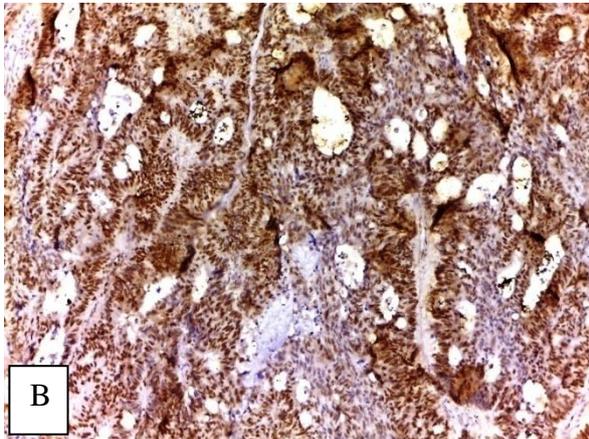
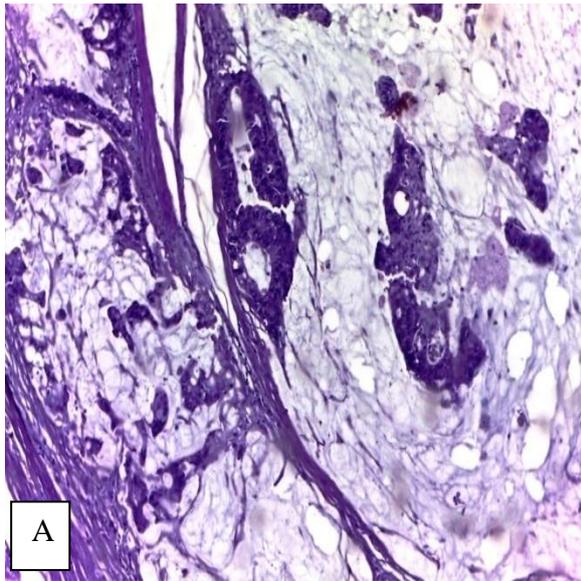


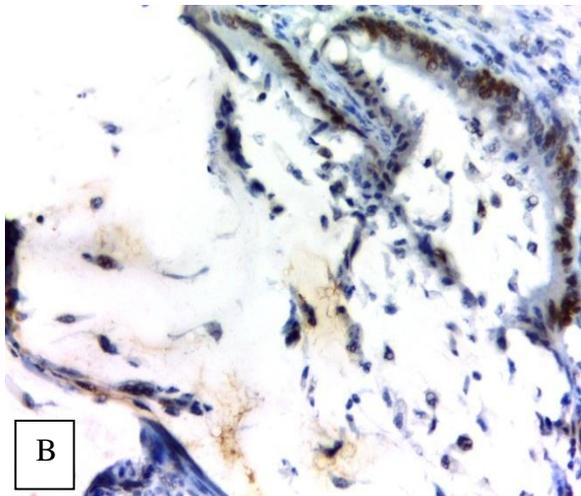
Figure 35 : A (HE, Gx10) Adénocarcinome colique bien différencié. Prolifération faite de structures tubulo-acineuses. B (IHC, Gx10) MLH1 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. C (IHC, Gx10) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. D (IHC, Gx10) MSH6 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. E (IHC, Gx10) PMS2 : positivité nucléaire des cellules tumorales.



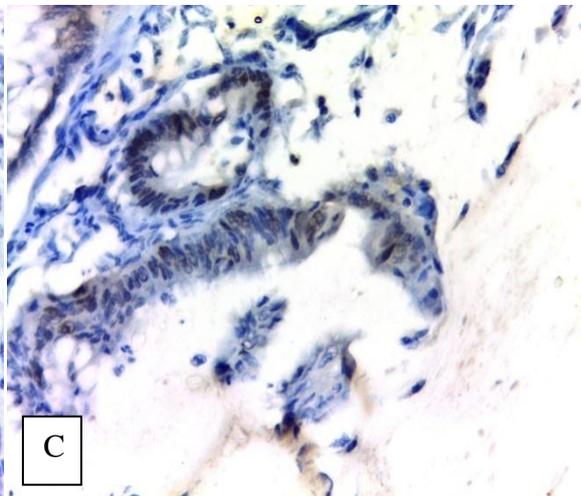


A

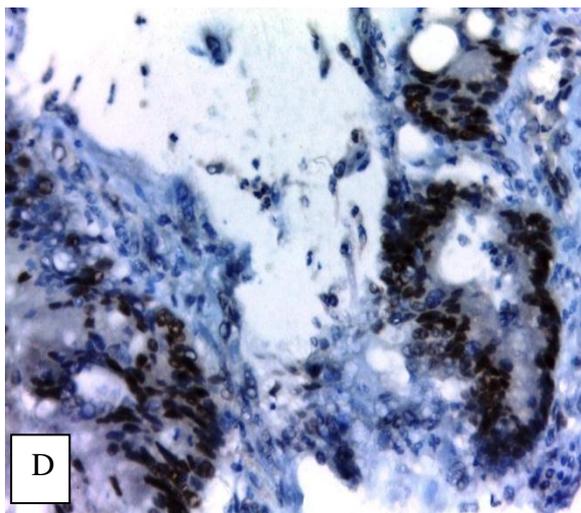
Figure 36 : A (HE, Gx10), Adénocarcinome colique mucineux. Prolifération faite de structures glandulaires baignant dans des nappes de mucus. B (IHC, Gx40) MLH1 : positivité nucléaire des cellules tumorales. C (IHC, Gx40) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. D (IHC, Gx40) MSH6 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. E (IHC, Gx40) PMS2 : positivité nucléaire des cellules tumorales.



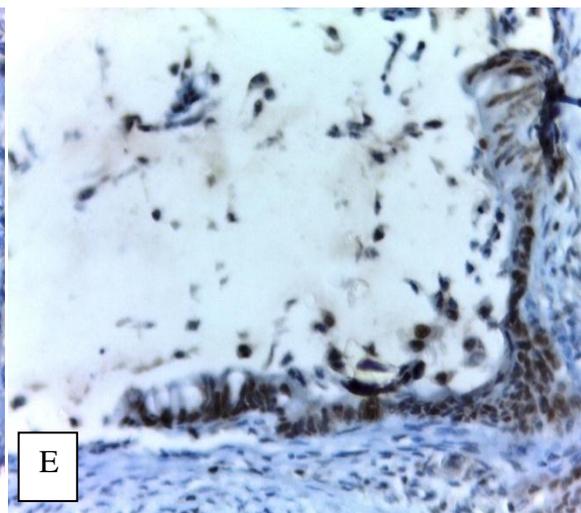
B



C



D



E

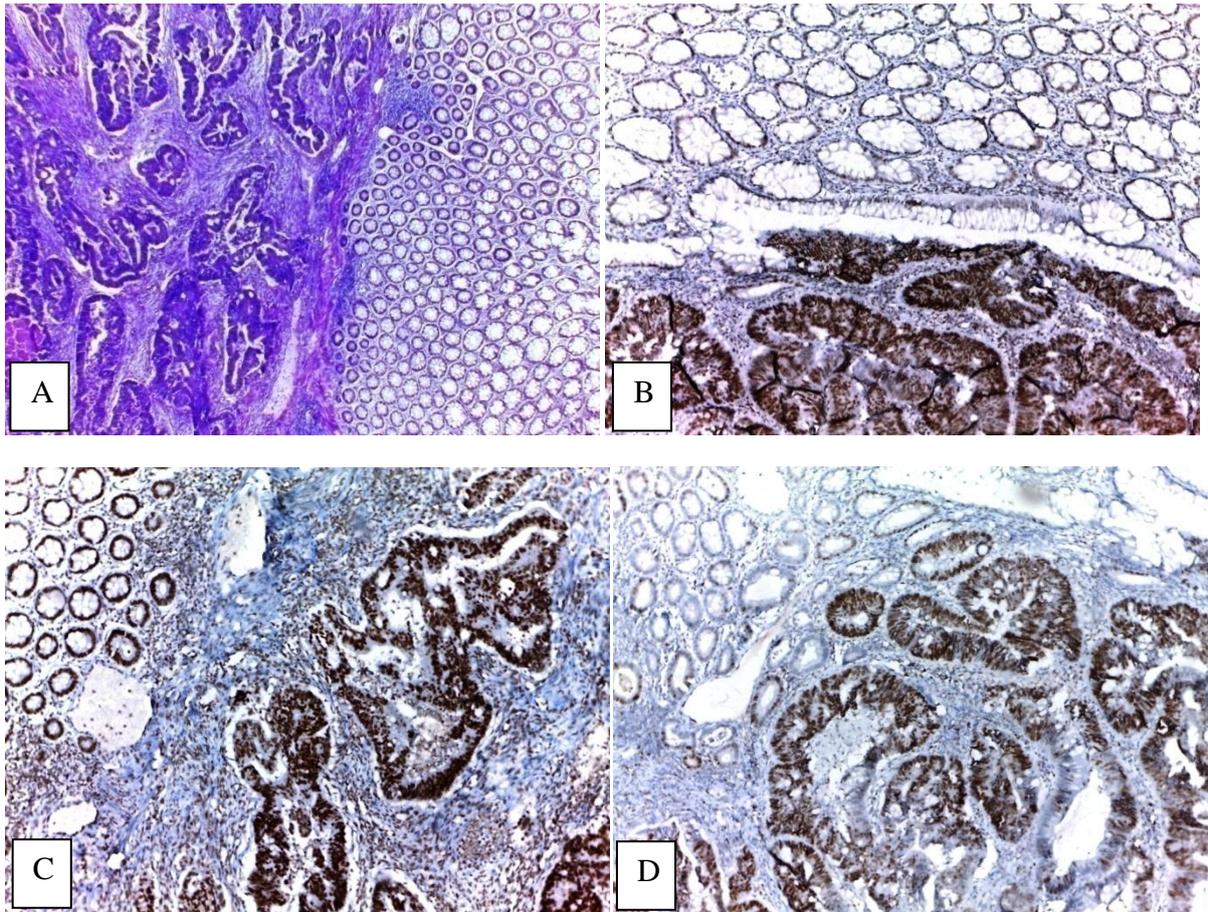


Figure 37: A (HE, Gx10) Muqueuse colique infiltrée par un Adénocarcinome bien différencié fait de structures glandulaire, papillaires et acineuses. B (IHC, Gx10) MLH1 : positivité nucléaire des cellules tumorales et des cellules coliques normales. C (IHC, Gx10) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. D (IHC, Gx10) MSH6 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales.

