

Année 2019

Thèse N° 270

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19/12/2019

PAR

Mr. EL YAZID EL ALAOUI BOUFARES

Né à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Cancer colorectal – Anatomie pathologique – Immunohistochimie –
Instabilité micro satellitaire – Biologie moléculaire – Mutations génétiques RAS

JURY

Mme M.KHOUCHANI

Professeur de Radiothérapie

PRESIDENT

Mme H.RAIS

Professeur d'Anatomie pathologie

RAPPORTEUR

Mme. Z.SAMLANI

Professeur de Gastro-entérologie

Mr. K.RABBANI

Professeur de Chirurgie Générale

Mr. A.FAKHRI

Professeur agrégé d'histologie-embryologie cytogénétique

Mme. F.Z.HAZMIRI

Professeur agrégé d'histologie-embryologie cytogénétique

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



{ رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ
الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ
وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَصْلِحْ
لِي فِي ذُرِّيَّتِي إِنِّي تُبْتُ إِلَيْكَ
وَإِنِّي مِنَ الْمُسْلِمِينَ }

سورة الاحقاف



*Cette thèse est la première à la faculté de
médecine et de pharmacie de Marrakech
à adopter un mode d'impression recto-verso
suivant les recommandations de
Mr le doyen Pr. Bouskraoui Mohamed
lors du comité de thèse pour une meilleure
gestion d'espace à la bibliothèque de la
faculté et aussi afin de réconcilier nos
pratiques d'impressions avec nos valeurs
écologiques.*



Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.


Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





Liste des Professeurs



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. BadieAzzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr.Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr.Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARIImad	Traumato- orthopédie	FAKHIRBouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOU EL HASSANTaoufik	Anesthésie- réanimation	FINECHBenasser	Chirurgie - générale
ABOUCHADIAbdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAIJI Karima	Chirurgiepédiatrique
ABOULFALAHAbderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANEHoussine	Neurochirurgie
ABOUSSAIRNisrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALIImane	Psychiatrie	HACHIMIAbdelhamid	Réanimationmédicale
ADERDOURLahcen	Oto- rhino- laryngologie	HAJJIbtissam	Ophtalmologie
ADMOUBrahim	Immunologie	HAROUKaram	Gynécologie- obstétrique
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgiepédiatrique	HOCAROuafa	Dermatologie
AIT AMEURMustapha	Hématologie Biologique	JALALHicham	Radiologie
AIT BENALISaid	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgiepédiatrique
AIT BENKADDOURYassir	Gynécologie- obstétrique	KHALLOUKIMohammed	Anesthésie- réanimation
AIT-SABIImane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AKHDARINadia	Dermatologie	KHOUCHANIMouna	Radiothérapie

ALAOUIMustapha	Chirurgie- vasculaire péripherique	KISSANINajib	Neurologie
AMALSaid	Dermatologie	KOULALI IDRISIKhalid	Traumato- orthopédie
AMINEMohamed	Epidémiologie- clinique	KRATIKhadija	Gastro- entérologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRIETMohamed	Ophtalmologie
AMROLamyae	Pneumo- phtisiologie	LAGHMARIMehdi	Neurochirurgie
ANIBAKhalid	Neurochirurgie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
ARSALANELamiaie	Microbiologie -Virologie	LAOUADInass	Néphrologie
ASMOUKIHamid	Gynécologie- obstétrique	LOUHABNisrine	Neurologie
ASRIFatima	Psychiatrie	LOUZIAbdelouahed	Chirurgie - générale
BASRAOUIDounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIRAhlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDIFatiha	Psychiatrie
BELKHOUAhlam	Rhumatologie	MANSOURINadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BEN DRISSLaila	Cardiologie	MAOULAININEFadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BENCHAMKHAYassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MATRANEAboubakr	Médecinenucléaire
BENELKHAIAT BENOMARRidouan	Chirurgie - générale	MOUAFFAKYoussef	Anesthésie - réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUDOUNISaid Mohammed	Urologie
BENJILALILaila	Médecineinterne	MOUFIDKamal	Urologie
BENZAROUELDounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MOUTAOUAKILAbdeljalil	Ophtalmologie
BOUCHENTOUFRachid	Pneumo- phtisiologie	MSOUGGARYassine	Chirurgiethoracique
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	NAJEBYoussef	Traumato- orthopédie
BOUKHANNILahcen	Gynécologie- obstétrique	NARJISSYoussef	Chirurgiegénérale
BOUKHIRAAbderrahman	Biochimie - chimie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUMZEBRADrissi	Chirurgie Cardio-Vasculaire	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURRAHOUATAicha	Pédiatrie	NOURIHassan	Oto rhino laryngologie

BOURROUSMonir	Pédiatrie	OUALI IDRISIMariem	Radiologie
BOUSKRAOUMohammed	Pédiatrie	OULAD SAIADMohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIKRachid	Traumato- orthopédie	QACIF Hassan	Médecineinterne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOUSYoussef	Anesthésie- réanimation
CHELLAKSaliha	Biochimie- chimie	RABBANIKhalid	Chirurgiegénérale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADANoureddine	Pédiatrie
CHOULLI MohamedKhaled	Neuro pharmacologie	RAISHanane	Anatomiepathologique
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJIAbdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISSGhizlane	Pédiatrie	ROCHDIYoussef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAIDIHalim	Traumato- orthopédie
EL ANSARINawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL BARNIRachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTIImane	Rhumatologie	SARFISmail	Urologie
EL BOUIHIMohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SORAAAbila	Microbiologie - Virologie
ELFEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANIAbderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	TASSINoura	Maladiesinfectieuses
EL HATTAOUMustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HOUDZIJamila	Pédiatrie	YOUNOUSSaid	Anesthésie-réanimation
EL IDRISSE SLITINENadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL KARIMISaloua	Cardiologie	ZAHLANEMouna	Médecineinterne
EL KHAYARIMina	Réanimationmédicale	ZAOUISanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIBGhizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZIADIAmra	Anesthésie - réanimation
ELFIKRIAbdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNILamiaa	Médecineinterne	ZYANI Mohammed	Médecineinterne
FADILIWafaa	Néphrologie		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie – Cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
AISSAOUIYounes	Anesthésie – réanimation	KADDOURI Said	Médecineinterne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJSoumaya	Radiologie	LAKOUICHMIMohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
ATMANE El Mehdi	Radiologie	MARGADOmar	Traumatologie –orthopédie
BAIZRIHicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	MEJDANEAbdelhadi	Chirurgie Générale
BELBACHIR Anass	Anatomie– pathologique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto–Rhino – Laryngologie
BELBARAKARhizlane	Oncologiemédicale	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	NADER Youssef	Traumatologie – orthopédie
BENALIAAbdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RBAIBI Aziz	Cardiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SAJIAIHafsa	Pneumo- phtisiologie
DAROUASSIYoussef	Oto–Rhino – Laryngologie	SALAMATarik	Chirurgiepédiatrique
EL AMRANI MoulayDriss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie – Réanimation
EL HAOUATIRachid	Chirurgie Cardio–vasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie – Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie – Réanimation
EL OMRANIAbelhamid	Radiothérapie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
FAKHRIAnass	Histologie– embyologie cytogénétique	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
GHAZI Mirieme	Rhumatologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDIYoussef	Anesthésie réanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	ELQATNI Mohamed	Médecineinterne
AIT ERRAMIAdil	Gastro-entérologie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio-organique
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
AMINE Abdellah	Cardiologie	GHOZLANI Imad	Rhumatologie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	HAJJIFouad	Urologie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	Hammoune Nabil	Radiologie
AZIZakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgiegénérale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie -Réanimation	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELLASRISalah	Radiologie	MAHFOUD Tarik	Oncologiemédicale
BENANTARLamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgiegénérale	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	NASSIHHouda	Pédiatrie
BOUTAKIOUTEBadr	Radiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NYA Fouad	Chirurgie Cardio - Vasculaire
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	OUEIAGLI NABIHFadoua	Psychiatrie
CHETTATIMariam	Néphrologie	OUMERZOUKJawad	Neurologie

DAMI Abdallah	Médecine Légale	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie- pathologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organique	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	TAMZAOURTE Mouna	Gastro - entérologie
EL HAMZA OUI Hamza	Anesthésie réanimation	WARDA Karima	Microbiologie
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire

LISTE ARRÊTÉE LE 24/09/2019



Remerciements



**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DE THESE : MME. KHOUCHANI
MOUNA PROFESSEUR ET CHEF DE SERVICE DE RADIOTHERAPIE AU
CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH.**

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ma thèse. Je vous remercie pour votre enseignement et je vous suis très reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre charisme et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et m'inspirent une grande admiration. Veuillez trouver ici, professeur, l'expression de mes sincères remerciements et de ma haute considération.

A MON MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE PROFESSEUR RAIS HANANE

Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse et de m'avoir permis de le mener à bien. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée en accueillant dans votre département un thésard sans expérience en biologie moléculaire et aux connaissances limitées dans le domaine de la signalisation cellulaire. Merci également de m'avoir transmis vos connaissances et partager votre expérience tout au long de mes années d'études et plus particulièrement pendant cette année de thèse. Votre savoir, votre intégrité et vos qualités humaines font de vous un modèle que je veux ou plutôt que j'espère atteindre un jour.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE PROFESSEUR Z. SAMLANI

Je suis infiniment sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger parmi mon jury de thèse. J'ai bénéficié au cours de mes études de votre enseignement clair et précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines et votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de ma grande estime et de mon sincère reconnaissance.

A NOTRE MAITRE PROFESSEUR RABBANI KHALID

Je vous remercie de m'avoir honoré par vôtre présence Je vous remercie pour vôtre enseignement et je vous suis très reconnaissant de bien vouloir porter intérêt à ce travail Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de mon estime et de ma profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE : PROFESSEUR A.FAKHRI

Je vous remercie d'avoir accepté mon invitation en tant que membre de jury à cette thèse. Je vous remercie de vôtre enseignement et je vous suis très reconnaissant de bien vouloir porter intérêt à ce travail Votre présence, le temps et l'attention que vous m'avez accordé à lire ce travail sont un honneur pour moi Veuillez accepter, professeur, mes sincères remerciements et mon profond respect

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE PROFESSEUR FZ. HAZMIRI

Je vous remercie pour la spontanéité et la simplicité avec lesquelles vous avez accepté de juger ce travail. J'ai eu auprès de vous le guide qui m'a reçu en toutes circonstances avec sympathie, sourire et bienveillance. Votre probité au travail et votre dynamisme, votre sens de responsabilité m'ont toujours impressionnés et sont pour moi un idéal à atteindre. Je vous prie cher Maître, d'accepter ma profonde reconnaissance et ma haute considération.



Liste d'abréviations



Liste d'abréviations

5FU	:	5-fluorouracile
ADK	:	adé nocarcinome
ADN	:	acide désoxyribonucléique
ADP	:	adé nopathie
BRAF	:	Murine sarcoma viral oncogene homolog
CCR	:	Cancer Colorectal
CIMP	:	CpG Island MethylatorPhenotype
CIN	:	chromosome instability
EGFR	:	EpidermalGrowth Factor Receptor
HE	:	Hé matéine Eosine
HNPCC	:	Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer
IHC	:	Immuno-Histo-Chimie
KRAS	:	Kirsten rat sarcoma virus
MLH	:	MutL homologue
MMR	:	MismatchRepair
MSH	:	MutS homologue
MSI	:	Micro Satellite Instability
MSS	:	Micro Satellite Stability
NRAS	:	Neuroblastome Rat Sarcoma Virus
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	:	polymerasechainreaction
PMS	:	postmeioticsegregation
TNM	:	Tumor, Nodes, Metastasis
WHO	:	world healthorganization
WT	:	wild-type



Plan



INTRODCUTION	1
MATERIELS ET METHODES	6
I. Type d'étude, patients et matériels	7
1. Type et durée d'étude	7
2. Critères d'inclusion	7
3. Critères d'exclusion	7
4. Sources des données	7
5. Paramètres recueillis	8
6. Méthode d'analyse des données	8
7. Difficultés rencontrés	8
II. Méthode de travail	9
1. Immunohistochimie : Recherche du statut MMR	9
2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6	15
3. Biologie moléculaire : Recherche de mutations RAS et BRAF	16
RESULTATS	23
I. Recherche de mutations RAS et BRAF	24
1. Age	24
2. Sexe	25
3. Nombre de biopsies et de pièces opératoires	25
4. Origine de la demande	26
5. Site de la tumeur principale	26
6. Localisation anatomique de la métastase	27
7. Type histologique	27
8. Différenciation tumorale	29
9. Recherche des mutations	30
II. Résultats pour le statut MMR	33
1. Age	33
2. Sexe	34
3. Nombre de biopsies et de pièces	34
4. Recherche du statut MMR	35
5. Protéines incriminées	35
DISCUSSION	37
I. GÉNÉRALITÉS	38
1. Identification du statut d'instabilité micro-satellitaire dans le CCR	38
2. Mutation RAS	40
3. Mutation BRAF	41
4. Thérapie ciblée des CCR métastatiques : génotypage RAS/BRAF	45
5. Mutation BRAF V600E	46
II. Aspects épidémiologiques	47
1. Place du cancer colorectal	47
2. Situation géographique	48
3. Age	51
4. Sexe	51
III. MUTATIONS KRAS, NRAS, BRAF	53

CONCLUSION	57
PERSPECTIVE	60
ANNEXES	62
RESUME	68
BIBLIOGRAPHIE	75



Introduction



Selon l'OMS : l'adénocarcinome colorectal est une tumeur épithéliale maligne développée au dépend du gros intestin et présentant une différenciation glandulaire ou mucineuse. [1]

Le CCR représente un problème majeur de santé mondiale [2,3], c'est le troisième cancer dans le monde après le cancer du poumon et le cancer du sein [4].

Selon une étude réalisée à l'IN O à Rabat, le CCR occuperait la première place parmi les cancers digestifs au Maroc (40,3%) [5].

Son incidence varie d'un pays à l'autre du fait des différences dans le mode de vie des populations, le type d'alimentation et la prédisposition héréditaire. Cependant, un constat est commun c'est le rajeunissement de la population atteinte de ce type de cancer [6].

Le diagnostic positif est basé sur l'étude anatomopathologique de la biopsie colorectale réalisée sous coloscopie. Elle permet aussi de définir les facteurs histopronostiques et prédictifs de la réponse thérapeutique. La pièce opératoire permet de recueillir les autres facteurs histopronostiques nécessaires à la stadification pTNM et ou de voir la réponse post thérapeutique.

Le traitement repose classiquement sur une resection chirurgicale carcinologique, associée ou non à la radiothérapie, la chimiothérapie et de plus en plus sur la thérapie ciblée.

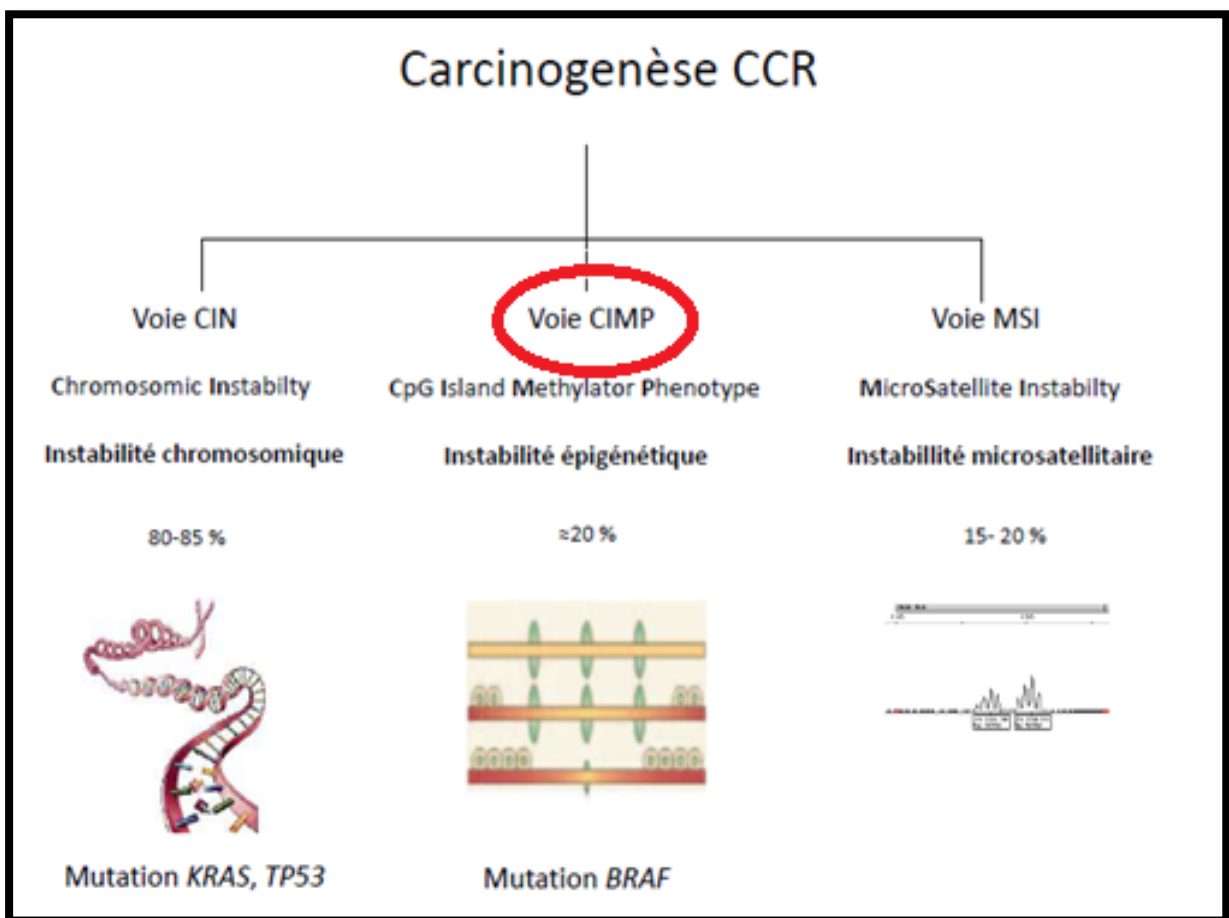
Cependant, en raison des différences de génotypes entre les différents individus, l'incidence de la résistance à la chimiothérapie augmente considérablement.[7] Par conséquent, l'objet du traitement au cours des dernières années était de parvenir à un traitement médical personnalisé du CCR.

