



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



Mémoire

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

Option

Biologie Cellulaire et Moléculaire

Thème

**Détermination de l'instabilité des microsatellites
dans le cancer colorectal par immunohistochimie**

Présenté par *Bouchoul Merwa*
Guessoum Maroua

Devant le Jury :

<i>Mme. SAADI L</i>	<i>MCA</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Président (e)</i>
<i>Mme. AMOKRANE A</i>	<i>MAA</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examineur (ice)</i>
<i>Mme. MOKRANE A</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Promoteur (ice)</i>
<i>Mme. CHILA D</i>	<i>MC</i>	<i>CHU, Douera</i>	<i>Co-Promoteur (ice)</i>

Session 2019 / 2020

Remerciements

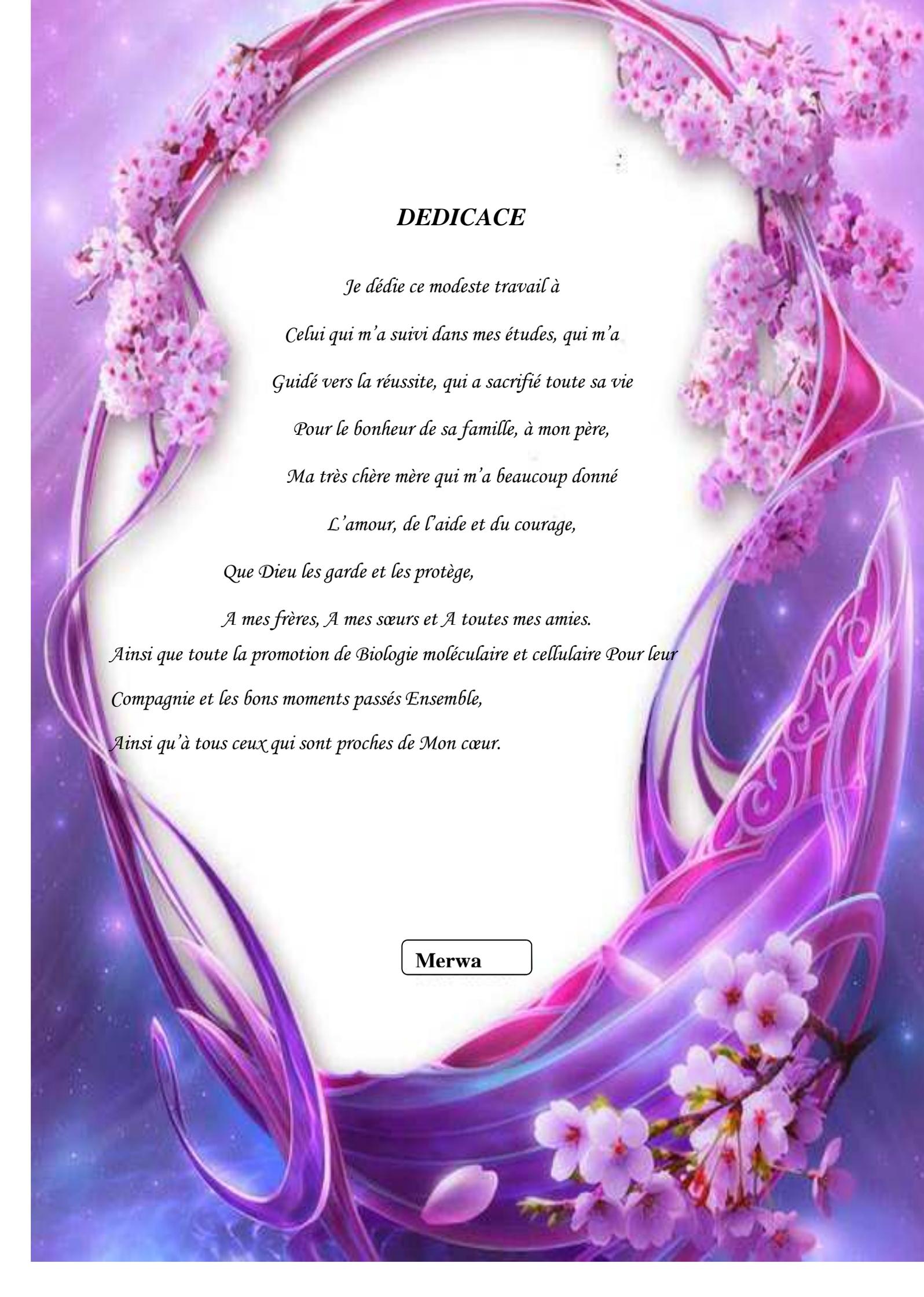
Tout d'abord, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné santé et volonté pour terminer ce travail.

Nos sincères remerciements à notre maîtresse et présidente de mémoire Dr SAADI. L pour son aide, sa générosité et son attention, ainsi que le partage de ses connaissances et son expérience scientifique durant le long de notre parcours.

Nous remercions Dr Mokrane A, pour avoir dirigé avec une disponibilité permanente et pour tous les efforts qu'elle a consentis tout au long de l'élaboration de ce modeste travail. Ses encouragements, ses précieux conseils, sa gentillesse et la confiance qu'elle nous a toujours témoignée nous ont été d'une très grande utilité. Qu'elle trouve ici l'expression de profond respect.

Nous exprimons nos sincères remerciements à Dr Amokrane A , notre profonde gratitude et notre respect pour nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.

En fin, nos remerciements vont à tou(te)s les enseignant(e)s qui ont contribué à notre formation durant les 5 ans.



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à

*Celui qui m'a suivi dans mes études, qui m'a
Guidé vers la réussite, qui a sacrifié toute sa vie*

Pour le bonheur de sa famille, à mon père,

Ma très chère mère qui m'a beaucoup donné

L'amour, de l'aide et du courage,

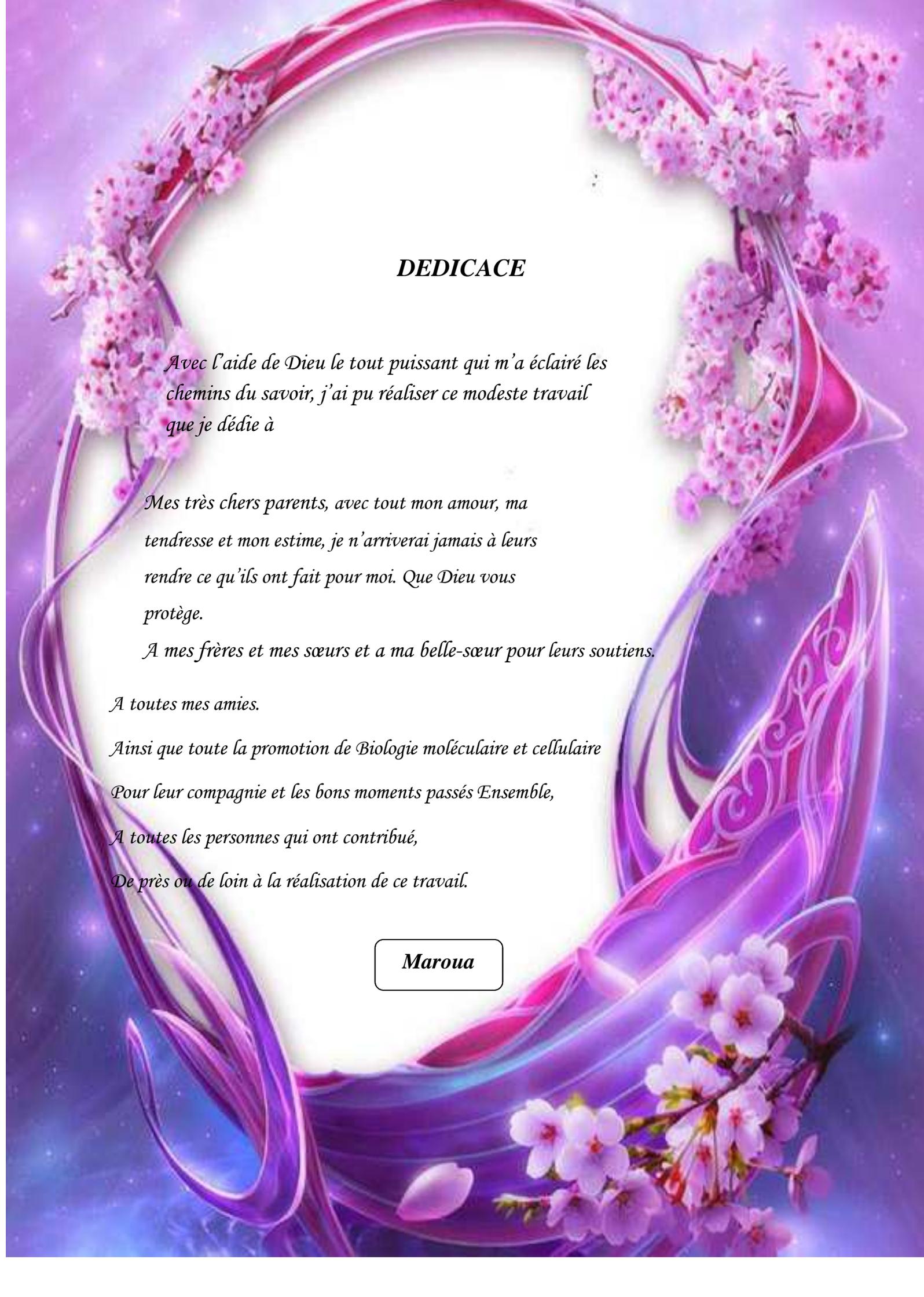
Que Dieu les garde et les protège,

À mes frères, À mes sœurs et À toutes mes amies.

*Ainsi que toute la promotion de Biologie moléculaire et cellulaire Pour leur
Compagnie et les bons moments passés Ensemble,*

Ainsi qu'à tous ceux qui sont proches de Mon cœur.

Merwa



DEDICACE

Avec l'aide de Dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à

Mes très chers parents, avec tout mon amour, ma tendresse et mon estime, je n'arriverai jamais à leurs rendre ce qu'ils ont fait pour moi. Que Dieu vous protège.

A mes frères et mes sœurs et à ma belle-sœur pour leurs soutiens.

A toutes mes amies.

Ainsi que toute la promotion de Biologie moléculaire et cellulaire

Pour leur compagnie et les bons moments passés Ensemble,

A toutes les personnes qui ont contribué,

De près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Maroua

Résumé

Le cancer colorectal (CCR) est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité liées au cancer dans le monde. Le cancer colorectal est une tumeur maligne qui se développe à partir de la paroi intestinale, conduisant à la transformation des cellules épithéliales coliques normales en cellules adénomateuses et enfin en carcinome glandulaire. Les mutations dans les gènes de réparation de la non-concordance de l'ADN peuvent conduire à un phénotype d'instabilité des microsatellites de l'ADN (MSI). Le MSI représente un marqueur moléculaire du cancer colorectal sans polypose (HNPCC ou syndrome de Lynch) ;et il correspond à environ 15% des CCR.

Nous avons pour objectif principal : l'évaluation immunohistochimique des anticorps anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2, et la recherche d'une perte d'expression des protéines de système MMR en faveur d'un phénotype MSI.

Il s'agissait, initialement d'une étude prospective sur une période allant du 02/02/2020 au 20/03/2020 au niveau du laboratoire d'Anatomie Pathologique du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Djilali BOUNAAMA-Douera-Alger, portant sur des échantillons sélectionnés pour la recherche des protéines hMLH1, hMSH2, hMSH6 et hPMS2 par la technique d'immunohistochimie.

Nos résultats ont été portés sur les données de littérature dans laquelle nous avons recherché l'instabilité des microsatellites chez les patients atteints du cancer colorectal, qui sont considérés comme des marqueurs moléculaire. Les résultats de l'étude de Tbibel et *al.*, 2014 relèvent que le sex-ratio égale à 1.99 avec une prédominance masculine, et l'âge des patients est compris entre 20 et 87 ans avec une moyenne d'âge de 56 ans. Une autre étude de Molaei et *al.*, 2010 sur 343 patients montre une expression nucléaire normale de MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2(MSS) chez 295 cas (86%), et 48 (14%) ont montré des schémas de coloration anormaux du MMR (MSI).

Le MSI est un marqueur diagnostique et pronostique du CCR, et un marqueur prédictif de la réponse à la chimiothérapie et à l'immunothérapie ; donc la reconnaissance du phénotype MSI par l'absence de l'expression des protéines du système MMR, est nécessaire pour établir plus de modalités adéquates du traitement,

Mots clés: cancer colorectal, immunohistochimie, MSI, syndrome de lynch, système MMR.

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of cancer-related morbidity and mortality worldwide. CRC is a malignant tumor that develops from the intestinal wall, leading to the transformation of normal colonic epithelial cells into adenomatous cells and ultimately into glandular carcinoma. Mutations in DNA mismatch repair genes, leading to DNA microsatellite instability (MSI) phenotype. MSI represents a molecular characteristic of nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC or Lynch syndrome); moreover, it corresponds to about 15% of sporadic colorectal cancer.

Our main objectives were: the immunohistochemical evaluation of anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 and anti-PMS2 antibodies, and the search for a loss of expression of the proteins of the MMR system in favor of an MSI phenotype.

It was initially a prospective study over a period from 02/02/2020 to 20/03/2020 at the level of the Pathological Anatomy laboratory of the University Hospital Center (CHU) Djilali BOUNAAMA-Douera-Algiers, involving samples selected for the detection of the proteins hMLH1, hMSH2, hMSH6 and hPMS2 by the technique of immunohistochemistry.

Our results were based on data from the literature in which we looked for the instability of microsatellites in patients with colorectal cancer, which are considered molecular markers. The results of the study of Tbibel and *al.*, 2014 show that the sex ratio equal to 1.99 with a male predominance, and the age of the patients is between 20 and 87 years with an average age of 56 years. Another study of Molaei and *al.*, 2010 on 343 patients showed normal nuclear expression of MLH1, MSH2, MSH6, and PMS2 (MSS) in 295 cases (86%), and 48 (14%) showed abnormal MMR staining patterns (MSI).

MSI is a diagnostic and prognostic marker of CRC, and a predictive marker of response to chemotherapy and immunotherapy; therefore recognition of the MSI phenotype by the absence of the expression of MMR proteins system, is necessary to establish more suitable modalities of treatment.

Keywords: colorectal cancer, immunohistochemistry, MSI, lynch syndrome, MMR system.

ملخص

يعد سرطان القولون والمستقيم أحد الأسباب الرئيسية للأمراض والوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم. سرطان القولون والمستقيم هو ورم خبيث يتطور من جدار الأمعاء، مما يؤدي إلى تحول الخلايا الظهارية القولونية الطبيعية إلى خلايا غدية وفي النهاية إلى سرطان غدي. الطفرات في جينات إصلاح عدم تطابق الحمض النووي، مما يؤدي إلى النمط الظاهري لعدم استقرار الحمض النووي (MSI). يمثل MSI خاصية جزيئية لسرطان القولون والمستقيم (متلازمة لينش HNPCC)، علاوة على ذلك، فهو يمثل حوالي 15% من سرطانات القولون والمستقيم.

أهدافنا الرئيسية هي: التقييم الكيميائي المناعي للأجسام المضادة ل anti-MLH1 و anti-MSH2 و anti-MSH6 و anti-PMS2. والبحث عن فقدان التعبير عن بروتينات نظام MMR لصالح النمط الظاهري MSI.

كانت في البداية دراسة استطلاعية على مدى فترة من 02/02/2020 إلى 20/03/2020 على مستوى مخبر التشريح المرضي في المستشفى الجامعي (CHU) جيلالي بونعامة-الدويرة-الجزائر العاصمة، تشمل العينات المختارة للكشف عن البروتينات h MLH1 و h MSH2 و h MSH6 و h PMS2 بواسطة تقنية الكيمياء الهيستولوجية المناعية.

استندت نتائجنا إلى بيانات بحثنا فيها عن عدم استقرار السوائل المكروية عند مرضى سرطان القولون والمستقيم، والتي تعتبر علامات جزيئية. وأظهرت نتائج طبيبل و الاخرين، 2014 أن نسبة الجنس تساوي 1.99 مع غلبة الذكور، ويتراوح عمر المرضى بين 20 و 87 سنة مع متوسط عمر 56 سنة. أظهرت دراسة أخرى مولاي و الاخرين، 2010 أجريت على 343 مريضا تعبيراً نووياً طبيعياً ل MLH1 و MSH2 و MSH6 و PMS2 في 295 حالة (86%)، و أظهرت 48 (14%) أنماط تلوخيخ غير طبيعية ل MMR(MSI).

MSI هي علامة تشخيصية و انذارية ل CRC، و علامة تنبؤيه للاستجابة للعلاج الكيميائي و العلاج المناعي. لذلك فان التعرف على النمط الظاهري ل MSI من خلال غياب التعبير عن بروتينات نظام MMR، ضروري لإنشاء طرق أكثر ملائمة.

