

UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE



**EVALUATION ANATOMOPATHOLOGIQUE ET
BIOPATHOLOGIQUE DES CANCERS COLORECTAUX
AU CHU HASSAN II DE FES
Résultats préliminaires de l'étude COLORECFEZ**

**MEMOIRE PRESENTE PAR
DR. SEKAL MOHAMMED
Né le 4 Février 1981 à Fès**

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
Option : ANATOMIE PATHOLOGIQUE**

**Sous la direction de :
PROFESSEUR AMARTI RIFFI AFAF**

Session : juin 2012

SOMMAIRE

RESUME	3
INTRODUCTION	4
PROTOCOLES DE L'ETUDE COLOREC FEZ ET OBJECTIFS SPECIFIQUES DE L'ETUDE ACTUELLE.....	6
I. Modalités de l'étude COLOREC FEZ.....	6
1- Inclusion des patients	6
2- Volets de l'étude COLOREC FEZ.....	7
II. Objectifs spécifiques de ce travail de mémoire.....	12
RESULTATS.....	13
I. Etude descriptive.....	13
II. Etude analytique.....	24
1- Comparaison du groupe de moins de 50 ans avec le groupe de plus de 50 ans	24
2- Comparaison du groupe MSI probable avec le groupe MSS.....	25
DISCUSSION.....	33
CONCLUSION.....	69
REFERENCES.....	70

RESUME

Le cancer colorectal (CCR) est la deuxième cause de décès par cancer dans les pays occidentaux. Dans la région de Fès, Il est le troisième cancer le plus fréquent et le premier cancer du tube digestif.

C'est une étude prospective, descriptive et analytique incluant depuis Janvier 2010, 171 patients et qui a pour objectifs d'évaluer les caractéristiques bio-pathologiques du CCR dans notre population et de les corrélés à des paramètres cliniques notamment l'âge des patients.

Une étude immunohistochimique (Ventana Benchmark XT) de l'expression des protéines MMR, p53, et MIB1a été réalisée sur 140 échantillons de tumeurs. Nous avons également réalisé une étude de l'instabilité des microsatellites (MSI) par analyse PCR – fragment d'ADN.

L'âge moyen de nos patients était de 56,9 ans. 27,9% sont âgés de moins de 50 ans, contre 6% dans la littérature occidentale. On note une prédominance des localisations rectales (52% des cas). Le type histologique prédominant est l'adénocarcinome (83% des cas). Les stades pT3 sont les plus fréquents (59%). Les Métastases ganglionnaires se trouvent chez 35% des patients. L'extinction de l'expression des protéines MMR a été trouvé chez 12% des patients, le profil MSI a été confirmé chez 7 cas

Le groupe des jeunes patients (<50ans) est caractérisé par une fréquence plus élevée des types histologiques mal différenciés et de l'extension au péritoine. Nous avons également constaté des différences non significatives pour d'autres paramètres. En effet, les patients de moins de 50 ans ont moins d'embolies vasculaire (p = 0,09).

le groupe MSI-H est caractérisé par rapport au groupe MSS par une prédominance des localisations au niveau du colon droit, une association plus fréquente avec un CCR synchrone, l'absence d'association avec des adénomes multiples, une taille tumorale plus importante (p = 0,02) et une surexpression plus fréquente de la p53 (p = 0,048).

En outre, d'autres différences non significatives ont été observées entre ces deux groupes concernant d'autres paramètres. En effet, le phénotype MSI probable est plus fréquent chez les hommes, les patients d'âge plus jeunes, et dans les types histologiques peu différenciées.

En conclusion, le taux de CRC Présentant une extinction des protéines MMR dans notre population (12%) est similaire aux données rapportées dans la littérature (10–15%). L'instabilité micro satellitaire ne semble pas expliquer la fréquence plus élevée de patients jeunes atteints de CCR et la prédominance des localisations rectales. D'autres voies de cancérogenèse colorectale doivent être explorées, notamment l'instabilité chromosomique, la méthylation ou l'origine virale (EBV).

- l'analyse de la mutation du gène BRAF est en cours pour distinguer les patients MSI sporadiques de ceux avec HNPCC. L'analyse du gène MLH1 doit être développée dans notre laboratoire afin de mieux diagnostiquer les HNPCC.
- L'analyse des mutations du gène K-Ras est en cours pour évaluer la sensibilité aux anti-EGFR.

INTRODUCTION

Le cancer colorectal (CCR) représente un problème majeur de santé publique. Il représente près de 15 % de l'ensemble des cancers dans le monde.

En dépit des progrès réalisés dans son dépistage et sa prise en charge, son pronostic reste sombre, avec d'après les registres français, une survie à 5 ans proche de 40 %. Cependant, il se développe habituellement sur une lésion préexistante évoluant souvent depuis plusieurs années, ce qui le rend théoriquement accessible à une stratégie de prévention efficace. L'évolution des connaissances en matière de cancérogenèse colorectale peut entraîner des changements dans les stratégies de prise en charge des patients. Le but du projet est de mettre en place de nouveaux outils anatomopathologiques et oncogénétiques des cancers colorectaux pour une meilleure prise en charge des patients atteints du CCR et de leurs familles. Cette approche multidisciplinaire est une première nationale, rendant ainsi notre structure de pratique et de recherche médicale l'une des plateformes de prise en charge multidisciplinaire du cancer colorectal au Maroc.

PROTOCOLES DE L'ETUDE COLOREC FEZ ET

OBJECTIFS SPECIFIQUES DE L'ETUDE ACTUELLE

I. Modalités de l'étude COLOREC FEZ

Dans le cadre d'une meilleure connaissance des caractéristiques des cancers colo-rectaux au CHU Hassan II de Fès, le laboratoire de « Biologie des Cancers » de la faculté de médecine et pharmacie de Fès a décidé d'entamer une étude prospective observationnelle ouverte incluant tous les patients admis au CHU Hassan II pour prise en charge d'un cancer colorectal naïfs de tout traitement chirurgical ou médical. Cette étude dénommée 'COLOREC FEZ' a démarré en janvier 2010 avec l'implication des différentes spécialités impliquées dans la prise en charge des cancers colo-rectaux (Epidémiologie, Gastro-entérologie, Chirurgie, Oncologie médicale, Radiologie, Anatomopathologie, Génétique médicale).

1-Inclusion des patients :

1-1 Critères d'inclusion

- Tout patient présentant un cancer colorectal type carcinome à l'histologie quelque soit son stade au moment du diagnostic.

- Pris en charge au CHU HASSAN II

1-2 Critères d'exclusion

- Tout patient ayant bénéficié avant son inclusion d'un traitement antérieur pour son cancer colorectal en dehors du CHU (radiothérapie, chimiothérapie, chirurgie...)

- Patients n'ayant pas de confirmation histologique du cancer colorectal.

Un CRF a été réalisée sur la plateforme informatique du CHU, spécialement pour ces malades comprenant différents volets : cliniques, biologiques, endoscopiques, radiologiques, histologiques, chirurgicales, génétiques, oncologiques

De janvier 2010 jusqu'à fin mars 2012, 171 patients ont été recruté.

2- Volets de l'étude COLOREC FEZ

2-1 Volet clinique et paraclinique :

Pour tous les malades, on précise l'âge, le sexe, l'origine, les antécédents personnelles et familiaux de cancer colorectal, d'autres cancers, de polype ou polypose, de consanguinité, d'agrégation familiale de cancer, de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Ont été également précisés les données cliniques de circonstances de découverte du cancer, l'évolution des symptômes et les données de l'examen clinique.

Sur le plan biologique, tous les patients bénéficient d'un bilan nutritionnel (albuminémie et protidémie) et des marqueurs tumoraux (ACE et CA9-9). Un prélèvement spécial pour biologie moléculaire est réalisé sur tube citraté.

Dans le cadre du bilan d'extension, les patients bénéficient d'une TDM thoracoabdominopelvienne, d'une IRM pelvienne dans certains cas pour les cancers du rectum et d'autres explorations selon le contexte.

Sur le plan endoscopique : une Coloscopie est systématique chez tous les patients quelque soit le stade évolutif de la maladie. Sept biopsies sont réalisées sur la tumeur et deux sur tissu sain incluses dans le formol pour étude histopathologique et moléculaire.

2-2 Etude anatomopathologique et biopathologique :

Sont précisé le type histologique, le degré de différenciation, la présence ou non d'une composante colloïde muqueuse ou de cellules indépendantes, le type du stroma et les lésions associées (polype ou tumeur).

Sur pièce opératoire, on précise les limites de résection, le nombre de ganglions prélevés, envahies ou avec effraction capsulaire, l'engainement péri nerveux ou les embolies vasculaires et le niveau d'invasion de la tumeur.

Sur le plan immunohistochimique, on a recherché pour 140 patients, au niveau du tissu tumoral et du tissu sain, fixés au formol et inclus en paraffine, l'expression des protéines de réparation de l'ADN : MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 et de l'expression tumoral du KI67 et de la P53 avec le pourcentage de cellules marquées et l'intensité du marquage.

L'étude immunohistochimique est réalisée de façon automatisée sur automate de benchmark Ventana.

Pour les patients opérés, est précisé le stade TNM et pour les cancers du rectum opérés après radio chimiothérapie la classification de Dvorak est adoptée.

Sur le plan moléculaire : la recherche s'effectuera sur

- ADN tumoral (génétiques somatiques) :

§ Recherche de la mutation V600E du gène BRAF

§ Recherche de la mutation du k-ras (génotypage k-ras) sur tumeur primitive ou métastase

§ Recherche de l'instabilité microsatellitaire

La recherche commence par l'extraction de l'ADN. Elle se fait à partir du matériel tumoral fixé au formol tamponné 4% et inclus en paraffine. On privilégie les zones riches en cellules cancéreuses vivaces tout en précisant leur pourcentage par rapport à toutes les cellules présentes dans la zone prélevée.

L'extraction de l'ADN se fait par kit Qiagen. Elle suit un schéma de principe :

- * Lyse des cellules
- * Elimination des protéines et des autres acides nucléiques (ARN, etc.)
- * Concentration de l'ADN par précipitation

Une fois l'ADN extrait, une PCR est réalisée. Elle est basée sur une répétition de cycles de transition de température.

❖ Les différentes étapes de la PCR :

➤ Conditions natives :

Cette étape se fait généralement à température ambiante. L'ADN bicaténaire adopte sa conformation en double hélice.

➤ Dénaturation initiale

Avant de commencer les cycles de PCR proprement dit, une étape de chauffage (généralement 10 à 15 minutes à 95 °C) est réalisée. Cette étape permet de : déshybrider les ADN double brin, de casser les structures secondaires, d'homogénéiser le milieu réactionnel par agitation thermique et d'activer la TAQ polymérase.

➤ Phase de dénaturation

Cette étape (généralement de 0 à 1 minute à 95 °C) permet de déshybrider les ADN, de « décrocher » les polymérases qui seraient encore liées à une matrice et d'homogénéiser le milieu réactionnel.

➤ Phase d'hybridation ou d'appariement des amorces spécifiques

Cette étape (généralement 2 à 60 secondes à 56–64 °C) permet aux amorces sens et anti-sens de s'hybrider aux ADN matrice grâce à une température qui leur est thermodynamiquement favorable. Peu de brins d'ADN matrice peuvent s'hybrider (se lier) avec leur brin complémentaire, ce qui empêcherait la fixation des amorces, car ces dernières sont bien plus courtes et en concentration bien plus importante.

Expérimentalement, il est constaté que la PCR fonctionne même avec une phase d'hybridation avec une température supérieure de quelques degrés au T_m théorique des amorces, probablement parce qu'elles interagissent déjà avec les polymérases, qui stabiliseraient leur hybridation à l'ADN matrice.

Pour la recherche de l'instabilité des microsatellites, une PCR pentaplexe est adoptée et permet d'amplifier 5 amplicons à la fois, par l'utilisation d'au moins trois amorces par réaction de PCR. Les produits de PCR ne seront alors compétitifs que pour la polymérase et les dNTP

➤ Phase d'élongation

Cette étape (généralement 4 à 120 secondes à 72 °C) permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à une température qui leur est optimale. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel. La durée de cette étape dépend normalement de la longueur de l'amplicon

❖ Contrôle de la PCR

Par électrophorèse sur gel d'agarose, on peut analyser la présence et la taille des acides nucléiques contenus dans la préparation. Ceux-ci sont révélés par le bromure d'éthidium, un colorant dont la fluorescence augmente très sensiblement quand il interagit avec l'ADN. On observe sous UV une bande dans le cas du BRAF et du K-ras, et 5 bandes pour la recherche de l'instabilité micro-satellitaire.

❖ Le séquençage de l'ADN

Consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides pour les gènes BRAF ou K-ras amplifiés

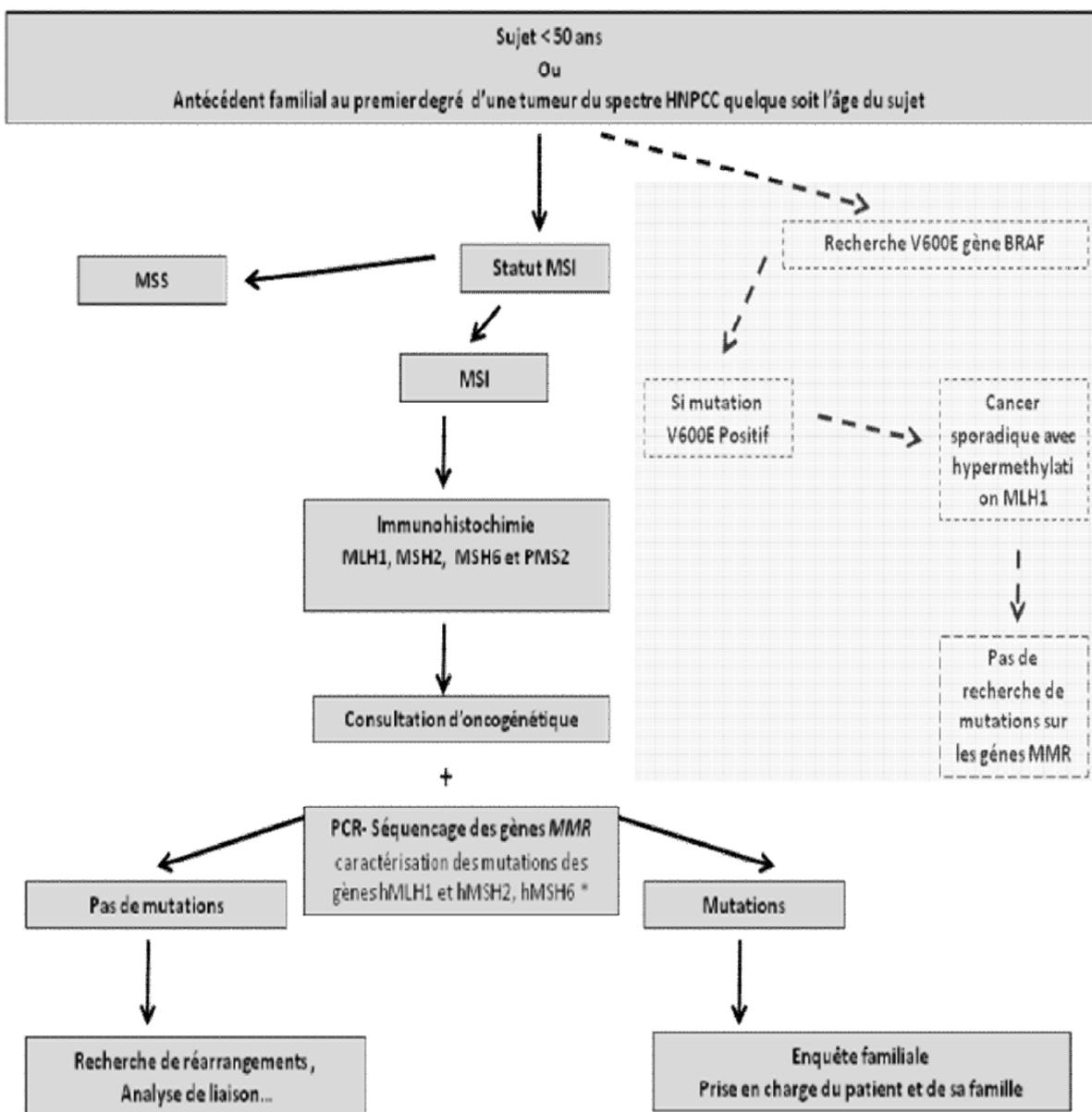
❖ Analyse de fragments de l'ADN

Réalisée pour l'étude de l'instabilité micro satellitaire

2-3 Volet de génétique constitutionnel et prédisposition héréditaire :

Suite à une consultation d'oncogénétique et aux résultats des différents tests : profil MSI et immunohistochnimique, des explorations moléculaires des différents gènes MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 par PCR-Séquençage.

L'organigramme résume les indications d'une prise en charge oncogénétique :



III. Objectifs spécifiques de ce travail de mémoire

- Confirmer l'âge jeune des patients rapporté dans des études réalisées dans notre contexte, et dans le cas échéant tenter de l'expliquer.

- préciser les caractères anatomo-pathologiques des CCR

- Caractérisation des tumeurs colorectales qui présentent un « phénotype MSI positif » et le compléter par une étude immunohistochimique du marqueur de prolifération (Ki67) et l'expression de P53 au niveau de la tumeur

- Rechercher par biologie moléculaire dans les cancers colorectaux de la mutation du gène k-ras et du gène BRAF.

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

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

Par la suite, nous avons effectué des comparaisons entre :

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

La comparaison des pourcentages a été faite à l'aide du test de Khi-carré et le test de Fisher et de moyennes à l'aide du student's test en déterminant le degré de signification de chaque test. Une valeur du $p < 0.05$ a été considérée comme statistiquement significative. Toutes les valeurs manquantes étaient écartées des analyses. Les données ont été saisies sur le logiciel Excel et analysées sur le logiciel SPSS.

RESULTATS

I. ETUDE DESCRIPTIVE

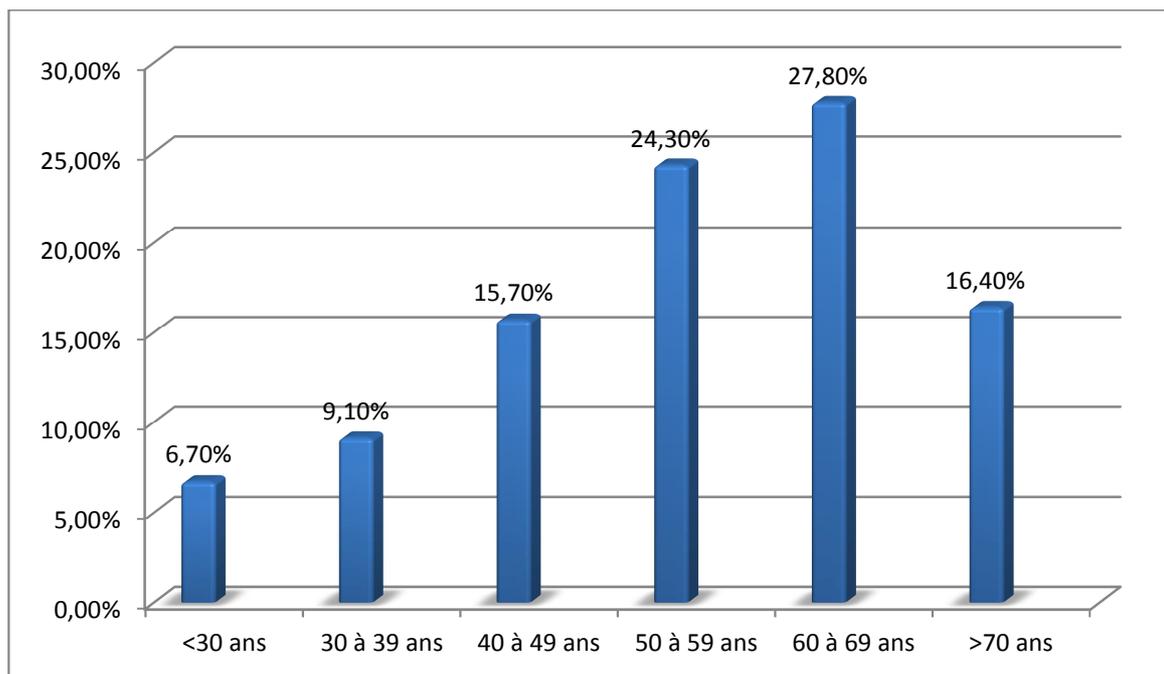
1-Répartition selon l'âge

L'âge médian est de 60+/- 15,38 ans avec un âge minimal de 16 ans et un âge maximal de 84 ans

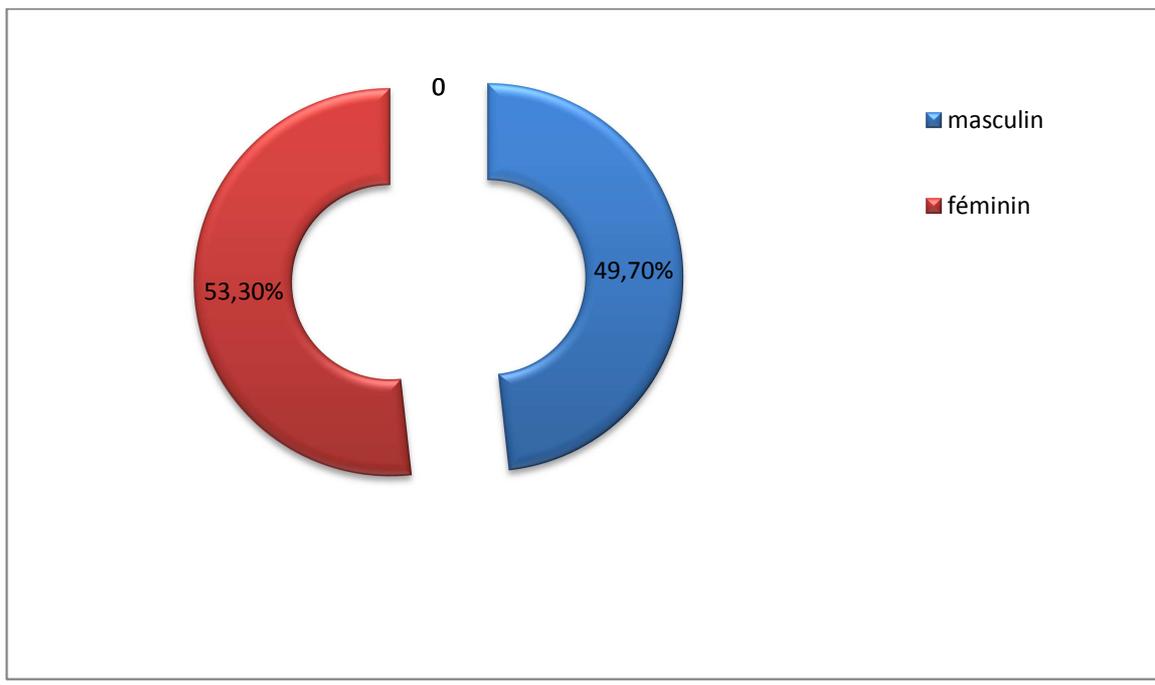
L'âge moyen est de 56,9 ans.

