

République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option

Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

**Etude de la protéine HER2 par Immunohistochimie et confirmation
des statuts équivoques par la technique CISH chez une population
atteinte d'adénocarcinome gastrique**

Soutenue le : 19/09/2021

Présenté par :

Mlle. ELARBI RABAH Selsabil

Mlle. TEMAMERA Siham

Devant le jury composé de :

Mme GUESSAIBIA.N	MCA	USDB1	Présidente
Mme RAHIM.I	MCB	USDB1	Examinatrice
Mme KANANE.A	MCB	USDB1	Promotrice
Mr BELARBLA	Professeur	CHU Douera	Co- promoteur

2020 / 2021

REMERCIEMENT

Avant toute chose, on remercie Allah le tout puissant qui nous a donné la force, la volonte et beaucoup de courage pour réaliser ce travail.

En termes de ce travail, il nous est agréable d'exprimer notre gratitude, notre reconnaissance et nos très vifs remerciements à notre promotrice Mme **Kanane.A**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils dans le suivi scientifique de notre travail.

Nous tenant à remercier **Mme Guessaibia.N** et **Mme Rahim.I** de nous avoir honoré en faisant partie de ce jury et pris le temps de lire et de juger ce modeste travail.

Nous remercions notre co-promoteur le chef de service d'anatomopathologie au CHU Douera professeur **Belarbi.A** d'avoir accepté de co-encadrer ce mémoire.

Sans oublier de remercier tout le personnel du service d'anatomopathologie de CHU Douera, en particulier **Mr Kherroubi Hakim** chargé de notre formation, pour sa gentillesse, son écoute et sa disponibilité en toute heure, malgré un emploi du temps chargé, ainsi que **Mr. Oubelgha Rachid**, **Dr. Chilla** et **Dr.Djellal** pour leur soutien précieux.

Nous vifs remerciements pour **Dr Khemsi Djamel** médecin au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique de Blida, pour son aide et ses conseils précieux durant la réalisation de ce travail.

Et enfin nous tenant à remercier tous nos enseignants du département de BMC, à leurs têtes **Mme Saadi.L** chef d'option, qui n'ont cessé de nous aider et orienter, durant notre parcours universitaire.

DEDICACE

C'est avec une joie immense et le cœur ému que je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents :

*A Ma merveilleuse et précieuse maman ma meilleure amie, ma raison et ma force **Lemiti Naima**, comment ne pas commencer par toi, Merci d'être toujours là , pour toute la motivation, tes mots et ton encouragement constant à chaque moment où j'en avais le plus besoins, de me réconforter et me pousser à me surpasser et à devenir la meilleure version de moi-même.*

A Mon papa chéri Farid ,l'homme au cœur tendre pour tous que tu as fait pour moi et ce que tu m'a appris, merci de toujours être là pour moi, d'être mon repère et de m'aider , me protéger et me forger...

Si je suis la personne forte et courageuse que je suis aujourd'hui c'est à cause de vous, vous m'avez prodigué tant d'amour, d'affection, de valeurs et principes et faite tant de sacrifices pour mon éducation, mes études, aucun mot ne serai à la hauteur pour exprimer tout mon amour pour vous, sans votre présence, vos prières je n'aurais jamais pu supporter le stress de ces longues années d'études. J'espère vous rendre fiers. Cette dédicace serait pour moi, la meilleure façon de vous honorer et vous montrer à quel point vous êtes les personnes les plus importantes dans ma vie.

Ma douce sœur Nouceiba et mon cher frère Mohamed, ainsi que mon beau-frère Riadh et ma belle-sœur Nesrine, ma chère grand-mère Ghania, je vous dédie ce mémoire pour tout le soutien morale, merci de prendre soin de moi et de me gâter, pour vos conseils et vos encouragements,

À mon neveu d'amour Wael et ma mignonne nièce Céline, que dieu le tout puissant vous préserve des malheurs de la vie et vous procure longue vie.

A mes aimables amis, Sarah, Nousseiba, Tamim , Ibrahim , Fedoua ,Sarra merci d'être présent d'avoir participé de près ou de loin, et de me soutenir dans les bons comme au mauvais moments a la réalisation de ce travail.

*Ce travail est en partie un hommage à mon défunt **Grand père Abdelkrim**, atteint d'un **cancer gastrique** qui restera à jamais dans mes pensées ...*

SELSABIL

DEDICACE

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

Je dédie ce travail A

*Mon Père **Yafia***

Dont le mérite, les sacrifices et les qualités humaines m'ont permis de vivre ce jour.