الكلمات المفتاحية: سرطان القولون والمستقيم، كيمياء المناعة، MSI، متلازمة لينش، نظام MMR.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Les différents segments du colon	03
Figure 2	Anatomie du rectum	04
Figure 3	Histologie normale de l'épithélium colique et rectale	05
Figure 4	Taux d'incidence du cancer colorectal dans le monde	07
Figure 5	Taux de mortalité par cancer colorectal dans le monde	07
Figure 6	Modèle génétique en plusieurs étapes de la cancérogenèse colorectale	10
Figure 7	Le système de réparation des mésappariements	16
Figure 8	Altérations épigénétiques du cancer colorectal	17
Figure 9	Adénocarcinome colique avec conservation de l'expression des protéines du système MMR en immunohistochimie (hMLH1, hMSH2, hMSH6 et PMS2)	19
Figure 10	Adénocarcinome colique avec perte d'expression immunohistochimique des protéines hMLH1 et PMS2	19
Figure 11	Les voies moléculaires principales conduisant à l'activation de divers facteurs de transcription qui ont ensuite un impact sur les réponses cellulaires	20
Figure 12	Répartition des patients selon le sexe	29
Figure 13	Répartition des patients selon les tranches d'âge et sexe	30
Figure 14	Représentation graphique du degré de différenciation de l'adénocarcinome colique	31
Figure 15	Répartition des patients selon la localisation de l'adénocarcinome	31
Figure 16	Répartition des patients selon le stade de la tumeur	32
Figure 17	Une micrographie qui représente coloration immunohistochimique normale MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2	33

Figure 18	Une micrographie qui représente une coloration anormale pour MLH1, MSH2, MSH6 etPMS2	33
------------------	--	----

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Classification TNM des carcinomes colorectaux	Annexe 01

Liste des abréviations

- APC:** Adenomatous Polyposis Coli
- BAX:** Bcl2 -Associated X protein
- CIMP:** CpG Island Methylator Phenotype
- CIN:** Chromosomal INstability
- CMMRD:** Constitutional MisMatch Repair Deficiency
- EGF:** Epidermal Growth Factor
- FAP:** Familial Adenomatous Polyposis
- FCA:** Foyer de Cryptes Aberrantes
- GDP:** Guanosine -Di - Phosphate
- GTP:** Guanosine – Tri – Phosphate
- h MLH1:** mut L Homologue 1
- h MSH2:** mut S Homologue 2
- h MSH6:** mut S Homologue 6
- h PMS2:** Post-Meiotic Segregation increased 2
- HNPCC:** Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer
- KRAS:** Kirsten Rat Sarcoma
- MMR:** MisMutchRepair
- MSI:** MicroSatellite Instability
- MSS:** MicroSatellite Stability
- PI3CA:** PhosphoInositide 3 kinase Cancer Advance
- TGF:** Transforming Growth Factor
- TNM:** Tumor Nodes Metastases
- TP53:** Tumor Protein 53

Sommaire

INTRODUCTION	01
CHAPITRE I: RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1. Rappels anatomiques sur le colon et le rectum	03
I.1.1. Colon.....	03
I.1.2. Rectum.....	04
I.2. Histologie normale de la paroi colique et rectale	05
I.3. Le cancer colorectal	06
I.3.1. Données épidémiologiques.....	06
I.3.2. Etiopathogénie.....	08
I.3.3. Oncogenèse.....	09
I.3.4. Aspect macroscopique.....	11
I.3.5. Types histologiques et classification TNM.....	11
I.3.6. Facteurs pronostiques.....	13
I.3.7. Diagnostic du cancer colorectal.....	14
I.4. Les mécanismes moléculaires de carcinogénèse dans le cancer colorectal	15
I.4.1. Le phénotype CIN.....	15
I.4.2. Le phénotype MSI.....	15
I.4.3. Le phénotype CIMP.....	17
I.5. Les marqueurs moléculaires dans les cancers colorectaux	18
I.5.1. La détermination du statut MMR.....	18
I.5.2. Statut RAS et traitement anti-EGFR.....	20
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. MATERIEL	23
II.1.1. Matériel biologiques.....	23
II.1.2. Matériel non biologiques.....	23
II.2. METHODES	24
II.2.1. Diagnostic par technique histologique.....	24
II.2.2. Technique immunohistochimique.....	26
CHAPITRE III : RESULTATS	
III.1. Les paramètres cliniques	29

III.2. Les paramètres histopronostiques.....	30
III.3. Immunohistochimie	33
IV. DISCUSSION DES RESULTATS.....	35
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

Introduction

Le cancer colorectal (CCR) représente le troisième cancer le plus répandu dans le monde chez les hommes et les femmes, et la deuxième cause de décès liée au cancer (OMS, 2018).

Les cancers coliques représentent 65% des cancers colorectaux avec une localisation préférentielle au niveau du sigmoïde, les cancers rectaux représentent 35% des cancers colorectaux (Bruneau et *al.*, 2017). L'âge médian est de 66 ans (Dreyer et *al.*, 2016). Environ 90% des cas de cancer colorectal sont sporadiques sans antécédents familiaux ni prédisposition génétique, tandis que dans moins de 10%, un événement génétique causal a été identifié (Bogaert et Prenen, 2014).

Le CCR résulte de l'accumulation progressive d'altérations génétiques et épigénétiques (Camilo et *al.*, 2010 ; Ewing et *al.*, 2014). Cette maladie touche les cellules qui tapissent la face interne du côlon et/ou du rectum, est une tumeur maligne qui se développe à partir de la paroi intestinale, conduisant à la transformation des cellules épithéliales normales du côlon en cellules tumorales (Dalerba, 2007; Camilo et *al.*, 2010).

De nombreuses mutations dans les gènes de réparation de la non-concordance de l'ADN, conduisent à un phénotype d'instabilité des microsatellites de l'ADN (MSI). Des mutations dans l'APC et d'autres gènes peuvent activer la voie Wnt, qui est impliquée dans la survenue de phénotype d'instabilité chromosomique (CIN) et l'hyperméthylation du génome global, en provoquant une désactivation des gènes suppresseurs de tumeurs, indiquée comme phénotype méthylation de l'îlot CpG (CIMP) (Mojarad et *al.*, 2013).

Le phénotype MSI correspond à environ 15% des CCR et peut être d'origine sporadique ou héréditaire (syndrome HNPCC [Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer]) (Zaanan, 2011), et ne sont métastatiques que dans 5% des cas (Bibeau, 2017).

Les cancers colorectaux MSI sporadiques sont plus fréquemment retrouvés chez les femmes, généralement à un âge plus avancé et émergent très majoritairement du colon droit (Colle et Cohen, 2018). L'instabilité des microsatellites est également causée par une déficience sporadique, ou héréditaire dans le cas de syndrome de Lynch. Cette déficience touche le système de réparation des mésappariements des bases (système MMR pour Mismatch repair) (André, 2019).

L'immunohistochimie (IHC) permet de détecter la présence d'une instabilité des microsatellites, en recherchant l'expression des protéines hMLH1, hMSH2, hMSH6 et hPMS2. Le grand avantage de l'immunohistochimie est sa faisabilité dans tous les laboratoires de pathologie, et la réalisation possible sur biopsies (Pierre, 2017).

Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressées à la recherche de l'expression des marqueurs hMLH1, hMSH2, hMSH6 et hPMS2 dans le cancer colorectal. L'étude est basée sur l'évaluation immunohistochimique du statut de l'instabilité des microsatellites dans les cancers coliques, par l'absence de l'expression des protéines du système MMR.

Notre objectif était l'évaluation immunohistochimique des anticorps anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2, et la recherche d'une perte d'expression des protéines de système MMR en faveur d'un phénotype MSI.

Notre travail comporte quatre chapitres. Dans le premier, nous rapportons des rappels bibliographiques sur le cancer colorectal, y compris les mécanismes moléculaires impliqués dans la carcinogénèse colorectale. Nous décrivons le matériel et la technique utilisée qui porte sur une étude histologique et immunohistochimique qui caractérise les molécules MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2 dans la recherche de l'instabilité microsatellites chez des patients atteints du cancer colorectal dans le deuxième chapitre. Les résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième et le quatrième chapitre. A la fin, une conclusion est présentée.

CHAPITRE I

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I- Rappels Bibliographiques

I.1- Rappel anatomique sur le colon et le rectum

I.1.1- Colon

Le gros intestin s'étend de la valve iléocaecale à l'anus. Son diamètre est supérieur à celui de l'intestin grêle (d'où le terme de gros intestin) (Delmas, 2009). Le colon joue un rôle important dans l'absorption de l'eau provenant des résidus alimentaires indigestibles ou non digérés, et l'évacuation de ceux-ci de l'organisme sous forme de fèces (Davis et Lahiri, 2015). Il entoure l'intestin grêle sur trois cotés et comprend les segments suivant: le caecum, l'appendice vermiforme, le colon, le rectum, et le canal anal (**Figure 01**). Le caecum en forme de sac est le premier segment du gros intestin. Son prolongement est l'appendice vermiforme (d'une longueur de 5 à 10 cm).

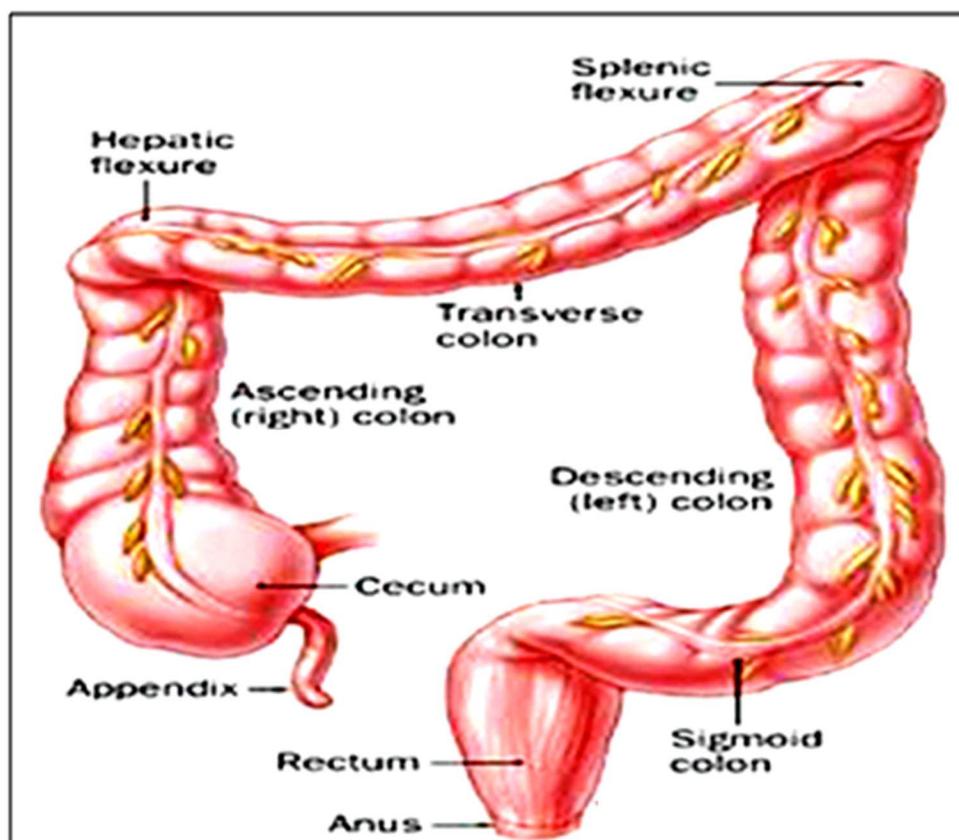


Figure 01: Les différents segments du colon (Davis et Lahiri, 2015)

Le colon comprend plusieurs portions distinctes (**Figure 01**) (Marieb, 2008):

- le colon ascendant monte du coté droit de la cavité abdominale puis décrit la courbure colique droite, ou angle colique droit, pour constituer :

- le colon transverse qui traverse la cavité abdominale horizontalement. Ensuite, le colon tourne de nouveau à la courbure colique gauche, ou angle colique gauche pour constituer;
- le colon descendant, qui descend le long du côté gauche. Il devient le colon sigmoïde (en forme de S) en arrivant dans le bassin où se trouvent également le rectum et le canal anal.

I.1.2- Rectum

Le rectum fait suite au colon sigmoïde au niveau de la vertèbre SIII, situé dans le pelvis. Dans le plan sagittal, il se poursuit par le canal anal, avec lequel il forme l'angle anorectal d'une longueur de 15 cm. Le rectum est situé au sein de la loge rectale ; l'espace cellulo-lymphatique qui entoure le rectum au sein de cette loge est nommée en chirurgie le mésorectum (**Figure 02**) (Delmas, 2009).

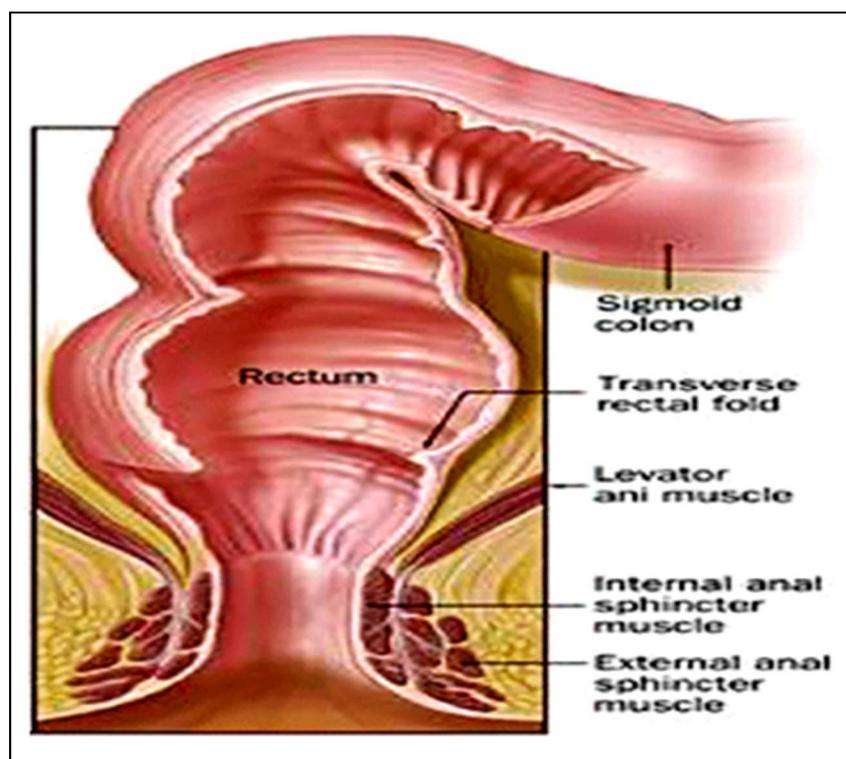


Figure 02: Anatomie du rectum (Davis et Lahiri, 2015)

I.2- Histologie normale de la paroi colique et rectale

La paroi colique et la paroi rectale sont constituées chacune de quatre couches (**Figure 03**) (Stevens et Low, 2006) :

➤ **Muqueuse** : épithélium superficiel rectiligne prismatique simple qui s'invagine pour former les glandes de Lieberkühn et composé d'entérocytes, cellules caliciformes, et cellules endocrines.

Le chorion correspond à un tissu conjonctif lâche comportant des plasmocytes, des lymphocytes, des polynucléaires neutrophiles, des polynucléaires éosinophiles et des mastocytes.

➤ **Musculaire muqueuse** : est une fine couche de cellules musculaire lisse induisant les mouvements locaux de la muqueuse.

➤ **Sous muqueuse** : formée de tissu conjonctivo-vasculaire, de vaisseaux lymphatiques, de nerfs, et de plexus de Meissner.

➤ **Musculeuse** : formée de la couche circulaire interne et de la couche longitudinale externe.

➤ **Séreuse** : tissu conjonctivo-adipeux et des vaisseaux.

➤ **Mésorectum (rectum)** : le tissu adipeux péri-rectal au-delà de la musculeuse.

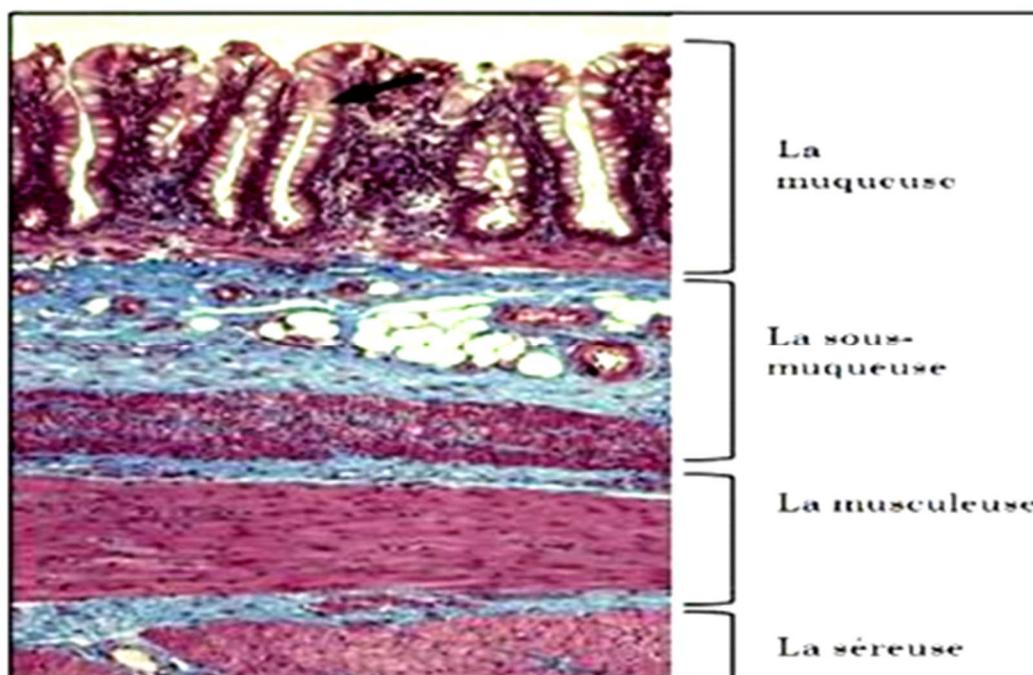


Figure 03: Histologie normale de l'épithélium colique et rectale (Stevens et Low, 2006)

I.3- Le cancer colorectal

Le cancer colorectal reste l'une des tumeurs malignes les plus répandues dans le monde. Selon la dernière analyse onco-épidémiologique, il a été enregistré 1,2 millions de nouveaux cas des cancers colorectaux dans le monde (Globacan, 2018).