Les sujets âgés de moins de 50 ans représentent 27,9 % des cas.

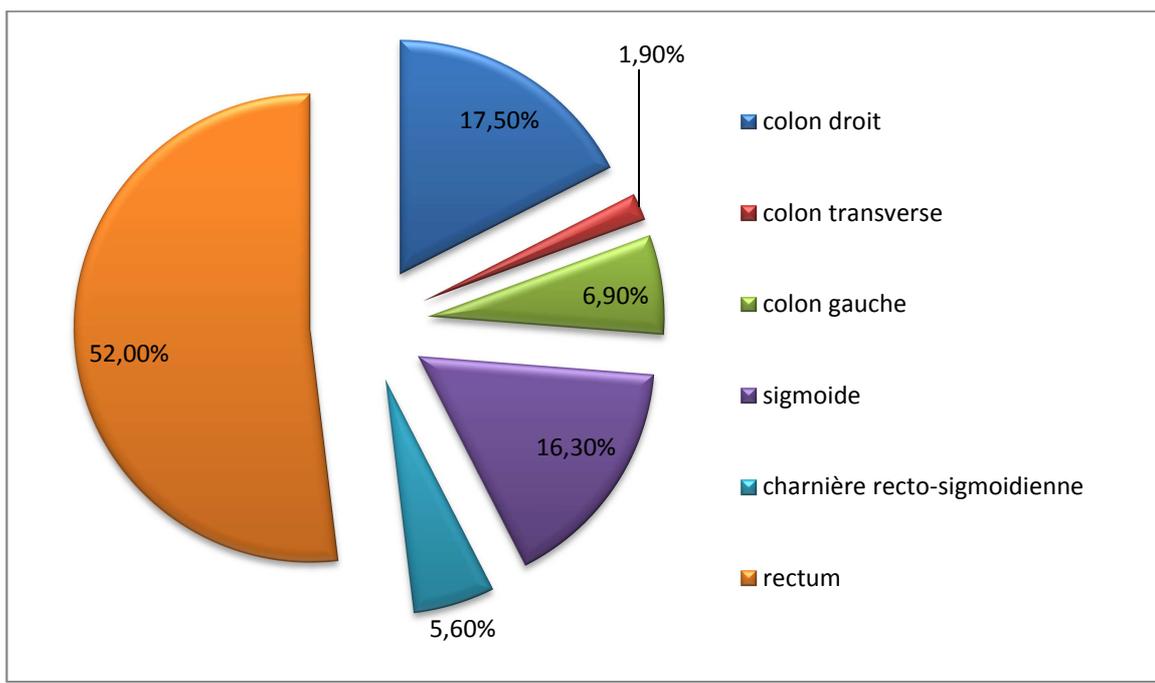
Les âges sont répartis de la manière suivante :



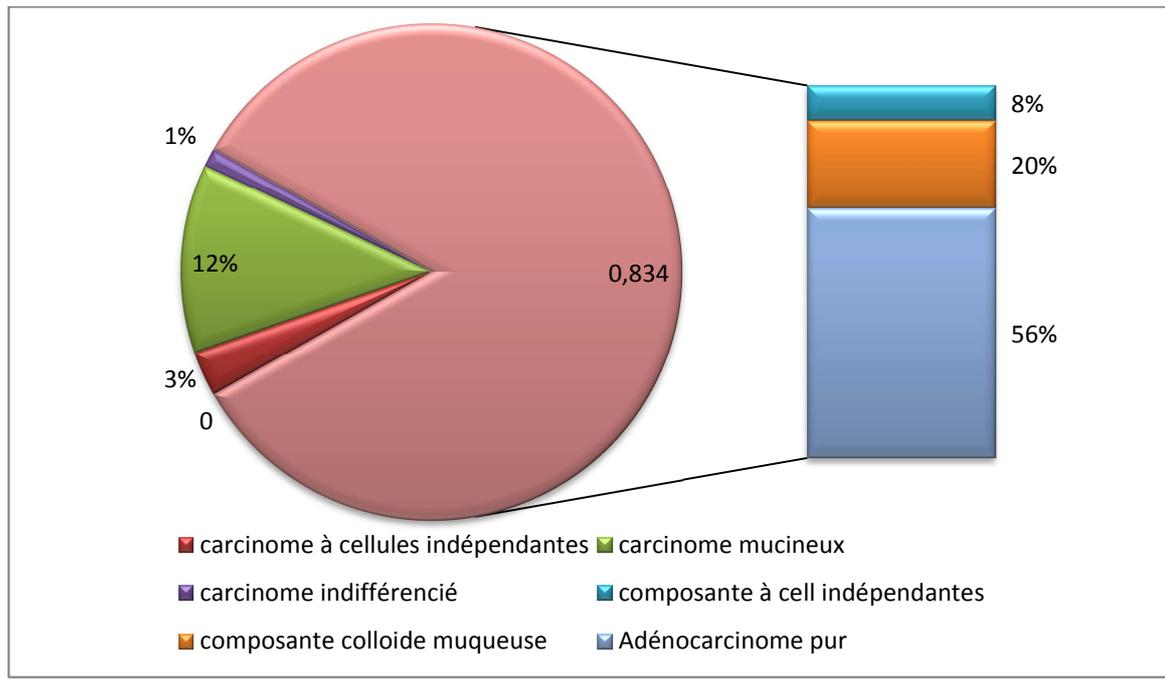
2- Répartition selon le sexe



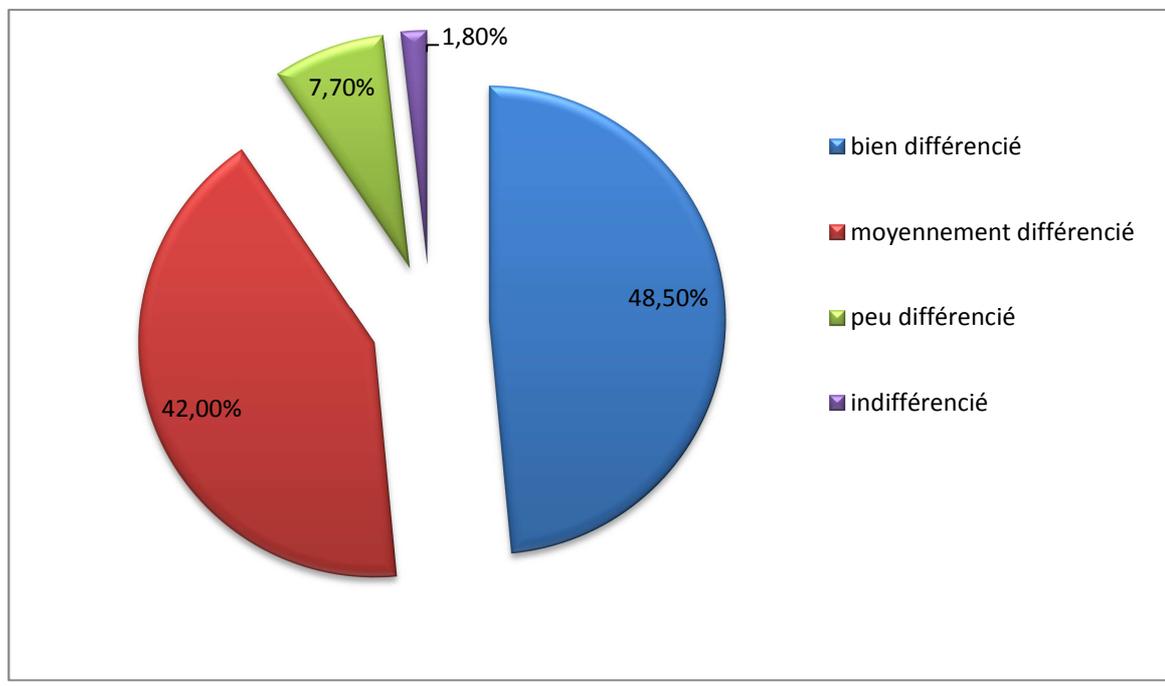
3- Répartition selon le siège



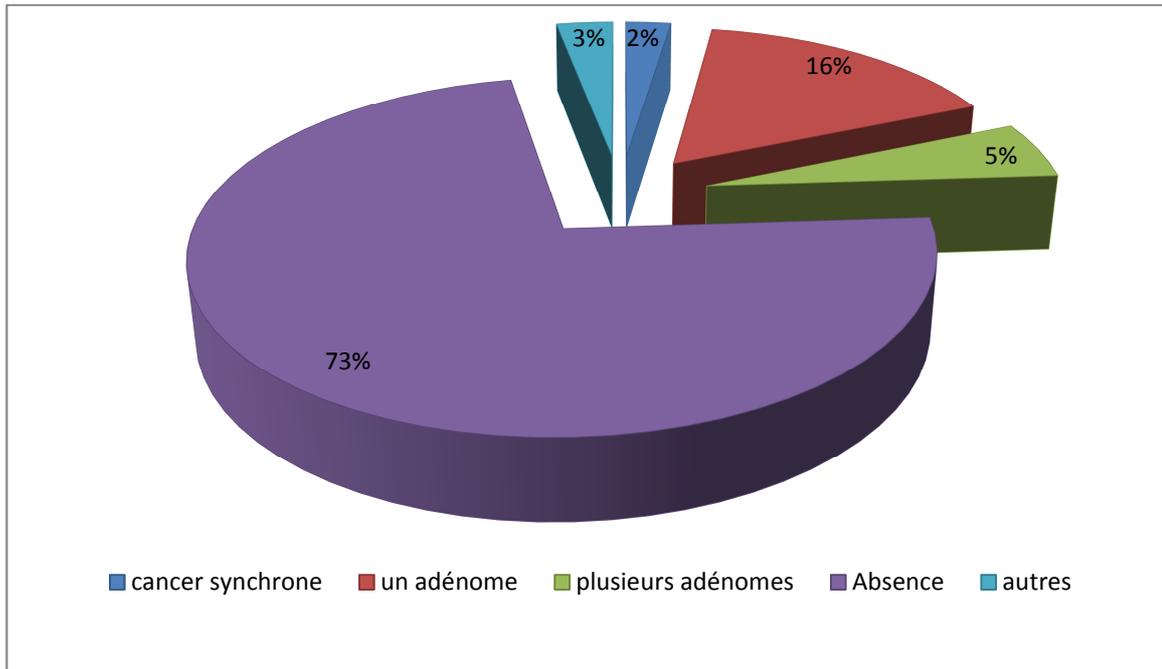
4- Répartition selon le type histologique



5- Répartition selon la différenciation histologique



6- Répartition selon les lésions associées



7- la taille tumorale

La taille tumorale moyenne mesurée sur pièce opératoire est de 5,2 cm. La médiane est de 5cm.

8- Présence d'une perforation tumorale

Une perforation est retrouvée dans 6,2% des cas opérés.

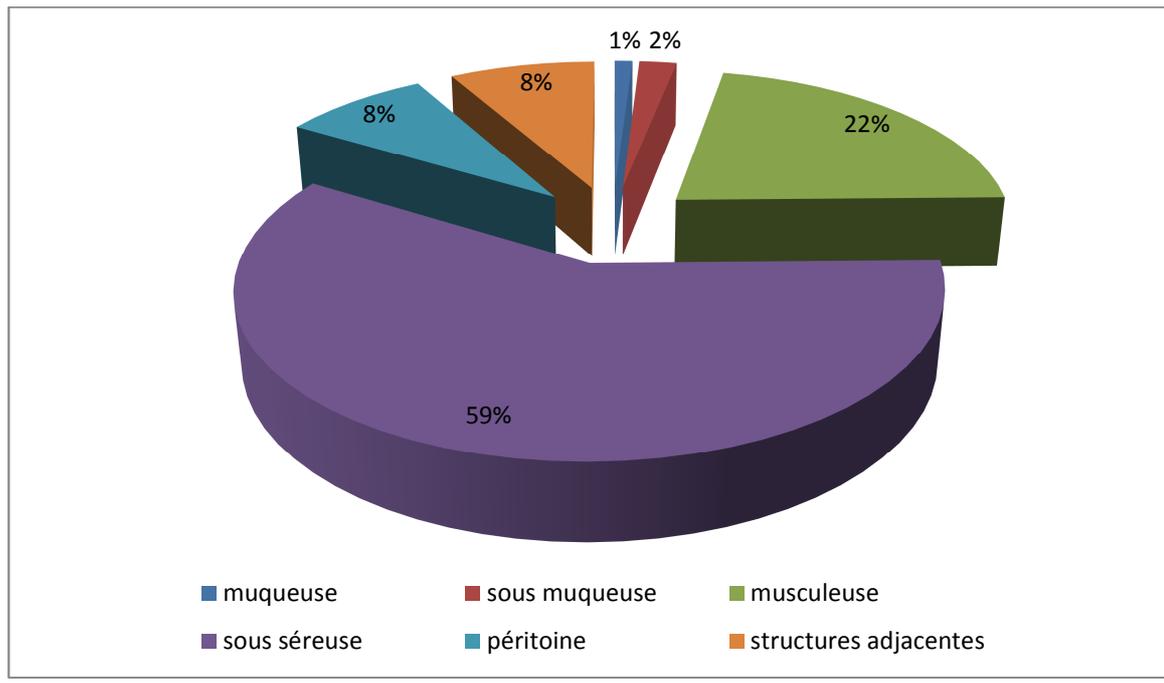
9- Présence d'une obstruction

Une Obstruction est retrouvée dans 57,3% des cas opérés, due au caractère circonférentiel de la tumeur.

10- Présence d'une Dilatation proximale

Elle est retrouvée dans 41,7% des cas opérés.

11 – Répartition selon le niveau d'invasion de la paroi



12 – Extension aux structures adjacentes

Elle est confirmée histologiquement chez 8 cas.

13 – Présence d'une localisation péritonéale

Elle est confirmée histologiquement chez 21 cas.

14 – Présence d'emboles vasculaires

Ils sont retrouvés dans 20,2% des cas analysées.

15 – Présence d'engrainements péri-nerveux

Ils sont retrouvés dans 8,1% des cas analysées.

16 – Nombre de ganglions lymphatiques prélevés

Pour 98 pièces opératoires, la moyenne du nombre de ganglions lymphatiques prélevés est de 17,5.

17 – Présence d'une métastase ganglionnaire

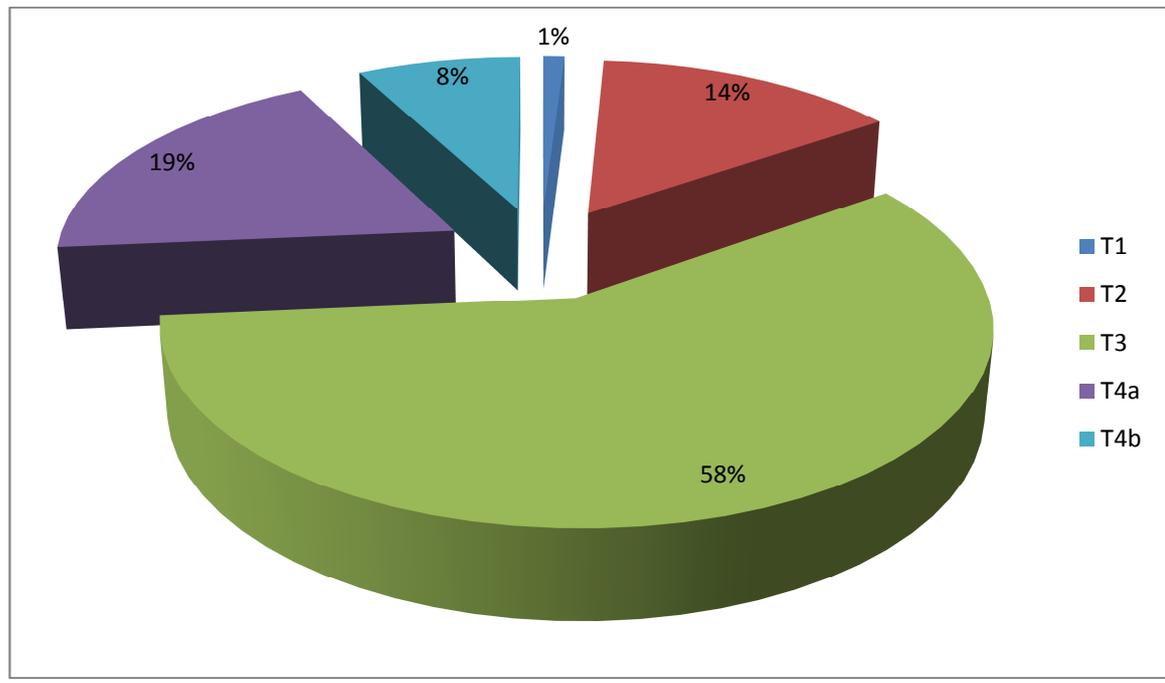
35,7% des 98 cas qui ont bénéficié d'un curage ganglionnaire, présentent une métastase au niveau d'un ou de plusieurs ganglions lymphatiques.

Le nombre moyen des ganglions lymphatiques métastatique est de 1,95

Une effraction capsulaire est retrouvée dans 45,5% des cas pN+

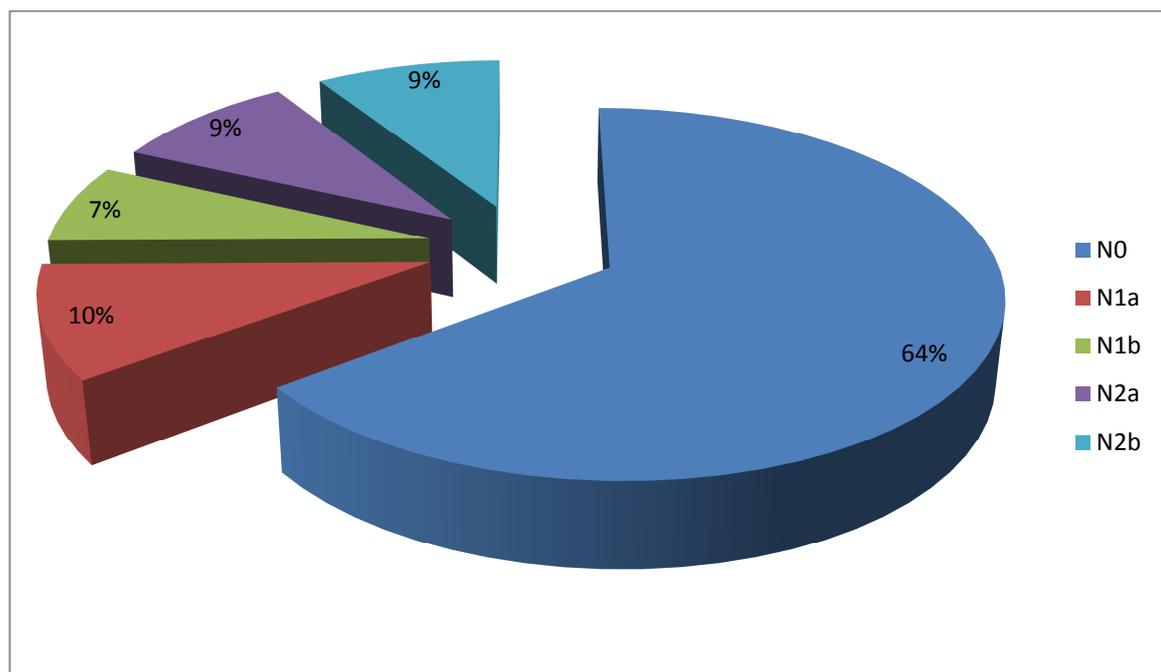
18- Répartition selon le stade p T

Évalué pour les cas opérés sans RCC néo-adjuvante



19- Répartition selon le stade p N

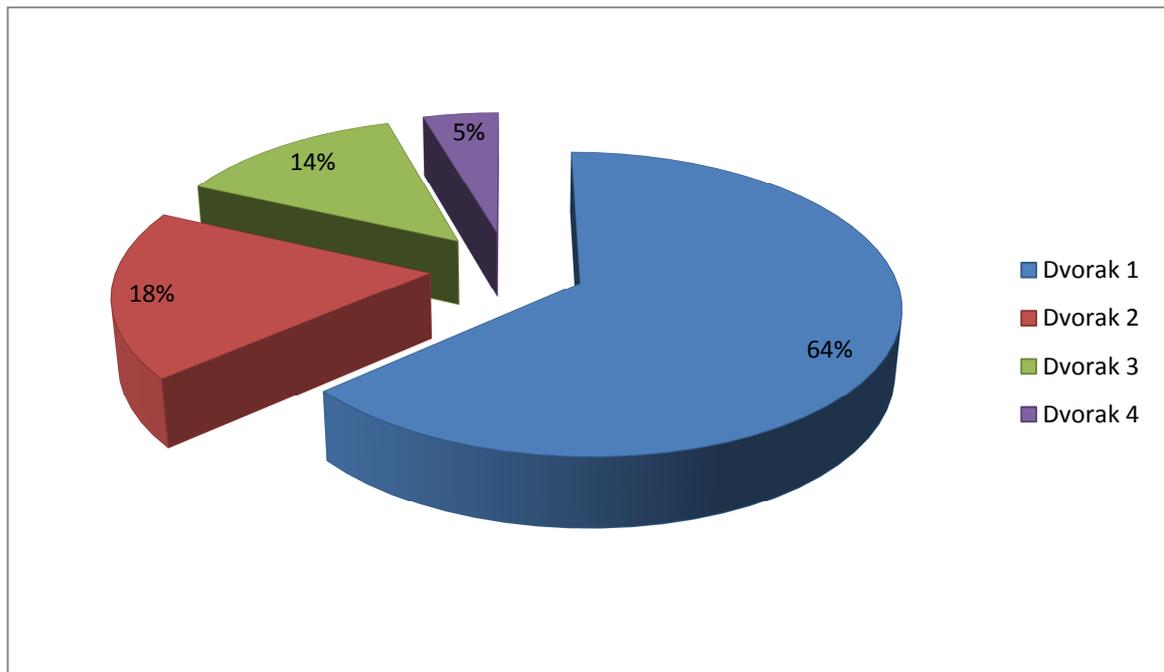
Évalué pour les cas opérés sans RCC néo-adjuvante



20- Evaluation de la réponse à la radio-chimiothérapie néo-adjuvante

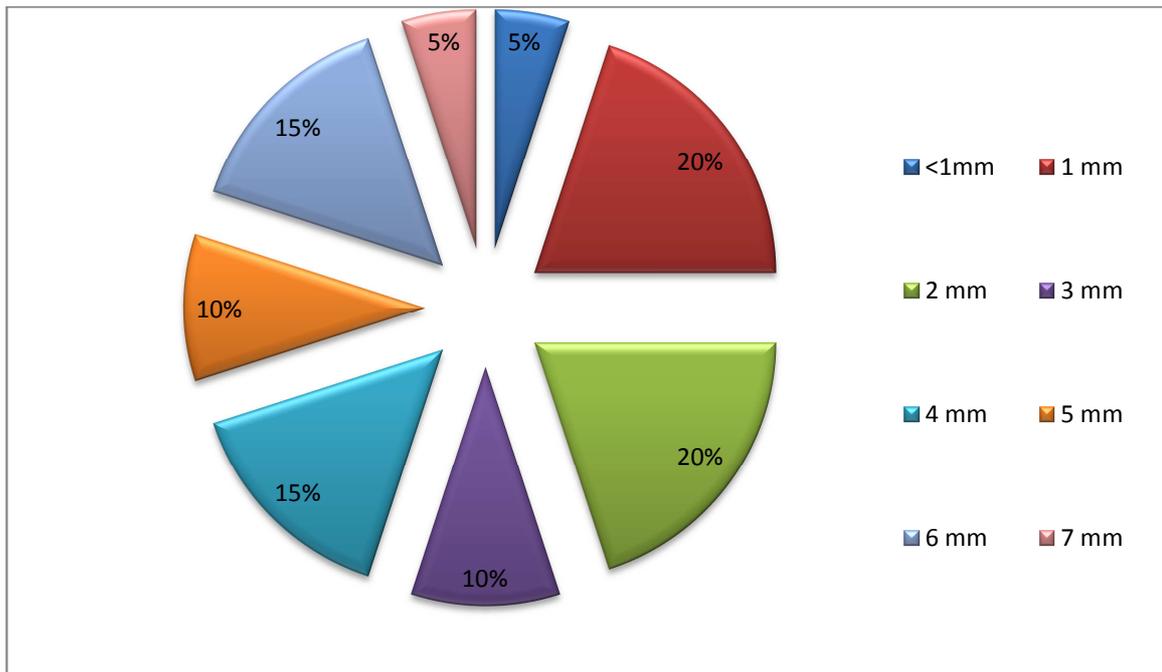
Elle a concerné 22 cas de carcinomes rectaux, et a été évalué selon le grading de Dvorak.