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse,

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

*A ma mère **Nacera**, Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi je t'aime maman.*

*A mon cher frère **Yazid***

Je te dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que tu m'offre quotidiennement et ta bonté exceptionnelle, Tu as toujours offert soutien et réconfort, Je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A TOUTE MA FAMILLE

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

*A **Chafinaz** ma cousine et ma meilleure amie pour son encouragements permanents, et son soutien moral, et **Wissam** et ses petits **Amir** et **Amira** j'exprime envers vous une profonde reconnaissance.*

*A **Mehdi** et mes amies **Nasmine, Sara, Fadoua, Noussaiba, Brahim et Tamim** Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amis sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de Bonheur*

A toute l'équipe Meubligny merci pour votre compréhension, votre soutien infailible.

SIHEM

Résumé

Le cancer de l'estomac est essentiellement représenté par l'adénocarcinome gastrique. C'est l'une des premières causes des décès dans le monde, avec un pronostique péjoratif. Afin d'améliorer ce dernier, plusieurs études ont été mises en jeu pour cibler les mécanismes moléculaires impliqués dans le développement du cancer gastrique. Ainsi, le récepteur de facteur de croissance épidermique humain 2 (**HER2**) est l'une des altérations ciblées les mieux caractérisées pour les traitements, notamment, le trastuzumab, pertuzumab, les inhibiteurs TK (lapatinib et neratinib) et autres nouvelles thérapies comme le ZW25.

L'objectif de cette étude rétrospective portée sur 20 patients atteints d'adénocarcinome gastrique, est d'évaluer la prévalence de l'expression du récepteur **HER2** par la technique d'immunohistochimie (**IHC**) et confirmer les cas ambigus à travers une technique d'hybridation *in situ* chromogénique (**CISH**), afin de sélectionner les patients qui seront orientés vers le traitement par l'Herceptine ou de nouvelles thérapies ciblées.

Nos résultats ont montré une prédominance masculine **14** hommes (**70%**) contre **6** femmes (**30%**) avec un sexe ratio de **2,33** et un âge moyen de **57.15 ans**. Une taille tumorale moyenne de **2.31cm**, le grade tumoral le plus répondu est l'ADK peu différencié avec **10** cas (**50%**) suivi de moyennement et bien différencié **6** cas (**30%**) et **4** cas (**20%**) respectivement. L'infiltration des filets nerveux est présentée par un pourcentage élevé de **45%**. La classification du type histologique **OMS**, a révélé une prédominance des cas d'ADK à cellules indépendantes avec un taux de **45%** et pour les types tubuleux, mucineux, mixtes et papillaires sont respectivement de (**15%, 5%, 5%** et **0%**). La classification TNM a montré des valeurs des stades T1, T2, T3 et T4 (**0%, 10%, 25%** ,**15%**) respectivement. Quant aux stades ganglionnaire N0, N1, N2 et N3 les taux sont de (**5%, 10%, 15%, 20%**) respectivement avec **25%** des cas sont au stade non métastatique et **20%** métastatique. La localisation antrale est prédominante chez **20%** des cas, suivie par les autres sièges de lésion avec des valeurs différentes.

En effet, l'**IHC** d'**HER2** a révélé **50%** des cas score **0+**, **33%** score **1+**, **17%** score **2+** et **0%** score **+3**. De plus, l'étude du cas ambiguë score **2+** par **CISH** a démontré que ce dernier est **HER2** non amplifié.

Cette étude montre l'implication de **IHC** et **CISH** dans les pratiques cliniques où **HER2** est associé à un mauvais pronostic ce qui suggère une recherche du profil **HER2** chez les patients à cancer de l'estomac.

Mots clés : Cancer gastrique, HER2, Amplification HER2, CISH, IHC, Thérapies ciblées.

Abstract

Gastric cancer is mainly represented by gastric adenocarcinoma. It is one of the first causes of death in the world, with a poor prognosis. In order to improve the prognosis of gastric cancer, several studies have been carried out to target the molecular mechanisms involved in the development of gastric cancer. Thus, the human epidermal growth factor receptor 2 (**HER2**) is one of the best-characterized targeted alterations for treatments, including trastuzumab, pertuzumab, TK inhibitors (lapatinib and neratinib) and other new therapies such as ZW25.

