

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et physiologique cellulaire



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Option : Biosignalisation cellulaire et moléculaire : Génétique du cancer

Thème

**Etude de déséquilibre du cycle cellulaire dans le cancer du col
utérin, par étude immunohistochimique du ki67 p16 et p53**

Etudié et présenté par

MERROUCHE Samira

BELKHOUS Nassima

Membres de jury

Mme CHELGHOUM.H	Maitre assistante A	Université de Blida 1	Présidente
Mme HERKAT.S	Maitre assistante A	Université de Blida 1	Examinatrice
Mme HANNACHIL.L	Maitre de conférence A	CHU Mustapha	Promotrice
Mme NADJI. S	Maitre de stage A	CHU Mustapha	Co-promotrice

Promotion 2015 / 2016

Dédicace

A mes parents, Sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir guidé sur le chemin de la vie. Merci pour votre soutien et votre affection.

A mon frère Hamid et mes sœurs Horia, Fadhila, Nadia Merci pour votre patience et votre amour. Vous êtes pour moi une grande source d'énergie, de courage et de bonheur

...

A toute ma famille.

A mes amis et mes confrères : pour leur aide, encouragements et amitié.

Enfin j'ai une pensée particulière pour la promotion 2015-2016 du Master 2 en souvenir des bons moments partagés ensemble.

A tous ceux, qui m'ont apporté, directement ou indirectement, leur aide ou leurs encouragements lors de la réalisation de cette thèse.

A tous ceux que j'aurais aimé citer aussi et que j'ai pu oublier

Samira



Dédicace

A l'âme de mon père **Belhous Khlaed**,
Que je tiens la grande gratitude après Dieux



Nassima

Résumé :

Le cancer du col de l'utérus est dû à l'infection virale persistante de l'HPV (HPV 16 et 18 de haut risque) durant une quinzaine d'années

L'objectif principal de ce travail était d'améliorer les connaissances sur le cancer du col de l'utérus notamment par l'étude des principaux marqueurs associés à ce cancer en plus de cerner le déséquilibre cellulaire dans ce cancer.

Pour répondre à notre objectif, une étude a été menée ; étude rétrospective et prospective respectivement entre 2011- 2015 et janvier 2016 - juin 2016. Cette étude a été menée sur des prélèvements colligés au laboratoire d'anatomo-pathologie du centre hospitalo-universitaire, Mustapha Bacha (Alger) de 9 cas (7 carcinome épidermoïde et 2 adénocarcinome). L'âge des patientes varie entre 46 à 71 ans, et le moyen d'âge est de 58 ans. trois marqueurs ont été utilisés afin de réaliser le marquage immunohistochimique à savoir : ki67, p16 et p53.

Nous constatons un marquage diffus intense de Ki67 de pourcentage entre 80%-85% dans les 9 cas, un marquage immunohistochimique positif de la p53 avec un pourcentage inférieur à 20 % dans les carcinomes épidermoïde et de 80% dans les adénocarcinomes dans les 9 cas et enfin un marquage focal de la protéine P16.

Cette étude montre que la détection de cellules cervicales qui co-expriment les deux marqueurs (p16 et ki67) représente un signe de dérégulation du cycle cellulaire.

Mots clés : Cancer du col, HPV, Ki67, P16, P53

Abstract:

Cancer of the cervix is due to the persistent viral infection of HPV (HPV 16 and 18 High-risk) for fifteen years.

The principal objective of this work was to improve knowledge on the uterus cervical cancer especially by associated with this cancer in addition to identifying the cellular déséquilibre in this cancer.

To meet our objective, a study was conducted; A retrospective and prospective study, respectively, between 2011-2015 and January 2016 - June 2016. This study was carried out on samples taken in the anatomo-pathology laboratory of the University Hospital Center, Mustapha Bacha (Algiers) of 9 cases (7 epidermoid carcinoma and 2 adenocarcinoma). The age of the patients varies between 46 to 71 years and the average age is 58 years. Three markers were used to carry out the immunohistochemical marking namely: ki67, p16 and p53.

The results show an intense diffuse Ki67 mark-up between 80% -85% in the 9 cases, a positive immunohistochemical labeling of p53 with a percentage less than 20% in epidermoid carcinomas and 80% in adenocarcinomas in the 9 And finally focal labeling of the P16 protein.

This study shows that the detection of cervical cells which co-express the two markers (p16 and ki67) represents a sign of cell cycle deregulation.

Keywords: cervical cancer, HPV, Ki67, P16, and P53

ملخص:

سرطان عنق الرحم يرجع إلى عدوى فيروسية مستمرة لخمس عشرة عام لفيروس الورم الحليمي البشري. الهدف الرئيسي من هذا العمل تحسين المعرفة عن سرطان عنق الرحم من خلال دراسة المحددات الرئيسية المرتبطة بسرطان عنق الرحم بالإضافة إلى تحديد الخلل الخلوي في هذا النوع من السرطان.

لتلبية هدفنا، أجريت دراسة، دراسة استيعادية ومستقبلية على التوالي بين 2011-2015 ويناير 2016 - يونيو 2016. وقد أجريت الدراسة على عينات تم جمعها في مختبر علم الأمراض من المستشفى الجامعي مصطفى باشا (الجزائر) لتسع حالات (7 سرطان الخلايا الحرشفية و 2 غدية). تراوحت أعمار المرضى بين 46-71 عاما، ويبلغ متوسط العمر 58 عاما. استخدمت ثلاث محددات لأداء التحديد المناعي وهي كي 67 البروتين و البروتين 53

نتائجنا تبين تحديدا مكثفا لكي 67 في الحالات التسع و تحديد مناعي إيجابي للبروتين 53 مع نسبة أقل من 20% في سرطان الخلايا الحرشفية و 80% من سرطان الخلايا غدية. تبين هذه الدراسة إن الكشف عن خلايا عنق الرحم التي تظهر المحددين البروتين 53 و كي 67 في نفس الوقت يؤكد حدوث تقلبات في دورة حياة الخلية .

الكلمات المفتاحية: سرطان عنق الرحم ، البروتين 53 ، البروتين 16، كي 67، فيروس الورم الحليمي.

Sommaire

REMERCIEMANT

DEDICASES

RESUME

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction

Chapitre I : recherche bibliographique1

I.1.Rappel1

A- anatomique1

B - physiologique3

I.2. Epidémiologie4

I.3. Les facteurs de risques5

I.3.1 Facteurs de risques liés au virus5

I.3.1.1 Type d'HPV5

I.3.1.2 Coïnfection6

I.3.1.3 Persistance6

I.3.1.4 Charge virale6

I.3.2 Autres facteurs de risque6

I.3.2.1 Age6

I.3.2.2 Tabagisme7

I.3.2.3 Contraception orale7

I.3.2.4 Multiparité7

I.3.2.5 Statut immunitaire	7
I.3.2.6 Coïnfection à d'autres maladies sexuellement transmissibles.....	7
I.3.2.7 Prédiposition génétique	8
I.3.2.8 Nutrition	8
I.4. Histoire naturel du cancer de col utérin	8
I.5. Classification des lésions.....	10
I.5.1 Sur le plan histologique.....	10
I.5.1.1. Lésions précancéreuses	10
I.5.1.2. Lésions cancéreuses	11
I.5.2. Sur le plan clinique	12
I.6. Cycle cellulaire et transformation néoplasique	12
I.6.1. Cycle cellulaire normal	12
I.6.2. Transformation néoplasique.....	13
I.6.3 Cycle cellulaire et marqueur de néoplasie cervical.....	14
I.6.4 Zone de transformation et néoplasies cervicales.....	15
I.6.5 Physiopathologie du cycle cellulaire.....	16
I.7. La prise en charge thérapeutique des cancers du col utérin	17
I.7.1. Méthodes thérapeutiques	17
I.7.1.1. Chirurgie	17
I.7.1.2. Radiothérapie	18
I.7.1.3. Chimiothérapie	18
Chapitre II : Matériels et Méthodes	20
II.1. population d'étude.....	20

II.2 . Matériel non biologique.....	21
II.3. Matériel biologique.....	21
II.4. Méthode.....	21
II.4.1. Examen histologique.....	21
II.4.2. Immunohistochimie.....	23
Chapitre III : Résultats	26
III. 1. Répartition en fonction de l' Année	26
III. 2. Répartition en fonction de l' Age	27
III.3 Répartition des lésion cancéreuses.....	27
III.4. les types histologiques	28
III.5. Résultats de l'immunohistochimie	28
a. Marqueur de prolifération cellulaire Ki67.....	29
b. Protéine supprimeur de tumeurs P53	30
c. Protéine supprimeur de tumeur P16	30
VI. Discussion	31
V. Conclusion	34
Références bibliographiques	
Annexe	

LISTE DES ABREVIATION

ADK : Adénocarcinome

Bx : Biopsie

CDK : Cycline Dépendant de Kinase

CE : carcinome epidermoide

CIN : Cervicale Intra épithéliale Néoplasie

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CIS : Carcinome In Situ

DAB : Di-Amino- Benzidine

FIGO : Fédération internationale d'Obstétrique et de Gynécologie

JPC : Jonction Pavimonto Cyndrique

HES : Hematoxyline Eosine -safran

HLA : Human Leukocyte Antigen

HR- HPV : Haut Risque – Humaine Papilloma Virus

IARC: International Agency for Research on Cancer

IHC: Immunohistochimie

INK4a : ihnibiteur de la kinase cycline- dependante 4 , également connu sous le nom p16INK4a

IVA: Inspection visuelle avec Acide Acétique

IVL: Inspection visuelle avec le solute de Lugol

Ki-67: Ki "ville de kiel" 67 "clone 67"

LCR: Liquide Cephalorachidien

MENA: Meadl East and North Africa

MIB-1: Molecular Immunology Brostel-1

MTS-1 : Multiple Tumor Suppressor 1

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pRb: protéine du gène du rétinoblastome

p53 : phosphoprotéine nucléaire

TDM : Tomodensitomètre

TNM : Tumor Node Metastasis

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

WHO : World Health Organisation

Liste des figures

figure	titre	page
1	Shéma du vagin	1
2	coupe de l'endocol	1
3	coupe histologique de l'exocol	2
4	Schéma agrandi de la zone de jonction	2
5	Les deux types d'épithélium du col et la jonction pavimento-cylindrique	3
6	Zone de remaniement	3
7	Données d'incidence du cancer du col utérin dans la région MENA	5
8	Aspect d'un koïlocyte (Chard and Grudzinskas, 1994)	8
9	Histoire naturelle de l'infection HPV et développement du cancer du col de l'utérus	9
10	Aspects histologiques des C I N	9
11	Evolution de l'épithélium normal vers un cancer invasif (OMS)	10
12	mécanismes d'action de l'E7 et E6	13
13	Mécanismes impliqués dans la dérégulation du cycle cellulaire d'une infection par un papillomavirus humain oncogène	15
14	Mécanisme de la surexpression de la P16 dans les cellules cervicales dysplasiques et cancéreuses, après infection par HR-HPV	17
15	schéma présentant le principe de la technique d'immunohistochimie	25
16	Répartition des cas cancéreux en fonction des années	26
17	Répartition en fonction de l'Age	27
18	Repartition des lésions cancéreuses	27
19	Carcinome épidermoïde HE x 40	28
20	Adénocarcinome HE x 20	28
21	carcinome épidermoïde Ki- marquage nucléaire intense et diffuse de 80 % des cellules (Gx20)	29
22	carcinome épidermoïde Ki-67 marquage nucléaire intense et diffuse de 80 % des cellules (Gx40)	29
23	Adénocarcinome p53 marquage nucléaire Intense et diffuse de 80 % des cellules (Gx20)	30
24	Carcinome épidermoïde p16: marquage nucléaire focal (inferieur a 20%) (Gx20)	30

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
1	AC utilisés dans l'étude IHC du cancer du col	24
2	résultats de l'immunohistochimie de KI67, P16 et P53	29

Introduction

Matériel et Méthodes

Résultats

Discussion

Références bibliographiques

1. Appleby, P, Beral, V, González, A, et al. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical, Cancer. Cervical cancer and hormonal contraceptives: Collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet*, 2007, vol. 370, no 9599, p. 1609-1621.
2. Baba, A, Catoi, L. Comparative oncology. 2007.
3. Brehem, A, Søren J, Eric A, et al. The E7 oncoprotein associates with Mi2 and histone deacetylase activity to promote cell growth. *The EMBO journal*, 1999, vol. 18, no 9, p. 2449-2458.
4. Burghardt, E, OSTÖR, A, G. Site and origin of squamous cervical cancer: a histomorphologic study. *Obstetrics and gynecology*, 1983, vol. 62, no 1, p. 117-127.
5. Bosch, F, Broker, X, Thomas R, Forman, D, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*, 2013, vol. 31, p. H1-H31.
6. Bouchelit, N. (2014). Etude Du Profil Nutritionnel Et Determition Du statut oxydatif (pro-oxydants) chez les femmes atteintes d'un cancer du sein dans la region de tlemcen (Doctoral dissertation).
7. CAI, S, Han, K. Research on expression and importance of p53, p16 and VEGF-C in cervical cancer. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 2015, vol. 44, no 7, p. 639-645.

8. Chellappan, S, Kraus, V, Kroger, B, et al .Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1992, vol. 89, no 10, p. 4549-4553.
9. Dalstein, V, Riethmuller, D, PRÉTET, J, et al .Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. *International journal of cancer*, 2003, vol. 106, no 3, p. 396-403.
10. Denny, Lynette A, Franceschi, S, Sanjosé, S, et al. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and immunosuppression . *Vaccine*, 2012, vol. 30, p. F168-F174.
11. Denis, F, Hanz, S, Alain, S. Clairance, persistance et récidence de l'infection à Papillomavirus. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 2008, vol. 36, no 4, p. 430-440.
12. Drolet, M, Boily, M, Greenaway, C, et al. Sociodemographic inequalities in sexual activity and cervical cancer screening: implications for the success of human papillomavirus vaccination. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2013, vol. 22, no 4, p. 641-652.
13. Duensing, S, LEE, A, Lily Y , et al. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, vol. 97, no 18, p. 10002-10007.
14. Encyclopédie Médico Chirurgicale 605-A-35 2002

15. Fauvet, R, Demblocque, É, Morice, P, et al. Comparaison des facteurs épidémiologiques des tumeurs frontières séreuses et mucineuses de l'ovaire: implications thérapeutiques. *Bulletin du Cancer*, 2012, vol. 99, no 5, p. 551-556.
16. Ferlay, J, Steliarova-Foucher, E, Lortet-Tieulent, J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European journal of cancer*, 2013, vol. 49, no 6, p. 1374-1403.
17. Ferlay, J, Shin, H, Bray, F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer*, 2010, vol. 127, no 12, p. 2893-2917.
18. Fétissof, F. Anatomie pathologique des carcinomes infiltrants du col utérin. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier Masson SAS, Paris, tous droits réservés), eds. Gynécologie*, 2002.
19. Ferchichi, L, Rammeh-Rommani, S, Hammouda, S, et al. Association d'un adénocarcinome du col de type endométrioïde à un cystadénocarcinome mucineux de l'ovaire. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2006, vol. 34, no 5, p. 410-412.
20. Gissi, Davide ,B, Gabusi, A, Servidio, D, et al. Predictive role of p53 protein as a single marker or associated with ki67 antigen in oral leukoplakia: a retrospective longitudinal study. *The open dentistry journal*, 2015, vol. 9, p. 41.
21. Ganem, N, Godinho, S, Pellman, D. A mechanism linking extra centrosomes to chromosomal instability. *Nature*, 2009, vol. 460, no 7252, p. 278-282.
22. Ginestier, C, Korkaya, H, Dontu, G, et al. La cellule souche cancéreuse: un pilote aux commandes du cancer du sein. *M/S revues*, 2007.