La majorité des cas présentent une mauvaise réponse à la radio-chimiothérapie néo-adjuvante, alors que les réponses complètes sont minoritaires.



21 – Evaluation de la limite tumorale radiaire

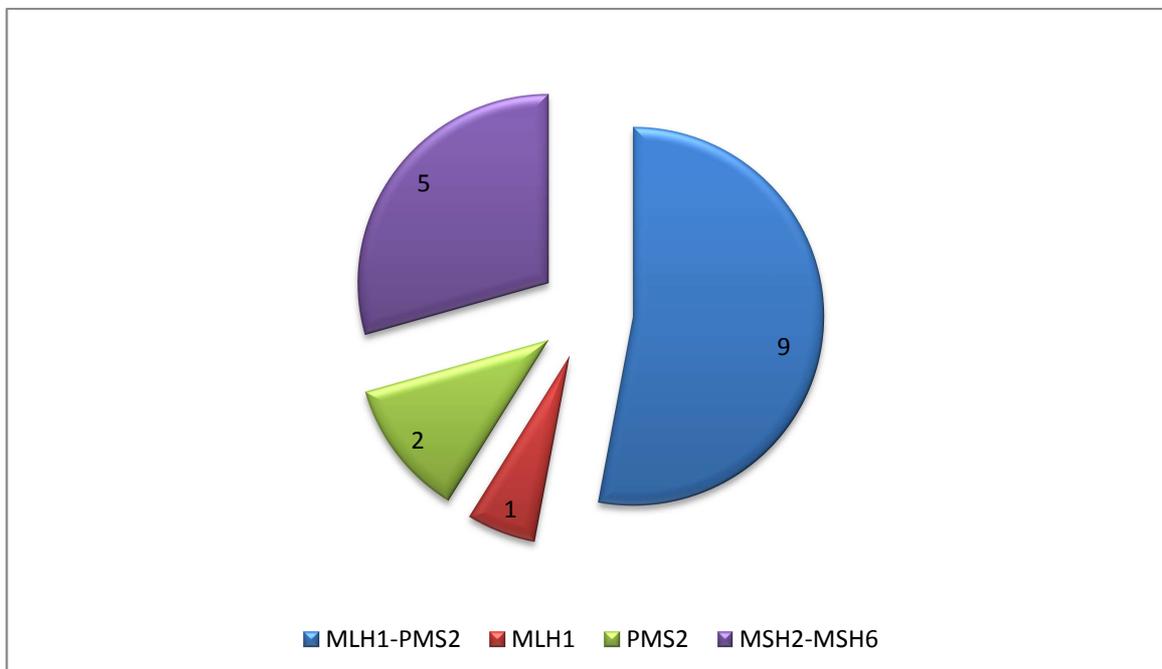
Mesurée histologiquement sur pièce opératoire du rectum



22 – Extinction des protéines MMR à l'IHC

Elle intéresse 17 cas parmi les 140 cas étudiés, ce qui correspond à 12%.

Sa répartition selon la ou les protéines éteintes est la suivante :



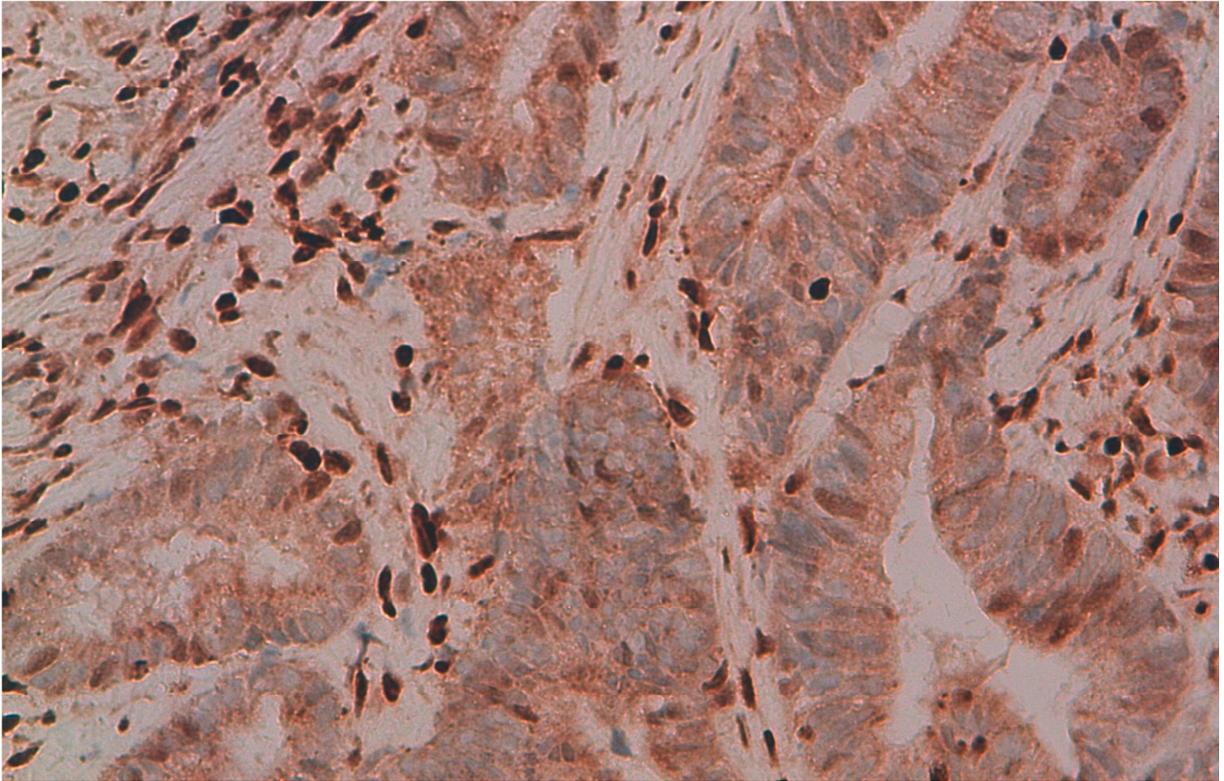


Figure 1 : Perte d'expression au niveau de la tumeur de MLH1 = MSI probable

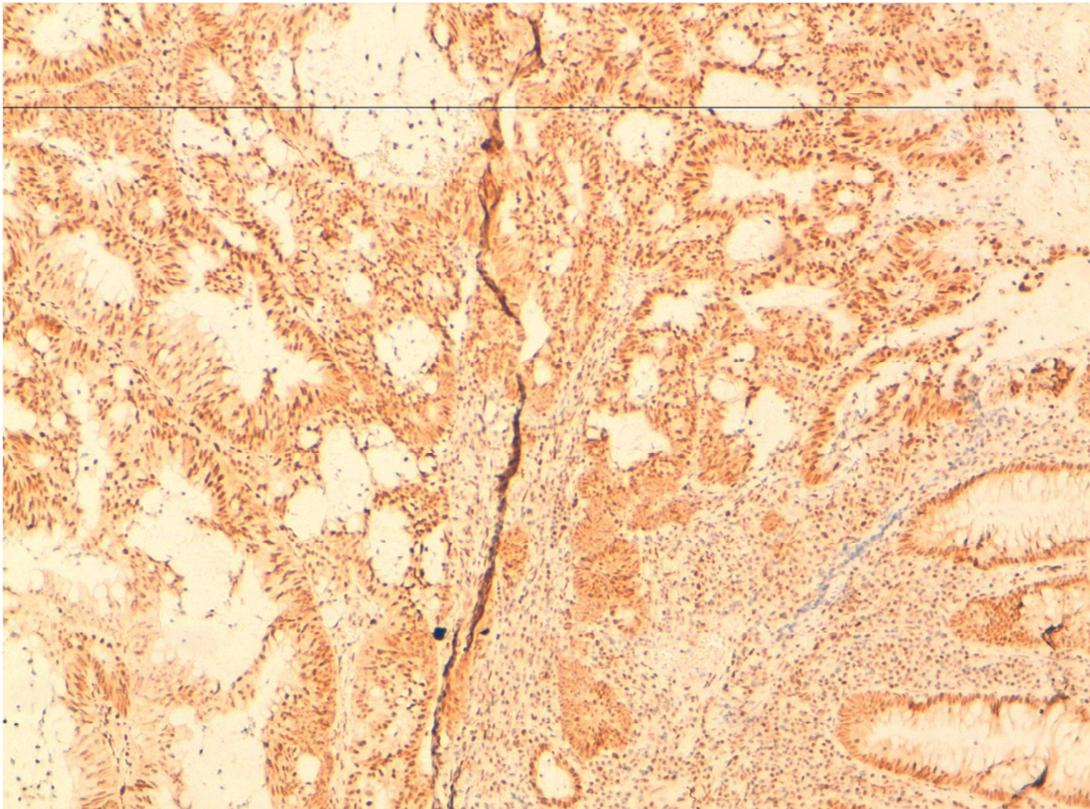


Figure 2 : Conservation de l'expression de MSH2 aussi bien au niveau du tissu sain que de la tumeur

23- Confirmation de l'instabilité des microsattellites

7 cas présentant une extinction des protéines MMR sont confirmés avoir une instabilité micro satellitaire (exp : figure 4).

Elle est en cours pour les autres cas.

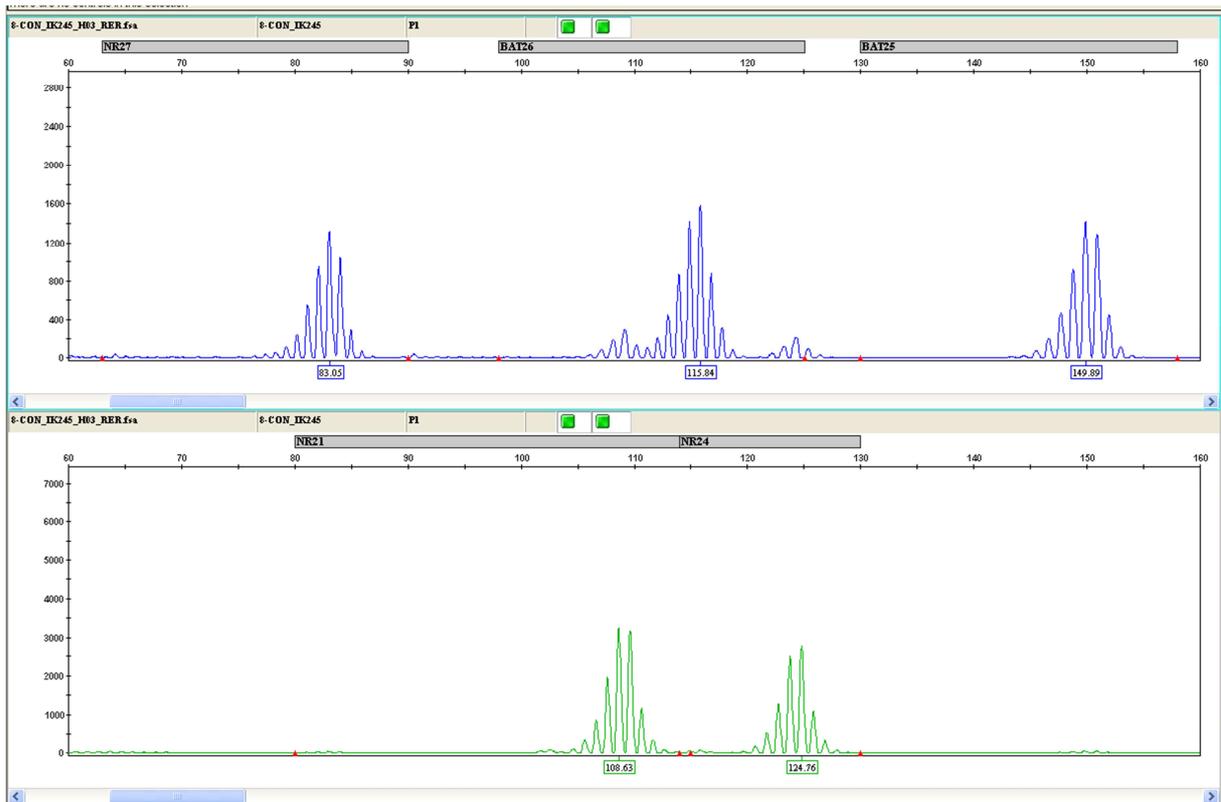


Figure 3 : analyse de fragments d'ADN montrant un profil MSS

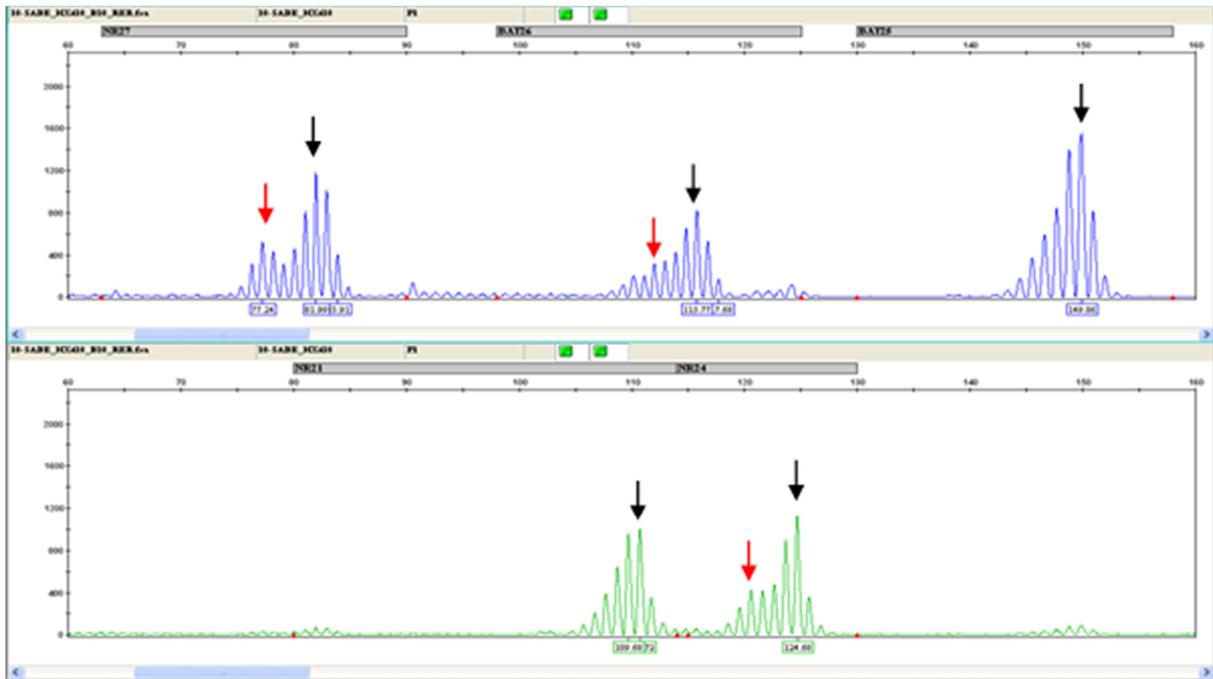


Figure 4 : analyse de fragments d'ADN montrant un profil MSI-H (pic surnuméraire au niveau de 3 marqueurs)

24- Recherche d'un contexte familial

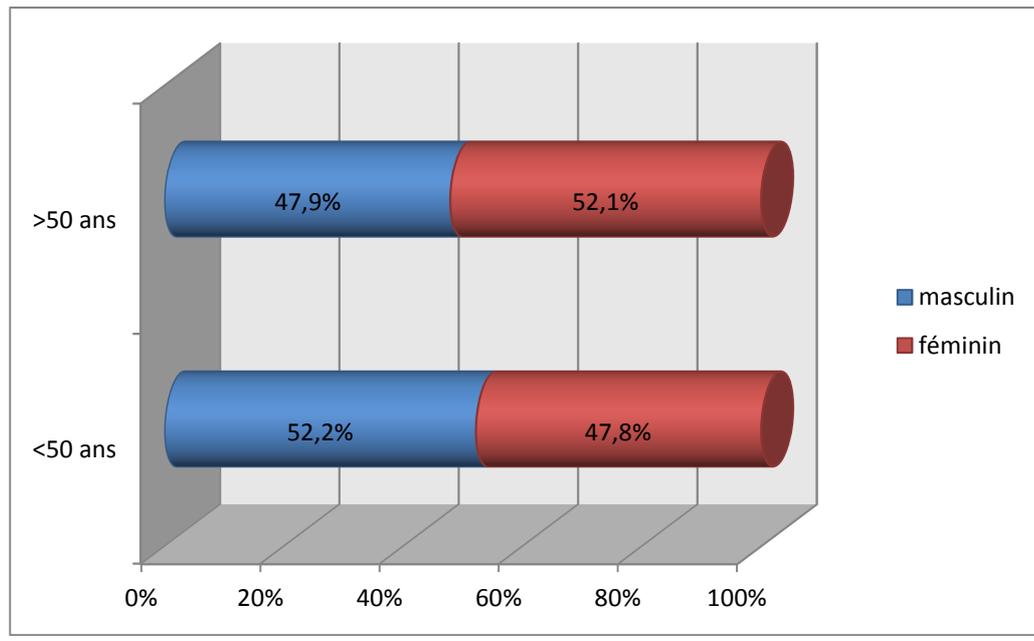
Il est retrouvé chez 3 cas appartenant à 2 familles.

Un cas est porteur d'une mutation du gène MLH1, confirmant le diagnostic de syndrome HNPCC.