The objective of this retrospective study of **20** patients with gastric adenocarcinoma is to evaluate the prevalence of **HER2** receptor expression by immunohistochemistry (**IHC**) and to confirm ambiguous cases by chromosomal in situ hybridization (**CISH**), in order to select patients who will be referred to Herceptin treatment or new targeted therapies.

Our results showed a male predominance of **14 (70%)** versus **6 females (30%)** with a sex ratio of **2.33** and a mean age of **57.15** years. The average tumor size was **2.31** cm, the most common tumor grade was poorly differentiated ADK with **10 cases (50%)** followed by moderately and well differentiated **6 cases (30%)** and **4 cases (20%)** respectively. Infiltration of the nerve nets was presented by a high percentage of **45%**.

The **WHO** histological type classification, revealed a predominance of independent cell ADK cases with a rate of **45%** and for tubular, mucinous, mixed and papillary types are respectively (**15%,5% ,5% and 0%**). TNM classification showed values of T1, T2, T3 and T4 stages (**0%, 10% ,25% ,15%**) respectively. As for the lymph node stages N0, N1, N2 and N3 the values are (**5%, 10%, 15%, 20%**) respectively with **25%** non-metastatic and **20%** metastatic cases . The antral location is predominant in **20%** of cases, followed by the other sites of lesion with different values.

Furthermore, **HER2 IHC** revealed **50%** of the cases score **0+**, **33%** score **1+**, **17%** score **2+** and **0%** score **3+**. Furthermore, the study of the ambiguous case (**score 2+**) by **CISH** demonstrated that this latter are **HER2** non-amplified.

This study shows the implication of IHC and CISH in clinical practices where HER2 was associated to a bad prognostic who suggest a HER2 profile research in gastric cancer patients.

Keywords: Gastric cancer, HER2, Amplification HER2, CISH, IHC, Targeted therapies.

ملخص

يتمثل سرطان المعدة بشكل أساسي بسرطان المعدة الغدي . إنه أحد الأسباب الرئيسية للوفيات في جميع أنحاء العالم و ذلك لسوء التشخيص. من أجل تحسين هذا الأخير ، تم إجراء العديد من الدراسات لاستهداف الآليات الجزيئية المشاركة في تطوير سرطان المعدة. وبالتالي ، فإن مستقبل عامل نمو البشرة البشري 2 (HER2) هو أحد أفضل العوامل المستهدفة المميزة للعلاجات ، على وجه الخصوص ، تراستوزوماب ، وبيرتوزوماب ، ومثبطات TK (لاباتينيب ونيراتينيب) وغيرها من العلاجات الجديدة مثل ZW25.

الهدف من هذه الدراسة بأثر رجعي ، التي أجريت على 20 مريضًا مصابًا بسرطان المعدة الغدي ، هو تقييم مدى انتشار التعبير عن مستقبلات HER2 عن طريق تقنية الكيمياء الهستولوجية المناعية (IHC) وتأكيد الحالات الغامضة من خلال عنصر كروموجيني في تقنية التهجين (CISH) ، من أجل اختيار المرضى الذين سيحاولون للعلاج بالهرستين أو علاجات اخرى مستهدفة جديدة.

أظهرت نتائجنا غلبة للذكور 14 رجلاً (70%) مقابل 6 نساء (30%) بنسبة جنس 2.33 ومتوسط عمر 57.15 سنة. يبلغ متوسط حجم الورم 2.31 سم ، ودرجة الورم الأكثر استجابة هي متفاوتة بشكل سيئ مع 10 حالات (50%) تليها متوسطة ومتباينة جيداً 6 حالات (30%) و 4 حالات (20%) على التوالي.

يتم غزو خيوط الأعصاب بنسبة عالية 45%. كشف تصنيف النوع النسيجي لمنظمة الصحة العالمية عن غلبة حالات ADK ذات الخلايا المستقلة بنسبة 45% و بالنسبة للأنواع الأنبوبية والمخاطية والمختلطة والحليمية (15% ، 5% ، 5% و 0% على التوالي). أظهر تصنيف TNM قيم المراحل T1، T2 ، T3 ، T4 ، (0%، 10%، 25%، 15%) على التوالي. أما بالنسبة لمرحل العقد الليمفاوية N0 N1 و N3 ، N2 (5%، 10%، 15%، 20%) على التوالي مع 25% من المرحلة غير النقيلية و 20% النقيلية للحالات . يسود موقع Adk في الغشاء ل 20% من الحالات ، تليها مواقع الأخرى بقيم مختلفة.