Des études ont montré que les voies moléculaires de signalisation intracellulaire, l'instabilité micro-satellitaire ainsi que l'instabilité chromosomique jouent un rôle important dans le développement des CCR. [8]

Les CCR sont usuellement subdivisés en au moins 2 grandes catégories sur la base de leurs altérations génétiques témoignant de voies de carcinogénèse distinctes :

- Les tumeurs avec instabilité chromosomique ou CIN
- Les tumeurs avec instabilité génétique ou MSI

Une troisième catégorie de tumeurs a été individualisée plus récemment : elles se caractérisent par une instabilité épigénétique ou CIMP.



Les tumeurs MSI qui nous intéressent, représentent 12 à 15% des CCR. Elles sont fréquemment euploïdes et se caractérisent par une instabilité des séquences répétitives de type microsatellite.

L'instabilité microsatellitaire est la conséquence d'une défaillance du système de réparation des mésappariements de l'ADN qui surviennent au cours de la réplication : c'est le système MMR, dont les principaux gènes codants sont les gènes MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Lorsque le système MMR ne fonctionne plus, les mutations s'accumulent dans le génome qui devient « hypermuté ».

Les microsatellites sont des séquences courtes et répétitives de l'ADN particulièrement exposées aux erreurs de mésappariements lors de la réplication. En cas d'erreurs de mésappariements, le système MMR assure la réparation, contribuant ainsi au maintien de la stabilité du génome. La déficience du système MMR se traduit par une production de microsatellites de longueurs différentes : c'est l'instabilité microsatellitaire ou MSI.

Au niveau protéique, l'instabilité microsatellitaire s'accompagne d'une perte d'expression de protéine(s) du système MMR. On parle de tumeur dMMR (déficient MMR). L'origine de ce déficit est soit somatique (cas le plus fréquent, environ 80% des CCR MSI), soit constitutionnelle dans le cadre du syndrome de Lynch.

La recherche d'une instabilité microsatellitaire est effectuée dans le but de dépister les patients susceptibles d'être atteints d'un syndrome de Lynch ou à but thérapeutique dans les cas de CCR de stade II résistant à la chimiothérapie type 5FU.

La meilleure connaissance des mécanismes cellulaires et plus particulièrement des voies de signalisation a permis d'améliorer la prise en charge des patients, notamment en proposant pour chacune des anomalies acquises par la cellule cancéreuse, une thérapie ciblée. Certaines de ces thérapies sont déjà utilisées en routine dans le traitement des CCR métastatiques, c'est le cas par exemple des médicaments ciblant les récepteurs au facteur de croissance épidermique (EGFR).

L'exemple le plus connu dans le domaine du traitement des CCR métastatiques est celui de la protéine RAS. Bien que le gène RAS, codant pour cette protéine, soit connu comme étant un oncogène depuis le début des années 1980 [9,10] ce n'est qu'en 2008 que le lien entre présence d'une mutation somatique sur les codons 12 ou 13 et résistance aux traitements anti-EGFR (cetuximab ou panitumumab) a été établi [11]. Ces découvertes ont permis le développement du diagnostic moléculaire et de poser les premiers fondements de la théranostique en cancérologie digestive.

L'étude des biomarqueurs dans les CCR est ainsi devenue la règle lors d'un diagnostic de CCR métastatique. Avant toute prescription d'un traitement anti-EGFR associé à une chimiothérapie, la recherche des mutations de RAS, plus précisément des exons 2, 3 et 4 de KRAS et de NRAS, est désormais obligatoire [12,13]. Une mutation du gène RAS contre indique le traitement aux anti-EGFR. En plus de ces biomarqueurs maintenant bien connus, il semble indispensable d'étudier l'importance d'autres gènes comme BRAF et PIK3CA, fréquemment mutés dans les CCR métastatiques [14].

OBJECTIF DE L'ÉTUDE :

L'objectif de notre travail est d'établir le profil moléculaire des CCR via la recherche de mutations KRAS, NRAS et BRAF et de définir le profil immuno-histochimique pour identifier le profil MMR fonctionnel (proficient) ou MMR défaillant (deficient) approchant ainsi l'instabilité micro-satellitaire des cancers colorectaux puis d'analyser les résultats obtenus au sein du service d'anatomo-pathologie du CHU Mohammed VI de Marrakech et de les comparer à la littérature afin d'affiner le traitement, d'approcher le traitement personnalisé des patients.



Matériels et Méthodes



I. Type d'étude, patients et matériels :

1. Type et durée d'étude :

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective et prospective menée au service d'Anatomo-pathologie du CHU Mohammed VI de Marrakech portant sur une période de 3ans et 8 mois allant du 1^{er} Janvier 2016 au 31 Août 2019.

2. Critères d'inclusion :

- Patients présentant un CCR primitif ou secondaire confirmé à l'étude anatomo-pathologique.
- Prélèvements internes provenant des différents services du CHU et externes reçus de laboratoires d'anatomie pathologique privés sur lesquels une étude de biologie moléculaire à la recherche de mutations RAS/BRAFou d'immunohistochimie à la recherche d'une instabilité micro-satellitaire a été réalisée.

3. Critères d'exclusion :

- Epuisement du matériel tumoral inclus en paraffine.
- Non-conformité du prélèvement secondaire à une altération tissulaire (congelation) ou à un retard de fixation du matériel tumoral.
- Quantité d'ADN insuffisante.

4. Sources des données :

Les renseignements cliniques, histopathologiques, d'immunohistochimie et de biologie moléculaire ont été recueillis en consultant les données relatives à chaque dossier à partir des fiches d'examens anatomo-pathologiques archivées, et à partir d'une requête via le logiciel DIAMIC du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

5. Paramètres recueillis:

Les paramètres suivants ont été recueillis grâce à une fiche d'exploitation :ANNEXES

- ❖ La date de prélèvement : en particulier l'année ;
- ❖ L'âge ;
- ❖ Le sexe ;
- ❖ La localisation de la tumeur ;
- ❖ La nature du prélèvement : biopsie ou pièce opératoire ;
- ❖ Les caractéristiques microscopiques à l'examen anatomo-pathologique de la tumeur : Taille tumorale, type histologique, différenciation tumorale infiltration tumorale et pariétale ;
- ❖ Le site de recherche de mutation RAS et BRAF (primaire ou secondaire) ;
- ❖ L'envahissement ganglionnaire ;
- ❖ La technique de biologie moléculaire utilisée ;
- ❖ La répartition des cancers colorectaux muté / sauvage ;
- ❖ La recherche de mutations somatiques RAS et BRAF ;
- ❖ Les différents exons mutés ;
- ❖ La présence d'instabilité micro-satellitaire ;

6. Méthode d'analyse des données :

Les données ont été recueillies manuellement sous forme de tableau Excel, puis elles ont été saisies et traitées sur Excel.

7. Difficultés rencontrées :

Les principaux problèmes rencontrés ont été :

- L'absence de renseignements cliniques sur les bons de demande anatomo-pathologique.
- Les prélèvements non conformes liés aux aléas de la phase pré-analytique (mauvaise fixation).

II. Méthode de travail

1. Immunohistochimie : Recherche du statut MMR

L'expression de protéines recherchées peut être testée sur biopsie ou pièce opératoire, sur la tumeur principale ou le site métastatique ou lors d'une récurrence.

A noter que les demandes externes ont été acheminées à notre service sous forme de blocs communiqués, fixés et inclus en paraffine.

La phase pré-analytique conditionne la qualité de la technique immunohistochimique et donc la détection des protéines par IHC. C'est pour cela ces étapes doivent être contrôlées et maîtrisées, en particulier par le personnel en charge de la fixation.

Il est recommandé de réduire le plus possible la durée d'ischémie froide des prélèvements. L'ischémie froide est définie comme le temps écoulé entre le moment où le prélèvement tissulaire est extrait du corps humain et sa mise au contact du fixateur. Généralement pour les pièces opératoires un retard de fixation supérieur à 1 heure diminue de manière significative la détection de marqueurs immunohistochimiques. Pour les biopsies il faut fixer le prélèvement immédiatement dans le fixateur (délai de quelques minutes).

Le seul fixateur recommandé est le formol tamponné à 4%, les prélèvements doivent être fixés durant 6 heures pour les biopsies et jusqu'à 48h pour les pièces opératoires, en utilisant un volume de fixateur suffisant.



Figure 1 : Formol tamponné à 4%

Un autre paramètre important à prendre en considération est l'inclusion en paraffine. L'utilisation d'une paraffine à point de fusion bas (inférieur à 60°C) est recommandée.

L'évaluation de la qualité de la préservation du tissu et de sa fixation et de la quantité de cellules tumorales sur la coloration standard Hématéine éosine (HE) est une étape préalable indispensable à toute interprétation.

L'utilisation rationnelle est souhaitable (surtout lorsqu'on a des prélèvements de petite taille) en favorisant l'inclusion des fragments dans plusieurs cassettes et en réalisant d'emblée plusieurs lames blanches pour ne pas avoir à dégrossir à nouveau le bloc et épuiser le matériel biologique. Il faut notamment prévoir un nombre suffisant de lames blanches pour réaliser les techniques complémentaires (immunohistochimie et éventuellement biologie moléculaire).



Figure 2 : Essuyage du microtome et de la pince par DNA lytique, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 3 : Réalisation de coupes et rubans des prélèvements à étudier, CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 4 : Étalement des prélèvements étudiés et préparation de lames, CHU Mohammed VI Marrakech

L'appareil AutostainerLinker48 (Dako) (Figure 05) a permis d'effectuer la technique immunohistochimique (IHC) automatisée sur 55 coupes de tissus de CCR fixés et inclus en paraffine. Ceci pour évaluer l'expression des marqueurs du statut MMR (MLH-1, PMS2, MSH2, MSH6). L'automatisation de la technique permet de la standardiser et d'avoir une paillasse de qualité. Cette technique immunohistochimique est soumise au contrôle qualité de l'UK NEQAS (Service national externe d'évaluation de la qualité du Royaume-Uni).

La description des marqueurs ciblés et des protocoles d'immunohistochimie figurent dans le Tableau 1 et Tableau 2.



Figure 5 : Appareil d'immunohistochimie AutostainerLink48 de Dako, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

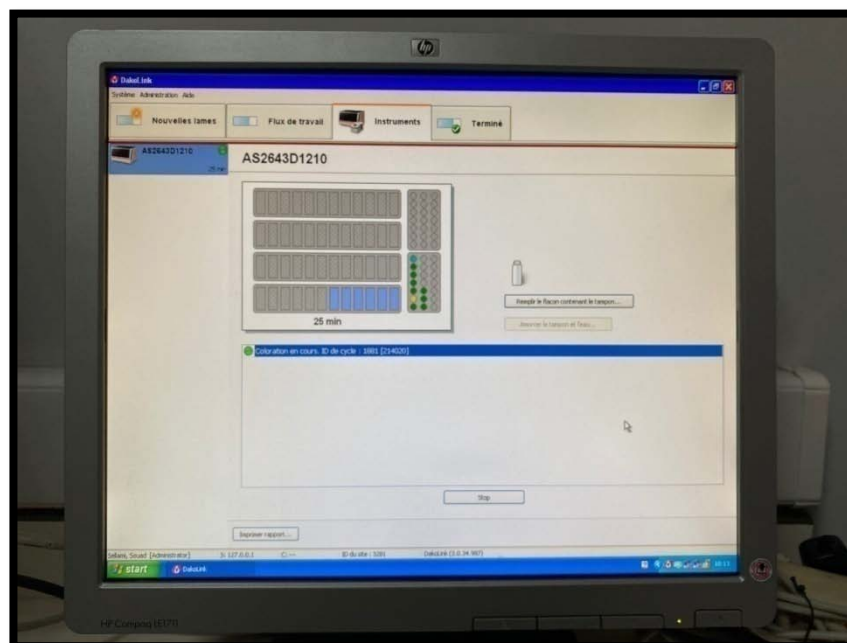


Figure 6 : Logiciel de traçabilité de la technique immunohistochimique, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

Tableau I: Marqueurs utilisés en technique immunohistochimique

Marqueurs	Fabriquant	Clone	Isotype	Expression
MLH1	Dako	ES05	IgG1	Nucléaire
PMS2	Dako	EP51	IgG1	Nucléaire
MSH2	Dako	FE11	IgG1	Nucléaire
MSH6	Dako	EP49	IgG1	Nucléaire

L'immunohistochimie a été réalisée sur des coupes de paraffine de 3 µm. Les lames ont été incubées toute une nuit dans l'étuve à 37°C puis prétraitées par ébullition pendant 20 min avec un PTlink (Bain marie automatique) dans un tampon de démasquage (pH 9, Dako) avant l'application d'anticorps monoclonaux spécifiques. Après démasquage les lames ont été rincées par le Tampon de lavage (dilution 1/20). Une méthode d'immunopéroxydase a été utilisée pour visualiser les anticorps fixés, avec comme chromogène le 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) de Dako qui en présence de l'enzyme peroxydase produit un précipité brun.

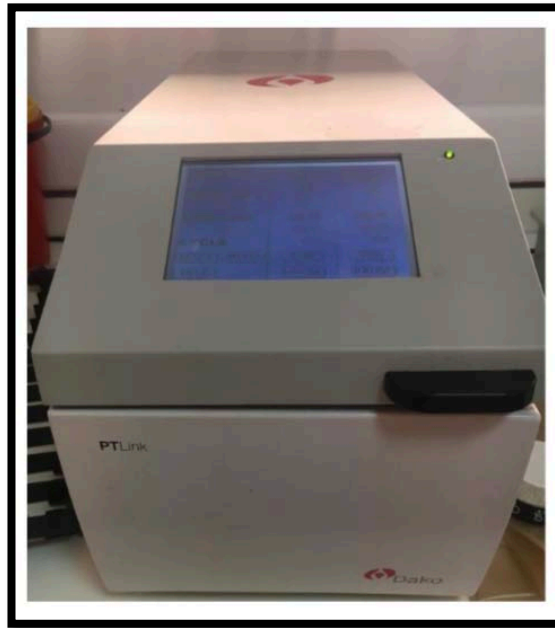


Figure 7 : Appareil de prétraitement PTlink, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6

Pour la révélation du statut MMR au sein du CCR, (La technique immunohistochimique légèrement modifiée : augmentation du temps d'incubation de l'anticorps et du DAB, l'ajout d'un Linker après incubation de l'anticorps primaire pendant 10minutes). Ceci est dû au fait que le test MMR se fait généralement sur des pièces opératoires qui sont souvent mal fixées (modifications recommandées par le fournisseur des anticorps (Dako)).

Tableau II : Protocole d'immunohistochimie pour la révélation des protéines utilisées

Anticorps Primaire	Prétraitement	Dilution	Temps d'incubation	Réactif de visu	Dilution	Temps d'incubation	Révélation
Anti-MLH1	Tampon concentré (x50) PH 9	1 :50 Dako	1H	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	30 min	DAB (Kit Dako)
Anti-PMS2	Tampon concentré (x50) PH 9	1 :50 Dako	1H	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	30min	DAB (Kit Dako)
Anti-MSH2	Tampon concentré (x50) PH 9	1 :50 Dako	1H	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	30min	DAB (Kit Dako)
Anti-MSH6	Tampon concentré (x50) PH 9	1 :50 Dako	1H	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	30min	DAB (Kit Dako)

3. Biologie moléculaire : Recherche de mutations RAS et BRAF :

Pour effectuer la recherche de mutations KRAS, NRAS et BRAF, les laboratoires doivent être certifiés par des programmes d'assurance qualité. C'est le cas du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech qui propose des tests validés par des organismes internationaux (EQA Expert Lab- University Munich Germany).

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.



Figure 8 : Certifications d'assurance qualité et de performance du service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 9 : Remise de la certification d'assurance qualité par le RAS-Expert Laboratory (LMU)

Technique utilisée :

a. Lowdensity micro arraybasedplatform : « Genomica »

C'est une plateforme de micropuces à faible densité à usage clinique qui permet la détection de cibles multiples en un seul test. Le traitement des échantillons est simple. L'analyse et l'interprétation des résultats sont effectuées automatiquement par un lecteur (CAR ou clinicalarrayreader) Figure ci-dessous utilisant un logiciel sur mesure.

Sa simplicité rend cette technologie adaptée à tous les laboratoires de diagnostic moléculaire.

Elle permet l'automatisation complète de l'étape de visualisation afin de réduire le temps de manipulation nécessaire au processus, ainsi que la variabilité inter-essai.

Elle permet aussi de tester de 1 à 96 échantillons à la fois.



Figure 10 : Clinical array reader « Appareil GENOMICA », centre de recherche clinique CHU Mohammed VI Marrakech

- Extraction de l'ADN tumorale (macrodissection zone la plus riche en cellules tumorales >50% si possible)

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Il s'agit d'une étape essentielle automatisée utilisant l'appareil Maxwell 16 System.

Cet automate utilise une technologie innovante de capture de billes magnétiques, sans distribution, filtration, ni aspiration de réactifs, limitant le temps de manipulation et les risques d'erreurs.