23. Grce, M, Matovina, M, Milutin-Gašperov, N, et al. Advances in cervical cancer control and future perspectives. *Collegium antropologicum*, 2010, vol. 34, no 2, p. 731-736.
24. Grudzinskas, Jurgis, G, et al. *The uterus*. Cambridge University Press, 1994.
25. Hugol, D. Lésions malpighiennes intra-épithéliales de bas grade et de haut grade: Critères cytologiques et corrélations histopathologiques, Diagnostics différentiels. *Revue française des laboratoires*, 2002, vol. 2002, no 346, p. 23-28.
26. Hammouda, D, Aït-Hamadouche, N, Afiane, M., et al. Enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers. 2002.
27. Harbour, J.W, Douglas C. Rb function in cell-cycle regulation and apoptosis. *Nature cell biology*, 2000, vol. 2, no 4, p. E65-E67.
28. Harper, J.W, Adami, G, Wei, N, et al. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell*, 1993, vol. 75, no 4, p. 805-816.
29. Hamdi Cherif, M. Enregistrement du cancer en Algérie: contexte et évolution. *Registre de cancer de Sétif. Journées Francophones de Lutte Contre le Cancer pour les pays en voie de développement, Montpellier, France, 2010.*
30. Hahn, W C, Stewart, S A, Brooks, Mary W., et al. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. *Nature medicine*, 1999, vol. 5, no 10, p. 1164-1170.

31. Helin, K, Harlow, E, Fattaey, A. Inhibition of E2F-1 transactivation by direct binding of the retinoblastoma protein. *Molecular and cellular biology*, 1993, vol. 13, no 10, p. 6501-6508.
32. Herfs, M, Yamamoto, Y, Laury, A, *et al.* A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, vol. 109, no 26, p. 10516-10521.
33. Heselmeyer, K, Schröck, E, Dumanoir, S, *et al.* Gain of chromosome 3q defines the transition from severe dysplasia to invasive carcinoma of the uterine cervix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, vol. 93, no 1, p. 479-484.
34. Hjartåker, A, Margrethe S, Weiderpass, E. Alcohol and gynecological cancers: an overview. *European Journal of Cancer Prevention*, 2010, vol. 19, no 1, p. 1-10.
35. Hildesheim, A, Mann, V, Brinton, L., *et al.* Herpes simplex virus type 2: a possible interaction with human papillomavirus types 16/18 in the development of invasive cervical cancer. *International Journal of Cancer*, 1991, vol. 49, no 3, p. 335-340.
36. Hinkula, M, Pukkala, E, Kyyrönen, P, *et al.* A population-based study on the risk of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia among grand multiparous women in Finland. *British journal of cancer*, 2004, vol. 90, no 5, p. 1025-1029.
37. Hoffstelter, S, Troufleau, P, Weber, B. Néoplasies intraépithéliales et carcinome micro-invasif du col utérin. *Bull. Cancer. Radiother*, 1994, p. 81,473-445.

38. Ishida, S, Huang, E, Zuzan, H, et al. Role for E2F in control of both DNA replication and mitotic functions as revealed from DNA microarray analysis. *Molecular and cellular biology*, 2001, vol. 21, no 14, p. 4684-4699.
39. Johnson, L, Prevo, R, Clasper, S, et al. Inflammation-induced uptake and degradation of the lymphatic endothelial hyaluronan receptor LYVE-1. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, vol. 282, no 46, p. 33671-33680.
40. Payandeh, M, Sadeghi, M, Fekri, A, et al. P53 mutation compared with Ki67 marker in metastasis of breast cancer in western Iran. *Journal of Solid Tumors*, 2014, vol. 4, no 3, p. 4.
41. Kapur, J, Sahoo, P, WONG, A. A new method for gray-level picture thresholding using the entropy of the histogram. *Computer vision, graphics, and image processing*, 1985, vol. 29, no 3, p. 273-285.
42. Kastan, B, Onyekwere, O, Sidransky, D, et al. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer research*, 1991, vol. 51, no 23 Part 1, p. 6304-6311.
43. Khan, M, Castle, P, Lorincz, A, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *Journal of the National Cancer Institute*, 2005, vol. 97, no 14, p. 1072-1079.
44. Klaes, R, Friedrich, T, Spitkovsky, D, et al. Overexpression of p16INK4a as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *International Journal of Cancer*, 2001, vol. 92, no 2, p. 276-284.

45. Korzeniewski, N, Duensing, S. Disruption of centrosome duplication control and induction of mitotic instability by the high-risk human papillomavirus oncoproteins E6 and E7. In : *The centrosome*. Humana Press, 2012. p. 201-221.
46. Koskela, P, Anttila, T, Bjørge, T, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *International journal of cancer*, 2000, vol. 85, no 1, p. 35-39.
47. Luhn, P, Walker, J, Schiffman, M, *et al.* The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecologic oncology*, 2013, vol. 128, no 2, p. 265-270.
48. Luna, J, PLATA, M, Gonzalez, M, et al. Long-term follow-up observation of the safety, immunogenicity, and effectiveness of Gardasil™ in adult women. *PLoS one*, 2013, vol. 8, no 12, p. e83431.
49. Lutte contre le cancer du col d'uterus : guide des pratiques essentielles.
50. Mergui, J, Levêque, J. Quel suivi après traitement chirurgical d'une lésion de haut grade du col utérin?. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 2008, vol. 36, no 4, p. 441-447.
51. Monsonego, J. Prévention du cancer du col utérin (I): apport du dépistage, récents progrès et perspectives. *La presse médicale*, 2007, vol. 36, no 1, p. 92-111.
52. Monsonego, J. Prévention du cancer du col utérin (II): vaccination HPV prophylactique, connaissances actuelles, modalités pratiques et nouveaux enjeux. *La presse médicale*, 2007, vol. 36, no 4, p. 640-666.

53. Miyagi, E, Sukegawa, A, Motoki, Y, *et al.* Attitudes toward cervical cancer screening among women receiving human papillomavirus vaccination in a university-hospital-based community: Interim 2-year follow-up results. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2014, vol. 40, no 4, p. 1105-1113.
54. Moscicki, A, Schiffman, M, Burchell, A, *et al.* Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine*, 2012, vol. 30, p. F24-F33.
55. Moody, C, Laimins, L. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature Reviews Cancer*, 2010, vol. 10, no 8, p. 550-560.
56. Muñoz, N, Bosch, F, Sanjosé, S, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *New England Journal of Medicine*, 2003, vol. 348, no 6, p. 518-527.
57. Muñoz, N, Franceschi, S, Bosetti, C, *et al.* Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *The Lancet*, 2002, vol. 359, no 9312, p. 1093-1101.
58. Mubiayi, N, Bogaert, E, Boman, F, *et al.* Histoire du suivi cytologique de 148 femmes atteintes d'un cancer invasif du col utérin. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2002, vol. 30, no 3, p. 210-217.
59. Nkegoum, B, Priso, E, Mbakop, A., *et al.* Lésions précancéreuses du col utérin chez la femme camerounaise. Aspects cytologiques et épidémiologiques de 946 cas. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2001, vol. 29, no 1, p. 15-20.

60. Nyitray, A, William J, *et al.* The role of monogamy and duration of heterosexual relationships on human papillomavirus (HPV) transmission. *Journal of Infectious Diseases*, 2013, p. jit615.
61. OMS. Chapitre 2 : Anatomie du pelvis féminin et histoire naturelle du cancer du col de l'utérus. In: la lutte contre le cancer du col de l'utérus. Guide des pratiques essentielles. Genève; OMS:2007.p27-44.
62. OMS – 2007. [http : // www.who.int / publication / fr. /](http://www.who.int/publication/fr/).
63. Park, J, Hwang, E, Park, S, *et al.* Physical status and expression of HPV genes in cervical cancers. *Gynecologic oncology*, 1997, vol. 65, no 1, p. 121-129.
64. Pommier, Y, Kurt W. Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie: nouvelles cibles thérapeutiques. *M/S: médecine sciences*, 2003, vol. 19, no 2, p. 173-186.
65. Partanen, T A, Alitalo, K, Miettinen, M. Lack of lymphatic vascular specificity of vascular endothelial growth factor receptor 3 in 185 vascular tumors. *Cancer*, 1999, vol. 86, no 11, p. 2406-2412.
66. Rietbergen, M, Leemans, C, Bloemena, E, *et al.* Increasing prevalence rates of HPV attributable oropharyngeal squamous cell carcinomas in the Netherlands as assessed by a validated test algorithm. *International journal of cancer*, 2013, vol. 132, no 7, p. 1565-1571.
67. Riethmuller, D, Guerrini, J, Aubin, F, *et al.* Lésions préneoplasiques et néoplasiques associées à l'infection par papillomavirus humains. L'ACADÉMIE NATIONALE DE MÉDECINE, 2007, p. 601.

68. Riethmuller, D, Schaal, J. P, Mougin, C. Épidémiologie et histoire naturelle de l'infection génitale à papillomavirus humain. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2002, vol. 30, no 2, p. 139-146.
69. Robert, J. Les voies de contrôle du cycle cellulaire. *Signalisation cellulaire et cancer*, 2010, p. 199-213.
70. Sellors, J, Sankaranarayanan, R. *Colposcopie et traitement des néoplasies cervicales intraépithéliales: manuel à l'usage des débutants*. Diamond Pocket Books (P) Ltd., 2004.
71. Sankaranarayanan, R, Budukh, A, Rajkumar, R. Programmes efficaces de dépistage du cancer du col dans les pays en développement à revenu faible ou moyen. 2001.
72. Soudre, B, Lalien, A, Kone, B, et al. Les lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin au Burkina-Faso: étude cytologique réalisée dans deux provinces (Oudalan, Séno). *Médecine d'Afrique noire*, 1992, vol. 39, no 12, p. 806-809.
73. Sasagawa, T, Shimakage, M, Nakamura, M, et al. Epstein-Barr virus (EBV) genes expression in cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer: a comparative study with human papillomavirus (HPV) infection. *Human pathology*, 2000, vol. 31, no 3, p. 318-326.
74. Smith, J S, Muñoz, N, Herrero, R, et al. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *Journal of Infectious Diseases*, 2002, vol. 185, no 3, p. 324-331.
75. Sahraoui, S, Bouras, N, Acharki, A, et al. Adénocarcinome du col utérin: étude rétrospective de 83 cas. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2002, vol. 30, no 4, p. 291-298.

76. Tranbaloc, P. Histoire naturelle des lésions précurseurs du cancer du col utérin. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2008, vol. 36, no 6, p. 650-655.
77. Tranbaloc, P. Adénocarcinome in situ de l'endocol: difficultés du diagnostic cyto-histologique. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 2002, vol. 30, no 4, p. 308-315.
78. Tammela, T, Alitalo, K. Lymphangiogenesis: Molecular mechanisms and future promise. *Cell*, 2010, vol. 140, no 4, p. 460-476.
79. Toyoshima, H, Hunter, T. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell*, 1994, vol. 78, no 1, p. 67-74.
80. We live in interesting times. The Cell Cycle, Apoptosis, Cancer and Chemo drug overview. <http://liveonearth.livejournal.com/612978.html>, consulté le 22 juin 2010.
81. Webb, JC, KEY, C R, QUALLS, Clifford R., et al. Population-Based Study of Microinvasive Adenocarcinoma of the Uterine Cervix. *Obstetrics & Gynecology*, 2001, vol. 97, no 5, p. 701-706.
82. Wilting, S, Snijders, P, Meijer, G, et al. Increased gene copy numbers at chromosome 20q are frequent in both squamous cell carcinomas and adenocarcinomas of the cervix. *The Journal of pathology*, 2006, vol. 209, no 2, p. 220-230.
83. Xiong, Y, Hannon, G, Zhang, H, et al. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. *nature*, 1993, vol. 366, no 6456, p. 701-704.
84. Zeng, X, Xiong, P, Wang, F, et al. Passive smoking and cervical cancer risk: a meta-analysis based on 3,230 cases and 2,982 controls. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012, vol. 13, no 6, p. 2687-2693.

85. Zerfass, K, Levy, L, Cremonesi, C, et al. Cell cycle-dependent disruption of E2F-p107 complexes by human papillomavirus type 16 E7. *Journal of general virology*, 1995, vol. 76, no 7, p. 1815-1820.
86. Zerfass, K, Schulze, A, Spitkovsky, D, et al. Sequential activation of cyclin E and cyclin A gene expression by human papillomavirus type 16 E7 through sequences necessary for transformation. *Journal of virology*, 1995, vol. 69, no 10, p. 6389-6399.
87. Zhang, H, Postigo, S, Antonio A, et DEAN, Douglas C. Active transcriptional repression by the Rb-E2F complex mediates G1 arrest triggered by p16 INK4a, TGF β , and contact inhibition. *Cell*, 1999, vol. 97, no 1, p. 53-61.