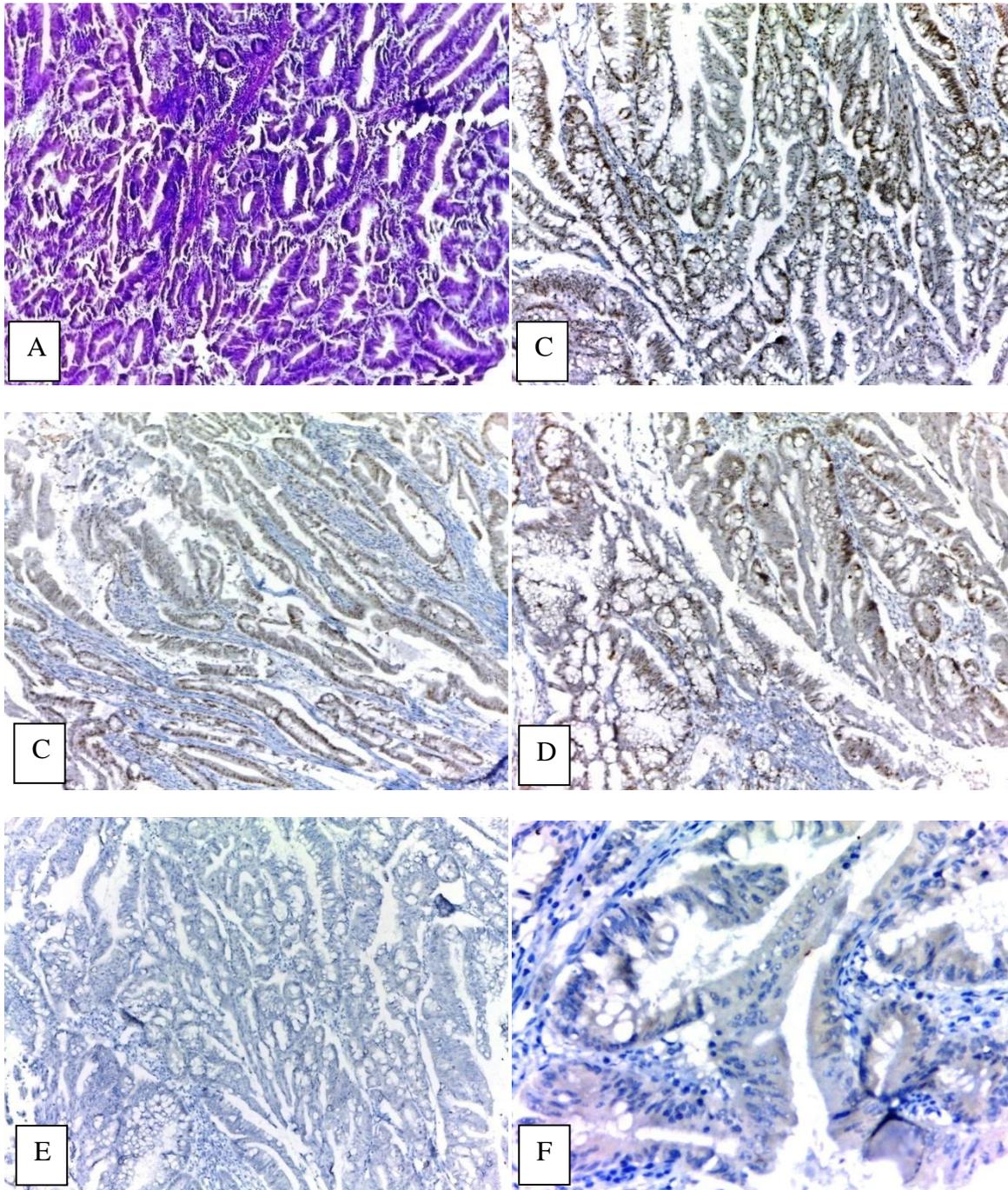
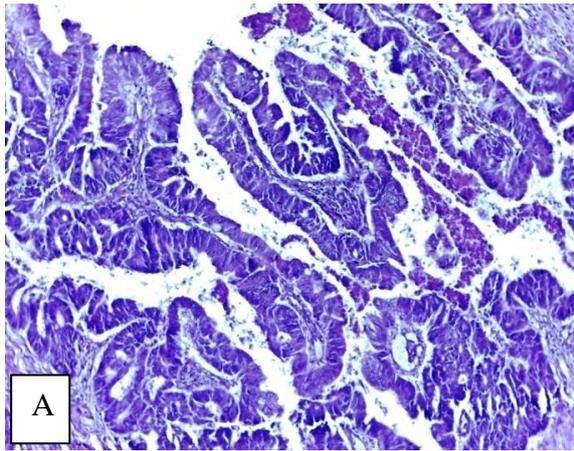
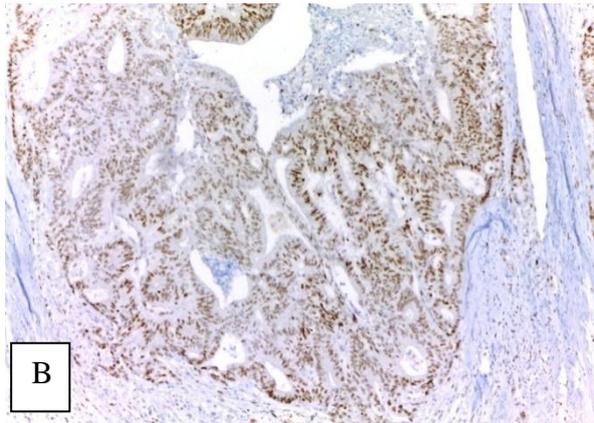


Figure38 : A (HE, Gx10) Adénocarcinome colique bien différencié. Prolifération faite de structures glandulaires. B (IHC, Gx10) MLH1 : positivité nucléaire de faible intensité des cellules tumorales. C (IHC, Gx10) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. D (IHC, Gx10) MSH6 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. E (IHC, Gx10) PMS2 : absence de positivité nucléaire des cellules tumorales. F (IHC, Gx40) PMS2 : absence de positivité nucléaire des cellules tumorales

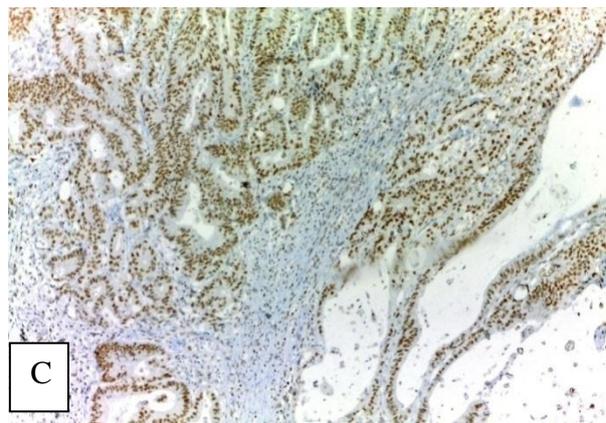


A

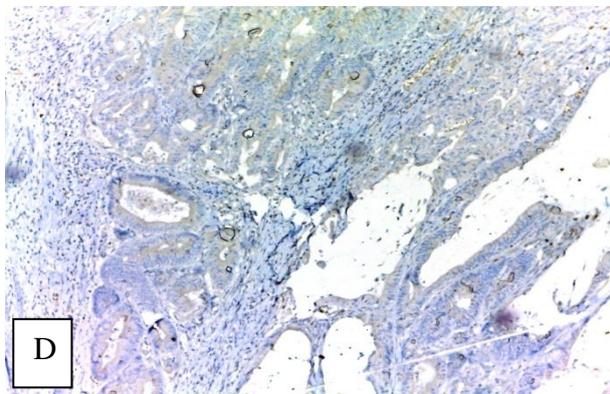
Figure 39 : A (HE, Gx10) Adénocarcinome colique bien différencié. Prolifération faite de structures glandulo-papillaire. B (IHC, Gx10) MLH1 : positivité nucléaire des cellules tumorales. C (IHC, Gx10) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. D (IHC, Gx10) et E (IHC, Gx40) MSH6 : Absence de positivité nucléaire des cellules tumorales. Perte de l'expression de la protéine MSH6. F (IHC, Gx10) et G (IHC, Gx40) PMS2 : positivité nucléaire des cellules tumorales.