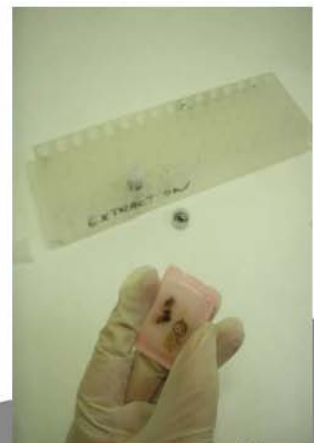
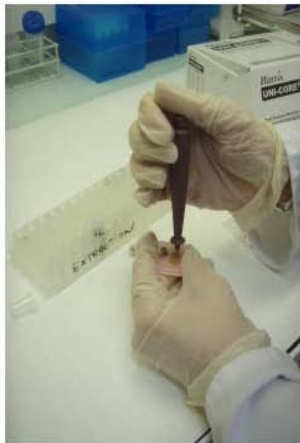


Figure 11: Étapes de sélection tumorales et extraction d'ADN(richesse en cellules tumorales de 60% marquée par le pathologiste), service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI

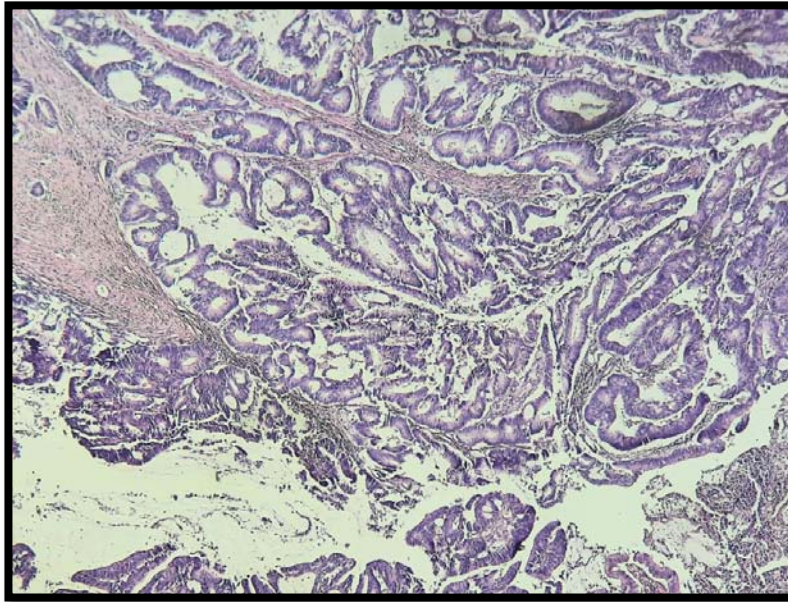
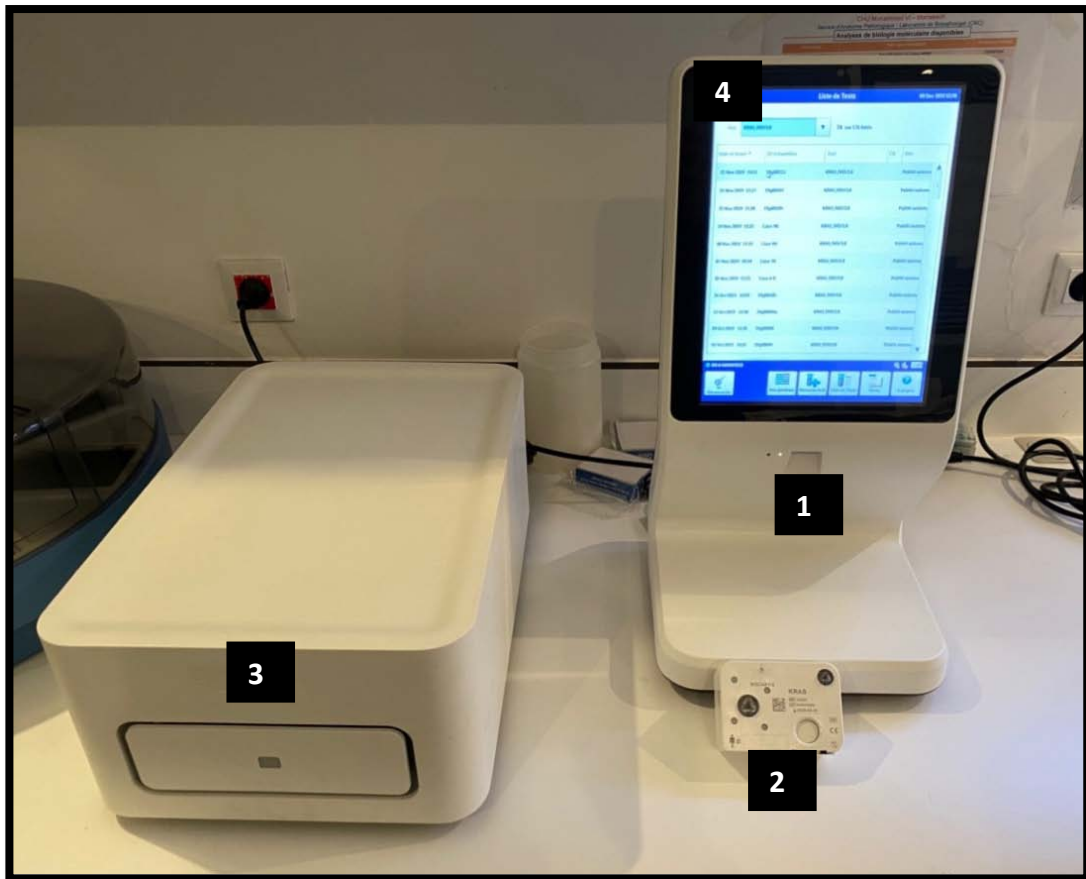


Figure 11 : Aspect histologique d'un ADK colique bien différencié et infiltrant au niveau du foyer sélectionné

❖ Amplification de l'ADN par PCR

b. Full-automated real-time PCR based molecular testing system : « Idylla »

L'appareil Idylla est un système de test moléculaire révolutionnaire, entièrement automatisé, basé sur la PCR en temps réel conçu pour offrir des résultats en un minimum de temps. Il rend les tests moléculaires rapides, pratiques et adaptés à n'importe quel laboratoire certifié.



1. Scanner le prélèvement et la cartouche.
2. Insérer le prélèvement dans la cartouche.
3. Insérer la cartouche pour analyse.
4. Affichage du résultat après 90 à 150min

**Figure 12 : Appareil Idylla automatisé de recherche de mutations, centre de recherche clinique
CHU Mohammed VI Marrakech**



Résultats



I. Recherche de mutations RAS et BRAF :

Nous avons recueilli 88 cas de CCR métastatique pour lesquels une demande de recherche de mutations RAS et BRAF a été établie

1. Age :

Dans notre série, la moyenne d'âge est de 57 ans tout sexe confondu avec des extrêmes d'âge allant de 17 à 79 ans.

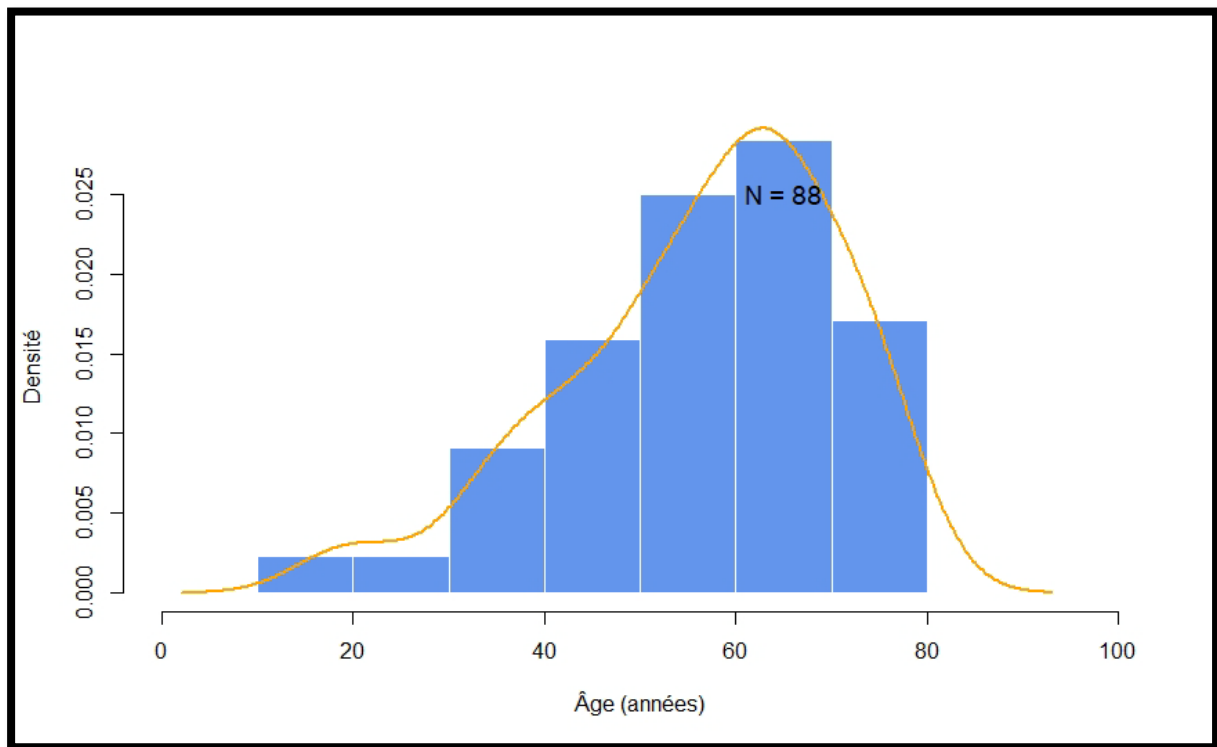


Figure 13 : Répartition des patients en fonction de l'âge.

2. Sexe :

Sur nos 88 cas de cancers colorectaux, 56 cas sont de sexe masculin et 32 cas sont de sexe féminin avec un ratio de 1,75.

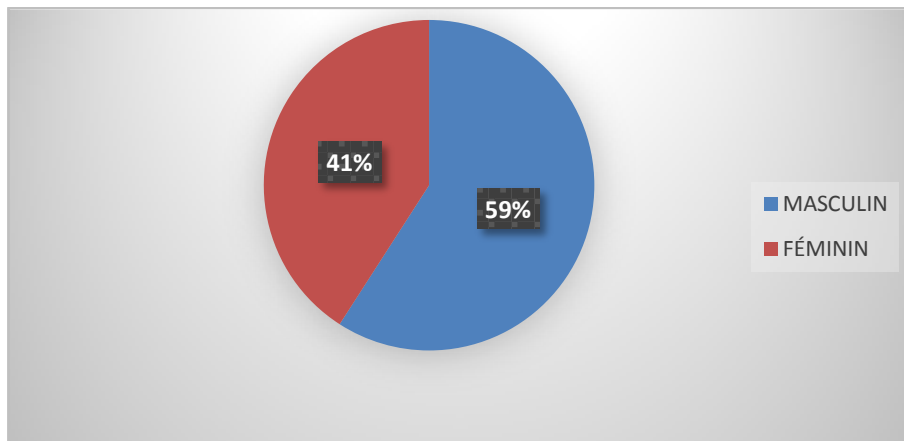


Figure 14 : Répartition des patients en fonction du sexe.

3. Nombre de biopsie et de pièce opératoire :

Dans l'ensemble des cas étudiés, nous avons pu recueillir 40 cas de biopsies soit 45,45% contre 48 pièces opératoires soit 54,55%.

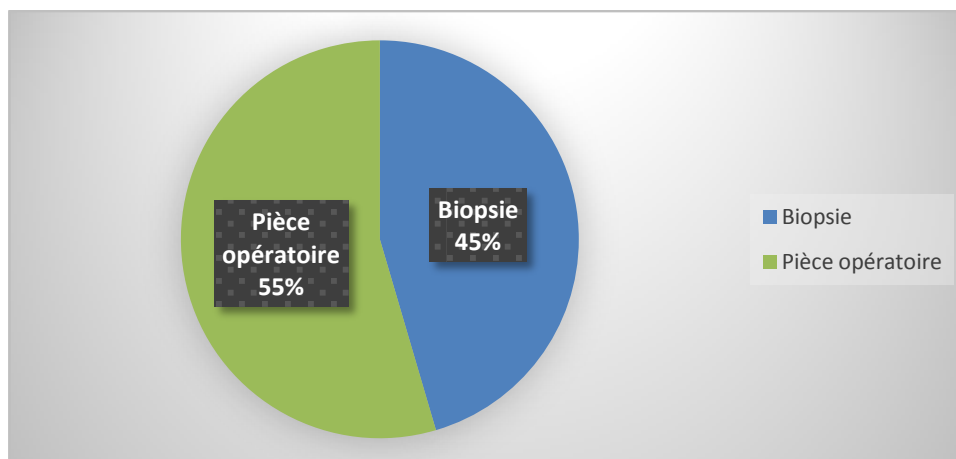


Figure 15 : Type de prélèvement exprimé en pourcentage.

4. Origine de la demande :

La source de la demande provient de Laboratoires d'anatomie pathologique privés dans 57 cas soit 64,7% contre 31 cas des différents services du CHU Mohammed VI soit 35,3%.

5. Site de la tumeur principale :

Sur l'ensemble des cas recueillis, le nombre de cas de cancer métastatique à localisation primaire colique était de 49 cas, ce qui représente 55,8% du cancer colorectal métastatique, contre 35 cas siégeant au niveau rectal, ce qui représente 39,7% et 4 cas soit 4,5% de localisation mixte.

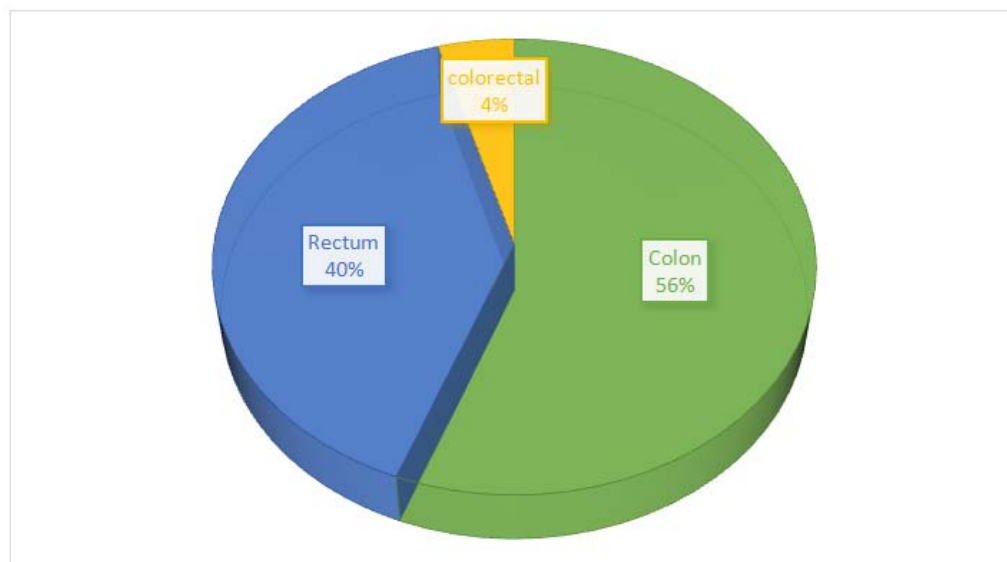


Figure 15 : Localisation du cancer colorectal métastatique en pourcentage.

6. Localisation anatomique de la métastase :

Dans notre série, Il y avait 22 cas soit 25% de cancer à métastase hépatique, 16 cas soit 18% à métastase ganglionnaire, 12 cas soit 11,60% à métastase pulmonaire, et 6 cas soit 5,80% à métastase péritonéale comme nous le montre le tableau ci-dessous.

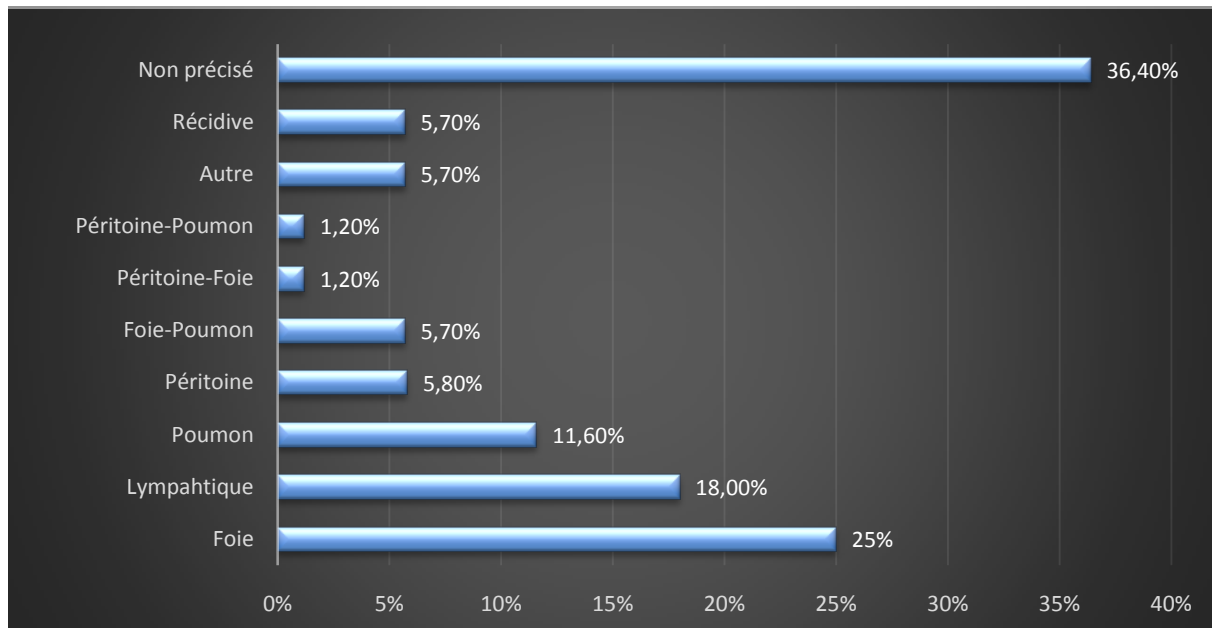


Figure 16 : Localisation des métastases en pourcentage.