Le cancer du côlon est le troisième cancer le plus fréquent au monde, (OMS, 2018), tandis que le cancer du rectum occupe le huitième rang des cancers (Parashanthe *al.*, 2019).

I.3.1- Données épidémiologiques

Le CCR touche les hommes plus que les femmes et 3 à 4 fois plus fréquents dans les pays développés que dans les pays en voie de développement. En 2018, environ 576 000 et 521 000 hommes et femmes, respectivement, devraient recevoir un diagnostic de cancer du côlon (Parashanth *et al.*, 2019).

Les pays développés sont les plus exposés au risque de cancer du côlon et le cancer du rectum. Pour le cancer du côlon, l'Europe du Sud, L'Australie / Nouvelle-Zélande et l'Europe du Nord sont les régions où l'incidence est la plus élevée. Pour le cancer rectal, l'Europe de l'Est, Asie de l'Est, et l'Amérique du Nord sont également les régions où les taux d'incidence les plus élevés (**Figure 04**) (Parashanth *et al.*, 2019). Tout au long de ces dernières années, les régions d'Afrique, ainsi que l'Asie du Sud, ont les taux d'incidence les plus faibles pour les deux cancers entre les deux sexes (Globocan, 2018) (Parashanth *et al.*, 2019).

Le cancer du côlon est le cinquième cancer mortel avec 551000 décès prévus pour 2018, soit 5,8% de tous les décès par cancer. Tandis que, le cancer du rectum est le dixième cancer mortel, avec 310 000 décès, ce qui représente 3,2% de tous les décès par cancer. Le décès par cancer du côlon est de 0,66% chez les hommes et de 0,44% chez les femmes. Le même risque de cancer du rectum est de 0,46% chez les hommes et de 0,26% chez les femmes (Globocan, 2018)

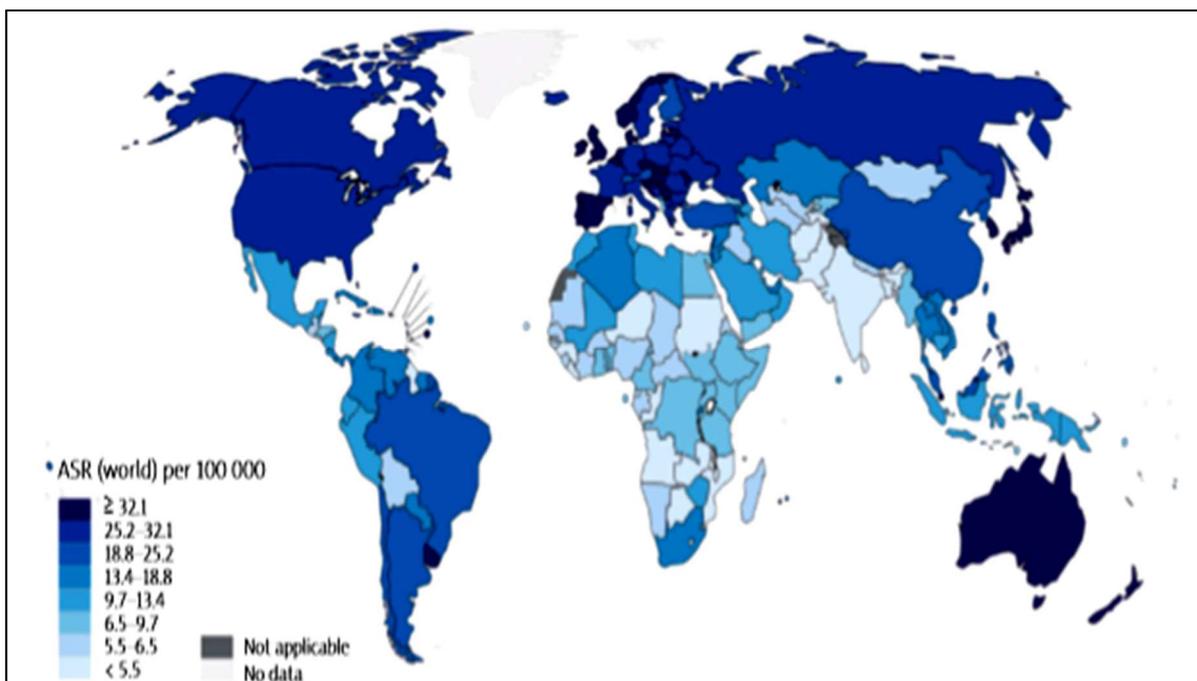


Figure 04: Taux d'incidence du cancer colorectal dans le monde (Globocan, 2018)

Le CCR est le cancer le plus mortel chez les hommes dans trois pays, ces pays sont l'Arabie saoudite, Oman et les Émirats Arabes Unis, et le plus mortel chez les femmes dans l'Algérie, la Biélorussie, le Japon, l'Espagne et le Portugal (**Figure 05**) (Globocan, 2018 ; Parashanth et *al.*, 2019).

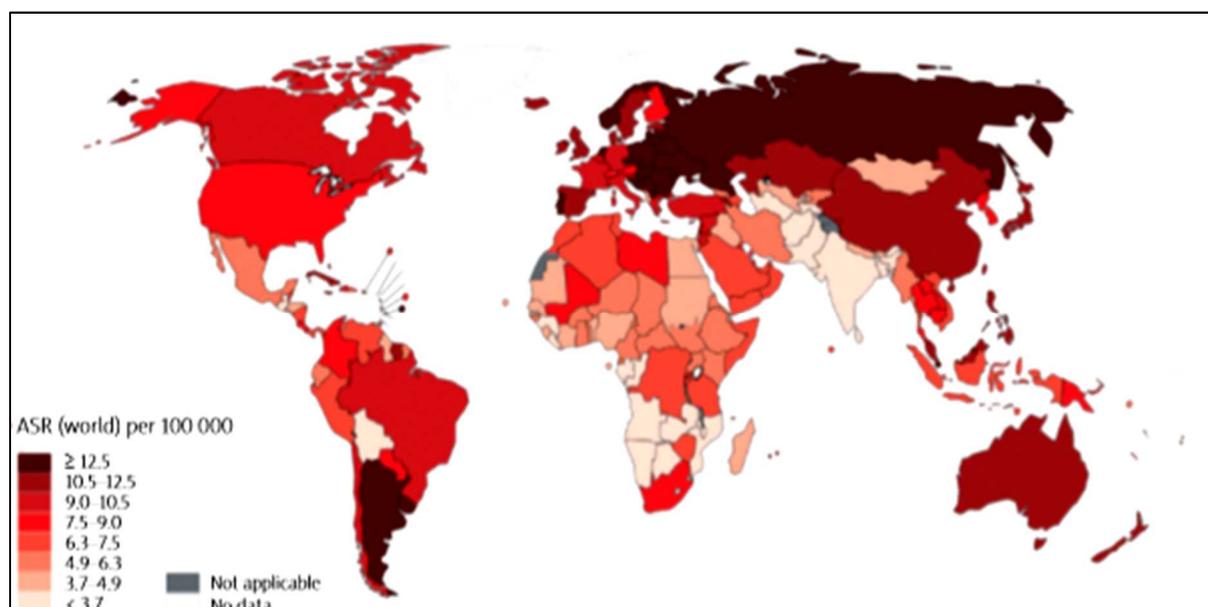


Figure 05: Taux de mortalité par cancer colorectal dans le monde (Globocan, 2018)

En Algérie, l'incidence du cancer du côlon rectum poursuit son ascension (31.9 pour 100.000 hommes en 2017 contre 28.2 pour 100.000 hommes en 2016). L'incidence brute du cancer colorectal chez les hommes algérois a augmenté de façon significative entre 2008 et 2017, passant de 12.5 à 31.9 pour 100000 hommes. L'incidence brute du cancer colorectal amorce une augmentation sensible dès 49 ans et enregistre deux pics à 65-69 et 75ans et plus (Registre des tumeurs d'Alger, 2017).

Chez les femmes, le cancer du sein est le cancer le plus répandu, suivi par le cancer colorectal avec une incidence estimée de 20 nouveau cas pour 100.000 femmes (Registre des tumeurs d'Alger, 2013).

I.3.2- Etiopathogénie

Le développement du CCR est caractérisé par les aberrations génétiques et épigénétiques qui sont acquises au cours de la vie (environnement, mode de vie), héritées ou les deux. Certains facteurs environnementaux et génétiques sont reconnus comme ayant un rôle important dans la survenue de CCR, notamment l'âge, les antécédents familiaux de cancer du côlon ou de maladie inflammatoire de l'intestin, le tabagisme, le régime alimentaire, la race, l'obésité, et l'inactivité physique (Mojarad, 2013).

I.3.2.1- Facteurs environnementaux

La consommation de tabagisme favorise une apparition précoce de CCR et engendre des mutations au niveau de l'ADN de la muqueuse digestive. Il existe une association significative entre la consommation des boissons alcooliques et la survenue du CCR. Il a été montré également qu'il y a une corrélation positive entre les viandes rouges et la survenue du cancer colorectal (Imad et *al.*, 2019).

I.3.2.2- Facteurs génétiques

Le cancer colorectal héréditaire non polyposique ou HNPCC plus communément appelé syndrome de Lynch ; représente la forme héréditaire la plus fréquente des cancers colorectaux. Ce type de cancer est responsable de 2-4% de tous les CCR. Sa transmission est autosomique dominante causée par une mutation germinale des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR) : MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Il est caractérisé par un phénotype tumoral spécifique associant une instabilité micro satellitaire et une perte d'expression des protéines MMR (Minif et *al.*, 2018).

Le syndrome de polypose adénomateuse familiale (FAPS) est une maladie génétique rare qui se caractérise par la présence de centaines à des milliers de polypes dans le côlon et le rectum. Environ 1% de tous les cancers colorectaux sont causés par des FAPS. Il s'agit d'un trouble héréditaire autosomique dominant. Ce phénotype commence à se développer entre 20 et 30ans. Le gène mutant associé est le gène de la polypose adénomateuse (APC) qui est un gène suppresseur de tumeur (Bojuwoye *et al.*, 2018).

I.3.3- Oncogenèse

Sur le plan moléculaire, le développement d'un adénome puis d'un cancer colorectal correspond à l'accumulation progressive de mutations des gènes au sein du noyau des cellules épithéliales coliques, l'activation d'oncogène et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.

La première étape de la tumorigènes colorectale est la formation des foyers de cryptes aberrants (ACF). L'activation de la voie de signalisation Wnt peut se produire à ce stade à la suite des mutations dans le gène APC. Progression vers des adénomes plus gros et les carcinomes précoces nécessitent des mutations activatrices du proto-oncogène KRAS, des mutations dans TP53 et une perte d'hétérozygotie au chromosome 18q (**Figure 06**) (Takayama *et al.*, 1998 ; Pino et Chung, 2010).

➤ **Les Foyers de cryptes aberrantes** : sont des lésions pré-néoplasiques, qui constituent les précurseurs morphologiques les plus précoces des néoplasies épithéliaux. Les foyers de cryptes aberrantes (FCA) sont composés de larges cryptes recouvertes d'un épithélium épaisse pauvre en mucine (Guennoun, 2014).

➤ **Le polype adénomateux** : une lésion précancéreuse qui correspond à l'expansion clonale de cellules mutées dans l'immense majorité des cas, le cancer colorectal résulte de la transformation d'un polype adénomateux, dont l'aspect macroscopique peut être pédiculé, sessile, ou plane. Les adénomes du gros intestin proviennent de l'épithélium glandulaire et se présentent sous trois formes histologiques différentes : tubuleuse, villeuse, et tubulovilleuse (Guennoun, 2014).

➤ **La dysplasie** : une anomalie cytologique et architecturale qu'on peut résumer en une augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique, perte de la polarité cellulaire, pseudo-stratification, anomalies des mitoses, et hypertrophie glandulaire. Il s'agit d'une véritable lésion néoplasique, strictement limitée à l'épithélium, sans infiltration à la membrane basale (synonyme = néoplasie intra-épithéliale) (Guennoun, 2014).

➤ L'adénocarcinome

a. Adénocarcinome in situ

Lorsque la prolifération cellulaire dépasse la membrane basale et envahit la muqueuse, (Guennoun, 2014).

b. Adénocarcinome invasif

Le foyer d'adénocarcinome est d'abord superficiel, strictement intra muqueux, limité au chorion entourant les glandes, sans franchissement de la musculaire muqueuse mais dès que les lésions dépassent la musculaire muqueuse, on peut parler d'adénocarcinome invasif (Guennoun, 2014).

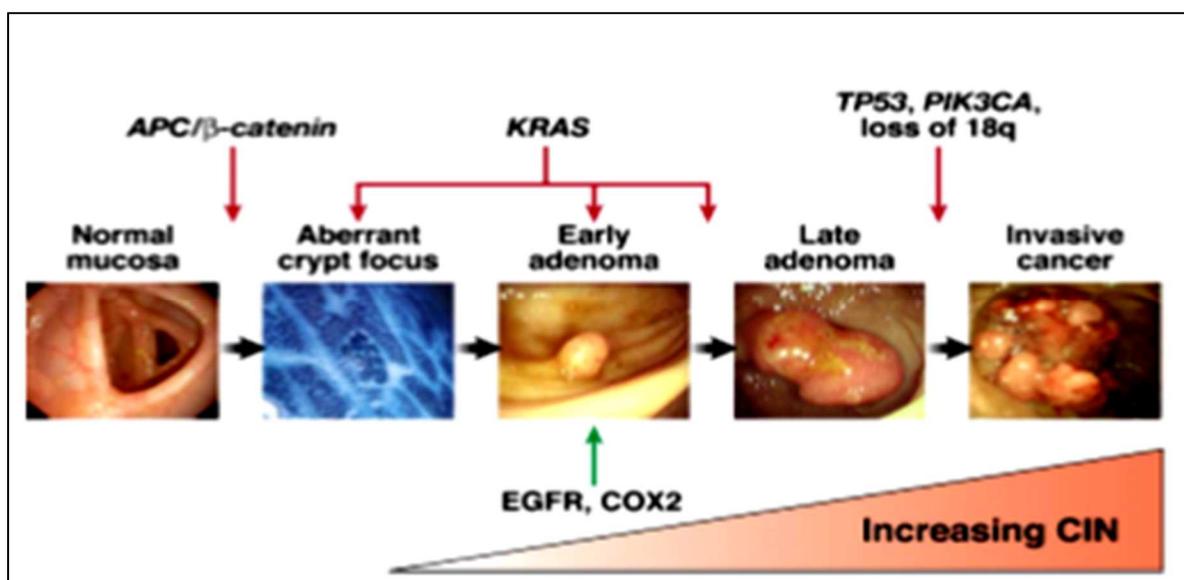


Figure 06 : Modèle génétique en plusieurs étapes de la cancérogenèse colorectale

La première étape de la tumorigénèse colorectale est la formation de foyers de cryptes aberrants (ACF).

L'activation de la voie de signalisation Wnt peut se produire ce stade à la suite de mutations dans le

gène APC. Progression vers des adénomes plus gros et les carcinomes précoces nécessitent

l'activation de mutations du proto-oncogène KRAS, des mutations dans TP53 et une perte

d'hétérozygotie au chromosome 18q. L'activation mutationnelle de PIK3CA se produit dans la séquence adénome-carcinome dans une petite proportion de cancers colorectaux. L'instabilité

chromosomique est observée dans les adénomes bénins et augmente en tandem avec la progression tumorale (Pino et Chung, 2010).

I.3.4- Aspect macroscopique

Il n'y a pas de différence macroscopique entre les cancers du côlon et du rectum (Fleming et *al.*, 2012). L'étude macroscopique est basée sur les points suivants:

- ✓ Conditionnement de la pièce : fraîche /fixée.
- ✓ Type d'exérèse (région anatomique).
- ✓ Dimension (longueur et circonférence).
- ✓ Orientation précisée par le chirurgien (pièce fraîche/pièce fixée).
- ✓ Dimensions précisées de la tumeur dans l'organe.
- ✓ Distance par rapport aux marges chirurgicales.
- ✓ Nombre de tumeurs visible.
- ✓ Présence de polypes : leur nombre, leur taille et leur caractère.

I.3.5- Différents types histologiques et classification TNM

Les types histologiques ou les carcinomes à cellules indépendantes et les carcinomes à petites cellules sont associés de façon indépendante à un facteur pronostique péjoratif. Le carcinome médullaire et le carcinome mucineux qui sont associés à un phénotype d'instabilité des microsatellites ont un meilleur pronostic. Ce phénotype est présent dans 10 -15% des carcinomes colorectaux. Il peut être suspecté devant un âge < 60 ans et un contexte familial, un infiltrat inflammatoire très abondant. Le statut déterminé par immunohistochimie à l'aide des anticorps anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 plus/moins anti-PMS2. La perte d'expression de l'une de ces protéines (MLH1 le plus souvent) dans les cellules carcinomateuses traduit un phénotype d'instabilité des microsatellites. Dans le cas d'une perte d'expression d'une des protéines, il convient de confirmer le phénotype MSI par biologie moléculaire (Nagtega et *al.*, 2019).