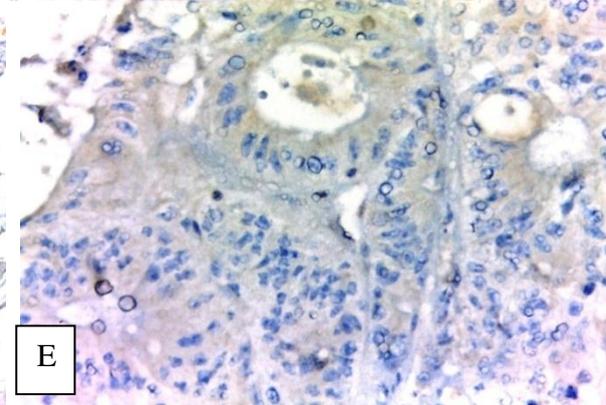
B



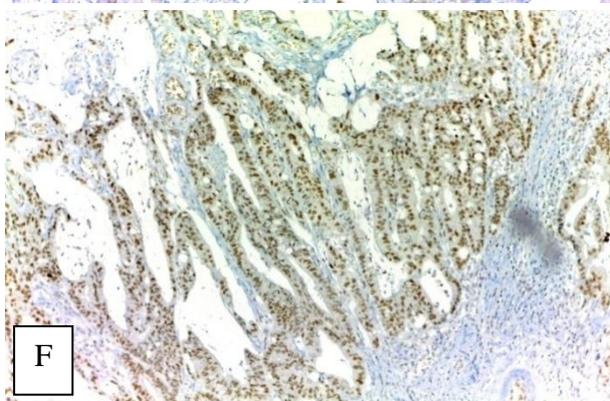
C



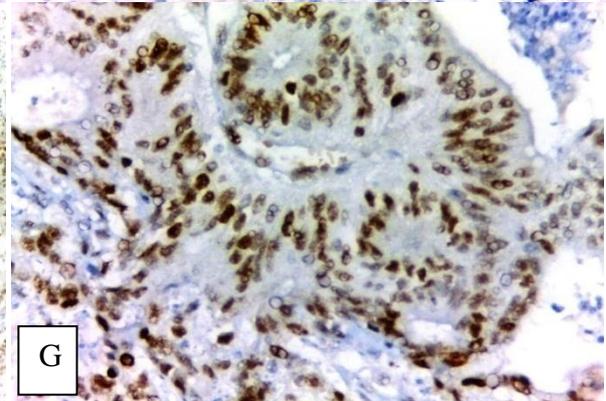
D



E



F



G

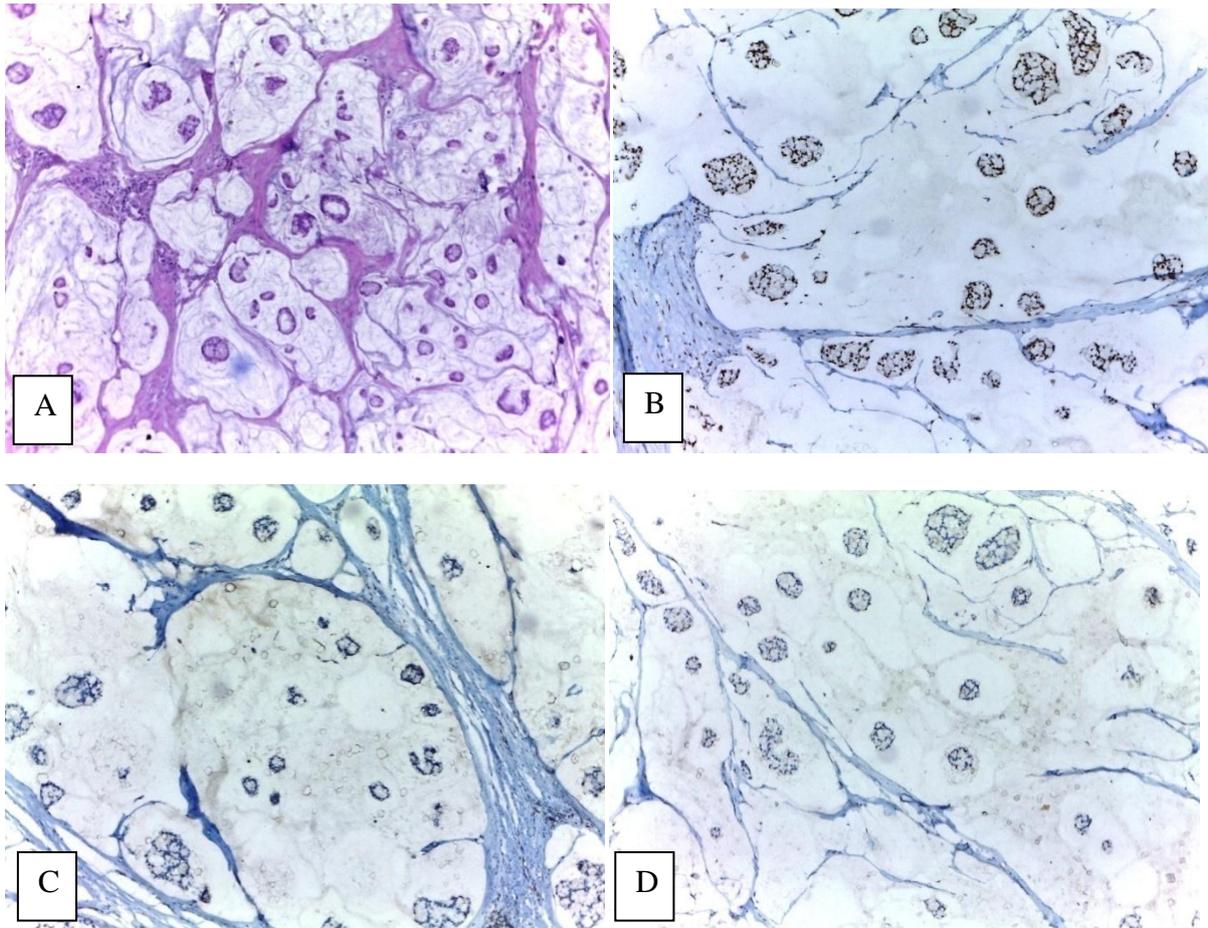


Figure40: A (HE, Gx10) Adénocarcinome colique de type mucineux. Prolifération faite de structures glandulaires baignant dans des nappes de mucus. B (IHC, Gx10) MLH1 : positivité nucléaire des cellules tumorales. C (IHC, Gx10) MSH2 : Absence de positivité nucléaire des cellules tumorales. Perte d'expression de la protéine MSH2. D (IHC, Gx10) MSH6 : Absence de positivité nucléaire des cellules tumorales. Perte d'expression de la protéine MSH6.

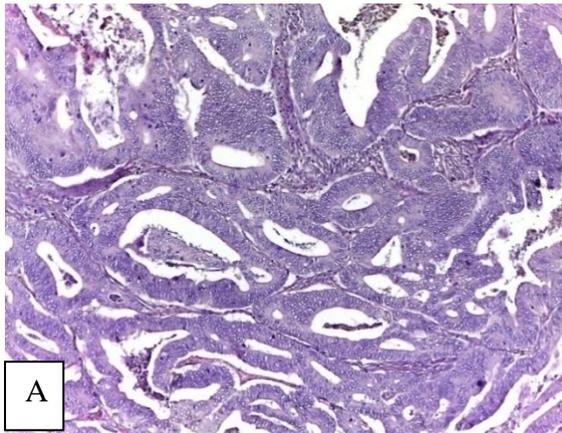
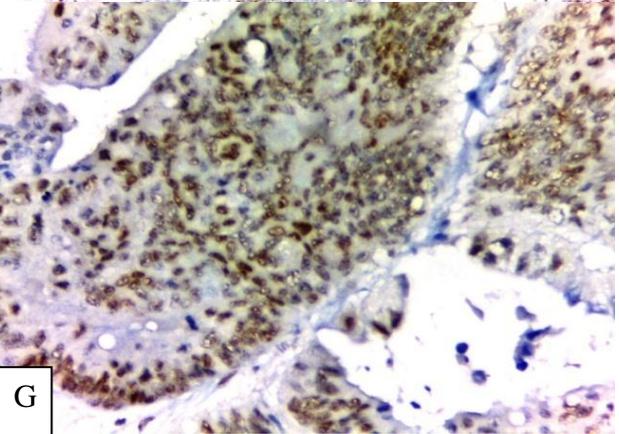
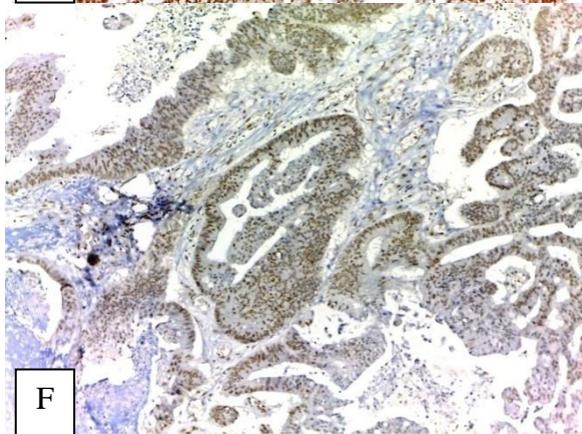
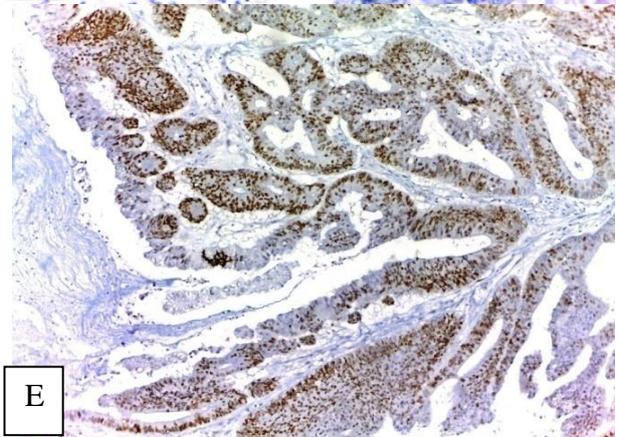
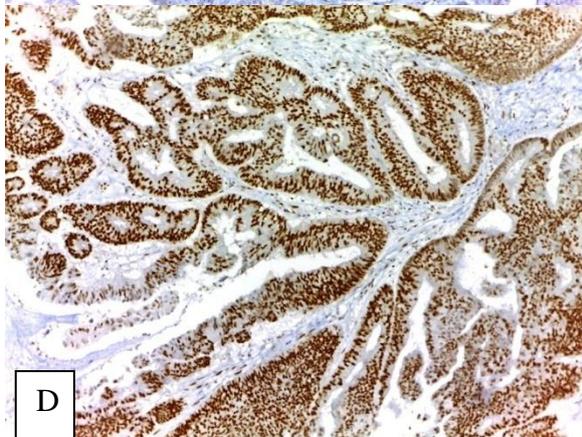
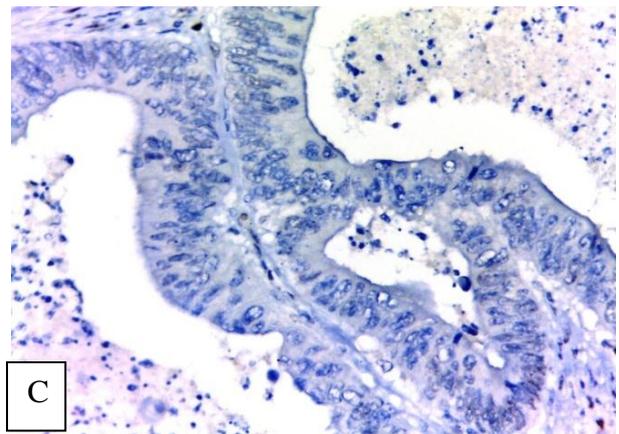
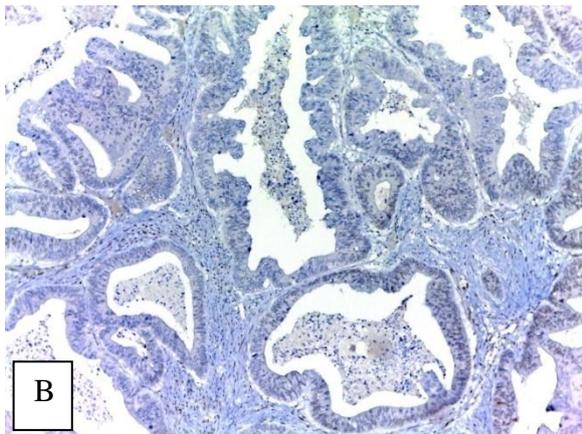