Annexes

Annexe 1 : matériel non biologique

Appareillage	Matériel et verreries	Réactif	Kit de l'immunohistochimie
Bain-marie Microtome Agitateur Etuve Appareille d'inclusion	Lame d'étalement lames silanisées panier de lames Micropipettes	Formol a 10% Ethanol a 80%, 90%, 100% Eau distillés et eau de robinet Paraffine Hématoxyline -éosine Xylène	solution de (6,9) Eau oxygéné solution d anticorps I aire (spécifique) : AC anti Ki67, AC anti P53, AC antiP16 Solution PBS (phosphate bufferd saline) : chlorure de sodium,du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium. -solution d anticorps C secondaire -solutionDAB chromogène

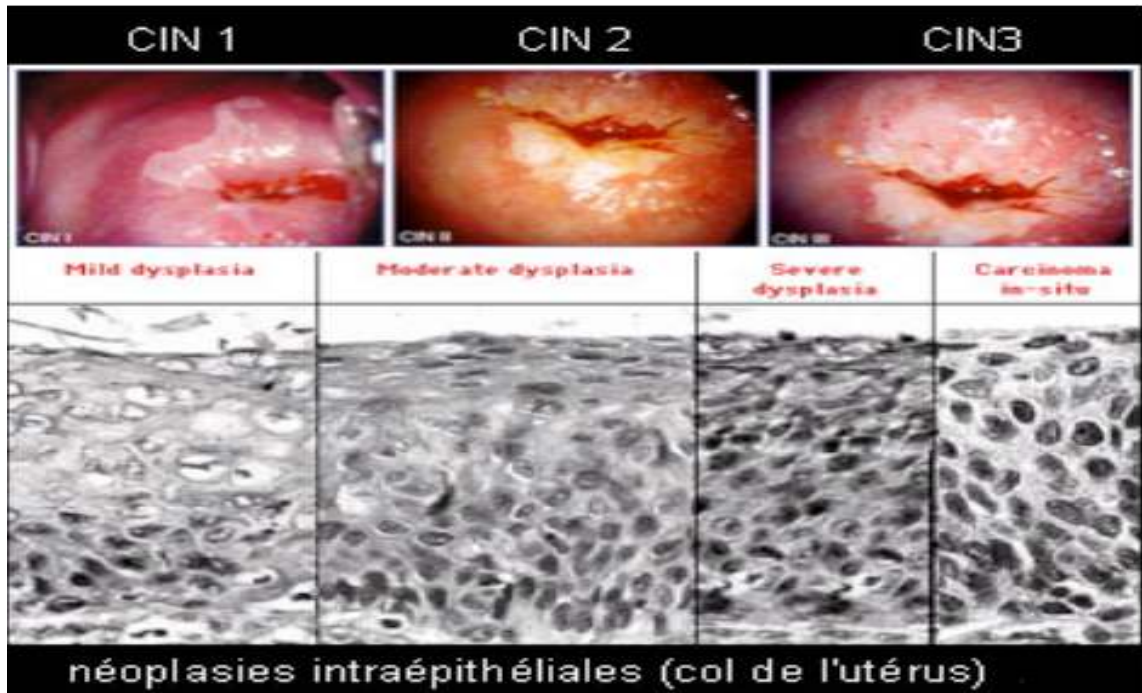
Annexes 2 : Classification clinique des cancers du col utérin (Siegel et al, 2012)

Stades	Localisation
Stades I	Col strict
IA	Carcinome micro-invasif non visible macroscopiquement
- IA1	- envahissement du chorion \leq 3mm, largeur \leq 7mm
- IA2	- envahissement du chorion $>$ 3mm et \leq 5mm, largeur \leq 7mm
IB	Cancer visible à l'examen clinique ou de taille supérieure à celle du IA2
- IB1	- lésion \leq 4cm de plus grand diamètre
- IB2	- lésion $>$ 4cm de plus grand diamètre
Stades II	Extension extra-utérine, sans atteinte de la paroi pelvienne ni du tiers inférieur du vagin
-	
IIA	Extension vaginale sans atteinte des paramètres
- IIA1	- lésion \leq 4cm de plus grand diamètre
- IIA2	- lésion $>$ 4cm de plus grand diamètre
IIB	Extension vaginale avec atteinte d'au moins un des paramètres
Stades III	Cancer étendu à la paroi pelvienne et/ou au tiers inférieur du vagin
IIIA	Cancer étendu au tiers inférieur du vagin sans atteinte des
-	parois pelviennes
IIIB	Cancer étendu aux parois pelviennes et/ou responsable d'une hydronéphrose ou d'un rein muet
Stades IV	Invasion de la vessie, du rectum et au-delà de la cavité pelvienne
IVA	Extension à la muqueuse vésicale et/ou à la muqueuse rectale
IVB	Métastases à distance

Annexe 3 : Tableau descriptive des cas sélectionner

n° du cas	Age (ans)	Renseignements cliniques	Examens cliniques antérieurs	Prelevement	Diagnostic histologique
6844/11	68	menometrorragies	Non Précisé	biopsie	C.E mature bien différenciée
7717/11	48	menometrorragies	Ménométrorragies depuis 1 ans+ bourgen du col	bipsie	C.E mature moyennement différencié
7889/11	Non précisé	menometrorragies	hyperplasie severe	bloc communiquée	carcinome peu différenciée
11573/11	48	menometrorragies	lésion cervicale de haut grade	piece de conisation	carcinome micro infiltrant
13431/11	62	menometrorragies	depuis 10 ans CIN 3	biopsie	C.E bien différenciée kératinisé
9590/12	71	menometrorragies + Scanner :processus tumoral avec infiltration vaginale et uterin	procesus tumorale infiltrant vaginale et uterin	biopsie	C.E bien différenciée infiltrant
18977/14	64	colposcopie: zone de jonction non vue avec zone acidophile de l'endocol	ménoposée depuis 15ans + CIN 2	biopsie	C.E moyennement à bien différencier, infiltrant
2661/16	Non précisé	Prélèvement du col	Non Précisé	biopsie	adecarcinome moyennement différenciée
3231/16	45	Non précisé	Non Précisé	biopsie	adecarcinome intra muqueux

Annexe 4 : Progression du grade de l'infection intraépithéliale au niveau du col de l'utérus.



Annexe 5 : figure représentant différents matériel ou méthodes utilisé lors de notre étude



Annexe 6: classification TNM / FIGO (HAS , 2010)

TNM	FIGO	Description
Tx		Tumeur primitive non évaluable
T0		Pas de lésion du col
Tis	Stade 0	Cancer in situ
T1a	Stade Ia	Tumeur limité au col
T1a1	Stade IA1	Profondeur d'invasion \leq 3mm et extension horizontale \leq 7mm
T1a2	Stade IA2	Invasion $>$ 3mm et $<$ 5mm, et extension horizontale \leq 7mm
T1b	Stade IB	Tumeur clinique ou tumeur $>$ stade Ia
T1b1	Stade 1B1	Diamètre maximal \leq 4cm mesuré à l'IRM
T1b2	Stade 1B2	Diamètre maximal $>$ 4cm
T2	Stade II	Invasion en dehors du sol mais ne touchant pas la paroi pelvienne ou le tiers inférieur du vagin
T2a	Stade IIA	Dôme vaginal (2/3 supérieur) sans extension paramétriale
	Stade IIA1	\leq 4cm
	Stade IIA2	$>$ 4cm
T2b	Stade IIB	Atteinte paramétriale évidente
T3	Stade III	Invasion du tiers inférieur du vagin et/ou jusqu'à la paroi pelvienne et/ou avec obstruction urétérale
T3a	Stade IIIA	Fourreau vaginale (1/3 inférieur)
T3b	Stade IIIB	Paramètre jusqu'à la paroi ou obstacle urétéral
T4	Stade IV	
	Stade IVA	Envahissement base vésicale et/ou paroi rectale
M1	Stade IVB	Métastases à distance

Annexe 7 : Répartition des cas cancéreux en fonction des années

Années	Nombre des cas	%
2011	5	56
2012	1	11
2013	0	0
2014	1	11
2015	0	0
2016	2	22
Total	9	100

Annexe 8 : Répartition des cas en fonction de l'Age

Age	Nombre des cas	%
45-55	3	34
55-65	2	22
65-75	2	22
Non précisé	2	22
Total	9	100

Annexe9 : Répartition des lésions cancéreuses

Type	Nombre de cas	%
Carcinomes Epidermoïdes	7	78
Adénocarcinome	2	22
Totale	9	100



Remerciement

Au terme de ce travail, je remercie Dieu de m'avoir donnée le courage et la volonté pour bien mener a terminer ce modeste travail

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à **Mme CHELGHOUM.H** Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury, Hommages respectueux

Mme HERKAT.S Qui nous a fait l'honneur de vouloir accepter d'examiner notre travail, Sincères remerciements

Pr. HANNACHI. L notre promotrice, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir encadrer et diriger notre travail, Je lui adresse ma plus sincère reconnaissance pour sa bienveillance et le temps qu'il nous a Accordé

Mme NADJI. S notre Co- promotrice qui nous a proposé ce sujet

Nos respectables membres de jury qui vont évaluer notre modeste travail

Nos famille qui ont soutenus et encouragés pour poursuivre nos études

Sans oublier nos cher(e)s ami(e)s qui ont toujours été présents pour nos soutenir

Merci à tous et à toutes...

Introduction

D'après la ligue Européenne contre le cancer (2012), le cancer résulte de la combinaison de plusieurs anomalies, celle du cycle cellulaire entraînant les cellules à ce divisé de façon incontrôlée, des anomalies de l'apoptose entraînant des cellules anormales à échapper au suicide.

Le cancer du col utérin est, dans la majorité des cas, une affection tumorale d origine infectieuse a évolution lente. Il met en moyenne entre 10 et 15 ans à se développer après une infection génitale par certains Papillomavirus humains oncogènes (Has ; 2010)

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus a été bouleversée lorsqu'il a été établi que l'infection par des papillomavirus humains (HPV) est le facteur indispensable au développement de la tumeur. Cela a été bien démontré par **H. Zur Hausen** et que ces virus sont associés à ce type de cancer, ce qui lui a valu le Prix Nobel de physiologie et médecine en 2008. Les HPV touchent 70% à 80% des femmes durant leur vie sexuellement active.

La gravité du pronostic du cancer du col, ainsi que le coût élevé de sa prise en charge ont suscité de nombreux travaux à travers le monde. Le souci premier est resté la prévention par l'identification et le contrôle des facteurs prédisposant et ou favorisants et par le dépistage systématique. (Philippe ; 2005)

Dans le cancer du col de l'utérus, l'expression de certains marqueurs tell que la p53 ; p16 et ki67 ont une valeur de référence à la fois pour le diagnostic et pour le pronostic (Cai ; 2014)

C'est dans ce contexte que s'insère le but de ce travail qui consiste à cerner le déséquilibre cellulaire dans le cancer de col utérin par une étude immunohistochimique des paramètres suivants ; Ki-67 (facteur de prolifération cellulaire), P16 et P53 (gènes supresseurs de la tumeur) pour l'amélioration du diagnostique.

II- Matériels et Méthodes

1- Population d'étude

Ce travail consiste en deux études

- Etude rétrospective s'étendant sur 5 années (2011-2015)
- Etude prospective sur 6 mois de Janvier 2016 à juin 2016

Ces deux études sont faites sur une série de patientes algériennes parviennes de toute le territoire national. En procédant à une réévaluation à partir des blocs de paraffine des prélèvements biopsique, de patientes atteintes de cancer du col de l'utérus. Ces prélèvements sont fixés au Formol avant d'être inclus en Paraffine. Cette étude ressemble des prélèvements parvenus dans le service d'anatomie pathologie du CHU Mustapha

Au total 108 lésions cervicales qui se répartissent en lésions cancéreuse et précancéreuse sélectionnés (en fonction des formes anatomie-clinique, de l'état du bloc de paraffine) ont été retenues. Seuls 9 patientes ont bénéficié d'une étude immunohistochimique de ki67, p16 et p53. En favorisant les patientes atteintes du Carcinome épidermoïde et d'Adénocarcinome de cancer du col de l'utérus. Le tirage des cas fait appel dans cette étude aux fiches de renseignements des patientes, selon les paramètres qui suivent

- N° de patiente
- Identité (nom et prénom, l'âge)
- Type de biopsie
- Nom du service
 - Les circonstances de découverte
- Dépistage par Frottis Cervicaux-Vaginal (FCV)
- Aspect cliniques
- Aspect histologique
 - Diagnostic
- Colposcopie
- Biopsie
- Curetage du l'endocol et /ou d'exocol

Tout les 9 cas ont bénéficié d'une réévaluation histologique après coupes sériées (Le résumées des observations –Annexe 2)

2-Matériel non biologique :

Deux matériels ont été nécessaires. L'un est représenté par les instruments et les réactifs utiles, et l'autre biologique représentant les prélèvements tissulaires (annexe 1)

3-Matériel biologique

Représenté par des biopsies et des pièces de conisation. Ainsi le tissu tumoral prélevé est soumis aux techniques histologiques usuelles pour la confection des blocs d'inclusion en paraffine

Les coupes effectuées sur des blocs colorées par l'Hématéine Eosine pour l'étude histologique de routine, puis imprégnés par des anticorps spécifiques pour l'étude immunohistochimique

4-Méthode

4.1. Examen histopathologie

a- Principe de la technique

C'est le recueil de fragments tissulaires qui sont découpés pour permettre la réalisation de fines tranches colorées à l'HE pour analyse morphologique au microscope optique

b- L'analyse morphologique

Est l'étude de l'architecture des tissus, des cellules, et des noyaux pour permettre un diagnostic

Le plus souvent, le matériel histologique est fixé, inclus, coupé et coloré afin de pouvoir l'observer au microscope. Le matériel peut être prélevé par biopsie ou provenir d'une pièce de conisation

c- Les prélèvements

Biopsie prélèvement d'une très petite partie d'un organe ou d'un tissu au moyen d'une aiguille ou par frottis

Colposcopie inspection visuelle du col, qui se fait soit avec l'Acide acétique IVA ou bien le soluté de Lugol IVL, ces tests ne sont pas fiables chez les femmes ménopausées, car la zone

de remaniement s'est alors très souvent retirée dans le canal endocervical et n'est donc plus visible

Pièce de conisation consiste à enlever chirurgicalement une portion du col utérin

d- Examen macroscopie

- Les échantillons font l'objet d'une description macroscopique minutieuse
- les prélèvements réalisées sont bien orienté, étiqués, identifiée, fixée au formol à 10% et conservé dans un état le plus proche que possible de leur aspect à l'état vivant sans les écrasées pour maintenir les cellules et l'architecture tissulaire
- Inclusion des blocs en paraffine, comme ce dernier est hydrophobe, le prélèvement doit subir une déshydratation

e- Déshydratation

- Etape préalable à l'inclusion
- Permet de chasser l'eau des tissus et de préparer ainsi le remplacement par des produits hydrophobes
- Se fait par passages successifs dans des bains d'Alcool à concentration croissante (10 heures)
- La clarification consiste en l'immersion dans un bain de Toluène, solvant de l'Alcool absolu et de Paraffine (3heures)

f- Imprégnation / Inclusion ou Enrobage

Permet d'obtenir des pièces rigides autorisant une coupe fine 3 à 5 μ m pour la microscopie optique, si les coupes sont épaisses cela favorise le faux positive (F+) des résultats