La classification histologique selon l'OMS en 2010 se fait comme suit :

- **Adénocarcinome** : une prolifération infiltrante de tubes ou de glandes dont le revêtement apparaît cylindrique et basophile, avec pluri stratification, atypies cytonucléaires et mitoses, ressemblant aux glandes de Lieberkühn constituant la muqueuse normale de colon (Rougier et *al.*, 2006).
- **Carcinome médullaire, peu différencié avec stroma inflammatoire** : cancer rare, constitué de plages de cellules très cohésives dans lesquelles il n'existe aucune structure glandulaire. Ce cancer présente constamment une instabilité microsatéllitaire de l'AND ou MSI

avec une perte d'expression de protéines du système de réparation des mésappariements de l'ADN ou MMR (Sleves, 2009).

- **Adénocarcinome mucineux** : représente environ 5 à 15% des CCR et est défini par la présence d'un matériel mucoïde extracellulaire représentant plus de 50% de la masse tumorale.
- **Carcinome à cellules indépendantes (>50% de cellules indépendantes)** : ce type histologique est rare, environ 0,1 à 2,4% des CCR. Il est défini dans la classification OMS en 2010 par la présence d'un contingent de cellules isolées de plus de 50% (Meilleroux, 2016).
- **Carcinome épidermoïde** : ces types de cancer sont exceptionnels et sont parfois mixtes (épidermoïdes et glandulaires) (Moréreet *al.*, 2011).
- **Carcinome à petites cellules** : est constitué de cellules rondes ou ovales à cytoplasme peu abondant, noyau mono chromatine irrégulière et nucléole peu visible s'y associent des figures de mitose et d'apoptose (Moréreet *al.*, 2011).
- **Carcinome adénosquameux**: tumeur assez rare au sein de laquelle on observe d'une part un contingent glandulaire, et d'autre part un contingent malpighien, ce dernier peut d'ailleurs être focal (Meilleroux, 2016).
- **Carcinome indifférencié** : est rare sans marqueurs de différenciation morphologique, immuno-phénotypique, ou moléculaire (Meilleroux, 2016).

I.3.5.1- Grade du cancer colorectal

Les carcinomes colorectaux sont gradés en 3 classes (AJCC,2017) :

Grade 1: bien différencié contenant 95% de structure glanduliformes.

Grade 2: modérément différencié, contenant de 50 à 95% de structure glanduliformes.

Grade 3: peu différencié, contenant <50% de structure glanduliformes.

I.3.5.2- Classification TNM des carcinomes colorectaux

Il existe trois critères : taille et profondeur de la tumeur, atteinte ou non des ganglions lymphatiques et nombre de ganglions atteints, présence ou non de métastases. Ces critères permettent de définir le stade du cancer selon la classification TNM (AJCC, 2017).

TNM signifie en anglais «Tumor, Nodes, Metastasis» soit «tumeur, ganglions lymphatiques, métastases» (AJCC, 2017) (**Tableau I**) (**Annexe 01**).

I.3.6- Facteurs pronostiques

Dans les cancers digestifs, le pronostic est établi essentiellement sur des critères histologiques et sur la classification TNM, et certains marqueurs moléculaires permettent de prédire l'efficacité ou pas d'un traitement (Dreyer, 2016).

I.3.6.1- Le stade de cancer colorectal

La fréquence du phénotype MSI varie selon le stade de la tumeur. Il est en effet plus fréquent aux stades localisés qu'en situation métastatique dans la grande majorité des localisations tumorales. Ainsi le statut MSI est observé dans 15% des cancers colorectaux de stade II et dans seulement 3-5% des cancers colorectaux métastatiques. Cette variation d'incidence en fonction du stade évolutif de la maladie illustre l'inversion pronostique observée dans le cancer colorectal (bon pronostic aux stades précoces, maladie agressive aux stades avancés).

A l'inverse aux stades métastatiques, les cancers colorectaux MSI aux stades précoces sont de bon pronostic et il n'y a pas actuellement d'indication à une chimiothérapie adjuvante par fluoropyrimidine pour les patients opérés d'un cancer colorectal MSI de stade II (Colle, 2018).

I.3.6.2- Le statut MSI

Dans la population des adénocarcinomes du côlon de stade II, la connaissance du statut MSI influence les décisions thérapeutiques. Le pronostic des cancers du côlon stade II MSI est plus favorable que celui des cancers sans instabilité des microsatellites (dit stables ou MSS). Le statut MSI est un facteur de bon pronostic pour les cancers du côlon localisés. Le risque de métastases ganglionnaires et de métastases à distance est plus faible que pour les cancers sans instabilité des microsatellites. Cependant en situation métastatique le statut MSI est un facteur de mauvais pronostic (Pierre, 2017).

I.3.6.3- Les autres facteurs pronostiques

- **Bourgeonnement tumoral**

Ce phénomène concerne le mode d'infiltration de la tumeur dans la paroi. Sa définition est la présence de 1 à 4 cellules infiltrant le stroma de façon isolée sur le front d'invasion de la tumeur. Le bourgeonnement tumoral est un facteur de mauvais pronostic (Selves, 2009).

- **Infiltrat inflammatoire**

La réaction inflammatoire de type « Crohn-like » se caractérise par la présence de follicules lymphoïdes sur le front d'invasion de la tumeur et entre les glandes tumorales, au sein de la réaction inflammatoire du stroma. La présence de follicules lymphoïdes est un marqueur

de bon pronostic, mais l'évaluation de la réponse inflammatoire est plus complexe car elle doit prendre également en considération la présence de macrophages, de lymphocytes intra-tumoraux, de cellules NK et des différents sous-types lymphocytaires (Selves, 2009).

- **Emboles vasculo-lymphatiques**

L'invasion vasculo-lymphatique a été considérée dans de nombreuses études comme un facteur pronostique indépendant en analyse multi-variée. Les emboles vasculo-lymphatiques sont cependant inclus comme facteurs liés à un risque élevé de récurrence des cancers colorectaux de stade II et considérés comme un élément pouvant faire discuter une chimiothérapie adjuvante en évaluant la balance bénéfique/risque (Bibeau et *al.*, 2013).

- **Infiltrations péri-neurales**

Les invasions péri-neurales sont moins fréquentes que les invasions vasculo-lymphatiques et sont rencontrées dans 10% des cancers colorectaux. Elles sont en général associées à des stades élevés et à un faible grade de différenciation. De façon similaire aux emboles vasculo-lymphatiques, les infiltrations péri-neurales sont cependant incluses comme facteurs liés à un risque élevé de récurrence des cancers colorectaux de stade II et considérées comme un élément pouvant faire discuter une chimiothérapie adjuvante en évaluant la balance bénéfique/risque (Bibeau et *al.*, 2013).

I.3.7- Diagnostic du cancer colorectal

Un diagnostic de cancer colorectal résulte soit d'une évaluation d'un patient présentant des symptômes, soit d'un dépistage. La maladie peut être associée à un éventail de symptômes, y compris du sang dans les selles, une modification des habitudes intestinales et des douleurs abdominales. Chez les patients symptomatiques, la coloscopie est la méthode d'investigation préférée, une gamme d'autres méthodes peut être utilisée pour l'évaluation primaire, suivie d'une coloscopie en cas de test positif (Ericet *al.*, 2015). Le cancer colorectal est diagnostiqué dans 95% des cas après 50ans. L'incidence augmente ensuite avec l'âge (Bruneau, 2018).

Le phénotype MSI d'une tumeur est aujourd'hui très fréquemment recherché chez les patients atteints de cancer colorectal. L'intérêt de la mise en évidence d'un tel phénotype dans un cancer est double. Il permet d'une part d'identifier les patients à risque pour le syndrome de Lynch et le CMMRD (tumeurs MSI héréditaires). Il représente d'autre part, un critère d'orientation thérapeutique chez les patients présentant un cancer MSI métastatique (Collura et *al.*, 2019).

I.4- Les mécanismes moléculaires de carcinogenèse dans le cancer colorectal

Les cancers colorectaux étaient initialement répartis en trois sous-groupes moléculaires : instabilité chromosomique (Chromosomal Instability, CIN+), instabilité microsatellitaire (Micro-Satellite Instability, MSI+), phénotype méthylateur (CpG Island Methylator Phenotype, CIMP+) (Tournier et *al.*, 2018).

I.4.1- Le phénotype CIN

Le phénotype CIN est le groupe le plus fréquent des CCR, qui représente 80% des CCR sporadiques, est caractérisé par des pertes alléliques sur le bras court du chromosome 17 et 8 et sur le bras long du chromosome 5, 18 et 22. Ces pertes alléliques sont associées à des mutations inactivatrices des gènes suppresseurs de tumeurs TP53, APC, SMAD2 et SMAD4. Toutes ces altérations sont regroupées sous le phénotype CIN (Laurent et *al.*, 2010).

I.4.2- Le phénotype MSI

L'instabilité des microsatellites ou MSI est l'empreinte moléculaire du système de réparation des mésappariements déficients ou MMR qui caractérise environ 15% des cancers colorectaux (Sincrope et Sargent, 2012). Les gènes impliqués dans ce système sont nombreux ceux touchés dans la cancérogenèse colique sont essentiellement MLH1, MSH2 et hMSH6. Les anomalies initiales sont principalement des mutations de MLH1 ou MSH2 (dans les tumeurs héréditaires) ou une méthylation du promoteur de MLH1 (dans les tumeurs sporadiques) (**Figure 07**) (Bouguenouch, 2016).

La déficience du système MMR est responsable de mutations fréquentes dans les séquences répétées de nucléotides (longueur varie de 1 à 6 nucléotides) appelées microsatellites, leurs phénotype appelé Instabilité des microsatellites MSI, et les mutations touchent des gènes cibles contenant les microsatellites: le gène de récepteur de type II du TGF-B, le gène suppresseur de tumeur BAX. Ce groupe de tumeur correspond au syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer) et a 15% des tumeurs sporadiques (Ferron et *al.*, 2005).

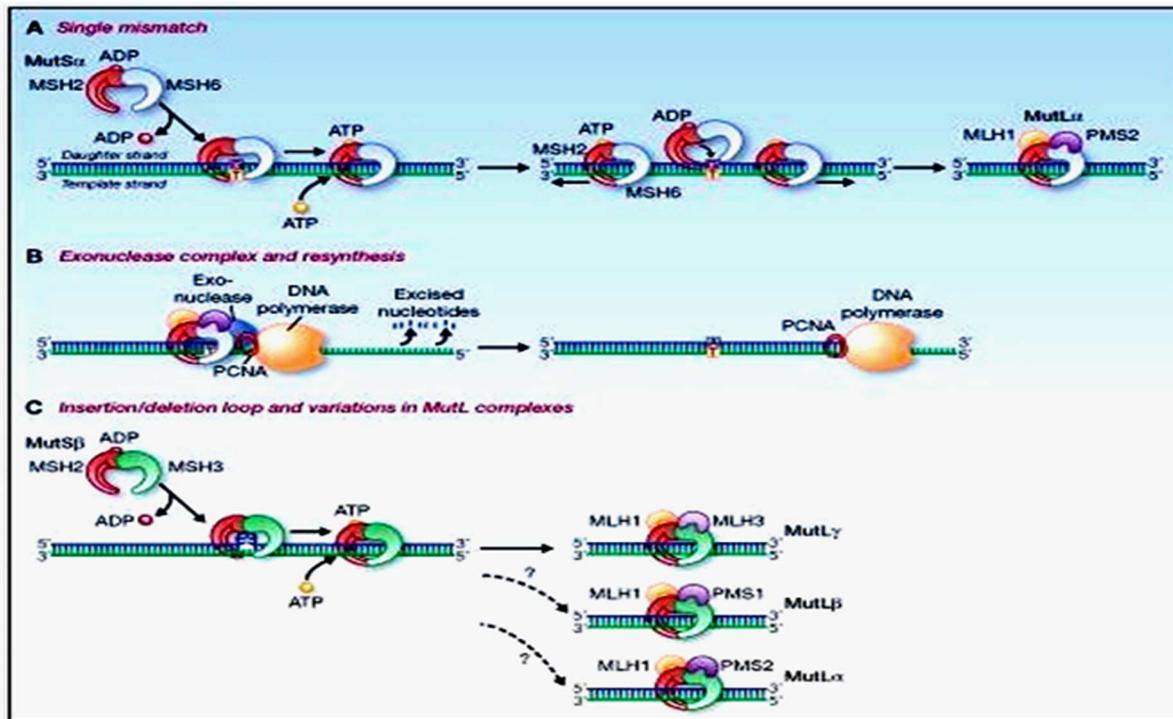


Figure 07: Le système de réparation des mésappariements (Sincope et Sargent, 2012)

MLH1: mut L homolog 1, **MSH2:** mut S homolog 2, **MSH6:** mut S homolog 6, **PMS2:** post meiotic segregation increased 2, **mut:** les gènes MMR de la bactérie Escherichia coli, **PCNA:** proliferating cell nuclear antigen

Le système MMR se compose de quatre protéines principales appelées MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Ces protéines identifient et corrigent les mésappariements d'ADN provoqués par l'ADN polymérase pendant la réplication, qui se produit en particulier dans les microsatellites. Ces protéines fonctionnent deux par deux, MLH1 avec PMS2 et MSH2 avec MSH6, et forment respectivement le complexe MutL α et MutS α . MutS α reconnaît la non-concordance de paires de bases simples, crée une pince coulissante autour de l'ADN, puis lie le deuxième complexe, MutL α . Cette combinaison interagit avec de nombreuses enzymes, dont l'ADN polymérase, pour effectuer l'excision de la mésappariement unique et resynthétiser le brin d'ADN. MutS α peut également reconnaître d'autres modèles d'erreurs telles que les boucles d'insertion et de suppression, puis se lier de préférence à des homologues MutL, tels que MutL β (MLH1-PMS1) et MutL γ (MLH1-MLH3), réalisant ainsi une excision d'erreur. La perte de fonction de l'une des quatre protéines (MLH1, PMS2, MSH2 ou MSH6) conduit à l'inactivation du système MMR, entraînant une perte de fidélité de la réplication et une

accumulation de mutations. Ce profil ultra-muté provoque des cancers dMMR/MSI, y compris dMMR/MSI CCR (**Figure 07**) (Evrard, 2019).

I.4.3- Le phénotype CIMP

Une proportion importante de tumeurs MSI n'est pas reliée à une mutation constitutionnelle d'un gène du système mis-matchrepair (MMR), mais à une déficience acquise, épigénétique, de ce système de réparation de l'ADN, via une hyperméthylation du promoteur de MLH1 responsable d'une extinction de l'expression de ce gène (Colle, 2018).

La méthylation de l'ADN est un mécanisme normal épigénétique de régulation de l'expression des gènes, largement étudié en cancérologie. Il met en jeu la fixation d'un groupement méthyle (CH₃) sur le carbone 5' des bases cytosines qui sont suivies de bases guanines, appelés sites CpG. Ces sites sont fortement concentrés dans certaines régions de l'ADN, dénommées îlots CpG, eux-mêmes localisés dans 60 à 70 % des promoteurs de gènes et également dans les séquences répétées et les éléments d'ADN parasite, ce mécanisme peut être à la fois une diminution du contenu global de 5'-methyl-cytosine (5-mC) et une hyperméthylation ciblée de promoteurs de gènes (**Figure 08**) (Hartley et al., 2018).

Le CCR de phénotype CIMP présente en fait un grand nombre de gènes suppresseurs de tumeur inactivés par hyperméthylation de leur promoteur et plusieurs panels différents de gènes ont ainsi été décrits. Le panel de gènes décrit par Weisenberger et al, intègre les gènes IGF2, NEUROG1, RUNX3 et SOCS1 (Tournier et al., 2018).

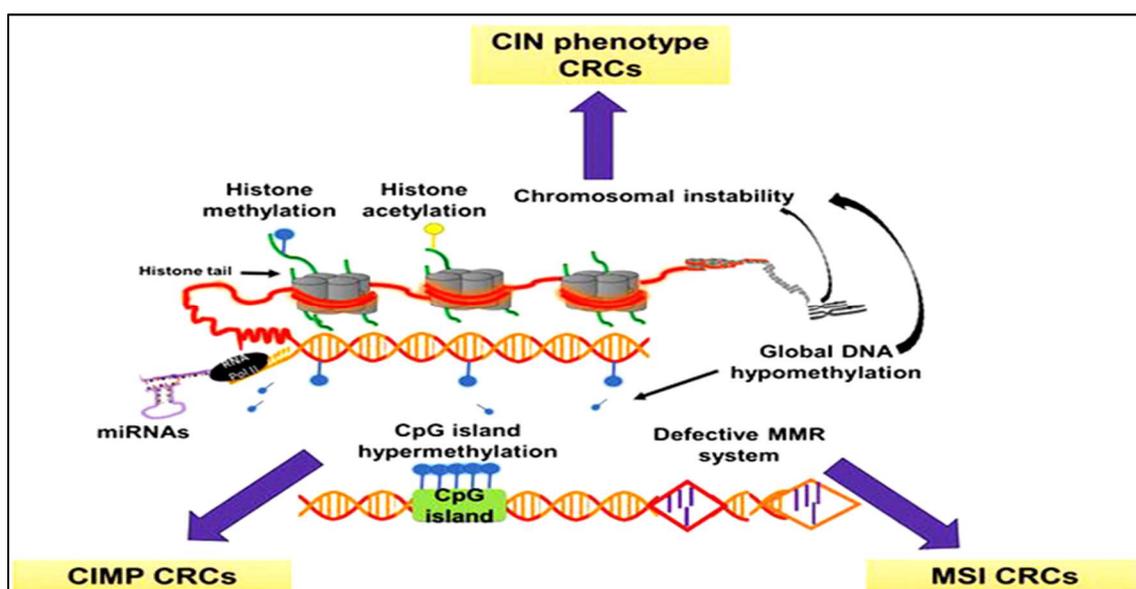


Figure 08: Altérations épigénétiques du cancer colorectal (Hartley et al., 2018)

I.5- Les marqueurs moléculaires dans les cancers colorectaux

I.5.1- La détermination du statut MMR

La perte d'une protéine MMR s'accompagne généralement de la perte de son partenaire, Par exemple, la perte de protéines MLH1 ou MSH2, PMS2 et MSH6, respectivement dans leurs formes monomères, et ils seront rapidement dégradés. Par conséquent, la perte d'expression de MLH1 est associée à la perte de PMS2 et à la perte d'expression de MSH2 est associée à la perte de MSH6. Cependant, le contraire n'est pas vrai dans la mesure où les protéines MLH1 et MSH2, sous leurs formes monomères, peuvent interagir avec d'autres protéines du système MMR, c'est-à-dire MSH3, et ainsi éviter la dégradation (Evard et *al.*, 2019).