III. ETUDE ANALYTIQUE

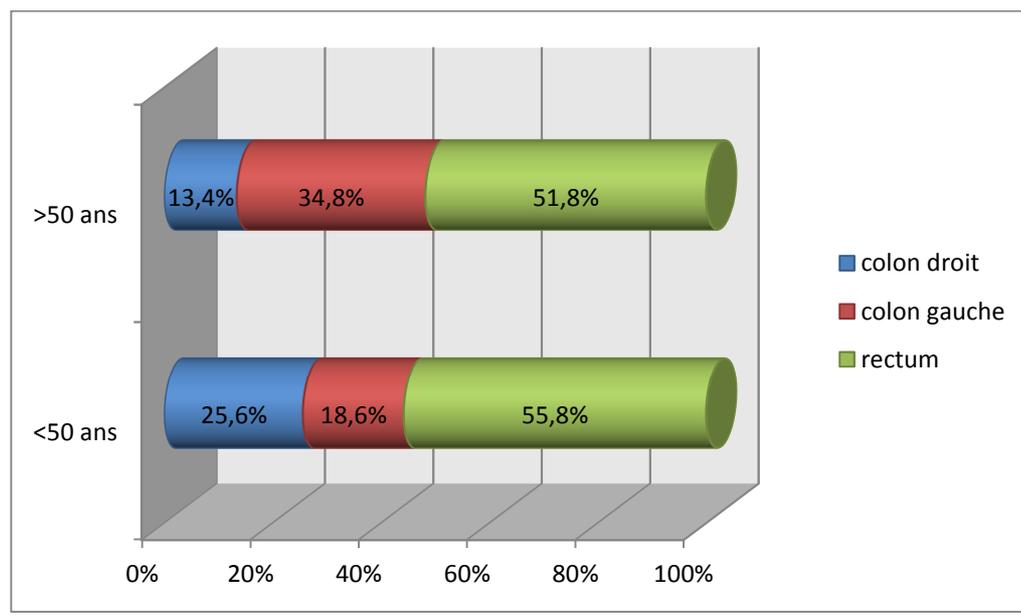
1-Etude comparative de caractéristiques cliniques, histologiques et immuno-histochimiques du CCR chez les patients de moins de 50 ans contre les patients de plus de 50 ans

1-1 Comparaison selon le sexe



p : 0,6

1-2 Comparaison selon la localisation

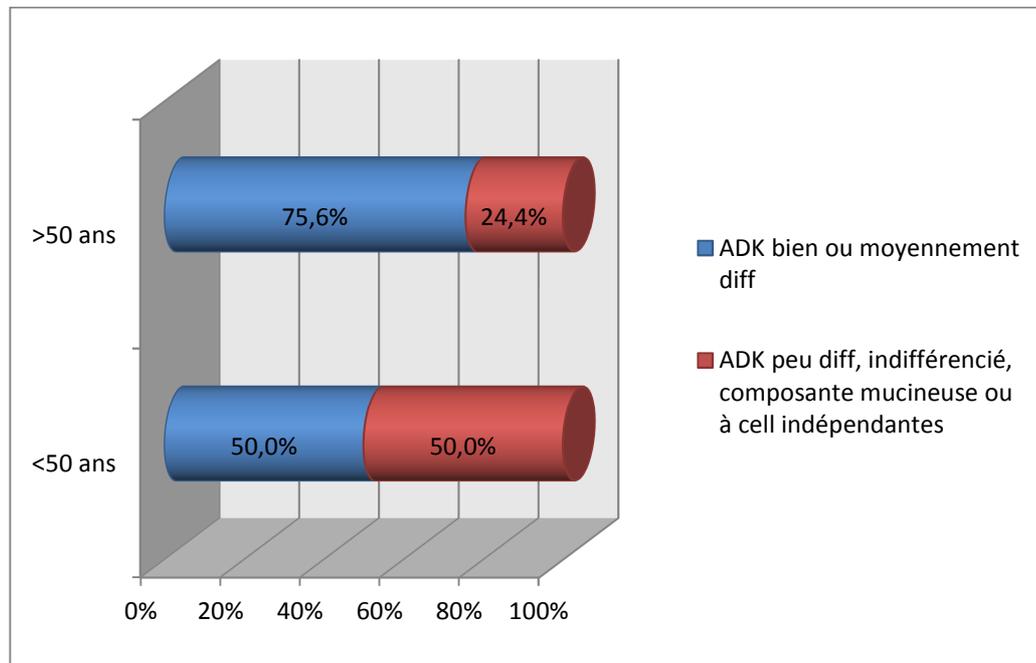


p : 0,063

1-3 Comparaison selon la taille tumorale

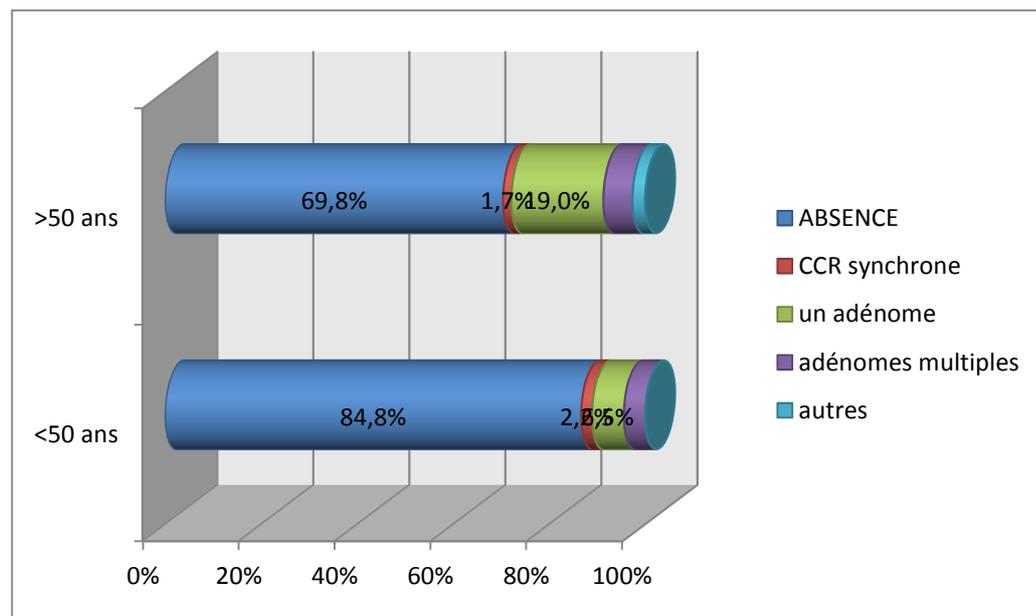
La taille tumorale moyenne pour les Patients <50 ans est de 5,73 cm, contre 5,04 cm pour les patients âgés de >50 ans. Cette différence n'est pas significative avec un $p = 0,31$.

1-4 Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique



$p : 0,001$

1-5 Comparaison selon la présence de lésions associées



$p : 0,29$

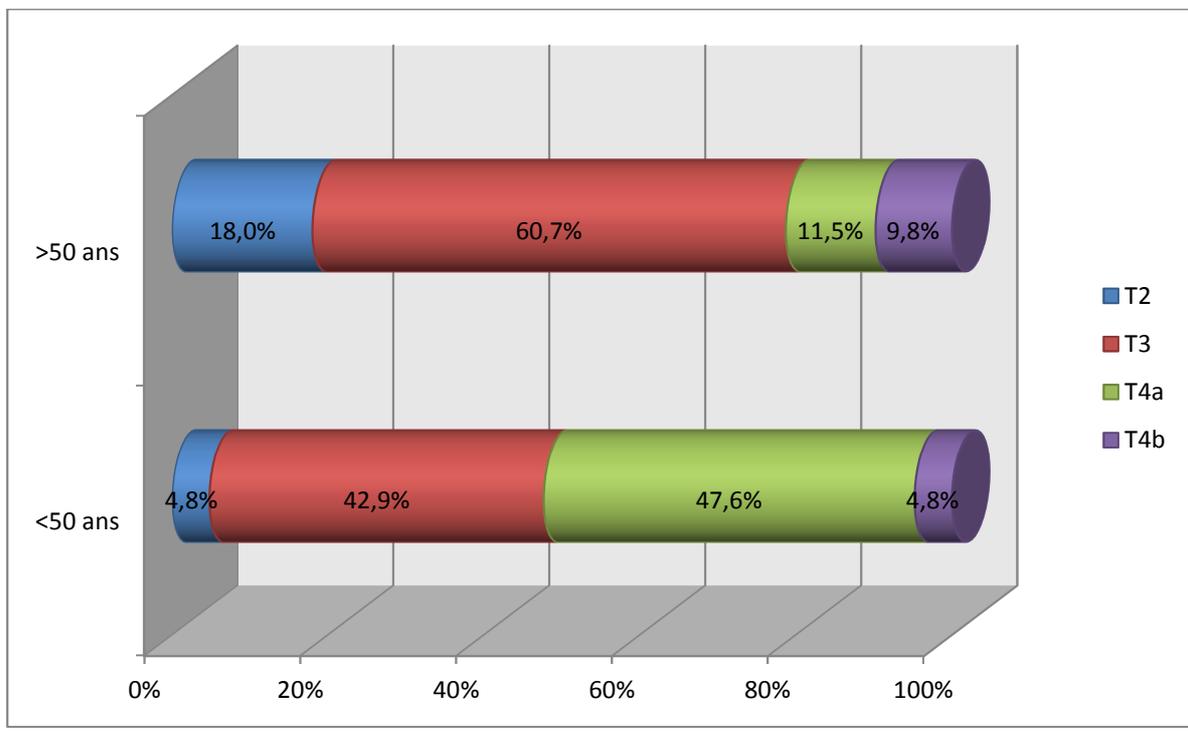
1-6 Comparaison selon la présence d'embolies vasculaires

Les embolies vasculaires ont été retrouvés chez 8,7% des patients de moins de 50 ans, contre 25,4% des patients >50 ans. Cette différence est proche de la significativité avec un $p = 0,09$.

1-7 Comparaison selon la présence d'engainements périnerveux

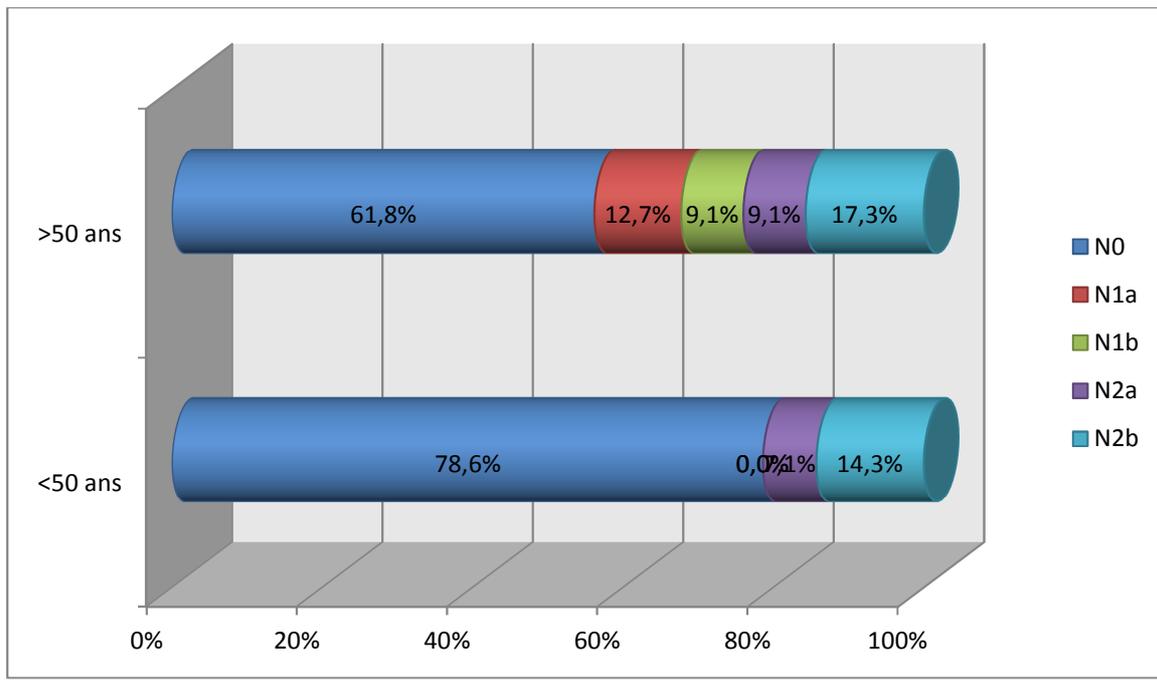
Les engainements péri nerveux ont été retrouvés chez 4,3% des patients de moins de 50 ans, contre 9,9% des patients >50 ans. Cette différence n'est pas significative avec un $p = 0,4$.

1-8 Comparaison selon le stade p T



$p = 0,004$

1-9 Comparaison selon le stade p N



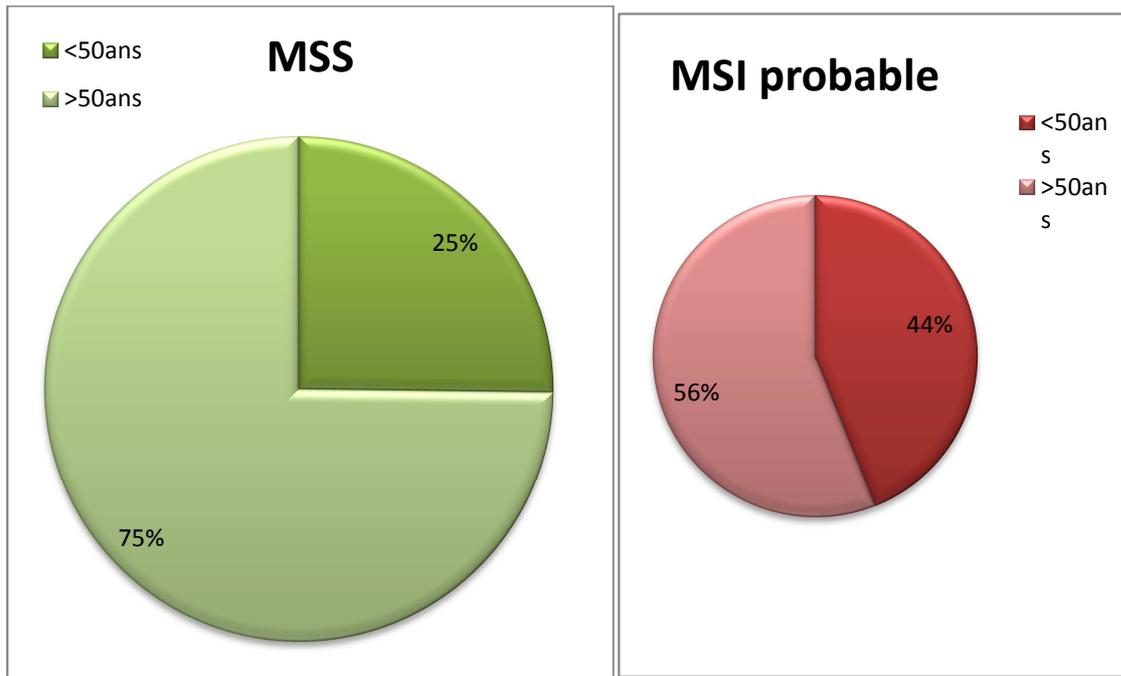
p= 0,37

1-10 Comparaison selon la présence d'effraction capsulaire

Les effractions capsulaires ont été retrouvées chez 62,5% des patients N+ âgés de moins de 50 ans, contre 40% des patients N+ âgés de plus de 50 ans. Cette différence n'est pas significative avec un p = 0,26.

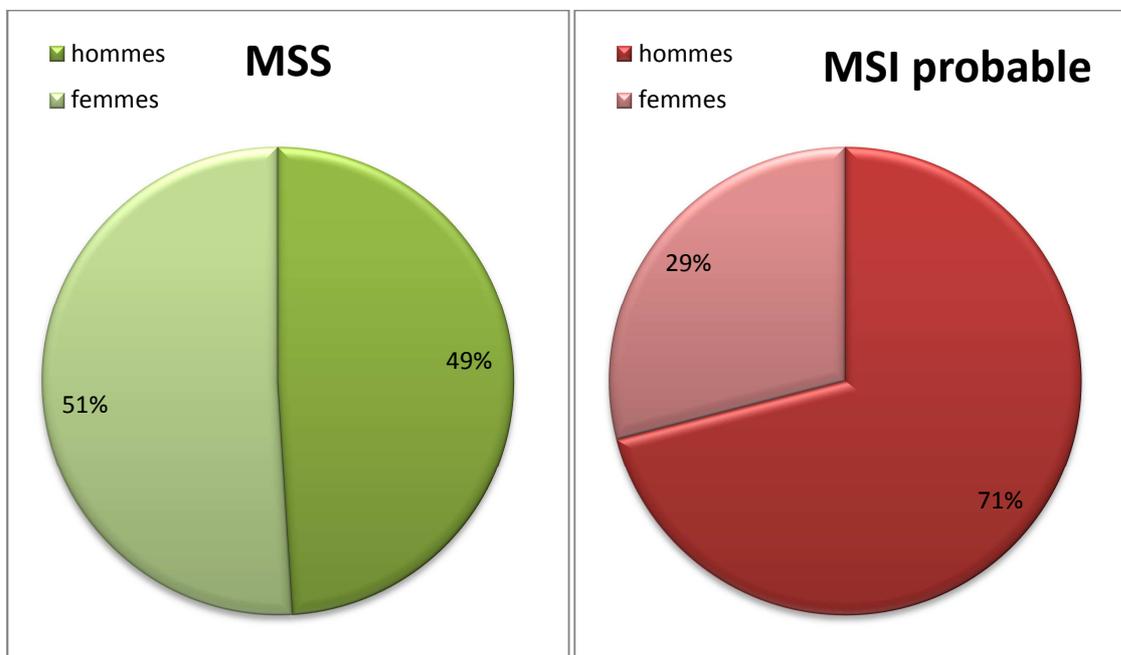
2-Etude comparative de caractéristiques cliniques et histologiques et immunohistochimiques du cancer colorectal avec extinction de protéine(s) MMR par rapport au cancer colorectal avec conservation de protéine(s) MMR

2-1 Comparaison selon l'âge



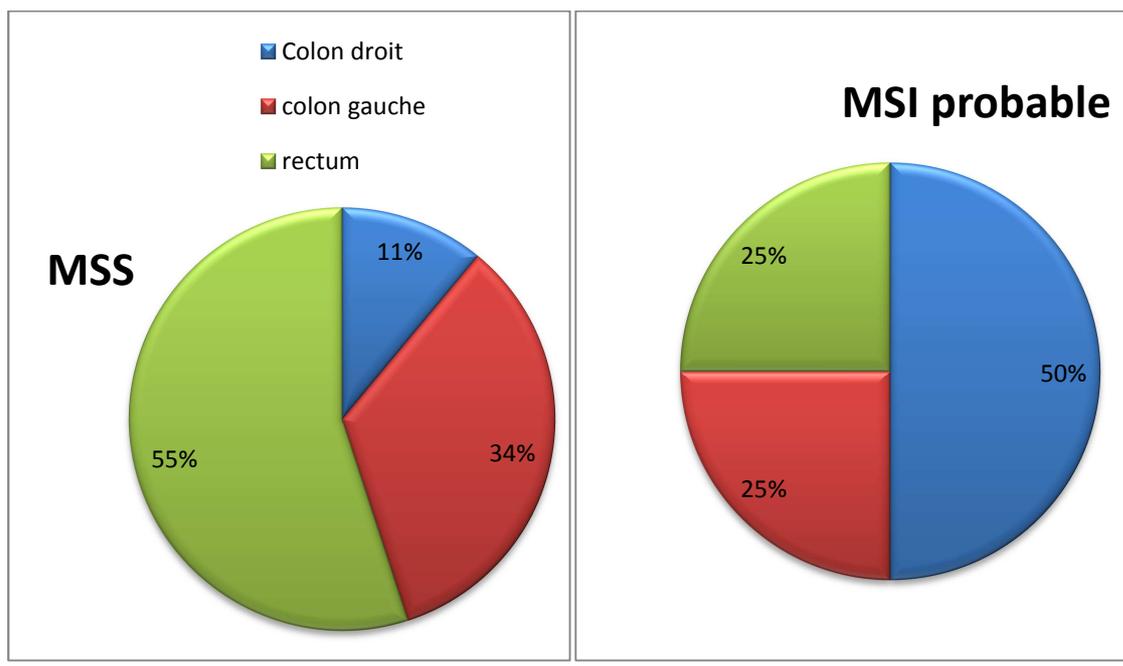
p : 0,11

2-2 Comparaison selon le sexe



p : 0,1

2-3 Comparaison selon la localisation

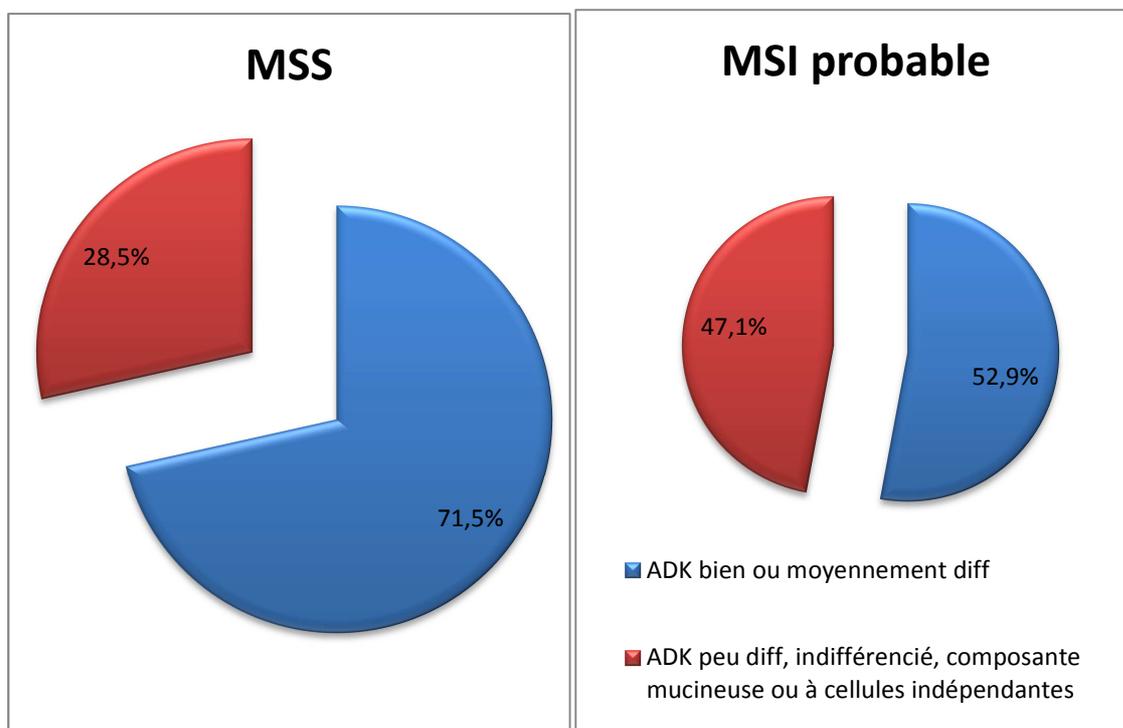


p : 0,000

2-4 Comparaison selon la taille tumorale

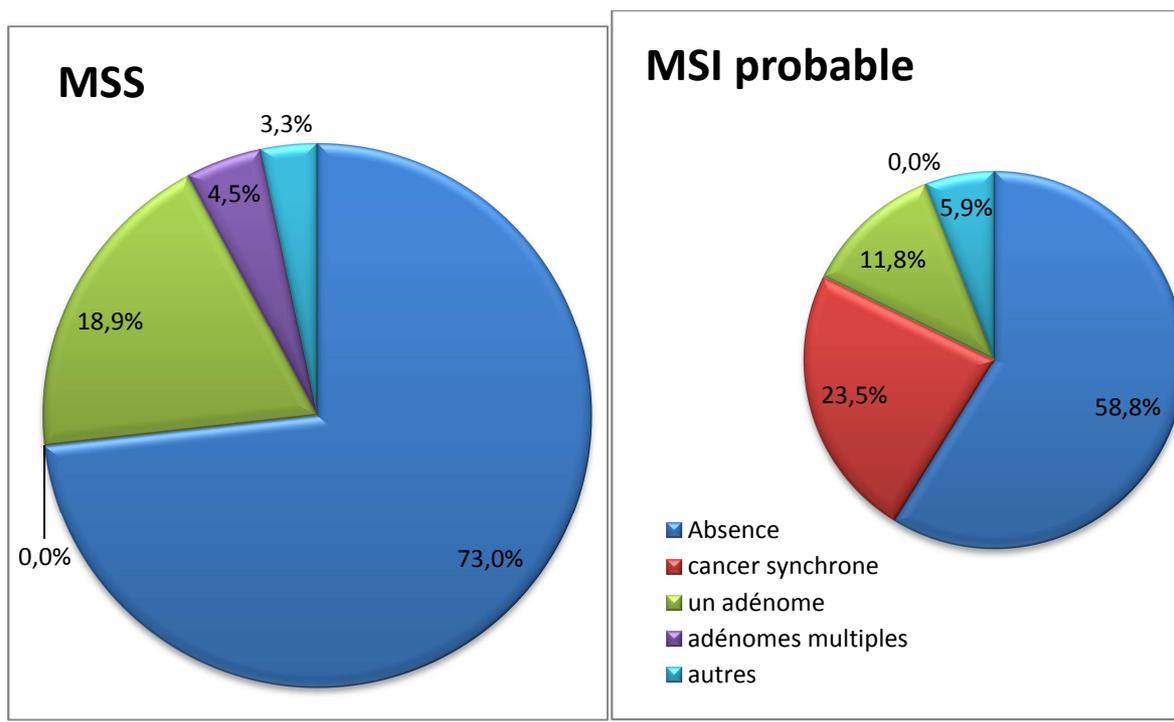
La taille tumorale moyenne pour les cas MSS est de 4,72 cm, contre 7,38 cm pour les cas MSI probable. Cette différence est significative avec un p = 0,02.