بالإضافة إلى ذلك، كشفت IHC من أن 50% من الحالات HER2 تسجل +0 ، 33% (درجة +1) ، 17% (درجة 2+) و 0% (درجة 3+) بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة الحالة الغامضة (الدرجة 2+) بواسطة CISH أن هذه الحالة الأخيرة غير معبرة.

هذه الدراسة تظهر تدخل IHC و CISH في الممارسات العيادية اين HER2 مرتبط بتشخيص طبي سيء مما يقترح بحوث حول ملف HER2 الشخصي لمرضى سرطان المعدة .

الكلمات المفتاحية: سرطان المعدة ، HER2 ، التضخيم ، HER2 ، CISH ، IHC ، العلاجات المستهدفة

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Généralités.	
I.1-Estomac.....	3
I.1.1-Définition.....	3
I.1.2-Fonctions.....	3
I.1.3-Anatomie.....	4
I.1.4-Histologie.....	5
I.2-Cancer gastrique.....	7
I.2.1-Epidémiologie.....	7
I.2.2-Facteurs de risques.....	8
I.2.2.1-Environnementaux.....	8
I.2.2.2-Génétique.....	9
I.2.3-Carcinogenèse gastrique.....	11
I.2.4-Manifestations cliniques.....	12
I.2.5- Diagnostique.....	13
I.2.6-Les différentes classifications.....	14
II. Récepteur de facteurs de croissance épidermique humain 2 HER2	
II.1-Définition.....	18
II.2-Structure.....	19
II.3-Rôle physiologique du récepteur.....	20
II.4-Mécanisme d'activation HER2 et transduction du signal.....	21
II.5-Oncogenèse cellulaire.....	25
II.6-Méthode de détermination HER2.....	26
II.7-Traitement.....	28
II.7.1- Thérapie ciblée.....	28

II.7.4.1-Anticorps monoclonaux.....	29
II.7.4.2-Inhibiteurs des tyrosines kinases ITK.....	31
II.7.4.3-Autres nouvelles thérapies.....	32
Chapitre II : MATERIEL & METHODES	
III.1-Matériel.....	35
III.2-Méthodes.....	36
III.2.1-Etude rétrospective.....	36
III.2.2-Etude anatomopathologique.....	36
a)- Technique histologique.....	37
b)-Technique immunohistochimique.....	41
c)-Technique d'hybridation in situ (CISH).....	44
Chapitre III : RESULTATS & DISCUSSION.....	49
Conclusion.....	78
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Localisation de l'estomac.....	3
Figure 2: Anatomie de l'estomac.....	5
Figure 3: Histologie de l'estomac.....	6
Figure 4: Physiopathogénique de l'implication de <i>H. pylori</i> dans le cancer.....	12
Figure 5 : Emplacement du gène sur le chromosome 17 d'après le NCBI.....	18
Figure 6 : Les Récepteurs de la Famille HER.....	19
Figure 7 : Structure du récepteur HER 2.....	19
Figure 8 : Activation du récepteur HER2 et mécanisme d'action.....	21
Figure 9 : Les voies de signalisation RAS/MAPK.....	23
Figure 10: La voie PI3K initiée par le récepteur de la famille EGFR.....	25
Figure 11 : Surexpression du récepteur HER2.....	26
Figure 12: Méthodes de détermination du statut HER2.....	27
Figure 13 : Mécanismes d'action de Trastuzumab.....	30
Figure 14 : Mécanisme d'action de trastuzumab et pertuzumab.....	31
Figure 15 : Organigramme de l'étude expérimentale.....	35