L'immunohistochimie (IHC) est une méthode qui permet de détecter l'expression des protéines directement à partir des échantillons tissulaires. Seule la coloration nucléaire est prise en compte dans la détection des protéines MMR, qui est effectuée par l'utilisation des anticorps primaires (Evard et *al.*, 2019). Plusieurs anticorps dirigés contre les protéines hMLH1, hMSH2, hMSH6 et PMS2 sont commercialisés. Les clones les plus couramment utilisés sont le G-168-15 pour hMLH1, FE11 pour hMSH2, 44 pour hMSH6 et A16-4 pour PMS2 (Bibeau, 2011). La perte de protéine MMR est définie par l'absence de coloration dans le noyau des cellules tumorales, tandis que les cellules normales restent colorées (Evrard et *al.*, 2019).

Ces protéines sont détectables, dans le tissu non tumoral, au niveau des cellules des centres germinatifs des follicules lymphoïdes, des lymphocytes péri-tumoraux, des cellules du stroma, des cellules endothéliales et des cellules des cryptes intestinales (**Figures 09 et 10**) (Bibeau, 2011).

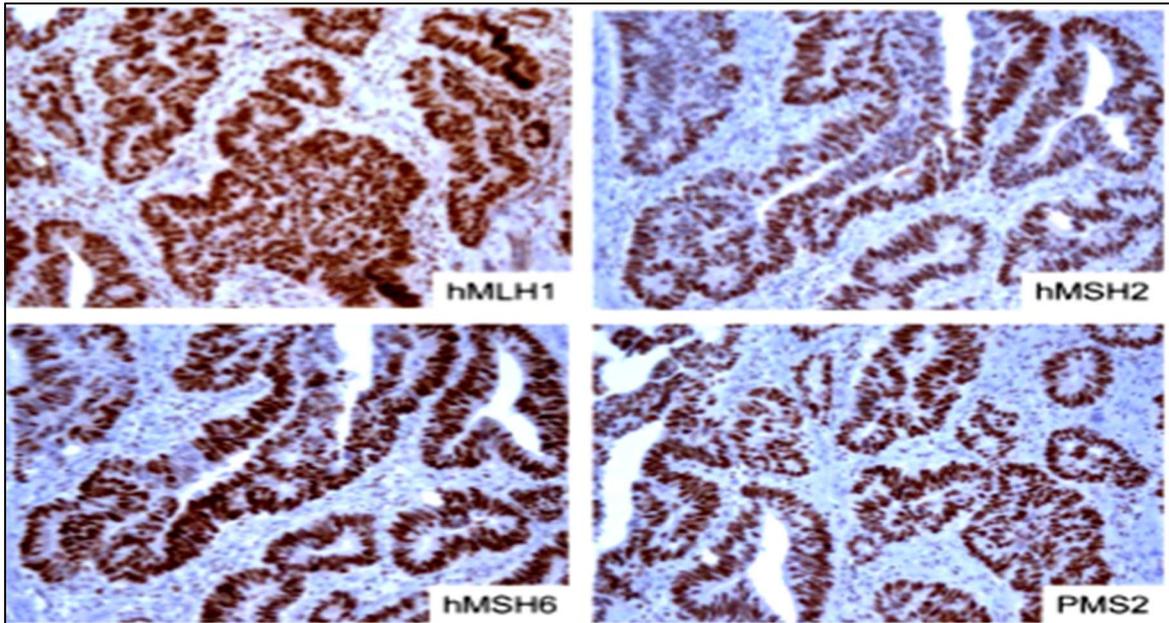


Figure 09: Adénocarcinome colique avec conservation de l'expression des protéines du système MMR en immunohistochimie (hMLH1, hMSH2, hMSH6 et PMS2) (Bibeau, 2011)

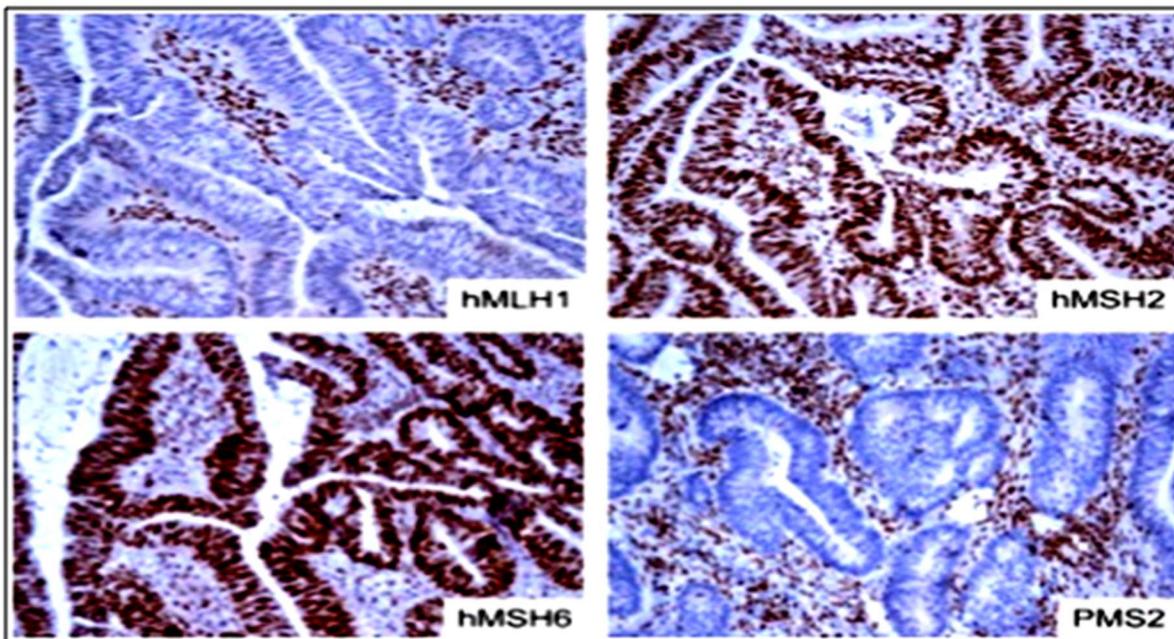


Figure 10: Adénocarcinome colique avec perte d'expression immunohistochimique des protéines hMLH1 et PMS2 (immuno-peroxydase x 200) (Bibeau, 2011)

I.5.2- Statut Ras et traitement anti-EGFR

Depuis l'avènement des thérapeutiques ciblées, il est maintenant évident que le ciblage thérapeutique n'a d'efficacité que si la population de patients à cibler est connue. En d'autres termes, il faut sélectionner les patients qui bénéficieront le plus du traitement avec le moins d'effet secondaires. L'histoire des anticorps anti-EGFR dans le cancer colorectal métastatique offrent un bon exemple. Une première tentative de criblage par immunohistochimie s'est avérée (Bibeau, 2017).

I.5.2.1- Voie EGF

Le récepteur de l'EGF (EGFR) est un récepteur transmembranaire qui va subir une phosphorylation et une dimérisation lorsque l'EGF se fixe. Il s'ensuit une cascade de phosphorylations de protéines intracytoplasmiques qui activent plusieurs voies (**Figure 11**). Les deux principales sont celle des MAP-kinases et celle de la PI3-kinase AKT, mTOR (Laurent-Puig, 2009).

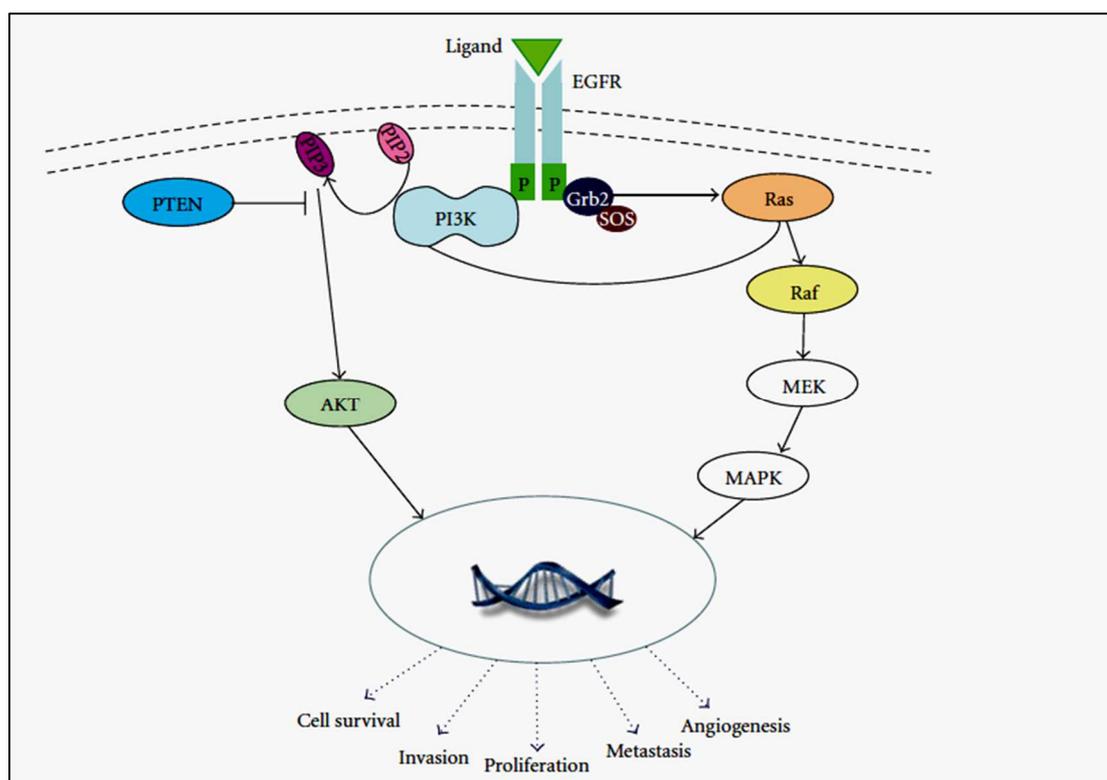


Figure 11: Les voies moléculaires principales dans le cancer colorectal conduisant à l'activation de divers facteurs de transcription qui ont ensuite un impact sur les réponses cellulaires telles comme prolifération, angiogenèse et métastase. (Krasinskas, 2011)

Dans le cancer colorectal, certains partenaires de ces voies de signalisation sont activés par des mutations somatiques, parfois en association avec les gènes RAS, KRAS, muté dans 40% des cancers colorectaux, sur le codon 12 ou 13, le gène BRAF, muté dans 10% à 15% des cancers colorectaux, plus fréquemment en cas d'instabilité ; génomique MSI, et la sous-unité catalytique de la PI3-kinase, mutée dans 15% à 20% des cas (Fior et Michel, 2009).

L'activation de ces deux voies principales a des conséquences sur la prolifération, la résistance à l'apoptose et l'angiogenèse, fonctions essentielles dans le contrôle de la prolifération tumorale (Fior et Michel, 2009).

I.5.2.2- La voie RAS et mutation de gène RAS

Les protéines RAS font partie de la voie RAS/RAF/MAPK ayant pour fonction d'assurer la transduction des signaux du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire. Ces protéines assurent donc le lien entre les récepteurs membranaires tels que les récepteurs EGF, et les protéines-kinases de types sérines/thréonines-kinases intra-cytoplasmiques et contribuent à la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose. Les protéines RAS sont, soit activées lorsqu'elles sont liées au GTP, ou inactivées lorsqu'elles sont liées au GDP (Lièvre, 2010).

Les oncogènes RAS sont activés par la présence de mutations sur les codons 12, 13 et les codons 59 ou 61, et ces mutations figurent les protéines RAS dans une configuration constamment activée. Il est admis que les mutations activatrices du gène KRAS sont un événement précoce dans la carcinogenèse colique, et sont retrouvées dans 30 à 40 % des CCR et essentiellement sur les codons 12 et 13, et qui transforment la glycine en un autre acide aminé (acide aspartique et valine principalement) (Fior et Michel, 2009).

La recherche de ces mutations est réalisée à partir de l'ADN extrait du tissu tumoral, inclus en paraffine ou congelé, la recherche pouvant être aisément réalisée à partir de fragments biopsiques. Par ailleurs, ces mutations surviennent essentiellement dans les CCR caractérisés par une instabilité chromosomique (ou CIN, et sont ainsi exclusives des mutations du gène BRAF qui sont détectées dans 10-15% des CCR, avec instabilité des microsatellites (MSI) liée à une hyperméthylation biallélique de MLH1 (Fior et Michel, 2009).

I.5.2.3- Traitement anti-EGF

Deux anticorps monoclonaux thérapeutiques sont utilisés, dirigés contre le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR): le chimérique le cetuximab et le panitumumab entièrement humain (Tol, 2010).

Ces molécules agissent comme des antagonistes qui se lient à l'EGF-R avec une haute spécificité et bloquent la dimérisation du récepteur induite par le ligand et donc son activation. Leur efficacité est désormais bien démontrée dans le traitement des CCR métastatiques (Bokemeyer et *al*, 2009).

- Le rôle de l'œstrogène dans le cancer colorectal

Malgré le rôle cellulaire établi des RE dans le cancer colorectal, le rôle exact des œstrogènes dans le cancer colorectal reste incertain.

Les effets des œstrogènes sur les colonocytes peuvent être liés aux effets directs du ligand œstrogène et à son interaction avec les récepteurs (directement liés au ligand) ou aux changements du rapport ER et de fonction indépendante du ligand (indirectement liées au ligand). Par exemple, l'augmentation de l'incidence du cancer du côlon après la ménopause chez la femme, lorsque la quantité circulante de ligand œstrogène est diminuée, pourrait être liée à la perte des effets de régulation du cycle cellulaire de Erb (directement liée au ligand), ou la diminution du taux d'œstrogène endogènes au moment de la ménopause entraîne une modification du rapport ER (indirectement lié au ligand). En fait, dans les modèles animaux, l'activité transcriptionnelle des ER change avec le temps et est influencée par le niveau d'œstrogène. Dans les modèles murins APC, le traitement E2 entraîne une augmentation du rapport Erb et une protection contre le cancer du côlon (Barzi et *al*, 2013).

CHAPITRE II

MATERIEL & METHODES

I- Matériel & Méthodes

Il s'agit d'une étude prospective effectuée au niveau de Laboratoire d'Anatomie Pathologique du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Djilali BOUNAAMA-Douera-Alger, sur une période allant du 02/02/2020 au 20/03/2020 sur des échantillons reçus au d'Anatomie Pathologique. Les patients avaient bénéficié d'une analyse immunohistochimique afin de confirmer le diagnostic.

Malheureusement, suite à la survenue de la pandémie au SARS-Cov2 et la propagation du COVID-19 avec le confinement qui s'en est suivi, nous n'avons pas pu collecter nos échantillons pour terminer notre étude.

II.1- Matériel

II.1.1- Matériel biologique

Notre étude a porté sur des échantillons tumoraux provenant de patients atteints d'un cancer colorectal qui ont été sélectionné après l'étude de leurs dossiers et leurs comptes rendus cliniques au sein de Laboratoire d'Anatomie Pathologique du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Djilali BOUNAAMA-Douera entre 2019 et 2020.

➤ Recueil des données

Les échantillons tumoraux reçus, ont été enregistrés dès leur arrivée, accompagnés d'une fiche de renseignements correctement remplie avec:

- L'identité du patient: nom, prénom, âge, sexe, localisation de la tumeur, type histologique, taille et stade de la tumeur.
- La date de réception.
- Le nom du médecin traitant ainsi que le service de prise en charge.
- Les signes cliniques et radiologiques.
- La nature et la durée du traitement éventuellement reçu.

Les pièces opératoires adressées fraîches sont ouvertes, nettoyées et fixées au formol à 10%.

II.1.2- Matériel non biologique

Une gamme de matériel non biologique est utilisée pour mener à bien les techniques réalisées au laboratoire d'anatomie pathologique (verreries, colorants, anticorps, réactifs, appareillages et autres). Les détails de l'appareillage et les réactifs sont présentés dans l'**Annexe 2 et 3**.

II.2- Méthodes

II.2.1- Diagnostic par technique histologique

Cette technique est largement utilisée en recherche mais aussi en diagnostic des cancers colorectaux. Le diagnostic se fait par coloscopie avec biopsies multiples de la lésion et analyse anatomopathologique. Il est indispensable de fixer un prélèvement avant analyse histologique afin de permettre son analyse morphologique.

