

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme master II en
biologie
Option : bio-signalisation cellulaire et moléculaire,
Génétique du cancer

Thème

Utilisation de l'immunohistochimie des protéines
MMR dans le diagnostic du syndrome de Lynch
chez les familles algériennes

Présenté et soutenu publiquement le :

.../09/2017

Par

M^{elle} AZZOUNE Fella

&

Mme BAHRIA Bouchra

Devant les membres de jury :

Mme KANANE A.	Maitre assistante à l'UB1	Présidente
Mme KESKAS S.	Maitre de conférence A à l'UB1	Examinatrice
Mme AIT KACI H.	Maitre de conférence A au CPMC	Promotrice
Mme KADDAH L.	Doctorante en 5^{ème} année LMD à USHB	Copromotrice

Remerciements

Avant tout, nous remercierons *ALLAH* le tout puissant de nous avoir donné le courage , la volonté , la force et la patience de mener à terme le présent travail .

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promotrice madame AIT KACI professeur en anatomie pathologie au CPMC de nous avoir accueilli et encadré durant notre stage, pour son aide et sa précieuse attention.

Nos vifs remerciements à notre co-promotrice madame BOUMEHDI KADDAH pour son entière disposition , ses judicieux conseils, sa patience et sa gentillesse, mais surtout pour son esprit paternel.

Nos sentiments de profonde gratitude vont à nos enseignants qui tout au long des années d'études nous ont transmis leur savoir sans réserve.

Nos remerciements s'adressent également à tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger notre modeste travail.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration du présent mémoire.

Enfin, un grand merci à nos collègues , nos amis , nos parents et familles pour leur soutien et leur encouragement.

Merci d'être toujours là pour nous....

Dédicaces

Du profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

MES PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

MON GRAND PERE DE COTE MATERNEL,

Ce travail est dédié à mon Grand-père, qui nous a quitté voilà Trois ans, il m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

MES GRANDS PARENTS DE COTE PATERNEL

Décédés trop tôt. Que leur lieu de repos soit le paradis.

MES SŒURS Meriem , Khouloud, Aïcha et Khadidja.

MES FRERES Mohamed et Abdallah.

MON MARI

Merci énormément pour ton soutien plus que précieux, Merci pour ton grand cœur toutes vos qualités qui seraient trop longues à énumérer, Ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour.

Ma belle famille.

Tous mes oncles et mes tantes.

Tous mes camarades de promotion 2017 .

BAHRJA Bouchra

Dédicaces

Avec un énorme plaisir , un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail ...

A mes chers parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et tous les efforts consentis pour mon éducation et ma formation .

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de vos sacrifices innombrables et votre soutien infaillible. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Ma chère sœur et mon cher frère pour leur amour , leur soutien et tous le bonheur qu'ils portent à ma vie

A mes cousines , et toute ma famille pour leur amour et encouragements.

Je dédie ce mémoire à tous mes ami(e)s et mes collègues pour leur indéfectible soutien et leur confiance infinie.

A un ami très cher Houcin , je te dédie ce travail en hommage à ton affection amicale, ta confiance et ton encouragement motivant qui m'ont donné l'espoir et la persévérance d'achever ce travail.

Merci à toute personne qui a crus en moi et est toujours à mes coté.

Azzoune Fella

Liste des abréviations

5-Fu : 5 Fluorouracil

ABD : Adénocarcinome bien différencié

AC I/II : Critères d'Amsterdam I et II

AMD : Adénocarcinome moyennement différencié

APD : Adénocarcinome peu différencié

CCR : Cancer colorectal

CIMP : Phénotype méthylateur des ilots CpG

CIN : Instabilité chromosomique

CMMRD : Syndrome de déficience constitutionnelle des MMR

HNPCC : Cancer colorectal héréditaire non polyposique

IHC : Immunohistochimie

LOH : Loss of heterozygosity

LS : Lynch syndrome

MLH1 : MutL Homologu 1

MMR : Mismatch repair

MSH2 : MutS Homolog 2

MSH6 : MutS Homolog 6

MSI : Microsatellites instables

MSI-H : instabilité des microsatellites - High

MSI-L : : instabilité des microsatellites - Low

MSS : Microsatellites stables

PPAP : le Syndrome de polypose associé à la correction de polymérase

TNM : Tumor Nodes Metastasis

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Chapitre I : Introduction et Synthèse bibliographique

Introduction	01
1. Rappel sur les cancers	02
1.1 Définition	02
1.2 Anatomie du colon	03
1.3 Histologie de la muqueuse colique	03
2. Épidémiologie des cancers colorectaux	04
2.1. Épidémiologie des cancers colorectaux dans le monde	04
2.2. Épidémiologie des cancers colorectaux en Algérie	05
2.3. Les cancers colorectaux sporadiques et héréditaires ..	05
3. Le syndrome de Lynch	06
3.1 Définition du syndrome de Lynch	06
3.2 La carcinogénèse colique dans le syndrome de Lynch	07
3.3 Identification des patients atteints du syndrome de Lynch	09
3.4 Variantes du syndrome de Lynch	11
4. Génétique moléculaire du syndrome de Lynch	12
4.1 Structure des gènes MMR	12
4.1.1 Structure du gène <i>MLH1</i>	12
4.1.2 Structure du gène <i>MSH2</i>	12
4.1.3 Structure du gène <i>MSH6</i>	13
4.2 Structure des protéines MLH1, MSH2 et MSH6	13

4.2.1	Structure de la protéine MLH1	13
4.2.2	Structure de la protéine MSH2	14
4.2.3	Structure de la protéine MSH6	14
4.3	Rôle des protéines MMR dans la réparation des mésappariements d'ADN	15
5.	Diagnostic biologique du syndrome de Lynch	16
5.1	Analyse immunohistochimique sur tissu tumoral	16
5.1.1	Les facteurs influençant l'immunohistochimie	17
5.3	Génotypage tumoral et statut MSI	18
5.4	Stratégie de diagnostic du Syndrome de Lynch.	20
6.	thérapeutique	20
6.1	Chimiothérapie	21
6.2	Chirurgie prophylactique	21

CHAPITRE II : Matériel et Méthodes

1.	Matériels	22
1.1	Patients	22
1.2	Matériel biologique	22
2.	Méthodes.....	22
2.1	Etude épidémiologique	22
2.2	Pédigrées	23
2.3	Méthode Immunohistochimique comme outil de diagnostic	23

CHAPITRE III: Résultats et Discussion

1.	Résultats	25
1.1	Analyse épidémiologique	25
1.2	Etude généalogique des patients atteints du syndrome de Lynch	29
1.3	Profil immunohistochimique des protéines MMR sur des pièces tumorales	35
2.	Discussion	38

Conclusion	41
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

3. Annexes

3.1	Annexe A
3.2	Annexe B

Liste des tableaux**Page**

Tableau I . Critères d'Amsterdam I et II	10
Tableau II . Lignes directrices révisées de Bethesda	10
Tableau III. Caractéristiques cliniques des patients	28
Tableau IV. Profil immunohistochimique des protéines MMR	36
Tableau V. Les réactifs utilisés en immunohistochimie	Annexe A

Figure 1 . Les principaux caractéristiques de la cellule cancéreuse.....	2
Figure 2 . Anatomie du colon.....	3
Figure 3 . Histologie de la paroi colique.....	4
Figure 4. Incidence de cancer colorectal en fonction de l'âge dans le monde en 2012.....	5
Figure 5. Les différents types du cancer colorectal	6
Figure 6. Mécanisme de l'instabilité des microsatellites.....	9
Figure 7 . Diagramme du gène <i>MLH1</i>	12
Figure 8. Diagramme du gène <i>MSH2</i>	12
Figure 9 . Diagramme du gène <i>MSH6</i>	13
Figure 10 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MLH1.....	13
Figure 11 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MSH2.....	14
Figure 12 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MSH6.....	14
Figure 13. Mécanisme de réparation des mésappariements chez l'homme	16
Figure 14 . Mise en évidence d'une MSI	19
Figure 15. Algorithme de teste de syndrome de Lynch	20
Figure 16. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction de l'âge	25
Figure 17. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction du sexe	26
Figure 18. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction de la localisation tumorale	27
Figure 19 . Coloration immunohistochimique des protéines MLH1, MSH2 et MSH6	37

Résumé

Introduction : Le CCR est le troisième cancer diagnostiqué à l'échelle mondiale et une importante cause de mortalité lié au cancer. Le syndrome de lynch (LS) est le plus fréquent des formes héréditaires des CCR. C'est une affection génétique de transmission autosomique dominante due aux mutations germinales dans les gènes de réparation d'ADN MMR (*MSH2*, *MLH1*, *MSH6* et *PMS2*). L'immunohistochimie est un outil de dépistage recommandé pour identifier les patients LS à cause de sa simplicité et sa disponibilité dans les différents laboratoires d'anatomopathologie.

Objectif : Etude épidémiologique des CCR en Algérie et identification des patients LS par application de l'immunohistochimie.

Matériels et méthodes : Une étude rétrospective de 2013 à 2016 a été effectuée dans laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique du CPMC d'Alger. Une série qui porte sur 20 cas parmi 858 patients atteints de CCR a été sélectionnée d'après les critères clinique du LS et sur la quelle une immunohistochimie des protéines MMR a été réalisée.

Résultats : 858 patients avec CCR ont été identifiés avec prédominance masculine (53%). Un échantillonnage de 20 patients parmi ceux-ci ont subi une immunohistochimie des protéines MMR, dont l'âge moyen est de 40 ans (22 ans-58 ans). 18 (90%) ont montré une perte d'expression d'une ou plus des protéines MMR et présentent une histoire familiale et/ou personnelle du cancer du spectre HNPCC.

Conclusion : En Algérie, il existe un manque de données concernant la prévalence de LS chez les patients atteints de CCR. L'identification des patients atteints de LS est très importante ce qui permet d'adapter une thérapie adéquate, une prévention du cancer pour les patients et leur familles. Ainsi la création de registres du cancer colorectale familiale faciliterons la prise des personnes atteintes et permettrons d'économiser un cout financier considérable pour le système de santé.

Mots clés : Cancer colorectal, Syndrome de Lynch, Instabilité microsatellitaire, Protéines MMR, Immunohistochimie.

Abstract

Introduction : The CRC is the third cancer diagnosed globally and a major cause of cancer-related death. Lynch syndrome (LS) is the most common hereditary form of CRC. It is a genetic condition of autosomal dominant transmission due to germline mutations in MMR DNA repair genes (MSH2, MLH1, MSH6 and PMS2).

Immunohistochemistry is a recommended screening tool for identifying LS patients because of its simplicity and availability in different pathology laboratories.

Objective : Epidemiological study of CRC in Algeria and identification of LS patients by application of immunohistochemistry.

Materials and Methods: A retrospective study from 2013 to 2016 was carried out in the laboratory of anatomy and pathological cytology of the CPMC of Algiers. A series of 20 cases among 858 patients with CRC was selected according to the clinical criteria of LS and on which immunohistochemistry of the MMR proteins was performed.

Results: 858 patients with CRC were identified with predominantly male (53%). A sample of 20 patients underwent immunohistochemistry of MMR proteins, with an average age of 40 years (22 years-58 years) .18 (90%) showed a loss of expression of one or more than one MMR proteins and have a family history and / or personal history of HNPCC spectrum cancer.

Conclusion: In Algeria, there is a lack of data on the prevalence of LS in patients with CRC. The identification of patients with LS is very important, which allows to adapt an adequate therapy, a prevention of the cancer for the patients and their families. Thus, the creation of registers of colorectal cancer family will facilitate the taking of the attracted patients and will make it possible to save a considerable financial cost for the system of health.

Keywords: Colorectal cancer, Lynch syndrome, Microsatellites instability, MMR proteines, Immunohistochemistry.

ملخص

المقدمة : سرطان القولون والمستقيم هو ثالث سرطان من حيث التشخيص على الصعيد العالمي وسبب رئيسي للوفاة المرتبطة بالسرطان. متلازمة لينش هي الشكل الوراثي الأكثر شيوعا لسرطان القولون والمستقيم تتميز بنمط انتقالي وراثي سائد. سببه هو طفرات وراثية تمس بروتينات نظام التصحيح الخاص بالحمض النووي ناقص الاكسجين . تمثل تقنية الوسم المناعي أداة التشخيص الموصى بها لتحديد هذا المرض بسبب بساطتها وتوافرها في مختبرات علم الأمراض المختلفة.

الهدف: دراسة وبائية لسرطان القولون والمستقيم في الجزائر وتحديد مرضى متلازمة لينش عن طريق تطبيق تقنية الوسم المناعي .

المواد و الاساليب : أجريت دراسة رجعية من 2013 إلى 2016 في مختبر علم التشريح الباطني و علم الخلايا المرضية في مركز بيار و ماري كوري بالجزائر العاصمة.

تم اختيار سلسلة من 20 حالة بين 858 مريضا يعانون من سرطان القولون والمستقيم وفقا للمعايير السريرية لمتلازمة لينش، والتي خضعت للتحليل باستخدام تقنية الوسم المناعي لبروتينات نظام التصحيح الخاص بالحمض النووي ناقص الاكسجين .

النتائج : تم تحديد 858 مريضا يعانون من سرطان القولون والمستقيم مع اقلية بالنسبة للذكور (53%). مجموعة من 20 مريضا خضعوا للكشف المناعي لبروتينات نظام التصحيح الخاص بالحمض النووي ناقص الاكسجين مع متوسط عمر 40 عاما (22 سنة -58 سنة) . 18 مريض من هذه المجموعة أظهروا فقدان التعبير عن واحد أو أكثر من البروتينات ولهم تاريخ عائلي و/او تاريخ شخصي للسرطان.

الخاتمة: في الجزائر هناك نقص في البيانات حول انتشار متلازمة لينش عند الاشخاص الذين يعانون من سرطان القولون والمستقيم. تحديد المرضى الذين يعانون من متلازمة لينش مهم جدا، فهو يسمح باختيار العلاج المناسب، والوقاية من السرطان للمرضى و افراد اسرهم. وبالتالي فان انشاء سجلات لسرطان القولون و المستقيم يسهل عملية التكفل بالمرضى المعنيين ، ويمكن توفير تكلفة مالية لنظام الصحة.

الكلمات المفتاحية : سرطان القولون والمستقيم، متلازمة لينش، بروتينات نظام التصحيح الخاص بالحمض النووي ناقص الاكسجين، تقنية الوسم المناعي.

Chapitre I : introduction et synthèse bibliographique

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Chapitre III : Résultats et Discussion

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction

Le cancer colorectal (CCR) est le troisième cancer le plus fréquent , et la quatrième cause de décès lié au cancer à travers le monde (**Yamagishi et al., 2016**).

Il résulte de l'accumulation progressive d'altérations génétiques et épigénétiques qui conduisent à la transformation de la muqueuse colique normale en adénocarcinome. Il se développe de manière sporadique dans 85% des cas , ou dans le cadre d'un syndrome de cancer héréditaire (moins de 10%), ou bien dans un contexte d'une maladie inflammatoire de l'intestin (**Yamagishi et al., 2016**).

Le syndrome de Lynch (LS) est le plus fréquent des formes héréditaires et représente 2% à 5% des CCR. C'est une affection génétique de transmission autosomique dominante due aux mutations germinales dans les gènes de réparation d'ADN MMR (*MSH2*, *MLH1*, *MSH6* et *PMS2*).

Le dépistage universel du cancer colorectal en utilisant l'immunohistochimie (IHC) pour les protéines MMR est préconisé par les principales organisations médicales professionnelles, car elle est considérée comme une méthode simple et rentable pour identifier les patients atteints de LS.

Dans ce cadre , nous avons effectué une étude rétrospective de 2013 à 2016 au niveau du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique du CPMC d'Alger .

L'étude a pour objectifs :

- Etude épidémiologique des cancers colorectaux au niveau du CPMC.
- Identification des familles algériennes atteintes d'un syndrome de Lynch.
- Application de la méthode d'immunohistochimie sur les protéines MMR pour le diagnostic des patients atteints d'un syndrome de Lynch .

1 – Rappel sur les cancers

1 -1. Définition

Le cancer est l'émergence d'un clone cellulaire qui prolifère, envahit, métastase malgré les différents niveaux de contrôle de l'organisme. Ceci n'est possible que par l'accumulation de nombreuses anomalies génétiques, suivant différentes voies de cancérogenèse (**Ferron et al., 2005**). Les gènes touchés par ces anomalies sont nombreux et sont impliqués dans les processus fondamentaux de la vie cellulaire. On peut distinguer trois types : les proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN.

Selon Hanahan et Weinberg, au cours de la transformation maligne les cellules cancéreuses acquièrent une succession de onze caractéristiques leurs permettant de s'échapper au contrôle cellulaire (**Hanahan et al.,2011**).