Figure 16: Détection et mesure de la lésion d'un ¾ -ème partie de gastrectomie.....	38
Figure 17 : Le principe d'immunohistochimie.....	42
Figure 18: Principe de CISH.....	45
Figure 19 : Etape de CISH.....	47
Figure 20: Répartition d'adénocarcinome gastrique selon le sexe.....	50
Figure 21: Répartition d'adénocarcinome gastrique selon l'âge.....	51
Figure 22: Répartitions d'adénocarcinome gastrique selon la nature des prélèvements.....	52
Figure 23 : Répartition des masses tumorale selon la taille.....	53
Figure 24: Répartition des adénocarcinomes gastrique selon le grade de différenciation.....	54
Figure 25 : Adénocarcinome gastrique peu différenciée.....	55
Figure 26: Adénocarcinome gastrique moyennement différenciée.....	56
Figure 27 : Adénocarcinome gastrique bien différenciée.....	57
Figure 28 : Répartitions d'adénocarcinome gastrique selon l'infiltration du filet nerveux.....	58
Figure 29: Répartition des patients selon le type histologique.....	59
Figure 30 : Adénocarcinome gastrique mucineux.....	60
Figure 31 : Adénocarcinome gastrique tubuleux.....	61
Figure 32 : Adénocarcinome gastrique à cellule indépendante.....	62

Figure 33: Adénocarcinome gastrique composante (mixte).....	63
Figure 34 : Répartition selon Le paramètre T (Taille de Tumeur).....	65
Figure 35 : Répartition selon paramètre N (nombre de ganglions).....	66
Figure 36 : Répartition selon le paramètre M (métastatique ou non).....	68
Figure 37 : Répartition des patients selon le siège anatomique.....	69
Figure 38 : Répartition des patients selon l'expression du récepteur HER2.....	70
Figure 39 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique à score 0+.....	71
Figure 40 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique à score 1.....	72
Figure 41 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique à score 2+ (équivoque).....	73
Figure 42 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique a score 3+.....	74
Figure 43: Photomicrographie de technique CISH d'un cas HER 2 non amplifié.....	76

Liste des tableaux

Tableau I: Taille de tumeurs primitives (T).....	16
Tableau II: Invasion ganglionnaire (N).....	16
Tableau III : Tumeur métastatique ou non métastatique (M).....	17
Tableau IV : Score d'immunohistochimie pour l'expression de HER2 dans le cancer gastrique.....	27

Annexe I:

Tableau I: Matériel et réactifs utilisés pour l'étude histologique.

Tableau II : Matériel utilisé pour l'immunohistochimie.

Tableau III : Matériels utilisé pour l'hybridation in situ CISH.

Annexe V:

Tableau 1 : Répartitions selon le sexe.

Tableau 2 : Répartitions selon l'âge.

Tableau 3 : Répartitions selon le type de prélèvement.

Tableau 4 : Répartitions selon la taille de tumeurs.

Tableau 5 : Répartitions selon le type de prélèvement.

Tableau 6 : Répartitions selon le type histologique OMS.

Tableau 7 : Répartitions selon l'infiltration du filet nerveux.

Tableau 8 : Répartitions selon Le Paramètre T de la classification TNM.

Tableau 9 : Répartitions selon Le Paramètre N de la classification TNM.

Tableau 10 : Répartitions selon Le Paramètre M de la classification TNM.

Tableau 11 : Répartitions selon Le siège de la tumeur.

Liste d'abréviations :

AC : Anticorps.

ADK : Adénocarcinome.

AG : Antigène.

CG : Cancer gastrique.

CISH : Hybridation *in situ* chromogénique.

CR : domaine riche en cystéine.

DAB: 3-3 Diamino Benzidine.

EBV : Epstein Barr Virus.

EGFR : Récepteur de facteur de croissance épidermique.

EPIC : Enquête Prospective Européenne sur le cancer et la nutrition.

ERK1/2 : extracellulaire- kinase régulée par un signal 1 ou 2.

FAP: Polype adénocarcinome familial.

GDP: Guanosine diphosphate.

GIST: Tumeurs Stromales Gastro-intestinales.

Grb2: Growth factor receptor binding homology 2.

GTP: Guanosine triphosphate .

H.P: Helicobacter pylori.

HDGC : Cancer gastrique diffus héréditaire.

HE: Hématoxyline Eosine.

HER2 : Récepteur de facteur de croissance épidermique humain 2.

HIS: Hybridation *In Situ*.

IHC: Immunohistochimie.

LD : Domaine de liaison au ligand.

MALT : Tissu lymphoïde associé à la muqueuse.

MAP kinase: Mitogen Activated Protein Kinase.

MEK1/2: Mitogène activées par les kinases 1 ou 2.

mTOR: Mammalian target of rapamycin.

PBS: Phosphate Bufferd Saline.

PDK: Phosphatidylinositol-dependent kinase.

PI3K: Phosphatidylinositol 3 kinase.

PIP2: Phosphatidylinositol 4,5 biphosphate.