Le produit d'inclusions (Paraffine) va remplacer l'eau des tissus imprégner donc le tissu ex : Paraffine liquide a 56 C imprègne les tissus

L'étape finale après l'inclusion consiste sur l'enrobage du tissu par la Paraffine grâce à le consol thermo-réfrigérant et ce qui permet de réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de Paraffine

g- Coupes

Le bloc solide de Paraffine contenant le tissu est coupé à l'aide d'un Microtome, les coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur sont étalées sur des lames

h- Etalement du tissu sur les lames

Les coupes réalisées sont étalées et fixés sur des lames de verre porte objet ceylanaise ou chargée positive (+). Il faut éviter toute cassure, tout pli

A- Colorations histochimique à l'HE

Déparaffinage et réhydratation : il faut éliminer la paraffine (hydrophobe) pour rendre les tissus perméable aux colorants (solution aqueuses ou alcooliques)

- L'hématéine colore les noyaux en violet
- L'éosine colore le cytoplasme en rose

Technique

Les lames sont incubées à 55 C pendant 24 heures dans une étuve

- 4 bains successifs de Xylène 5 min (déparaffinage)
- 4 bains successifs d'Alcools de degré décroissant (réhydratation)

Alcool 100 ° 2 * 5 min

Alcool 95 ° 5 min

Alcool 70 ° 5 min

Eau plusieurs bains quelques minutes

4.2. Immunohistochimie**a- Principe de la technique**

Une technique consiste à mettre en évidence divers antigènes (Ag) cellulaires, ou extracellulaires, grâce à des anticorps (AC) spécifiquement dirigés contre eux. Les Ag recherchés peuvent être des Ag membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires, ou des protéines de la matrice extracellulaire

b- Intérêt

- Localisation précise de certaines protéines
 - Etude de leur lieu de synthèse et leur compartimentation
 - Observation de leur cheminement cellulaire ou tissulaire, transport membranaire...etc
- Les antigenes recherchées
- L'antigène KI67
 - L'antigène P53

- L'antigène P16

B- Mode opératoire

- 1- Démasquage se fait par 3 protocoles (avec PH Low ou Hight / sans PH / avec Protéinase K) selon la fiche technique de molécule(s) d'intérêt(s) dont dans un étui qui peut port jusqu'à 5 lames, en met une solution Tampon selon l'anticorps (PH = 6, PH=9), en met ces étuis dans un bain marin de 95 C° pendant 40 min
- 2- plonger les lames dans l'eau distillé pendant 5 min afin d'éviter le choc thermique qui détruit les échantillons
- 3- arranger les lames dans un plateau humidifié, et contourner le tissu à l'aide d un dako Pen (un crayon à capacité hydrophobe)
- 4- On couvre tout la zone sélectionner par l'eau oxygénée H₂O₂ (5 à 20 min) en bloquant la *Peroxydase Horseradich* PBS
- 5- On rince dans l'eau distillée pour 5 min dans le but d'éliminées les sites non spécifiques
- 6- On ajoute le 1^{er} anticorps avec une micropipette de 200 µl (AC anti- KI67, AC anti-TFE3 / P16, AC anti-P53). Il existe des *dako ready to use* près à utilisé sans dilution d'une part, et des *dako* ont besoin des délutions d'autre part

Tableau 1 : AC utilisés dans l'étude IHC du cancer du col

Type d AC anti-	PH	Dilution
Anti-Ki67	6	1/50
Anti-P53	9	1/50
Anti-P16	9	1/50

- 7- Incubation pour 40 min à température ambiante
- 8- Le 2^{iem} anticorps commun pour toutes les lames (HRP + Amplificateur des sites antigeneques)
 - ✓ on met l'amplificateur en premier lieux suivie de 2 bains d'eau courant de 5 min
 - ✓ on ajoute l'HRP, suivie par lavage dans du PBS
- 9- On prépare le chromogène 1 ml Buffer pour une goutte de chromogène - substrat DAB (Di-Amino- Benzane = buffer) un révélateur à 5 min de la couleur marron des noyaux, suivie par un rinçage à l'eau courant

10- Contre coloration pendant 2 à 3 min dans l'Héματοxyline de Mayer, le tissu est coloré.

La coloration usuelle associe un colorant basique nucléaire (hémateïne, hématoxyline) et un colorant acide cytoplasmique (éosine, érythroisine), suivie par un rinçage à l'eau courant

11- Rinçage à l'Alcool pour sécher les lames plus vite

12- Le montage, recouvrement de la préparation par une lamelle protectrice en utilisant une colle le baume ou résine de montage pour une conservation longue on utilise le baume du canada ou l'Eukitt. L'analyse histologique des lames permet de poser le diagnostic selon les critères cytologique et architecturaux



Figure 15 : schéma présentant le principe de la technique
D'immunohistochimie

III. Résultats

Notre travail est organisé en double étude sur un effectif total de 108 cas de lésion cervicales, se répartissent en des lésions précancéreuses de 99 cas, (répartis en 64% CIN 1, 11% CIN 2 et 7% CIN 3 et 17 cas non précisé avec portage virale HPV) qui sont éliminer par la suite. Et 9 cas de lésions cancéreuses, avec une prédominance des carcinomes épidermoïde 78% par rapport au 22% pour les adécarcinomes.

- Rétrospective : de 01/ 01/2011 jusqu'à 31/ 12/ 2015 avec 7 cas cancéreux
- Prospective : de 01/ 01/ 2016 jusqu'à 30/ 06/ 2016 avec 2 cas cancéreuses

1. Répartition en fonction de l'Année (annexe 7)

Nous avons noté que le nombre de patientes est plus élevé en 2011 soit 5 cas ; 2016 (2cas) ; 2014 et 2012 (1 cas)

En 2013 et 2015 absences des cas.

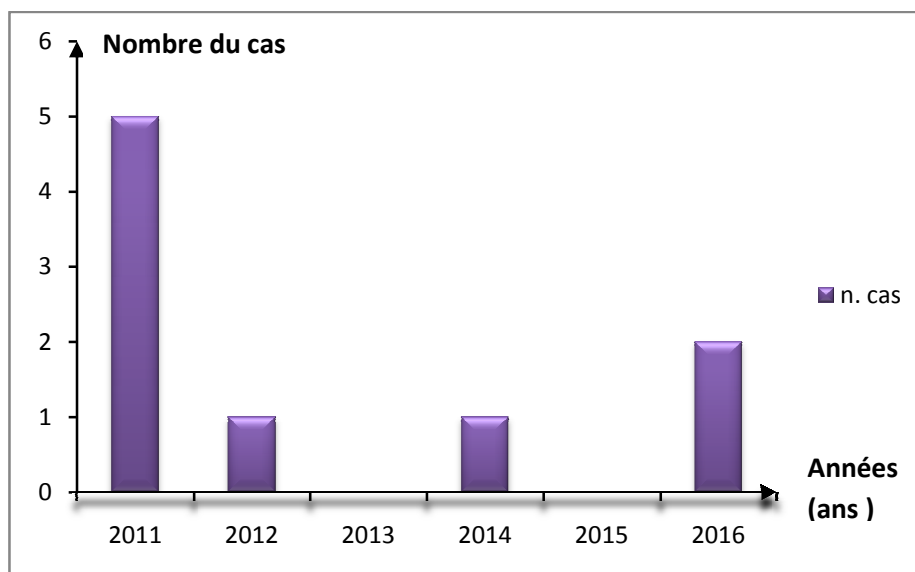


Figure 16: répartition des cas cancéreux en fonction des années

2. Répartition en fonction de l'Age (annexe 8)

L'intervalle d'âge des lésions cervicales cancéreuses est de 46 à 71 ans, et le moyen d'âge est de 58 ans.

La tranche d'âge la plus touchée est entre 45 et 55ans avec 3 cas.

Les malades âgées de plus de 55 ans constituaient 44% de la série soit 4 cas.

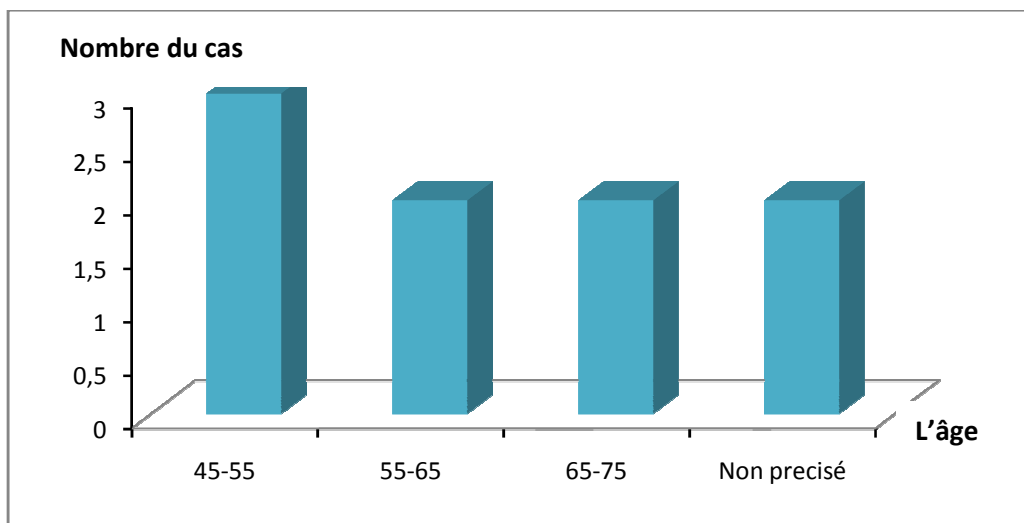


Figure 17: Répartition en fonction de l'Age

3. Répartition des lésions cancéreuses (annexe 3)

Pour leur grande majorité, nos patientes présentaient un carcinome epidermoide 7 cas soit 78%.

Les adénocarcinomes présentaient 22 % de la série (2 cas)

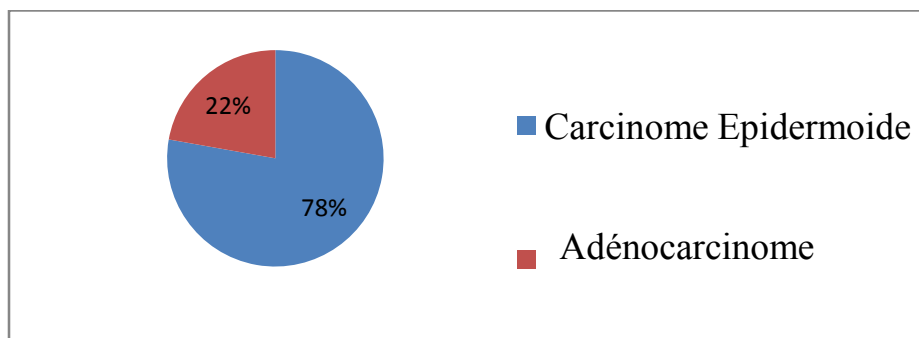


Figure 18: Répartition des lésions cancéreuses

4. les types histologiques

Différentiation malpighienne: globes cornés et ponts d'union inter cellulaires

Cellules squameuses invasives

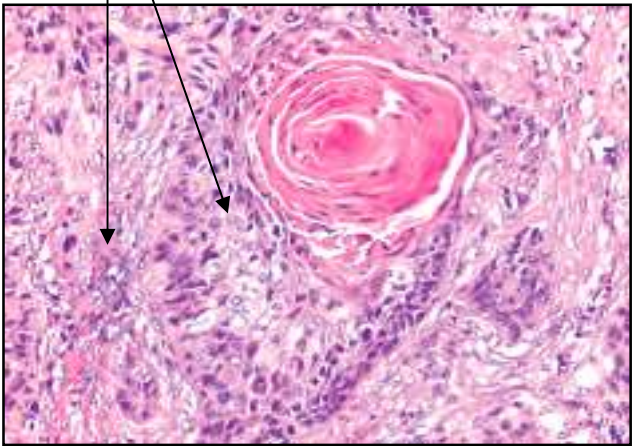
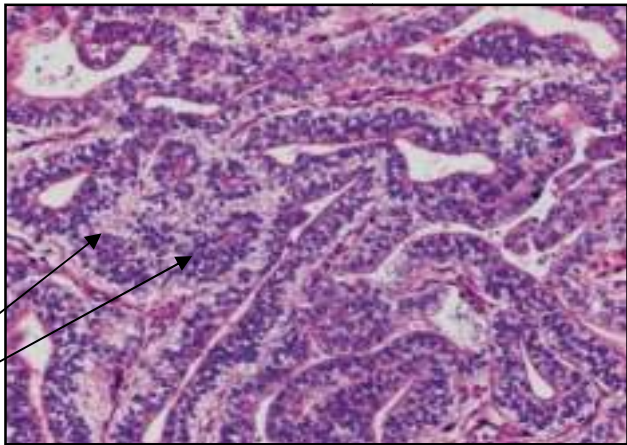


Figure19 : Carcinome épidermoïde HE x 40

Prolifération tumorale glandulaire



Réponse désmoplastique

Figure20 : Adénocarcinome HE x 20

5. Résultats de l'immunohistochimie

Les 9 cas cancéreux ont bénéficié d'une étude immunohistochimique du Ki-67, P16 et P53

Tableau 2: résultats de l'immunohistochimie de Ki-67, P16 et P53

Type histologique	Taux d'expression		
	P53	P16	Ki-67
carcinome épidermoïde	20%	+	80%
carcinome épidermoïde	18%	+	82%
carcinome épidermoïde	20%	+	80%
carcinome épidermoïde	16%	+	84%
carcinome épidermoïde	19%	+	81%
carcinome épidermoïde	20%	+	80%
carcinome épidermoïde	17%	+	83%
Adénocarcinome	80%	+	80%
Adénocarcinome	82%	+	80%

P53 présente une faible expression dans les CE avec un pourcentage entre (16% - 20 %) et une forte expression dans les ADK avec un pourcentage de (80% -82%) par contre le Ki-67 présente une forte expression diffuse et intense avec un pourcentage entre 80 % - 84%. Le p16 présente une expression focale

a-Marqueur de prolifération cellulaire Ki-67

L'immunomarquage nucléaire des cellules tumorales est dominé par une forte expression du Ki-67 (100 % des cas)



Figure 21 : carcinome épidermoïde Ki-67 marquage nucléaire intense et diffus de 80 % des cellules (Gx20) (—→) ki67+

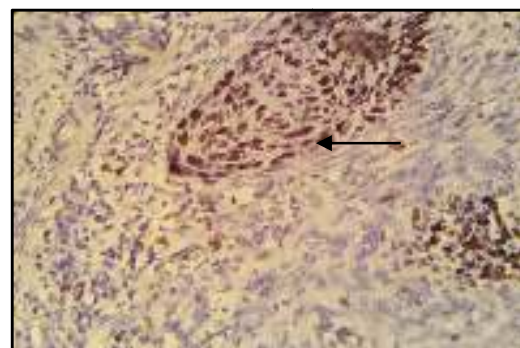


Figure 22 : carcinome épidermoïde Ki-67 marquage nucléaire intense et diffus de 80 % des cellules (Gx40) (—→) :ki67 +

b. Protéine suppresseur de tumeurs P53

L'immunomarquage de la P53 des cellules tumorales est dominé par une forte expression (80%) voir tableau 2.