2-5 Comparaison selon le type et le degré de différenciation histologique



p : 0,11

2-6 Comparaison selon la présence de lésions associées



p : 0,000

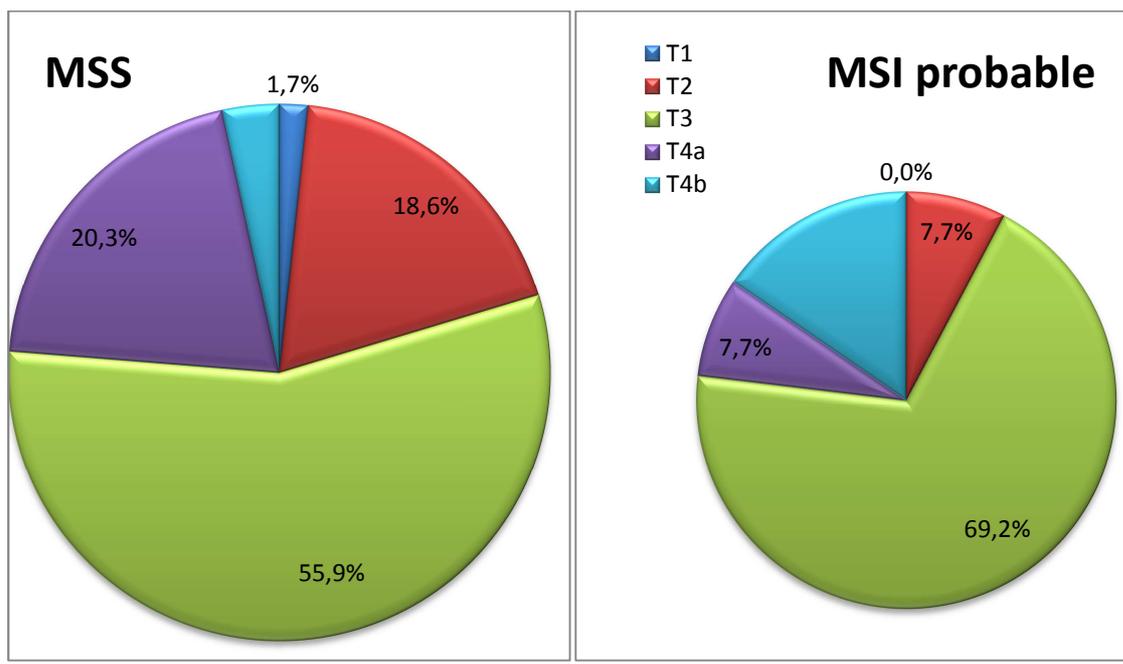
2-7 Comparaison selon la présence d'emboles vasculaires

Les emboles vasculaires ont été retrouvés chez 18,6% des cas MSS contre 16,7% des cas MSI probable. Cette différence n'est pas significative avec un $p = 0,8$.

2-8 Comparaison selon la présence d'engainements périnerveux

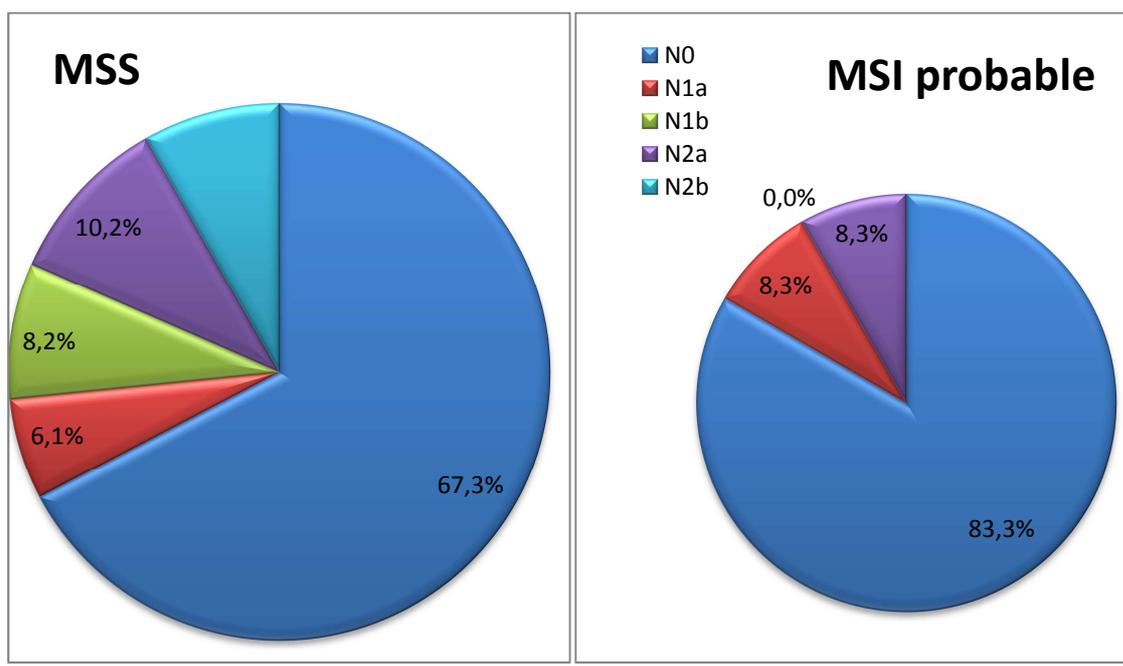
Les engainements périnerveux ont été retrouvés chez 10% des cas MSS, alors qu'ils sont absents dans les cas MSI probable. Cette différence n'est pas significative avec un $p = 0,2$.

2-9 Comparaison selon le stade p T



P= 0,28

2-10 Comparaison selon le stade p N

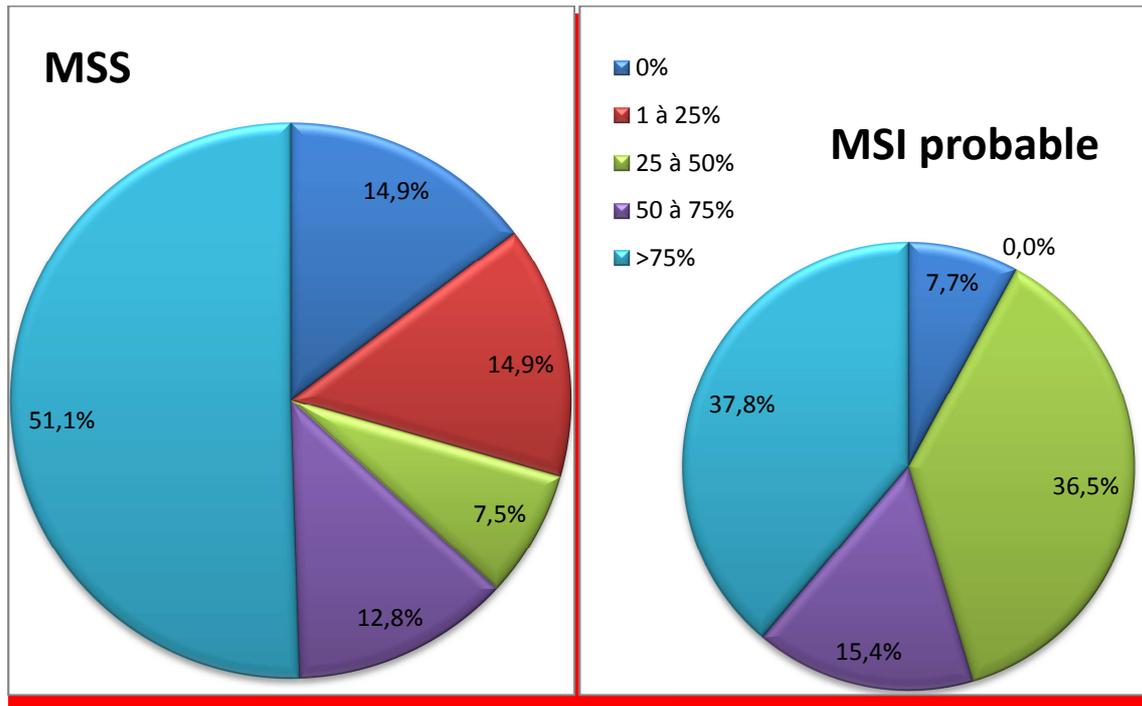


p= 0,6

2-11 Comparaison selon la présence d'effraction capsulaire

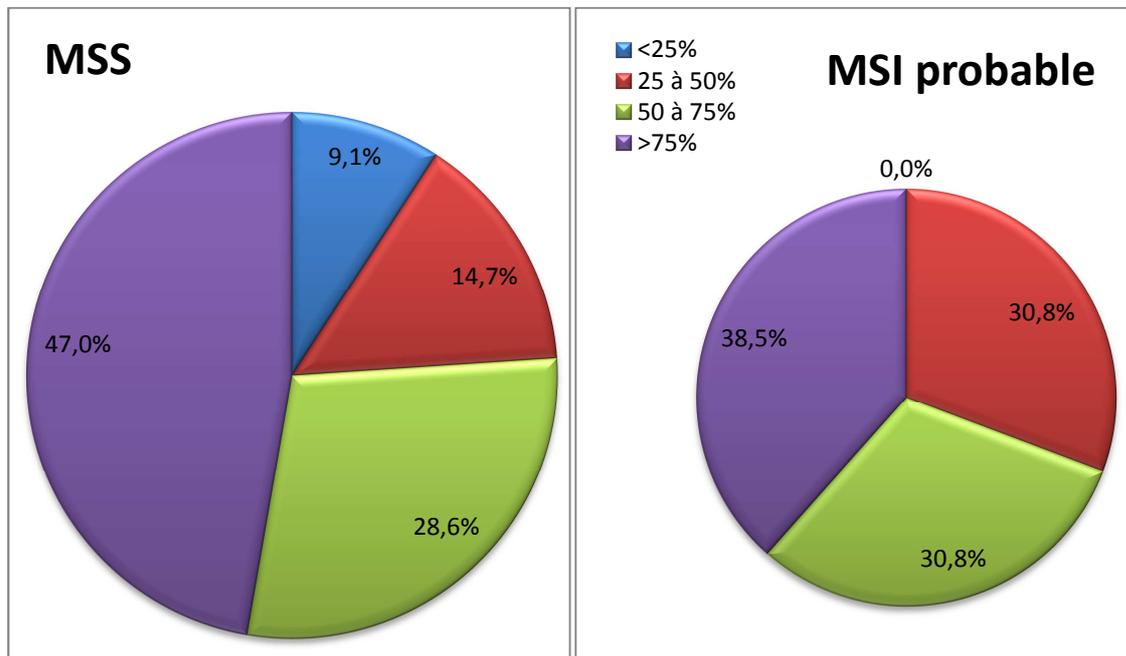
Les effractions capsulaires ont été retrouvées chez 47,8% des cas MSS ayant présenté des métastases ganglionnaires, alors qu'elles sont absentes chez les cas MSI probable N+. Cette différence n'est pas significative avec un p = 0,1.

2-12 Comparaison selon l'expression de la p53



p= 0,048

2-13 Comparaison selon l'expression du Ki67



p= 0,8

DISCUSSION

I. EPIDEMIOLOGIE

1- Distribution et particularités géographiques.

Le cancer colorectal est l'un des cancers les plus fréquents et représente une cause principale de mortalité par cancer.

Dans le monde, les cancers colorectaux occupent, le troisième rang chez les hommes : 10%, (après le cancer du poumon et de la prostate), et le deuxième chez les femmes : 9,4% (après le cancer du sein et du col utérin). Il est, la deuxième cause de décès par cancer dans les pays occidentaux [2]. Leur incidence est très élevée en Europe, en Amérique, en Australie et à la nouvelle Zélande. Elle est moins importante en Afrique et certains pays d'Asie [3]. Des taux intermédiaires sont retrouvés en Europe de l'est, et des taux faibles, en Asie (excepté le Japon) et en Amérique latine. Les taux les plus bas sont signalés en Afrique [4].

Au Maroc l'incidence est mal connue vu l'absence d'un registre national. Cependant il existe 2 registres régionaux, un à rabat et un deuxième à Casablanca. Ce dernier rapporte une incidence du cancer du côlon de 3,8 par 100000 habitants pour les hommes et de 2,6 par 100000 habitants pour les femmes. Ces chiffres sont largement inférieurs aux incidences du cancer colique dans les pays occidentaux puisqu'on rapporte comme exemple aux USA, une incidence de 43,7 par 100000 habitants pour les hommes et de 33,8 par 100000 habitants pour les femmes [11].

Dans une étude rétrospective menée au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU de Fès de 2004 à 2010, les CCR représentent 8,3% de l'ensemble des cancers, et occupant le troisième rang des cancers, en termes de fréquence.

C'est le premier cancer digestif et représente 38,82% des cancers digestifs.

Ils représentent le troisième cancer masculin (8%), et le quatrième cancer chez les femmes (7,79%) [1].

2- Age et sexe

Dans la littérature occidentale, le CCR est rare avant 50 ans (6% des cas) mais son incidence augmente avec l'âge. L'âge moyen au diagnostic est de 69,5 ans chez l'homme et 72,8 chez la femme. Dans notre série, nous avons rapporté un âge médian de 60 ans avec une proportion de sujets jeunes âgés de moins de 50 ans de 27,9% et qui est élevée par rapport à la littérature occidentale. Ce groupe est caractérisé par rapport au groupe de patients >50 ans, par une fréquence plus élevée des formes histologiques peu différenciées ou avec une composante à cellules indépendantes ou mucineuses et des formes étendu au péritoine en l'occurrence les carcinoses péritonéales.

Nous avons aussi constaté des différences proches de la significativités concernant d'autres paramètres. En effet, les sujets de moins de 50 ans présentent plus de localisations coliques droites, moins de localisations coliques gauches et moins d'emboles vasculaires.

A Rabat, la moitié des cas de cancer du côlon survient entre 25 et 54 ans. L'âge moyen des malades est un peu plus élevé chez les femmes (59,5 ans) que chez les hommes (53,6 ans). [5]

Dans notre série, une légère prédominance féminine est notée avec un sex-ratio H/F de 0,92. Alors que dans la littérature, on rapporte en général Une légère prédominance masculine.

3- Localisation

Les registres occidentaux rapportent une incidence du cancer colique plus élevée par rapport au cancer rectal [2]. Ceci n'est pas confirmé dans notre série puisque la localisation rectale représente 52% des CCR.

II. ETIOPATHOGENIE : voies de la cancérogenèse

1 – Séquence adénome – cancer

Les CCR sont dans 70 % des cas des adénocarcinomes dérivant d'adénome [6].

Dans notre série, 16% des CCR sont associés à un adénome, et 5% à des adénomes multiples.

On peut estimer à 9 ans l'intervalle du temps moyen entre le diagnostic d'un adénome macroscopiquement visible et le cancer.

Les facteurs qui influencent cette transformation maligne sont la taille, la présence d'une composante villose et le degré de dysplasie [7].

Les mutations du gène APC semblent suffisantes pour permettre à l'adénome d'atteindre une taille d'un centimètre sans qu'aucune autre mutation additionnelle ne soit requise. Néanmoins, dans une minorité de cas, c'est la mutation du gène β -caténine qui est impliquée sans anomalie du gène APC. Les altérations du gène Tp53 sont observées dans 5 à 26 % des adénomes colorectaux, dans 53 % des adénomes présentant un foyer carcinomateux et dans 70% des carcinomes [8].

Le déséquilibre allélique s'observe dès les stades précoces de la cancérogenèse colorectale : des pertes chromosomiques sont ainsi détectables dans plus de 90% des cas, dès le stade d'adénome précoce (< 3 mm). Il existe un « tempo » dans la survenue de ces pertes alléliques:

La LOH (perte d'hétérozygotie) 5q, survient abruptement à la transition entre l'épithélium colique normal et l'adénome, suivie par la LOH 17p à la transition adénome-CCR, indiquant un rôle essentiel de ces pertes alléliques dans la progression tumorale. Le déséquilibre allélique croît ensuite sensiblement avec le stade tumoral.

Les mutations du gène K-ras qui est précoce dans les étapes de la filière adénome-cancer est plus tardive dans le cas particulier des adénomes plans alors que la mutation du gène Tp53 est plus précoce [9].

L'instabilité des microsatellites a rarement été observée dans les adénomes sporadiques et n'est retrouvée que dans 3% des cas.

L'intérêt d'utiliser le Ki67 [10] dans le cas des lésions colorectales, est essentiellement dans le diagnostic et le grading de la dysplasie. L'antigène Ki 67 est un antigène nucléaire qui est exclusivement exprimé dans les cellules qui sont engagées dans le cycle cellulaire, c'est-à-dire au cours des phases G1, S, G2 ou M, et n'est pas présent dans les cellules en phase G0 ou dans les cellules bloquées. Son expression est maximale en phase S et lors du passage de G2 à M.

L'étude en immunohistochimie s'effectue sur coupes de tissu inclus en paraffine de l'antigène Ki67, reconnu par l'anticorps Mib1.

Le rapport du nombre de cellules tumorales marquées sur le nombre total de cellules exprimé en pourcentage, correspond au coefficient de prolifération au labeling Index.

Le calcul du nombre de cellules marquées peut se faire manuellement, en comptant 1000 à 2000 cellules tumorales, par analyse d'image, ou par estimation globale à l'œil.

Un score supérieur à 10% est considéré comme le meilleur signe immuno-histochimique en faveur de la malignité. Dans notre série, 99% des cas présentaient un score supérieur à 10% avec une prédominance des cas avec un score supérieur à 50% puisqu'ils représentent 84% des cas.

2. CLASSIFICATION MOLECULAIRE

2-1 Instabilité chromosomique (LOH).

Les CCR de type LOH représentent environ 80% des CCR sporadiques et tous les CCR héréditaires développés sur polypose adénomateuse familiale (PAF). Ils sont définis par la perte de chromosome(s) ou de fragments de chromosomes [12]. Le type LOH est caractérisé par une aneuploïdie des cellules, des pertes alléliques fréquentes, des mutations fréquentes des gènes APC (adenomatous polyposis coli), KRAS et TP53, une localisation préférentielle dans le côlon distal et un mauvais pronostic.

Les sites de délétion les plus fréquents :

- Le bras court du chromosome 17 renfermant le gène Tp53 (75 % des cas).
- Le bras long du chromosome 18 renfermant les gènes DCC et SMAD (75 % des cas).
- Le bras long du chromosome 5 renfermant le gène APC (50 % des cas) [13].

En parallèle avec ces pertes alléliques, on retrouve chez 70% des cas des mutations somatiques des gènes APC et Tp53 conduisant à une inactivation bi-allélique de ces gènes.

a- Gène APC (figure 5)

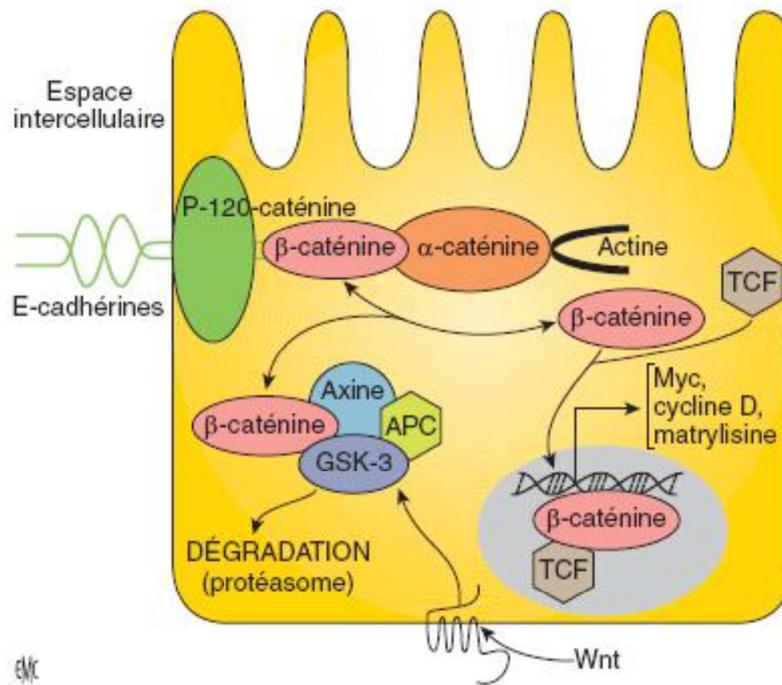


Figure 5 : La voie de carcinogenèse du gène APC.

L'anomalie génétique la plus précoce détectée dans le CCR est souvent une mutation du gène APC (= adenomatous polyposis cancer) qui concerne plus de 80% des CCR sporadiques.