PIP3: Phosphatidylinositol 3, 4.5-trisphosphate.

PTEN: Phosphatase and TENsin homologue.

RAS : Famille des GTPase.

SH2: Src homology 2.

SH3: Src homology 3.

TK: Tyrosine kinase.

TKI : Inhibiteurs de la tyrosine kinase.

TNM: Tumor Nodes Metastases.

TRS: Traget Retrieval Solution.

V-erbB : Virus de l'érythroblastose aviaire.

ZW25 : Zanidatamab.

GLOSSAIRE

- **Adénocarcinome** : C'est une tumeur maligne, développé à partir des cellules de l'épithélium. Ce tissu recouvre toutes les glandes et tapisse l'ensemble des voies de passage des appareils : respiratoire, digestif, reproducteur et urinaire.
- **Cancer gastrique diffus héréditaire (HDCG)** : C'est une forme très rare qui correspond à une mutation du gène codant pour la protéine d'adhésion E- cadhérine (CDH1). Les cancers familiaux représentent 1 à 3 % des cancers gastriques.
- **Cellules pariétales** : Elles font partie des différentes cellules composant la paroi des glandes gastriques sécrètent de l'acide chlorhydrique.
- **Chyme gastrique** : C'est le résultat de la digestion de la nourriture par l'estomac. Ayant la consistance d'une pâte, il contient de la nourriture partiellement digérée, de l'eau, de l'acide chlorhydrique et des enzymes de digestion.
- **Dysplasie** : C'est une altération acquise de l'architecture et de la fonction d'un tissu à renouvellement rapide (moelle osseuse, épithélium de revêtement, etc.). La dysplasie possède une tendance globale à évoluer vers un cancer, ce qui en fait le synonyme parfois abusif d'état précancéreux.
- **Facteur intrinsèque (facteur de Castle)** : C'est une molécule sécrétée dans l'estomac, qui permet l'absorption de la vitamine B12 dans l'intestin grêle en se liant à celle-ci.
- **Gastrite atrophique** : Est une inflammation de la paroi interne de l'estomac associée à une perte des glandes présentes au niveau de l'épithélium, la couche superficielle de la paroi de l'estomac. Elle entre dans la catégorie des gastrites chroniques.

- **Hématémèse** : Se définit comme étant un rejet de sang, rouge ou noir, par la bouche, au cours d'un effort de vomissement.
- **Lymphomes gastrique de type B (MALT)** : C'est le plus fréquent des lymphomes de la zone marginale de faible degré de malignité.
- **Métaplasie**: Désigne la transformation d'un tissu différencié en un autre tissu différencié. Elle peut être osseuse, intestinale, malpighienne.
- **Métaplasie intestinale gastrique (MIG)** : C'est une étape intermédiaire dans le processus de cancérogenèse de l'adénocarcinome de type intestinal détectée par une gastroscopie.
- **Syndrome de Lynch** : C'est un trouble autosomique dominant dans lequel les patients sont porteurs de mutations génétiques connues qui nuisent à la réparation des mésappariements de l'ADN ont un risque de développement des cancers de 70 à 80% au cours de la vie.
- **TOGA**: l'étude ToGA est un essai de phase III multicentrique, ouvert, randomisé, évaluant l'efficacité et la tolérance du Trastuzumab dans le traitement des CG à HER2+.
- **Tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)** : Sont des tumeurs cancéreuses (malignes) qui se développent à partir d'un type spécifique de cellules (cellules souches mésenchymateuses) au sein de la paroi de l'œsophage, de l'estomac ou des intestins.
- **Virus d'Epstein-Barr** : C'est un virus de la famille des *Herpesviridae*, il cause plusieurs maladies dont la mononucléose infectieuse et le lymphome de Burkitt.

INTRODUCTION

Introduction

Le cancer gastrique (**GC**) est le quatrième cancer diagnostiqué dans le monde. C'est l'une des tumeurs malignes agressives les plus courantes du tube digestif et représente la deuxième cause de mortalité due à plusieurs facteurs étiologiques importants (**Machlowska et al., 2020**). En Afrique du Nord et au Maghreb, l'Algérie a la plus forte incidence de cancers gastriques, avec un taux de **6%**, suivie par la Tunisie **4,2%**, le Maroc **4%**, la Libye **3,7%** et l'Égypte **2,5%** (**Hussein et al., 2016**). Bien qu'actuellement l'incidence et la mortalité par le cancer gastrique soit en baisse, le taux de détection et le pronostic n'est pas satisfaisant, car la plupart de ces cancers sont détectés chez des patients symptomatiques, présentant des formes évoluées (**Van Cutsem et al., 2016**), ce qui induit un retard de diagnostic (**Taame, 2008**) et (**Farouk, 2010**).