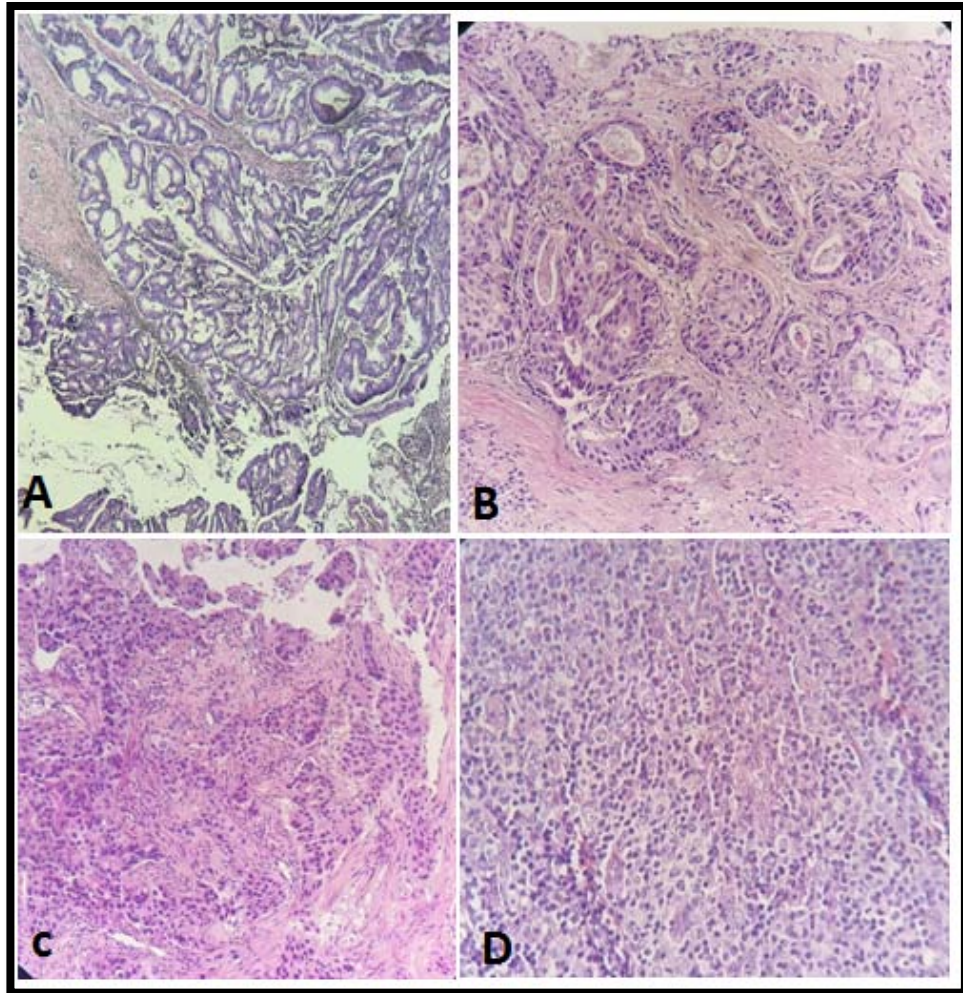
7. Type histologique :

Le cancer colique se présentait dans la plupart des cas sous forme d'ADK lieberkunien (80,68%) suivi d'ADK à composante mucineuse puis d'ADK à cellules en bague à chaton comme nous le montre le tableau ci-dessous.

Tableau III : Les différents aspects microscopiques du cancer colorectal dans notre série.

Aspect microscopique	Nombre	Pourcentage
Adk lieberkunien	71	80,68%
Adk mucineux	12	13,64%
Adk à cellules en bague à chaton	2	2,27%
Non préciser	3	3,41%

8. Différenciation tumorale :



- A. ADK bien différencié
- B. ADK moyennement différencié
- C. ADK peu différencié
- D. ADK indifférencié

Figure 17 : Aspect morphologique d'un ADK colorectal en fonction du degré de différenciation

Dans notre série, l'étude de la différenciation a révélé ce qui suit :

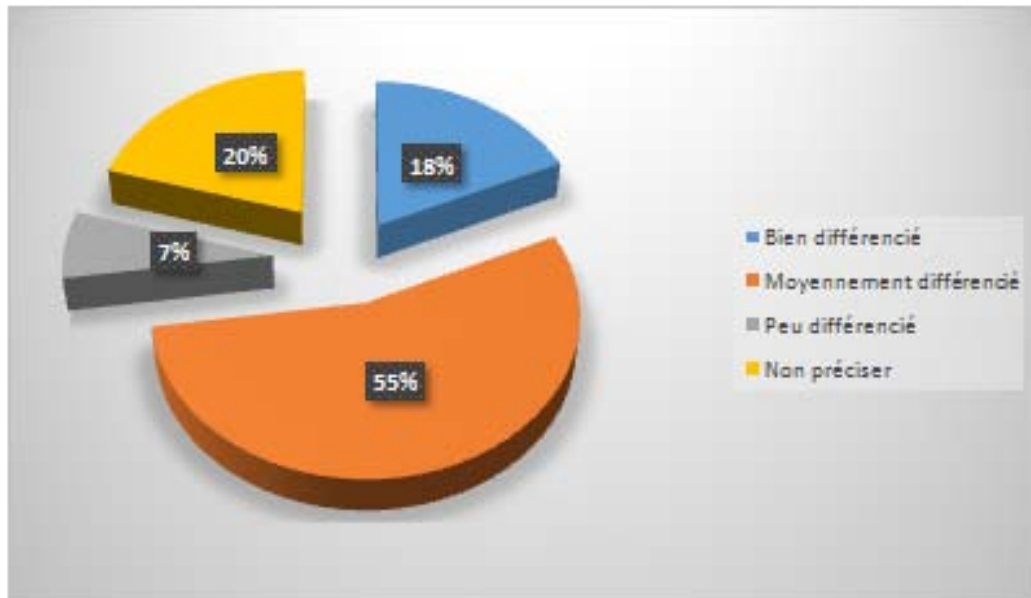


Figure 18 : Répartition de la différenciation du cancer colorectal dans notre série.

Ainsi, le cancer colique était le plus souvent moyennement différencié (54,54% des cas) et le moins souvent peu indifférencié (6,82% des cas).

9. Recherche des mutations :

Sur nos 88 cas la recherche de mutation a été faite par la technique « Genomica » (Low density microarray based platform) dans 52 cas et par la technique « Idylla » (Fully-automated real-time PCR based molecular testing system) dans 36 cas.

a. Répartition des CCR non muté (WT) et muté en fonction du gène KRAS / NRAS / BRAF :

Sur l'ensemble des cas recueillis, le nombre de cas de CCR de type sauvage « Wild-type » était de 42 ce qui représente 47,73%, contre 41 cas muté dont 35 cas soit 39,78% de type KRAS, 4 cas soit 4,54% de type NRAS et 2 cas soit 2,28% de type BRAF. Alors que le résultat était non concluant dans 5 cas soit 5,68% comme nous le montre la figure ci-dessous.

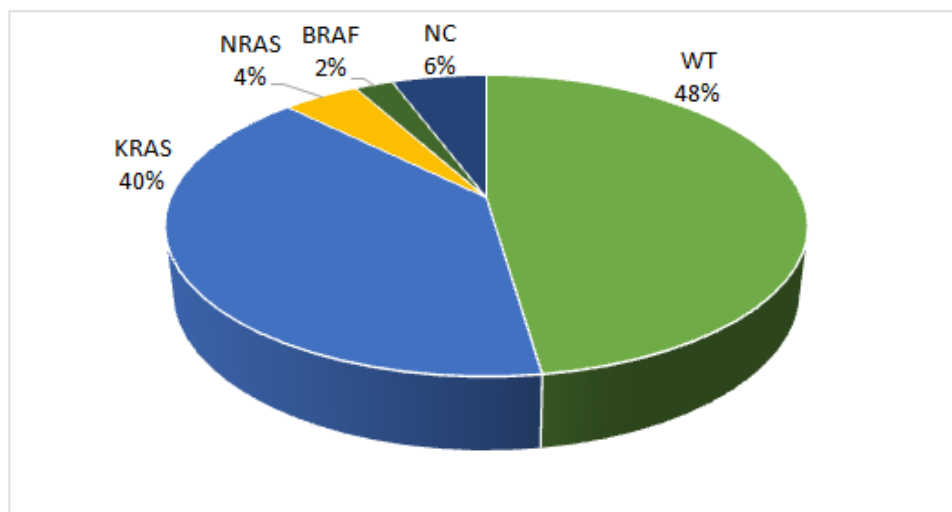


Figure 19 : CCR non muté et muté en fonction du gène exprimé en pourcentage.

b. Exon :

Dans notre série c'est l'exon 2 du gène KRAS qui était le plus fréquemment muté (23,80%) suivi de l'exon 3 (9,10%) puis de l'exon 4 (6,80%) du même gène. Tandis que l'exon 3 du gène NRAS n'était muté que dans 4,60% des cas comme le montre la figure ci-dessous.

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

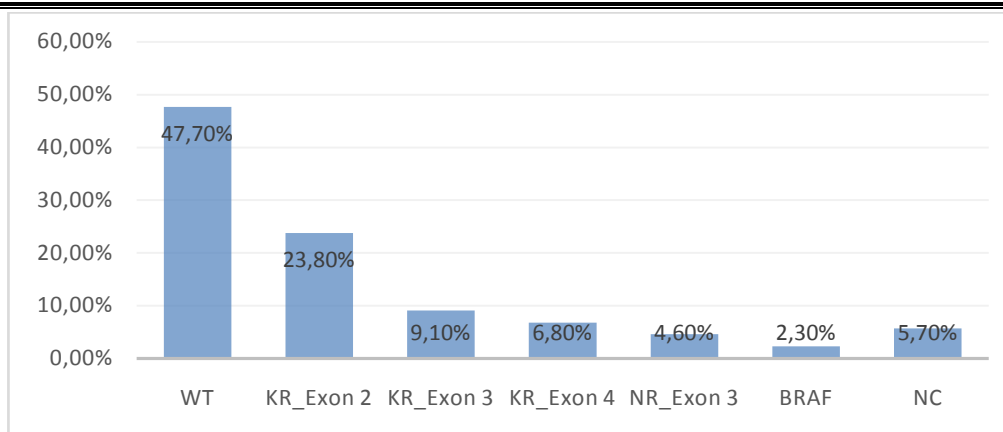


Figure 20 : Exon muté exprimé en pourcentage.

c. Répartition des CCR mutés en fonction du type de mutation :

Dans notre série la recherche du type de mutation a révélé ce qui suit :

Tableau V : Les différents types de mutation KRAS/NRAS/BRAF

WT	47,70%
KRAS.G12	21,60%
KRAS.G13	2,30%
KRAS.A146	6,80%
KRAS.Q61	7,90%
KRAS.A59	1,10%
NRAS.Q61	4,60%
BRAF	2,30%
NC	5,70%

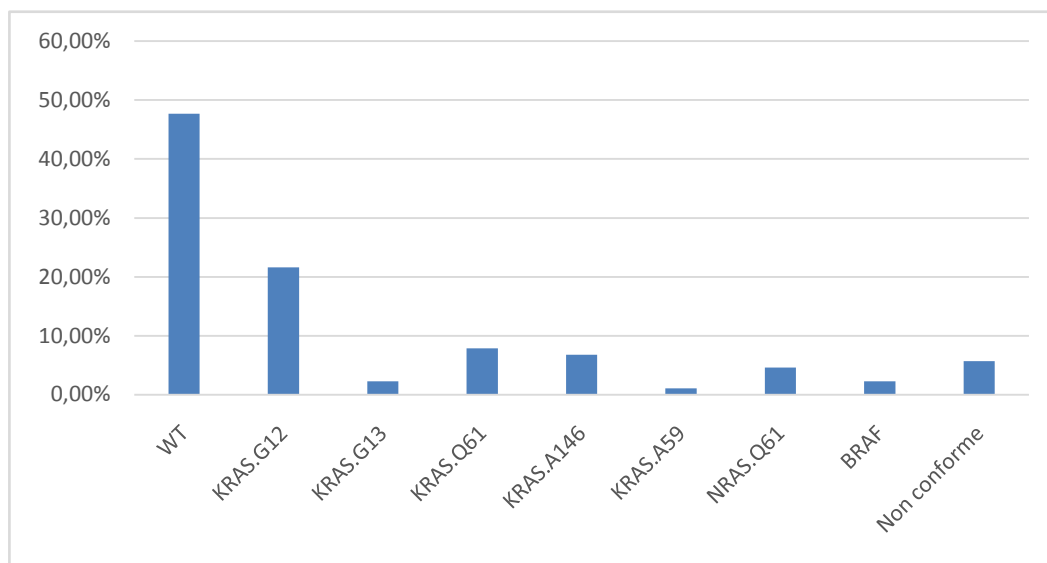


Figure 21 : Type de mutations exprimé en pourcentage.

II. Résultats pour le statut MMR :

Il s'agit d'une deuxième étude rétrospective descriptive portant sur 55 cas de cancers colorectaux métastatique sur lesquels une étude immuno-histochimiquea était faite pour identifier le profil MMR fonctionnel ou défaillant approchant ainsi l'instabilité micro-satellitaire.

- ❖ Statut MMR fonctionnel par IHC est l'équivalent d'une absence d'instabilité micro-satellitaire.
- ❖ Statut MMR défaillant par IHC est l'équivalent d'une instabilité micro-satellitaire.

1. Age

Dans cette série, la moyenne d'âge est de 54,25ans tout sexe confondu avec des extrêmes d'âge allant de 19 à 84 ans.

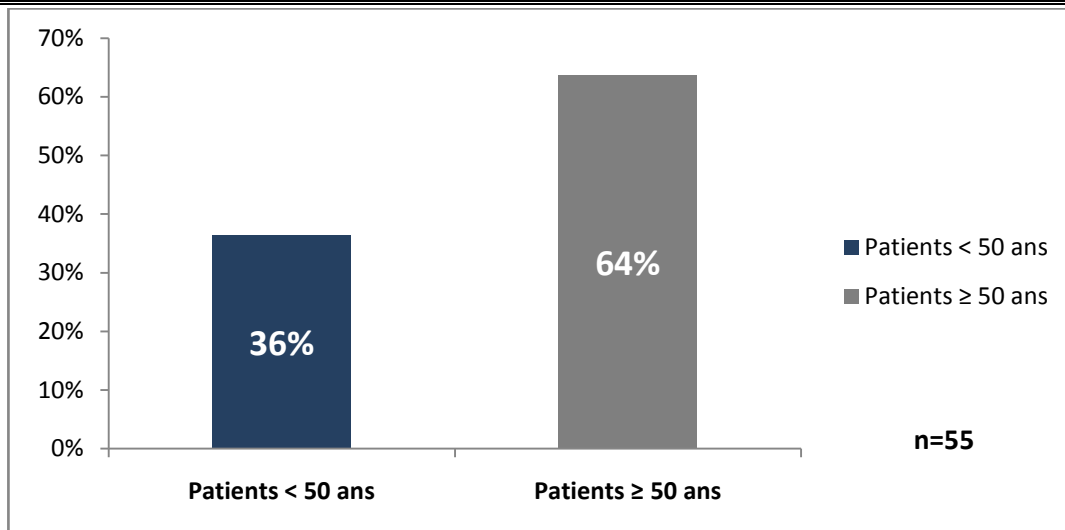


Figure 22 : Répartition des patients en fonction de l'âge exprimé en pourcentage

2. Sexe

Sur 55 cas de cancers colorectaux sur lesquels la recherche d'une instabilité micro-satellitaire a été faite. 34 cas étaient de sexe féminin et 21 cas étaient de sexe masculin avec un ratio de 1,62.

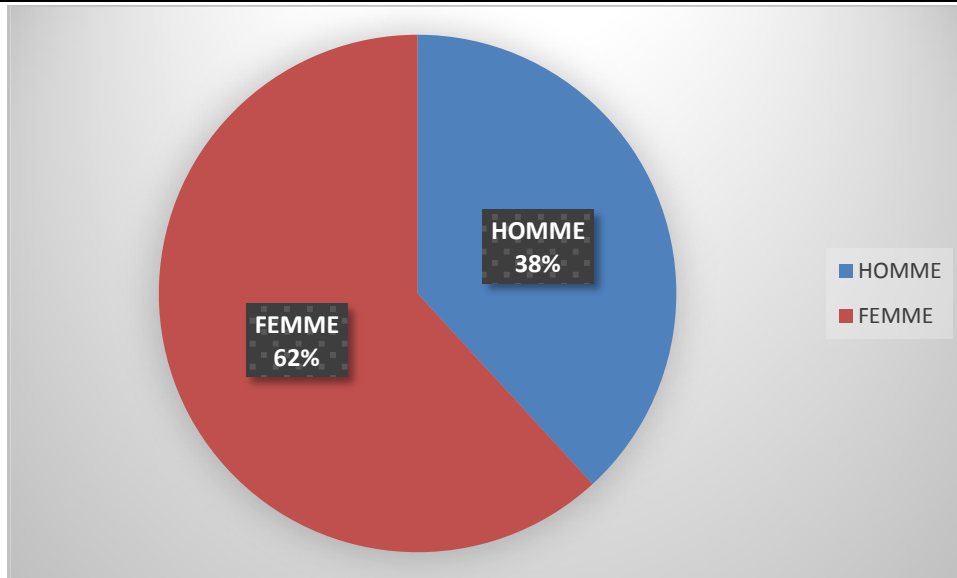


Figure 23 : Répartition des cas en fonction de sexe.

3. Nombre de biopsies et de pièces

Dans l'ensemble des cas de CCR, nous avons recueilli 40 biopsies soit 45,45% et 48 pièces opératoires soit 54,55%.

4. Recherche du statut MMR

Sur les 55 blocs tissulaires de patients qui ont fait l'objet d'une étude immunohistochimique à la recherche du statut MMR nous avons trouvé 13 cas MMR défaillant (déficient) soit 24%.