Le gène APC est un gène suppresseur de tumeur localisé au niveau du locus 21 du bras long du chromosome 5(5q21). C'est un gène long contenant 15 exons qui code pour une protéine qui a des fonctions multiples, et qui présente plusieurs domaines de liaison lui permettant d'interagir avec plusieurs molécules [14].

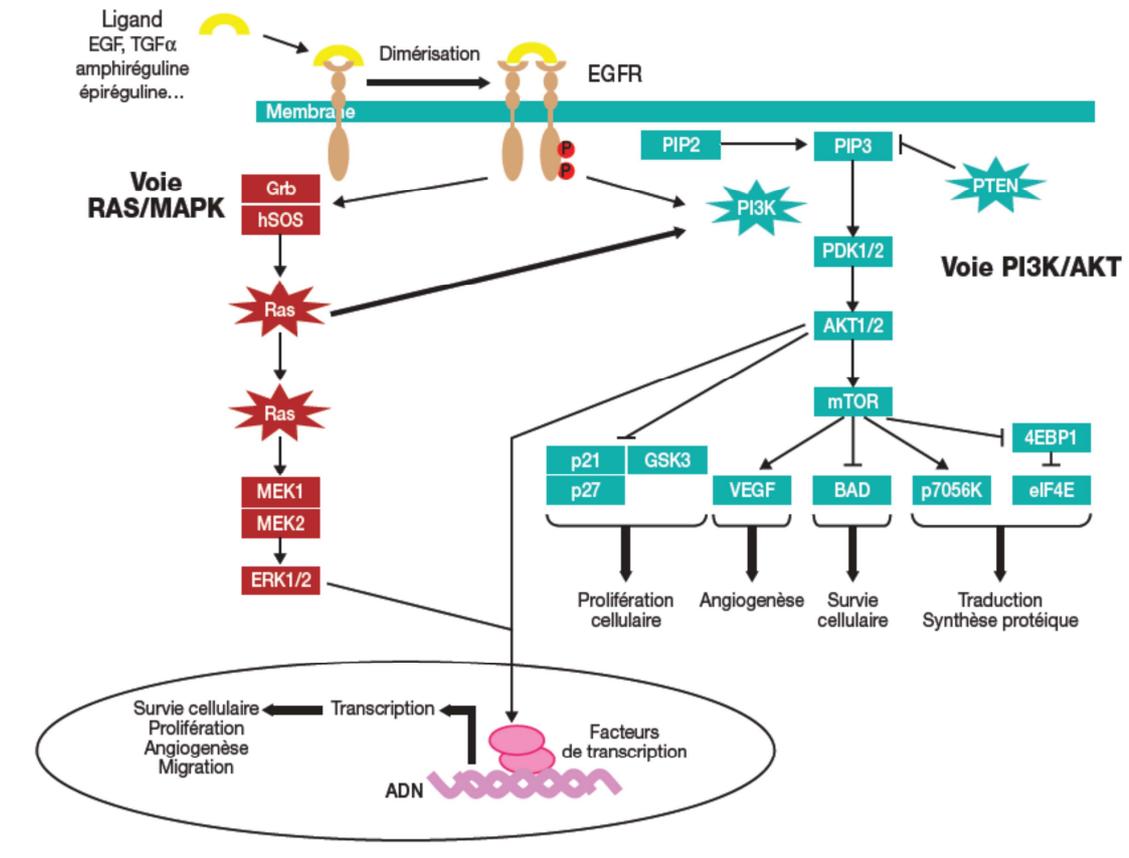
La plupart des mutations somatiques du gène APC siègent dans une région codante située entre les codons 1286 et 1513, conduisant à l'apparition d'un codon stop et à la synthèse d'une protéine tronquée à l'origine de pertes fonctionnelles(14). Or l'une des fonctions de la protéine APC est un contrôle négatif du taux de l'activité de la β Caténine. En l'absence de signal mitotique, la β Catenine

est séquestrée dans un complexe cytoplasmique avec le produit du gène APC, une protéine nommée conductine axine et une sérine thréonine glyco-gène kinase (GSK3 β). Ce complexe permet la phosphorylation et la dégradation de la β Catenine [15].

La β Catenine résiduelle permet l'adhésion intercellulaire en se fixant aux cadhérines.

Lorsqu'un signal mitotique est délivré par l'activation du proto-oncogène WNT, la GSK β est inhibée et la β -Catenine n'est plus dégradée ainsi sa concentration cytoplasmique augmente, se lie alors à des facteurs de transcription comme le facteur de d'activation des lymphocytes(LEF) et le facteur cellulaire T (Tcf) ce qui inhibe l'expression de la E cadhérine [16]; l'inhibition de contact est ainsi diminué favorisant le processus invasif et amplifie en contrepartie la transcription de proto-oncogènes tel que le gène C-myc. Ce dernier active les gènes des cyclines comme la cycline D ce qui permet le passage de la phase G0 à la phase G 1, il agit également sur la transcription des gènes des CDK 4 (cyclines dépendant kinase), les facteurs de transcription E2F et inhibe l'action du gène suppresseur de tumeurs P21 ce qui aboutit à la Phase S du cycle cellulaire.

b- La voie RAS/RAF/MAPK (figure 6)



C'est une voie de signalisation intracellulaire qui intervient dans la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation, de la migration cellulaire et de l'angiogenèse, après une cascade de phosphorylations successives. Les principaux récepteurs de facteurs de croissance capables d'activer cette voie de signalisation sont l'EGFR (ou HER1) (epidermal growth factor receptor) et les autres membres de la famille HER, l'IGFR (insulin-like growth factor receptor) et le PDGFR (platelet derived growth factor receptor). L'EGFR est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, présent au niveau de la plupart des cellules épithéliales. L'activation de l'EGFR intervient dans la prolifération, la migration cellulaire, l'angiogenèse et l'inhibition de l'apoptose.

L'EGFR comprend trois domaines :

- un domaine extra-cellulaire auquel se lient des ligands spécifiques tels que l'EGF et TGF α (transforming growth factor α), mais aussi l'amphiréguline, l'épiréguline, la β -celluline, HB-EGF et les neurorégulines [17]
- un domaine transmembranaire hydrophobe qui est impliqué dans les interactions entre les récepteurs cellulaires de surface.
- un domaine intracellulaire doté de l'activité tyrosine kinase. La fixation du ligand sur le récepteur aboutit, après homo- ou hétérodimérisation, à une autophosphorylation au niveau de résidus tyrosine spécifiques situés sur son domaine intracellulaire. Ces résidus phosphorylés servent ensuite de point d'ancrage à des protéines intracellulaires à domaine SH2 qui jouent un rôle central dans la transmission de voies de signalisation.

Les deux principales voies de signalisation sont :

- la voie des MAP (mitogen-activated protein) kinases, à laquelle appartiennent les protéines KRAS et BRAF qui intervient dans la prolifération cellulaire
- et la voie PI3K (phosphoinositide 3-kinase)/PTEN (phosphatase protein homolog to tensin)/AKT qui intervient dans la survie et la motilité cellulaires.

L'EGFR est surexprimé dans 30 à 80 % des CCR sporadiques [18]. Plusieurs mécanismes sont impliqués :

- une augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule, par augmentation de la transcription ou stabilité accrue de la protéine.
- une amplification du gène de l'EGFR.
- une augmentation de la quantité de ligands de l'EGFR, en particulier le TGF α , responsable d'une boucle autocrine d'activation continue de l'EGFR [19].

En revanche, les mutations du gène EGFR au niveau du domaine extracellulaire ou du domaine tyrosine kinase intracellulaire sont un événement rare dans les CCR, contrairement à ce qui est observé dans les cancers broncho-pulmonaires.

La voie de signalisation RAS/MAPK est anormalement activée dans de nombreux cancers, en particulier le CCR. Les mécanismes d'activation de cette voie sont essentiellement l'activation de récepteurs membranaires tels que l'EGFR et les mutations des proto-oncogènes KRAS et BRAF, qui constituent des cibles thérapeutiques potentiellement intéressantes.

Le gène KRAS, situé sur le chromosome 12 (12p12) code pour une protéine G monomérique activée par l'EGFR. Il intervient, entre autres, dans le contrôle du cycle cellulaire et l'organisation du cytosquelette. En cas de mutation activatrice du gène, la protéine est activée en permanence, en l'absence de facteur de croissance. Cette prolifération incontrôlée contribue à la dérégulation cellulaire. Les mutations du proto-oncogène KRAS sont observées dans environ 40 % des CCR sporadiques et sont parmi les altérations génétiques les plus précoces au cours de la cancérogenèse colorectale. En effet, elles sont observées, dans 80% des cas, dès le premier stade morphologique de transformation de l'épithélium colique, dans les cryptes aberrantes non dysplasiques.

Dans notre étude, la recherche de la mutation du gène K-ras est en cours

.

L'oncogène BRAF appartient à la famille des gènes RAF et participe à la voie de signalisation des MAP kinases. La mutation de BRAF, mutuellement exclusive de celle de KRAS, est présente dans environ 10 % des CCR sporadiques.

L'autre grande voie de signalisation intracellulaire pouvant être activée par l'EGFR est la voie PI3K/AKT. Cette voie peut être activée, soit directement par activation de l'EGFR, soit par l'intermédiaire de la protéine KRAS. Cette voie est normalement contrebalancée par la fonction proapoptotique de PTEN.

c- Gène P53

Les mutations du gène p53 sont clairement impliqués dans la séquence adénome–cancer et surviennent tardivement mais probablement avant l'apparition des métastases. Les mutations du gène p53 marquent la transition de l'adénome au cancer et sont détectés dans plus de 50% des CCR sporadiques [20].

Ce gène suppresseur de tumeur, est le chef de file dans le contrôle du cycle cellulaire. Il code pour une protéine régulant de façon négative le cycle cellulaire et de façon positive l'apoptose. En effet, la survenue d'une altération de l'ADN dans une cellule en cycle stabilise la protéine p53 qui arrête les cellules au checkpoint de la phase G1 par l'activation de protéines p21 qui est un inhibiteur du couple cycline–CDK. Cet arrêt permet la réparation de l'ADN avant la phase S. Toutefois, si les altérations sont trop importantes pour être réparées, la p53 induit l'apoptose par la transcription de gènes comme le gène BAX (Bcl–2 associated X protein) [21].

A l'état normal le gène p53 code pour une protéine p53 dite sauvage qui a une demi–vie très brève et ne peut être détectée en immunohistochimie. En cas de mutation du gène p53, la protéine p53 a une demi–vie plus longue et devient détectable par immunohistochimie : la protéine est surexprimée.

L'expression immuno–histochimique de la p53 est un marqueur de dysplasie et son interprétation repose sur deux variables :

- la localisation de l'immunomarquage : limité au 1/3 inférieur des cryptes, intéressant les 2/3 ou la totalité de la hauteur cryptique.
- l'intensité : faible, modérée ou importante.

L'intensité du marquage est corrélé au degré de dysplasie, elle est importante dans les dysplasies de haut grade.

Dans notre série, la p53 est surexprimé dans 86% des cas étudiés. $\frac{3}{4}$ des cas présentant une surexpression montrent un marquage de plus de 50% des cellules tumorales.

Les séries, qui ont comparé les résultats obtenus en immunohistochimie et par analyse de l'ADN montrent qu'il n'existe pas de parallélisme strict entre la présence et l'absence d'une mutation sur le gène et la présence ou l'absence de l'expression nucléaire de p53 des cellules tumorales avec des taux de concordance entre les deux méthodes variant entre 53 % et 74 %.

Cependant, l'immunohistochimie a l'avantage d'être rapide, facilement utilisable en routine et la combinaison de l'immunohistochimie et les méthodes de biologie moléculaire notamment l'analyse de l'ADN par PCR –séquençage de l'ADN représente un outil intéressant car c'est le seul moyen de prouver que la mutation de p53 qui est fréquemment située dans les exons 5 à 8 affecte le taux de la protéine.

2-2 Instabilité génomique ou micro satellitaire MSI+:

Le système de réparation des mésappariements des bases (système MMR pour mismatch repair) reconnaît et répare les erreurs produites par l'ADN polymérase lors de la réplication de l'ADN grâce aux protéines MSH2 (16 exons, situé en 2p22-21), MSH3, MSH6 (10 exons, situé en 2p16), MLH1(19 exons, situé en 3p21), MLH3, PMS1 et PMS2 qui fonctionnent sous la forme d'hétérodimères.

La reconnaissance des mésappariements des bases et des insertions/délétions d'un ou de plusieurs nucléotides fait intervenir MSH2, qui réalise un hétérodimère avec MSH6 ou MSH3. Les mésappariements ne touchant qu'une seule base sont plutôt réparés par le complexe MSH2/MSH6 (appelé MutS α), tandis que la réparation

d'insertions/délétions de plus grande taille (de 2 à 8 bases) fait plutôt intervenir le complexe MSH2/MSH3 (MutS β). La reconnaissance des mésappariements est assurée principalement par MutS α , qui est présent à des taux plus importants que MutS β . Les erreurs de type insertion/délétion d'un seul nucléotide font intervenir les complexes MSH2/MSH3 et MSH2/MSH6, qui sont alors redondants. Cette redondance partielle de MSH3 et de MSH6 sur la réparation des erreurs de type insertion/délétion a des conséquences sur l'instabilité de microsatellites, l'un des traits phénotypiques clé des tumeurs MMR déficientes. En effet, alors que les tumeurs MSH2-déficientes présentent invariablement un phénotype MSI en raison de l'inactivation des deux hétérodimères, le degré d'instabilité de microsatellites dans les tumeurs MSH6-déficientes peut varier, car l'hétérodimère MSH2/MSH3 compense partiellement la perte de fonction de l'hétérodimère MSH2/MSH6 pour la réparation des erreurs de type insertion/délétion. Une déficience en MSH2 a pour conséquence une dégradation protéolytique à la fois de MSH3 et de MSH6, tandis que MSH2 reste stable en l'absence de l'un de ses partenaires [22].

MLH1 est capable de former des hétérodimères avec PMS2, PMS1 ou MLH3. C'est le complexe MutL α , formé par MLH1 et PMS2 qui est le composant majeur du système MMR capable d'interagir avec les deux types de complexes contenant MSH2, MutS α et MutS β .

L'hétéro dimère MLH1/MLH3 pourrait être impliqué dans la réparation de certaines boucles insertions/délétions, en concert avec MutS β (MSH2/MSH3). Les différents complexes MMR sont représentés dans la figure 7 [22].

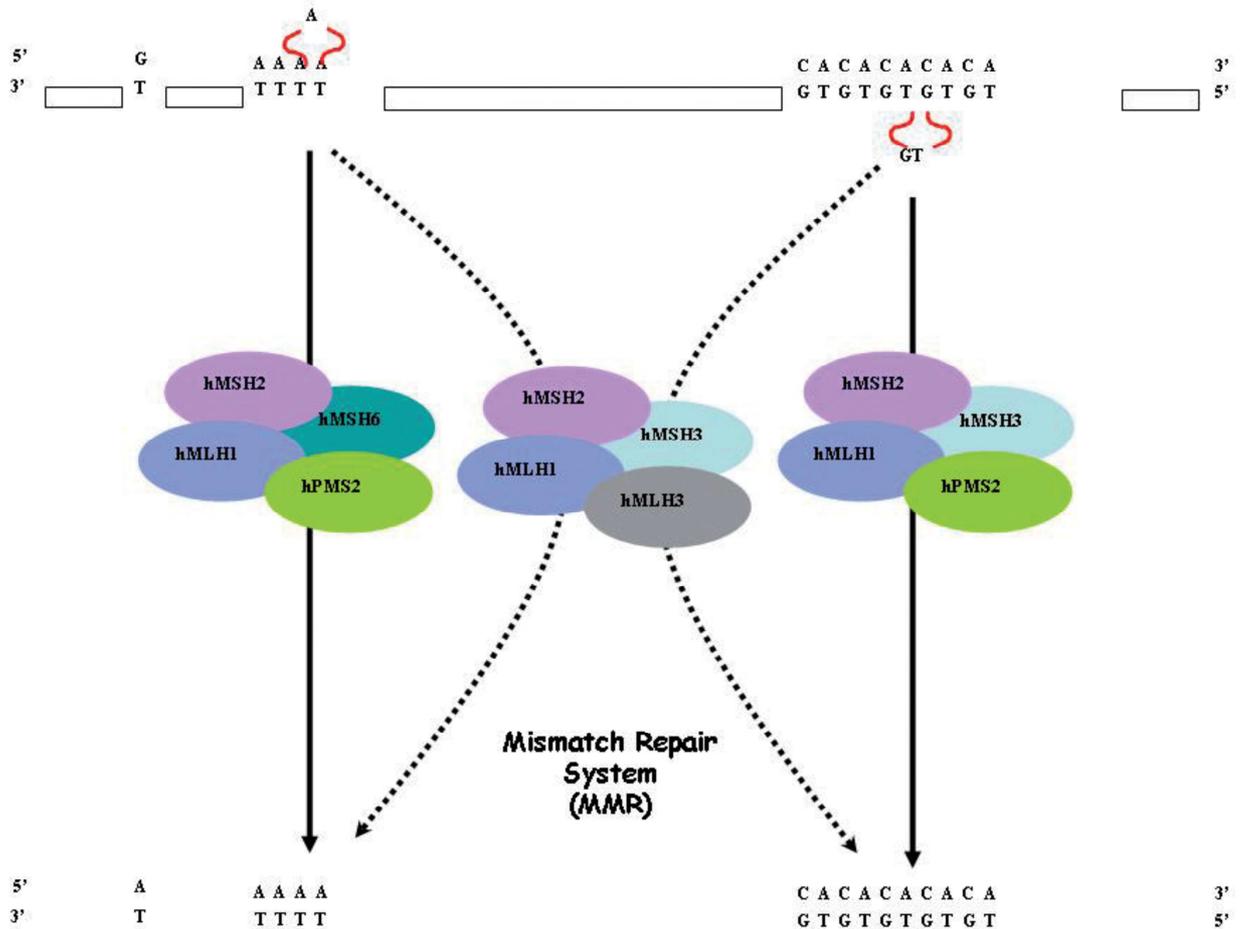


Figure 7 : Trois types de mésappariements de la molécule d'ADN sont donnés en exemple. Ils sont tous la cible des complexes MMR MSH2/MSH6– MLH1/PMS2. En l'absence de MSH6, les complexes MSH2/MSH3 sont également capables d'intervenir dans certains cas, en s'associant soit aux complexes MLH1/PMS2, soit aux complexes MLH1/MLH3.

Les mutations constitutionnelles ou acquises de ces gènes confèrent aux tumeurs une instabilité des microsatellites = séquences hautement répétées du génome (phénotype MSI). Ces microsatellites sont des répétitions en tandem de motifs de 1 à 5 nucléotides présentes en très grand nombre et réparties sur tout le génome. La répétition de ces séquences (comme les répétitions CA) par l'ADN polymérase est sujette à de nombreuses erreurs de type micro-insertion ou délétion qui sont généralement réparées par le système MMR. Les cancers MSI+ sont diploïdes et montrent peu de pertes alléliques [23]. Lorsque l'un des gènes des MMR

est altéré, les séquences microsatellites du génome deviennent les cibles des mutations somatiques de type insertion –délétion.

Le phénotype MSI a d'abord été décrit dans les CCR héréditaires dans le syndrome HNPCC, puis dans 10 à 15 % des cancers sporadiques du côlon, de l'estomac et de l'endomètre par inactivation somatique bi-allélique d'un gène de réparation de l'ADN le plus souvent par hyperméthylation du promoteur du gène hMLH1 [24].

Alors que les CCR MSI survenant dans un contexte de syndrome de Lynch sont caractérisés par une perte d'expression pouvant toucher toutes les protéines du système MMR, la grande majorité des CCR MSI sporadiques est liée à une perte d'expression de la protéine MLH1, secondaire à la méthylation somatique et bi-allélique de la région promotrice du gène MLH1 dans la cellule [25].

Les CCR de phénotype MSI présentent des caractéristiques anatomo-pathologiques particulières : il s'agit plus volontiers de tumeurs :

- polypoïdes ou exophytiques, présentant une architecture cribriforme/solide, microglandulaire ou indifférenciée ;
- de type histologique mucineux ou à cellules indépendantes, ou de type médullaire (tumeur peu différenciée ou indifférenciée composée de massifs de cellules de grande taille, au cytoplasme éosinophile, avec une marge bien circonscrite et un abondant infiltrat lymphocytaire, à la fois péri- et intratumoral) ;
- avec une nécrose extensive ;
- comportant de nombreux lymphocytes intra-tumoraux (ou TIL pour tumor infiltrating lymphocytes), avec au moins 5 lymphocytes intra-épithéliaux par champ au grossissement 400
- un front d'invasion expansif.

Une réaction de type « Crohn-like » marquée (présence d'au moins 4 nodules lymphoïdes visibles à faible grossissement (x40), généralement au niveau de la sous-séreuse ou la graisse du méso) L'accumulation de mutations dans de nombreux gènes pourrait conduire à l'expression aberrante de protéines membranaires, à leur tour responsables de l'intense infiltration lymphocytaire tumorale (de type Crohn-like), souvent observé dans les CCR MSI. Le stroma tumoral lymphoïde serait, en analyse univariée, en faveur d'un CCR de type MSI. La grande variabilité d'appréciation inter-observateurs limite son intérêt en pratique journalière.

Ces caractéristiques anatomo-pathologiques sont décrites à la fois dans les CCR MSI héréditaires et sporadiques. Parmi les malades âgés de moins de 60 ans lors du diagnostic de CCR de phénotype MSI, plus de 50 % seraient atteints d'un syndrome HNPCC. Un score anatomopathologique tenant compte des critères énumérés précédemment (score MsPath pour microsatellite instability by pathology) peut identifier presque tous les CCR de phénotype MSI diagnostiqués avant l'âge de 60 ans, ce qui valide l'intérêt de l'inclusion des caractéristiques anatomo-pathologiques des CCR dans les recommandations de Bethesda [26]. Ces données sont particulièrement intéressantes car elles n'engendrent pas de coût supplémentaire. Cependant, ce score n'a pas été appliqué aux CCR diagnostiqués après 60 ans. Or, on sait que les malades atteints d'un syndrome de Lynch peuvent développer un CCR après 60 ans. De même, des CCR MSI sporadiques peuvent survenir avant l'âge de 60 ans. Le score MsPath ne permet pas de différencier CCR MSI sporadiques et héréditaires dans ce cas.