II.2.1.1- Technique de prélèvement des échantillons

Une biopsie consiste à prélever des échantillons de tissus afin de les analyser. Une biopsie au niveau du côlon ou du rectum se fait pendant une coloscopie ou une rectoscopie, grâce à de petites pinces introduites dans l'endoscope. Tout ce qui est prélevé lors de la biopsie est ensuite envoyé dans un laboratoire d'anatomopathologie pour être analysé au microscope. Seul l'examen anatomopathologique permet de conclure de façon définitive si les lésions prélevées sont cancéreuses ou non. On parle de preuve histologique. Dans les cas où un cancer est diagnostiqué, l'examen des cellules et des tissus prélevés a également pour objectif de préciser le type de cancer dont il s'agit.

II.2.1.2- Préparation des coupes

- **Fixation**

Les prélèvements sont déposés dans un liquide fixateur (solution de formaldéhyde à 10%). La fixation joue un rôle important dans la conservation des structures cellulaires et tissulaires. Une bonne fixation empêche l'autolyse en bloquant les enzymes endogènes responsables de la destruction des cellules, et empêche la putréfaction .

- **Examen macroscopique**

L'examen macroscopique est la première étape à réaliser dans l'étude histologique. Tout d'abord les fragments sont dénombrés, orientés, mesurés et leurs aspects externes sont décrits; cela dans le but de localiser et d'observer la lésion, évaluer son étendue et éventuellement déterminer sa nature. Les fragments sont déposés dans des cassettes perforées en plastique spécifiques selon la nature du prélèvement: biopsie ou pièces d'exérèse préalablement disséquées pour obtenir un échantillonnage le plus représentatif de la lésion. Ces cassettes comportent le numéro de dossier du patient accompagnent d'un chiffre romain et sont directement placées dans le formol à 10 % avant leur passage dans l'appareil à circulation.

- **La circulation**

Elle est réalisée à l'aide d'un automate en trois étapes pendant 24 h; et a pour but de remplacer l'eau présente dans le tissu par la paraffine afin de faciliter la découpe.

- ✓ **Déshydratation:** dans le but de débarrasser l'eau qui existe dans le tissu par passage des cassettes des échantillons dans quatre bains d'éthanol de concentration croissante (60°, 70°, 80° et 90°) pendant 2h chacun.
- ✓ **Eclaircissement:** remplacement de l'éthanol par un solvant (xylène) qui est miscible à l'alcool et à la paraffine. Cette étape comprend trois bains 2h pour chacun qui permettent l'obtention d'un tissu plus transparent.
- ✓ **Imprégnation:** le tissu est imprégné dans trois bains de paraffine fondu, 2h chacun, afin d'obtenir des tissus plus rigides.

- **Inclusion (Enrobage)**

L'étape de l'enrobage suit celle de la circulation, elle consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc fait de milieu d'inclusion ; L'échantillon est alors immergé dans la paraffine chauffée à une température dépassant son point de fusion (56°C) dans des moules afin d'obtenir des blocs de paraffine (. Une fois l'échantillon bien imprégné, laissez-le refroidir.

- ✓ **Réalisation des coupes**

Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à un microtome, des coupes de 1 à 3 microns donnant des rubans de l'échantillon.

- ✓ **Etatement**

Le ruban est déposé dans un bain marie de 37°C à 40°C afin d'éviter la formation des plis. La lame sera mise sur une plaque chauffante afin de faire ramollir la paraffine. Ceci permettra la fixation du tissu sur les lames qui seront séchées dans l'étuve à 93°C pour une meilleure adhérence de la coupe pendant 24h puis préparées à la coloration.

II.2.1.2- Coloration des coupes

Dans notre étude, nous avons appliqué deux types de coloration: coloration d'hématoxyline-éosine et coloration à l'hématoxyline de Harris.

II.2.1.3- Observation microscopique

A l'aide d'un microscope photonique. Le but de cette étape est de déterminer le développement des cellules cancéreuses. Cela donne une première indication sur l'étendue de la maladie et contribue à définir le stade du cancer.

II.2.2- Technique immunohistochimie (IHC)

L'IHC permet la détection spécifique des protéines, leurs localisations sur un matériel cytologique des coupes tissulaires. Son principe repose sur l'utilisation d'un anticorps primaire spécifique qui se lie à la molécule d'intérêt par le fragment Fab.

II.2.2.1- Technique immunohistochimique (IHC) manuelle

La préparation des tissus (fixation, circulation, enrobage et microtomie) est identique à celle de la coloration usuelle, cependant l'étalement des fragments doit effectuer sur des lames silanisées afin d'améliorer l'adhérence et de réduire le risque de décollement des coupes qui sont séchées à 93°C pendant 24 h.

- **Pré-traitement**

Le déparaffinage, la réhydratation et le démasquage antigénique se fait à l'aide d'un autocuiseur réglé à une température et une pression initiale qui augmentent le long de l'expérience et qui dure une heure. L'autocuiseur est muni de 4 bacs avec deux de pH 6 et deux de pH 9 .

II.2.2.2- Démasquage

Préparation deux bacs à pH=6 (un bac contient le panier des lames de MSH2, MSH6 et MLH1, deuxième bac sans lames) et deux autres bacs à pH=9 (le premier contient les lames PMS2 et le second sans lames encore). Ensuite, ils sont placés dans l'autocuiseur et enfermer pendant une heure de temps, en fin d'expérience les lames sont déplacées dans le deuxième bac selon le pH recommandé pendant 5 minutes (pour continuer son démasquage).

Rinçage dans deux bacs de Wash Buffer dilué au 1/20^{ème} pendant 5 min chacun.

- **Blocage des peroxydases endogènes**

A l'aide d'une micropipette, 200 µl du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sont déposés sur la lame et incubés dans une chambre humide et obscure à 25°C pendant 15 minutes. L'addition de H₂O₂ permet le blocage des peroxydases endogènes qui ont les mêmes récepteurs que le

DAB (3.3' Diaminobenzidine). Cette étape est suivie de 3 rinçages dans des bacs de Wash Buffer 5 min chacun.

Traitement par des anticorps

✓ **Les anticorps primaires spécifiques**

200 µl de l'AC I dilué ont été déposés pendant une nuit dans le réfrigérateur à 4°C pour assurer une bonne saturation des sites antigéniques. Dans notre cas 4 anticorps sont utilisés (MSH2, MSH6, MLH1 et PMS2). Rinçage dans 3 bacs par Wash Buffer pendant 5 min chacun.

✓ **Les anticorps secondaires non spécifique**

200 µl d'anticorps conjugué à l'HRP (Horse Radish peroxydase) ont été également déposés et incubés pendant 60 min. Rinçage dans 2 bacs par Wash Buffer pendant 5 min chacun.

• **Révélation**

200 µl d'un révélateur d'une couleur marron (DAB) sont appliqués sur les coupes lesquelles sont incubées pendant 5 à 10 min puis rincées dans 3 bacs de Wash Buffer de 5 min chacun.

Une coloration avec l'hématoxyline de Mayer est réalisée pendant 5 min afin de permettre la mise en évidence des noyaux.

Une étape de bleuissement à l'eau courante est nécessaire pour le passage de la couleur rose à la couleur bleue éliminant ainsi l'excès de colorant.

Les lames sont ensuite déshydratées dans trois bacs d'éthanol d'ordre croissant (70°, 90° et 100°) de 2 min chacun et éclaircies dans trois bacs de xylène d'une minute chacun avant le montage par l'Eukitt entre lame et lamelle.

• **Technique d'observation et prise des photos**

Les lames ont été observées à l'aide d'un microscope multi têtes (Leica), ensuite réobservés par un microscope optique (Leica), associé à un ordinateur. Ce dernier possède une installation d'un logiciel (LASEZ) permettant l'observation et la prise des photographies à l'aide d'une caméra couleur numérique (Leica) attachée au microscope. Les photos ont été prises à différents grossissements pour que la mise en évidence des constituants tissulaires et cellulaires soit la plus claire possible.

- **Critères de validation**

À l'état normal, les protéines de mésappariement sont exprimées dans le noyau de nombreuses cellules, dans l'intestin par les cellules du tiers inférieur des cryptes de la muqueuse, par les lymphocytes du centre germinatif des follicules lymphoïdes et par les lymphocytes et les cellules endothéliales du stroma de la tumeur, qui servent ainsi de témoins internes positifs à la technique.

Le pathologiste doit rechercher une perte de l'expression d'une ou plusieurs de ces protéines dans les cellules tumorales par rapport aux tissus normaux présents sur la coupe histologique.

Pour pouvoir affirmer qu'il existe une perte d'expression d'une protéine, on doit observer une absence de marquage homogène de la totalité des cellules tumorales présentes sur la coupe histologique, en présence d'un témoin interne positif.

CHAPITRE III

RESULTATS

II- Résultats

Nos résultats ont été portés sur les données de littérature dans laquelle nous avons recherché l'instabilité des microsatellites chez les patients atteints du cancer colorectal, qui sont considérés comme des marqueurs moléculaire. Dans ce travail, nous analyserons des articles de recherches

III.1- Les paramètres cliniques

III.1.1- Répartition des patients selon le sexe

L'étude de Tbibel et al, dans l'est de l'Algérie comprend 110 patients atteints de cancer colorectal. La **figure 12** illustre les résultats de la répartition des patients en fonction du sexe (Tbibel et *al.*, 2014).

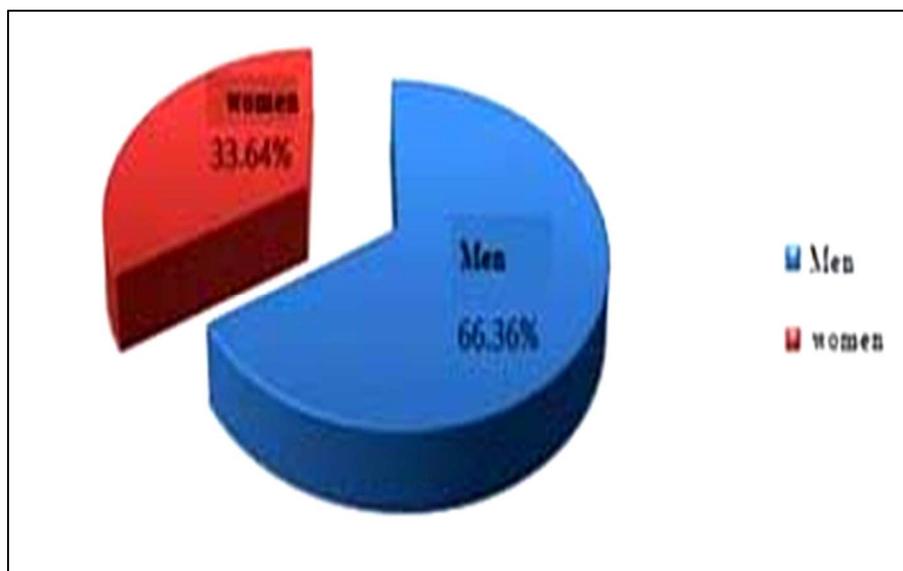


Figure12: Répartition des patients selon le sexe (Tbibel et *al.*, 2014)

Tbibel et *al.*, dénombrent :

- ✓ **Femmes:** 37 cas (33,64%);
- ✓ **Hommes :** 73 cas (66,36%).
- ✓ **Sex ratio = 1,99** ; avec prédominance masculine.

III.1.2- Répartition des résultats des patients selon l'âge et le sexe

Dans la série de Tbibel et *al* en 2014, l'âge moyen des patients au moment du diagnostic est de 56 ans (20 – 87). Les résultats de la répartition des patients en fonction des tranches d'âge et de sexe sont représentés dans la **figure 13** ci-dessous :

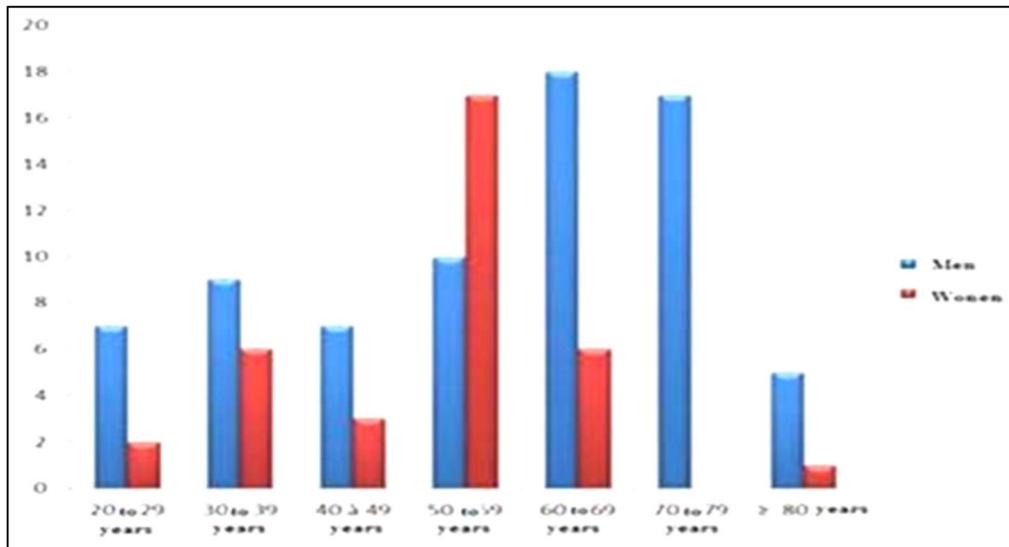


Figure 13: Répartition des patients selon les tranches d'âge et sexe (Tbibel et *al.*, 2014)

En termes d'âge et sexe, ils ont constaté que le cancer colorectal touche beaucoup plus les patients ont une tranche d'âge entre 60 et 69 ans chez les hommes, tandis que le pic de la maladie est enregistré chez les femmes qui ont une tranche d'âge entre 50 et 59 ans (Tbibel et *al.*, 2014).

III. 2. Les paramètres histopronostiques

III.2.1- Répartition des patients selon le degré de différenciation de l'adénocarcinome

Les résultats de la répartition des patients selon le degré de différenciation de l'adénocarcinome colique sont représentés dans la **figure14** (Tbibel et *al.*, 2014).

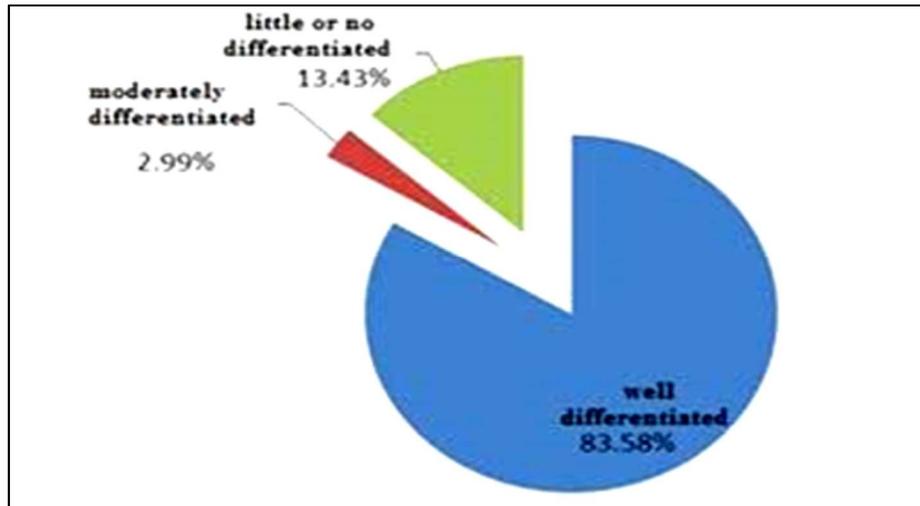


Figure 14 : Représentation graphique du degré de différenciation de l'adénocarcinome colique (Tbibel et *al.*, 2014).

Selon l'étude de Tbibel et *al* en 2014, l'adénocarcinome colique est:

- ✓ **Bien différencié:** 92 cas (83.58%).
- ✓ **Modérément différencié:** 15 cas (13.43%).
- ✓ **Moins différencié:** 3 cas (2.99%).

III.2.2- Répartition des patients selon la localisation de l'adénocarcinome

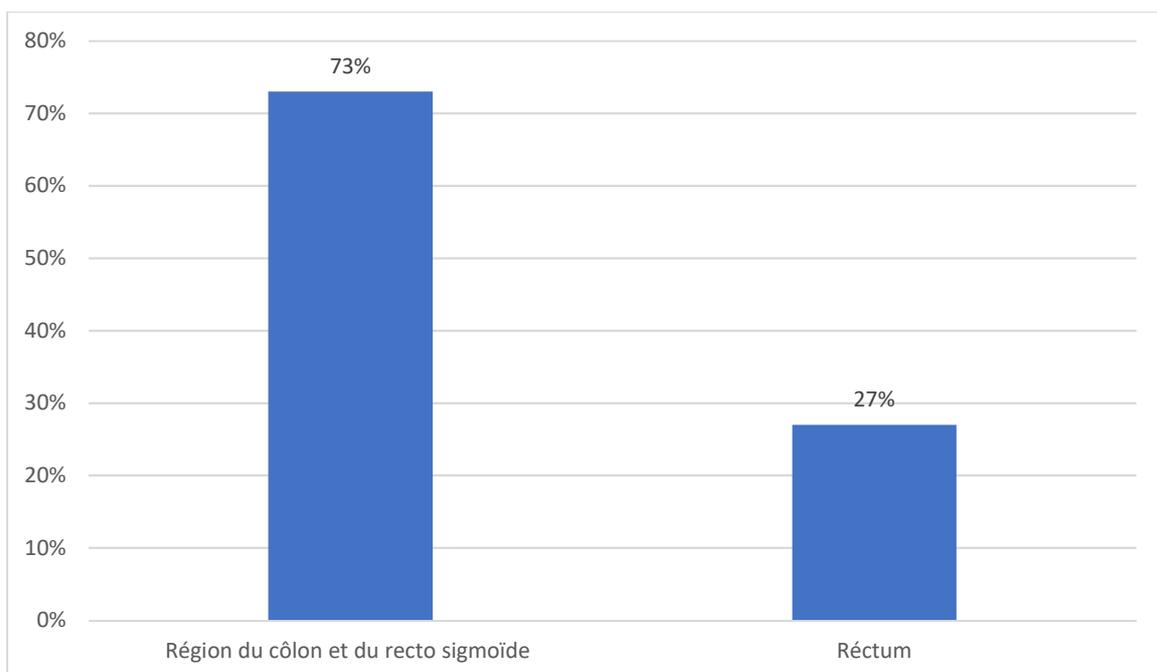


Figure 15: Répartition des patients selon la localisation de l'adénocarcinome

Le CCR, est **retrouvé** dans :

- ✓ Région du côlon + recto sigmoïde : 80 cas (73%)
- ✓ Rectum : 30 cas (27%).