Malgré les progrès réalisés sur le plan thérapeutique, le **CG** conserve sa redoutable gravité. En effet, afin d'améliorer les pronostics, l'entrée en pratique clinique de la thérapie moléculaire de précision ciblée contre le cancer gastrique, attire de plus en plus l'attention sur le récepteur de facteur de croissance épidermique humain 2 (**HER2**). Il est connu sous le nom de **Neu** ou **ErbB2** (oncogène d'érythroblastose B2). Il appartient à la famille des récepteurs du facteur de croissance épidermique (**EGFR**), qui est situé sur le chromosome humain **17** (17q21) et code pour une glycoprotéine transmembranaire (**Zhao et al, 2019**). Pendant longtemps, l'**HER2** est mis en évidence dans le cancer du sein (**Kunte et al., 2020**). Suite à sa surexpression et son amplification, il est devenu un marqueur important dans le cancer gastrique, avec un taux positif qui varie de **7,3 %** à **20,2 %** (**Abrahamo-Machado et Scapulatempo-Neto, 2016**).

Avec l'essai **TOGA** (une étude qui a évalué l'efficacité des traitements anti HER2), la thérapie Anti **HER2** (Herceptin) a obtenu un succès clinique encourageant chez les patients atteints de cancer gastrique **HER2-positif** (**Bang et al. 2010**).

Les recherches cliniques actuelles sur les agents ciblés **HER2**, autres que le Herceptine (Trastuzumab), sont en cours de développement, notamment, les petites molécules inhibitrices des kinases telles que (lapatinib, nératinib et d'autres thérapies nouvelles comme la ZW25).

Ainsi, l'examen actuellement recommandé pour la détermination de l'expression de l'**HER2** est l'immunohistochimie (**IHC**). C'est une méthode de localisation de protéine **HER2** dans les cellules de

tissu gastrique lésé, à travers la détection d'antigènes en utilisant des anticorps. Cette technique est combinée à une hybridation *in situ* en chromogène cytogénétique (**CISH**), qui est plus précise dans les cas d'expression des scores faibles à modérer (2+), afin de détecter le statut **HER2** finale (**Hofmann et al., 2008**).

C'est dans ce contexte que s'insère l'objectif de ce travail, qui consiste à :

- Etablir la fréquence du cancer de l'estomac selon l'âge et le sexe chez une population de **20** patients, au niveau du **CHU de Douera**.
- Etudier la relation entre le cancer gastrique et l'expression de **HER2**.
- Déterminer le statut d'amplification de **HER2** par **IHC** et confirmer les cas ambigus par la technique **CISH**, afin de proposer des mesures de thérapies ciblées pour améliorer le pronostic.

Chapitre 1 :

Etude Bibliographique

I. 1- L'estomac

I. 1.1. Définition

L'estomac (du latin *Stomachus* signifiant « œsophage » et par extension « estomac »), est un organe du tube digestif, l'œsophage le précède et l'intestin grêle le suit (Chaudhry et al., 2021). Il est cylindrique, dilaté sous forme de **J**, large, situé dans le corps humain à gauche de la ligne médiane et au centre dans la zone supérieure de l'abdomen **figure 1**. (Wilson et Stevenson ,2019) et (Chaudhry et al ,2021).

C'est un organe qui mesure **25 × 8 × 5 cm**, musclé et creux permettant une capacité à contenir de la nourriture à moyenne de **1,5 litres**, en contenant **0,5 litre** à vide. Sa taille, sa forme et sa position chez l'adulte peuvent varier en fonction de la posture de l'individu et de l'état de plénitude de l'estomac. (Mahadevan, 2017).