Figure 41 : A (HE, Gx10) Adénocarcinome colique bien différencié. Prolifération faite de structures glandulaires. B (IHC, Gx10) et C (IHC, Gx40) MLH1 : absence de positivité nucléaire. Absence d'expression de la protéine. D (IHC, Gx10) MSH2 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. E (IHC, Gx10) MSH6 : forte positivité nucléaire des cellules tumorales. F (IHC, Gx10) et G (IHC, Gx40) PMS2 : positivité nucléaire des cellules tumorales.



CHAPITRE V : DISCUSSION

Les CCR avec MSI sont plus fréquents dans le côlon droit et sont histologiquement caractérisés par des traits mucineux et un stroma réaction lymphocytaire. Souvent de stade II et relativement rare parmi les tumeurs métastatiques, ils surviennent généralement chez les patientes âgées ; Alors que le CCR dans le contexte du LS survient souvent chez les jeunes patients (de moins de 50 ans).

Dans notre série, nous avons rapporté un âge moyen de 53 ans avec une proportion de sujets jeunes âgés de ≤ 50 ans de 52.6%. Nous avons aussi constaté, une légère prédominance féminine est notée. Alors que dans la littérature, on rapporte en général Une légère prédominance masculine.

L'adénocarcinome bien différencié est le type histologique le plus fréquent (68.4%) chez nos patients et 90% des patients de plus de 50 ans sont pT3 contre 56% des moins de 50 ans. Selon la classification anatomopathologique (pTNM), les résultats montrent une prédominance du stade III par rapport aux stades IV et II. En effet Les $\frac{3}{4}$ des patients correspondent à une infiltration tumorale qui arrive à la musculature, sans la dépasser.

Par ailleurs, il a été démontré dans la majorité des cas une extension ganglionnaire (34% des cas). Nous notons un seul cas au stade I parmi nos patients étudiés.

Ces résultats pourraient être dus à plusieurs raisons :

- ✓ Les patients arrivent au service de santé à un stade tardif à défaut de la négligence,
- ✓ le manque de motivation, la peur du résultat, une information insuffisante et le manque de temps.
- ✓ Les malades qui ne font pas une surveillance régulière, ceci augmente le risque des récidives.
- ✓ Manque de compagnie médicale et sociale de dépistage et de prévention

Une absence totale d'expression des protéines de réparation n'a été observée dans aucun cas parmi les adénocarcinomes étudiés et ce pour MSH2, MSH6 et PMS2. Alors qu'une expression anormale (hétérogène et/ou faible) a été trouvée dans des adénocarcinomes pour MSH2 dans 3 cas (soit 7.9%) et dans un seul (soit 2.6%) pour MSH6 et dans 2 cas (soit 5.3%) pour PMS2. Cette anomalie d'expression n'est pas corrélée aux caractéristiques anatomo-cliniques des adénocarcinomes (sexe, localisation, grade de différenciation et type histologique).

En comparant nos résultats à ceux de la littérature, le MSI survient dans environ 15% de toutes les tumeurs CCR dans les populations blanches. Il résulte d'une dMMR défectueuse

causée par la défaillance de l'un des quatre principaux gènes MMR, MSH2, MLH1, MSH6 ou PMS2. Ce phénotype va se traduire d'une part par un défaut de production des protéines MMR détectables en immunohistochimie et d'autre part, par une instabilité de séquences hautement répétées du génome, (les microsatellites). Il existe deux types différents d'anomalie du gène MMR : elle est soit causée par une mutation germinale héréditaire dans un allèle suivie d'une inactivation somatique de l'allèle de type sauvage dans une cellule muqueuse du côlon (ces personnes ont un syndrome HNPCC et représentent 3% à 5% de tous les CCR), ou cette anomalie fait suite à l'inactivation somatique des deux allèles. Les patients atteints du syndrome de Lynch – LS, sont porteurs d'une mutation mono-allélique germinale au niveau d'un des gènes du système MMR, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*, à transmission autosomique dominante, ce qui augmente leur risque de développer un CCR. Ils bénéficient d'une surveillance accrue ; d'où l'importance de l'identification des patients LS, ainsi que les membres de la famille atteints de ce syndrome.

Étant donné que la plupart (90%) des CCR dus à LS ont un phénotype MSI, les tests MSI par immunohistochimie ou biologie moléculaire peuvent servir d'outils de dépistage pour détecter le LS. De multiples études rétrospectives ont montré que les patients atteints de CCR MSI-H (haut niveau d'instabilité satellitaire) ont un pronostic ajusté au stade plus favorable que ceux qui ont des tumeurs MSS. Il a été suggéré que l'amélioration du pronostic du MSI-H CCR peut résulter de la réponse immunitaire anti-tumorale prononcée de l'hôte. En effet, l'infiltrat inflammatoire fait de lymphocytes ou une réaction inflammatoire semblable à celle observée dans la maladie de Crohn, sont importants dans les CCR- MSI. Cela est dû au manque de système MMR avec l'accumulation conséquente des mutations qui provoquent la transcription et la traduction des peptides avec des séquences d'acides aminés modifiées (néo-antigènes), qui sont présentés par le complexe HLA classe I et reconnus par les cellules T cytotoxiques. S'il est relativement bien établi que le pronostic est meilleur pour les patients atteints de MSI-H CCR, récemment, il y a une reconnaissance accrue de l'importance du système immunitaire de l'hôte dans le contrôle de la progression tumorale et de nouveaux biomarqueurs immunologiques ont été inclus comme outils de prédiction de réponse à la thérapie. MSI CCR affiche une expression hautement régulée de plusieurs points de contrôle immunitaire (**De'Angelis et al., 2014**).

Dans ce travail, l'identification de l'instabilité était recherchée par l'étude de l'expression protéique en immunohistochimie, des gènes de réparation de mésappariement de l'ADN. Cette technique a été adoptée du fait de son accessibilité et de son caractère peu coûteux. De plus elle permet d'évaluer le taux du produit fonctionnellement actif : la protéine, sa

localisation cellulaire, tout en étudiant l'aspect morphologique des cellules observées **(Puissieux, 2002)**.

Toutefois cette technique présente des limites qui doivent être prises en considération pour son interprétation. Ces limites sont liées au fait que toutes les mutations ne modifient pas l'épitope reconnu par l'anticorps, et également à l'hétérogénéité des pratiques de fixation des tissus et des procédures techniques qui varient selon les laboratoires. En effet, l'IHC n'est fiable que si au préalable toutes les étapes pré-analytiques, de la fixation des tissus à la révélation du complexe Antigène-Anticorps, ont été contrôlées **(Grassi et al., 2007)**.

Il est admis que la fixation par le formaldéhyde entraîne une perte variable et réversible de l'immuno-réactivité par le masquage ou l'endommagement de certains sites de liaison des anticorps d'où la difficulté de l'obtention des résultats reproductibles dans toutes les conditions de fixation, notamment avec certains anticorps, comme ceux dirigés contre MLH1. En effet, il a été démontré que l'IHC présente une faible sensibilité dans la détection des mutations de MLH1 **(Taniere et Joly, 2002)**. De plus, cette technique présente des résultats quantitatifs indéterminés, et ne permet pas l'identification de la nature de la mutation.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE

Le cancer colorectal est le troisième cancer dans le monde chez l'homme et chez la femme. Les taux d'incidence et de mortalité de cette pathologie varient considérablement selon les pays. Plus il est dépisté tôt, meilleures seront les chances de guérison du cancer colorectal. A l'heure actuelle, nous possédons de connaissances étendues sur les causes du cancer, les interventions pour sa prévention et la prise en charge de la maladie.