Dans notre série, les cas MSI probables représentent 12% de l'ensemble des cas. Ceci concorde avec les données de la littérature et ne permet pas d'expliquer l'âge relativement jeune dans notre contexte. Le groupe MSI probable montre par

rapport au groupe MSS et de façon significative, une localisation colique droite prédominante, une taille tumorale plus importante, une association relativement fréquente d'un CCR synchrone, une association rare avec une adénomatoïse multiple, une surexpression nucléaire plus fréquente de la p53.

On a trouvé des différences entre les 2 groupes qui sont proches de la significativité. On remarque que les cas de phénotype MSI probable sont plus fréquemment des sujets masculins d'âge plus jeune avec des formes histologiques peu différenciées.

La détermination du statut MSI des tumeurs s'effectue par deux méthodes :

- Par génotypage des tumeurs MSI :

Dans les tumeurs MSI, les séquences répétées mono-, di-, tri- ou tétra-nucléotidiques sont particulièrement instables, du fait de l'accumulation, à leur niveau, d'erreurs de réplication par glissement (« slippage ») de la polymérase qui ne seront pas ou seront mal réparées du fait d'une déficience MMR. Les tumeurs MSI se caractérisent donc par l'apparition de nouveaux allèles dans leur ADN par rapport à l'ADN germlinal correspondant. Ce phénotype instable est constant dans les CCR associés à l'inactivation d'un des gènes MMR principaux (MSH2, MLH1, MSH6). Un panel de 5 marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphes (c'est-à-dire présentant peu de variants de taille) dans la population mondiale (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 et NR-27, « PCR pentaplex ») est recommandé [27]. Ce panel de marqueurs permet d'établir le statut MSI d'une tumeur avec une sensibilité et une spécificité de 100 %, sans nécessité d'avoir recours à une analyse comparative de l'ADN constitutionnel des malades [28]. Comme il existe tout de même quelques rares variants alléliques, les tumeurs ne sont considérées comme MSI que lorsque 2 au moins des 5 marqueurs sont instables ou de plus de 30 % des marqueurs = MSI-

High (MSI-H]. Les tumeurs MSI- Low (MSI-L) présentent une instabilité au niveau d'un seul marqueur.

Les tumeurs sans instabilité des microsatellites sont dénommées MSS (MicroSatellite Stable).

Ces marqueurs sont suffisamment sensibles pour détecter une instabilité microsatellitaire, en l'absence d'ADN normal, à condition que le contenu en cellules tumorales soit d'au moins 5 à 10 %. Cette technique peut être notamment mise en défaut en cas d'adénocarcinome mucineux [29].

- Par immunohistochimie (IHC) :

L'IHC est une technique peu onéreuse et peu consommatrice de temps. Elle est utilisée en routine dans les laboratoires d'anatomie pathologique, utile même si l'on dispose de peu de matériel tumoral (biopsie, carcinome mucineux pouvant être responsable de faux négatifs avec la technique du génotypage, cancer du rectum en grande partie stérilisé par le traitement néo-adjuvant.

Les altérations génétiques ou épigénétiques des gènes du système MMR se traduisent par une perte de fonction, et d'expression dans la plupart des cas, de la protéine correspondante.

L'IHC permet d'étudier, sur une coupe histologique, l'expression tissulaire des protéines du système MMR. À l'état normal, ces protéines sont ubiquitaires et de localisation nucléaire. Elles sont exprimées en particulier dans les cellules du tiers inférieur des cryptes de la muqueuse intestinale, dans les lymphocytes du centre germinatif des follicules lymphoïdes, dans les lymphocytes et dans les cellules endothéliales du stroma de la tumeur. Le principe du test IHC consiste à rechercher une perte d'expression, par les cellules tumorales, de la protéine étudiée, les deux copies du gène étant inactivées dans les tumeurs MSI. La perte d'expression ne

s'observe que dans les cellules tumorales, et il est donc nécessaire de disposer d'un témoin interne positif sur la coupe.

L'expression des principales protéines du système MMR peut être actuellement étudiée à l'aide d'anticorps monoclonaux: anti-MLH1, anti-MSH2, anti-MSH6 et anti-PMS2. La perte d'expression des protéines MLH1 et MSH2 est exclusive, c'est-à-dire elle ne concerne qu'une seule des deux protéines. En revanche, en cas de perte d'expression de la protéine MLH1, on observe une perte d'expression conjointe de la protéine PMS2. De la même manière, l'extinction de la protéine MSH2 s'accompagne d'une extinction de la protéine MSH6. À l'inverse, MLH1 reste stable en l'absence de la protéine PMS2, probablement du fait d'interactions avec PMS1 ou MLH3. L'extinction des protéines MSH2, MSH6 et PMS2 est un bon argument en faveur d'une altération constitutionnelle, à l'exception des rares CCR MSI survenant dans un contexte de maladie inflammatoire chronique de l'intestin [30]. L'extinction de la protéine MLH1 peut être liée, quant à elle, soit à une mutation constitutionnelle de MLH1 soit à une méthylation de son promoteur, en relation, dans ce dernier cas, avec un mécanisme de sénescence de l'épithélium colique, comme cela s'observe dans les cancers MSI sporadiques.

La sensibilité de la technique d'IHC est de 92 % [29]. Les rares cas où l'IHC peut être mise en défaut sont liés à des mutations faux-sens, responsable d'une perte de fonction d'un gène MMR, sans perte d'expression du gène concerné.

L'IHC permet de déterminer la protéine défectueuse, et d'orienter ainsi les généticiens vers le gène MMR à séquencer [29].

2-3 Le phénotype CIMP

La méthylation de l'ADN a lieu principalement au niveau des cytosines des dinucléotides CpG. Les régions riches en CpG, appelées îlots CpG, sont souvent associées à des promoteurs qui se trouvent en amont de 60 % des gènes et qui sont généralement non méthylées dans les cellules normales.

Son rôle dans la carcinogenèse a été controversé, car un certain degré de méthylation des promoteurs peut être observé dans les tissus normaux, voire dans tous les CCR, ce qui sous-tend que le phénotype CIMP ne constituerait pas un pathway « pathogénique » unique [31].

L'étude systématique de la région promotrice de plusieurs gènes permet de distinguer plusieurs phénotypes de méthylation :

- CIMP-high, lorsque plusieurs séquences sont méthylées
- CIMP-low, en cas de méthylation d'un faible nombre de séquences. Ce phénotype demeure controversé.
- CIMP-neg, en l'absence de méthylation de séquences testées.

Le phénomène de méthylation semble jouer un rôle important dans l'établissement du phénotype MSI sporadique, mais aussi héréditaire. En effet, outre MLH1, plusieurs dizaines de gènes ont été décrits comme étant la cible occasionnelle de ce processus d'inactivation génique dans les CCR MSI.

Presque tous les CCR MSI sporadiques sont CIMP+, en raison de la méthylation du promoteur de MLH1. Cependant, ce mécanisme jouerait également un rôle important dans le processus de transformation cellulaire non-MSI (ou MSS).

Au plan morphologique, l'hyperméthylation des îlots CpG de l'ADN est impliquée dans une voie alterne de la cancérogenèse colique, qui est la voie dite « festonnée ». Les adénomes sessiles festonnés semblent être les précurseurs de CCR de phénotype MSI, présentant des mutations de BRAF [32]. Ces CCR, plus volontiers situés dans le côlon droit, sont liés à un défaut d'expression de la protéine hMLH1,

secondaire à une hyperméthylation du promoteur du gène MLH1. D'autres lésions festonnées (polypes hyperplasiques et adénomes festonnés « traditionnels ») seraient associées à un phénotype MSI-Low. Cette voie festonnée impliquerait l'inactivation d'autres gènes de réparation de l'ADN, en particulier la MGMT, là aussi par hyperméthylation de sa région promotrice.

III - CCR FAMILIAUX

1- Le Syndrome HNPCC ou syndrome de lynch

Le syndrome HNPCC est responsable de 2 à 7 % de l'ensemble des CCR [29].

Défini sur le plan clinique par les critères d'Amsterdam-II élargis :

- Au moins deux apparentés au premier degré atteints de cancer histologiquement confirmés, du spectre HNPCC restreint (côlon, endomètre, intestin grêle, voies urinaires).
- Les cas sont répartis sur au moins deux générations successives.
- Au moins un des cas est diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.
- La polypose familiale est exclue [33].

La spécificité de ces critères est de 46 à 68 %. La sensibilité est de 78 % sous-estimant par conséquent le diagnostic de syndrome HNPCC. Pour pallier à ces insuffisances et identifier les patients qui devraient avoir une recherche de MSI et/ou une recherche de mutations – surtout ceux dont la maladie débute plus tardivement, ou sans histoire familiale de cancer– d'autres critères ont été définis, les critères de Bethesda -II [27] :

- Cancer colorectal diagnostiqué avant l'âge de 50 ans
- Second cancer colorectal synchrone ou métchrone ou autre tumeur du spectre HNPCC élargi (endomètre, intestin grêle, voies urinaires, estomac, ovaires, pancréas, voies biliaires, cerveau notamment glioblastome dans le

cadre du syndrome de Turcot, adénome des glandes sébacées et kératoacanthome dans le cadre du syndrome de Mui-Torre)

- Cancer avec caractéristiques anatomopathologiques évocatrices de phénotype MSI-H diagnostiqué avant l'âge de 60 ans (lymphocytes infiltrant la tumeur ou TIL, stroma réaction de type crohnienne, cellules indépendantes en bague à chaton, aspect médullaire)
- Cancer colorectal avec au moins un parent au premier degré présentant une tumeur du spectre HNPCC diagnostiqué avant l'âge de 50 ans
- Cancer colorectal avec au moins deux parents au premier ou au deuxième degré présentant une tumeur du spectre HNPCC indépendamment de l'âge de survenue.

Ces critères ont une excellente sensibilité mais une faible spécificité (20 %), elles ont amélioré la détection des patients atteint d'un CCR dans le cadre du syndrome HNPCC qui portent dans 70% des cas une altération constitutionnelle d'un gène MMR.

La pénétrance de ce syndrome est élevée, avec 70 à 80 % de risque de CCR cumulé pour les hommes, et 40 à 60 % pour les femmes. Les malades atteints de syndrome HNPCC ont également un risque accru de développer un autre cancer, en particulier un cancer de l'endomètre, de l'intestin grêle et des voies excrétrices urinaires (risque élevé, spectre tumoral étroit), mais également, à un degré moindre, des cancers de l'ovaire, de l'estomac et des voies biliaires (spectre tumoral large) [34].

Dans le syndrome HNPCC, l'émergence du phénotype MSI est due à des mutations constitutionnelles des gènes MSH2, MLH1, MSH6 ou PMS2, prédisposant les malades à la survenue de cancer par inactivation somatique du second allèle dans la tumeur. Des mutations ponctuelles hétérozygotes sont trouvées en

proportion égale (30 à 35 %) sur les deux gènes MSH2 et MLH1 [35]. Ce sont donc ces deux gènes qui doivent être analysés en premier, en cas de suspicion de syndrome de Lynch. Les mutations sur les gènes MSH6 et PMS2 sont beaucoup plus rares, respectivement 2 à 10 % et 2 % [36].

Très récemment, il a été montré que de larges délétions germinales au niveau du dernier exon du gène TACSTD1 inactivaient le gène MSH2 situé immédiatement en aval, en induisant un mécanisme de méthylation de son promoteur dans les tissus exprimant TACSTD1 [37]. En dépit de ces connaissances, aucune altération constitutionnelle n'est trouvée chez environ 20 à 30 % des malades HNPCC, suggérant le rôle d'autres gènes impliqués notamment dans les processus de réparation de l'ADN. (PMS2, MLH3, MSH3, PMS1, EXO1, MBD4/MED1), ou de gènes qui jouent un rôle important dans la tumorigenèse des cancers colorectaux et pour lesquels des mutations somatiques avaient été décrites (TGFBRII).

Les microARN (ou miR), ARN non codants qui jouent un rôle dans la régulation post-transcriptionnelle de plus de 30 % du génome humain moduleraient l'expression des protéines MMR, pouvant ainsi expliquer l'existence d'un phénotype MSI sans mutation retrouvée des gènes MMR [38].

Concernant les cancers colorectaux et de l'utérus, qui sont les plus fréquents, deux études ont estimé leurs risques en tenant donc des biais de recrutement des patients : d'après Dunlop et al. [10], le risque de CCR à 70 ans est significativement plus élevé chez les hommes (74 %) que chez les femmes (30 %), donc un risque moyen de 52 %, avec un ratio hommes/femmes de 2,5. Le risque de cancer de l'utérus est de 42 % à 70 ans.

En routine, la recherche systématique de mutation délétère constitutionnelle dans les gènes secondaires n'est pas retenue pour le diagnostic génétique du syndrome HNPCC vue la très grande diversité des mutations des gènes MMR.

La recherche d'une méthylation du promoteur de MLH1 semble être une bonne stratégie pour discriminer CCR MSI sporadiques et héréditaires et permettre ainsi de réduire le nombre d'analyses constitutionnelles des gènes MMR [29]. Elle se fait habituellement selon la technique MSP (pour methylation specific PCR). La standardisation de cette technique qualitative est difficile. L'analyse de la méthylation du promoteur de MLH1 peut être également réalisée grâce à une technique quantitative. L'absence de méthylation du promoteur du gène MLH1 traduit donc l'absence d'un processus de tumorigenèse lié à la sénescence. Dans ce cas, la perte de fonction est liée à une mutation délétère des deux allèles du gène, ce qui constitue une bonne indication d'analyse génétique constitutionnelle.

Néanmoins, l'inverse n'est pas vrai, la méthylation du promoteur du gène MLH1 semble également impliquée chez environ un tiers des sujets porteurs d'un syndrome de Lynch, et n'est donc pas, pour certains groupes, suffisamment spécifique, même si des variations subtiles des sites de méthylation différencient les deux situations. La caractérisation du degré de méthylation du promoteur du gène MLH1 n'est donc pas, à ce jour, un outil performant pour distinguer les cancers apparus chez une personne porteuse d'une mutation délétère constitutionnelle du gène MLH1, des cancers dus à une inactivation somatique pure de ce gène.

Afin de pallier ce manque de spécificité, la recherche de mutations du gène BRAF est proposée pour améliorer la sélection des tumeurs MSI liées à un syndrome HNPCC.

Les mutations de BRAF sont observées de manière significativement plus fréquente dans les CCR de phénotype MSI que dans les CCR de phénotype MSS (35 % versus 5 %) [39]. De façon plus spécifique, les CCR survenant dans le cadre d'un syndrome de Lynch ne présentent que des mutations de KRAS [45], tandis que les

mutations de BRAF surviennent presque exclusivement et de façon inexplicée dans des CCR MSI sporadiques présentant une méthylation du gène MLH1.

Ces données suggèrent que les mutations activatrices de BRAF sont liées au caractère sporadique du phénotype MSI. La recherche d'une mutation du gène BRAF pourrait ainsi être utilisée comme test supplémentaire prédictif afin de distinguer ces deux types tumoraux, dans le but de réduire là encore le nombre d'analyses constitutionnelles des gènes MMR [40] (figure 8).

Dans notre étude, la recherche de la mutation V600E du gène BRAF est en cours.

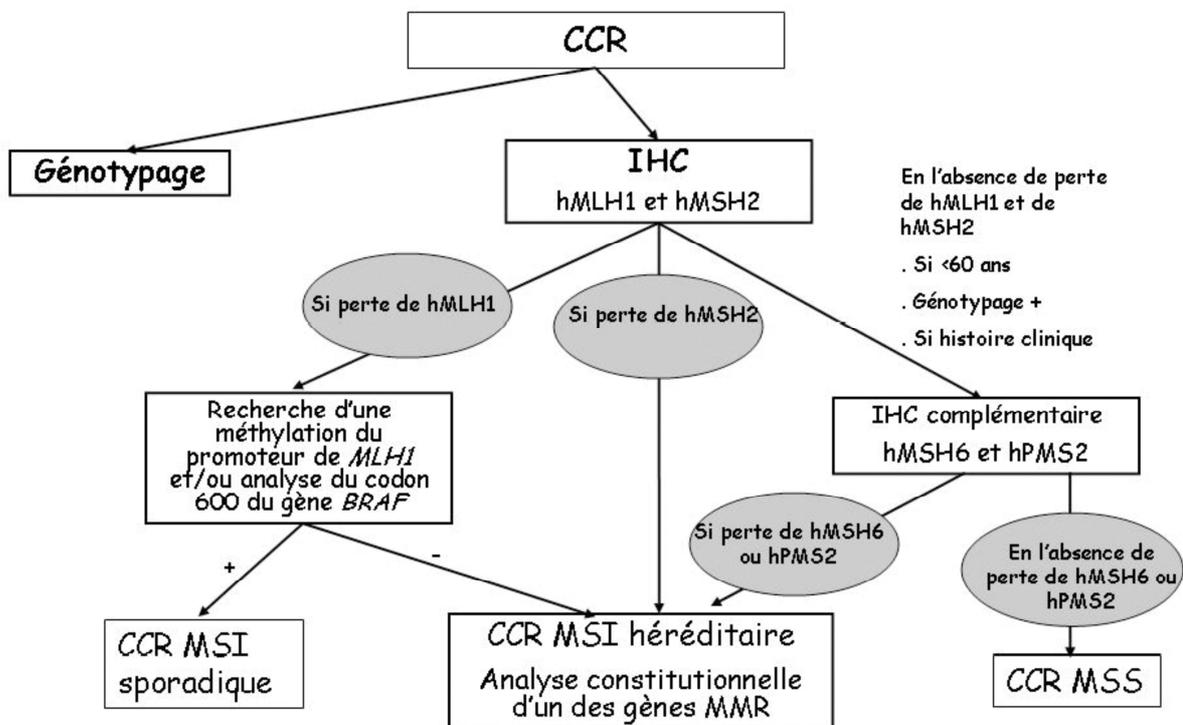


Figure 8 : Proposition de stratégie diagnostique des malades atteints d'un syndrome de HNPCC.

2- La polypose adénomateuse familiale (PAF)

Elle représente 1 à 2% des cancers colorectaux. C'est une maladie liée à une mutation du gène APC impliqué dans la voie de signalisation Wnt. Elle se caractérise

par l'apparition de nombreux adénomes coliques et rectaux au moment de la puberté avec des manifestations extra-coliques possibles mais inconstants : adénomes duodénaux, polypose fundique glandulokystique, hypertrophie de l'épithélium pigmentaire rétinien, tumeurs osseuses, sous cutanées, desmoïdes, hépatoblastomes, médulloblastomes et cancers thyroïdiens [41].

On distingue une forme classique, de transmission autosomique dominante, les sujets atteints développent des centaines voire des milliers d'adénomes colorectaux, le plus souvent avant l'âge de 20 ans.

Le pronostic est dominé par une dégénérescence maligne [42].

Les formes atténuées de PAF ont une transmission récessive. Les adénomes coliques sont au nombre inférieur à 100 et prédominent dans le colon droit et se développent plus tardivement que dans les formes classiques [43]. Cette PAF atténuée peut être difficile à distinguer au plan clinique d'un syndrome HNPCC. Plus de 90 % des sujets atteints, développent des adénomes duodénaux, en particulier dans la région ampullaire qui peuvent aboutir à des cancers du duodénum représentant une cause non négligeable de décès chez des malades atteints de PAF ayant eu une colectomie [42].

Les corrélations génotype-phénotype montrent que la position des mutations sur le gène conditionne la gravité de certaines manifestations cliniques. C'est ainsi que le nombre d'adénomes coliques d'un sujet porteur d'une mutation délétère du gène APC peut varier de 0 à plus de 1000 [42].

La présence d'un phénotype atténué, est liée à l'existence d'une mutation dans les 4 premiers exons entre les codons 1 à 163, dans la partie de l'exon 9 épissée de manière alternative et dans la partie distale de l'exon 15 entre les codons 1860 et 1987 [44]. Elle peut aussi être liée à une mutation bi allélique du gène MYH

codant pour une adénine glycosylase qui fait partie du système « Base excision repair »

Les formes adénomateuses profuses en tapis de haute laine, sont présentes lorsque la mutation siège entre les codons 1249-1330 [44].

Dans notre série, on n'a pas rapporté de cas de polypose adénomateuse familiale.

3- Les polyposes hamartomateuses.

Elles regroupent 3 grands syndromes :

3-1 Syndrome de Peutz -Jeghers [45]:

Due à une mutation du gène STK11 (ou LKB1), localisé en 19 q13.3, qui code pour une sérine -thréonine-kinase. Plus de 50% des syndromes de Peutz -Jeghers sont familiaux, les autres correspondent à des néo-mutations. Dans les cas familiaux, la transmission est autosomale dominante prédisposant au cancer colique, à la tumeur de la granulosa de l'ovaire, à la tumeur de cellules de sertoli du testicule, et à des tumeurs du pancréas, du sein et de la thyroïde.

3-2 Polypose juvénile familiale [45]:

Définie par la présence de plus de 5 polypes juvéniles du colo-rectum, ou de polypes juvéniles présents tout au long du tube digestif, ou de n'importe quel nombre de polypes juvéniles en cas d'histoire familiale de polypose juvénile.

3-3 Syndrome de Cowden et syndromes apparentés [46]

Caused par une inactivation du gène suppresseur de tumeur PTEN et qui est responsable du développement d'hamartomes à tous les niveaux du tube digestif et même en extra-digestif.

IV. IMPLICATIONS THERAPEUTIQUE ET PROPHYLACTIQUES

1- Pour le phénotype MSI

Il est intéressant de déterminer le statut MSI d'une tumeur, pour plusieurs raisons :

A visée diagnostique afin de pallier le manque de sensibilité et de spécificité des critères familiaux et/ou cliniques d'Amsterdam et de Bethesda utilisés jusqu'à présent pour la reconnaissance des malades porteurs d'un syndrome HNPCC. En effet, l'identification des mutations constitutionnelles délétères des gènes MMR influence la surveillance à long terme des malades et le dépistage chez les apparentés [47].

A visée thérapeutique : plusieurs études ont montré que les malades ayant une tumeur MSI avaient globalement un meilleur pronostic après chirurgie, que les malades ayant une tumeur non-MSI (ou MSS pour microsatellite stable) [48, 49]. L'instabilité génétique des tumeurs MSI les rendrait plus sensibles à l'apoptose, du fait de l'accumulation de mutations de gènes nécessaires à la croissance cellulaire.