Tbibel et *al*, montrent que la localisation tumorale recto-sigmoïdienne est prédominante (Tbibel et *al*, 2014).

III.2.3- Répartition des patients selon le stade de la tumeur

La classification TNM a fait l'objet d'un consensus international et le stade doit donc être donné selon la classification TNM, qui est à l'heure actuelle celle qui distingue 4 stades notés de I à IV. L'étude de Mesli et *al* en 2016 dans l'ouest de l'Algérie comprend 58 patients atteints de cancer colorectal., a montré que le stade III est le plus fréquent parmi les stades de CCR, le stade II en deuxième position, suivi par le stade I et le stade IV (**Figure 16**).

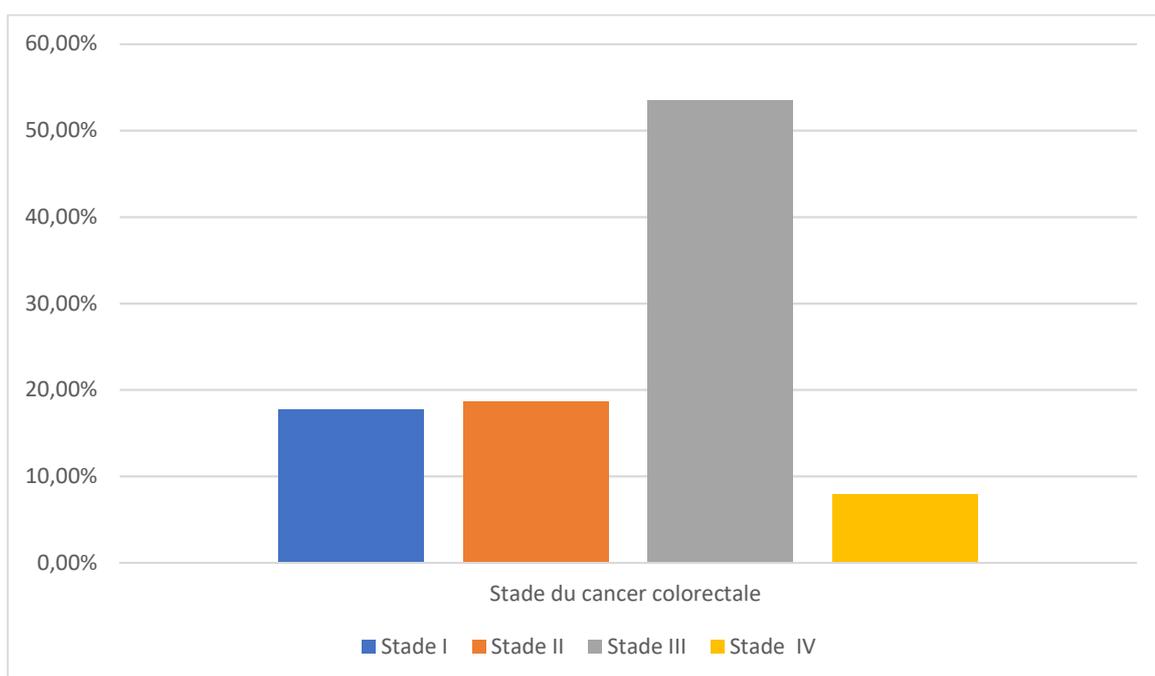


Figure 16 : Répartition des patients selon le stade de la tumeur

Mesli et *al* en 2016, ont constaté que :

- ✓ **Stade I** : 10 cas (17,65%) ;
- ✓ **Stade II** : 11 cas (18,61%) ;
- ✓ **Stade III** : 32 cas (53,44 %) ;
- ✓ **Stade IV**: 5 cas (7,84%).

III.3- Immunohistochimie

III.3.1- Répartition des patients selon l'expression des protéines de système MMR

Molaei et *al.*, ont réalisé une étude a Iran sur 343 patients atteints de cancer colorectal. Les résultats de la répartition d'expression des protéines MMR figurent sous forme de huit images : a1, 2 (MLH1) ; b1, 2 (MSH2) ; c1, 2 (MSH6) ; d1, 2 (PMS2) (**Figures 17 et 18**) ; qui représente des modèles de coloration normaux et anormaux des quatre protéines MMR (Molaei et *al.*, 2010).

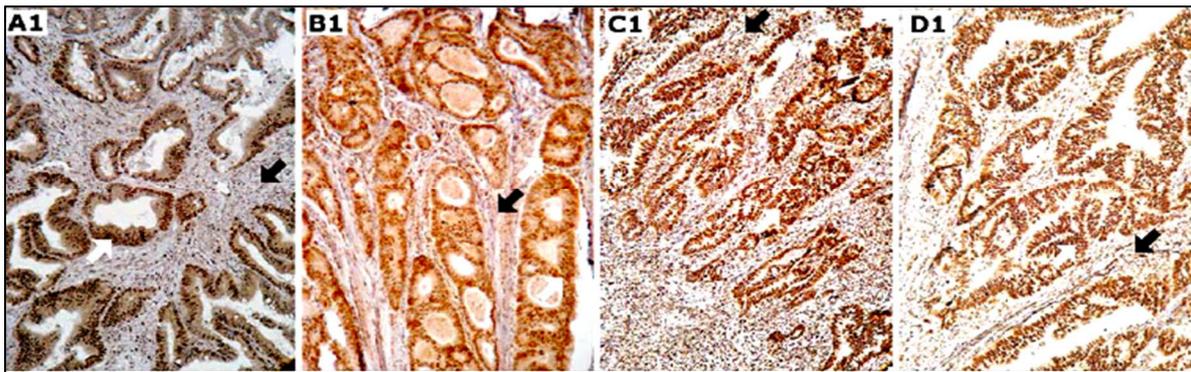


Figure 17 : Une micrographie représente une coloration immunohistochimique normale MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2, respectivement. La coloration nucléaire normale des protéines MMR est notable à la fois dans les cellules stromales (flèches noir) et cellules tumorales épithéliales (flèches blanches), comme accumulation brunâtre de colorant dans le noyau des cellules mentionnées (Molaei et *al.*, 2010)

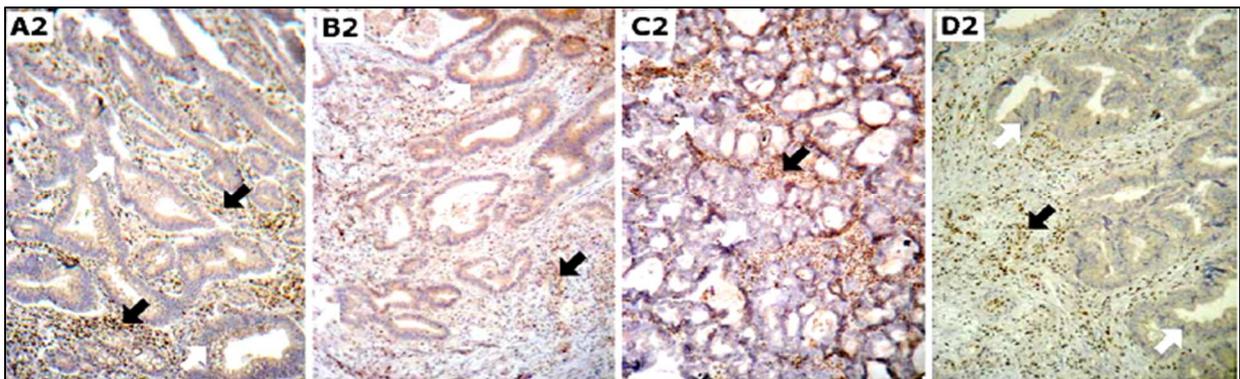


Figure 18 : Une micrographie représente une coloration anormale pour MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2, respectivement. Dans ces séries d'images, les cellules stromales (flèches noir) montrent toujours une coloration normale pour les protéines MMR, alors qu'il n'y a pas d'accumulation de colorant dans le noyau des cellules tumorales épithéliales (flèches blanc) (Molaei et *al.*, 2010)

Cette étude (Molaei et *al.*, 2010), a montré :

- Une expression nucléaire normale de MLH1, MSH6, PMS2, et MSH6, (MSS) chez 295 cas (86%).
- Des schémas de coloration anormaux du MMR (MSI) chez 48 cas (14%).

CHAPITRE IV

***DISCUSSION
DES
RESULTATS***

IV- Discussion des Résultats

Le cancer colorectal (CCR) représente le troisième cancer le plus répandu dans le monde chez les hommes et les femmes (OMS, 2018). Cette maladie peut être causée par les facteurs acquis / environnementaux (Chen et *al.*, 2018).

IV.1- Sexe

Selon l'étude de Tbibel et *al* en 2014, il y a une prédominance masculine de survenue du cancer colorectal avec un sexe ratio de H /F=1,99. Ces données convergent avec les études de Amegbor et *al* (2008) ; Letonturier et *al* (2008) ; Siby et *al* (2010) ; Sadkaoui et *al* (2015) indiquant une légère prédominance masculine et notent 1,8 ; 1,2 ; 1,5 et 1,7 respectivement.

IV.2- Age

Dans l'effectif de la série de Tbibel et *al* en 2014, la moyenne d'âge se situe entre 50 ans et 59 ans chez les femmes tandis que chez les hommes on a un pic de cette maladie entre 60 et 69 ans. De même une étude de Purim et *al* (2013), montre que le risque de cancer colorectal était plus faible chez les femmes pré ménopausées, mais après 55 ans, les taux d'incidence ont augmenté beaucoup plus rapidement chez les femmes que chez les hommes. Les auteurs ont lié ces résultats à la baisse correspondante des taux d'œstrogènes avec l'âge chez les femmes. Ces données sont comparables à celle de Mrad et *al* (2006) où l'âge moyen était de 56 ans.

IV.3- Étude histopathologiques

IV.3.1- Degré de différenciation

L'étude histopathologique de Tbibel et *al* en 2014, montre que l'adénocarcinome bien différencié est le type histologique prédominant retrouvé chez 110 patients, soit 83.58%, suivie des formes moyennement et peu différenciée avec des fréquences de 13.43% et 2.99%, respectivement. Ces résultats sont analogues à ceux de Ghalek et *al* (2011). Dans cette étude la forme bien différenciée était dominante avec 58,6% suivie des formes moyennement et peu différenciée avec des fréquences de 27,3% et 14,1%, respectivement.

IV.3.2- Localisation tumorale

Dans la série de Tbibel et *al* en 2014, il a été constaté que la localisation tumorale recto-sigmoïdienne est prédominante. Ce résultat rejoint ceux du registre du cancer de l'Arizona analysé par Jandova et *al* (2015) qui a rapporté une incidence plus élevée des tumeurs du colon gauche chez les habitants des îles de l'Asie. Cette prédominance est selon la région.

Dans l'étude de Bernstein et *al* (2016), les cancers du côlon gauche sont plus favorables puisqu'ils sont détectés précocement. Les patients consultent souvent pour des rectorragies ou bien une obstruction partielle. Dans cette même étude les patients présentant un cancer colique proximal souffrent généralement d'une anémie chronique et présenteraient des métastases précoces essentiellement au niveau du foie.

IV.3.3- Stade de la tumeur

L'étude de Mesli et *al* en 2016, a montré que le stade III est le plus fréquent parmi les stades de cancer colorectal avec un pourcentage de 53,44 %, le stade II avec 18,61% en deuxième position, le stade I avec 17,65%, et le stade IV ne présente que 7,84%. Le statut clinique de ses résultats concorde avec les études de Chan et *al* (2010) ; qui a montré que la fréquence des malades de stade III était la plus élevée.

IV.4- Immunohistochimie

L'instabilité des microsatellites (MSI) est l'un des principaux mécanismes du cancer colorectal. Ce mécanisme est une condition spécifique d'hyper-mutabilité génétique qui résulte d'une réparation incompetente des mésappariements d'ADN (Chen et *al.*, 2018).

Le système MMR fait intervenir plusieurs protéines qui agissent de façon séquentielle, et agissent en cascade. Les mésappariements sont d'abord reconnus par l'hétérodimère de protéines hMSH2/ hMSH6 puis par un second hétérodimère qui est composé des protéines hMLH1 et hPMS2. La réparation se poursuit par des étapes d'excision, de resynthèse et de jonction faisant intervenir d'autres protéines. En cas d'inactivation d'une protéine du système MMR, la correction des erreurs de la réplication de l'ADN est déficiente. Ces erreurs surviennent préférentiellement au niveau de séquences répétées, dites microsatellites qui ne seront pas réparées, contribuant à la carcinogenèse colorectale (Bibeau, 2012).

Dans ce cas L'immunohistochimie permet d'étudier sur coupes en paraffine l'expression tissulaire des protéines du système MMR. Elle va souligner la cause du statut MSI en objectivant l'absence d'expression d'une des protéines impliquées dans la réparation des mésappariements de l'ADN (Bibeau, 2012).

IV.4.1- Expression des protéines de système MMR

Selon l'étude de Molaei et al en 2010 sur 343 patients, il y a 295 (86%) qui ont montré une expression nucléaire normale de MLH1, MSH6, PMS2, et MSH6, (MSS) et 48 (14%) ont montré des schémas de coloration anormaux du MMR (MSI), et selon l'étude de Yuan et al en 2015 sur les 296 patients, il y a 77 (26%) représentent une perte d'expression des protéines de système MMR classés comme MSI, et 219 (74,0%) ne représente pas une perte d'expression de ces protéines classés comme MSS, donnant lieu à une prédominance de phénotype MSS par rapport au phénotype MSI.

Ces résultats indiquent une stabilité micro satellitaire (MSS), en accord avec les travaux de Fléjou (2006) qui a étudié l'expression des protéines MMR et instabilité de microsatellites dans une série consécutive de 1 555 cancers colorectaux qui montrait une perte d'expression d'une protéine MMR n'était présente que dans 127 cas (8,2%).

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

Conclusion et perspectives

Le cancer colorectal est une pathologie fréquente nécessitant une prise en charge multidisciplinaire. Plusieurs facteurs influencent la survenue du cancer colorectal, y compris les facteurs cliniques anatomopathologique, génétique, et environnementaux.

D'après les résultats, nous avons constaté que :

- Le cancer colorectal touche beaucoup plus les patients qui ont une tranche d'âge entre 60 et 69 ans chez les hommes, tandis que le pic de la maladie est enregistré chez les femmes qui ont une tranche d'âge entre 50 et 59 ans ;
- L'adénocarcinome bien différencié est le type histologique prédominant ;
- La localisation tumorale recto-sigmoïdienne est prédominante ;
- Le stade III est le plus fréquent parmi les stades de cancers colorectaux ;
- La prédominance de phénotype MSS par rapport au phénotype MSI.

L'analyse anatomo-pathologique est la base de la discussion thérapeutique pour les cancers colorectaux de stade localisé, car elle permet la détermination de plusieurs facteurs pronostiques.

Ces études ont mis en évidence, que l'immunohistochimie est indispensable pour individualiser le groupe MSI, et que l'histologie seule n'est pas prédictive. Ces résultats confirment également l'intérêt des protéines de système MMR dans le diagnostic du cancer colorectal.

Il faut se pencher sur ce problème en préconisant:

- ✓ Arrêter de fumer et limiter la consommation de boissons alcoolisées ;
- ✓ Limiter la consommation de viandes rouges (une consommation ≥ 100 g/j augmente de 29 % le risque de cancer colorectal) et limiter la consommation de charcuteries (une consommation ≥ 50 g/j augmente de 21 % le risque de cancer colorectal) ;
- ✓ Augmenter la consommation de fibres alimentaires ;
- ✓ Augmenter la consommation de laitages ;
- ✓ Augmenter l'activité physique;
- ✓ Maintenir son poids dans les limites d'un poids normal.