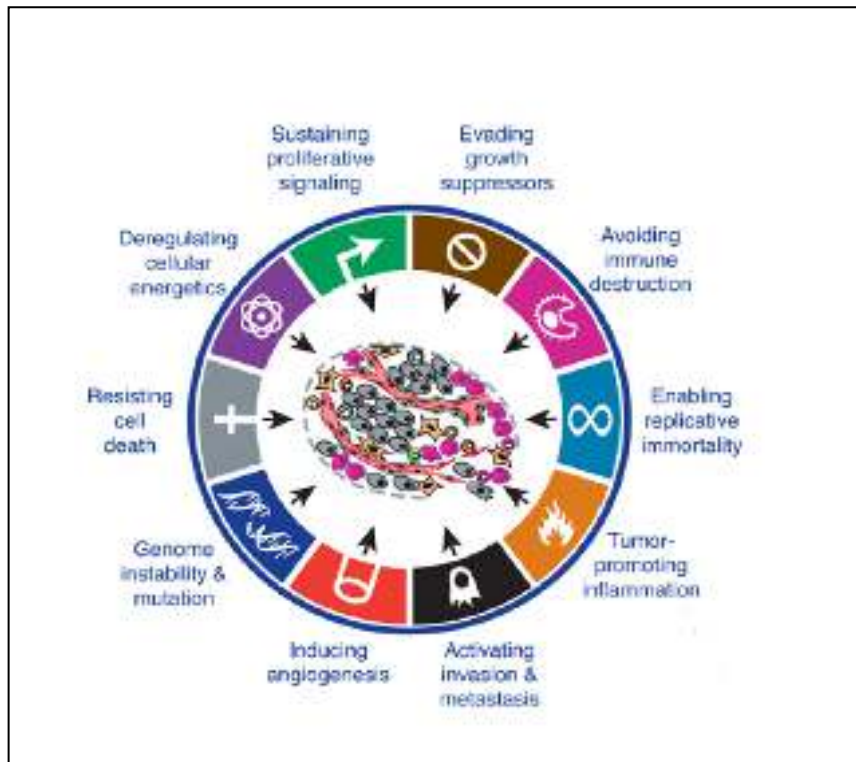


Figure 1. Les principales caractéristiques de la cellule cancéreuse (**Hanahan et al.,2011**)

1 – 2. Anatomie du colon

Le colon est la dernière partie de l'intestin, allant de la fin de l'intestin grêle jusqu'au rectum et aboutissant à l'orifice anal. Il débute ainsi dans la fosse iliaque droite et fait le tour de la cavité abdominale, constituant ainsi le cadre colique qui se termine au niveau du rectum. Sa longueur est en moyenne de 1.5 mètres mais elle varie d'un individu à l'autre. Son diamètre est large et il diminue progressivement de la droite vers la gauche.

C'est au niveau du colon que se produit l'ultime digestion des nutriments notamment grâce à la microflore colique. Le colon représente ainsi le site principal d'absorption d'eau et d'électrolytes du système digestif (Schepers et al.,2012).

Morphologiquement il est organisé en différents segments : le caecum, le colon ascendant, le colon transverse, le colon descendant, et le sigmoïde.

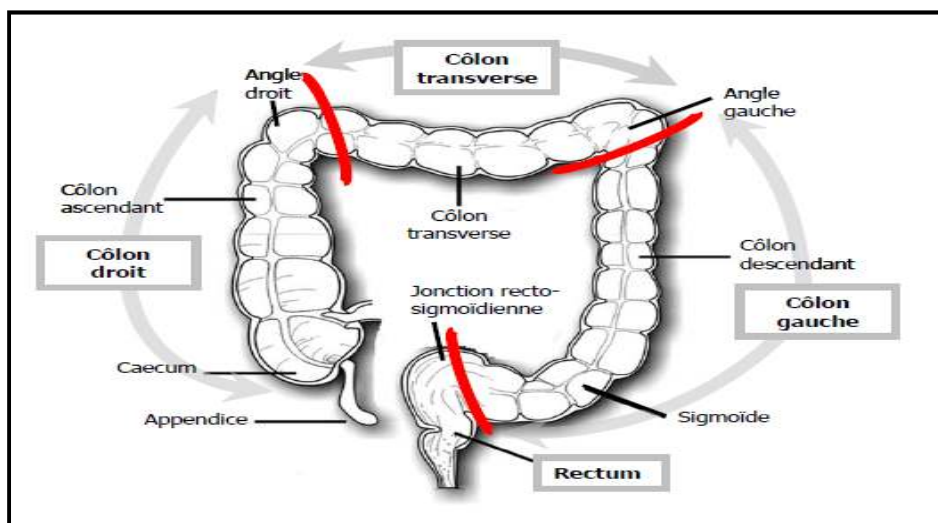


Figure 2. Anatomie du colon (Schepers et al.,2012)

1.3 Histologie de l'épithélium colique

L'épithélium du côlon est façonné dans une surface et dans les cryptes, et est conçu pour digérer efficacement, absorber les contenus alimentaires et créer une barrière contre les micro-organismes envahisseurs. Pour cela, un renouvellement très efficace et rapide de l'épithélium est présent dans les intestins en fonction des cellules souches (Schepers et al.,2012).

La paroi colique est composée de quatre couches (**Atlas d'Histologie humaine et animale**) : **La muqueuse** : comporte un épithélium de revêtement à majorité de cellules caliciformes qui s'invagine dans la muqueuse en cryptes de Lieberkühn. Le chorion est riche en tissu lymphoïde.

Chapitre I : Introduction et synthèse bibliographique

la sous-muqueuse : composée de tissu conjonctif vascularisé, et de réseau de nerfs sympathiques.

La musculuse : elle comprend une couche circulaire interne et une couche longitudinale externe, constituées de cellules musculaires lisses.

La séreuse : est infiltrée de tissu adipeux. Elle présente toutefois par endroits des adhérences qui réalisent des zones adventitielles

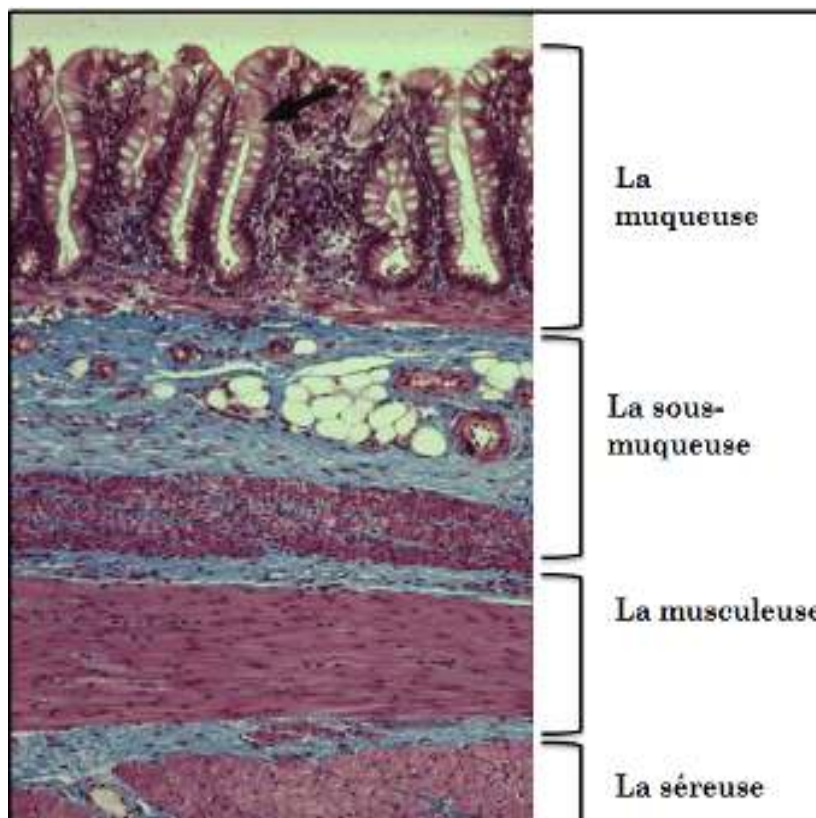


Figure 3. Histologie de l'épithélium colique (*Atlas d'Histologie humaine et animale*)

2. Épidémiologie des cancers colorectaux

2.1. Épidémiologie des cancers colorectaux dans le monde

Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent chez les hommes et le deuxième cancer le plus courant chez les femmes dans le monde.

En 2012, à travers le monde, il a été estimé qu'il y avait eu 746 000 nouveaux cas chez les hommes (10,0% de tous les cas de cancer chez les hommes) et 614 000 nouveaux cas chez les femmes (9,2% de tous les cas de cancer chez les femmes). Près de 55% de ces cas se produisent dans les pays développés. Les taux d'incidence standard les plus élevés estimés en

2012 (pour 100 000 habitants) sont en Australie et en Nouvelle-Zélande (44,8 et 32,2 cas chez les hommes et les femmes, respectivement). Les taux les plus faibles sont en Afrique de l'Ouest (4,5 et 3,8 cas chez les hommes et les femmes, respectivement) (GLOBOCAN 2012).



Figure 4. Incidence de cancer colorectal en fonction de l'âge dans le monde en 2012
(GLOBOCAN 2012)

2.2. Épidémiologie des cancers colorectaux en Algérie

En Algérie, le profil épidémiologique des cancers en 2013, était marqué par le taux élevé d'incidence du cancer colorectal chez l'homme qui a précédé celui du cancer du poumon, avec une incidence de 23.4 nouveaux cas pour 100.000 hommes. Chez la femme, le cancer du sein est le cancer le plus répandu, suivit par le cancer colorectal avec une incidence estimée de 20 nouveaux cas pour 100.000 femmes (**Registre des tumeurs d'Alger 2013**).

2.3. Les cancers colorectaux sporadiques et héréditaires

Le cancer colorectal, résulte d'une interaction des facteurs génétiques et environnementaux. Il peut être subdivisé en trois catégories : sporadique, familiale et héréditaire (**Schneider et al., 2012**).

Le CCR sporadique, qui représente environ 70% de tous les CRC, provient de mutations somatiques acquises au fil du temps et est donc associé à un âge plus avancé.

Environ 10 à 30% de tous les CCR sont classés comme familiaux. Les polymorphismes et la faible pénétrance des loci associés à un risque accru de CCR ont été identifiés par une association génétique et des études de population chez ces patients .

Ces facteurs de risque génétiques combinés à des facteurs environnementaux conduisent à un risque accru de CCR observé dans des familles particulières.

La troisième catégorie de CCR est héréditaire. Elle est estimée à environ 5% de tous les CCR et se caractérise par des mutations germinales transmises selon un mode mendélien. Les principaux syndromes de prédisposition aux cancers du colon sont le syndrome de Lynch (LS), et la Polypose Adénomateuse Familiale (FAP) (Randall W. Burt.2000).

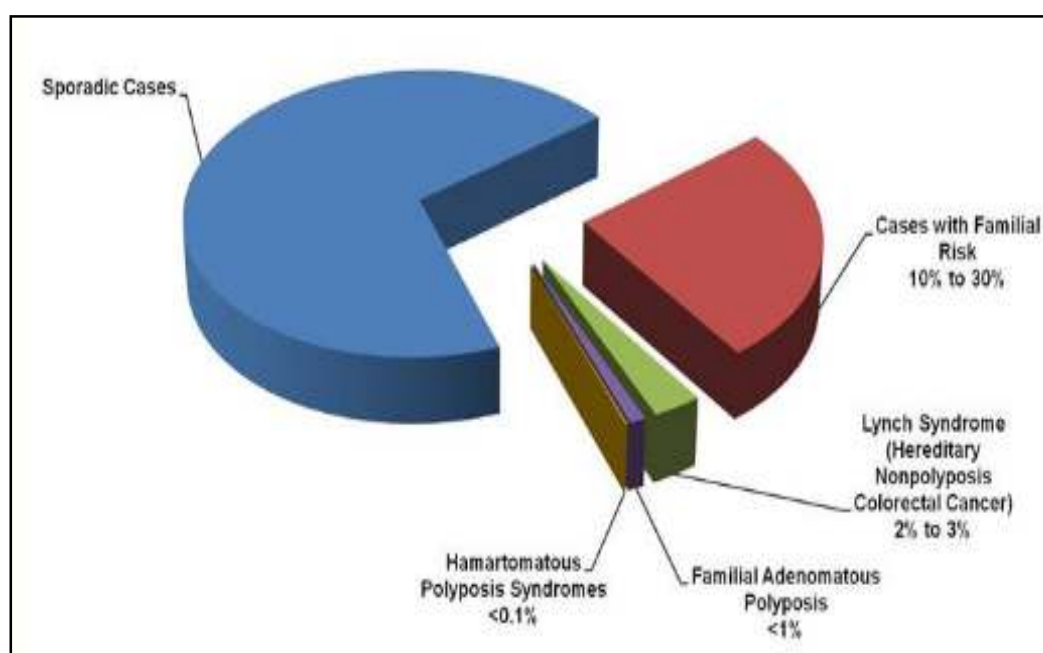


Figure 5 . Les différents types du cancer colorectal (Randall W. Burt.2000)

3. Le syndrome de Lynch

3.1 Définition du syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch (LS) est une affection génétique de transmission autosomique dominante.(Bailey et al.,1986), due à une mutation germinale dans l'un des gènes de réparation de l'ADN (MMR) comme : *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* et *MSH6* (Strand et al.,1993).

Toute fois un très petit sous-ensemble de patients atteints du syndrome de Lynch se caractérise par la présence d' épimutations constitutionnelles du gène *MLH1* . Ceux-ci sont

caractérisés par la méthylation du promoteur et la répression transcriptionnelle. ils sont considérés comme un mécanisme étiologique alternatif pour le développement du HNPCC (**Gazzoli et al., 2002**).

Le syndrome de Lynch se caractérise par plusieurs critères cliniques et anatomopathologiques :

Un risque accru de cancers extracoloniques , dont le cancer de l'endomètre, l'estomac, l'intestin grêle, les ovaires, les voies urinaires , le cerveau (glioblastome multiforme dans le variant Turcot) et la peau (tumeurs sébacées dans le Muir- Torre) (**Lynch et al.,1971**). Un développement du cancer à un âge précoce (âge moyen de 45 ans).

Le développement tumorale se situe dans la partie proximale plutôt que distal du colon , avec des caractéristiques histologiques et une susceptibilité à la multiplicité (Tumeurs synchrones et métachrones). Ces tumeurs sont marquées par une instabilité des microsatellites (MSI) dans environs 90% des cas (**Vasen et al.,1999**).

1.1 La carcinogénèse colique dans le syndrome de Lynch

L'identification de différentes voies moléculaires de la carcinogénèse colorectale a démontré la nature hétérogène des CCR. Le premier modèle a été proposé par Fearon et Vogelstein en 1990, « la séquence adénome -carcinome » qui se base sur des corrélations établies entre les stades histologique et morphologique des lésions pré-néoplasiques et néoplasiques et les altérations génétiques associées (**Fearon et al., 1990**).

Au cours des deux dernières décennies, deux découvertes moléculaires importantes ont été réalisées: premièrement, la découverte de l'instabilité des microsatellites (MSI) causée par la déficience des gènes de réparation (MMR). Deuxièmement, le rôle de l'épigénétique, en particulier l'hyperméthylation dans la répression de la fonction des gènes. Cette méthylation concordante des di-nucléotides CG dans la région promotrice de plusieurs gènes est appelée le phénotype méthylateur des îlots CpG (CIMP) (**Jass JR.2007**).

Une classification du CCR en fonction de la présence de MSI et CIMP était Suggéré par Jeremy Jass (**Jass JR.2007**). Elle décrit cinq Sous-types moléculaires, chacun avec un profil moléculaire et des caractéristiques clinico-pathologiques différents :

1. CIMP élevé / MSI élevé (12% de la CCR); provient d'adénomes dentés et se caractérise par une mutation BRAF et une méthylation MLH1.

2. CIMP élevé / MSI faible ou microsatellite stable (8%); provient d'adénomes dentés et se caractérise par une mutation BRAF et une méthylation de multiples gènes.
3. CIMP faible / MSI faible ou microsatellite stable (20%); provient d'un adénome tubulovilleux ou d'un adénome denté et est caractérisé par une instabilité chromosomique (CIN), une mutation K-ras et une méthylation de MGMT.
4. CIMP négatif / microsatellite stable (57%); provient d'un adénome traditionnel et se caractérise par un CIN.
5. Cancer colorectal héréditaire sans polypose (HNPCC); CIMP négatif / MSI élevé; Négatif pour les mutations BRAF

La voie MSI

Les tumeurs associées au HNPCC montrent presque toujours l'instabilité des microsatellites (MSI), comme une conséquence directe d'une altération de l'activité du système de réparation (**Tannergard et al.,1997**). Car c'est le reflet de l'incapacité du système MMR à corriger les erreurs qui se produisent au cours de la réplication d'ADN, comme les mésappariements de base, le glissement des brins d'ADN. Ceci conduit à la formation de boucles d' insertions/délétions

(**Bellizzi et al.,2009**), ce qui se traduit par des modifications dans la longueur des microsatellites conduisant au profil MSI (**Thibodeau et al.,1993**) .

Les tumeurs de phénotype MSI ont un meilleur pronostic, ont une morphologie assez caractéristique, car ils sont situés dans le côlon droit, sont peu différenciées, d'histologie mucineuse ou médullaire et présentent un infiltrat typiquement lymphocytaire (**Tougeron et al.,2013**) .