On peut réduire et endiguer le cancer en appliquant des stratégies fondées sur des données et des bases factuelles pour la prévention. L'identification du MSI CCR est aussi très importante, car MSI peut servir d'outil de dépistage du syndrome de Lynch, un marqueur pronostique de l'évolution du patient et un marqueur prédictif de la réponse à la chimiothérapie et à l'immunothérapie. La prise en charge des patients avec une détection précoce et un traitement adéquat, les chances de guérison sont grandes pour de nombreux cancers.

En conclusion, Il faut se pencher sur ce problème en préconisant un dépistage basé sur une enquête épidémiologique préalable, pour évaluer les facteurs de risques chez une population cible notamment. Il faut avoir une bonne hygiène de vie, une alimentation saine, éviter la sédentarité, exercer une activité physique, consulter son médecin en cas de malaises abdominaux ou de présence de sang dans les selles. A partir de 50 ans, il faudra effectuer une coloscopie chaque 10 ans, plutôt pour les groupes à risque (notamment avec des cas familiaux). Tous ces facteurs constituent des facteurs de prévention contre le cancer colorectal.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Arifi S, Elmesbahi O, Amarti Riffi A. (2015). Primary signet ring cell carcinoma of the colon and rectum. *Bull Cancer*, 102, p 880-888.
2. Amier H et Mezaache A. (2018). Etude rétrospective et exploration du protéome salivaire des patients atteints du cancer colorectal par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle. Mémoire de master en biochimie. Université. Des frères Mentouri Canstantine. Algérie. p72.
http://www.adeca68.fr/le_cancer_colorectal/histoire_naturelle/aspects_moleculaires_du_developpement_du_cancer_colorectal.181.html
3. Bahri MO. (2017). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal (à propos de 36 cas). Thèse de Doctorat en Médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc. P 163.
4. Berthenet K, Boudesco C, Collura A, Svrcek M, Richaud S, Hamman A.(2014). Extracellular HSP110 skews macrophage polarization in colorectal cancer. *Oncoimmunology (in press)*,5. P 12.
5. Bianchini L. (2012). Epigénétique et cancer : Les thérapies épigénétique porteuses d'espoir pour le traitement du cancer. *My Science Work*.
http://www.myscienceworkcom.cdn.ampproject.org/v/s/www.mysciencework.com/on_niscience/epigenetique-etcancer/amp.331.html
6. Biroccio A et al. (2001). C-Mybet Bcl-x overexpression predicts poor prognosis in colorectal cancer: clinical and experimental findings. *Am. J. Pathol.* 158, p 1289-1299.
7. Boissiere-Michot F, Lazennec G, Frugier H, Jarlier M, Roca L, Duffour J et al.(2014), Characterization of an adaptive immune response in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Oncoimmunology*.
8. Bollrath J, Phesse TJ, von Burstin VA, Putoczki T, Bennecke M, Bateman T et al. (2009). gp130- mediated Stat3 activation in enterocytes regulates cell survival and cellcycle progression during colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell*, 15: p 91-102.
9. Bosman FT, Carniero F, Hruban RH, Theise ND. (2010). WHO Classification of Tumours of Digestive System, IARC, 4th Ed. Lyon, p134-146.
10. Brungs D, Aghmesheh M, De Souza P, Chua W, Carolan M, et al. (2017). Sidedness is prognostic in locoregional colon cancer: an analysis of 9509 Australian patients. *BMC Cancer*, 17, p 251.
11. Bruno B, Antoine D-P, Paul F, Étienne R. (2011). Instabilité des microsatellites et cancers colorectaux. *Cancéro dig.* 3 N° 3. p 200-203
12. Buhard O et al. (2006). Multipopulation analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 24, p 241–251.
13. Buisine MP et al. (2008). Frequent mutations of the CA simple sequence repeat in intron 1 of EGFR in mismatch repair-deficient colorectal cancers. *World J. Gastroenterol.*, 14, p 1053-1059.
14. Camille B-R. (2017). Etude du récepteur d'endocytose Irf1 dans les adénocarcinomes coliques : Caractéristiques cliniques, pathologiques et moléculaires associées et valeur

pronostique. Thèse de Doctorat en Médecine. Université De Reims Champagne-Ardenne. France. P 223.

15. Camilo A, Thomas P, Mémento de Pathologie. 3^{ème} Ed. Paris, 2010, p 445.
16. Chang SC, Lin PC, Lin JK, Lin CH, Yang SH, Liang WY, et al.(2016).Mutation Spectra of Common Cancer-Associated Genes in Different Phenotypes of Colorectal Carcinoma Without Distant Metastasis. *Ann Surg Oncol*, 23, p 849-855.
17. Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, et al. (2009). Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*, 20, p 1223-1229.
18. Colgan SP, Pitman RS, Nagaishi T, Mizoguchi A, Mizoguchi E, Mayer LF et al. (2003).Intestinal heat shock protein 110 regulates expression of CD1d on intestinal epithelial cells. *J Clin Invest*,112, p 745–754.
19. Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ, Conley B, Cooper HS, Hamilton SR, et al. (2000). Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, 124, p 979-994.
20. Corso G et al. (2011).Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability. *Eur. J.Cancer*, 47, p 443-451.
21. Cortes-Ciriano I, Lee S, Park W-Y, Kim T-M, Park P. (2016). A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. *BioRxiv*, 8, p 1-12.
22. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N, et al. (2016). CDX2 as a Prognostic Biomarker in Stage II and Stage III Côlon Cancer. *N Engl J Med*, 374, p 211-222.
23. Dao Keniaba K. (2008).Etude épidémiologique et Anatomopathologique Des cancers du tube Digestif. Thèse de Doctorat en Médecine. Université de Bamako. Pays. P93.
24. De'Angelis GL, Cinzia LA, De'Angelis N, Gioacchino L, Francesco DM, Federica G, Francesca N. (2018). Microsatellite instability in colorectal cancer. *Acta Biomed*, 89, p 97-101.
25. Domingo E et al. (2004). Activated BRAF Targets Proximal Colon Tumors with Mismatch Repair Deficiency and MLH1 Inactivation. *Genes Chromosom. Cancer*,39, p 138-142.
26. Duval A, Collura A, Berthenet K, Lagrange A, Garrido C. (2011).Microsatellite instability in colorectal cancer: time to stop hiding. *Oncotarget*, 2, p 826-827.
27. Duval A, Hamelin R. (2002).Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: Toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Research*, 62, p 2447-2454.
28. Duval A, Hamelin R. (2002). Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: Toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Research*, 62, p 2447-2454.
29. Egyir UE. (2017). Cancer du rectum : Expérience du service de chirurgie oncologique centre d'oncologie Hassan II (A propos de 83 cas). Thèse de Doctorat en Médecine. UniversitéSidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc. P 362.
30. El-Murr N. (2014). Étude de l'Impact des microARNs sur la Carcinogenèse des Cancers Colorectaux Instables sur les Séquences Répétées Microsatellites du Génome.

Thèse de doctorat de Génétique et Epigénétique des Cancers. Université Pierre et Marie Curie. Paris. P54-56.

31. Fearon ER, Vogelstein B. (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, p 759-767.
32. Fearon ER, Vogelstein BA. (1990). Genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, p 759-767.
33. Funkhouser WK et al.(2012). Relevance, Pathogenesis, and testing algorithm for mismatch repair defective colorectal carcinomas: A report of the association for molecular pathology. *J. Mol. Diagnostics*, 14, p 91-103.
34. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. (2006). Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*, 313, p 1960-1964.
35. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, Angell HK, Berger A, Lagorce C, et al. (2014). Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours. *J Pathol.* 232(2): p199-209.
36. Giannini G et al.(2004). Mutations of an intronic repeat induce impaired MRE11 expression in primary human cancer with microsatellite instability. *Oncogene*, 23, p 2640-2647.
37. Globocan. (2017). Fact Sheets by Cancer.
URL: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
38. Gramont A et al. (2015). Le cancer colorectal en questions. la Fondation A.R.C.A.D [en ligne], 3 éd. Paris, p 13-18.
39. Grassi J, Verney C, Walker F, et al. (2007). Les contrôles nécessaires en immunohistochimie : de la recherche au diagnostic. *Ann Pathol*, 27, p 16-26.
40. Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S et al. (2009). IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell*, 15(2), p 103-113.
41. Gylfe AE et al,(2013). Identification of candidate oncogenes in human colorectal cancers with microsatellite instability. *Gastroenterology*, 145,p 540-534.
42. Ha TN, Hong-Quan D. (2018). The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (Review). *Oncology Letters*, 16, p 9-18
43. He WZ, Liao FX, Jiang C, Kong PF, Yin CX, Yang Q, et al. (2017). Primary Tumor Location as a Predictive Factor for First-line Bevacizumab Effectiveness in Metastatic Colorectal Cancer Patients. *J Cancer*, 8, p 388-394.
44. Hienonen, T et al, (2005). Mutations in two short noncoding mononucleotide repeats in most microsatellite-unstable colorectal cancers. *Cancer Res.* 65, p 4607-4613.
http://www.adeca68.fr/le_cancer_colorectal/histoire_naturelle/aspects_moleculaires_du_developpement_du_cancer_colorectal.181.html
45. Hugo H et al.(2006). Mutations in the MYB intron 1 regulatory sequence increase transcription in colon cancers. *Genes Chromosome. Cancer*, 45, p 1143-1154.
46. Image disponible l'URL : http://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/grain8b_1.html
47. Juo YY, Johnston FM, Zhang DY, Juo HH, Wang H, Pappou EP, et al. (2014). Prognostic value of CpG island methylator phenotype among colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*, 25, p 2314-2327.