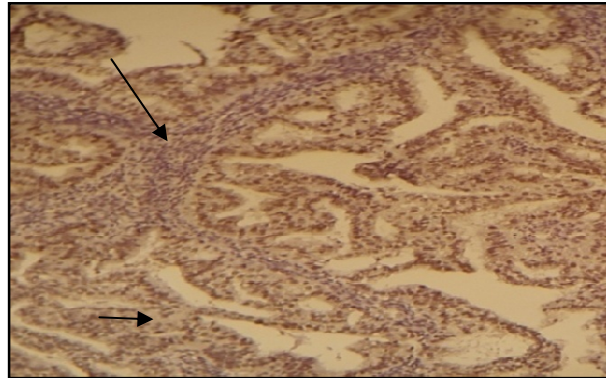


Figure 23 : Adénocarcinome p53 marquage nucléaire Intense et diffuse de 80 % des cellules (Gx20) (—>) :p53+

c. Protéine suppresseur de tumeur P16

L'immunomarquage nucléaire et cytoplasmique des cellules tumorales a une expression positive plus en moins focale

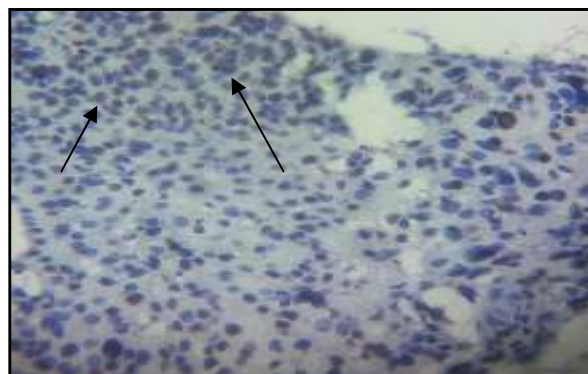


Figure 24 : Carcinome épidermoïde p16: marquage nucléaire focal (inferieur a 20%) (Gx20) (—>) :p16+

Conclusion

L'objectif de notre travail a été atteint d'une part pour la recherche de l'expression des marqueurs de prolifération et de signalisation qui nous ont permis de maîtriser la technique d'IHC.

Dans notre série le carcinome épidermoïde est le plus fréquent (78%) par rapport à l'adénocarcinome

L'étude immunohistochimique utilisant

- le marqueur de prolifération (Ki-67) a montré que tous les cas de cancer du col avaient un indice de prolifération entre 80% - 85%
- présente un marquage focal de la protéine p16
- p53 a été positif avec un pourcentage $< 20\%$ dans les carcinomes épidermoïdes et de 80% dans les ADK

La prévention du cancer du col est un vrai problème de santé publique qui nécessite une éducation de la population générale sur la nécessité de la sensibilisation au cancer du col et l'incitation au diagnostic précoce.

Actuellement, le taux de couverture de dépistage est de 80% pour les femmes de 25 à 65 ans et utilisation du test HPV.

La mise en place des dépistages organisés comprenant des actions de prévention, d'éducation à la santé et des campagnes de vaccination contre certains génotypes d'HPV (**HPV 16 et 18**) vont sûrement améliorer la situation vis-à-vis de l'incidence de ce cancer

Discussion

Notre étude consiste en une réévaluation de 9 cas de cancer du col de l'utérus colligés dans le service de pathologie du CHU Mustapha sur une période de 5 ans allant du 2011 à 2016

L'âge moyen de nos patientes dépassaient les 50 ans, ces résultats rejoint la littérature (OMS, 2013)

L'explication se trouve peut être dans le fait que cette tranche d'âge est le reflet de la période des activités génitales et tous les événements qui découlent (rapports sexuels précoces, infections sexuellement transmissibles, nombreuses grossesses et surtout à l'insuffisance du programme)

Notre résultat se rapproche à celui de Tournat 2007 et Legouge qui ont notifié respectivement un âge moyen de 46 et 45 ans

Le cancer du col utérin est très rare avant de 25 ans (absence de cas dans notre étude)

Actuellement, l'absence de frottis de dépistage permettant de dépister les néoplasies intra épithéliales est considéré comme un facteur de risque majeur de survenus de cancer de col utérin, dans notre étude toutes les patientes ont bénéficié d'un frottis cervicaux vaginal qui a montrer des lésions de haut grade dans les 9 cas

La répartition selon le types histologique de cancer du col utérin a permis de déceler 7 cas de carcinomes epidermoides (78%) et 2 cas d'adénocarcinomes (22%)

L'étude immunohistochimique utilisant les marqueurs Ki67, p16 et p53

le Ki67 est exprimé dans le noyau des cellules en prolifération. Dans les cellules parabasales de l'épithélium malpighien et persiste tout au long des différentes phases du cycle cellulaire (G1, S, G2, M). Il est absent en phase G0. nous pouvons le mettre en évidence par immunohistochimie sur coupe en paraffine

Dans les 9 cas de notre série on a signalé un marquage diffus intense de Ki67 de pourcentage entre 80%-85%

P16 est une protéine inhibitrice de cycline dépendant kinase (CDK) 4 et 6, ralentissent ainsi le cycle cellulaire. Ces derniers CDK sont des activateurs de cycle cellulaire, permettant le passage de la phase G1 à la phase S

Classiquement l'augmentation de la protéine p16 dans la cellule entraîne une diminution de la prolifération des cellules souches, comme l'effet de l'âge sur notre organisme, cette réduction de la divisions et de la prolifération des cellules souches serait une protection contre le cancer, mais accélère la sénescence

La P16 Révèle l'activité oncogénique de l'HPV au niveau cellulaire, elle a un Lien direct entre la surexpression de p16 et la dysplasie cervicale ; La surexpression de la p16 peut être utilisée comme biomarqueur des lésions cervicales précancéreuses et cancéreuses

La p16 c'est un Témoin de la malignité et non du risque ; Témoin d'une réponse cellulaire humaine ; Indépendant du type de virus HPV ; Indépendant de l'âge des patientes ; La p16 est le témoin de la transformation cellulaire due à l'HR-HPV et non pas juste la mise en évidence d'un HPV oncogène.

Les 9 cas de notre série présentent un marquage focal de la protéine P16, nos résultats rejoint ceux de Cai et al 2015 et celui de Tsoumpo et al 2010 qui ont notifié une positivité dans tous les cas

Dans des conditions normales, le marqueur de prolifération Ki-67 et le marqueur antiprolifératif p16 ne peuvent pas être exprimés simultanément dans la même cellule

La détection de cellules cervicales qui co-expriment les deux marqueurs représente un Signe de dérégulation du cycle cellulaire

La protéine p53 est une phosphoprotéine codée par un gène suppresseur de tumeur la protéine p53 a été initialement classée comme un antigène tumorale après l'observation des concentrations anormale élevées dans une variété des tumeurs et des lignées cellulaires tumorales.

Dans les 9 cas de notre série le marquage immunohistochimique de p53 a été positif avec un pourcentage inférieur à 20 % dans les carcinomes épidermoïde et de 80% dans les ADK (correspond à des quantités accrues de la protéine p53 déterminée par IHC) nos

résultats ont été similaires à celui de Cai. et al 2015, David. et al 2015 qui ont notée une positivité dans tout les cas de leur étude

1- Rappel

A- Anatomique

Le col de l'utérus, constitué d'un tissu fibromusculaire dense tapissé de deux épithéliums, correspond au tiers inférieur de l'utérus. Il mesure 3 à 4 centimètres de longueur et 2,5 centimètres de diamètre, sachant que sa forme et ses dimensions peuvent varier en fonction de l'âge, de la parité et du statut menstruel de la femme

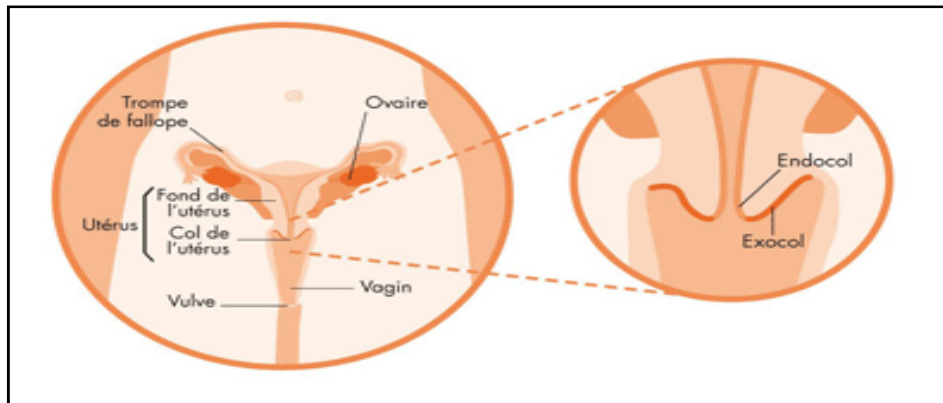


Figure 1 : Schéma du vagin (jema1 et al .2011)

Le col normal est constitué de trois parties l'exocol, l'endocol et la zone de jonction (figure 4). Le canal cervical traverse le col en son milieu depuis l'orifice interne, débouchant dans la cavité utérine, jusqu'à l'orifice externe qui débouche dans le vagin. Ce dernier, (le canal cervical) visible lors de l'examen au spéculum, se présente sous forme d'une petite ouverture circulaire chez les femmes nullipares. Chez les femmes ayant eu des enfants, celui-ci à l'aspect d'une fente large et irrégulière, en forme de bouche

L'endocol correspond aux deux tiers supérieurs, est situé au-dessus du vagin. Il est formé par une seule couche de cellules cylindriques (appelé aussi glandulaire) composé de stroma avec des noyaux sombres (Webb et al.2001).

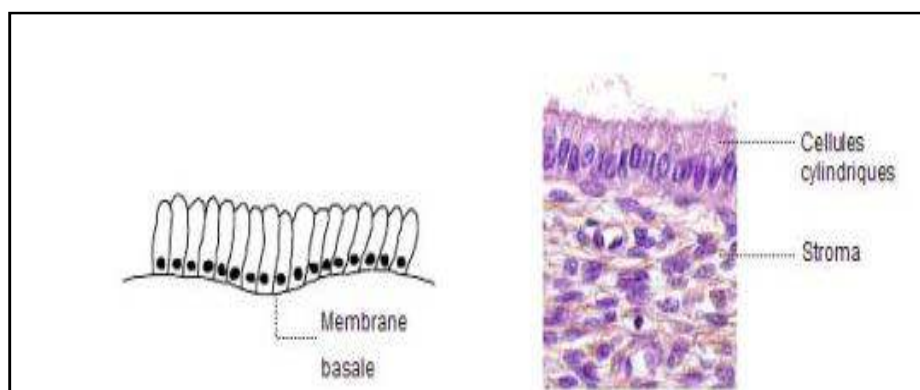


Figure 2 : coupe de l'endocol (J.Sellors).

L'exocol un épithélium pavimenteux (appelé aussi malpighien) stratifié non kératinisé en couleur rose pâle et riche en glycogène

Il est divisé en 3 couches :

- membrane basale où l'infection virale commence
- couche cellulaire intermédiaire
- couche cellulaire superficielle (Webb et al.2001)

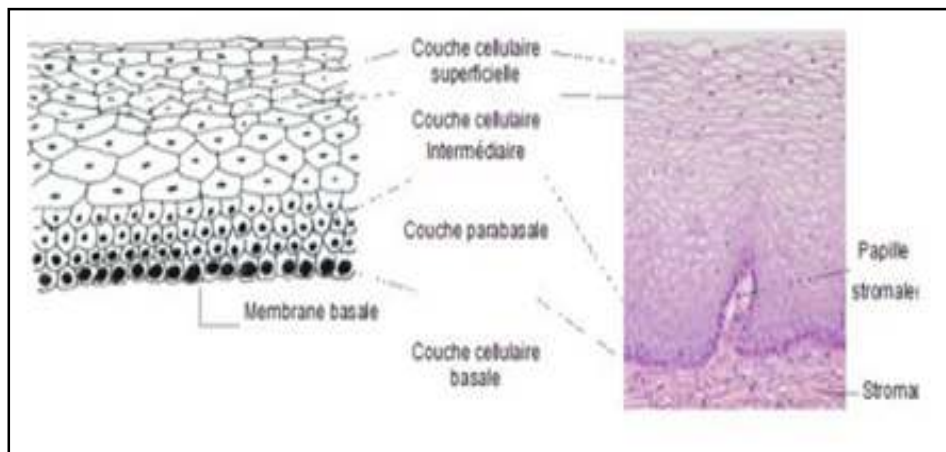


Figure 3 : Coupe histologique de l'exocol (J.Sellors).

Les deux éléments intéressants dans l'étude du cancer du col utérin sont l'endocol et l'exocol où l'infection virale commence (Tranbaloc.2002)

La zone de jonction ; siège du développement du cancer du col, se situe entre l'endocol et l'exocol. Elle s'appelle aussi zone de transformation (Chard et al.1994, Singer et al.2006). Appelée jonction squamo-cylindrique ou pavimento-cylindrique (JPC), Elle se présente sous la forme d'une ligne étroite marquée par une dénivellation à cause de la différence d'épaisseur entre l'épithélium pavimenteux et cylindrique

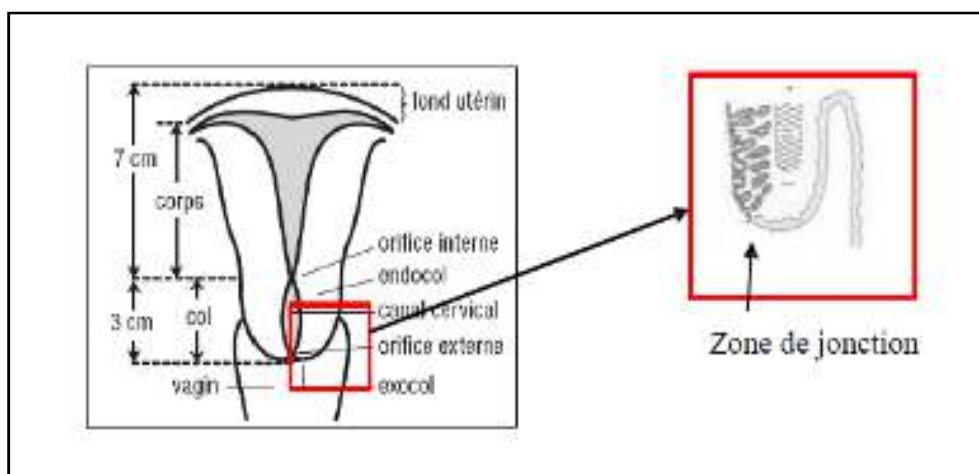


Figure 4 : Schéma agrandi de la zone de jonction (J.Sellors).