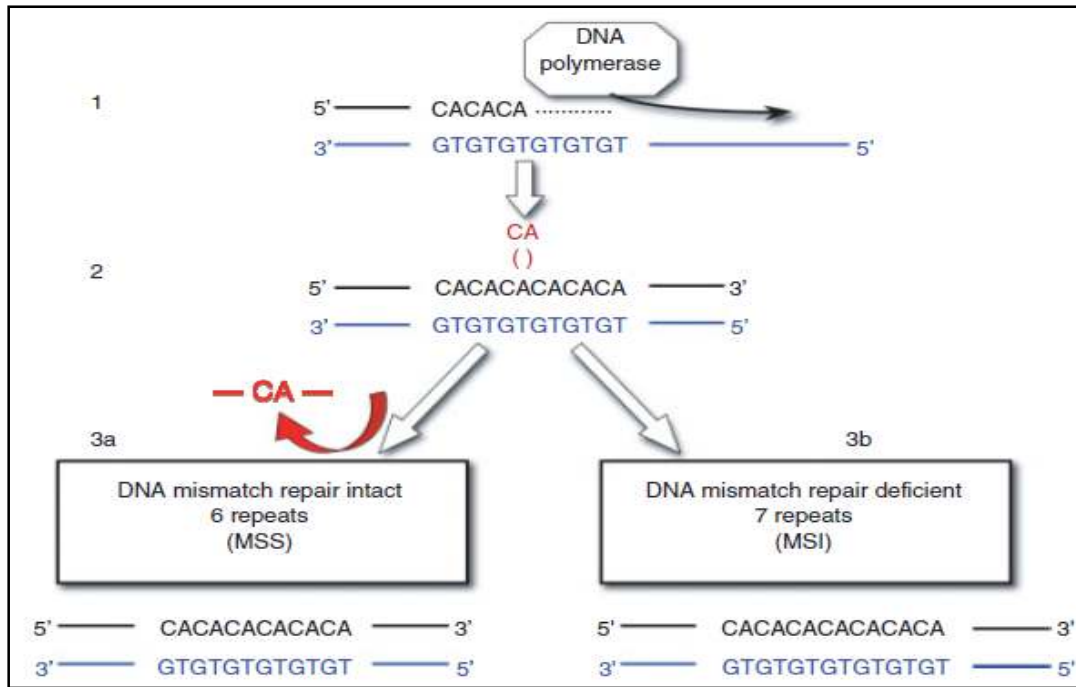


Figure 6. Mécanisme de l'instabilité des microsatellites (Søreide et al., 2006)

1.2 Identification des patients atteints du syndrome de Lynch

Les critères d'identification dits d'Amsterdam permettent de détecter les individus présentant un risque accru de développer un cancer à un âge précoce. Les critères d'Amsterdam I définissaient cliniquement le LS mais ils ne tenaient compte que des CCR (Tableau I). En 1998, les critères d'Amsterdam II (Tableau I) prennent également en compte d'autres localisations tumorales (endomètre, intestin grêle, voies urinaires) (Vasen et al., 1999). Ces critères d'Amsterdam sont très spécifiques mais peu sensibles, d'où la nécessité d'une révision qui a conduit aux critères de Bethesda (Rodriguez-Bigas et al., 1997) eux-mêmes réévalués en 2002 (Tableau II). Ils ont été définis afin de sélectionner les cas les plus susceptibles de présenter une MSI.

Tableau I . Les critères d'Amsterdam

Critères d'Amsterdam I

1. Au moins trois (03) membres de la famille atteints du CCR confirmé histologiquement, dont un (01) est un parent du premier degré des deux autres .
2. La polypose familiale est exclue.
3. Les membres sont répartis sur au moins deux (02) générations successives.
4. Au moins un des membres est diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.

Critères d'Amsterdam II

1. Au moins trois (03) membres de la famille atteints d'un cancer du spectre de HNPCC (colon, endomètre, intestin grêle, voies urinaires) confirmé histologiquement, dont un (01) est un parent du premier degré des deux autres.
2. La polypose familiale est exclue.
3. Les membres sont répartis sur au moins deux (02) générations successives.
4. Au moins un membre est diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.

Tableau II . Lignes directrices révisées de Bethesda

1. CCR diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.
2. CCR synchrone ou métachrone, ou autre tumeur du spectre HNPCC .
3. CCR avec caractéristiques anatomopathologiques évocatrices de phénotype MSI-H diagnostiqué avant l'âge de 60 ans.
4. CCR ou CCR avec au moins un parent du premier degré présentant une tumeur du spectre HNPCC diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.
5. CCR ou CCR avec au moins deux parents du premier degré ou deuxième degré présentant une tumeur du spectre HNPCC indépendamment de l'âge de survenue.

3.4 Variantes du syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch englobe un spectre de formes qui ont un chevauchement phénotypique significatif. La présence d'un profil MSI et /ou l'absence d'expression des protéines MMR constitue la base pour différencier entre ces formes de CCR familiale associés au syndrome de Lynch (**Carethers et al., 2015**).

Les CCR caractérisés par un profil MSI incluent le syndrome de Lynch caractérisé par des mutations germinales dans les gènes MMR. Le syndrome de Lynch-like qui résulte des mutations somatiques bialléliques des gènes MMR, ainsi que le syndrome de déficience constitutionnelle de MMR (CMMRD) qui est une affection rare dans laquelle des mutations germinales bialléliques sur les gènes MMR prédisposent au développement de multiples cancers pédiatriques. Et enfin les CCR sporadique avec MSI associés à l'hyperméthylation biallélique somatique du gène *MLH1*.

D'autre part, des formes de HNPCC avec un système MMR intact associés aux CCR familial comprennent, le Syndrome de polypose associé à la correction de polymérase (PPAP). C'est une affection rare de transmission autosomique dominante résultant des mutations germinales affectant le domaine exonucléase des gènes *POLE* ou *POLD1* codants pour l'ADN polymérase ϵ et l'ADN polymérase δ respectivement.

Le cancer colorectal familial de type X est une autre forme dont l'étiologie génétique est inconnue. Il désigne des familles qui répondent aux critères d'Amsterdam mais dont les tumeurs ne présentent pas de MSI et pas de mutations germinales sur les gènes MMR. Cependant d'autres gènes ont été identifié comme étant la cause de ce syndrome, principalement le gène *RPS20* codant pour une protéine de maturation de l'ARNr (**Carethers et al., 2015**).

4. Génétique moléculaire du syndrome de Lynch

4.1 Structure des gènes *MMR*

4.1.1 Structure du gène *MLH1* (human *mutL* homolog 1)

Le gène *MLH1* humain se compose de 19 exons couvrant une région de 57360 pb. Il est localisé sur le chromosome 3 en position p.22.2 . Les régions de 1 à 7 contiennent des régions hautement conservées.

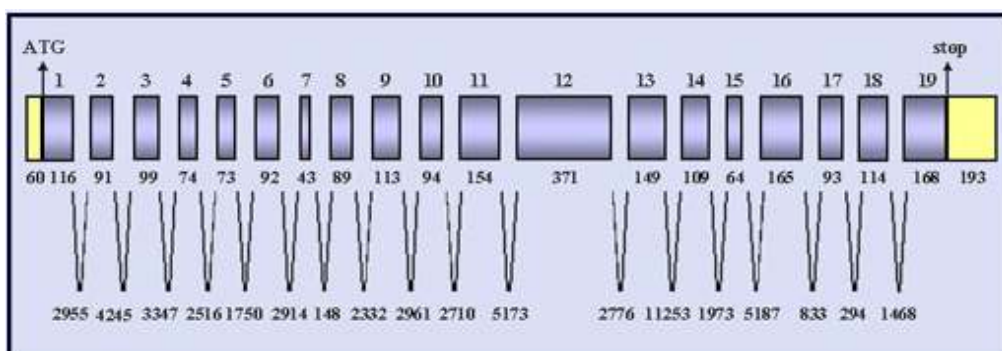


Figure 7. Diagramme du gène *MLH1*

(Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology)

4.1.2 Structure du gène *MSH2* (human *mutS* homolog 2)

Le gène *MSH2* humain se compose de 16 exons couvrant une région de 80098 pb. Il est localisé dans le chromosome 3 en position p 21.

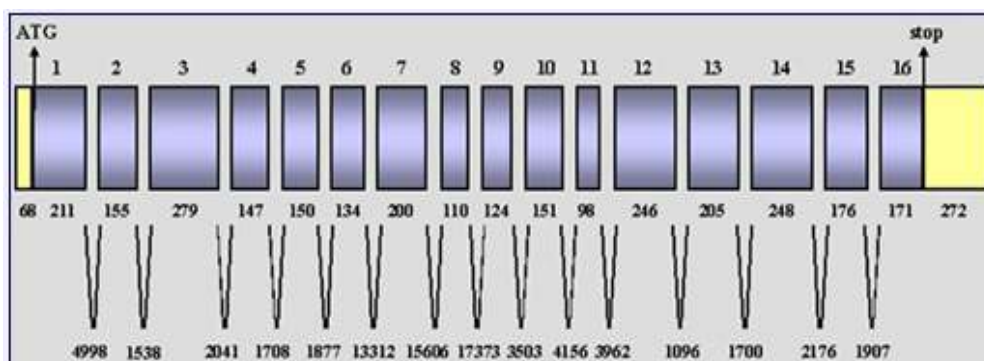


Figure 8 : Diagramme du gène *MSH2*

(Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology)

4.1.3 Structure du gène *MSH6*(mutS homolog 6 (E. Coli))

Le gène *MSH6* se compose de 10 exons , les tailles étant 347, 197, 170, 2545, 266, 119, 89, 155, 200 et 176 bps. Il est localisé dans le chromosome 2 en position p16.



Figure 9 : Diagramme du gène *MSH6*

(Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology)

4.2 Structure des protéines MLH1, MSH2 et MSH6

4.2.1 Structure de la protéine MLH1

La protéine MLH1 fait partie du système MMR et forme un hétérodimère avec PMS2 connu sous le nom de MutL, bien qu'il puisse également se lier à PMS1 ou MLH3. Ce complexe hétérodimère se lie aux hétéroduplexes MutSa (composés de MSH2 et MSH6) ou de MutSb (composés de MSH2 et MSH), qui reconnaissent les lésions d'ADN. L'hétérodimère formé par MLH1 est responsable du recrutement des protéines nécessaires à la synthèse de l'excision et de la réparation. (Warren *et al.*,2007)

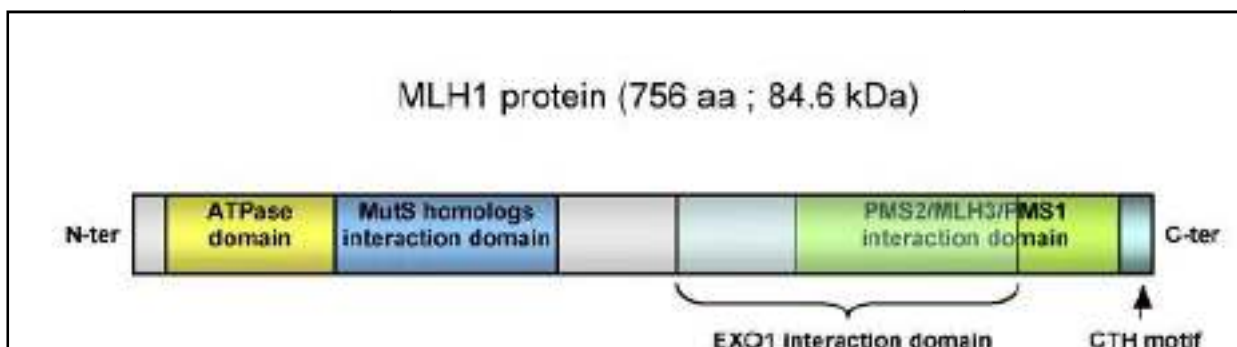


Figure 10 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MLH1

(<http://www.umd.be/MLH1/>)

4.2.2 Structure de la protéine MSH2

La protéine MSH2 fait partie du système MMR. Elle contient un domaine de liaison à l'ADN et deux domaines d'interaction, l'un pour MSH6 ou MSH3 pour former les complexes MutS alpha ou MutS beta respectivement. Alors que le complexe MutS alpha se lie aux erreurs de base et aux erreurs par insertion-délétion, MutS beta se lie uniquement à des erreurs d'insertion-délétion, et l'autre pour les homologues MutL (MLH1 et PMS2), dont l'association permet le recrutement des protéines nécessaires à l'excision et à la réparation de l'ADN.

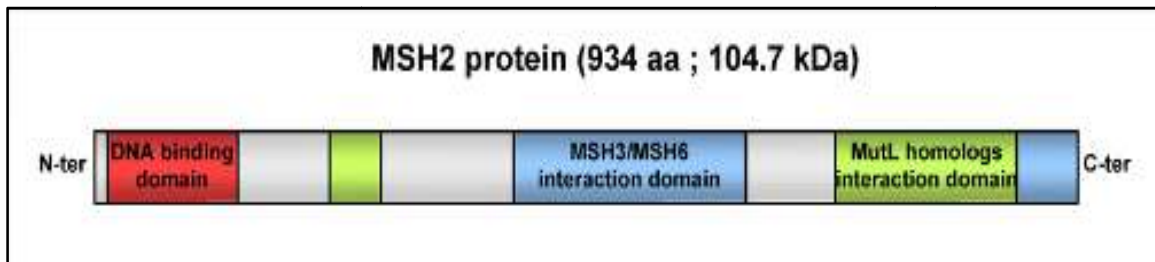


Figure 11 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MSH2

[\(http://www.umd.be/MSH2/\)](http://www.umd.be/MSH2/)

4.2.3 Structure de la protéine MSH6

La protéine MSH6 est impliquée dans le processus de réparation par correspondance après la réplication de l'ADN. MSH6 peut se lier à MSH2 pour former le complexe MutS α . Ce complexe fonctionne dans l'étape de la reconnaissance de la réparation de décalage de bases, ou des erreurs d'insertions/délétion.

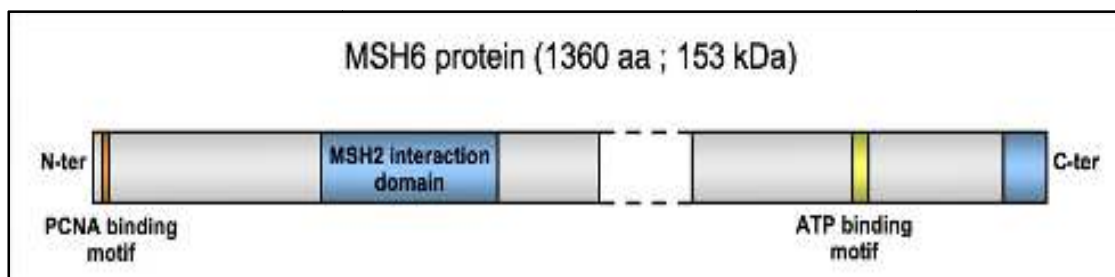


Figure 12 : Représentation des domaines fonctionnels de la protéine MSH6

[\(http://www.umd.be/MSH6/\)](http://www.umd.be/MSH6/)

4.3 Rôle des protéines MMR

Les protéines de réparation (MMR) jouent un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité du génome. C'est un système hautement conservé au cours de l'évolution. Impliqué dans la réparation des mésappariements produit lors de la réplication de l'ADN, la recombinaison, la réparation des cassures de double brin d'ADN, l'apoptose ainsi que la réparation des dommages de nature physique ou chimique (**Richman 2015**).

Voie de réparation des mésappariements :

Les erreurs au niveau des nucléotides se produisent lorsque l'ADN polymérase insère des bases qui ne sont pas à leurs places dans l'ADN nouvellement synthétisé.