48. Kakar S, Smyrk TC. (2005). Signet ring cell carcinoma of the colorectum: correlations between microsatellite instability, clinicopathologic features and survival. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc*, 18, p 244-249.
49. Kim SH, Chang HJ, Kim DY, Park JW, Baek JY, Kim SY, et al. (2016). What Is the Ideal Tumor Regression Grading System in Rectal Cancer Patients after Preoperative Chemoradiotherapy? *Cancer Res Treat*, 48, p 998-1009.
50. Kim TM, Laird P. W. & Park, P. J. (2013). The landscape of microsatellite instability in colorectal and endometrial cancer genomes. *Cell*,155,(4)
51. Knudson, A. G. (1971). Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 68, p 820–3.
52. Lee YC, Lee YL, Chuang JP, Lee JC. (2013). Differences in survival between côlon and rectal cancer from SEER data. *PLoS One*, 8, p 78709.
53. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. (2002).The colorectal adenoma-carcinoma sequence. *British Journal of Surgery*, 89, p 845-860.
54. McCawley N, Clancy C, O'Neill BD, Deasy J, McNamara DA, Burke JP. (2016). Mucinous Rectal Adenocarcinoma Is Associated with a Poor Response to Neoadjuvant Chemoradiotherapy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Dis Côlon Rectum*, 59, p 1200-1208.
55. Meilleroux J. (2016). Evaluation de la qualité des critères anatomopathologiques et de la réalisation des tests moléculaires chez les patients atteints de cancers colorectaux. Thèse de Doctorat en médecine. Université Toulouse III – Paul Sabatier. P 130.
56. Meilleroux J. (2016). Evaluation de la qualité des critères anatomopathologiques et de la réalisation des tests moléculaires chez les patients atteints de cancers colorectaux. Thèse de Doctorat en médecine. Université Toulouse III – Paul Sabatier. France. P130.
57. Mihalache A. (2016). Recherche de nouveaux marqueurs diagnostique et / ou pronostiques pour le cancer du colon. Thèse de Doctorat en Biochimie et Biologie Moléculaire. Université de Lille 1. France. P 230.
58. Moran A et al.(2002). Stromelysin-1 promoter mutations impair gelatinase B activation in high microsatellite instability sporadic colorectal tumors. *Cancer Res*, 62, p 3855-3860.
59. Morere J-F, Mitry E. (2010).Les cancers digestifs des sujets ages. *Springer*,p 140.
60. Nagtegaal ID, Knijn N, Huguen N, Marshall HC, Sugihara K, Tot T, et al. (2017). Tumor Deposits in Colorectal Cancer: Improving the Value of Modern Staging-A Systematic Review and Meta- Analysis. *J Clin Oncol*, 35, p 1119-1127.
61. Niedzwiecki D, Bertagnolli MM, Warren RS, Compton CC, Kemeny NE, Benson AB, et al. (2011). Documenting the natural history of patients with resected stage II adenocarcinoma of the côlon after random assignment to adjuvant treatment with edrecolomab or observation: results from CALGB 9581. *J Clin Oncol*, 29, p 3146-3152.
62. Oliveira C et al.(2003).BRAF mutations characterize colon but not gastric cancer with mismatch repair deficiency. *Oncogene*,22, p 9192-9196.

63. Olszak T, Neves JF, Dowds CM, Baker K, Glickman J, Davidson NO et al. (2014). Protective mucosal immunity mediated by epithelial CD1d and IL-10. *Nature*, 509: p 497-502.
64. OMS. (2014). Profils des pays pour le cancer.
URL : <http://www.who.int/cancer/country-profiles/fr/>
65. Ottini L et al. (2004). MRE11 expression is impaired in gastric cancer with microsatellite instability. *Carcinogenesis*, 25, p 2337-2343.
66. Palomba G, Doneddu V, Cossu A, Paliogiannis P, Manca A, Casula M, et al. (2016). Prognostic impact of KRAS, NRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal carcinomas: a population-based study. *J Transl Med*, 14, p 292.
67. Parham P. (2014). Le système immunitaire. Groupe de Boeck. France. P 361.
68. Plazzer, J. P. et al. (2013). The InSiGHT database: Utilizing 100 years of insights into Lynch Syndrome. *Fam. Cancer* 12, p 175–180.
69. Peltomäki P. (2005). Lynch syndrome Genes. *Am. Cancer* 4, p 227–232.
70. Puissieux A, (2002). Analyse génotypique et immunohistochimique dans les cancers humains: confrontation or complementary. *vAnn Pathol*, 22, p 93-95.
71. Rammeh S, Sabbegh ZN, Arfaoui A, Ayouni K, Blél A, Farah F, Zidi Y, Najjar T, Kourda N, Said Y, Zermani R. (2014). Analyse immunohistochimique des protéines de réparation de l'ADN dans les adénomes colorectaux. *La Tunisie Médicale*, 92, p.
72. Samowitz WS et al. (2001). Inverse relationship between microsatellite instability and K-ras and p53 gene alterations in colon cancer. *Am. J. Pathol.* 158, p 1517-1524.
73. Sedkaoui C. (2015). Chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cancer colorectal métastatique. Thèse de Doctorat en sciences Médicales. Université Mouloud Mammeride Tizi-Ouzou. Algérie. p 246.
74. Sekal M. (2012). Evaluation anatomopathologique et biopathologique des cancers colorectaux au CHU Hassan II de Fes. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc. P 75.
75. Suraweera N et al. (2001). Conservation of mononucleotide repeats within 3' and 5' untranslated regions and their instability in MSI-H colorectal cancer. *Oncogene*, 20, 7472-7477.
76. Taniere P, Joly MO. (2002). Pathologie moléculaire du cancer du côlon : vers la mise en place de stratégies diagnostiques intégrées. *Ann Pathol*, 22, p 253-341.
77. Thirunavukarasu Pet al. (2010). Medullary carcinoma of the large intestine: a population based analysis. *Int. J. Oncol.* 37, p 901-907.
78. Traore M-CN., (2007). Cancer colorectal : aspects cliniques et thérapeutiques dans le service de chirurgie a du C.H.U. du Point G. Thèse de Doctorat en Médecine. Université de Bamako. Mali. P 130.
79. Umar A et al. (2004). Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J. Natl. Cancer Inst.* 96, p 261–268.
80. Van Grieken et al. (2013). KRAS and BRAF mutations are rare and related to DNA mismatch repair deficiency in gastric cancer from the East and the West: results from a large international multicentre study. *Br J Cancer.* 108, p 1495-1501.

- 81.** Vilar E, Stephen B. (2010). Microsatellite instability in colorectal cancer –the stable evidence. *Nat Rev Clin Oncol*, 7, p 153-162.
- 82.** Waldner MJ, Foersch S, Neurath MF, (2012). Interleukin-6–a key regulator of colorectal colorectal cancer development. *Int J Biol Sci*; 8: p 1248–1253.
- 83.** William M. Grady L. (2004). Instabilité génomique et cancer du côlon cancer metastasis. *Rev.* (1-2), p 11-27.
- 84.** William M., Grady, John MC. (2008) .Genomic and Epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis *Gastroentérologie* 135(4) .p 1070 -1099.
- 85.** Yamamoto H, Imai, K. (2015). Microsatellite instability: an update. *Archives of Toxicology*, 89, p 899-921.
- 86.** Yoon K et al. (2013). Comprehensive genome- and transcriptome-wide analyses of mutations associated with microsatellite instability in Korean gastric cancers. *Genome Res*, 23, p 1109-1117.

ANNEXES

ANNEXE 1: Etude descriptive (Données en tableaux)

Tableau 2 : (tableau récapitulatif de nos patients)

	Cas 1	Cas 2	Cas 3
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	30 ans	32 ans	35 ans
Siege	Résection colique	Colon transverse	Colectomie totale
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Adénocarcinome mucineux.
Taille tumorale	(8×7×3) cm	(11×10×7) cm	(18×9.5×6) cm
Grade	Bien différencié	Bien différencié	Bien différencié
Stade	pT3N0Mx (3)	pT4N0MxR0	pT4bN1a
Statut ganglionnaire	0	0	1
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6)	MSI (perte d'expression MSH2 /MSH6)	MSI (H) : (positivité de MLH1/PMS2 et Négativité de MSH2/MSH6)

	Cas 4	Cas 5	Cas 6
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	35 ans	45 ans	46 ans
Siege	Hémi-colectomie gauche	Hémi-colectomie droite	Coloproctectomie partielle
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome colloïde muqueux	Adénocarcinome
Taille tumorale	(2.5×2.5) cm	(8×6) cm	(2.5×2) cm
Grade	Bien différencié	Non précis (bien différencié)	Bien différencié
Stade	pT2N1bMx (mRcRG3)	PT3N0MxR0	pT3N2bMx,V2, L1Pn1
Statut ganglionnaire	3N+/62N	0	(13N+R+/16N)
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6)	MSS	MSS (positivité de : MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)

	Cas 7	Cas 8	Cas 9
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	47 ans	50 ans	55 ans
Siege	Hémi-colectomie droite	colectomie	Sigmoïde
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome colique gauche	Adénocarcinome
Taille tumorale	(8×4.2) cm	(5.5×3) cm	(4.5×4) cm
Grade	Moyennement différencié	Bien différencié	Bien différencié
Stade	pT3N0v0L0pn0R0	pT3N0M1	pT3N1b
Statut ganglionnaire	(0N+/29N)	0	2 à 3
Extinction des protéines MMR	MSS (pas d'extinction)	MSS	MSS (positivité de : MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 10	Cas 11	Cas 12
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	59 ans	64 ans	66 ans
Siege	Hémi-colectomie droite	Hémi-colectomie droite	Hémi-colectomie
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome colloïde muqueux	Adénocarcinome
Taille tumorale	(5.5×5×3.5) cm	4 cm	(5×3.5) cm
Grade	Bien différencié	Bien différencié	Bien différencié
Stade	pT3N2Mx	pT3N0Mx	pT3N0MxV0L0Pn0R0
Statut ganglionnaire	4	0	0
Extinction des protéines MMR	MSS (pas d'extinction des microsatellites).	MSS (absence d'instabilité microsatellites).	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2).