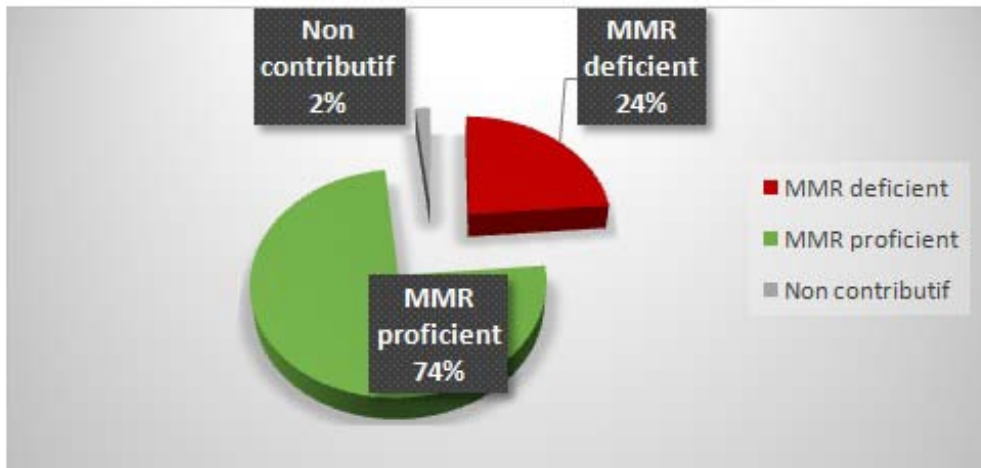


Figure 24 : Répartition des cas en fonction du profil MMR (proficient) ou (déficient)

5. Protéines incriminées

Dans notre série, pour les cas MMR défaillant (déficient) la perte d'expression de MLH1/PMS2 a été retrouvée dans 10 cas soit 18,18%, contre 3 cas de perte d'expression de MSH2/MSH6 soit 5,45%. Tandis que le reste des cas se sont révélés MMR fonctionnel (proficient).

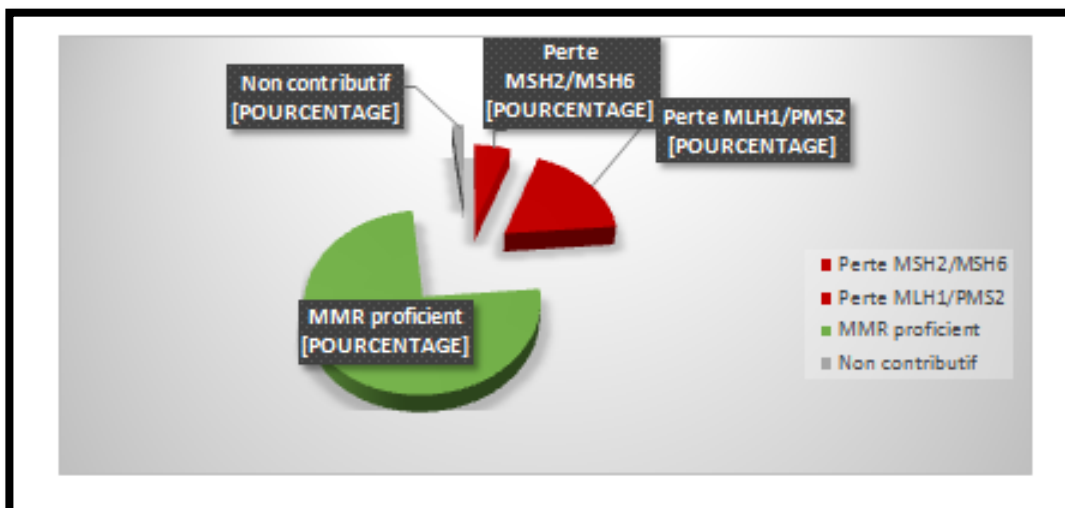


Figure 25 : Répartition des cas en fonction de la protéine incriminée



Discussion



I. GÉNÉRALITÉS [15]

1. Identification du statut d'instabilité micro-satellitaire dans le CCR

a. But

C'est un marqueur diagnostique car il permet d'identifier les patients porteurs d'un syndrome HNPCC. Il peut aussi servir comme marqueur thérapeutique permettant d'envisager un traitement adjuvant.

b. Indications

- Age au diagnostic < 50 ans.
 - Antécédent personnel de CCR ou de cancer de l'endomètre.
 - Antécédent familial (1^{er} degré) de CCR ou de cancer de l'endomètre.
- } But Diagnostic
- Cancers colorectaux de stade II } But thérapeutique

c. Techniques de recherche

- *Technique MSI*

Extraction de l'ADN de la tumeur avec macro-dissection de la zone la plus riche en cellules tumorales et de l'ADN du tissu normal. Génotypage 5 séquences microsatellites consensus par PCR Pentaplex de ces séquences microsatellites (instabilité microsatellitaire ou MSI si au moins 2 microsatellites instables sur 5.

- *Technique IHC*

En complément de la recherche d'instabilité microsatellitaire ou pour les cas avec très peu de cellules tumorales ou fixateur ne permettant pas d'étude en biologie moléculaire avec les 4 anticorps : anti- MLH1, anti-MSH2, anti- MSH6 et anti-PMS2.

d. Modalités de préparation du matériel tumoral

Modalités de prélèvement

- Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie
- Type de tumeur:tumeur primitive colorectale ou métastase.
- Quantité de matériel:choisir un bloc riche en cellules tumorales (> 20% de cellules tumorales).

Modalités de fixation

- Instabilité microsatellitaire : tumeur congelée ou fixée formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés).
- mmunohistochimie: tumeur fixée et incluse en paraffine uniquement : fixateur gold standard = formol tamponé à 4%, interprétation parfois difficile pour les autres fixateurs (AFA, Bouin, substitut du formol).

e. Délai de réponse dans notre CHU

Nombre de jours : 7 jours en moyenne.

f. Traitement adjuvant des CCR stade 2 : test MSI

Bien que non recommandée pour l'ensemble des CCR de stade II, la chimiothérapie adjuvante est préconisée dans certains cas reconnus à plus haut risque (T4, occlusion, perforation...). Le schéma proposé peut alors se limiter à du 5FU seul. Dans le cas des tumeurs présentant une instabilité microsatellitaire (MSI+), compte-tenu d'une part de leur meilleur pronostic et d'autre part de l'effet délétère démontré du 5FU en monothérapie en adjuvant, seule une surveillance est préconisée.

La recherche d'instabilité microsatellitaire chez les patients de stade II, chez qui un traitement adjuvant est envisagé, est donc nécessaire à la décision thérapeutique.

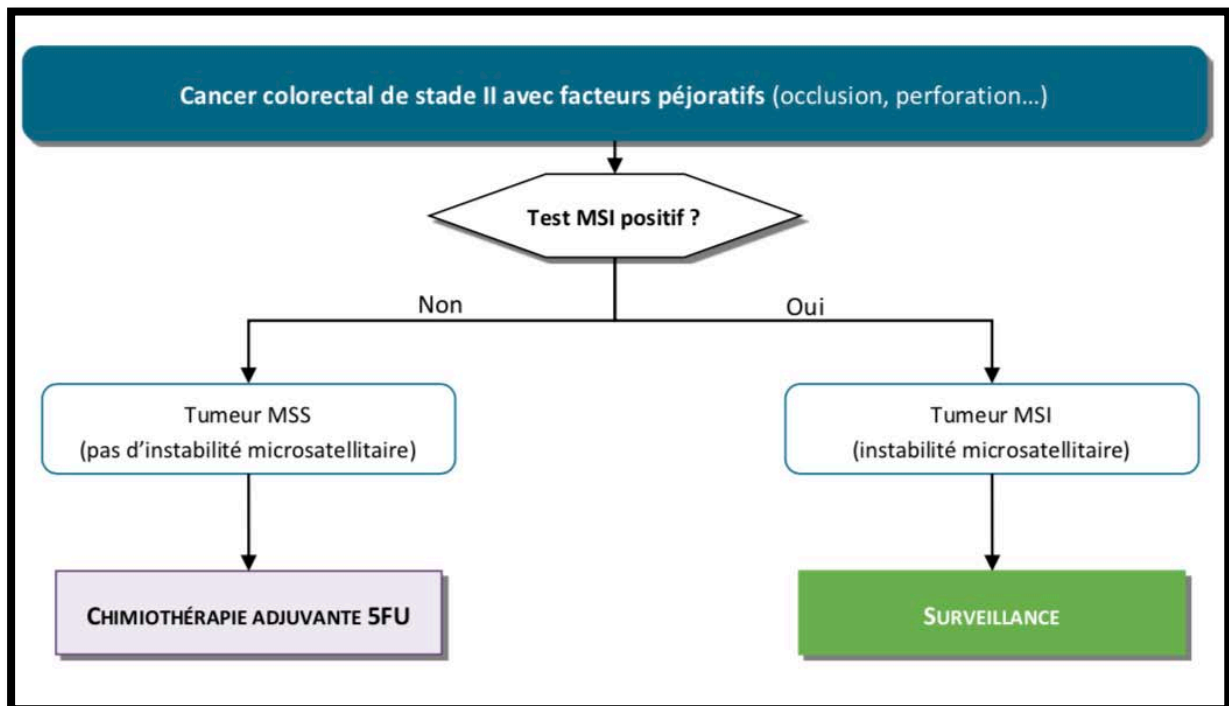


Figure 26 : schéma thérapeutique des cancers colorectaux de stade II

Rq : Si maintien de l'indication de chimiothérapie adjuvante pour d'autres motifs : pas de 5FU en monothérapie.

2. Mutations RAS

a. Anomalie moléculaire

Identifier une mutation des exons 2 (codons 12 ou 13), 3 (codon 61) et 4 (codons 117 et 146) des gènes KRAS et NRAS dans les cancers colorectaux au stade métastatique.

b. But

C'est des marqueurs thérapeutiques permettant de prédire la réponse aux anti-EGFR. Car la prescription d'anti-EGFR est conditionnée par l'absence de mutation RAS quel que soit la thérapie ciblée (cetuximab ou panitumumab).

c. Indication

Cancer colorectal au stade métastatique.

d. Techniques de recherche

Extraction de l'ADN de la tumeur avec macro-dissection de la zone la plus riche en cellules tumorales, amplification de l'ADN par PCR puis Génotypage par Criblage HRM et Hybridation spécifique d'allèle par Taqman ou séquençage pour les profils mutés.

e. Modalités de préparation du matériel tumoral

Modalités de prélèvement

- Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie
- Type de tumeur : tumeur primitive colorectale ou métastase
- Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (>50% CT si possible)

Modalités de fixation

Tumeur congelée ou fixée et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, éviter les autres fixateurs acides tels que l'AFA).

f. Délai de réponse

Nombre de jours : 7 jours en moyenne.

3. Mutation BRAF

a. Anomalie moléculaire

Identification de la mutation BRAF V600E dans les cancers colorectaux.

b. But

C'est un marqueur diagnostique de cancers sporadiques, il permet d'éliminer un syndrome de Lynch. Il est aussi utilisé dans des essais thérapeutiques pour le développement d'un traitement anti-BRAF.

c. Indications

- Cancer colorectal avec instabilité micro-satellitaire et perte d'expression de MLH1 / PMS2
 - Cancer colorectal au stade métastatique
 - Systématiquement avec la recherche de mutation RAS
- } But diagnostic
- } Essais thérapeutiques

d. Techniques de recherche

Extraction de l'ADN de la tumeur avec macro-dissection de la zone la plus riche en cellules tumorales puis amplification de l'ADN par PCR et enfin Géotypage par hybridation spécifique d'allèle par Taqman (cible uniquement mutation V600E).

e. Modalités de préparation du matériel tumoral

Modalités de prélèvement

- Type de prélèvement : exérèse chirurgicale ou biopsie
- Type de tumeur : primitive colorectale ou métastase.
- Quantité de matériel : choisir un bloc riche en cellules tumorales (> 50% de cellules tumorales).

Modalités de fixation

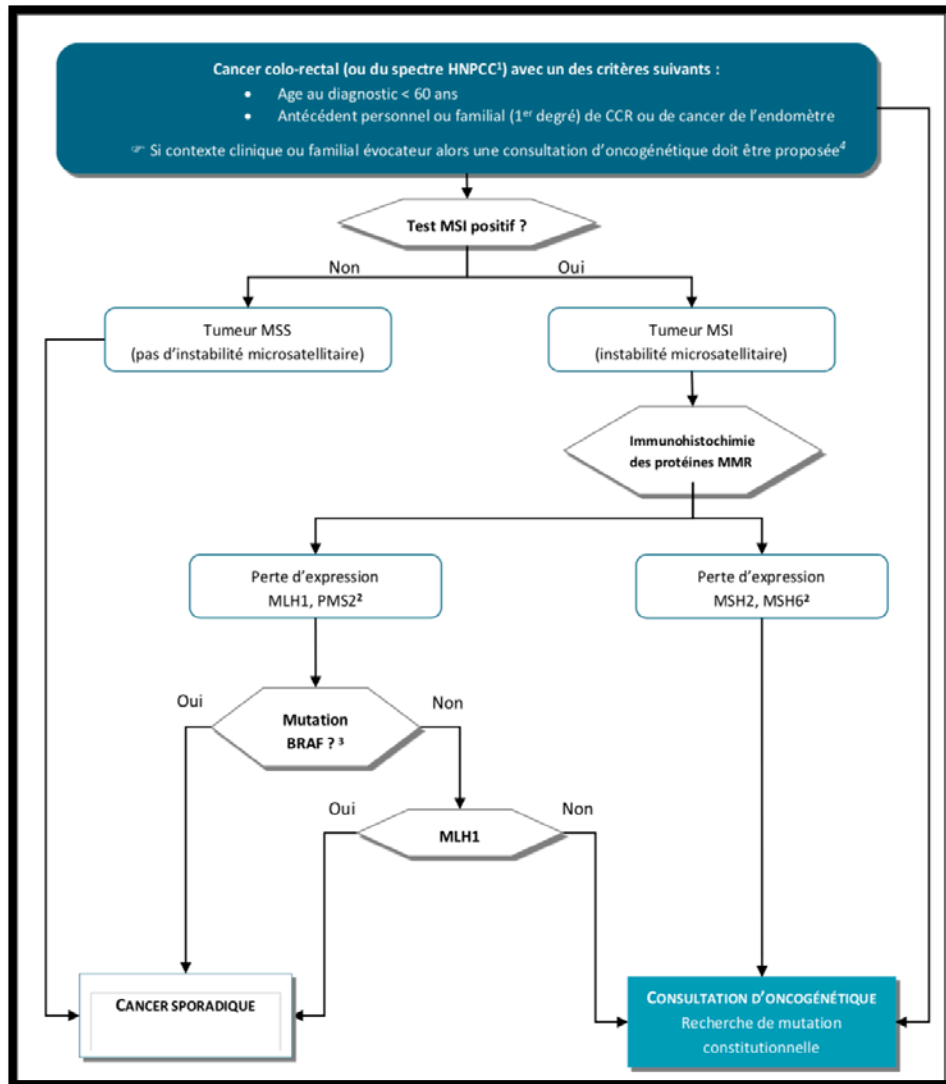
Tumeur congelée ou fixée au formol et incluse en paraffine (pas d'acide picrique, autres fixateurs que le formol déconseillés).

f. Délai de réponse

Nombre de jours : 7 jours en moyenne.

En pratique, la recherche d'instabilité microsatellitaire est réalisée selon la stratégie proposée dans l'arbre décisionnel ci-dessous.

La recherche de mutations constitutionnelles (germinales) est effectuée sur les leucocytes sanguins. Cette recherche est toujours réalisée dans le cadre d'une consultation d'oncogénétique par un laboratoire agréé.



1 La réalisation d'un test RER sur une tumeur autre qu'un CCR ou qu'un cancer de l'endomètre ne doit être réalisée qu'après avis de la RCP d'oncogénétique. 2L'extinction de MSH2 et/ou MSH6 est spécifique du syndrome de Lynch contrairement à l'extinction de MLH1 qui s'observe aussi dans les tumeurs MSI+ sporadiques. 3 Parmi les tumeurs MSI+ avec perte d'expression de MLH1 en immunohistochimie, deux analyses supplémentaires sont utiles pour distinguer les formes sporadiques des syndromes de Lynch : la mutation BRAF V600E et la méthylation du promoteur de MLH1 observées seulement dans les cancers sporadiques. En présence d'un phénotype MSI avec perte d'expression de MLH1 et méthylation du promoteur de MLH1, il s'agit très probablement d'un cancer sporadique. 4 Néanmoins si le contexte clinique ou familial est très évocateur d'un syndrome de Lynch, une consultation d'oncogénétique doit être proposée.

Figure 27 : schéma diagnostique des CCR liés au syndrome de Lynch.

4. Thérapie ciblée des CCR métastatiques : génotypage RAS/BRAF

Deux anti-EGFR (cetuximab et panitumumab) sont disponibles dans le traitement des CCR métastatiques. Leur prescription était initialement conditionnée par l'absence de mutation de l'exon 2 (codon 12 et 13) du gène K-RAS dans la tumeur. En 2013, le ciblage thérapeutique des anti-EGFR dans le CCR métastatique a connu une nouvelle avancée significative avec la validation de l'impact prédictif d'autres mutations situées sur les gènes KRAS et NRAS. En effet, des travaux récents réalisés chez des patients chimio-réfractaires traités par Panitumumab seul et en première ligne traités par FOLFOX + panitumumab (étude PRIME) ou FOLFIRI + cetuximab (étude FIRE-3) ont permis de démontrer que la présence d'autres mutations KRAS (exon 3 : codon 61, exon 4 : codons 117 et 146) retrouvées chez environ 10% des patients et de mutations du gène NRAS (exon 2 : codons 12, 13, exon 3 : codon 61, exon 4 : codons 117 et 146), retrouvées chez environ 6%, étaient également prédictives de la non efficacité du traitement.