Le système de réparation des mésappariements d'ADN fonctionne comme un «correcteur d'orthographe» qui identifie et corrige les paires de bases non correspondantes dans l'ADN (**K. Soñ reide et al., 2006**). Les mécanismes de réparation chez les eucaryotes comportent six étapes :

1. Le mésappariement est reconnu par hétéro dimères de la famille MutS α (MSH2-MSH6). Il reconnaît préférentiellement et se lie à des décalages de paires de bases simples. MutS α libre interagit avec l'ADN sur le site d'un décalage, échange ADP pour ATP, et forme une pince coulissante autour de l'ADN. Alternativement, la paire MSH2-MSH3 (appelée MutS β) reconnaît préférentiellement des erreurs plus grandes (**Boland et al., 2008**).
2. MutS α change de conformation, ce qui permet le recrutement de MutL (*MLH1-PMS2*) sur le site de réparation. Cet hétérodimère possède une activité endonucléase, qui lui permet d'interagir avec le complexe MutS.
3. MutL α coupe au niveau de l'extrémité 3' ou 5' des mésappariements.
4. EXO1 excise le segment d'ADN mal adapté par son activité exonucléase 3' à 5' et la protéine de liaison à l'ADN monocaténaire RPA lie l'ADN monocaténaire lorsqu'il est exposé par EXO1.
5. L'ADN polymérase δ resynthétise le brin d'ADN.
6. l'ADN ligase I permet la ligature de la coupure à la fin. (**William B. Coleman.,Gregory J. Tsongalis. 2017**)

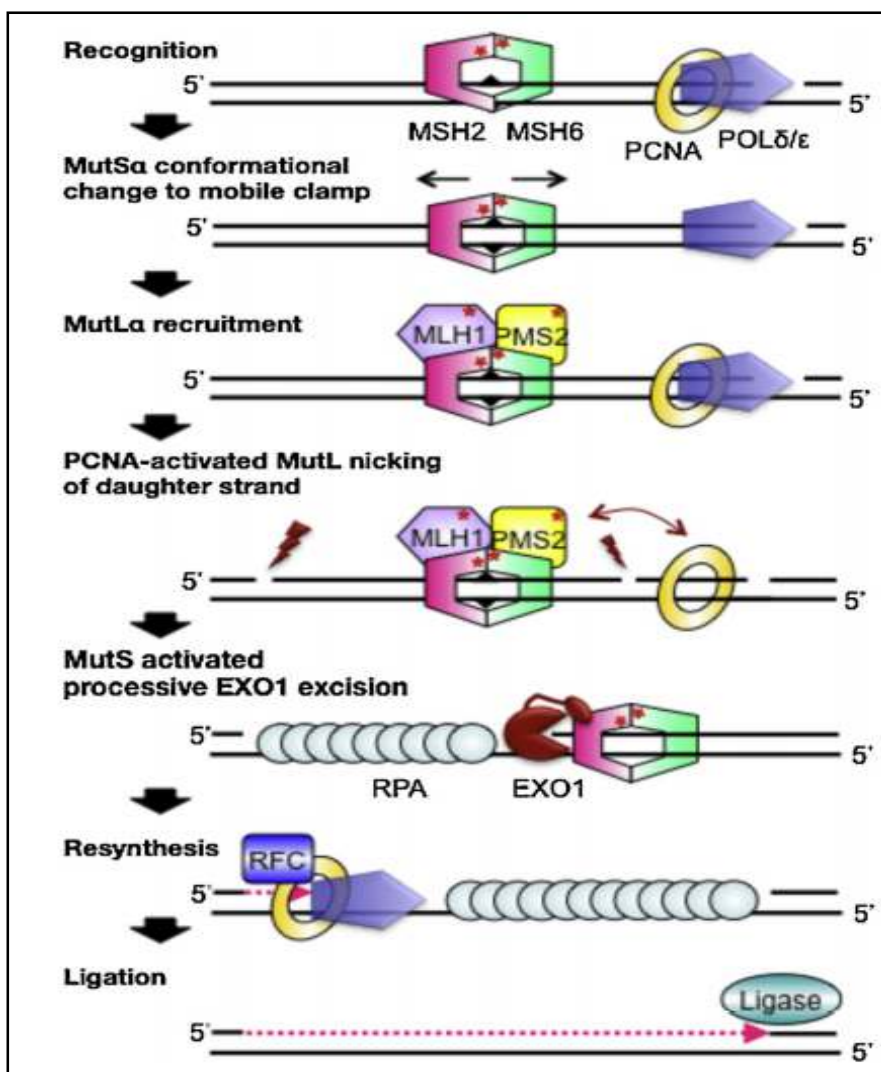


Figure 13. Mécanisme de réparation des mésappariements chez l'homme (Erie et al.,2014)

5. Diagnostic biologique du syndrome de Lynch

5.1 Analyse immunohistochimique sur tissu tumoral

L'immunohistochimie (IHC) est un outil de diagnostic simple et rapide utilisé lorsqu'un HNPCC est soupçonné, en identifiant spécifiquement le gène MMR inactivé. L'avantage de son utilisation est sa capacité à diriger ensuite le test génétique (Lynch et al.,2003). L'IHC est disponible dans la majorité des laboratoires de pathologie anatomique, d'où des anticorps des quatre protéines impliquées dans le LS sont commercialement disponibles. Un résultat anormal est l'absence complète d'un marquage nucléaire pour une ou plusieurs des protéines dans la tumeur. Ces protéines sont normalement exprimées dans les tissus non néoplasiques, les tissus stromal, les lymphocytes et les cryptes non-néoplastiques qui servent de témoins internes positif (Bellizzi et al., 2009).

Cependant , il a été noté qu'il existe une variabilité des résultats de coloration de l'IHC, dont elle est partagée sur trois catégories. Premièrement, un type démontre une coloration ininterprétable à cause d'absence de coloration définitive positive dans les cellules normale sur le même échantillon.

Deuxièmement, il existe des tumeurs qui présentent une hétérogénéité de coloration, ou une coloration faible ou bien focale. Toutefois ces tumeurs sont connues pour avoir une expression protéique intacte.

Troisièmement, un marquage cytoplasmique ou membranaire aberrant, mais la fréquence exacte de l'hétérogénéité de cette coloration est inconnue (**Shia et al.,2004**).

5.1.1 Les facteurs influençant l'immunohistochimie

La technique d'IHC peut-être influencée par divers facteurs biologiques ainsi que techniques.

- Les facteurs biologiques : qui affectent l'expression des gène MMR. Dans un contexte héréditaire , le premier facteur est le fait que les différentes mutations touchant les gènes MMR ont des effets différents sur l'expression des protéines (**Shia et al.,2004**).

Ces mutations touchent le plus souvent les gènes *MLH1* et *MSH2*, d'où il en résulte une protéine non fonctionnelle des mutations de *MSH2* et par conséquent les CCR développés chez les individus porteurs de ces mutations présentent une perte d'expression de la protéine *MSH2* par IHC. Cependant , environ la moitié des mutations affectant le gène *MLH1* sont des mutations faux-sens , ce qui entraîne habituellement des protéines mutantes qui sont catalytiquement inactives mais antigéniquement intactes. Ceci peut expliquer l'hétérogénéité , la faible ou focale coloration observée dans certains cas (**Shia et al.,2004**).

Toutefois , dans les CCR sporadiques de phénotype MSI résultant de l' hyperméthylation de promoteur du gène *MLH1*, il en résulte une répression totale du gène entraînant une perte d'expression protéique par IHC (**Shia et al.,2004**) .

Enfin, les interactions entre les protéines MMR peuvent également affecter la sensibilité de l'IHC dans la détection de l'expression des protéines.

- Les facteurs techniques : il est très important de maîtriser le protocole technique de l'IHC afin d'obtenir une coloration réussie.

Un point clé dans le protocole associé à une coloration réussie est une étape de récupération d'antigène impliquant un traitement thermique et un tampon d'éthylène diaminetétraacétate ou de citrate .Il convient de noter que la récupération d'antigène peut être techniquement moins fiable pour les blocs de tissus plus anciens, comme l'ont souligné certains études (**Chaves P et al.,2000**). Un clone d'anticorps est un composant important pour la validation de la

technique. De plus, un échantillonnage adéquat des tissus joue un rôle crucial dans la qualité de coloration, ainsi que les variabilités liées aux techniques de fixation.

Des échantillons de tissus discordants, tels que des tissus frais ou congelés pour un test MSI et les blocs de paraffines de différentes zones tumorales pour l'IHC, ont conduit à des résultats discordants dans certains cas.

5.2 Génotypage tumoral et statut MSI

Le test MSI était le premier test utilisé dans le but d'identifier des tumeurs prédictives d'une mutation des gènes MMR (**Lynch et al., 2009**).

De nombreux microsatellites ont été étudiés dans le but d'identifier les tumeurs MSI. Selon le type (mono-, di- ou trinuécléotide) et le nombre de microsatellites analysés.

Cinq marqueurs microsatellites ont été utilisés comme étant un panel initial, trois répétitions dinucléotidiques (D2S123, D5S346 et D17S250) et deux répétitions mononucléotidiques (BAT26 et BAT25). Les tumeurs présentant une instabilité de deux ou plus de ces marqueurs ont été définies comme étant MSI-H, tandis que celles qui ont une instabilité d'un seul ont été définies comme des tumeurs MSI-L et qui ne montrent aucune instabilité ont été identifiées comme des tumeurs microsatellites stables (MSS).

Il existe en fait une preuve de mauvaise classification des tumeurs MSI-H en utilisant un grand nombre de répétitions dinucléotidiques. Ces répétitions sont très polymorphes, certaines tumeurs primaires MSI avec déficit de MMR causé par une mutation hMSH6 ne montrent pas d'altération dans les répétitions de dinucléotides. Donc un panel de cinq répétitions mononucléotidiques quasi monomorphes (BAT25, BAT26, NR-21, NR-22 et NR-24) a été utilisé.

Dans la grande majorité des tumeurs, l'analyse des répétitions mononucléotidiques BAT-25 et BAT-26 est suffisante pour établir l'état MSI-H sans référence à l'ADN germlinal, car ces marqueurs sont quasi-monomorphes dans la plupart des populations caucasiennes. Cependant, les allèles BAT-25 et BAT-26 de taille alternée ont été identifiés respectivement chez 18,4% et 12,6% de population Afro-Américains. Ainsi, un petit pourcentage a été identifié chez des personnes de race blanche. Pour ces raisons, BAT-25 et BAT-26 seules sont insuffisantes pour le dépistage de MSI-H dans toutes les populations. Si le polymorphisme est suspecté, des marqueurs supplémentaires sont nécessaires pour classer sans ambiguïté les tumeurs comme MSI-H (**Suraweera et al., 2002**).

Chapitre I : Introduction et synthèse bibliographique

La recherche peut être effectuée à partir de tissu tumoral congelé ou fixé et inclus dans la paraffine. L'analyse est réalisée à partir de l'ADN extrait du tissu tumoral. Il est possible d'effectuer l'analyse en parallèle de l'ADN extrait du tissu sain ou des lymphocytes du sang périphérique.

L'amplification des marqueurs testés est généralement simultanée. Nous parlons de multiplex PCR. L'étude des produits d'amplification s'effectue par une électrophorèse capillaire réalisée sur un séquenceur qui permet une discrimination des nucléotides. Dans le cas d'une approche multiplex, chaque marqueur est marqué d'un fluorophore différent, ce qui permet de les distinguer (Bruno *et al.*, 2011).

De plus, pour définir correctement l'état des microsatellites pour chaque cas, il est nécessaire d'évaluer la forme de l'électrophérogramme de chaque locus (Laura *et al.*, 2017).

Les profils obtenus correspondent, pour chaque marqueur, à plusieurs pics autour d'un pic principal. Ce dernier se caractérise par la plus forte intensité, qui permet d'évaluer la taille du marqueur. L'instabilité est définie pour un marqueur donné par la présence de deux pics principaux ou même deux groupes de pics bien séparés

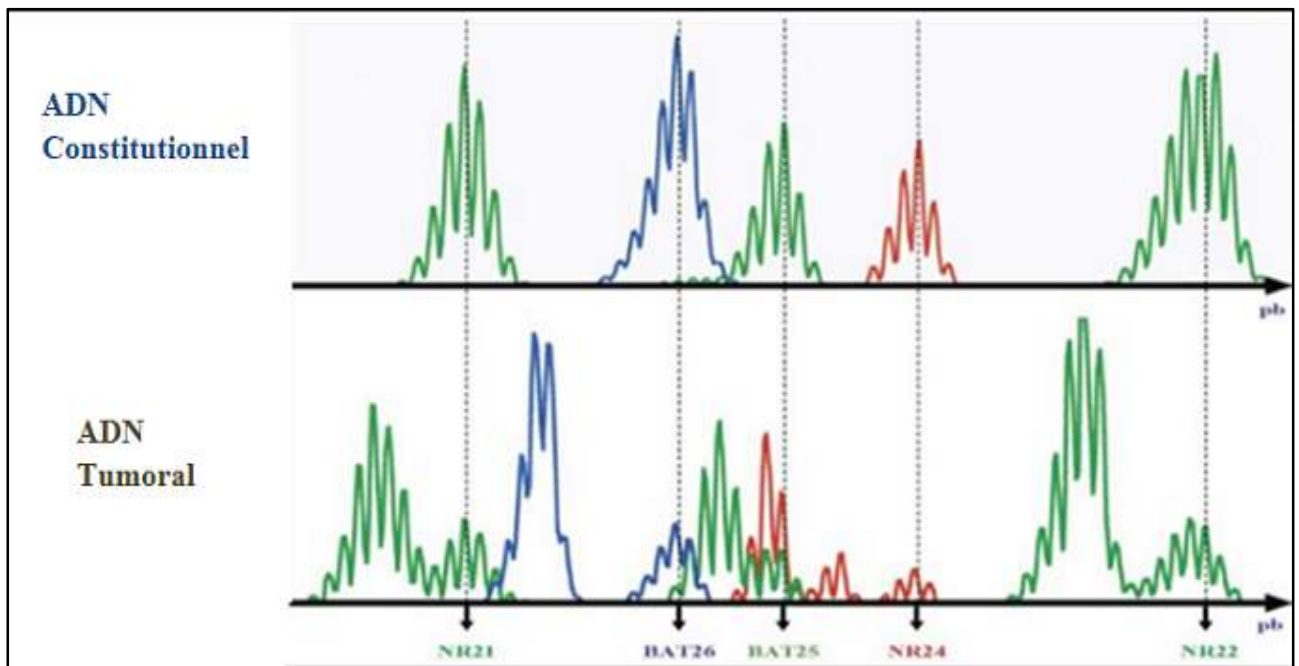


Figure 14. Mise en évidence d'une MSI (Bruno *et al.*, 2011)

5.5 Stratégie de diagnostic du Syndrome de Lynch

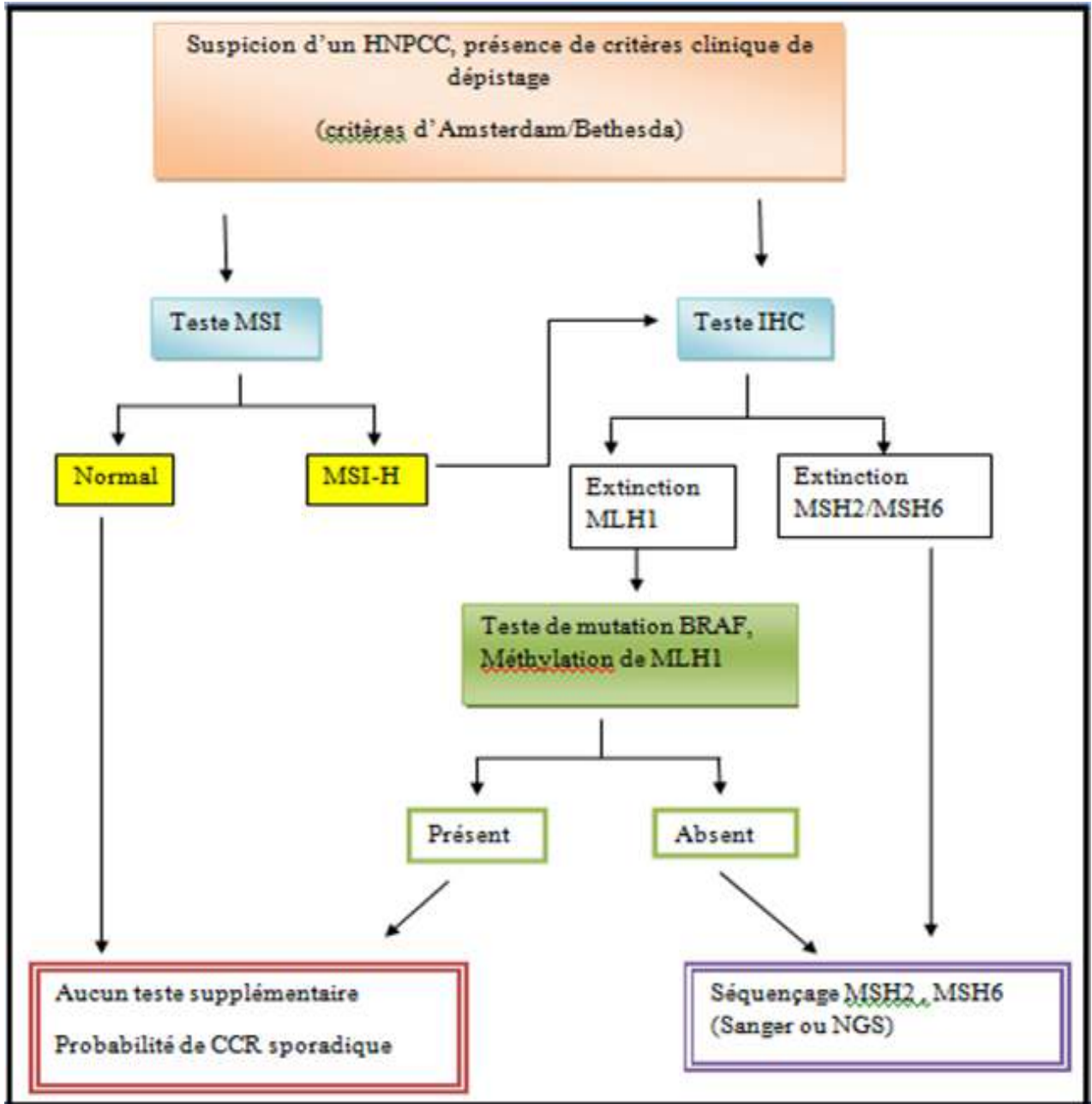


Figure 15. Algorithme de teste de syndrome de Lynch (Francis et al.,2014)

6. thérapeutique

6 .1. Chimiothérapie

La perte d'activité des protéines MMR dans les CCR de phénotype MSI rendent les tumeurs relativement résistantes aux effets des agents chimiothérapeutiques, y compris le cisplatine et le 5-fluorouracile (5-Fu).

En 2003, Ribic et al ont effectué une étude chez 570 patients atteints de CCR . parmi ces patients 95 ont montré un profil MSI-H , une localisation tumorale proximale, et un grade histologique avancé. Ces derniers présentent une meilleur survie sans traitement chimiothérapique .

Donc les patients atteints de CCR de phénotype MSI-H ont un taux de survie plus élevé et de meilleur pronostic, s'ils ne recevaient pas de chimiothérapie. Le bénéfice du traitement diffèrait de manière significative selon le statu MSI .