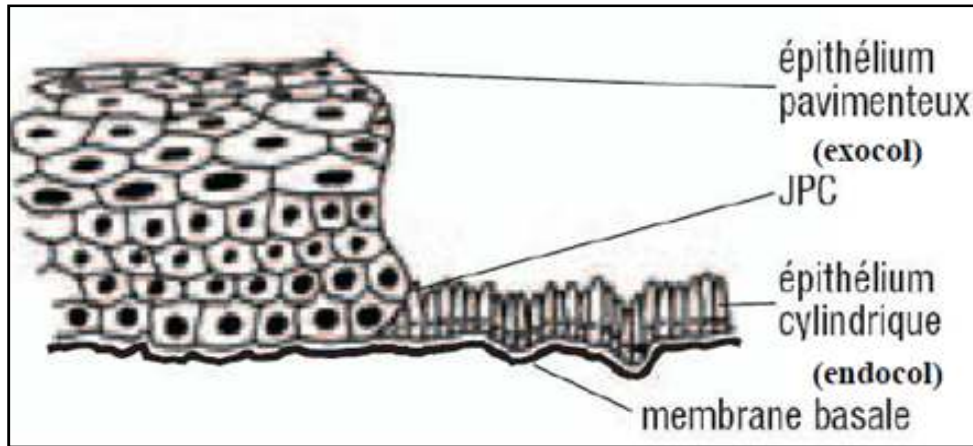


Figure 5 : Les deux types d'épithélium du col et la jonction pavimento-cylindrique (J.Sellors).

B- physiologique

Lorsqu'il est exposé à l'acidité vaginale, l'épithélium cylindrique est progressivement remplacé par un épithélium pavimenteux. Ce processus physiologique normal de remplacement de l'épithélium est appelé métaplasie pavimenteuse et donne naissance à une nouvelle JPC

La zone où se produit la métaplasie s'appelle la zone de remaniement (ou de transformation) et se situe donc entre la JPC originelle et la JPC nouvellement formée. Ce processus de métaplasie dure toute la période reproductive jusqu'à la péri ménopause. Chez la femme ménopausée, il n'y a qu'une seule jonction située dans le canal endocervical

C'est au niveau de la zone de remaniement que se développent 90% des cancers. En effet, cette zone de jonction est particulièrement sensible, de par sa complexité, sa fragilité mécanique et la fréquence de ses micro-érosions, dues en particulier aux relations sexuelles

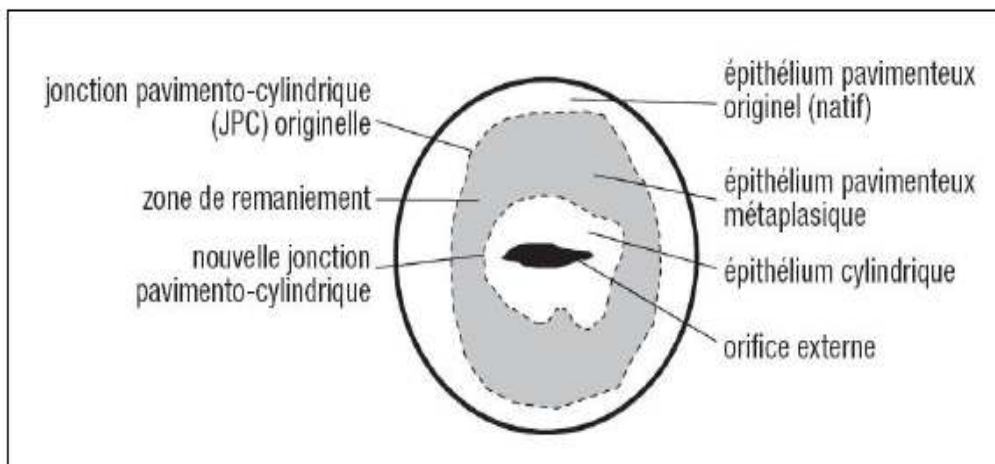


Figure 6 : Zone de remaniement (jemal et al .2011)

2.Epidémiologie

Avec 528 000 nouveaux cas chaque année, le cancer du col utérin est le quatrième cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde, après les cancers du sein, colorectal et du poumon. Il est également la quatrième cause la plus fréquente de décès par cancer (266 000 décès en 2012) (IARC.2013). Il existe, toutefois, une inégalité marquante dans la répartition de l'incidence selon les pays. En effet, on enregistre environ 85% des cancers du col dans les pays en voie de développement où l'accès au dépistage et les soins, la parité importante et l'environnement général étant totalement différents de ceux des pays développés (Bosch et al. 2013, IARC.2013).

- En Europe : il occupe le 9ème rang des cancers féminins en termes d'incidence, et le 12ème rang en termes de mortalité avec 13500 décès par an (Ferlay et al. 2013). On note, dans cette région, depuis 1980, un recul du cancer du col, avec une diminution à la fois de l'incidence et de la mortalité. Ceci s'explique par le développement du dépistage par frottis cervico-utérin, par une parité plus faible, ainsi que par une amélioration de la diététique occidentale

En Algérie : Selon l'enquête nationale menée par l'Institut National de la Santé Publique en 2002, a recensé 2112 cas représentant 10,5% des cancers féminins et une incidence brute de 10 à 20 pour 100000 femmes (Hammouda et al.2002), En 2008. L'Algérie est classée troisième parmi les pays Arabes (figure 7) en terme de prévalence de ce cancer (Ferlay et al. 2010).

La prévalence relativement élevée des cas en Algérie serait due à plusieurs facteurs. Les lacunes en termes de prévention par le dépistage seraient la cause principale. Plus de la moitié des femmes algériennes découvrent leur cancer trop tardivement, à un stade avancé de la maladie, lorsque le cancer a déjà gagné tout l'appareil génital ou plus. Dans ce cas le taux de survie diminue de 80%

L'incidence et la mortalité sont respectivement doublées et triplées dans les pays en voie de développement [IARC, 2013]

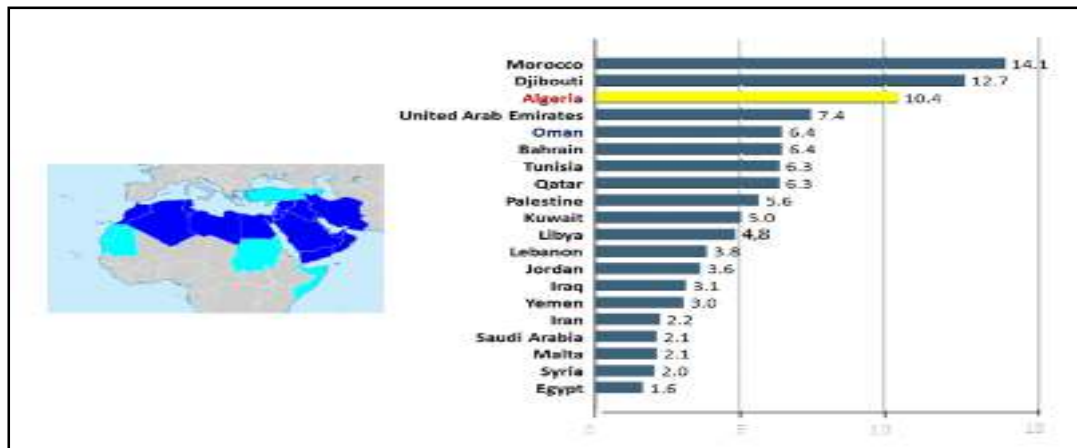


Figure 7 : Données d'incidence du cancer du col utérin dans la région MENA (Meadle East and North Africa) [Ferlay et al. 2010]

3. Les facteurs de risques

Le virus HPV peut être considéré actuellement comme un facteur obligatoire mais non suffisant de cette transformation maligne qui fait intervenir de nombreux autres cofacteurs. En effet, la majorité des femmes infectées par un type de HPV oncogène ne développent pas de cancer du col, ce qui laisse penser que d'autres facteurs, agissant en même temps que le virus, Ces cofacteurs augmentent a fortiori le risque d'avoir un cancer du col utérin (Denny et al. 2013)

3.1. Facteurs de risques liés au virus

La présence d'HPV est détectée dans la majorité des cancers du col de l'utérus, ce qui permet d'impliquer le papillomavirus humain comme une cause nécessaire au développement de ce cancer. Ainsi les HPV constituent « la première démonstration dans l'espèce humaine du caractère viro- induit obligatoire d'une tumeur solide ». (Riethmuller et al.2007), Par contre la seule présence d'une infection à HPV ne permet pas de dire que la patiente développera un cancer du col. Certains facteurs liés au virus comme le type, la persistance ou encore la charge virale vont concourir à rendre ou non l'infection maligne

3.1.1 Type d'HPV

Le risque de développer un cancer est différent selon le type d'HPV infectant le col. Huit génotypes sont impliqués dans presque 90 % des cancers du col de l'utérus : par ordre de fréquence, **16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35**

Il faut être infecté par un type oncogène pour développer un cancer mais que le risque n'est pas le même selon le génotype infectant avec un risque beaucoup plus élevé pour les infections par HPV16. (Khan et al, 2005)

3.1.2. coïnfection

La reconnaissance de coïnfections présente un intérêt clinique, car l'association de plusieurs papillomavirus de haut risque au niveau du col utérin diminue les chances d'élimination spontanée de ces virus et des lésions qui leur sont associées (Denny et al. 2013)

3.1.3. La persistance

Il n'existe pas de définition consensuelle de la persistance. En général, elle est définie par deux prélèvements positifs entre 12 et 18 mois d'intervalle. Les lésions causées par des HPV à haut risque persistaient davantage que celles liées à des HPV à bas risque. (Riethmuller et al.2002)

3.1.4. La charge virale

Une charge virale élevée majorerait donc considérablement le risque cancéreux mais il n'y a pas de consensus à ce sujet par manque d'études (Denny et al. 2013)

En conclusion sur les facteurs de risque liés aux virus, on peut dire que c'est donc le portage persistant par un HPV à haut risque et non pas l'infection en elle-même qui représente un facteur de risque de progression maligne, sachant que la persistance du virus est elle-même conditionnée par un certain nombre d'autres facteurs comme le type, la coïnfection et d'autres facteurs extrinsèques au virus qui sont décrits ci-dessous

3.2. Autres facteurs de risques

Ils existent d'autres facteurs liés à l'hôte ou à l'environnement pourraient influencer le risque de progression d'une infection à HPV vers la malignité. Ces facteurs agissent en favorisant la persistance de l'infection ou comme cofacteurs de la carcinogénèse

3.2.1. Age

L'âge des patientes modifie de façon évidente la durée du portage. Les patientes âgées de plus de 50 ans éprouvent plus de difficultés à éliminer les infections à HPV. L'acquisition de nouvelles infections par HPV est plus fréquente chez les femmes "jeunes", celles-ci parviennent donc plus rapidement et plus souvent à les éliminer (Denny et al. 2013)

3.2.2. Tabagisme

L'accumulation de nicotine est carcinogène dans la glaire cervicale agissant comme cofacteurs des HPV, ou pouvant avoir un effet immunosuppresseur. En effet, la diminution des cellules de Langerhans chez les patientes fumeuses montre l'action immunosuppressive de la nicotine et de ses dérivés

3.2.3. Contraception orale

Dès lors qu'elles utilisent une telle contraception pendant au moins 10 ans. Le risque augmente avec la durée d'utilisation et diminue après l'arrêt du contraceptif (Luhna et al, 2013). Le risque ne serait pas directement lié à la contraception orale mais à la liberté des mœurs qu'elle peut susciter (précocité des rapports, multiplicité des partenaires, multiples IST dues à la baisse de protection)

3.2.4. Multiparité

Le nombre de grossesses élevé a été trouvé associé à un risque augmenté de cancer du col dans la plupart des études. Dans une analyse réalisée par le CIRC, le risque est quatre fois plus élevé chez les femmes ayant mené sept grossesses à terme que chez les nullipares et le risque augmente linéairement avec le nombre de grossesses (Munoz N, 2002)

Une autre étude démontre aussi l'importance de l'âge à la première grossesse. Ainsi plus la grossesse a lieu à un âge jeune, plus le risque est élevé (International Collaboration of Epidemiological studies of Cervical Cancer, 2006). Des facteurs hormonaux liés à la grossesse ou le traumatisme cervical lié à l'accouchement pourraient être des causes possibles

3.2.5. Statut immunitaire

Les femmes immunodéprimées sont plus susceptibles à l'infection à HPV, que ce soit en raison d'un traitement immunosuppresseurs (en cas de transplantation ou de lupus) ou en raison de l'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). Dans ces cas, l'évolution du cancer invasif du col utérin est plus rapide (Denny et al. 2013)

3.2.6. Coïnfection à d'autres maladies sexuellement transmissibles

Le risque de développer un cancer du col utérin est multiplié par trois chez les femmes porteuses du virus herpès simplex de type 2 (Smith J.2002). Les infections sexuellement transmissibles fragilisent les muqueuses génitales et peuvent ainsi favoriser l'implantation des papillomavirus et le développement des cancers du col

3.2.7. Predisposition génétique

La prédisposition génétique pourrait être un cofacteur important, comme dans la plupart des cancers, mais elle n'intervient probablement que dans une faible proportion de cancers du col de l'utérus. Les gènes HLA ont été étudiés et il a été démontré que certains gènes HLA auraient un effet protecteur alors que d'autres seraient des facteurs de risque de malignité

Des études portant sur les familles suggèrent également que le fait d'avoir une mère ou une sœur atteinte d'un cancer du col de l'utérus augmente le risque (Denis F. 2008)

3.2.8. Nutrition

Aucune étude sur ce sujet n'est réellement convaincante mais la consommation élevée de légumes, d'acide folique, de vitamine A et d'antioxydants serait associée à un effet protecteur possible contre les néoplasies cervicales (Denny et al. 2013)