En conséquence, les AMM de ces deux thérapies anti-EGFR (panitumumab et cetuximab) ont été modifiées respectivement en juillet et décembre 2013. Il est précisé que la détermination du statut mutationnel RAS de type sauvage (exons 2, 3 et 4 du KRAS et du NRAS) est impérative avant l'instauration d'un tel traitement. [15]

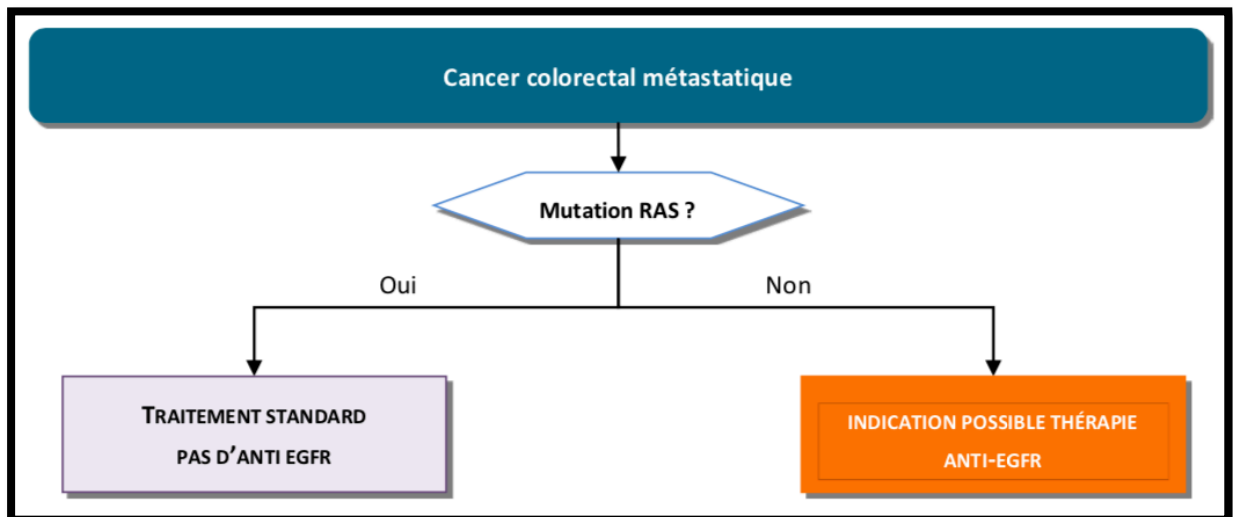


Figure 28 : schéma thérapeutique des cancers colorectaux métastatiques

5. Mutation BRAF V600E

La mutation BRAF V600E (représentant 5% à 10% des CCR parmi les tumeurs KRAS non mutées) est un facteur pronostique péjoratif, surtout dans le CCR métastatique. Son rôle prédictif de non réponse aux anti-EGFR n'est en revanche pas encore clairement établi : sa recherche n'est donc pas à ce jour indispensable à leur prescription. Cependant afin d'anticiper l'arrivée de nouvelles thérapies ciblées et de les rendre disponibles le plus rapidement possible, l'institut national français du cancer a lancé un programme de détection prospective de cette mutation depuis l'année 2013 : c'est dans ce cadre que la détection de cette mutation est systématique conjointement à celle des gènes RAS. [16]

II. Aspects épidémiologiques

1. Place du cancer colorectal

Le cancer colorectal se présente comme le deuxième cancer en termes d'incidence dans le monde (environ 1, 234,000 cas à travers le monde selon GLOBOCAN en 2008 et 342,137 cas dans 27 pays d'Europe en 2012) [17] (Figure 29) et le quatrième cancer responsable de mortalité dans le monde (149,984 cas de décès en Europe) [18,19] (Figure 30).

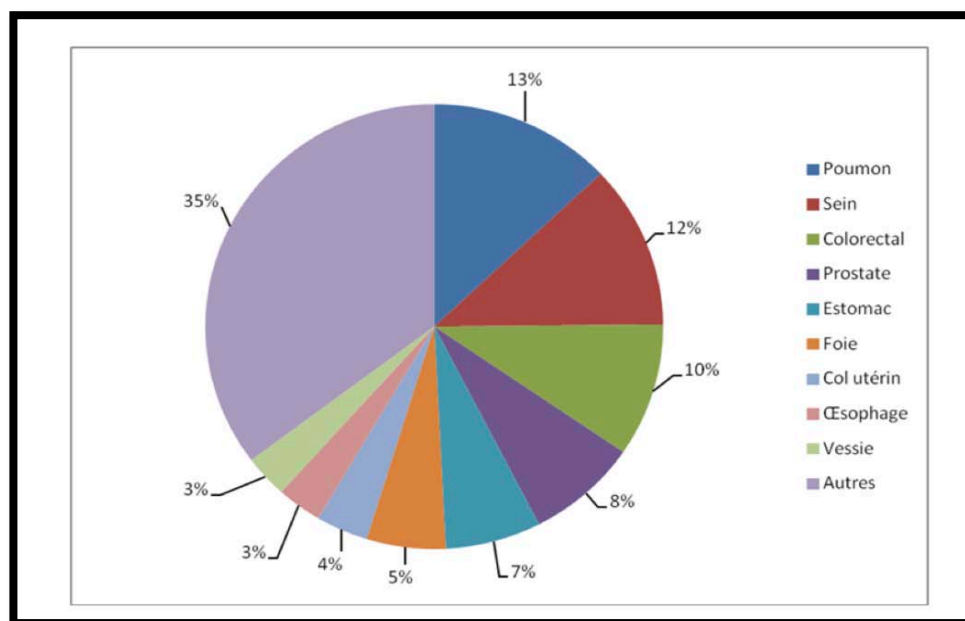


Figure 29 : Estimation de l'incidence des cancers dans le monde en 2012 [18]

2. Situation géographique :

Grâce au développement des registres de cancers à travers le monde , et au développement des méthodes d'épidémiologie descriptive, il est devenu possible de comparer des données d'incidence entre de nombreux pays. Il existe de très fortes variations d'incidence du cancer colorectal entre les différentes régions du monde.

Aux Etats Unis le cancer colorectal se situe au 3^{ème} rang de tous les cancers et le 2^{ème} cancer le plus meurtrier [20]. Différentes études avaient démontré qu'aux Etats Unis , Canada, Australie, Nouvelle Zélande et la plupart des pays Européens , l'incidence et la mortalité du cancer colorectal avait diminué depuis les années 70 ; Ceci aurait été expliqué par la diminution de l'exposition aux différents facteurs de risque, au dépistage précoce et ainsi une meilleure prise en charge [21-26]. Néanmoins, pour certains de ces pays qui auraient connu une transition démographique comme l'Amérique centrale, l'Amérique du sud et les pays d'Europe de l'Est, l'incidence du cancer colorectal aurait nettement augmenté [22-29].

En France, avec 38 000 nouveaux cas par an, le cancer colorectal est le 3^{ème} cancer le plus fréquent derrière ceux de la prostate et du sein, ce qui représente 10% de l'ensemble des cancers [30]. En 20 ans, l'incidence a augmenté de 40 % [31-33]. Cela a été également observé en Suède[34].

En Algérie, il représente 7,8 % de tous les cancers et vient à la 2^{ème} place[35].

En Tunisie le cancer colorectal vient au 1^{er} rang de tous les cancers chez les 2 sexes, ce qui représente 8,2 % chez les hommes et 7,8 % chez les femmes [36]. Dans le centre de la Tunisie, l'incidence standardisée du cancer colorectal est de 6,5 sur 10 000 habitants par an chez l'homme et de 6,1 sur 100 000 habitants par an chez la femme. Au fil du temps, il y

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

avait d'importantes tendances à la hausse de +2,6 % (IC 95 % : 0,1 %—5,1 %) et +5,3 % (IC 95 % : 2,7 %—7,9 %) pour les femmes et les hommes, respectivement [37,39].

Au Maroc, vu la pauvreté des études épidémiologiques dans ce sens et des registres de cancer, seules quelques études ont permis une analyse approximative de l'état des lieux en matière de CCR. Ainsi le registre des cancers digestifs de Casablanca aurait placé le CCR en deuxième position chez l'homme et première position chez la femme après le cancer de l'estomac [40]. D'après l'étude de Pr . Guerbaoui, le cancer colorectal se positionne en troisième place de tous les cancers (3,3 %) [41]. Selon le centre d'oncologie Al Azhar de Rabat, le nombre de cas colligés était de 433 nouveaux cas sur une période allant de 1994 à 2004 et qui représente 49,6% de l'ensemble des nouveaux cas de cancers digestifs décrits pendant cette période [42].

Concernant Fès, une étude réalisée par l'équipe du service d'anatomopathologie sur les cancers digestifs au CHU Hassan II de Fès entre 2004 et 2007, 432 cas de cancers digestifs ont été hospitalisés durant cette période, représentant 18,5% de l'ensemble des cancers, le CCR a occupé la première place avec 166 cas [43].

Seuls quelques études ont été menées sur Marrakech dont l'étude réalisée par le service de chirurgie viscérale du CHU Mohammed VI sur une période allant de 1997 à 2008, et a placé le cancer colorectal en deuxième position parmi les cancers digestifs soit 26,8% et sixième rang de tous les cancers soit 6,7% [44].

Série	Période	Cas de cancers colorectaux	% des cancers du colon	% des cancers du rectum
Service d'anatomopathologie CHU Hassan II Fès [45]	2003-2004	17	52,9	47,1
Service de gastro-entérologie CHU Hassan II Fès [46]	2001-2006	116	31,9	68,1
Service de chirurgie C CHU Ibn Sina Rabat [47]	1998-2000	549	43,5	56,5
Service des urgences chirurgicales viscérales CHU Ibn Rochd Casablanca [48]	1991-2000	174	47,7	52,3
Services de gastro-entérologie et d'oncologie CHU Med VI Marrakech [49]	2003-2006	204	47,6	52,4
Service de chirurgie viscérale CHU Med VI Marrakech [50]	1997-2015	2584	43,8	56,2
Notre série	2016-2019	88	58,3	41,7

3. Age :

Le cancer colorectal est rare avant 45 ans [51]. Son incidence augmente avec l'âge. L'âge moyen au diagnostic est de 69,5 pour les hommes et de 72,8 ans pour les femmes. L'incidence est identique pour les 2 sexes jusqu'à 60 ans, puis le cancer devient prédominant chez les hommes. Le ratio d'incidence entre les deux sexes augmente régulièrement entre 55 ans et 75 ans, passant de 1,0 à 1,7 [52]. Dans notre série, le sexe ratio était de 1,75. Concernant le sujet jeune, l'âge de 45 ans est considéré par la plupart des auteurs, comme la

“frontière” définissant la population “jeune” chez laquelle ce cancer est rare. L'étude des incidences de ce cancer chez le sujet jeune révèle qu'il y a une forte incidence en Arabie Saoudite avec 21 à 23% des cas, l'Italie avec 17%, Le Japon avec 10%. Dans les pays occidentaux cette fréquence est faible [53–55]. Au Maroc, L'âge moyen de survenue de cancer colorectal d'après les estimations de l'institut national d'oncologie (INO) est 51,5 ans avec 26,6 % des patients âgés de moins de 40 ans pour le cancer du rectum [56]. Dans notre série, la tranche d'âge varie entre 17 ans et 79 ans avec un âge moyen de 57 ans et 12,5% des cas avaient moins de 40 ans, ce qui est conforme aux données de la littérature.

4. Sexe :

Plusieurs séries à travers le monde ont pu démontrer une légère pré dominance masculine avec un sex-ratio de 1,5 [57]. L'incidence est la même dans les deux sexes jusqu'à l'âge de 65 ans, puis apparaît une prédominance chez l'homme , secondaire à une fréquence plus grande des cancers du côlon ascendant et du sigmoïde [58].

Selon l'agence internationale pour la recherche sur le cancer (IARC), on estime qu'en 2015 le cancer colorectal représentera 9,7% de tous les cancers avec environ 814 000 nouveau cas chez l'homme et 664 000 chez les femmes [59, 60].

A partir d'une étude réalisée en Amérique et qui a inclut plusieurs états , nous remarquons que pour certains pays comme Cuba le nombre de cas ne dépasse pas le millier en 3 ans. Pourtant, en Brésil, ce nombre s'est vu multiplié par 10. Le sexe féminin majorait surtout pour les localisations coliques par contre les hommes se faisaient diagnostiquer beaucoup plus de cancers rectaux . Ceci avait été expliqué comme pour certains pays Américain tels que le Brésil et l'Argentine , par le fait qu'ils mettaient à disposition des protocoles de dépistage allant d'un simple toucher rectal à la réalisation d'une coloscopie au

moindre doute [61]. La Tunisie rejoint elle aussi les mêmes statistiques avec une nette prédominance féminine [46].

En France, le cancer colorectal a connu une grande hausse en termes d'incidence avec une nette prédominance masculine faisant un sexe ratio à 1,22 [62]. Une autre étude poussée réalisée dans le Nord-Est de la France indique que, pour le cancer colorectal, le nombre estimé de cas incidents est pour les femmes en augmentation moyenne de 31% tous les dix ans et pour les hommes, en augmentation moyenne de 65%. Ces résultats concordent avec d'autres travaux, menés en Europe et dans le monde [63].

Dans notre étude, le cancer colorectal connaît également une prédominance masculine, et survient avec un sexe ratio H /F de 1,75. Ce chiffre se rapproche de celui retrouvé dans plusieurs pays mais reste plus élevé.

Cette distinction homme /femme ne peut être expliquée que par les variations hormonales, les habitudes alimentaires, le tabagisme...etc.

III. MUTATIONS KRAS, NRAS, BRAF :

Les mutations oncogéniques touchant un des gènes RAS se retrouvent dans environ 30 % des cancers humains. La fréquence à laquelle les gènes sont touchés dépend du type tumoral. En effet, KRAS est davantage impliqué dans les tumeurs du pancréas, colorectales, de l'endomètre, des voies biliaires, du poumon et du col de l'utérus, alors que pour NRAS, des mutations somatiques activatrices sont plus fréquemment retrouvées chez les mélanomes et leucémies myéloïdes [Schubert et al., 2007].

La fréquence des mutations activatrices KRAS et NRAS parmi les tumeurs colorectales est différente. En effet, plusieurs études ont démontré que 40 % des CCR arborent des mutations

somatiques aux codons 12 et 13 du gène KRAS, entraînant ainsi une activation constitutive de la voie des MAP kinases indépendante du récepteur des EGF.

Concernant les mutations somatiques NRAS dans les tumeurs colorectales, les fréquences observées sont beaucoup plus faibles, soit de 3 % à 9,6 %, dépendamment des études. Dans notre étude la fréquence des mutations NRAS était de 4,5% ce qui est conforme avec les données de la littérature ainsi que les principales études répertoriées. Contrairement à KRAS où ce sont les glycines 12 et 13 (G12 et G13) qui sont fréquemment mutées, pour NRAS, il s'agit de la glutamine 61 (Q61), située dans l'exon 3, qui est le codon le plus souvent touché [De Roock et al., 2010]. Dans notre série les résultats étaient similaires, c'est les glycines 12 et 13 (G12 et G13) qui étaient fréquemment mutées, soit de 23,9 % pour KRAS et pour NRAS aussi nos résultats étaient conformes avec les résultats des autres études où c'est la glutamine 61 (Q61) qui était la seule protéine mutée. Les mutations NRAS et KRAS sont mutuellement exclusives. Le tableau 2 présente un résumé des principales études répertoriées. En 2011, Lin et ses collaborateurs ont publié une revue systématique dont l'objectif était d'évaluer le bénéfice clinique potentiel d'une thérapie aux anti-EGFR en fonction du statut moléculaire de gènes autres que KRAS, dont NRAS. Les auteurs ont repéré une seule étude rétrospective multicentrique de qualité acceptable menée sur des tumeurs de patients atteints d'un CCRm réfractaires aux chimiothérapies standard et ayant reçu le céstuximab combiné à de la chimiothérapie [Lin et al., 2011 ; De Roock et al., 2010]. Parmi toutes les tumeurs évaluées (n = 649), seulement 82 % (302/370) de celles confirmées non mutées pour KRAS avaient des informations à la fois sur le statut NRAS et l'issue clinique des patients. Les données de fréquence sont présentées au tableau 2, soit 4,1 % (13/315) des tumeurs non mutées KRAS étaient mutées pour NRAS. Notons que les patients de l'étude de De Roock 2010 ont reçu des régimes variés de céstuximab.

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

ÉTUDES	CCR	MÉTHODE	MUTATIONS KRAS N (%)		MUTATIONS NRAS N (%)	
			CODONS 12/13	AUTRES CODONS	GLOBALE	CODONS
Gaspariniet al., 2014	N = 94 KRAS G12-13 wt (Sanger)	PSQ	12/94 (13)	Q61 : 5 (5) A146 : 5 (5) K117 : 0 (0)	9/94 (9,6)	G12/13 : 3 (3) Q61 : 6 (6)
Di Bartolomeo et al., 2014	N = 28	Sanger	11/23 (48)	0/23 (0)	1/22 (4,5)	G12 : 1 (4,5)
Douillardet al., 2013	N = 641 KRAS G12-13 wt	HRM + Sanger	0/641 (0)	Q61 : 24/638 (3,8) A146 : 28/620 (4,5) K117 : 8/620 (1,3)	48/641 (7,5)	G12 : 17/637 (2,7) G13 : 5/637 (0,8) Q61 : 26/636 (4,1)
Peeters et al., 2013	N = 288	PCR ASO + NGS	117/280 (42)	Q61 : 7/284 (2,5)	14/282 (5,0)	G12 : 7 (2,5) G13 : 1 (0,4) Q61 : 6 (2,1)
Shenet al., 2013	N = 676	Sanger	219/674 (32)	Q61 : 14/672 (2,1)	26/621 (4,2)	G12 : 8/630 (1,3) G13 : 3/630 (0,5) Q61 : 13/643 (2)
Vaughnet al., 2011	N = 2 121	PSQ	900/2121 (42,4)	Q61 : 19/513 (3,7) A146 : 17/513 (3,3)	26/513 (5,1)	G12 : 9 (1,8) G13 : 1 (0,2) Q61 : 16 (3,1)
Beadlinget al., 2011	N = 236	Mass Array	78/236 (33 %)	A59 : 1 (0,4) Q61 : 6 (2,5)	8/236 (3,4)	G12 : 4 (1,7) G13 : 1 (0,4) Q61 : 3 (1,3)
Jankuet al., 2011	N = 105	PSQ	49/97 (51)	?	2/31 (6)	?
De Roocket al., 2010	N = 747	Mass Array	271/747* (36)	Q61 : 16/747 (2,1) A146 : 15/747 (2,0)	17/644 (2,6)	G12 : 4 (0,6) G13 : 1 (0,2) Q61 : 12 (1,8)
Notre série	N = 88	Micro array PCR	21/88 (24)	A59 : 1 (1,1) Q61 : 7 (7,9) A146 : 6 (6,8)	4/88 (4,5)	G12 : 0 (0) G13 : 0 (0) Q61 : 4 (4,5)

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Les mutations des gènes KRAS et NRAS sont respectivement rencontrées dans approximativement 30 % à 50 % et 2 % à 7 % des tumeurs colorectales, tandis que celles de BRAF sont présentes dans moins de 10 % de ces tumeurs [BCBS, 2016; Dienstmann et Tabernero, 2016]. Une autre étude plus récente qui va dans le même sens de nos résultats.