La chimiothérapie adjuvante avec 5-FU, améliore la survie globale seulement chez les Patients atteints de CCR de phénotype MSS (**Devaud et al., 2013**).

Les CCR avec MSI contiennent beaucoup plus de lymphocytes infiltrant les tumeurs, et il a été proposé que cette réponse immunitaire vigoureuse soit responsable de limiter la propagation de ces tumeurs (**Boland et al., 2013**).

6 .2. Chirurgie prophylactique

La survenue d'un cancer colique chez un sujet porteur d'un LS conduit à poser une indication chirurgicale. Une Colectomie subtotale doit être effectuée par opposition à une hémicolectomie ou à une résection segmentaire car il existe un risque de 45% pour un deuxième ou troisième cancer primaire du côlon sur dix ans.

En raison de la distribution proximale de CCR, des recommandations aux sujets à risque de commencer un programme de coloscopie de dépistage à partir de 20 à 25 ans, et de répéter cette procédure de un à deux ans jusqu'à l'âge de 35 ans et chaque année par la suite (**Lynch et al., 1997**).

1. Matériels

1.1 .Patients

Le but du présent travail est d'identifier les patients atteints d'un syndrome de Lynch en utilisant l'immunohistochimie. Pour cela nous avons effectué une étude rétrospective des fiches des tumeurs de 2013 au 2016 au niveau du Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique de professeur TERKIN du Centre Pierre et Marie Curie spécialisé en cancérologie d'Alger (CPMC).

Il s'agit d'une étude s'étendant du 1 Février au juillet 2017 , et réalisée sur 20 patients âgés moins de 50ans, originaires de diverses wilayas de notre pays. Les patients sont suivis dans les services de chirurgie générale du CPMC du professeur BENTABAK et celui de son annexe Claude Debussy du professeur DJENNAOUI d'Alger.

Le recrutement des patients et leurs parents de premier degré atteints de LS a été déterminé à partir de l'étude rétrospective de leurs dossiers médicaux ainsi qu'un interrogatoire précis qui a permis d'évaluer l'informativité des familles. La sélection des familles s'est articulé autour de trois critères principaux :

- L'âge du diagnostic doit être inférieure à 50 ans.
- Présence d'une histoire familiale ou personnelle de CCR.
- Localisation de la tumeur.

1.2 .Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour réaliser l'IHC sont les blocs de paraffine qui contiennent des échantillons tumoraux fixés au formol. Les échantillons proviennent de patients opérés d'un cancer du colon ou des biopsies.

2.Méthodes

2.1 . Etude épidémiologique

Après collecte des données médicales des patients sur Excel : Code, sexe, âge, stade TNM, localisation tumorale), nous avons tracé des courbes et des histogrammes en fonction des différents paramètres.

2.2. Pédigrées

En plus de l'âge, l'anamnèse familiale est un procédé très important qui permet d'établir un pédigrée complet et informatif sur le patient et ses antécédents familiaux (au-moins trois générations). Elle permet de dénombrer les parents affectés, de déterminer leur degré de parenté (entre eux et par rapport au *as index*), l'âge auquel ils ont été diagnostiqués et l'éventuelle présence de cancers associés. Ceci permet de suivre le parcours de la transmission de la maladie et d'évaluer le concept de prédisposition héréditaire au LS dans chacune des familles étudiées. A l'issue du questionnaire familial, un arbre généalogique est tracé pour chaque famille.

2.3. Immunohistochimie

L'IHC consiste à mettre en évidence divers antigènes (Ag) cellulaires, ou extracellulaires, grâce à des anticorps (Ac) spécifiques. Ces Ag peuvent être membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires, ou des protéines de la matrice extracellulaire.

Dans notre travail, les protéines recherchées sont les protéines de réparation des mésappariements de l'ADN (MLH1, MSH2, MSH6).

L'IHC était réalisé sur des sections de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine. Ces sections ont subi :

- Un processus de déparaffinage dans l'étuve à une température de 40°C.
- Réhydratation :
 - Trois bains de xylène (5 minutes pour chacun) .
 - Trois bains d'alcool d'ordre décroissant (5 minutes pour chaque bain) .
 - Un lavage avec de l'eau distillée.
 - Un prétraitement :
 - Démasquage des sites antigéniques par une solution TRS (dilution de 2%) pH= 9 pendant 40 minutes dans un bain marie à une température de 96°C.
 - Refroidissement sur palliase pendant 20 minutes.
 - Rinçage avec de l'eau distillée et délimitation du tissu à l'aide d'un marqueur hydrophobe.
 - Blocage de l'activité du peroxyde endogène a été effectué par incubation avec 3% de H₂O₂ pendant 5 minutes. Ensuite un rinçage avec de l'eau distillée et avec 2% de PBS est réalisé.
 - Un panel de quatre(04) anticorps monoclonaux primaires contre les protéines MMR a été utilisé (**Tableau V**).

Chapitre II : Matériels et Méthodes

L'incubation des anticorps primaires est faite à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Deux rinçages au PBS pendant 5 minutes ont été fait après.

- Révélation :

-Après l'ajout de l'anticorps secondaire son incubation est faite à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Deux rinçages au PBS pendant 5 minutes ont été faites après.

-L'ajout de chromogène DAB, une goutte de 1ml sur chaque lame pendant 5 minutes .

-Rinçage avec de l'eau distillée.

- Contre-coloration :

- Les lames sont immergées 2 minutes dans l'hématoxyline de Mayer,

- Elles sont rincées à l'eau courante jusqu'à ce que l'eau devienne clair

-Test post contre-coloration :

-Mettre les lames dans de l'eau ammoniacuée pendant 30 secondes.

-Rinçage avec de l'eau distillée.

- Montage :

Une goutte du milieu de montage (Faramount) est déposée puis recouverte par la lamelle.

- Observation : Elle est réalisée à l'aide d'un microscope photonique aux grossissements Gr10x et Gr20x et des photos sont prises à l'aide d'un appareil photo.

1. Résultats

1.1 Etude épidémiologique

A partir de l'étude rétrospective des fiches de tumeurs qui s'est effectuée entre 2013 et 2016 nous avons identifié 858 cas de CCR qui se sont traités et suivit au niveau du CPMC d'alger.

1.1.1 Répartition des patients atteints d'un CCR en fonction de l'âge

Le CCR survient de façon importante chez des sujets âgés plus de 50ans avec n= 611 (72%) , et une moindre incidence chez les sujets moins de 50ans avec n= 247 (28%).

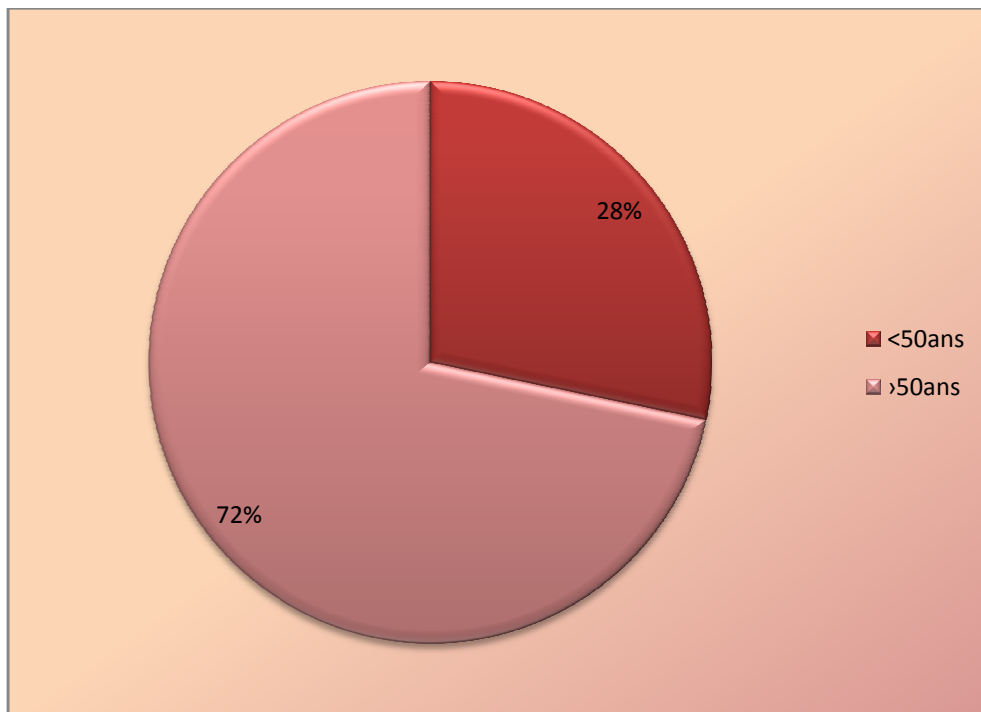


Figure 16. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction de l'âge

1.1. 2 Répartition des patients atteints d'un CCR en fonction du sexe

Notre étude a révélé une prédominance masculine de survenue de CCR avec n=456 cas (53%). Pour la catégorie féminine, nous avons noté 402 cas de CCR (47%).

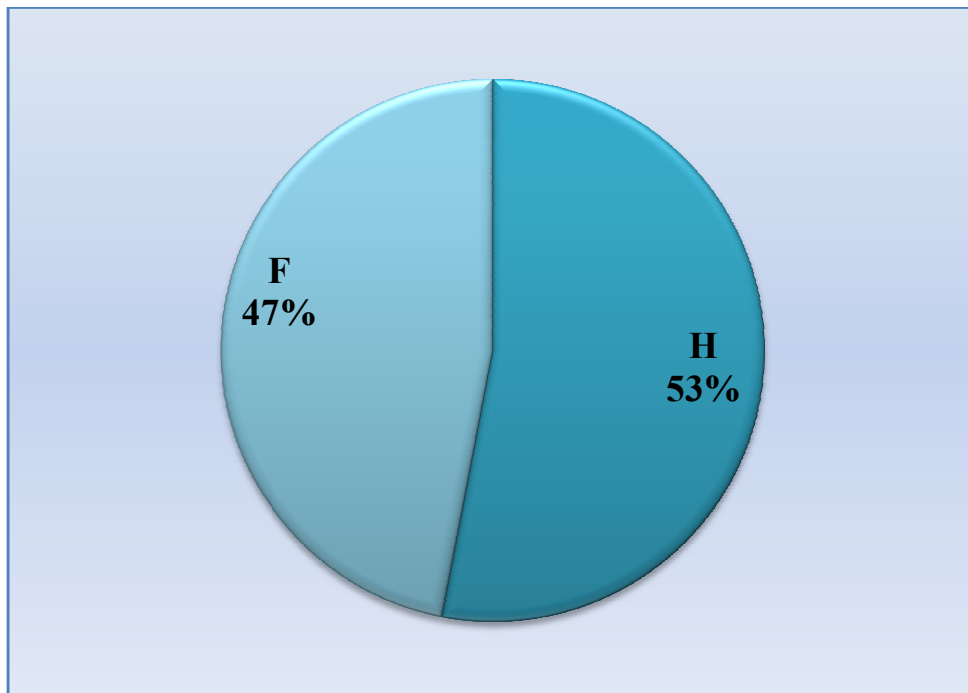


Figure 17. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction du sexe

1.1.3 Répartition des patients atteints d'un CCR en fonction de la localisation de la tumeur

Nous avons noté que parmi les 858 patients atteints d'un CCR les tumeurs se localisent principalement au niveau du rectum (haut , moyen et bas rectum) avec n= 359, suivi par le colon gauche qui inclut le sigmoïde et la charnière recto sigmoïdienne n= 242 cas. Pour le colon droit y compris le colon transverse 187 cas ont été identifiés.

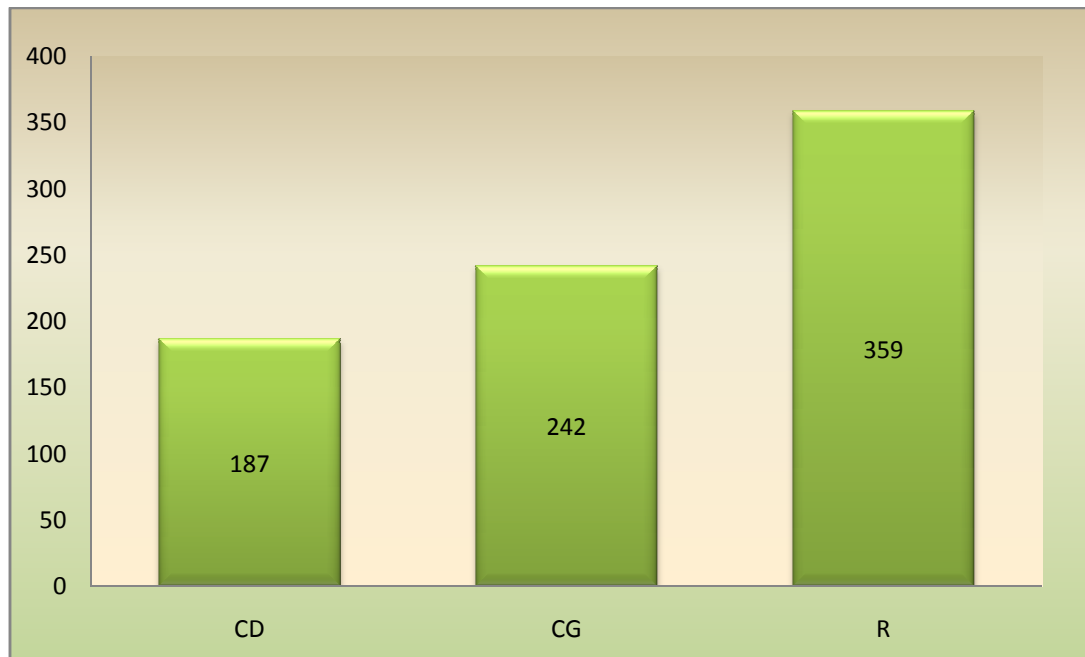


Figure 18. Répartition du CCR chez la population algérienne en fonction de la localisation tumorale

1.2 Patients

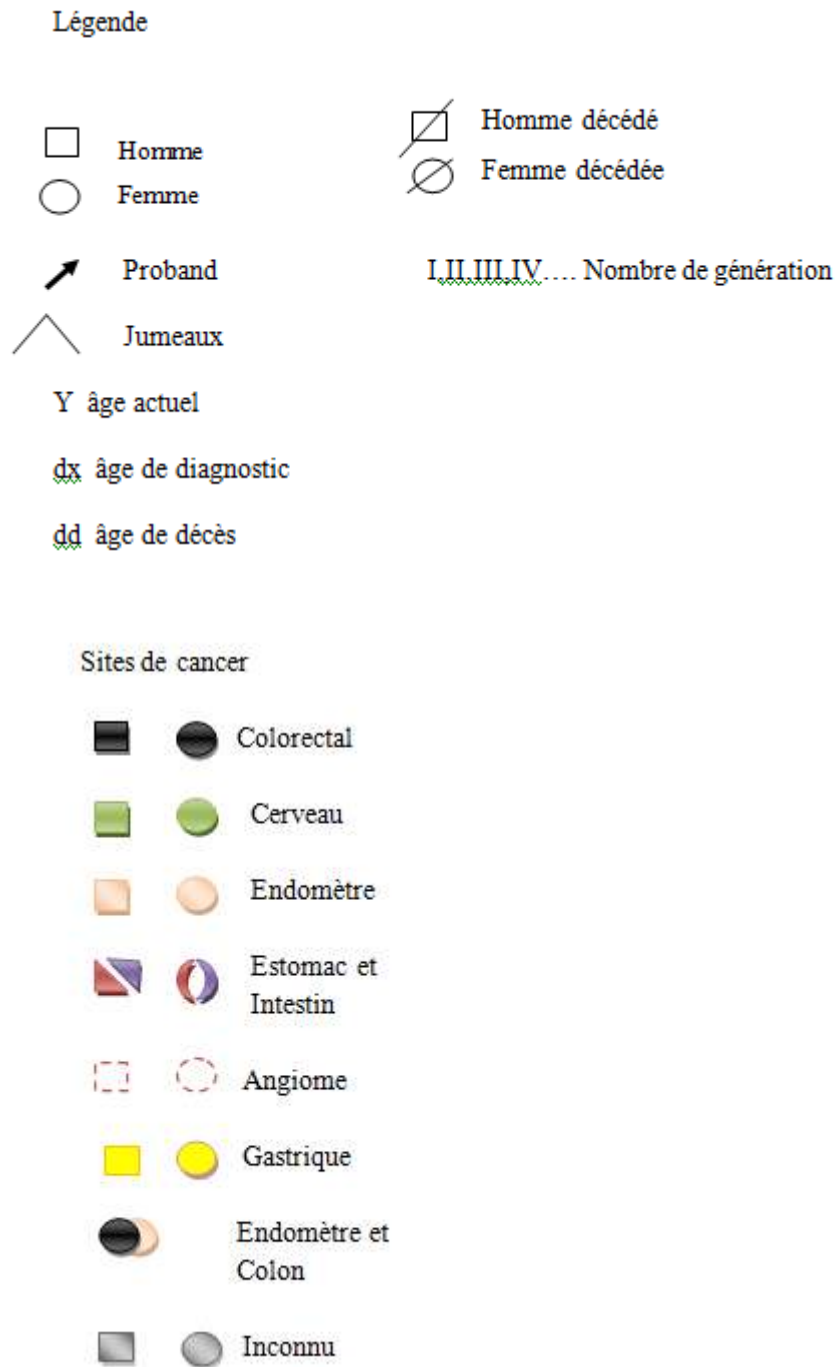
Il s'agit de 20 patients atteints d'un cancer du colon ou du rectum que nous avons sélectionné à partir de l'étude rétrospective des fiches de tumeurs. Ces patients sont caractérisés par des critères cliniques et anatomopathologiques que l'on a regroupé dans le tableau suivant :

Tableau III . caractéristiques cliniques des patients

	Code	Sexe	Age	Localisation	Histologie	Stade TNM
01	7174/12	H	46	Colon droit	AMD colloïde	PT3N2bM1b
02	1749/14	F	50	Colon gauche	Carcinome bifocle	P T4N1Mx
03	2948/14	H	40	Colon droit	AMD	P T3N0Mx
04	3963/14	H	44	Colon droit	AMD	P T3N1bMx
05	4355/14	F	48	Colon droit	ABD	P T3N0Mx
06	5154/14	F	37	Colon droit	AMD	P T3N0Mx
07	6485/14	H	25	Rectum-sigmoïde	ABD	P T3N3M0
08	816/15	H	28	Colon droit	ABD	P T3N0Mx
09	2795/15	H	40	Colon droit	ABD	P T2N0Mx
10	249/16	H	31	Rectum-sigmoïde	ABD mucineux	P T3N0Mx
11	621/16	F	36	Colon droit	AMD	P T3N0Mx
12	3934/16	F	50	Colon gauche	ABD	PT3N1Mx
13	5727/16	F	22	Sigmoïde	Carcinome glandulaire	P T3N1cMx
14	4952/16	H	47	Colon droit	ADK colloïde muqueux	P T3N2aMx
15	2010/13	F	58	Rectum	AMD	P T3N0Mx
16	5108/15	F		Colon droit	ABD à AMD	P T3N0Mx
17	6375/15	F	56	Rectum	ABD mucineux	PT3N0Mx
18	1160/16	H	46	Colon droit		p T3N0Mx
19	3420/14	H	30	Colon droit	ABD médullaire	P T3N1bMx
20	4465/14	F	40	Endomètre	ABD	P T3N0Mx

1.3 pédigrées

Après avoir consulté les dossiers médicaux des patients, une anamnèse familiale nous a permis d'établir des pédigrées complets et informatifs sur les patients et leur antécédents familiaux.