4. Histoire naturelle du cancer de col de l'utérus

Le cancer du col utérin se développe très lentement, sur une quinzaine d'années. Les lésions précurseurs de cette pathologie débutent généralement à la jonction entre les muqueuses malpighiennes et glandulaires du col de l'utérus

Il est donc important de localiser cette zone en perpétuel remaniement, car elle correspond à un site privilégié d'infection par les HPV. Ce dernier, infecte les cellules basales de l'épithélium malpighien, le plus souvent, à travers un microtraumatisme

Les cellules cervicales ainsi infectées prennent un aspect particulier : le noyau s'entoure d'un halo clair aux contours irréguliers, correspondant à une zone de nécrose du cytoplasme, on leur donne alors le nom de koilocytes (figure 8). Cet effet cytopathique est spécifique de l'infection à HPV (Baba et al 2007)

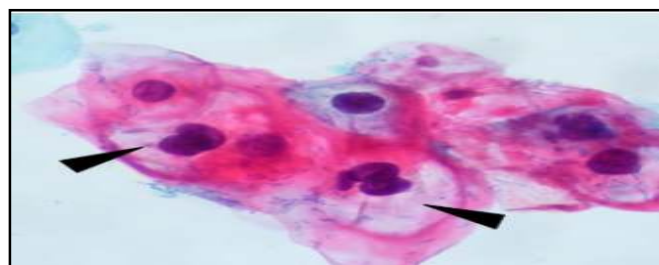


Figure 8: Aspect d'un koilocyte (Chard et al 1994)

Au niveau histologique, la progression se traduit par la perte de la différenciation cellulaire, donnant l’aspect d’un néoplasie cervical intraépithélial (CIN). Cette dernière évolue de CIN 1 vers CIN 3, puis vers le cancer infiltrant. Une proportion de 10 à 15% des CIN 1 non traitées passeront au stade CIN 2-3, tandis que les autres régresseront spontanément dans les deux années suivant le diagnostic initial

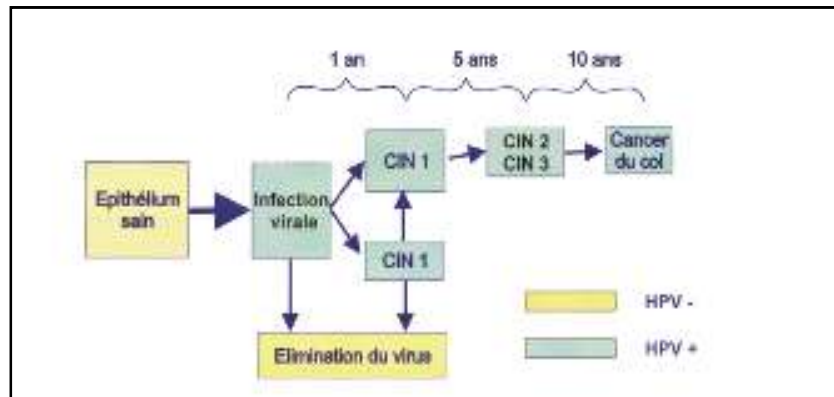


Figure 9 : Histoire naturelle de l’infection HPV et Développement du cancer du col de l’utérus (Moscicki et al. 2012)

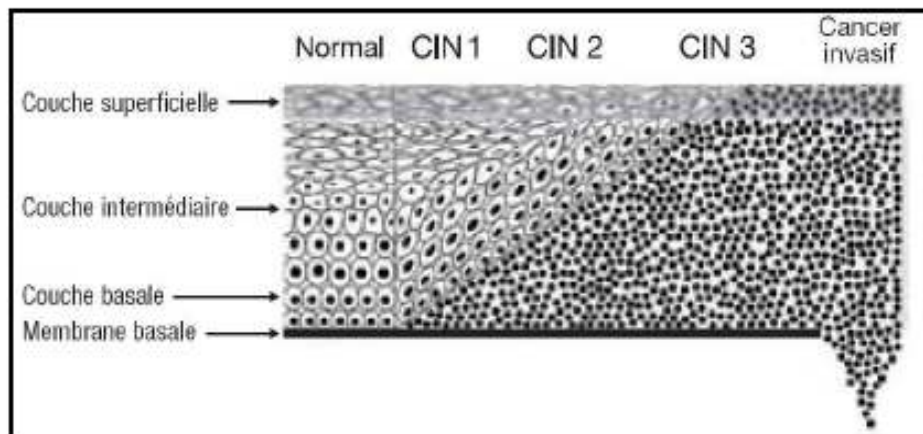


Figure 10 : Evolution de l’épithélium normal vers un cancer invasif. (OMS)

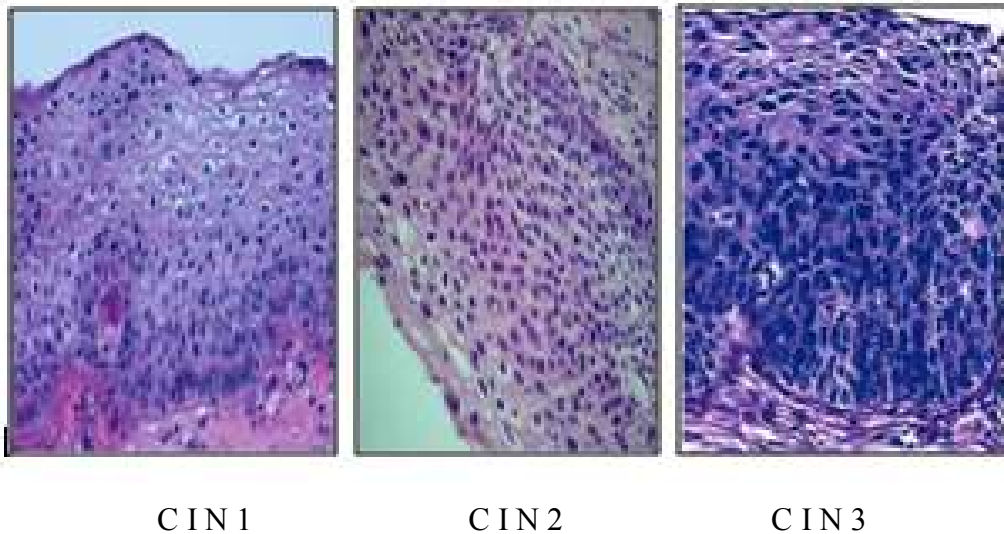


Figure 11: Aspects histologique des C I N (J.Sellors)

5. Classification des lésions

5.1. Sur le plan histologique

5.1.1. Lésions précancéreuse

Le cancer du col de l'utérus est un cancer d'évolution lente qui est précédé par des lésions précancéreuses appelées néoplasies intra épithéliales cervicales (CIN) ou dysplasies selon les différentes classifications

Les lésions précancéreuses peuvent être identifiées à l'aide d'une biopsie. Une dysplasie est un dysfonctionnement acquis de la multiplication cellulaire, réalisant d'une part des anomalies cytonucléaires et d'autre part une modification de l'organisation tissulaire. Par rapport à un épithélium normal, une CIN présente des anomalies nucléaires telles qu'un noyau plus volumineux, un rapport nucléo-cytoplasmique plus important, une intensité accrue de la coloration nucléaire (hyperchromatisme) et une variation de la taille du noyau (anisocaryose) (Sellors et al .2003)

Les Néoplasies Intra-épithéliales Cervicales (CIN) En 1953, Reagan propose une classification des dysplasies en trois stades de gravité

- dysplasie légère (correspond à un C I N 1)
- dysplasie modérée (correspond à un C I N 2)
- dysplasie sévère, et à un C I S (correspond à un C I N 3)

A cette époque, le carcinome in situ (CIS) est considéré comme une lésion distincte et non pas comme une étape suivante de gravité de la dysplasie

Ce système de classification séparant dysplasie et CIS, est cependant apparu de plus en plus arbitraire suite aux résultats d'un certain nombre d'études de suivi des femmes souffrant de telles lésions du col. En effet, lors de ces études, ils ont observé dans certains cas, une régression de la dysplasie, dans d'autres, sa persistance, et dans d'autres encore, une évolution vers le CIS. Ce sont ces observations qui sont à l'origine du concept d'un processus de la maladie unique et continu, au cours duquel l'épithélium normal évolue vers des lésions épithéliales précurseurs et enfin vers un cancer invasif

Suite à ces observations, la classification de Richart.1968 introduit le terme de néoplasie cervicale intraépithéliale (CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia) et insiste sur le fait que ces différentes lésions représentent différentes étapes d'un même processus pathologique. Cette classification distingue trois grades de CIN

Dans les années 1980, ils ont su de mieux en mieux identifier des changements pathologiques tels que l'atypie koilocytique ou condylomateuse associée avec l'infection à HPV. Ainsi, en 1990, la classification de Richart est modifiée et se base seulement sur deux grades de la maladie

- La CIN de bas grade regroupe des anomalies du genre atypie koilocytique et CIN 1

- tandis que la CIN de haut grade regroupe les CIN 2 et 3

Les lésions de haut grade sont alors considérées comme les véritables précurseurs du cancer invasif

Il existe un continuum lésionnel entre ces différents grades pouvant, à échéance, aboutir à un cancer avec effraction de la membrane basale

5.1.1. Lésions cancéreuses

Il existe un certain nombre de systèmes de classification du cancer. Pour classifier le cancer du col, il est recommandé d'utiliser celui de la Fédération internationale d'Obstétrique et de Gynécologie (FIGO), qui détermine le stade du cancer d'après (Annexe 6)

- la taille de la tumeur
- son extension au pelvis et aux organes distants

Le cancer du col utérin correspond à un carcinome épidermoïde plus fréquent et beaucoup plus rarement, à un adénocarcinome.

- Les carcinomes épidermoïdes se développent à partir de l'épithélium malpighien (de l'exocol) et sont dénommés différemment selon leur stade de développement ; micro-invasif, Invasif

En revanche, cette classification ne concerne pas les cancers micro invasifs du col qui, eux, sont classés en fonction de critères pathologiques de profondeur et de la largeur de la lésion invasive par rapport à l'épithélium

- Les adénocarcinomes naissant sur la face de l'endocol, ils sont en augmentation et plus difficiles à repérer

5.2. Sur le plan Clinique

Elle a notamment pour but de proposer ce système de classification permettant de répertorier les lésions néoplasiques du col utérin. En fonction de la taille et de l'extension tumorale, un stade FIGO allant de 0 à IV est attribué. De manière conventionnelle, une distinction est réalisée entre les cancers du col de stade débutant mesurant maximum 4 cm de grand axe (stades FIGO IA – IB1) et les cancers du col de stade avancé présentant un grand axe tumoral supérieur à 4 cm (stades FIGO IB2 – IV).

Ce système de classification est largement utilisé par les cliniciens afin de déterminer la stratégie thérapeutique à adopter. Il est également régulièrement révisé afin de prendre en considération les dernières avancées réalisées dans ce domaine

6. Cycle cellulaire et transformation néoplasique

6.1. Cycle cellulaire normal

La prolifération et l'apoptose sont des processus finement régulés au sein des cellules normales . Ces cellules sont majoritairement maintenues dans un état de quiescence grâce à l'association de la protéine de la famille du rétinoblastome (pRb) au facteur de transcription E2F (Helin et al 1993). Au cours de la phase G1 du cycle cellulaire, la phosphorylation de pRB par les cyclines kinases dépendantes activées (CDK 2, 4 et 6) provoque la libération du facteur de transcription E2F (Harbour et al. 2000). Ce dernier active alors l'expression des gènes codant pour les protéines impliquées dans la régulation la phase "S" du cycle cellulaire au cours de laquelle l'ADN génomique est répliqué (Ishida, et al.2001).

A l'inverse, le facteur de transcription suppresseur de tumeur p53 peut activer l'expression des gènes codant pour les protéines impliquées dans l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose (Kastan et al.1991). Tel est le cas pour les protéines p21 et p27 qui contrôlent

l'arrêt de la croissance cellulaire en inhibant l'action des cyclines (Xiong et al.1993 – Toyoshima et al.1994)

6.2. Transformation néoplasique

Lors d'une infection des cellules hôtes par un papillomavirus humain, les protéines virales E6 et E7 induisent une hyper-prolifération cellulaire, une déficience des mécanismes d'apoptose ainsi que la formation et l'accumulation d'anomalies génomiques responsables de l'acquisition du caractère oncogénique (Moody et al. 2010)

E7 cause la dissociation du complexe pRB-E2F en se liant directement à pRB et provoque l'entrée des cellules en phase "S" (Chellappan, et al. 1992 - Zervas et al.1995)

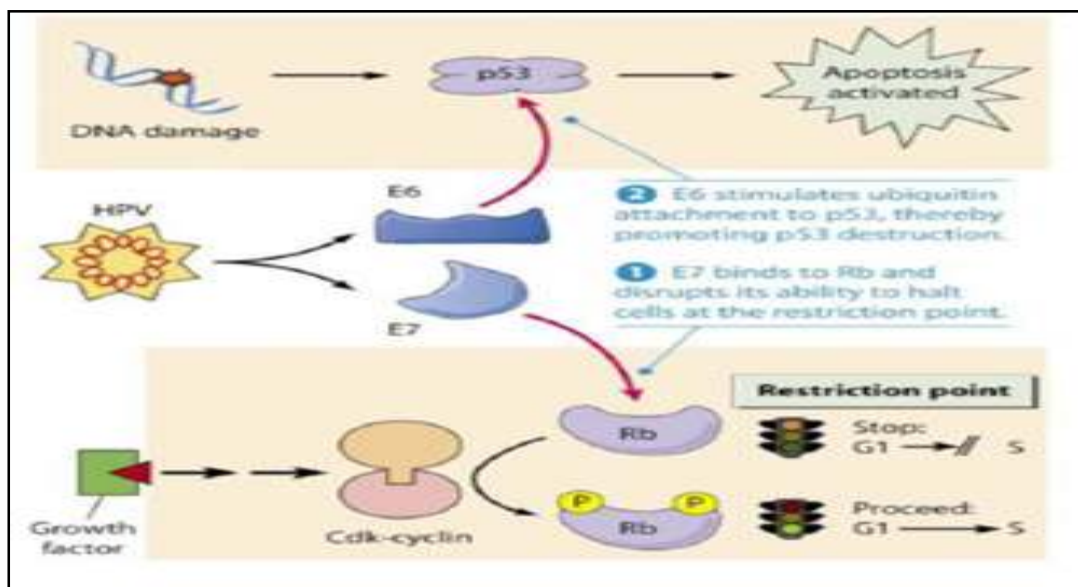


Figure 12 : mécanismes d'action de l'E7 et E6 (Leemans et al. 2011).