Conclusion



Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Le CCR représente au Maroc et à travers le monde un problème de santé publique . Il occupe la première place parmi les cancers digestifs dans notre pays.

Le protocole de prise en charge du CCR est basé sur la classification OMS 2019 et TNM 2017 qui font l'objet d'un consensus international. L'anatomopathologiste joue donc un rôle déterminant pour confirmer le diagnostic et déterminer les facteurs pronostiques et thérapeutiques. Pour cela , une analyse minutieuse et exhaustive de la pièce opératoire est nécessaire, d'où l'importance de l'élaboration d'un compte rendu anatomopathologique standardisé.

Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de mieux comprendre la genèse du CCR . Il est clair aujourd'hui que les malades porteurs d'un carcinome de type MSI constituent un groupe particulier , d'où un bon pronostic et une meilleure réponse à la chimiothérapie . La détermination du statut moléculaire de la tumeur devient donc une étape importante dans la prise en charge personnalisée des malades . L'utilisation de l'étude immuno- histochimique pour établir le statut MMR a permis de guider l'attitude thérapeutique des CCR stade II approchant ainsi le statut microsatellitaire stable et instable.

Cette étude nous a permis d'une part d'établir le pourcentage des cas de CCR mutés KRAS, NRAS et BRAF et de le comparer à la littérature. Et d'autre part de déterminer le pourcentage des cas de CCR stade II présentant un statut MMR fonctionnel ou défaillant au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

Nous avons pu étudier ces données et analyser quelles sont les pratiques courantes ainsi que d'améliorer leurs conditions de réalisation et leur impact théranostique pour une prise en charge personnalisée des patients atteints de CCR.

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

L'unité de biopathologie du centre de recherche clinique au CHU Mohammed VI de Marrakech constitue un milieu d'épanouissement scientifique pour la réalisation des examens complémentaires de 3ème niveau notamment pour la recherche de mutations génétiques par un personnel qualifié. Les techniques de recherche de mutations RAS ont été certifiées sur 2 années consécutives via des organismes internationaux, ce qui assure la validité de ces tests et procure une sécurité pour le patient.



Perspectives



Cette étude incite donc à :

- Améliorer la phase pré analytique pour assurer une bonne fixation des prélèvements :
 - Prévoir une journée de formation pour le personnel du bloc opératoire et personnel d'aide endoscopique.
 - Fournir au chirurgien et endoscopiste le formol tamponé neutre à 4%.
 - Sensibiliser le personnel anatomopathologique sur l'intérêt de la gestion du prélèvement de petite taille précieux.
- Adhérer à des programmes d'assurance qualité.
- Rechercher les mutations des gènes KRAS/NRAS/BRAF et le statut MMR une fois que le diagnostic d'ADK est posé.
- Au niveau national ou maghrébin, penser à développer des plateformes techniques selon les normes internationales plus sensibles, plus spécifiques et moins coûteuses adaptés à notre contexte ciblant " *les drivers oncogéniques* " pour permettre un traitement personnalisé des patients atteint de CCR « Traitement à la carte ».
- Élaborer un référentiel national de biologie moléculaire des CCR.



Annexes



ANNEXE I

FICHE D'EXPLOITATION

CENTRE HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE MOHAMMED VI- Marrakech
Service: Anatomie pathologique
FICHE D'EXPLOITATION N°

IDENTITE

Numéro biomol: ID:
Age: Sexe: M F

ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE

- Matériel d'étude

• **Biopsie**

Hemicolectomie Dt

Colectomie totale

Autres

• **Pièce opératoire**

Hemicolectomie G

Recto – sigmoïdectomie

- Site anatomique de la tumeur : (si pièce opératoire)

Colon droit Colon transverse Colon sigmoïde Rectum

-Taille :

-Aspect macroscopique : (si pièce opératoire)

Bourgeonnant Ulcéro-bourgeonnant Sténosant Perforation

Epaississement pariétal Circonférentiel

Remaniements hémorragiques Remaniements nécrotiques

Ferme Friable

Couleur :

Mésorectum : Complet Incomplet Presque complet

Autres :

- Etude histologique :

• **Type histologique**

ADK liberkuhnien ADK mucineux Autre

• **Grade :** G1(BD) G2(MD) G3(PD)

• **Infiltration:**

CIS sous muqueux Musculaire sous séreuse

Autres :

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

- *Embole veineux :* OUI NON
- *Embole lymphatique :* OUI NON
- *Engainements périnerveux :* OUI NON
- *Limite d'exérèse latérale :* Saine Tumorale
- *Limite circonférentielle : (Rectum)*

Saine Distance..... Tumorale

- *Métastase ganglionnaire :* OUI NON
- *Classification pTNM :*.....
- *Stade TNM :*.....

ETUDE MOLECULAIRE

-Technique utilisée : GENOMIC IDYLL

-Matériel : Interne Ext Origine :.....

Biopsie Pièce

Colon Métastase

-Mutation KRAS : OUI NON

Exon : 2 3 4

Codon : 12 13 61 117 146

Mutation.....

-Mutation NRAS : OUI NON

Exon : 2 3 4

Codon : 12 13 61 117

Mutation.....

-Mutation BRAF V600E : OUI NON

-Non conforme : OUI Raison : -Fixation : OUI NON

-Exigüité du matériel : OUI NON

NON

INSTABILITE MICRO SATELLITAIRE

-Matériel : Biopsie Pièce

PMS 2 MLH 1 }
MSH 2 MSH 6 } MSS MSI

-Non conforme : OUI Raison : -Fixation : OUI NON

-Exigüité du matériel : OUI NON

NON

ANNEXE II :

L'étude immunohistochimique par immunoperoxydase (Technique automatisée: Dako Autostainer link 48) après restauration antigénique au bain marie montre:

- Une expression nucléaire modérée des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MSH2 (Clone: N29-D. Dako).
- Une expression nucléaire modérée des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MSH6 (Clone: GM024).
- Une expression nucléaire modérée des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MLH1 (Clone: GM011.Dako).
- Une expression nucléaire modérée des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-PMS2 (Clone: A16-4. Dako).

CONCLUSION:

- Aspect phénotypique correspondant d'une conservation de l'expression nucléaire des protéine MMR (MSH2; MSH6; MLH1; PMS2) compatible avec un profil MMR proficient.

Pr. HANANE RAIS

ANNEXE III

L'étude immunohistochimique par immunoperoxydase (Technique automatisée: Dako Autostainer link 48) après restauration antigénique au bain marie montre:

- Une absence d'expression nucléaire des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MLH1 (Clone: GM011.Dako), avec témoin interne positif.

- Une absence d'expression nucléaire des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-PMS2 (Clone: A16-4. Dako), avec témoin interne positif.

- Une expression nucléaire modérée des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MSH2 (Clone: N29-D. Dako), avec témoin interne positif.

- Une expression nucléaire intense des cellules carcinomateuses de l'anticorps anti-MSH6 (Clone: GM024), avec témoin interne positif.

CONCLUSION:

- Extinction d'expression de la protéine MLH1 et PMS2 et expression de la protéine MSH2 et MSH6 en faveur d'un statut MMR déficient (MSI).

- Un complément pour recherche de mutation BRAF et/ou hyperméthylation de MLH1 est souhaitable pour préciser l'origine sporadique ou germinale.

Pr. HANANE RAIS



Résumés



RÉSUMÉ

L'adénocarcinome colorectal (CCR) est une tumeur épithéliale maligne développée au dépend du gros intestin et présentant une différenciation glandulaire ou mucineuse.

Le diagnostic positif des CCR est basé sur l'étude anatomo-pathologique de la biopsie colorectale ou de la pièce opératoire.

Le traitement repose classiquement sur la résection chirurgicale carcinologique, associée ou non à la radiothérapie et/ou à la chimiothérapie et de plus en plus sur la thérapie ciblée.

Notre étude a eu lieu au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech. Le but de ce travail rétrospectif et prospectif est d'une part, d'établir le profil moléculaire via la recherche de mutations KRAS/NRAS/BRAF afin de prédire la réponse aux anti-EGFR et redresser le traitement dans certains stades avancés de la maladie et d'autre part, de définir le profil immuno-histochimique pour identifier le statut MMR fonctionnel ou MMR défaillant afin d'identifier les patients porteurs d'un syndrome HNPCC et d'envisager un traitement adjuvant chez les patients de stade II approchant ainsi l'instabilité micro-satellitaire des CCR.

Pour rechercher les mutations des gènes RAS et BRAF, on a utilisé les techniques de biologie moléculaire se basant sur une plateforme de micro-puces à faible densité ou sur un système de test moléculaire entièrement automatisé basé sur la PCR en temps réel. Pour la recherche du statut MMR nous avons fait une étude immuno-histochimique aux anticorps MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6.

Quatre-vingt-huit cas de CCR ont fait l'objet d'une recherche de mutations KRAS/NRAS/BRAF et 55 autres cas de CCR ont fait l'objet de la recherche du statut MMR. Tous enregistrés dans le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech entre 2016 et 2019.

Pour l'étude moléculaire à la recherche de mutations des gènes KRAS, NRAS et BRAF, l'âge moyen de nos patients était de 57 ans. Le sexe ratio était de 1,75 avec une prédominance masculine. Les prélèvements reçus étaient des biopsies ou des pièces opératoires fixées et incluses en paraffine, les pièces opératoires représentent 54,55% contre 45,45% de biopsies. La source de la demande provenait de laboratoires d'anatomie pathologique privés dans 64,7% des cas contre 35,3% de cas du service d'anatomie pathologique du CHU. Concernant l'examen macroscopique, le site de la tumeur principale est colique dans 55,8% des cas, rectal dans 39,7% des cas et de localisation mixte dans 4,5% des cas. Le foie est le site métastatique le plus fréquent, retrouvé dans 25% des cas. Pour l'analyse

Profil immunohistochimique et moléculaire des cancers colorectaux : Expérience du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

histologique 80,68% des cancers étaient des ADK liberkunien, dont 54,54% sont moyennement différenciés. La mutation du gène KRAS a été retrouvé chez 40% des cas, contre 4% pour le gène NRAS et 2% pour le gène BRAF.

Les patients présentant une mutation RAS ne vont pas bénéficier d'une thérapie ciblée à base d'anti-EGFR. Notre approche s'intègre dans la prise en charge personnalisée du patient atteint de CCR au stade métastatique.

Pour l'étude immuno-histochimique à la recherche du statut MMR fonctionnel ou défaillant, la moyenne d'âge était de 54 ans. Le sexe ratio était de 1,62 avec une prédominance féminine. Le statut MMR défaillant (MSI) a été retrouvé dans 24% des cas contre 74% des cas avec un statut MMR fonctionnel (MSS). Dans les cas des tumeurs présentant un statut MMR défaillant (MSI), compte-tenu d'une part de leur meilleur pronostic et d'une autre part de l'effet délétère démontré du 5FU en monothérapie en adjuvant, seule une surveillance est préconisée. Pour les autres tumeurs présentant un statut MMR fonctionnel (MSS) une chimiothérapie adjuvante peut être envisagée.

A travers ces résultats nous avons relevés plusieurs points positifs qui nous ont permis d'élaborer une fiche d'examen anatomo-pathologique et des comptes rendus anatomopathologiques de recherche de mutations et d'instabilité microsatellitaire standardisés. Cette étude incite donc à améliorer les différentes étapes de la phase pré-analytique, de sensibiliser étudiants, internes et résidents à remplir des bons d'examens anatomopathologiques standardisés, d'attirer l'attention du personnel anatomopathologique sur l'intérêt de la gestion des prélèvements de petite taille précieux et enfin de développer des plateformes techniques selon les normes internationales plus sensibles et moins coûteuses ciblant les drivers oncogéniques pour permettre un traitement personnalisé, « Traitement à la carte », des patients atteint de CCR.

ABSTRACT

Colorectal adenocarcinoma (CRC) is a malignant epithelial tumor originating in the large bowel and presenting with a glandular or mucinous differentiation.

The positive diagnosis of CRC is based on the anatomo-pathological study of the colorectal biopsy or a direct sample examination after the surgery.

Treatment is traditionally based on a carcinological surgical resection, with or without radiotherapy and/or chemotherapy, and increasingly on a targeted therapy.

The study has been conducted in the anatomo-pathological department of the Mohammed VI University Hospital in Marrakech. The objective of this retrospective and prospective work was two-fold. On one hand, we aimed to establish the molecular profile through a search of the KRAS/NRAS/BRAF mutations in order to predict the response to anti-EGFR and to redress treatment in certain advanced stages of the disease. On another hand, we attempted to define the immuno-histochemical profile to further identify the functional MMR or failing MMR status targeting patients with HNPCC syndrome, and to consider adjuvant treatment in stage II patients approaching the micro-satellite instability of CRCs.

Molecular biology techniques based on a low-density microarray platform or a fully automated, real-time PCR-based molecular test system were used to search for mutations in the RAS and BRAF genes. For the search for MMR status we did an immuno-histochemical study with MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 antibodies.

Eighty-eight CRC cases were subject of a KRAS/NRAS/BRAF mutation search and 55 other CRC cases were subject of a MMR status search. All the findings have been recorded in the laboratory of pathological anatomy in the Mohammed VI University Hospital of Marrakech between 2016 and 2019.

For the molecular study in search of mutations in the KRAS, NRAS and BRAF genes, the average age of patients was 57 years, the sex ratio was 1.75 with a male predominance. The samples received were biopsies or fixed surgical parts included in paraffin, the surgical parts representing 54.55% compared to 45.45% of biopsies. The source of the request came from private pathological anatomy laboratories in 64.7% of cases compared to 35.3% of cases in the UHC's pathological anatomy department. During the macroscopic examination, the site of the main tumor was colic in 55.8% of cases, rectal in 39.7% of cases and of a mixed localization in 4.5% of cases. The liver was the most frequent metastatic site found in 25% of cases. For histological analysis, 80.68% of tumors were liberkunian ADKs, 54.54% of which were moderately differentiated. The KRAS gene mutation was found in 40% of cases, compared to 4% for the NRAS gene and 2% for the BRAF gene.

Patients with the RAS mutation will not benefit from targeted anti-EGFR therapy. Our approach is integrated into the personalized patient management of the metastatic CRC.

For the immuno-histochemical study on the microsatellite instability, the average age was 54 years; the sex ratio was 1.62 with a female predominance. The deficient MMR status was found in 24% of cases compared to 74% of cases with a proficient MMR status. In case of tumors with deficient MMR status (MSI), taking into account both their better prognosis and the demonstrated deleterious effect of 5FU as monotherapy as adjuvant, only monitoring is recommended. For other MMR proficient tumors (MSS), adjuvant chemotherapy may be considered.

Through these results we were able to identify several key learnings allowing us to develop standardized anatomic-pathological patient record forms as well as standardized anatomic-pathological reports of the microsatellite and instability mutations search

This study encourages the improvement of the various stages of the pre-analytical phase. It aims to increase awareness among students and residents, and should motivate residents to fill their requests in the standardized anatomic-pathological examination forms. It draws attention of the anatomic-pathological staff to the importance of managing precious small samples. Finally, it triggers and should drive a development of the technical platforms according to the more sensitive and less costly international standards targeting oncogenic drivers and enabling a personalized treatment approach for the patients with CRC.

ملخص

ورم القولون و المستقيم عبارة عن ورم ظهاري خبيث يتطور على حساب الأمعاء الغليظة مع تمايز غدي أو مخاطي.

يعتمد التشخيص الايجابي لهذا الأخير على الدراسة التشريحية المرضية لخزعة القولون او القطعة التي يتم استئصالها جراحيا.

يعتمد العلاج التقليدي على الاستئصال الجراحي السرطاني، سواء اقترن أو لم يقترن بالعلاج الإشعاعي أو الكيميائي ، وبشكل متزايد على العلاج الموجه.

تمت هذه الدراسة في قسم التشريح المرضي بالمركز الإستشفائي الجامعي محمد السادس بمراكش. الهدف من هذا البحث بأثر رجعي و مستقبلي هو ، من ناحية أولى ، تحديد المظهر الجزيئي من خلال البحث عن طفرات KRAS / NRAS / BRAF من أجل التنبؤ بالاستجابة لمضادات EGFR وتصويب العلاج في مراحل متقدمة معينة من المرض و من ناحية اخرى ، تحديد النوع المناعي الكيميائي MMR الوظيفي أو غير الوظيفي من أجل تحديد المرضى الذين يعانون من متلازمة HNPCC والنظر في العلاج الكيميائي في المرحلة الثانية وبالتالي التطرق إلى عدم استقرار السوائل في هذا الورم.