Légende des pedigrees

• Pedigree 1

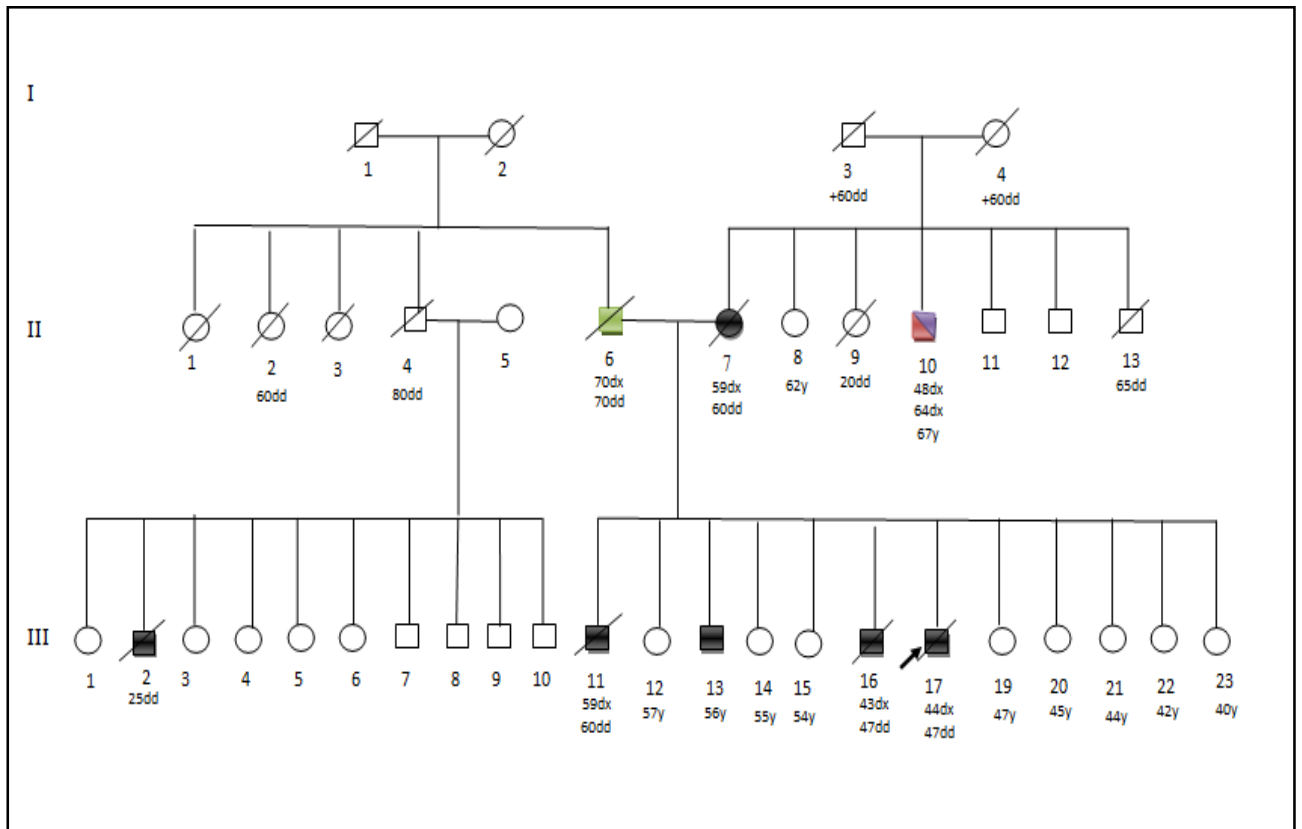


Figure 19. Pedigree représentatif de la famille du patient 7174/12

La généalogie représentée s'établit sur trois générations, son analyse révèle la présence de plusieurs cas de cancer chez cette famille.

Le cas index (III-17) a développé un cancer du colon à l'âge de 44ans et décédé à l'âge de 47ans à cause de ce cancer. Il présente ainsi trois frères atteints d'un cancer du colon dont un (III-11) était diagnostiqué à l'âge de 59ans et décédé à 60ans, et un (III-16) à l'âge de 43ans et décédé à 47ans , et le dernier (III-13) récemment diagnostiqué âgé de 56ans.

La mère (II-7) également atteinte d'un cancer du colon à l'âge de 59ans et décédée à 60ans, ainsi son frère (II-10) qui représente l'oncle maternel du cas index a développé un cancer de l'estomac à 48ans, puis un cancer de l'intestin à 64ans.

Le père (II-6) décédé d'une tumeur cérébrale 70ans. Un autre cas du cancer du colon est marqué chez un cousin (III-2) du cas index à l'âge de 25ans.

Nous suggérons que le locus pathogène serait transmis du côté maternel vu la présence de plusieurs cas de cancer.

• Pedigree 2

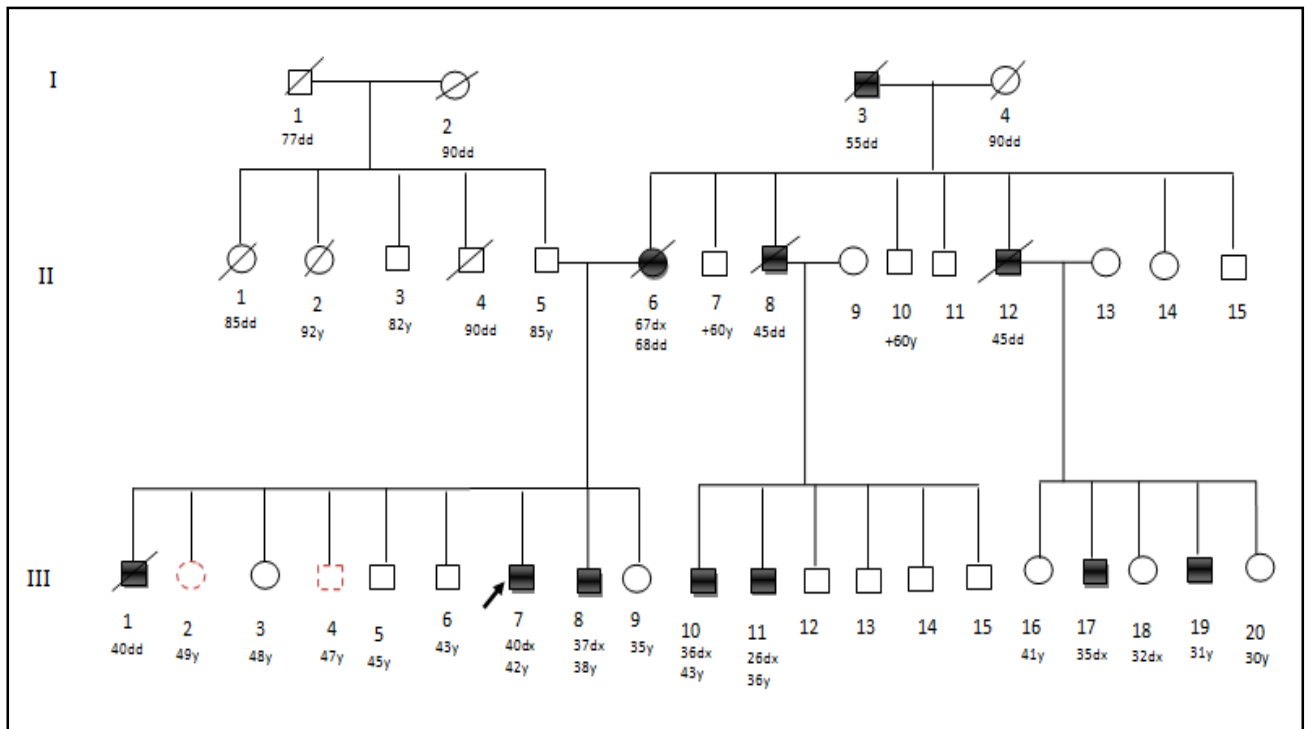


Figure 20. Pedigree représentatif de la famille du patient 2795/15

Cette généalogie s'établit sur trois générations, son analyse révèle la présence d'un cas index (III-6) qui a développé un cancer du colon à l'âge de 40 ans. Nous observons plusieurs membres de la famille qui sont atteints d'un cancer colique avec un intervalle d'âge variable :

- La mère du cas index (II-6) à l'âge de 67 ans.
- Deux frères dont un (III-1) est décédé à 40 ans et l'autre (III-7) âgé de 37 ans.
- Un oncle maternel (II-8) décédé à l'âge de 45 ans, ainsi que ses deux fils sont atteints (III-10) à l'âge de 36 ans et (III-11) à l'âge de 26 ans.
- Un autre oncle maternel (II-12) décédé à l'âge de 45 ans, ses deux fils également diagnostiqués (III-17) à l'âge de 35 ans et (III-19) à l'âge de 31 ans.
- La grand-mère maternelle (I-3) décédée également d'un cancer colique à l'âge de 55 ans.

Nous notons la présence d'un angiome chez une sœur (III-2) et un frère (III-4) du cas index. Le locus pathogène serait transmis du côté maternel car aucune histoire familiale du cancer n'est connue du côté paternel.

• Pedigree 3

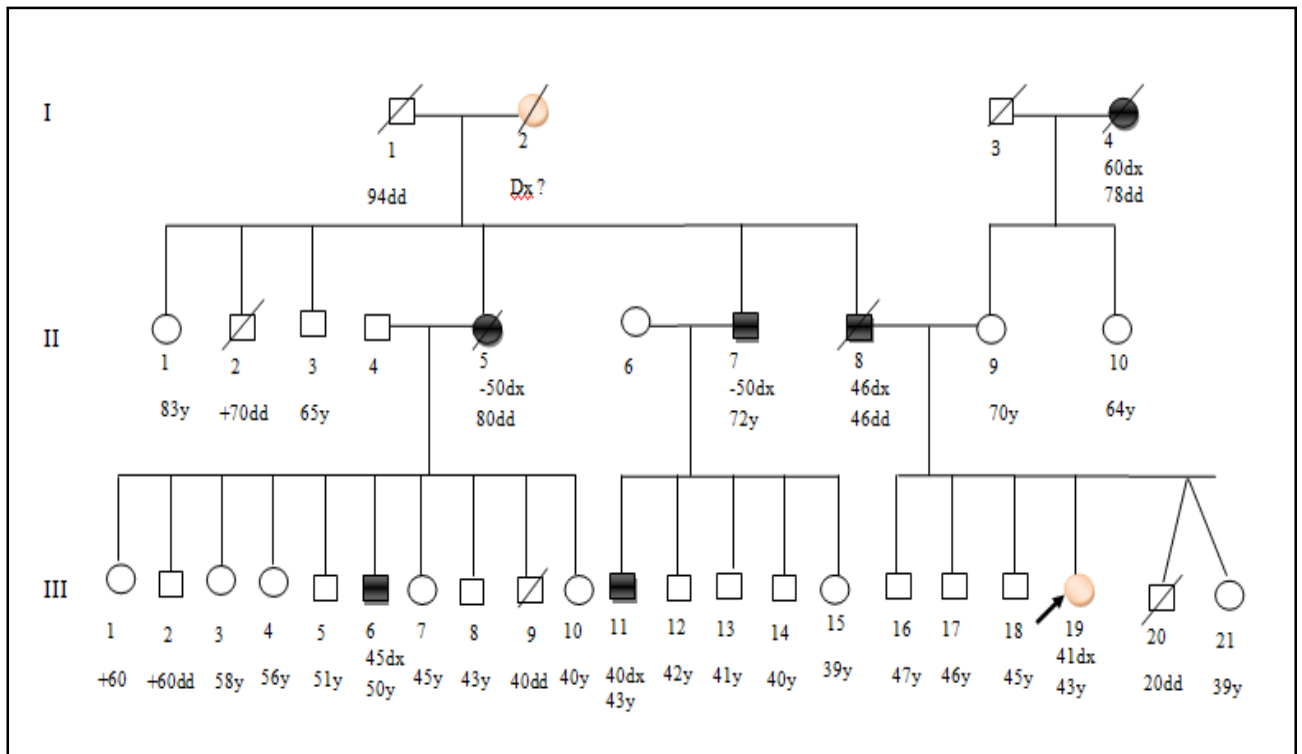


Figure 21. Pedigree représentatif de la famille du patient 4465/14

La généalogie représentée s'établit sur trois générations, son analyse révèle la présence de plusieurs cas de cancer chez la famille.

Le cas index (III-19) est une femme âgée de 43ans qui a développé un cancer de l'endomètre à 41ans , ainsi de sa grand-mère paternel dont l'âge du diagnostic est inconnu .

Des cas de cancer colique sont marqués chez les membres de la famille. Le père (II-8) décédé à l'âge de 46ans, son frère (II-7) diagnostiqué à <50ans, sa sœur (II-5) également atteinte à un âge <50ans.

Deux cousins du cas index sont atteints d'un cancer colique (III-6) à 45ans, (III-11) à 40ans.

Un cas est également signalé qui représente la grand-mère maternel du cas index (I- 4) à 60ans.

Nous suggérons que le locus pathogène serait transmis du côté paternel car une forte histoire familiale de cancer est présente .

• Pedigree 4

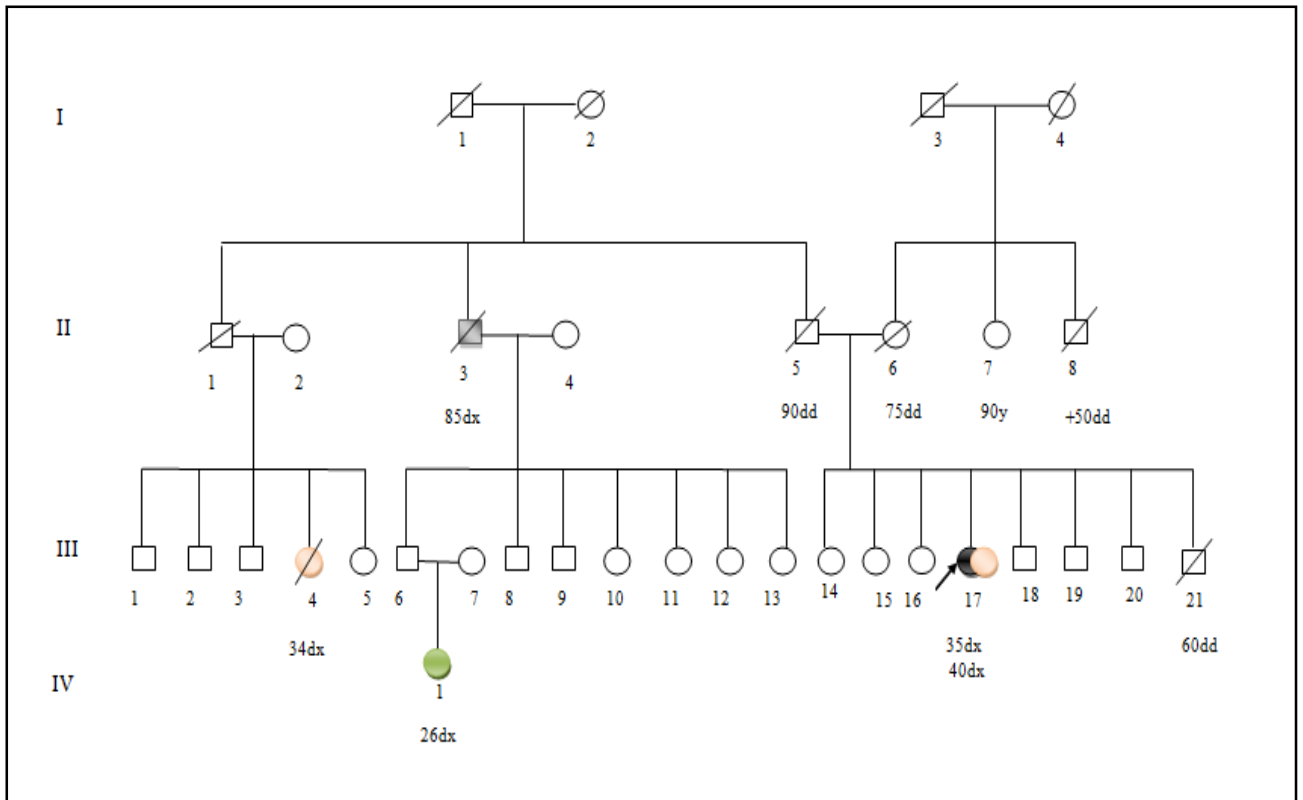


Figure 22. Pedigree représentatif de la famille du patient 4355/14

La généalogie représentée s'établit sur quatre générations, son analyse révèle la présence d'un cas index (III-17) qui a développé un cancer de l'endomètre à l'âge de 35 ans puis un cancer du colon à l'âge de 40 ans.