L'E7 inhibe également l'action des déacétylases impliquées dans la répression de la transcription de l'ADN (Brehm et al. 1999) et empêche la répression du cycle cellulaire en interagissant avec les protéines p21 et p27 (Zervas et al 1996 - Funk et al.1997)

Parallèlement, E6 contribue à l'immortalisation des cellules infectées en neutralisant l'action de la protéine suppresseur de tumeur p53 (Huibregtse et al1991- Lechner et al 1994) et stimule la prolifération cellulaire en activant la transcription de la "telomerase reverse transcriptase", un facteur de transcription des enzymes responsables de la réplication des régions terminales des chromosomes (Stoppler et al. 1997).

Au fur et à mesure de la prolifération cellulaire, les oncoprotéines E6 et E7 provoquent une accumulation d'altérations structurelles et numériques au niveau des chromosomes des cellules infectées

D'une part, un nombre important de cassures est observé lors d'une expression intense des oncoprotéines E6 et E7. Celles-ci sont dues à l'association des télomères de deux chromatides sœurs pouvant mener à un gain ou à une perte de matériel génomique lors de l'anaphase (Duensing et al.2002).D'autre part, elles provoquent la synthèse d'un nombre supra-numéraire de centrosomes (> 2 centrosomes) (Duensing et al. 2000). La formation du réseau mitotique qui en résulte mène à une répartition inégale du matériel génomique lors de la division cellulaire (aneuploïdie) (Ganem et al.2009).

Ces altérations chromosomiques ont été mises en évidence dans les néoplasies du col utérin et on été associées au caractère invasif des cellules cancéreuses (Heselmeyer et al. 1996 – Wilting et al.2006).

On conclusion, Si les deux protéines E6 et E7 ont des activités indépendantes, leur présence simultanée semble indispensable pour immortaliser et transformer de façon efficace les cellules. L'inhibition de l'activité des protéines p53 et pRb par ces oncoprotéines ouvre la voie à de multiples dérégulations favorables au processus malin (liveonearthlifejournal.com . 2010)

1.6.3. Cycle cellulaire et marqueur de néoplasie cervical

Parmi les divers mécanismes régulateurs du cycle cellulaire, P16INK4a, également connue sous le nom de cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) ou multiple tumor suppressor 1 (MTS-1), est utilisée comme marqueur des cellules néoplasiques cervicales. Cette protéine suppresseur de tumeur régule la progression du cycle cellulaire en agissant sous la forme d'une boucle de rétroaction négative (figure 13). Exprimée au cours de la phase S, elle a pour rôle d'inhiber l'action des CDK 4 et 6 responsables de la dissociation du complexe Rb/E2F (Zhang et al.1995).

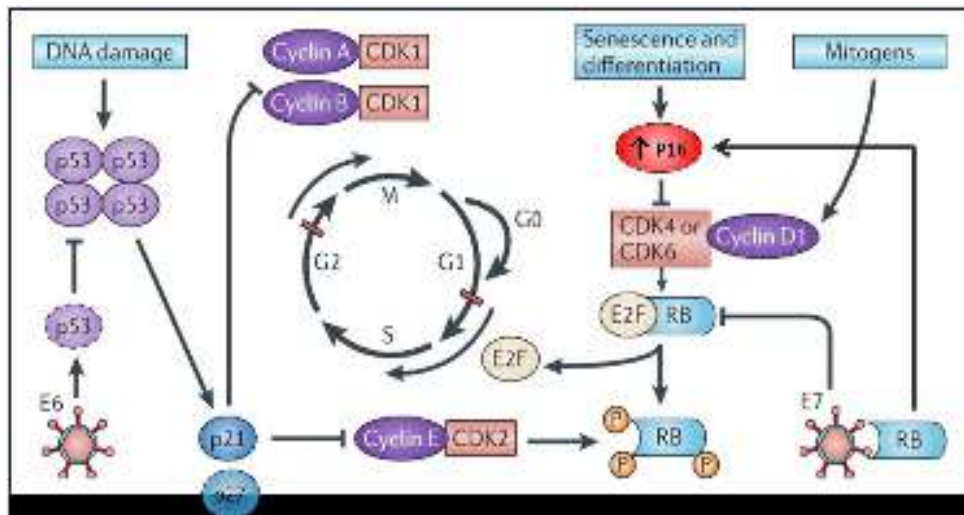


Figure 13 : Mécanismes impliqués dans la dérégulation du cycle cellulaire lors d'une infection par un papillomavirus humain oncogène. (Leemans et al. 2011).

Dans les cellules infectées par HPV, le catabolisme de Rb par l'oncoprotéines E7 induit une surexpression de P16INK4a, rappelons que l'organisation génétique des HPV est caractérisée par la présence d'un seul brin codant avec 3 régions génomiques. La région E (early) code pour 7 ou 8 protéines non structurales qui vont interagir avec le système cellulaire et entrainer immortalisation et anomalies cellulaires

La surexpression de P16 au cours de la phase d'infection transformant la rend intéressante pour l'affinement du diagnostic des CIN et notamment de CIN2. Elle est mise en évidence par des techniques d'immunohistochimie

La prolifération cellulaire n'est pas dépendante des CDK4 et 6, une production intense de P16 est observée tout au long de la progression tumorale sans pour autant que cette dernière ne puisse avoir d'effet sur le cycle cellulaire (Klaes et al.2001).

Aisément analysable par immunohistochimie, ce marqueur présente l'avantage de faciliter la détection des petits amas isolés de cellules. Couplée à une analyse de coupes colorées par l'hématoxyline éosine, l'analyse de P16 facilite le diagnostic des dysplasies cervicales de petite taille (Grce et al.2010).

1.6.4. Zone de transformation et néoplasies cervicales

La zone de transformation est actuellement reconnue comme la région du col utérin au niveau de laquelle les néoplasies cervicales se développent. En 1983, se basant sur une étude histo-morphologique, Burghardt et al déterminèrent que, dans la grande majorité des cas, le

précurseur de lésions néoplasiques se présente sous la forme d'une métaplasie squameuse atypique localisée au sein de la zone de transformation (Burghardt et al. 1983).

Une population d'une quarantaine de cellules faisant partie de la zone de jonction squamo-cylindrique ont été suggérées comme les réels précurseurs des lésions néoplasiques cervicales (Herfs et al. 2001). D'une part, ces cellules présentent un profil génomique différent de celui des cellules squameuses et glandulaires adjacentes et d'autre part, celles-ci expriment différents marqueurs spécifiques des cellules de la zone de jonction (Kératine 7, antérieur gradient 2, cluster differentiation 63, matrix metalloproteinase 7 et guanine deaminase) qui apparaissent conservés dans l'ensemble des lésions néoplasiques intra-épithéliales de haut grade et cancéreuses. Il est ainsi suggéré que l'association entre le développement cancéreux et la zone de transformation est liée à la présence d'une zone de jonction fragile, siège d'une conversion métaplasique de l'épithélium glandulaire en épithélium squameux consécutif à l'agression de l'endocol par l'acidité vaginale

1.6.5. Physiopathologie du cycle cellulaire

Les mutations du gène CDKN2A codant pour la P16 sont associées à une augmentation du risque de différents Types de cancer (Krishnamurthy et al 2006). Des accumulations de méthylation au niveau de la zone promoteur du gène de la p16 sont fréquemment retrouvées dans les cellules cancéreuses. Il s'agit de modifications épi génétiques qui aboutissent ainsi à une Répression de l'activité de suppresseur de tumeur de la P16, soit en bloquant directement la transcription du gène, soit en favorisant la présence de facteurs de transcription ayant une activité répressive sur le gène de la P16. Ces modifications épi génétiques entraînent donc une diminution de la concentration de la P16 dans la cellule (bergeron et al 2010).

L'évolution de P16 dans le processus de carcinogenèse associée à la présence du virus HPV n'est pas du tout identique à celle décrite plus haut.

Au niveau moléculaire, dans la cellule, pRb est habituellement liée à E2F qui bloque l'activation du cycle cellulaire par un mécanisme de phosphorylation (Boyer et al. 1996). En phase de prolifération virale, E7 se lie à pRb ce qui entraîne le relargage d'E2F (Huh et al. 2007). La libération d'E2F induite par le lien entre E7 et le gène pRb aboutit à un important rétrocontrôle négatif sur la répression de la transcription du gène de la protéine P16, ce qui entraîne donc une surexpression de p16 qui s'accumule dans le cytoplasme et le noyau cellulaires (figure 14).

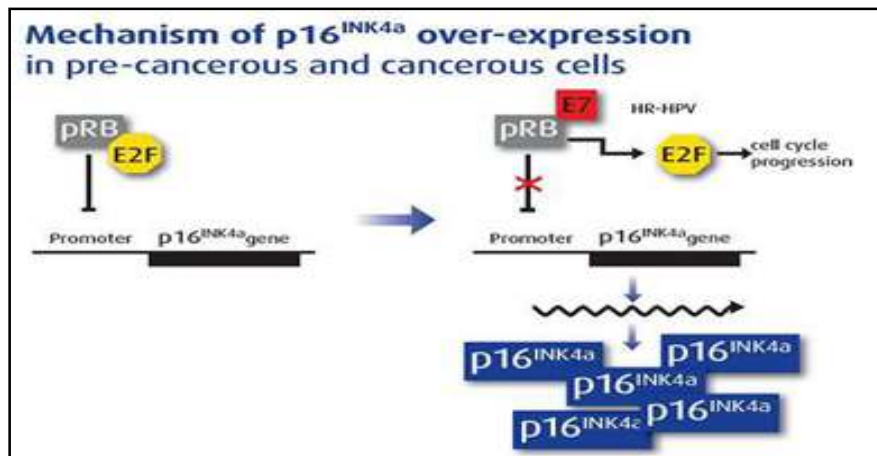


Figure 14 : Mécanisme de la surexpression de la P16 dans les cellules cervicales dysplasiques et cancéreuses (klaes et al 2001)

Après infection par HR-HPV, E2F favorise également la prolifération cellulaire anarchique. La surexpression de P16 est donc dans ce cas un marqueur de l'infection transformant, c'est-à-dire un marqueur de l'activité de E7 et donc de l'intégration du génome viral dans l'ADN de la cellule hôte (Gonzalez et al.2001).

La surexpression de P16 au cours de la phase d'infection transformant la rend intéressante pour l'affinement du diagnostic des CIN et notamment de CIN2. Elle est mise en évidence par des techniques d'immunohistochimie (Bergeron et al 2008).

Le Ki-67 est un antigène nucléaire (Ki-67 /mib1) dont l'expression est associée à la prolifération cellulaire et persiste tout au long des différentes phases du cycle cellulaire (G1, S, G2, M). Il est absent en phase G0 (Natália et al 2009).

I.7 Prise en charge thérapeutique des cancers du col utérin

Le traitement du cancer du col varie selon les patientes, en fonction du

- stade de la tumeur
- de l'âge de la patiente
- de l'existence d'autres pathologies

Le taux de guérison du cancer invasif du col dépend du stade de la maladie au moment du diagnostic et de la disposition d'un traitement. L'issue d'un cancer du col non traité est presque toujours fatale.

Dès le diagnostic, la prise en charge, du fait de sa complexité, doit être pluridisciplinaire et réalisée par une équipe spécialisée. Il existe plusieurs méthodes thérapeutiques qui peuvent être combinées selon la décision de l'équipe médico-chirurgicale

7.1 Méthodes thérapeutiques

Le traitement du cancer du col repose essentiellement sur la chirurgie ou la radiothérapie et parfois même sur une combinaison des deux. La chimiothérapie n'est pas utilisée comme traitement de première ligne, mais elle peut être utilisée parallèlement à la radiothérapie. La chirurgie curative vise à enlever la tumeur primaire et toutes ses extensions en une seule opération. L'importance de l'intervention dépendra du stade clinique de la tumeur et de ce que voit le chirurgien au fur et à mesure qu'il opère

7.1.1. Chirurgie

L'hystérectomie radicale et la lymphadénectomie pelvienne (ablation des ganglions lymphatiques de la région pelvienne) sont les principales méthodes chirurgicales, même si l'hystérectomie simple et la trachélectomie sont indiquées dans certains cas particuliers. Ce genre d'intervention nécessite une hospitalisation d'environ 7 à 10 jours, mais il faut compter entre 6 et 12 semaines pour un complet rétablissement

La trachélectomie simple consiste à ôter le col de l'utérus. La trachélectomie radicale (également désignée sous le terme de trachélectomie élargie) consiste à retirer non seulement le col, mais aussi le paramètre (tissu fibro-cellulaire qui s'étend entre les bords latéraux du col utérin et la paroi pelvienne latérale droite et gauche) et la partie supérieure du vagin

L'hystérectomie consiste à enlever l'utérus. Lors de l'hystérectomie simple, on procède à l'ablation de la totalité de l'utérus, y compris du col. Il n'est pas forcément nécessaire de réaliser l'ablation des ovaires et des trompes de Fallope. En revanche, dans le cas d'une hystérectomie radicale, on procède à l'ablation de l'utérus, des tissus environnants et de la partie supérieure du vagin

Dans le cas de lésions traitées par chirurgie, une analyse postopératoire des tissus réséqués sera également systématiquement réalisée afin de préciser le diagnostic initial. Dans ce cas, une seconde classification autre que la classification du FIGO appelée TNM (Tumor – Nodal status – distant Metastasis) est utilisée. Celle-ci permettra notamment d'informer le clinicien sur la présence/absence de métastases ganglionnaires et/ou à distance, paramètres associés à un risque de récurrence élevé. Ceux-ci justifieront l'indication de thérapies postopératoires adjuvantes (Quinn et al. 2006).

7.1.2. Radiothérapie

Il existe deux grandes catégories de radiothérapie selon le positionnement de la source d'irradiation par rapport au patient

- téléthérapie : source d'irradiation éloignée du patient
- curiethérapie : petites sources radioactives placées dans les cavités corporelles

Les traitements curatifs du cancer du col reposent généralement sur une combinaison de téléthérapie pelvienne et de curiethérapie intravaginale

La curiethérapie consiste à placer une source radioactive au contact direct de la tumeur dans la cavité utérine et le vagin. Cette opération est réalisée sous anesthésie générale

7.1.3. Chimiothérapie

La chimiothérapie n'est pas utilisée comme traitement de première ligne du cancer du col. Elle est généralement combinée avec la chirurgie ou la radiothérapie pour traiter les tumeurs bourgeonnantes. Le cisplatine est le produit le plus fréquemment utilisé