	Cas 13	Cas 14	Cas 15
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	70 ans	72 ans	74 ans
Siege	Sigmoïde	Sigmoïde	Recto-sigmoïde
Type histologique	Carcinome mucineux	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	(8×6) cm	(5×4×1) cm	(2.5×3.5) cm
Grade	bien différencié	Bien différencié	Bien à moyennement différencié
Stade	pT3N0Mx	pT3N0Mx	pT3N2bM1c (stade D)
Statut ganglionnaire	0	0	21
Extinction des protéines MMR	MSI (PMS2 négatif).	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6).	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 16	Cas 17	Cas 18
Sexe	Homme	Homme	Homme
Age	84 ans	Adulte	Adulte
Siege	Résection antérieur partielle	Sigmoïde	Résection colique
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Carcinome colloïde muqueux
Taille tumorale	(3.5×2) cm	(7×5.5) cm	(4×1.5×1.5) cm
Grade	Bien différencié	Moyennement à bien différencié	Bien différencié
Stade	pT3N0Mx	pT3N0	pT3NxMx
Statut ganglionnaire	0	0	(11N-/11N)
Extinction des protéines MMR	MSS (absence d'instabilité des microsatellites).	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2).	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 19	Cas 20	Cas 21
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	39 ans	40 ans	41 ans
Siege	Sigmoïde	Hémi-colectomie droite	Hémi-colectomie droite
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome mucineux	Adénocarcinome médullaire
Taille tumorale	(5×3.5) cm	(11×26.5) cm	(8×7) cm
Grade	Bien différencié	Bien différencié	Peu différencié
Stade	pT3N0Mx	pT3N1bMx	pT4N2bM1a
Statut ganglionnaire	(0N+/20N)	2 à 3	9
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6)	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6 et PMS2)

	Cas 22	Cas 23	Cas 24
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	42 ans	42 ans	43 ans
Siege	Hémi-colectomie droite	Hémi-colectomie droite	Hémi-colectomie droite
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Adénocarcinome mucineux
Taille tumorale	(3.5×2) cm	(6×6) cm	(5×5) cm
Grade	Peu différencié	Bien différencié	Bien différencié
Stade	pT4bN1b	pT4bN0Mx	pT3N2aM1c
Statut ganglionnaire	3 (3N+/36N)	0	4 à 6
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de : MLH1, MSH2 et MSH6 et PMS2)	MSI (positivité de MLH1, négativité de MSH2 et MSH6)

	Cas 25	Cas 26	Cas 27
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	48 ans	49 ans	56 ans
Siege	Abdomino périnéale (bas de rectum)	Colectomie gauche	Recto sigmoïde
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	5×3.5 cm	10 cm	(5×4.2×0.8) cm
Grade	Moyennement différencié	Bien a moyennement différencié	Bien différencié
Stade	pTN0 (mRcRG3)	pT4N0(V0L0Pn0R0)	pT3N0Mx
Statut ganglionnaire	0	0	0
Extinction des protéines MMR	MSI (positivité de MLH1, MSH2, PMS2 et négativité de MSH6)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 28	Cas 29	Cas 30
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	57 ans	57 ans	58 ans
Siege	Colectomie totale	Recto sigmoïde	Hémi-colectomie droit
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	(5) cm	(3×3) cm	(20×9)cm
Grade	Moyennement différencié	Bien différencié	Bien a moyennement différencié
Stade	pT3N0	pT1N0Mx	pT3N1bMx
Statut ganglionnaire	0	0	2 à 3
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 31	Cas 32	Cas 33
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	61 ans	66 ans	66 ans
Siege	Sigmoïde	Portion colique	Sigmoïdectomie
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	(5.5×4×2) cm	(4.5×5×3.3) cm	(6×4) cm
Grade	Moyennement à bien différencié	Bien différencié	Bien différencié
Stade	PT3N0	pT3N0Mx	pT3N0Mx
Statut ganglionnaire	(13N-/13N)	(0N+/24N)	0
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 34	Cas 35	Cas 36
Sexe	Femme	Femme	Femme
Age	69 ans	80 ans	88 ans
Siege	Résection colique l'angle droit	Colon gauche	Sigmoïde
Type histologique	Adénocarcinome mucineux	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	(4) cm	(7×7.3×3) cm	(5×2) cm
Grade	Bien différencié	Bien différencié	Moyennement différencié
Stade	pT3N0Mx	pT3N0V0I1P1d	PT3N0
Statut ganglionnaire	(0N-/12N)	(9N-/9N)	0
Extinction des protéines MMR	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)	MSS (positivité de MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2)

	Cas 37	Cas 38
Sexe	Femme	Femme
Age	62	Adulte
Siege	Hémi-colectomie droit	Hémi-colectomie
Type histologique	Adénocarcinome	Adénocarcinome
Taille tumorale	(5.5×5) cm	(8×7) cm
Grade	Moyennement différencié	Bien différencié
Stade	PT3N0Mx	pT4N2aM1c
Statut ganglionnaire	0	4 à 6
Extinction des protéines MMR	MSI (négativité de PMS2)	MSS

ANNEXE 2 : Tableau 3 : Gènes impliqués dans l'ADN MMR :

Gène MMR	Localisation chromosomique	Partenaires MMR	Fidélité MMR	Syndrome de lynch mutation germinale(%)
<i>hMSH2</i>	2p15	hMSH6, hMSH3	Perte complète	31-45
<i>hMSH6</i>	2p15	hMSH2	Paires de bases simples, insertion unique / délétion boucles	5-8
<i>hMSH3</i>	5q11-q13	hMSH2	Insertion plus grande /délétion boucles	0
<i>hMLH1</i>	3p21	hPMS2 (principalement), hMLH3, hPMS1	Perte complète	32-49
<i>hPMS1</i>	2p32	hMLH1	Pas clair	0
<i>hPMS2</i>	7p22	hMLH1	Perte complète ?	0-2
<i>hMLH3</i>	7p22	hMLH1	Pas clair	0

Certains gènes ciblés dans les cancers colorectaux à déficit en MMR (ou MSI) et leur fréquence de mutation rapportée :

gène	Chromosome	Tract microsatellite	Cancer colorectal MSI Fréquence de mutation (%)	Fonction normale
<i>TGFR2</i>	3p22	A10	90	Signalisation TGF- β
<i>ACVR2</i>	2q22-23	A8 and A8	86	Signalisation Activation
<i>IGF1R</i>	6q26-27	G8	10	Facteur de croissance analogue à l'insuline et TGF- β
<i>BAX</i>	19q13.3-q13.4	G8	50	Apoptose
<i>hMSH3</i>	5q11-q12	A8	50	ADN MMR
<i>hMSH6</i>	2p16	C8	33	ADN MMR

<i>E2F-4</i>	16q21-q22	(CAG) 13	65	Contrôle du cycle cellulaire
<i>PTEN</i>	10q23.3	A6 et A6	19-34	Régulation de la croissance
<i>MBD4(MED1)</i>	3q21-q22	A10	40	Réparation de l'ADN et liaison à l'ADN méthylé
<i>TCF4</i>	10q25.3	A9	39	Régulation de la croissance
<i>CHK1</i>	11q22-q23	A9	10	G2 point de contrôle du cycle cellulaire
<i>STK11 (LKB1)</i>	19p13.3	C6	<2	Transduction du signal
<i>BLM</i>	15q26.1	A9	<18	Stabilité chromosomique / réparation de l'ADN ; hélicase
<i>Caspase-5 (ICErel-III)</i>	11q22.2-22.3	A10	62	Apoptose
<i>CDX2</i>	13q12.3	C6 et G6	<2	Protéine homebox
<i>TBR</i>	6q27	(CAG) 19 et (CAG) 16	83	Protéine de liaison TATA
<i>RIZ</i>	1p36	A8 et A9	26	Interagit avec RB
<i>hRAD50</i>	5q31	A9 et A8	31	Réparation de l'ADN
<i>SEC63</i>	6q21	A10	49	Protéine chaperon ER
<i>AIM2</i>	1q22	A10	48	Protéine inductible par l'interféron

ANNEXE 3 :

Classification PTNM des carcinomes colorectaux (AJCC, 7^{ème} 2^e édition 2009)

pT0 : pas de tumeur

p Tis : carcinome in situ (intra-épithélial ou intra-muqueux infiltrant le chorion)

p T1 : Tumeur infiltrant la sous-muqueuse

p T2 : Tumeur infiltrant la musculuse

pT3 : Tumeur infiltrant la sous-séreuse ou le tissu péri-rectal non péri-rectale non recouvert de péritoine.

pT4 : Tumeur infiltrant le péritoine viscéral (T4a), ou envahissement/adhérent des organes ou structures de voisinage (T4b).

¹Pour le rectum, une atteinte du sphincter externe est un T3 alors que celle du muscle élévateur de l'anus T4.