Un oncle paternel (II-3) est décédé d'un cancer dont le site est inconnu. Un cancer de l'endomètre est diagnostiqué chez une cousine du cas index (III-4) à l'âge de 34 ans.

Une autre cousine également (IV-1) a développé une tumeur cérébrale à 26 ans.

Nous suggérons que le locus pathogène serait transmis du côté paternel car aucune histoire familiale du cancer n'est connue du côté maternel.

• Pedigree 5

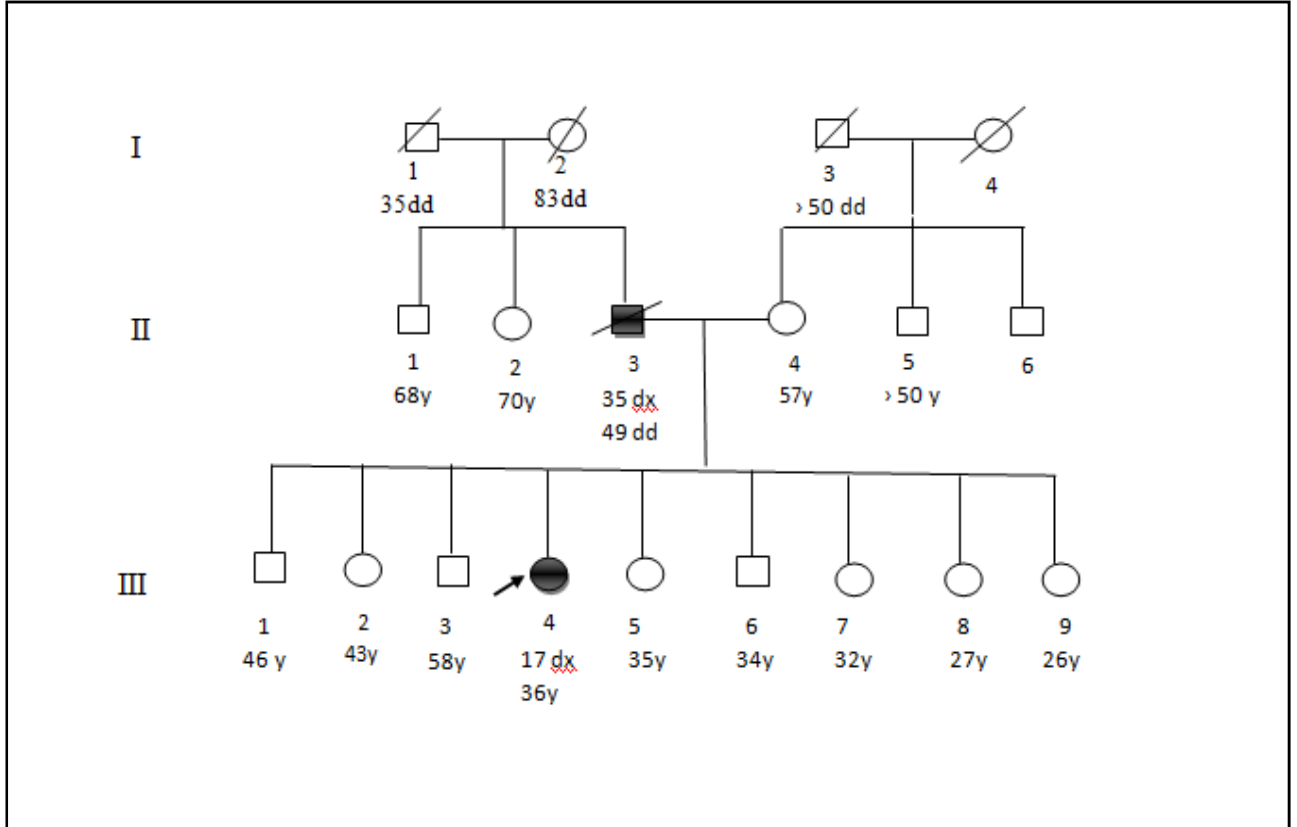


Figure 23 . Pedigree représentatif de la famille du patient 621/16

La généalogie représentée s'établit sur trois générations , son analyse révèle la présence d'un cas index (III-4) qui a développé un cancer colique à 17ans.

Son père également (II-3) diagnostiqué à l'âge de 35ans et décédé à 49ans à cause d'un cancer du colon.

1.3 Immunohistochimie

Après la sélection de 20 patients en se basant sur les critères cliniques, nous avons effectué une IHC sur des tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine pour les trois protéines incriminés dans le LS : MLH1, MSH2 et MSH6.

Ces protéines sont normalement exprimées dans les tissus non néoplasiques, les tissus stromal, les lymphocytes et les cryptes non-néoplastiques qui servent de témoins internes positifs.

La coloration des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 était notée comme positive, quand les noyaux de cellules tumorales présentaient un marquage positif.

Négatif quand aucune coloration des noyaux de cellules tumorales n'était observé alors que le témoins interne était positif.

Sur les 20 échantillons tumoraux testés, le profil immunohistochimique a révélé que 18 cas présentent une extinction d'au moins une protéine du système MMR. **(Tableau IV)**

Parmi les 18 cas :

- 7 ont montré une extinction de MLH1 seul.
- 6 cas ont montré une extinction simultanée de MSH2 et MSH6.
- 2 cas ont montré une perte d'expression de la protéine MSH2 seule.
- 2 cas ont montré une perte d'expression simultanée des protéines MLH1 et MSH2
- Un seul cas a montré une extinction simultanée des trois marqueurs MLH1, MSH2 et MSH6.

Notamment aucun cas n'a montré la perte de MSH6 seul et 2 cas ont montré une expression normale des trois protéines testées.

Tableau IV. Profil immunohistochimique des protéines MMR

	Code	Expression des protéines MMR			ATCDS familiaux/ personnelles
		MLH1	MSH2	MSH6	
01	7174/12	-	+	+	+
02	1749/14	-	+	+	+
03	2948/14	+	-	-	+
04	3963/14	+	-	-	+
05	4355/14	-	+	+	+
06	5154/14	+	-	-	+
07	6485/14	+	-	-	/
08	816/14	+	+	+	/
09	2795/15	-	+	+	+
10	249/16	-	-		+
11	621/16	+	-	-	+
12	3934/16	-	+	+	+
13	5727/16	+	-	+	/
14	4952/16	-	+	+	+
15	2010/13	-	-	+	+
16	5108/15	-	+	+	+
17	6375/15	+	-	+	+
18	1160/16	+	+	+	/
19	3420/14	-	-	-	+
20	4465/14	+	-	-	+

Pour interpréter l'évaluation de la coloration des protéines MLH1, MSH2 et MSH6, nous avons défini deux types de coloration: aberrante indicative d' une absence de marquage nucléaire dans la tumeur (A, C et E) par rapport au témoin interne positif (flèches) ; normale indicative d' un marquage positif (B, D et F).

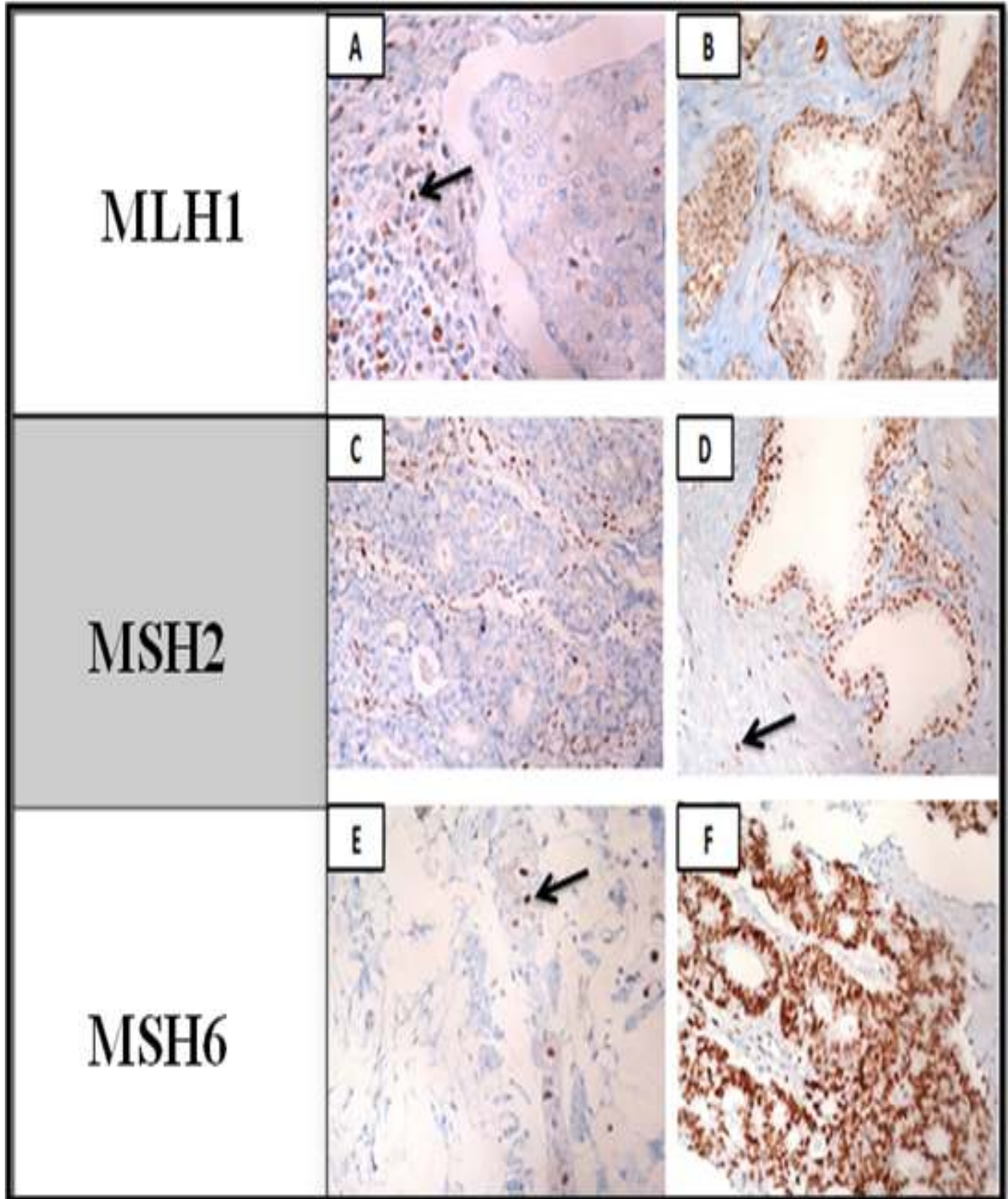


Figure 19. Coloration immunohistochimique des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 (G10X10, G10X20)

2. Discussion

Le cancer colorectal est un problème majeur de santé publique en raison de sa fréquence et de sa gravité. En Algérie, il est le 1^{er} type de cancer le plus diagnostiqué chez les hommes et le 2^{ème} chez les femmes. (**Registre des tumeurs d'Alger, 2013**)

Le syndrome de Lynch est la forme la plus fréquente des cancers colorectaux héréditaires. A notre connaissance, il existe un manque de données et très peu d'études ont été réalisées concernant la prévalence de LS chez la population algérienne. Effectivement, c'est ce que nous avons constaté à travers notre travail au niveau du CPMC, et à cause de manque d'un système de santé moderne et adapté, nous avons trouvé des difficultés à réaliser l'étude actuelle, où les patients atteints d'un LS ne sont pas diagnostiqués et suivis.

Cependant, l'identification de ces patients est très importante, car ceci a une influence potentielle sur les décisions de traitement et de dépistage, la prévention du cancer pour les patients et leurs familles. Ainsi, la surveillance de ces patients permet d'économiser un coût financier considérable pour le système de santé.

Notre étude qui porte sur une série de 20 patients atteints d'un CCR a montré que l'âge moyen du diagnostic est de 40ans (22 -58ans), où 18 sur 20 cas de LS identifiés étaient diagnostiqués avec un cancer colorectal à un âge inférieur à 50 ans. Ceci concorde avec une étude similaire (**Overbeek et al., 2008**) qui utilisait des tumeurs provenant des patients diagnostiqués à un âge < 50 ans.

Par contre, dans une étude récente (**O'Kane et al., 2017**) et à partir de données de trois centres médicaux académiques d'Irlande l'âge médiane de diagnostic était 70ans.

Les tumeurs de phénotype MSI et qui présentent par IHC une extinction des protéines MMR, ont une morphologie assez caractéristique, sont situés dans le côlon droit, sont peu différenciées, d'histologie mucineuse ou médullaire et présentent un infiltrat typiquement lymphocytaire (**Tougeron et al., 2013**). Ainsi, ils sont associées à des tumeurs primaires de taille large (tumeurs T3), mais avec un pronostic plus favorable (moins d'atteinte ganglionnaire et diminution de la présence de métastases) (**Söreide et al., 2006**).

Effectivement, la majorité de nos cas sélectionnés qui présentent par IHC une extinction des protéines MMR, les tumeurs sont localisées au niveau du colon proximal, avec une histologie mucineuse, un stade T3 et une faible atteinte ganglionnaire et de métastases.

Les tests moléculaires utilisant l'immunohistochimie (IHC) pour les protéines MMR sont un outil de dépistage recommandé pour identifier les patients atteints d'un LS.

C'est un test de routine largement utilisée dans les laboratoires de pathologie générale, car elle ne nécessite pas de laboratoire de biologie moléculaire et de personnels spécialisés. Ainsi, elle peut diriger l'analyse mutationnelle par la suite vers un gène spécifique, ce qui permet d'économiser l'analyse inutile d'autres gènes.

L'application de l'IHC sur les différents échantillons tumoraux a révélé que la majorité des cas, environ 90% ont montré une perte d'expression d'une ou plus des protéines MMR. Ce qui est observé dans diverses études visant à identifier les patients LS, notamment une étude rétrospective effectuée en Australie (**Brennan et al.,2017**).

Environ 90% des cancers survenant dans le cadre d'un syndrome de Lynch sont dus à une mutation de MLH1 ou MSH2. Seuls 10% sont associés à une mutation de MSH6 ou PMS2. Ce qui se traduit par une perte d'expression des produits de ces gènes par IHC (**Arnold et al.,2005**).

Le profil immunohistochimique de notre analyse est marqué par une extinction de MLH1 seul, suivit d'une extinction de MSH2 seul. Ainsi, une perte d'expression simultanée de l'hétérodimère MSH2/MSH6.

Malgré les différents facteurs qui influencent la technique de l'IHC, et le protocole de réalisation qui diffère à travers les laboratoires d'anatomopathologie, nous avons pu obtenir des résultats similaires à certains études effectuées en Irlande (**O'Kane et al.,2017**), et en Arabie Saoudite (**Siraj et al.,2015**).

Il est intéressant de noter que 1 cas a démontré une perte d'expression pour MLH1, MSH2 et MSH6. Un même résultat est signalé dans une étude chez la population d'Arabie Saoudite (**Siraj et al.,2015**).

Bien que les antécédents familiaux soient au cœur des critères d'Amsterdam II et de Bethesda, le manque de données et des dossiers médicaux des patients au niveau des services d'anatomopathologie et de chirurgie générale, ne nous ont pas permis d'interviewer tous les 20 patients. C'est l'un des soucis rencontré par plusieurs équipes de recherche au cours du diagnostic des familles LS (**Siraj et al.,2015**).

Toutefois , nous avons pu accueillir des informations sur l'histoire familiale concernant 16 patients , et à travers une anamnèse nous avons établi des arbres généalogiques sur ces patients et leur antécédents familiaux.