De plus, ces malades semblent répondre différemment aux chimiothérapies. Le phénotype MSI semble être associé à l'absence de bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante par 5FU/acide folinique, voire à un effet délétère de cette dernière [50].

Dans une étude récente, le phénotype MSI serait associé à une meilleure réponse au traitement par FOLFOX [51]. Cette étude suggère également que seules les tumeurs surexprimant p53 bénéficieraient de l'ajout de l'oxaliplatine au 5FU.

. Il n'existe pas encore d'approche thérapeutique spécifique de ce type tumoral prenant en compte les modalités très particulières de transformation qui sont engagées dans ces tumeurs. Toutefois, certains centres préconisent d'arrêter toute chimiothérapie chez les malades ayant un CCR de phénotype MSI si l'oxaliplatine doit être stoppé.

Compte tenu du risque absolu des cancers colorectaux et de l'endomètre, ces deux localisations paraissent relever d'un dépistage systématique. Le dépistage des tumeurs colorectales présente un intérêt chez les personnes porteuses d'une mutation délétère d'un des principaux gènes MMR, comme chez les apparentés au premier degré des personnes atteintes de CCR, dont l'histoire familiale répond à la définition clinique du syndrome HNPCC (Amsterdam II). Ce dépistage doit être réalisé par coloscopies, à débiter au plus tard à 25 ans, et à répéter tous les 2 ans [52]. À l'issue de chaque coloscopie, il est recommandé de compléter l'examen en utilisant un colorant de type indigo carmin. En raison du caractère incomplet de la pénétrance des mutations délétères et de l'expressivité variable de la maladie d'une part, des performances élevées de la coloscopie totale réalisée dans les conditions techniques correctes d'autre part, et enfin des résultats de l'analyse des risques et bénéfices, la chirurgie d'exérèse colique ou rectale prophylactique ne peut, en revanche, être recommandée [53].

Dans l'hypothèse où une chirurgie étendue, à visée prophylactique, serait discutée, les paramètres suivants doivent être considérés : l'espérance de vie, la parfaite compréhension par la personne des avantages et des inconvénients, la validation d'une telle stratégie par les RCP d'oncogénétique et de cancérologie.

Chez les patients ayant un syndrome HNPCC opérés d'un cancer colorectal, la surveillance endoscopique durant les 5 premières années postopératoires est différente de celle des cancers colorectaux sporadiques. Tous les patients doivent

avoir une coloscopie totale, selon les règles recommandées dans le syndrome, tous les deux ans. Chez les patients et leurs apparentés, qui au cours de la surveillance ont un adénome supérieur à 1 cm, à contingent villositaire ou en dysplasie de haut grade, une intervention à visée préventive peut être discutée.

Il n'y a pas d'étude suffisamment bien menée pour affirmer que le dépistage du cancer d'endomètre chez les femmes ayant une prédisposition HNPCC est efficace. L'échographie, ou l'hystéro-scopie paraissent les méthodes les plus importantes à évaluer. Elles pourraient être proposées sur la base d'un rythme annuel à partir de 30 ans [54].

2- Pour la mutation du gène K-ras (Figure 9)

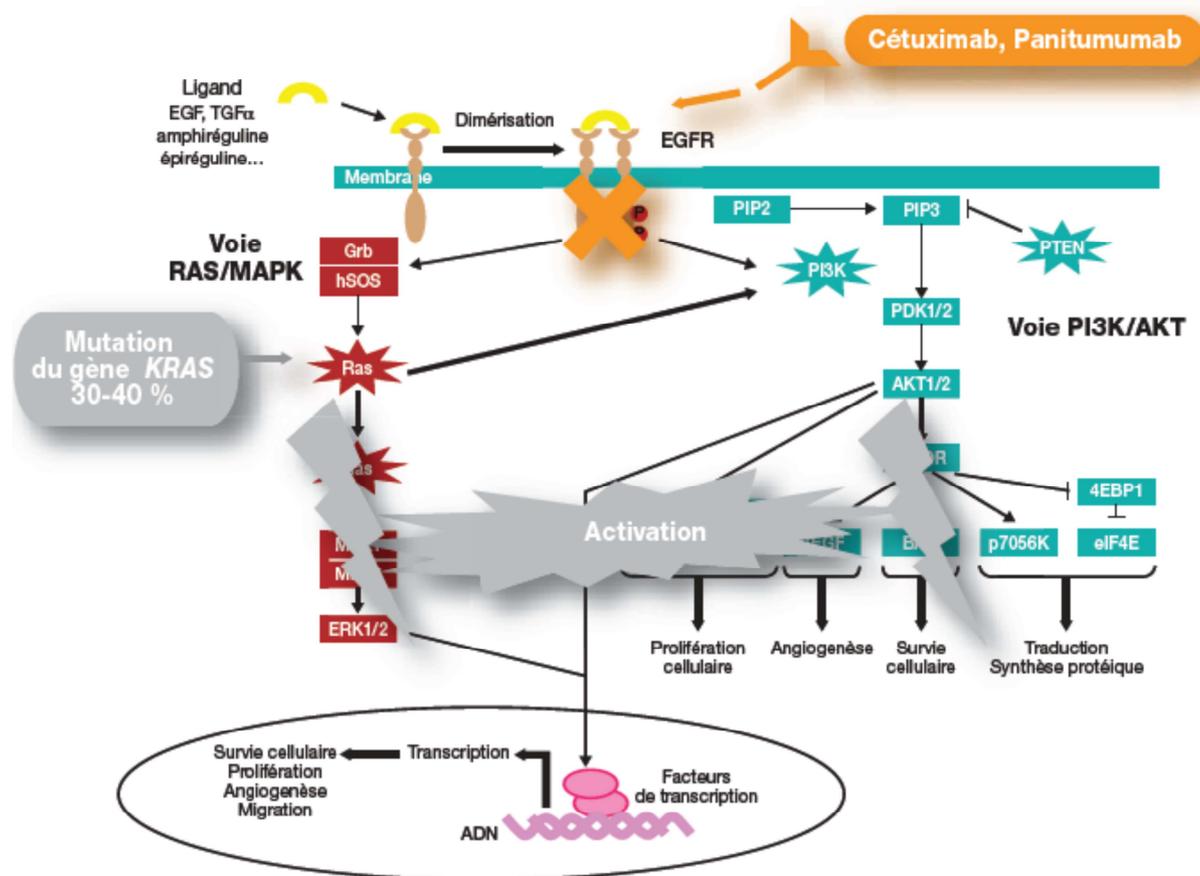


Figure 9 : implication de la mutation du gène K-ras sur la résistance aux anti-EGFR

Le cétuximab et le panitumumab sont des anticorps anti-EGFR utilisés dans le traitement du cancer colorectal métastatique. Ils se fixent sur la partie extracellulaire de l'EGFR, empêchant ainsi que son ligand ne s'y fixe. Il en résulte une inhibition de la dimérisation et de l'activation de l'EGFR et, par conséquent, des voies de signalisation intracellulaires situées en aval.

Les mutations du gène KRAS, présentes dans 35 à 40 % des cancers colorectaux sont responsables d'une activation de la voie RAS/MAPK en aval de l'EGFR et par conséquent, elles confèrent aux cellules tumorales une résistance aux anticorps anti-EGFR. Les patients ayant une tumeur mutée pour le gène KRAS ne tiraient aucun bénéfice d'un traitement par anticorps anti-EGFR en termes de réponse tumorale et de survie, contrairement aux patients ayant une tumeur non mutée (KRAS sauvage [55]).

Dans notre série, la recherche de la mutation du gène Kras est en cours.

V-FACTEURS PRONOSTIQUES (4-119-120).

Nous n'avons pas pu pour le moment déterminer de facteurs pronostiques spécifiques à notre population vue le recul insuffisant de notre étude. Cependant dans la littérature, on rapporte essentiellement les facteurs pronostiques suivants :

1- Facteurs cliniques

Sont considéré de mauvais pronostic :

1. l'âge jeune ou très avancés
2. le sexe masculin.
3. le niveau socio-économique faible

4. la perforation colique. Elle est retrouvée chez 6,2% des patients de notre série

2- Facteurs biologiques :

Un taux sérique de l'ACE supérieur à 5 ng/ml en préopératoire est un facteur de mauvais pronostic.

3- Facteurs histologiques :

3-1 Type histologique

Les données du Registre des Cancers Digestifs de Côte d'Or indiquent que le carcinome mucineux (colloïdes) et les carcinomes indifférenciés ont à 10 ans un pourcentage de survie similaire (14 %). Ce pourcentage est inférieur à celui des adénocarcinomes bien et moyennement différenciés (23 %).

Dans notre série, les carcinomes mucineux représentent 12% et les carcinomes à cellules indépendantes représentent 3% des cas.

3-2 Différenciation tumorale

L'agressivité tumorale est corrélée avec le degré de différenciation histologique. Approximativement 80% des lésions ne pénétrant pas la séreuse sont bien différenciées, et 45% des tumeurs avec métastases ganglionnaires sont peu ou moyennement différenciées. En analyse multi variée, la différenciation tumorale n'a cependant pas de valeur pronostique indépendante de l'extension tumorale.

Dans notre série , 42% des cas sont moyennement différenciés et 9,5% des cas sont peu différenciés ou indifférenciés.

Une réaction desmoplastique intense dans les zones invasives est de mauvais pronostic.

3-3 Le stade p TNM

Concernant l'extension ganglionnaire, la conférence de consensus sur les cancers colorectaux a retenu un chiffre minimal de 8 ganglions lymphatiques pour le curage ganglionnaire [56]. Ce nombre dépend du volume du mésentère réséqué, de la localisation tumorale, d'un éventuel traitement antérieur (le nombre des ganglions diminue après chimiothérapie ou radiothérapie), mais également du soin apporté par le pathologiste à la dissection macroscopique.

L'examen de 12 ganglions permet théoriquement de détecter 92 % des métastases et l'examen de 20 ganglions en détecte 100%.

3-4 l'exérèse chirurgicale incomplète est de mauvais pronostic.

Au niveau du rectum, une marge circonférentielle est considérée carcinologique si elle est supérieure ou égale à 1 mm. Dans notre série, l'exérèse chirurgicale rectale n'étaient pas carcinologique chez 5% des cas.

3-5 Type d'invasion pariétale.

Les cancers présentant une extension dans la paroi sous forme de prolongements tumoraux irréguliers ou de nodules disséminés étaient plus agressifs que ceux ayant une extension rectiligne en continuité avec le front d'invasion tumorale.

3-6 les emboles vasculaires

Les embolies vasculaires au niveau des veines extra-murales ayant une couche musculieuse continue est un facteur prédictif de métastases hépatiques mais n'est pas considéré comme un facteur pronostique indépendant en analyse multivariée.

3-7 L'engainement péri-nerveux

Il serait à l'origine de récurrences et de métastases hématogènes plus fréquentes.

4- Facteurs pronostiques génétiques (57)

4-1 Instabilité microsatellitaire MSI+

L'instabilité micro satellitaire semble avoir un pronostic favorable.

Il n'a pas été observé de différence de survie entre les malades atteints d'un CCR MSI sporadique et ceux atteints d'un CCR MSI héréditaire

4-2 Mutation du gène TP53

La valeur pronostique péjorative des mutations du gène TP53 est controversée. Elle a été trouvée indépendante en analyse multivariée des autres facteurs pronostiques, notamment du stade tumoral, dans certaines études, mais non dans d'autres. Certaines montrant même un pronostic meilleur en cas de mutations de TP53

4-3 Pertes alléliques

La perte de certains bras chromosomiques est considérée par plusieurs auteurs comme étant un facteur pronostique péjoratif, notamment celle des bras 8p, 17p et 18q.

4-4 L'aneuploïdie

Retrouvée dans 58 % des CCR, mais n'est pas considérée comme un facteur pronostique indépendant.

CONCLUSION

Le cancer colorectal survient dans notre population chez des patients plus jeunes (57.6 ans) avec une légère prédominance des localisations rectales (52%). Les sujets jeunes de moins de 50 ans représentent 27,9%. Ils ont une fréquence plus élevée des formes histologiques peu différenciées ou avec une composante à cellules indépendantes ou mucineuses et des formes étendu au péritoine en l'occurrence les carcinoses péritonéales par rapport au patients de plus de 50 ans.

A l'immuno histochimie, l'extinction de l'expression d'une ou de plusieurs protéines MMR est retrouvée dans 12% des cas. Le statut MSI a été confirmé par biologie moléculaire dans 7 cas. 12% de l'ensemble des cas. Ceci concorde avec les données de la littérature et ne permet pas d'expliquer l'âge relativement jeune dans notre contexte. Le groupe MSI probable montre par rapport au groupe MSS, une localisation colique droite prédominante, une taille tumorale plus importante, une association relativement fréquente à un CCR synchrone, l'absence d'association avec une adénomatose multiple et une surexpression nucléaire plus fréquente de la p53. D'autres voies de la carcinogenèse colorectale sont à explorer, notamment la voie de l'instabilité chromosomique ou de la recherche d'une éventuelle origine virale (EBV).

Ces données permettront certainement d'adapter nos attitudes thérapeutiques pour meilleure prise en charge du patient et de sa famille.

Il s'agit de résultats préliminaires de l'étude COLORECFEZ. Cette étude est une étape importante est primordiale pour la standardisation de la prise en

charge du cancer colorectal au Maroc et pour la réalisation d'un registre national. Ces résultats permettront certainement une prise en charge adéquate répondant aux recommandations internationales.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Thèse : REGISTRE HOSPITALIER DES CANCERS RESULTATS PRELIMINAIRES DU SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE CHU HASSAN II FES (A propos de 5532 cas)
- 2 - GLOBOCAN 2008 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2008, <http://globocan.iarc.fr/>
- 3- Cooper GS, Yuan Z, Strange KC, Rimm AA (1998). Use of Medicare claims data to measure county level variations in the incidence of colorectal carcinoma. *Cancer* 83:673-678.
- 4- S. Sabounchi, S. Keihanian, Bhupinder S. Anand, Impact of Race on Colorectal Cancer 2012, 11: 66-70.
- 5- M.A. Tazi, N. Benjaafar, A. Er-raki Registre des cancers de Rabat, incidence des cancers à rabat année 2005. Edition 2009.
- 6- Bedenne L, Faivre J, Boutron MC, Piard F, Cauvin JM, Hillon P. Adenocarcinoma sequence or de novo carcinogenesis. *Cancer* 1992; 69 : 883-888
- 7- Morson BC, Dawson IM, Day DW, Jass JR, Price AB, Williams GT. *Gastrointestinal pathology*. Oxford : Blackwell Scientific, 1990
- 8- Ohue M, Tomita N, Monden T, Fujita M, Fukunaga M, Takami K et al. A frequent alteration of p53 gene in carcinoma and in adenoma of colon. *Cancer Res* 1994 ; 54 : 4798-804
- 9- Marie Danièle. Diebold. Néoplasies planes colorectales : définitions, défense et illustration. *Ann Pathol* 2002 ; 22 :18-28.
- 10- Dunlop MG, Farrington SM, Carothers AD, Wyllie AH, Sharp L, Burn J, et al. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet* 1997;6:105-10.

- 11– Register regional du cancer du grand Casablanca.
- 12– Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61(5):759–67.
- 13– Delattre O, Law DJ, Remvikos Y, Sastre X, Feinberg AP, Olschwang S et al. Multiple genetic alterations in distal and proximal colorectal cancer. *Lancet* 1989 ; 12 : 353–5.
- 14– Nakamura Y. The role of the adenomatous polyposis coli (APC) gene in human cancers. *Adv Cancer Res* 1993 ; 62 : 65–87.
- 15– Behrens J, Jerchow BA, Wurtele M, Grimm J, Asbrand C, Wirtz R et al. Functional interaction of an axin homolog, conductin with beta-catenin, APC, and GSK3 beta. *Science* 1998 ; 280 : 596–9.
- 16– Novak A, Hsu SC, Leung–Hagesteijn C, Radeva G, Papkoff J, Montesano R et al. Cell adhesion and the integrin–linked kinase regulate the LEF–1 and β catenin signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 4374–9.
- 17– Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001;37(Suppl4):S3–8.
- 18– Cohen SJ, Cohen RB, Meropol NJ. Targeting signal transduction pathways in colorectal cancer—more than skin deep. *J Clin Oncol* 2005;23(23):5374–85.
- 19– Lièvre A, Blons H, Laurent–Puig P. Oncogenic mutations as predictive factors in colorectal cancer. *Oncogene* 2010;29(21):3033–43.
- 20– Kressner U, Inganas M, Byding S, Blikstad I, Pahlman L, Glimelius B et al. Prognostic value of p53 genetic changes in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1999 ; 17 : 593–9.
- 21– Simms LA, Radford–Smith G, Biden KG, Buttenshaw R, Cummings M, Jass JR et al. Reciprocal relationship between the tumour suppressors p53 and BAX in primary colorectal cancer. *Oncogene* 1998 ; 17 : 2003–8.

22– Jiricny J, Marra G. DNA repair defects in colon cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13(1):61–9.

23– Remvikos Y, Vogt N, Muleris M, Salmon RS, Malfoy B, Dutrillaux B. DNA repeat instability is associated with colorectal cancers presenting minimal chromosome rearrangements. *Genes Chromosomes Cancer* 1995;12 : 272–6.

24– Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature* 1993;363(6429):558–61.

25– Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, et al. *Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(15):8698–702.

26– Jenkins MA, Hayashi S, O’Shea AM, et al. *Colon Cancer Family Registry. Pathology features in Bethesda guidelines predict colorectal cancer microsatellite instability: a population-based study. Gastroenterology* 2007;133(1):48–56.

27– Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(4):261–8.

28– Buhard O, Cattaneo F, Wong YF, et al. *Multi-population analysis of polymorphisms in five mononucleotide repeats used to determine the microsatellite instability status of human tumors. J Clin Oncol* 2006;24(2):241–51.

29– Hampel H, Frankel WL, Martin E, et al. Screening for the Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer). *N Engl J Med* 2005;352(18):1851–60

30– Svrcek M, El-Bchiri J, Chalastanis A, et al. *Specific clinical and biological features characterize inflammatory bowel disease associated colorectal cancers showing microsatellite instability. J Clin Oncol* 2007;25(27):4231–8.

31- Issa JP, Shen L, Toyota M. CIMP, at last. *Gastroenterology* 2005;129(3):1121-4.

32- Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 2002;123(3):862-76.

33- Rodrigues-Bigas M, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, et al. A national cancer institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1758-62.

34- Vasen H, Watson P, Mecklin JP, and the ICG-HNPCC. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative Group on HNPCC. *Gastroenterology* 1999;116(6):1453-8.

35- Olschwang S, Paraf F, Laurent-Puig P, et al. Recent advances for the identification and screening of Lynch syndrome. *Gastroenterol Clin Biol* 2007;31(2):136-40.

36- Truninger K, Menigatti M, Luz J, et al. Immunohistochemical analysis reveals high frequency of PMS2 defects in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005;128(5):1160-71.

37- Kovacs ME, Papp J, Szentirmay Z, Otto S, Olah E. Deletions removing the last exon of TACSTD1 constitute a distinct class of mutations predisposing to Lynch syndrome. *Hum Mutat* 2009;30(2):197-203.

38- Valeri N, Gasparini P, Fabbri M, et al. Modulation of mismatch repair and genomic stability by miR-155. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(15):6982-7.

39- Oliveira C, Pinto M, Duval A, et al. BRAF mutations characterize colon but not gastric cancer with mismatch repair deficiency. *Oncogene* 2003;22(57):9192-6.

40- Loughrey MB, Waring PM, Tan A, et al. Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Fam Cancer* 2007;6(3):301-10.

41- Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:839-47

42- Pierre LAURENT-PUIG, Jérôme CARAYOL, Frank ZINZINDOUHOUE, Paul-Henri CUGNENC. Les formes familiales de cancers du colon, PAF, HNPCC et les autres. *Gastroenterol Clin Biol* 2002 ; 26 : B74-B77.

43- Lynch HT, Smyrk T, McGinn T, Lanspa S, Cavalieri J, Lynch J, et al. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP) : a phenotypically and genotypically distinctive variant of FAP. *Cancer* 1995 ;76 :2427-

44- Fearnhead NS, Britton MP, Bodmer WF. The ABC of APC. *Hum Mol Genet* 2001;10:721-33.

45- Bronner MP. Gastrointestinal inherited polyposis syndromes. *Mod Pathol* 2003;16:359-65

46- Wirtzfeld DA, Pertrelli NJ, Rodriguez-Bigas MA. Hamartomatous polyposis syndromes :molecular genetics,neoplastic risk,and surveillance recommendations. *Ann Surg Oncol* 2001;8:319-27

47- de Jong AE, Hendriks YM, Kleibeuker JH, et al. Decrease in mortality in Lynch syndrome families because of surveillance. *Gastroenterology* 2006;130(3):665-71.

48- Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;342(2):69-77.

49- Popat S, Hubner R, Houlston RS. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23(3):609-18.

50– Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. Tumor microsatellite–instability status as a predictor of benefit from fluorouracil–based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247–257.

51– Zaanan A, Cuilliere–Dartigues P, Guilloux A, et al. Impact of p53 expression and microsatellite instability on stage III colon cancer disease–free survival in patients treated by 5–fluorouracil and leucovorin with or without oxaliplatin. *Ann Oncol* 2010;21(4):772–80.

52– de Vos WH, Nagengast FM, Griffioen G, Menko FH, Taal BG, Kleibeuker JH, et al. Surveillance for hereditary nonpolyposis colorectal cancer: a long–term study on 114 families. *Dis Colon Rectum* 2002;45:1588–94.

53– Lee JH, Kim JW, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, et al. Detection of colorectal adenomas by routine chromoendoscopy with indigocarmine. *Am J Gastroenterol* 2003;98: 1284–8.

54– Brown G, St John D, Macrae F, Aittomaki K. Cancer risk in young women at risk of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: implications for gynecologic surveillance. *Gynecol Oncol* 2001;80:346–9.

55– Lievre A, Bachet JB, Boige V, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008;26:374–9.

56–. Monges G, Piard F. Recommandations pour la rédaction des comptes rendu anatomopathologiques des cancers coliques. *Gastroenterol Clin Biol*. 1998 : 22 (suppl) :124–8.

57 – Valérie BOIGE , David MALKA , Julien TAÏEB , Jean–Pierre PIGNON, Michel DUCREUX. Cancer colorectal : altérations moléculaires pronostiques. *Gastroenterol Clin Biol* 2004; 28:21–32.