²Une atteinte péritonéale viscérale est désormais définie par :

- Présence d'amas tumoraux à la surface séreuse avec une réaction inflammatoire, une hyperplasie mésothéliale, une ulcération /érosion
- Cellules tumorales sur la surface séreuse avec ulcération sous-jacente du péritoine viscéral

pN0 : Absence de métastase ganglionnaire

pN1a : 1 seul ganglion lymphatique régional métastatique

pN1b : 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques

pN1c : dépôts tumoraux, dans la sous-séreuse non péritonéalisée sans ganglions lymphatiques régionaux métastatiques.

pN2a : 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques

pN2b : ≥ 7 ganglion lymphatiques régionaux métastatiques

¹ Une micrométastase (N1 mic ou M1) est définie par une taille > 0.2 mm et ≤ 2 mm (préciser leur nombre)

² Des amas tumoraux < 0.2 mm découverts par immunohistochimie sont classés N0 (un amas dans un ganglion, plusieurs amas dans un même ganglion, ou plusieurs amas dans plusieurs amas dans plusieurs ganglions) (préciser leur nombre)

pM0 : absence de métastase à distance

pM1a : Métastases dan un seul organe

pM1b : Métastases dans plus d'un organes/site ou atteinte péritonéale.

Tout nodule tumoral identifié dans le tissu adipeux péri-tumoral sans structure ganglionnaire associée, quelle que soit sa taille, est à considérer comme des ganglions lymphatiques et sont ainsi classés pN1c (préciser leur nombre)

Stades groupés Correspondance Astler-Coller					
Stade 0	Tis	N0	M0	Stade A	
Stade 1	T1	N0	M0		
	T2	N0	M0		Stade B1
Stade IIA	T3	N0	M0		Stade B2
Stade IIB	T4a	N0	M0		Stade B3
Stade IIC	T4b	N0	M0		
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0		Stade C1 (T2), C2 (T3), C (T4)
	T1	N2a	M0		
Stade IIIB	T3, T4a	N1	M0		
	T2, T3	N2a	M0		
Stade IIIC	T1, T2	N2b	M0		
	T4a	N2a	M0		
	T3, T4a	N2b	M0		
	T4b	N1, N2	M0		
Stade IVA	tout T	tout N	M1a	Stade D	
Stade IVB	tout T	tout N	M1b		

Le compte rendu histologique précisera s'il existe des embolies carcinomateuses endovasculaires (V), endolymphatiques (L) des engainements péri-nerveux (Pn), la présence d'un infiltrat inflammatoire lymphocytaire intra-tumoral.

On précisera aussi s'il existe un envahissement des berges d'exérèse proximale, distale ou circonférentielle.

L'évaluation de la berge d'exérèse circonférentielle est particulièrement importante dans les carcinomes du rectum pour lesquels elle représente un facteur pronostique de récurrence locale.

C'est un facteur d'évaluation de la qualité de l'exérèse mésorectale. Une berge

circonférentielle envahie est définie par la présence de carcinome à moins de 2 mm de la berge chirurgicale.

MSI :

- Sujet MSI-H ont un meilleur pronostic et une meilleure réponse au 5-FU
- Cette recherche est recommandée (pour les sujets de moins de 50 ans et les stades II) mais n'est pas encore un standard
- Recherche de l'expression de MLH1, MSH2, MSH6, PMS23.
- Les aspects microscopiques suivants sont suggestifs d'un statut MSI-H :
 - Stroma tumoral riche en lymphocytes
 - Réaction lymphoïde Crohn-like
 - Différenciation mucineuse ou à cellules indépendantes
 - Aspect médullaire
 - Atteinte colique droite
 - Haut grade
 - Aspect de nécrose tumorale basophile

KRAS :

- Sujets ayant une mutation de KRAS (codon 12 ou 13) confère une absence de réponse au traitement anti-EGFR et donc ne bénéficieront pas d'un traitement anti-EGFR
- Recherche indiquée pour les sujets stade IV

BRAF :

- Mutation dans l'exon 15 Val600Glu chez des sujets sans mutation de KRAS
- Sujets mutés ne répondent pas aux anti-EGFR, et ont un moins bon pronostic que les sujets sans mutation

Annexe 4 : Techniques standards d'anatomie pathologique :

- Matériel non biologique :



Figure 42 : Matériel non biologique pour examen macroscopique et inclusion.

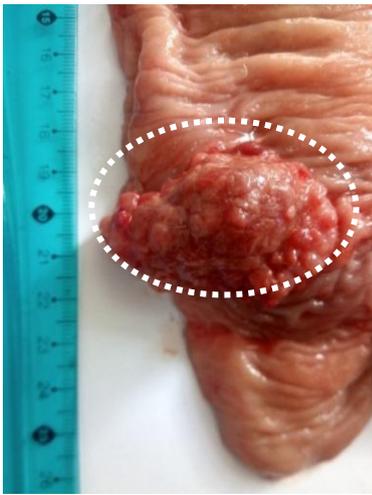


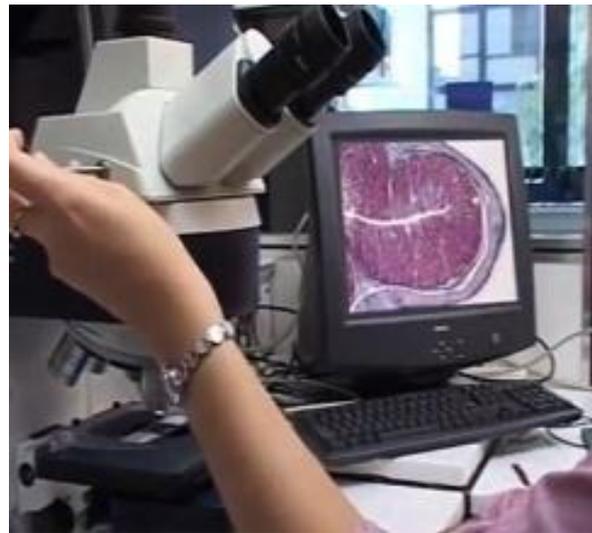
Figure 43 : Matériel non biologique pour la coupe.



Figure 44 : Matériel non biologique pour déshydratation, inclusion, étalement et lecture.

- Etapes :





Annexe 5 : Données numériques des résultats

Tableau 4: Répartition des cas en fonction de l'âge.

Tranche d'âge	Nombre de cas	Pourcentage %
≤50	20	52.6
>50	18	47.4

Tableau 5: Répartition des patients par sexe

Sexe	Nombre de cas	Pourcentage %
Homme	18	47
Femme	20	53

Tableau 6 : Répartition des malades selon la différenciation histologique.

	Bien différencié	Moyennement différencié	Peu différencié
Nombre de cas	26	10	02
Pourcentage %	68.4	26.3	5.3

Tableau 7: Répartition selon la profondeur pariétale d'infiltration (T) du cancer colorectal.

p T	Tx	T1	T2	T3	T4
Nombre de cas	01	01	01	28	07
pourcentage %	2.6	2.6	2.6	73.6	18.4

Tableau 8 : Répartition selon le stade p N

p N	N0	N1a	N1b	N2a	N2b	Nx
Nombre de cas	25	01	05	03	03	01
pourcentage %	65.8	2.6	13.2	7.9	7.9	2.6

Tableau 9 : Répartition des patients selon la protéine MMR éteinte

Extinction des protéines MMR à l'IHC	MSH2-MSH6	MSH6	PMS2
Nombre de cas	03	01	02

Tableau 10 : Comparaison selon la taille tumorale

	Nombre de cas	La taille tumorale moyenne (cm)
≤ 50	19	8
> 50	19	5.5

Tableau 11 : Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique

	ADK bien ou moyennement différencié (bas grade)	Pourcentage %	Peu différencié (haut grade)	Pourcentage %
≤ 50	17	44.7	02	100
> 50	19	52.7	00	00

Tableau 12 : Répartition des patients des deux groupes selon le stade pT du CCR

	Tx	T1	T2	T3	T4
≤ 50	01	00	01	10	06
Pourcentage %	5.6	00	5.6	56	33.3
> 50	00	01	00	18	01
Pourcentage %	00	5	00	90	5

Tableau 13 : Répartition des patients des deux groupes selon le statut ganglionnaire (N) du CCR

	N0	N1a	N1b	N2a	N2b	Nx
≤ 50	09	02	03	02	02	01
Pourcentage %	47.4	10.5	15.8	10.5	10.5	5.3
> 50	15	00	02	01	01	00
Pourcentage %	78.9	00	10.5	5.3	5.3	00

Tableau 14 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon l'âge

	MSS	Pourcentage %	MSI Probable	Pourcentage %
≤ 50	15	46.9	04	66.7
> 50	17	53.1	02	33.3

Tableau 15 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le sexe

	MSS	Pourcentage%	MSI Probable	Pourcentage%
Homme	15	46.9	03	50
Femme	17	53.1	03	50

Tableau 16 : Comparaison selon la taille tumorale

	Nombre de cas	La taille tumorale moyenne (cm)
MSS	32	7
MSI probable	06	9

Tableau 17 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal

	MSS	Pourcentage %	MSI Probable	Pourcentage %
ADK bien ou moyennement différencié (Bas grade)	30	93.8	06	100
ADK peu différencié (Haut grade)	02	6.3	00	00

Tableau 18: Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le degré de différenciation du carcinome colorectal

	MSS	Pourcentage %	MSI Probable	Pourcentage %
Tx	01	3.1	00	00
T1	01	3.1	00	00
T2	01	3.1	00	00
T3	25	78.1	03	50
T4	04	12.5	03	50

Tableau 19 : Répartition des patients des deux groupes phénotypiques selon le statut ganglionnaire locorégional

	MSS	Pourcentage%	MSI Probable	Pourcentage%
N0	21	65.6	04	66.7
N1a	00	00	01	16.7
N1b	05	15.6	00	00
N2a	02	6.3	01	16.7
N2b	03	9.4	00	00
Nx	01	3.1	00	00