Les tumeurs provenant de ces patients testées par IHC , ont présenté effectivement une extinction d'une ou plus des protéines MMR. Ceci concorde avec plusieurs études , notamment celle de Brennan et *al.* qui portait sur une série individus atteints d'un CCR , qui présentent une histoire familiale et/ou personnelle du cancer, ont montré une perte d'expression pour une ou plus des protéines MMR (**Brennan et al.,2017**).

Le diagnostic des patients atteints d'un LS en utilisant l'IHC n'est pas suffisant , et doit être complété et confirmé par une analyse moléculaire et des tests génétique. Ceci n'est pas appliqué au niveau des centres médicaux en Algérie en raison de manque de registres du cancer colorectal familial , et les coûts des tests génétiques.

Conclusion

Le contexte moléculaire, clinique, pathologique et génétique de LS est bien connu. En raison de ce fait, les tests génétiques prédictifs sont possibles et la chirurgie prophylactique est une option recommandée au moment du cancer du côlon. Pour identifier les patients atteints de LS, la connaissance d'une histoire familiale détaillée et la corrélation avec les critères Amsterdam I et II ainsi qu'avec les lignes directrices de Bethesda sont essentielles.

Donc des consultations d'oncogénétique doivent se faire automatiquement dans les services d'oncologie dans le but d'effectuer des tests génétiques pour le diagnostic. Ces tests génétiques devraient être remboursés par la sécurité sociale.

L'étude actuelle vise à mettre en évidence l'incidence de LS chez les patients atteints de CRC en Algérie.

L'identification des patients atteints d'un HNPCC est très importante, car cela facilite la surveillance et la prise en charge de ces patients et leur familles.

A travers ce travail nous insistons sur l'importance d'établir un programme national pour dépister tous les patients atteints de CRC pour LS en Algérie.

Références bibliographiques

- ❖ **Ahuja N., Li Q., Mohan AL., et al.** (1998). Aging and DNA methylation in colorectal mucosa and cancer. *Cancer Res*, 58:5489–5494.
- ❖ **Andrew M. Bellizzi, and Wendy L. Frankel.** (2009).Colorectal Cancer Due to Deficiency in DNA Mismatch Repair Function A Review. *Adv Anat Pathol* , 16:405–417.
- ❖ **Bailey-Wilson JE., Elston RC., Schuelke GS., Kimberling WJ., Albano WA., Lynch JF., Lynch HT.** (1986).Segregation analysis of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Genetic Epidemiology*, 32-38.
- ❖ **Beatrice Brennan., Christine T. Hemmings., Ian Clark., Desmond Yip., Mitali Fadia., and Douglas R. Taupin.**(2017) .Universal molecular screening does not effectively detect Lynch syndrome in clinical practice. *Therap Adv Gastroenterol.* , 10(4): 361–371.
- ❖ **Boland C. R. & Troncale, F. J.** (1984). Familial colonic cancer without antecedent polyposis. *Ann. Intern. Med.*, 100: 700–701.
- ❖ **Bruno Buecher., Antoine de Pauw., Paul Freneaux., Étienne Rouleau.**(2011). Microsatellite instability in colorectal cancer *Cancéro dig* , 200-203.
- ❖ **Chaves P., Cruz C., Lage P., Claro I., Cravo M., Leitao CN., Soares J.**(2000). Immunohistochemical detection of mismatch repair gene proteins as a useful tool for the identification of colorectal carcinoma with the mutator phenotype. *J Pathol*, 191:355–360.
- ❖ **Chiaravalli AM., Furlan D., Facco C., Tibiletti MG., Dionigi A., Casati B, Albarello L., Riva C., Capella C.**(2001). Immunohistochemical pattern of hMSH2/hMLH1 in familial and sporadic colorectal, gastric, endometrial and ovarian carcinomas with instability in microsatellite sequences. *Virchows Arch* , 438:39– 48.
- ❖ **C. Richard Boland . Henry T. Lynch.** (2013). The history of lynch syndrome. *familial cancer* 1-13.
- ❖ **C. Richard Boland, Minoru Koi, Dong K. Chang, and John M. Carethers .** (2008).The biochemical basis of microsatellite instability and abnormal immunohistochemistry and clinical behavior in lynch syndrome: from bench to bedside. *fam cancer*, 7(1):41-52

Références bibliographiques

- ❖ **C. Richard Boland., Stephen N. Thibodeau., Stanley R. Hamilton., David Sidransky., James R. Eshleman., Randall W. Burt., Stephen J. Meltzer., Miguel A. Rodriguez-Bigas., Riccardo Fodde., G. Nadia Ranzani., and Sudhir Srivastava.** (1998). A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for Cancer Detection and Familial Predisposition: Development of International Criteria for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *CANCER RESEARCH* , 58. 5248-5257.
- ❖ **Cunningham JM., Christensen ER., Tester DJ, et al.** (1998). Hypermethylation of the hMLH1 promoter in colon cancer with microsatellite instability. *Cancer Res*, 58: 3455-3460.
- ❖ **Debniak T., Kurzawski G., Gorski B., Kladny J., Domagala W., Lubinski J .** (2000). Value of pedigree/clinical data, immunohistochemistry and microsatellite instability analyses in reducing the cost of determining hMLH1 and hMSH2 gene mutations in patients with colorectal cancer. *Eur J Cancer*,36:49–54.
- ❖ **Dorothy A. Erie., Keith R. Weninger.** (2014). Single molecule studies of DNA mismatch repair. *DNA Repair* , 1568-7864
- ❖ **Douglas Hanahan and Robert A. Weinberg.**(2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* , 144: 646-674.
- ❖ **Fearon ER, Vogelstein B.** (1990).A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* , 61: 759–67.
- ❖ **Francis M. Giardiello., John I. Allen., Jennifer E. Axilbund., C. Richard Boland., Carol A. Burke., Randall W. Burt., James M. Church., Jason A. Dominitz., David A. Johnson., Tonya Kaltenbach., Theodore R. Levin., David A. Lieberma., Douglas J. Robertson., Sapna Syngal and Douglas K. Rex.** (2014). Guidelines on Genetic Evaluation and Management of Lynch Syndrome: A Consensus Statement by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Am J Gastroenterol* , 109:1159–1179.
- ❖ **Gazzoli I., Loda M., Garber J., Syngal S and Kolodner RD.** (2002).A hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma case associated with hypermethylation of the MLH1 gene in normal tissue and loss of heterozygosity of the unmethylated allele in the resulting microsatellite instability-high tumor. *Cancer Res* , 62: 3925-3928.

Références bibliographiques

- ❖ **Grainne M. O'Kane, Éanna Ryan., Terri P. McVeigh., Ben Creavin., John MP. Hyland., Diarmuid P. O'Donoghue., Denise Keegan., Robert Geraghty., Delia Flannery., Carmel Nolan., Emily Donovan., Brian J. Mehigan., Paul McCormick., Cian Muldoon., Michael Farrell., Conor Shields., Niall Mulligan., Michael John Kennedy., Andrew J. Green., Desmond C. Winter., Padraic MacMathuna., Kieran Sheahan., and David J. Gallagher.** (2017). Screening for mismatch repair deficiency in colorectal cancer: data from three academic medical centers. *Cancer Med* , 6(6): 1465–1472.
- ❖ **Hampel H., Frankel WL., Martin E et al .**(2005). Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *N Engl J Med* , 352:1851–1860.
- ❖ **Hans F. A. Vasen., Patrice Watson., Jukka–Pekka Mecklin., Henry T. Lynch., and the ICG.**(1999). HNPCC New Clinical Criteria for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (HNPCC, Lynch Syndrome) Proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *GASTROENTEROLOGY* , 116:1453–1456.
- ❖ **Henry T .Lynch., Thomas Smyrk., And Jane Lynch.** (1997).An update of HNPCC (Lynch Syndrome). *Cancer Genet Cytogenet* 84-99.
- ❖ **Henry T. Lynch., Thomas C.. Smyrk., Patrice Watson., Stephen J. Lanspa., Jane F. Lynch., Patrick M. Lynch., R. Jennifer Cavalieri., And C. Richard Boland.**(1993). Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review. *GASTROENTEROLOGY* , 104:1535-1549.
- ❖ **Hidetsugu Yamagishi., Hajime Kuroda., Yasuo Imai and Hideyuki Hiraishi.** (2016). Molecular pathogenesis of sporadic colorectal cancers. *Chin J Cancer* , 35:4.
- ❖ **Hiroyuki Yamamoto ., Kohzoh Imai.** (2015). Microsatellite instability: an update. *Arch Toxicol* , 89(6):899-921.
- ❖ **Jass JR.**(2007). Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* , 50: 113–30.
- ❖ **Jinru Shia ., Nathan A. Ellis ., David S. Klimstra.** (2004).The utility of immunohistochemical detection of DNA mismatch repair gene proteins. *Virchows Arch*, 445:431–441.

Références bibliographiques

- ❖ **Jinru Shia., Laura H. Tang., Efsevia Vakiani., Jose G. Guillem., Zsofia K. Stadler., Robert A. Soslow., Nora Katabi., Martin R. Weiser., Philip B. Paty., Larissa K. Temple., Garrett M. Nash., W. Douglas Wong., Kenneth Offit., and David S. Klimstra.** (2009). Immunohistochemistry as First-line Screening for Detecting Colorectal Cancer Patients at Risk for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer Syndrome , A 2-antibody Panel May be as Predictive as a 4-antibody Panel. *Am J Surg Pathol* , 33:1639–1645.

- ❖ **John M Carethers., Elena M Stoffel.** (2015). Lynch syndrome and Lynch syndrome mimics: The growing complex landscape of hereditary colon cancer . *World J Gastroenterol* ,21(31): 9253-9261

- ❖ **Joshua J.Warren., Timothy J.Pohlhaus., Anita Changela., Ravi R.Iyer., Paul L.Modrich., Lorena S.Beese.** (2007). Structure of the Human MutS α DNA Lesion Recognition Complex. *Molecular cell* , 26 ; 579-592.

- ❖ **K. So" reide .E. A. M. Janssen ., H. So" iland., H. Ko" rner and J. P. A. Baak.** (2006). Microsatellite instability in colorectal cancer. *British Journal of Surgery* , 93: 395–406.

- ❖ **Laura Libera., Nora Sahnane., Ileana Wanda Carnevali., Laura Cimetti., Roberta Cerutti., Anna Maria Chiaravalli., Cristina Riva., Maria Grazia Tibiletti., Fausto Sessa., Daniela Furlan.** (2017). Microsatellite analysis of sporadic and hereditary gynaecological cancer in routine diagnostics. *J Clin Pathol* , 1–6.

- ❖ **Lucia I. H. Overbeek., Marjolijn J. L. Ligtenberg., Riki W. Willems., Rosella P. M. G. Hermens., Willeke A. M. Blokk., Stefan V. Dubois., Hans van der Linden., Jos W. R. Meijer., Maria L. Mlynck-Kersjes., Nicoline Hoogerbrugge., Konnie M. Hebeda., and Joannes H. J. M. van Krieken.**(2008). Interpretation of Immunohistochemistry for Mismatch Repair Proteins is Only Reliable in a Specialized Setting. *Am J Surg Pathol* , 32:1246–1251.

- ❖ **Lynch H. T. & Krush A. J.** (1971). The cancer family syndrome and cancer control. *Surg. Gynecol. Obstet* , 132: 247–250 .

- ❖ **Lynch HT., de la Chapelle A.** (2003). Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med* , 348:919–32.

Références bibliographiques

- ❖ **Lynch HT., Lynch PM., Lanspa SJ., Snyder CL., Lynch JF., Boland CR.** (2009). Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. *Clin Genet* , 76: 1–18.
- ❖ **Lynch H. T., Shaw M. W., Magnuson C. W., Larsen A. L. & Krush A. J.** (1966). Hereditary factors in cancer: study of two large Midwestern kindreds. *Arch. Intern. Med.*, 117: 206–212.
- ❖ **M. Ferron. , F. Praz., M. Pocard.** (2005). Génétique du cancer colorectal. *Elsevier*, 130 : 602-607.
- ❖ **N. Devaud ., S. Gallinger .** (2013). Chemotherapy of MMR-deficient colorectal cancer. *Familial Cancer* ,12:301–306.
- ❖ **Nirosha Suraweera., Alex Duval., Maryline Reperant., Christelle Vaury., Daniela Furlan., Karen Leroy., Raquel Seruca., Barry Iacopetta., And Richard Hamelin.** (2002). Evaluation of Tumor Microsatellite Instability Using Five Quasimonomorphic Mononucleotide Repeats and Pentaplex PCR. *GASTROENTEROLOGY* , 123:1804–1811.
- ❖ **Ralph Schneider ., Claudia Schneider. , Matthias Kloor., Alois Fürst & Gabriela Möslin.**(2012). Lynch syndrome: clinical, pathological, and genetic insights. *Langenbecks Arch Surg* , 397:513–525.
- ❖ **Randall W. Burt.** (2000). Colon Cancer Screening. *GASTROENTEROLOGY* ,119:837–853.
- ❖ **Ruszkiewicz A., Bennett G., Moore J., Manavis J., Rudzki B., Shen L., Suthers G** . (2002). Correlation of mismatch repair genes immunohistochemistry and microsatellite instability status in HNPCC-associated tumours. *Pathology*, 34:541–547.
- ❖ **Schepers AG., Snippet HJ., Stange DE., van den Born M., van Es JH., van de Wetering M., Clevers H.** (2012). Lineage tracing reveals Lgr5+ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science*. 10;337(6095):730-5.
- ❖ **Strand M., Prolla TA., Liskay RM., Petes TD.** (1993). Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. *Nature*, 365: 274–6.
- ❖ **Susan Richman.** (2015). Deficient mismatch repair: Read all about it (Review). *International journal of oncology* , 47: 1189-1202.

Références bibliographiques

- ❖ **Tannergard P., Liu T., Weger A., Nordenskjold M., Lindblom A.** (1997). Tumorigenesis in colorectal tumors from patients with hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Hum Genet*,101:51–5.
- ❖ **Thibodeau SN., Bren G., Schaid D.** (1993). Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*, 260: 816–819.
- ❖ **Tougeron D., Maby P., Elie N., et al.** (2013). Regulatory T lymphocytes are associated with less aggressive histologic features in microsatellite- unstable colorectal cancers. *PLoS One* , 8: e61001.
- ❖ **Warthin, A. S.** (1913). Heredity with reference to carcinoma as shown by the study of the cases examined in the pathological laboratory of the University of Michigan, 1895–1913. *Arch. Intern. Med.*,12: 546–555.
- ❖ **William B. Coleman • Gregory J. Tsongalis.** (2017) . The Molecular Basis of Human Cancer . new york 1-868.

Annexes

Annexe A

Classification pTNM des carcinomes colorectaux (AJCC, 7^{ème} édition 2009)

1. Extension de la tumeur

TIS = Carcinome in situ. Tumeur intra-épithéliale ou envahissant la lamina propria sans extension à la sous-muqueuse.

T1 = Tumeur infiltrant la sous-muqueuse sans la dépasser.

T2 = Tumeur infiltrant la musculature sans la dépasser.

T3 = Tumeur envahissant toute la paroi sans la dépasser.

T4 = Tumeur dépassant la séreuse.

2. Envahissement ganglionnaire (N)

N0 = Absence de métastase ganglionnaire régionale.

N1 = Métastase dans un à trois ganglions régionaux.

- **N1a** = 1 ganglion envahi.

- **N1b** = 2 ou 3 ganglions envahis.

- **N1c** = présence d'embolies tumorales dans la sous-séreuse sans métastase ganglionnaire.

N2 = Métastase dans 4 ganglions régionaux ou plus.

- **N2a** = 4 à 6 ganglions envahis.

- **N2b** = 7 ganglions envahis ou plus.

Nx = Statut ganglionnaire inconnu.

3. Métastases (M)

M0 = Absence de métastase.

M1 = Présence de métastases à distance.

- **M1a** = limité à un site ou organe.

- **M1b** = touchant plusieurs organes ou le péritoine.

Mx = Statut métastatique inconnu.

Annexes

Annexe B

Tableau III . Réactifs utilisés en IHC

Réactif	Référence
Anti – MLH-1(M1) Mouse Monoclonal Primary Antibody 5ml (\approx 1.4 μ g/ml) (VENTANA)	790-4535
Anti – MSH-6 (44) Mouse Monoclonal Primary Antibody 5ml (\approx 0.101 μ g/ml) (VENTANA)	790-4455
MSH2 (G219-1129) Mouse Monoclonal Antibody 2.84 μ g/ml (CELL MARQUE)	760-4265
TRS à pH=9 (Solution Target Retrieval high pH 50x)	k8000
DAKO Real TM Antibody Diluent	S 2022
Solution PBS Wash buffer (20 \times)	K 8000
DAKO REAL TM Peroxidase-Blocking solution	S 2023
Dako REAT TM HRP anti RABBIT/MOUSE (ENV)	K 5007
DAKO DAB+CHROMONGENE (substrat chromogène contenant le 3,3'- dibenzidine) (DM827)	K 8000
DAKO SUBSTRATE BUFFER (SM803)	K 8000
Eau distillée (Distillateur)	ELGA
Eau oxygénée (DAKO Real TM)	S2023
Eau ammoniacuée (Flux BOIX)	R36/37/38
DAKO Faramount aqueous mounting medium ready to use	S 3025
Hématoxyline de Mayer's DAKO	S3309

Annexes