Conclusion et Perspectives

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

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Amegbor K, Napo-Koura GA, Songne-Gnamkoulamba B, Redah D, Tekou A.** (2008). Tumeurs digestives au Togo-Aspects épidémiologiques et anatomopathologiques des tumeurs du tube digestif au Togo. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, 32(4), p 430.
2. **André T.** (2019). L'instabilité des microsatellites (MSI): meilleur facteur prédictif d'efficacité des inhibiteurs de checkpoints (ICKi) immunitaires? *Bulletin du Cancer fait le point!* Bulletin du Cancer, 106, p 91-93.
3. **Barzi, A., Lenz, A. M., Labonte, M. J., & Lenz, H. J.** (2013). Molecular pathways: estrogen pathway in colorectal cancer. *Clinical Cancer Research*, 19(21), 5842-5848.
4. **Bibeau F, Boissière F, Laurent-Puig P.** (2011). Formes familiales des cancers colorectaux: techniques diagnostiques. *Côlon & rectum*, 5, p 179.
5. **Bibeau F, Hazebroucq J, Pierson R, Khellaf L.** (2013). Facteurs pronostiques des cancers colorectaux localisés. *Côlon & rectum*, 7, p 134-142.
6. **Bibeau F.** (2017). The MSI status: An almost ideal marker. *Annales de pathologie*, 37, p 439.
7. **Bogaert J, Prenen H.** (2014). Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of gastroenterology*, 27, p 9.
8. **Bojuwoye M. O, Olokoba A. B, Ogunlaja O. A, Agodirin S. O, Ibrahim O. K, Okonkwo K. C, Aliyu A. M.** (2018). Familial adenomatous polyposis syndrome with colorectal cancer in two Nigerians: a report of two cases and review of literature. *The Pan African medical journal*, 30, p 6.
9. **Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann J. T, Aparicio J, De Braud F, Loos A. H.** (2009). Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *Journal of clinical oncology*, 27, p 663-671.
10. **Bouguenouch L, Samri I, Belhassan K, Sayel H, Abbassi M, Bennis S, Ouldin K.** (2016). Syndrome de Lynch: à propos d'un cas et revue de la littérature. *The Pan African Medical Journal*, 24, p 142.
11. **Bruneau A, Baylatry M. T, Joly A. C, Sokol H.** (2018). Le microbiote intestinal : quels impacts sur la carcinogénèse et le traitement du cancer colorectal? *Bulletin du Cancer*, 105, p70-80.

Références bibliographiques

12. **Chan AT, Giovannucci EL.** (2010). Primary prevention of colorectal cancer. *Gastroenterology*, 138(6), p 2029-2043.
13. **Chen L, Pan X, Hu X, Zhang YH, Wang S, Huang T, Cai YD.** (2018). Gene expression differences among different MSI statuses in colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, 143(7), p 1731-1740.
14. **Colle R, Cohen R.** (2018). Épidémiologie des tumeurs MSI : fréquence des tumeurs MSI en fonction de la localisation du cancer et de son stade. *Bulletin du Cancer*, 106, p 114-118.
15. **Davis D, Lahiri S.** (2015). Application of Oncolytic Viruses for Cure of Colorectal Cancer. *Cancer Research Journal*, 3, p 76.
16. **Dalerba P, Dylla SJ, Park IK, Liu R, Wang X, Cho RW, Shelton AA.** (2007). Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, p 10158-10163.
17. **Delmas V.** Anatomie générale. Anatomie du colon et du rectum. 6^{ème} Ed. France: Elsevier Masson. (2009), p 336.
18. **Denis B, Guittet L.** (2015). Dépistage du cancer colorectal par test immunologique quantitatif de recherche de sang occulte dans les selles : une révolution? *Hépatogastro & Oncologie Digestive*, 22, p 119-129.
19. **Dreyer C, Afchain P, Trouilloud I, André T.** (2016). Nouvelles classifications moléculaires du cancer colorectal, du cancer du pancréas et du cancer de l'estomac: vers un traitement à la carte? *Bulletin du Cancer*, 103, p 643-650.
20. **Evrard C, Tachon G, Randrian V, Karayan-Tapon L, Tougeron D.** (2019). Microsatellite Instability: Diagnosis, Heterogeneity, Discordance, and Clinical Impact in Colorectal Cancer. *Cancers*, 11, p 1567.
21. **Ewing I, Hurley J. J, Josephides E, Millar A.** (2014). The molecular genetics of colorectal cancer. *Front line gastroenterology*, 5, p 26-30.
22. **Falzone L, Scola L, Zanghì A, Biondi A, Di Cataldo A, Libra M, Candido S.** (2018). Integrated analysis of colorectal cancer microRNA datasets: Identification of microRNAs associated with tumor development. *Aging (Albany NY)*, 10, p 1000.
23. **Fearon E. R, Vogelstein B.** (1990). A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 61, p 759-767.
24. **Fior F, Michel P.** (2009). Prognostic role of KRAS mutation in colorectal cancer. *Bulletin du cancer*, 96, p S23-30.

Références bibliographiques

25. **Fléjou JF, Lascols O, Mourra N, Svrcek M, Parc Y, Tiret E, Hamelin R.** (2006). Expression des protéines MMR et instabilité de microsatellites dans une série consécutive de 1 555 cancers colorectaux. *Annales de Pathologie*. Elsevier Masson, 26, p. 127.
26. **Fleming M, Ravula S, Tatishchev SF, Wang HL.** (2012). Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *Journal of gastrointestinal oncology*, 3, p 153.
27. **Ghalek M.** (2011). Etude épidémiologique, anatomopathologique et génotypique du cancer du côlon dans une population de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Ahmed Ben Bella d'Oran. Algérie. p 168 .
28. **Gibson J, Lacy J, Matloff E, Robert M.** (2014). Microsatellite instability testing in colorectal carcinoma: a practical guide. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(2), p 171-176.
29. **Guennoun N.** (2014). Cancer colorectal : les utilités cliniques des marques biologiques. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Mohamed V-Souissi. Rabat, 136 p.
30. **Hartley AV, Martin M, Lu T.** (2019). Epigenetic Biomarkers and Their Therapeutic Applications in Colorectal Cancer. In *Advances in the Molecular Understanding of Colorectal Cancer*. Intech Open, p 1-28.
31. **Imad FE, Drissi H, Tawfiq N, Bendahhou K, Jouti NT, Benider A, Radallah D.** (2019). Aspects épidémiologiques, nutritionnels et anatomopathologiques des cancers colorectaux dans la région du grand Casablanca. *The Pan African Medical Journal*, 32, p 56.
32. **Jandova J, Ohlson E, Torres MR, DiGiovanni R, Pandit V, Elquza E, Nfonsam V.** (2016). Racial disparities and socioeconomic status in the incidence of colorectal cancer in Arizona. *The American Journal of Surgery*, 212(3), p 485-492.
33. **Krasinskas AM.** (2011). EGFR signaling in colorectal carcinoma. *Pathology research international*, 2011, p 932932.
34. **Lamoril J, Deybach JC, Bouizegarène P.** (2006). L'instabilité des microsatellites dans les cancers du côlon. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 21, p 211-222.
35. **Launoy G.** (2009). Les progrès du dépistage du cancer colorectal liés à l'utilisation des nouveaux tests immunologiques de recherche de sang dans les selles. *Pathologie Biologie*, 57, p 488-492.
36. **Laurent-Puig P, Agostini J, Maley K.** (2010). Oncogenèse colorectale. *Bulletin du cancer*, 97, p 1311-1321.

Références bibliographiques

37. **Laurent-Puig P.** (2009). Critères biologiques d'éligibilité pour un traitement anti-EGFR. *Médecine/sciences*, 25, p 21-24.
38. **Letonturier, P.** (2008). Colorectal cancer, from detection to treatment. *Presse medicale* (Paris, France: 1983), 37(10), p 1525.
39. **Lièvre A.** (2010). Mutations du gène KRAS et réponse aux anticorps anti-EGFR dans les cancers colorectaux: ce qu'il faut retenir. *La Lettre de l'hépto-gastroentérologue*, 13, p 192-195.
40. **Marieb EN.** *Biologie humaine. Principe d'anatomie et physiologie.* 8^{ème} édition du Renoeau pédagogique Inc. Paris. (2008), p 505-506.
41. **Meilleroux J.** (2016). Evaluation de la qualité des critères anatomopathologiques de la réalisation des tests moléculaires chez les patients atteints de cancers colorectaux ; étude observationnelle portant sur 2067 patients atteints de cancers colorectaux. Thèse de Doctorat en Médecine. Université Toulouse III-Paul Sabatier. France. P21.
42. **Mesli SN, Regagba D, Tidjane A, Benkalfat M, Abi-Ayad C.** (2016). Analyse des facteurs histo-pronostiques du cancer du rectum non métastatique dans une série ouest Algérienne de 58 cas au CHU-Tlemcen. *Pan African Medical Journal*, 24(1), p1-7.
43. **Mnif L, Chtourou L, Abid F, Gdoura H, Amouri A, Boudabbous M, Tahri E.** (2018). Hereditary non polyposis colorectal cancer (lynch syndrome). *Journal de l'information Médicale de Sfax*, 30, p 1-6.
44. **Mojarad E. N, Kuppen P. J, Aghdaei H. A, Zali M. R.** (2013). The CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 6, p 120.
45. **Moore JS, Aulet TH.** (2017). Colorectal cancer screening. *Surgical Clinics*, 97, p 487-502.
46. **Molaei, M., Pejhan, S., Nayer, B. N., Moradi, A., Ghiasi, S., & Zali, M. R.** (2009). Human epidermal growth factor receptor-2 family in colorectal adenocarcinoma: correlation with survival and clinicopathological findings. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 21(3), p 289-293.
47. **Morère JF, Mornex F, Demis S.** (2011). *Thérapeutique du cancer.* 2^{ème} Ed. France: Springer-Verlag. p 1027.
48. **Mrad ST, Harrabi I, Belajouza S, Chaouache K, Bouaouina N.** (2006). Le cancer du rectum dans le centre de la Tunisie : à propos de 165 cas. *Cancer / Radiothérapie*, 6(10), p 516.

Références bibliographiques

49. **Nagtegaal ID, Arends MJ, Odze RD, Lam AK.**(2019). Digestive system tumours. 5thEd. Edited by the WHO classification of tumors editorial board. p 635.
50. **Pierre M.** (2017). Adénocarcinome colorectal: MSI pour tous! Annales de pathologie, 37, p 437-438.
51. **Pino M S, Chung DC.** (2010). The chromosomal instability pathway in colon cancer. Gastroenterology, 138, p 2059-2072.
52. **Prashanth R, Sunkara T, Barsouk, A.** (2019). Epidemiology of colorectal cancer: Incidence, mortality, survival, and risk factors. Przegląd Gastroenterologiczny, 14, p 89.
53. **Purim O, Gordon N, Brenner B.** (2013). Cancer of the colon and rectum: potential effects of sex-age interactions on incidence and outcome. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 19, p 203.
54. **Rougier P, Mitry E, Dominguez S.** (2006). Les cancers digestifs. France: Springer Editions, p 381.
55. **Sinicrope FA, Sargent DJ.** (2012). Molecular pathways: microsatellite instability in colorectal cancer: prognostic, predictive, and therapeutic implications. Clinical cancer research, 18, p 1506-1512.
56. **Selves J.** (2009). Aspects histologiques et critères d'évaluation pronostique. Médecine/sciences, 25, p 9-12.
57. **Siby A.** (2010). Evaluation de la prise en charge des cancers colorectaux à la poly clinique internationale sainte Anne Marie (Pisam) d'Abidjan, Thèse Doctorat en médecine. Université de BAMAKO Abidjan. Mali. P 133.
58. **Stvens A, Low J.**Histologie humaine. 3^{ème} Ed. France: Elsevier Masson. (2006), p 458.
59. **Tbibel S, Zouaghi Y, Atallah S, Mechaty C, Messaoudi S, Kabbouch S.** Colorectal Cancer: Epidemiological Study, Clinical, Pathological and Immunohistochemical Examination in Patients of Eastern Algeria. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 26(2):p 13-18.
60. **Tol J, Dijkstra JR, Klomp M, Teerenstra S, Dommerholt M, Vink-Börger ME, Nagtegaal ID.** (2010). Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. European journal of cancer, 46, p 1997-2009.
61. **Tournier B, Lepage C, Chapusot C, Manfredi S, Marref I.** (2018). Cancers du côlon: prise en charge moléculaire. Revue Francophone des Laboratoires, 506, p 40-45.
62. **Yuan L, Chi Y, Chen W, Chen X, Wei P, Sheng W, Shi D.** (2015). Immunohistochemistry and microsatellite instability analysis in molecular subtyping of

Références bibliographiques

colorectal carcinoma based on mismatch repair competency. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 8(11), p 20988.

63. Zaanan A, Taïeb J. (2011). Phénotype MSI et cancer colorectal opérable: clarifions les choses. La Lettre du Cancérologue, 3, p198-202.

64. Registre des tumeurs d'Alger année 2013.

URL:file:///C:/Users/sid%20ali/Downloads/Documents/Registre%20des%20tumeurs%20Alger_2013_3.pdf

65. Registre des tumeurs d'Alger année 2017.

URL:file:///C:/Users/sid%20ali/Desktop/epid%20alger/Registre_tumeurs_Alger_2017.pdf

66. American Joint Committee on Cancer (AJCC) année 2017.

ANNEXES

Annexe 01 :

Tableau I: Classification TNM des carcinomes colorectaux (AJCC, 2017)

Stade	T	N	M
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stade IIIB	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
Stade IIIC	T4a	N2a	M0
	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stade IVA	Tous T	Tous N	M1a
Stade IVB	Tous T	Tous N	M1b
Stade IVC	Tous T	Tous N	M1c

Tis: Carcinome in situ, **T1:** Tumeur infiltrant la sous-muqueuse, **T2:** Tumeur infiltrant la musculature, **T3:** Tumeur infiltrant la sous séreuse, **T4:** Tumeur infiltrant le péritoine viscéral (T4a), ou envahissant des organes (T4b), **N0:** Absence de métastase ganglionnaire, **N1a:** 1 ganglion lymphatique régional métastatique, **N1b:** 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques, **N1c :** dépôt(s) tumoral (aux) dans la sous séreuse sans ganglions lymphatiques régionaux métastatiques, **N2a:** 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques, **N2 b :** ganglions lymphatiques régionaux métastatique, **M0:** Absence de métastase à distance, **M1a:** Métastase dans un seul organe, **M1b:** Métastase dans plus d'un organe, **M1c:** Métastase péritonéale avec ou sans envahissement d'un autre organe.

Annexe 02:

Appareillages :



Automate immunohistochimie (VENTANA)



Autocuiseur (PHILIPS)



Microtome (Leica RM2125 RTS)



Etuve de déparaffinage (Scienvo)



Appareil de circulation (Leica)

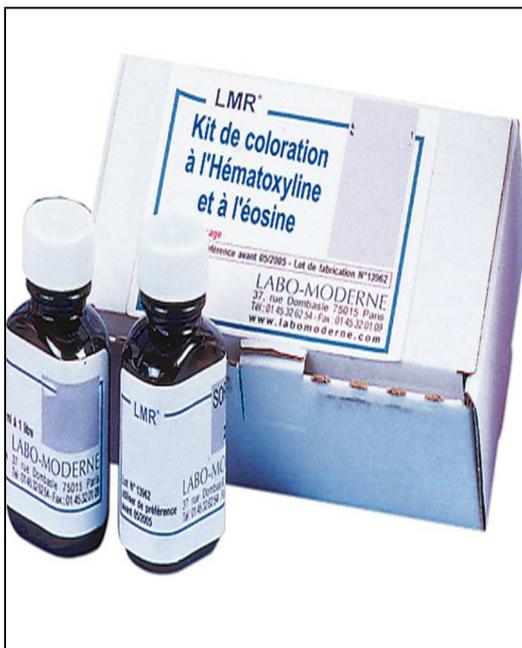
Annexe 03:

Matériel non biologique :



Formaldéhyde

Peroxydase endogène



Hématoxyline éosine

Hématoxyline de Harris

Annexe 04:



Fixation par le formol



blocage de poerixydase endogene



La macroscopie

Annexe 05:

Mode opératoire de technique de coloration

- **Déparaffinage:** passage des lames dans 3 bains de xylène 5 minutes chacun.
- **Réhydratation:** passage des lames dans 3 bains d'éthanol de concentration décroissante (100°, 90°, et 80°) 2 minutes chacun.
- **Rinçage:** passage dans l'eau courant.
- **Coloration à l'hématoxyline de Harris:** 1 bain pendant 4 minutes pour colorer les noyaux en bleu.
- **Rinçage :** passage dans l'eau courante.
- **Différentiation :** 1 bain d'Alcool d'acide pendant 30 secondes.
- **Bleuissement :** L'eau ammoniaquée de 30 secondes à 1minute
- **Coloration à l'éosine :** 1 bain pendant une minute pour colorer le cytoplasme en rose.
- **Rinçage :** passage dans l'eau courant.
- **Déshydratation :** passage dans 3 bains d'éthanol de concentration croissante (80°,90° et 100°) d'une minute chacun.
- **Eclaircissement :** passage dans 3 bains de xylène pour éclaircir les tissus pendant 1 minute chacun.
- **Montage des lames :** dépôt d'une goutte de l'Eukitt puis recouvrir à l'aide d'une lamelle
- **Observation microscopique :** A l'aide d'un microscope photonique multi-tête à différents grossissement (X100, X200, et X400) on a pu réaliser l'observation de nos lames.

Annexe 06 :

- Répartition des patients selon le sexe :

Ecart type :25,45

Moyenne : 55

- Répartition des patients selon le degré de différenciation de l'adénocarcinome

Ecart type : 48,29

Moyenne : 36,66

- Répartition des patients selon la localisation de l'adénocarcinome

Ecart type : 25,35

Moyenne : 55

- Répartition des patients selon le stade de la tumeur

Ecart type : 11 ,95

Moyenne : 14,5

- Répartition des patients selon l'expression des protéines de système MMR

Ecart type : 174,65

Moyenne : 171,5