للتغيب عن طفرات في الجينات RAS و BRAF ، تم استخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية ، بناءً على منصة رقاقة منخفضة الكثافة أو على نظام اختبار جزيئي يستند إلى PCR في الوقت الفعلي. ولتحديد نظام MMR ، أجرينا دراسة كيميائية مناعية باستخدام الأجسام المضادة MLH1 و PMS2 و MSH2 و MSH6 .

شملت الدراسة ثمان وثمانين حالة تم التغيب فيها عن طفرات KRAS / NRAS / BRAF و 55 حالة أخرى تم البحث فيها عن نظام MMR. سجلت جميعها في مختبر التشريح المرضي بالمركز الإستشفائي الجامعي محمد السادس بمراكش بين عامي 2016 و 2019.

بالنسبة للدراسة الجزيئية التي تبحث عن طفرات الجينات KRAS و NRAS و BRAF ، بلغ متوسط عمر المرضى 57 عامًا. وكانت النسبة بين الجنسين 1.75 مع غلبة

الذكور. كانت العينات المستلمة عبارة عن خزعات أو قطع جراحية مثبتة في البارافين ، وتمثل القطع الجراحية 54.55% مقابل 45.45% من الخزعات. وقد جاء مصدر الطلب من مختبرات علم الأمراض التشريحية الخاصة في 64.7% من الحالات ، مقارنة مع 35.3% من الحالات من قسم علم الأمراض التشريحية بالمركز الإستشفائي الجامعي محمد السادس بمراكش. و بالنسبة للفحص الشامل ، فإن موقع الورم الرئيسي هو القولون بنسبة 55.8% والمستقيم بنسبة 39.7% و في كلا العضوين بنسبة 4.5% من الحالات . وكان الكبد هو أكثر المواقع انتشاراً للنقائل بنسبة 25% . أما بالنسبة للتحليل النسيجي فقد وجد النوع ADK في 80.68% من الحالات موضوع الدراسة ، منها 54.54% متباينة بشكل معتدل. في حين تم العثور على طفرة الجين KRAS في 40% من الحالات ، مقابل 4% للجين NRAS و 2% للجين BRAF .

و علماً أن المرضى الذين يعانون من طفرة الجين RAS لن يستفيدوا من العلاج المضاد لـ EGFR فقد تم دمج هذا النهج في العناية الإنتقائية للمرضى في مرحلة النقيلي.

أما بالنسبة للدراسة الكيميائية المناعية التي تبحث عن نوع MMR الوظيفي أو غير الوظيفي. كان متوسط العمر هو 54 عاماً. و كان النسبة بين الجنسين 1.62 مع غلبة الإناث. تم العثور على النوع MMR الغير الوظيفي (MSI) في 24% من الحالات مقابل 74% من الحالات ذات النوع MMR الوظيفي (MSS). علماً أنه في حالة الأورام التي تظهر النوع MMR الغير الوظيفي (MSI) ، و مع الأخذ بعين الاعتبار من ناحية أولى تشخيصهم الأفضل ومن ناحية أخرى التأثير الضار الواضح للعلاج الكيميائي الأحادي 5FU كمساعد ، يوصى بالرصد فقط. و بالنسبة للأورام الأخرى ذات الحالة MMR الوظيفية (MSS) ، يمكن النظر في العلاج الكيميائي المساعد.

من خلال هذه النتائج ، لاحظنا العديد من النقاط الإيجابية التي مكنتنا من وضع نموذج لورقة الفحص التشريحية المرضية و لتقارير البحث عن الطفرات. لذلك ، تشجع هذه الدراسة على تحسين المراحل المختلفة للمرحلة ما قبل التحليلية ، و على توعية الطلبة المتدربين والأطباء المقيمين على ملء النماذج المذكورة سابقاً ، و كذا جذب انتباه موظفي قسم علم التشريح المرضي حول حساسية العينات الصغيرة الثمينة . وأخيراً على تطوير منصات تقنية وفقاً للمعايير الدولية الأكثر دقة والأقل تكلفة التي تستهدف مسببات الأورام و ذلك للسماح بللمعالجة الدقيقة " علاج انتقائي " للمرضى الذين يعانون من هذا الورم.



Bibliographie



1. **Nogtegaal ID, Aneds MJ, Salto-Tellez M.**
WHO classification of tumors. 5TH edition, 2019
2. **Chirica M, Leconte M, Oberlin O, Dousset B.**
Cancers colorectaux : traitement chirurgical des métastases hépatiques.
Presse Med. 2012;41(1):58-67.
3. **Bouvier A.M, Lepage C, Faivre J.**
Epidémiologie des cancers du tube digestif
Encycl.Méd.Chir, Gastro-entérologie 2009;9-000-E-12.
4. **International Agency for Research on Cancer**
Cancer Incidence and Mortality Worldwide in 2015 [en ligne]
Disponible sur : <http://globocan.iarc.fr>. Consulté le 24 octobre 2018
5. **Al Hilal M.**
Etude épidémiologie du cancer (malades de l'INO entre 1985-2002)
<http://www.cancer.ma/Publications/docs/bilan85-2002.aspx>
6. **Kabouri K.**
Cancer colorectal chez le jeune de moins de 40 ans à propos de 110 cas. CHU Ibn Sina, Rabat, 2000.
7. **Geo. JH, Ryu, Jung EJ, Paik JH, Hwang DY .**
Clinical significance of preoperative virtual colonoscopy for evaluation of the proximal colon in patient with obstructive colorectal cancer.
Ann Coloprocol 2017;33:130-133.
8. **Wicha MS: Targeting self-renewal, an Achilles'heel of cancer stem cells.**
Nat Med 2014;20:14-15.
9. **Newbold R.**
Cancer : mutant ras proteins and cell transformation.
Nature. 1984;310(5979):628-9.
10. **Chang EH, Furth ME, Scolnick EM, Lowy DR.**
Tumorigenic transformation of mammalian cells induced by a normal human gene homologous to the oncogene of Harvey murine sarcoma virus.
Nature. 1982;297(5866):479-83.
11. **Lievre A, Bachet JB, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, et al.**
KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab.
J Clin Oncol. 2008;26(3):374-9.

12. Douillard JY, Oliner KS, Siena S, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, et al.
Panitumumab– FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer.
N Engl J Med. 2013;369(11):1023–34
13. Stintzing S, Jung A, Rossius L, Modest DP, Fischer vonWeikersthal L, Decker T, et al.
Analysis of KRAS/NRAS and BRAF mutations in FIRE-3: a randomized phase III study of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab as first-line treatment for wild-type (WT) KRAS (exon2) metastatic colorectal cancer patients.
Presented at: European Cancer Congress 2013. Amsterdam, The Netherlands ; 2013.
14. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilas G, et al.
Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer : a retrospective consortium analysis.
Lancet Oncol. 2010;11(8):753–62.
15. ONCOMIP
Référenciel régional de biologie moléculaire.2017
16. Heinemann J,
ESMO 2013 abst.17
17. Linardou H, Dahabreh IJ, Kanaloupiti D, Siannis F, Bafaloukos D, Kosmidis P, et al.
Assessment of somatic k–RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR–targeted agents : a systematic review and meta–analysis of studies in advanced non–small–cell lung cancer and metastatic colorectal cancer.
Lancet Oncol. 2008 ;9(10):962–72.
18. Van de Velde, C. J., Aristei, C., Boelens, P. G., Beets–Tan, R. G., Blomqvist, L., Borrás, J. M., ... & Espin, E. (2013).
EURECCA colorectal: multidisciplinary mission statement on better care for patients with colon and rectal cancer in Europe.
European Journal of Cancer, 49(13), 2784–2790.
19. Ferlay, J., Shin, H. R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., & Parkin, D. M. (2010).
Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.
International journal of cancer, 127(12), 2893–2917.
20. Samadder, N. J., Curtin, K., Wong, J., Tuohy, T. M., Mineau, G. P., Smith, K. R., ... & Provenzale, D.
Epidemiology and familial risk of synchronous and metachronous colorectal cancer : a population–based study in Utah. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2014;12(12), 2078–2084.

21. Stewart, B., & Wild, C. P. (2016).
World cancer report 2014. World. 2016
22. Center, M. M., Jemal, A., & Ward, E. (2009).
International trends in colorectal cancer incidence rates. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention. 18(6), 1688–1694.
23. Center, M. M., Jemal, A., Smith, R. A., & Ward, E. (2009).
Worldwide variations in colorectal cancer. CA: a cancer journal for clinicians, 59(6), 366–378.
24. Bosetti, C., Malvezzi, M., Chatenoud, L., Negri, E., Levi, F., & La Vecchia, C. (2005).
Trends in cancer mortality in the Americas, 1970–2000. Annals of Oncology, 16(3), 489–511.
25. Jemal, A., Thun, M. J., Ries, L. A., Howe, H. L., Weir, H. K., Center, M. M., ... & Ajani, U. A. (2008).
Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. Journal of the National Cancer Institute, 100(23), 1672–1694.
26. Edwards, B. K., Ward, E., Kohler, B. A., Ehemann, C., Zauber, A. G., Anderson, R. N., ... & van Ballegooijen, M. (2010).
Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. Cancer, 116(3), 544–573.
27. Bray, F., Jemal, A., Grey, N., Ferlay, J., & Forman, D. (2012).
Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study. The Lancet Oncology, 13(8), 790–801.
28. Arnold, M., Sierra, M. S., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2016).
Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut, gutjnl- 2015.
29. Sierra, M. S., & Forman, D. (2016).
Burden of colorectal cancer in Central and South America. Cancer Epidemiology, 44, S74–S81.
30. Lafay, L., & Ancellin, R. (2015).
Alimentation et cancer colorectal. Cahiers de Nutrition et de Dié tétique, 50(5), 262–270.

31. Le, P., Mehtari, L., & Billey, C. (2006).
Les tumeurs du colon transverse.
Journal de Chirurgie, 143(5), 285–293.
32. Belot, A., Velten, M., Grosclaude, P., Bossard, N., Launoy, G., Remontet, L., ... & Ché rié-Challine, L. (2008).
Estimation nationale de l 'incidence et de la mortalité par cancer e n France entre 1980 et 2005(p. 132). Saint-Maurice (France): Institut de veille sanitaire.
33. Kudjawu, Y. C., Eilstein, D., Decool, E., De Maria, F., Beltzer, N., & Chatellier, G. (2015).
Time to first treatment after colonoscopy in patients suffering from colon or rectum cancer in France.
Cancer epidemiology, 39(6), 877–884.
34. Birgisson, H., Talbäck M., Gunnarsson, U., På hlman L., & Glimelius, B. (2005).
Improved survival in cancer of the colon and rectum in Sweden.
European Journal of Surgical Oncology (EJSO), 31(8), 845–853.
35. Tlemsani. H. Janati. R. Sahib H.
Registre des cancers Sé tif Algérie 1993–1997. Publication 2004
36. Abid. A.
Registre des cancers Nord Tunisie 1995–1998. Publication 2004.
37. Kassab, A., Landolsi, S., Miled, A., Ahmed, S. B., & Olfa, G. (2013).
Existe-t-il une relation entre les habitudes alimentaires en Tunisie et le cancer colorectal ?
Élé ments de réponse à partir d'un é chantillon de population
Immuno- analyse & Biologie Spé cialisée 28(5), 327–334.
38. Gharbi, O., Chabchoub, I., Limam, S., Hochlef, M., Fatma, L. B., Landolsi, A., ... & Letaief, R. (2010).
Facteurs pronostiques et survie des cancers colorectaux mé tastatiques au CHU de Sousse (Tunisie): É tude comparative de deux périodes de traitement de 200 patients.
Bulletin du Cancer, 97(4), 445–451.
39. Missaoui, N., Jaidaine, L., Abdelkader, A. B., Trabelsi, A., Mokni, M., & Hmissa, S. (2011).
Colorectal cancer in central Tunisia: increasing incidence trends over a 15-year period.
Asian Pac J Cancer Prev, 12(4), 1073–6.
40. Benider. A., M. Bennani Othmani, M. Katomi, A. Quessar, S. Sahraoui.
Registre des cancers de la ré gion grand Casablanca. Anné e 2004 Edition 2007.
41. Guerbaoui M.
Le cancer au Maroc: é pidémiologie descriptive de 1950 à 1980.
El Jadida: Najah, 1ere edition 2000; 250 p: 119–25

42. Ayoujil A., Hami H., Habib F., Soulaymani A., Mokhtari A., Quayou A.
Colorectal cancer in Morocco: aretrospectivestudy.
European Journal of Cancer 50, suppl. 1 (2014) S9-S15
43. Amarti A.
Thèse: Les cancers digestifs au CHU HASSAN II Fès, Service d'anatomopathologie de Fès
2008
44. El ouarradi, M. H.
Thèse: Epidémiologie des cancers colorectaux dans la région de Marrakech durant la période 1995-2008. (2010)
45. Chbani M.
Thèse: Les aspects épidémiologiques des cancers au centre hospitalier HASSAN II de Fès.
Rabat 2005.
46. Benseddik N.
Thèse: Les aspects épidémiologiques des cancers colorectaux (A propos de 116 cas). Service d'Hépatogastroentérologie CHU Hassan II Fès 2008.
47. Boutaalla J.
Thèse: Etude épidémiologique descriptive. A propos de 549 cas de cancer colorectal colligé s au service de chirurgie « C » IBN SINA. Rabat 2005.
48. Goujil B.
Thèse: Le cancer du colon, étude rétrospective de 83 cas au service des urgences chirurgicales viscérales CHU Ibn Rochd, Casablanca, 2000.
49. Baich H.
Thèse: La prise en charge du cancer rectal CHU Mohammed VI, Marrakech 2007.
50. Hakam J.
Thèse : Le cancer colorectal dans la région de Marrakech: bilan de 19 ans.
51. Aparicio T, Mitr Y E, Cunma, et al.
Prise en charge des cancers colorectaux des sujets âgés.
Gastroenterol clin biol. 2005;29:1014-23.
52. Faivre J, Grosbost O, Chtrenet Ph.
Epidémiologie du cancer colorectal.
Acta Endoscopica. 1992;22(1):75-80.
53. Bertario L, Russo A, Sala P, et al.
« Gentye and phenotyp factors as determinants of desmoid tumors in patients with familial adenomatous polyposis »
Int J Cancer. 2001;2:633-8.

54. Pocard M, Gallot D, Derycke Y, Malafosse M.
Adénocarcinome colorectal chez le sujet de moins de 40 ans.
Gastroenterol clin biol. 1997;21(12):955-59
55. Kam M H, Eu K W, Barken CP, et al.
Colorectal cancer in the young:a 12- yearreview of patients 30 years or less Black publish Ltd. Colorectal disease. 2004;6:191-94. [PubMed][Google Scholar]
56. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, Fuchs C, et al.
«Methylenetetrahydrofolatereductasepolymorphism and colorectal hyperplasic»
Cancer EpidemiolBiomarkersPrev. 2000;9(7):657-63. [PubMed] [Google Scholar]
57. Rougier, P. (2004).
Cancers du cô lon et du rectum Mieux les dé pister et mieux les traiter.
La Revue du praticien,54, 133-142.
58. Viguiet J. , Bourliet P., Karsenti D., et al.
Cancer du cô lon
Encycl mé dChir, Gastro-enté rologie 2003, p. 9-068.
59. Aran, V., Victorino, A. P., Thuler, L. C., & Ferreira, C. G. (2016).
Colorectal Cancer: Epidemiology, DiseaseMechanisms and Interventions to ReduceOnset and Mortality. Clinical colorectal cancer.
60. Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... & Bray, F. (2015).
Cancer incidence and mortalityworldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012.
TheInternational journal of cancer,136(5), E359-E386.
61. Sierra, M. S., & Forman, D. (2016).
Burden of colorectal cancer in Central and South America.
Cancer Epidemiology,44, 574-581.
62. Belot, A., Velten, M., Grosclaude, P., Bossard, N., Launoy, G., Remontet, L., ... &Ché rié-Challine, L. (2008).
Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2005(p. 132). Saint-Maurice (France): Institut de veille sanitaire.
63. Thomann G.
Robotique chirurgicale. Institut national de sciences appliqués de Lyon. 2014

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم
أن أراقب الله في مهنتي
وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف والأحوال
بأدب وأسعى في إنقاذها من الهلاك والمرض والألم والقلق .
وأن أحفظ للناس كرامتهم ، وأستر عورتهم ، وأكتم سيرهم .
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله مُسخرًا لكل
معايبي الطبية للقريب والبعيد ، والصالح والطالح والصديق
والعدو .

وأن أتأبر على طلب العلم المسخر لنفع الإنسان . . . لا لأداه
وأن أوقر من علمي ، وأعلم من يصفري ، وأكون أخًا لكل زميل في
المهنة الطبية متعاونين على البر والتقوى ،
وأن تكون حياتي
مصداقًا لإيماني
في سيري وعلائي ،
نقية مما يشينها
تجاه الله ورسوله والمؤمنين ،
والله على ما أقول شهيد .

سنة 2019 أطروحة رقم 270
النوع الكيميائي المناعي و الجزيئي لسرطانات القولون و المستقيم:
تجربة مصلحة التشريح المرضي بالمركز الإستشفائي
الجامعي محمد السادس بمراكش.

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2019/12/19
من طرف

السيد : اليزيد العلوي بوفارس

المزداد في 30 يوليوز 1995 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

سرطان القولون والمستقيم - علم التشريح المرضي - الكيمياء المناعية - عدم استقرار السواتل -
البيولوجيا الجزيئية - الطفرات الوراثية

اللجنة

الرئيس

م.خوشاني

السيدة

أستاذة في طب العلاج بالأشعة .

المشرف

ح.الرايس

السيدة

أستاذة في علم التشريح المرضي.

ز.سملاني

السيدة

أستاذة في طب الجهاز الهضمي .

خ. رباني

السيد

أستاذ في الجراحة العامة .

الحكام

أ.فخري

السيد

أستاذ مبرز في علم الأنسجة و الأجنة و الخلايا الجينية

ف.حزميري

السيدة

أستاذة مبرزة في علم الأنسجة و الأجنة و الخلايا الجينية

Remarques du jury