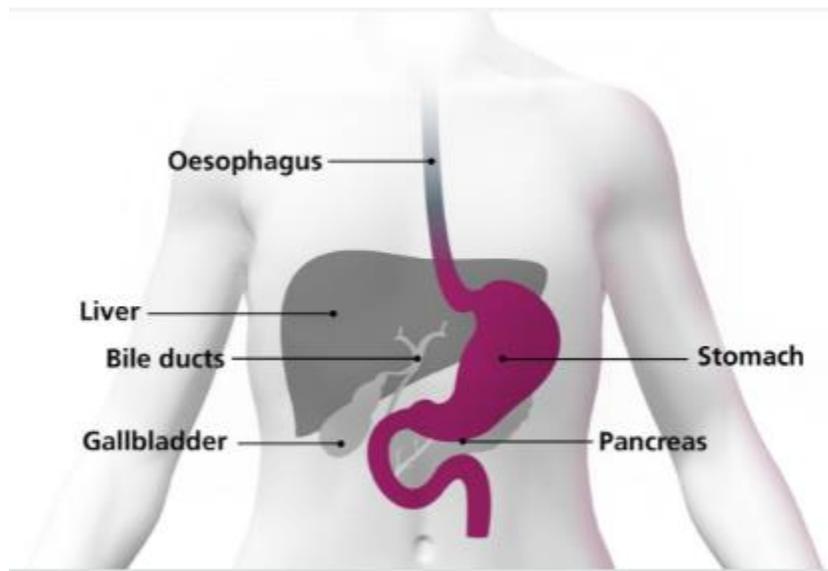


Figure 1: Localisation de l'estomac (NHS, 2019).

I. 1.2- Fonctions

L'estomac a **3 fonctions principales** (Zaanan et al.,2018):

- ✓ Entreposage temporaire de la nourriture provenant de l'œsophage qui est retenue dans l'estomac pendant deux heures ou plus.

- ✓ Brassage et désintégration des aliments grâce à la contraction puis à la relaxation des couches musculaires de l'estomac.
- ✓ Digestion de la nourriture permettant la transformation des aliments en nutriments qui par la suite seront absorbés dans le sang et la lymphe puis utilisés comme source d'énergie par les cellules du corps.
- ✓ Sécrétion au moment du repas d'une hormone appelée gastrine, responsable de la sécrétion d'acide de la partie verticale de l'estomac pour faciliter la digestion et une autre hormone dite Somatostatine qui inhibe la libération de gastrine et agit donc comme une substance paracrine (**Mc Quilken, 2021**).
- ✓ L'estomac produit également un facteur intrinsèque connu sous le nom de facteur de Castle, qui permet la digestion et l'absorption de la vitamine B12 (cobalamine) dans l'intestin grêle. Ce facteur joue un rôle important dans certaines fonctions neurologiques et la production des globules rouges (**Chaudhry et al ,2021**).

I. 1.3- Anatomie

L'estomac est séparé de l'œsophage par le sphincter œsophagien inférieur qui est contracté de manière tonique (**Mc Quilken, 2021**), il est composé de plusieurs régions principales :

- ✓ **Cardia** : C'est la région initiale de l'estomac connecté à l'œsophage, c'est là où la nourriture entre en première lieu (**Chaudhry et al, 2021**). A ce niveau se trouve le sphincter cardial, un mince anneau musculaire qui empêche le contenu gastrique (le reflux) de remonter dans l'œsophage. (**Mc Quilken, 2021**).
- ✓ **Fundus** : il suit le cardia et c'est une partie supérieure bulbeuse en forme de dôme de l'estomac. Les aliments sont stockés temporairement à ce niveau (**Chaudhry et al ,2021**).
- ✓ Le **corps** : La partie principale et la plus importante de l'estomac, à ce niveau les aliments sont décomposés brassés et commencent à se désintégrer (**Chaudhry et al ,2021**).
- ✓ **Antre pylorique** : Il fait suite au corps vers le bas de l'estomac, c'est une zone rétrécie qui permet de stocker les aliments décomposés en attendant qu'ils soient déversés dans l'intestin grêle.

- ✓ **Pylore:** La partie de l'estomac qui communique avec l'intestin grêle. En forme d'entonnoir qui achemine de manière conique la nourriture dans le duodénum. Elle est fermée par sphincter pylorique, un anneau de muscles épais qui agit comme une valve pour contrôler la vidange du contenu de l'estomac (appelé chyme) dans l'intestin grêle et empêche aussi le contenu du duodénum de remonter dans l'estomac (Chaudhry et al,2021).

Il existe deux courbures principales dessinent la forme de l'estomac présentées dans la (**figure 2**): La petite courbure, sur la face médiane concave et la grande courbure correspond à la face latérale convexe (Wilson et Stevenson ,2019).

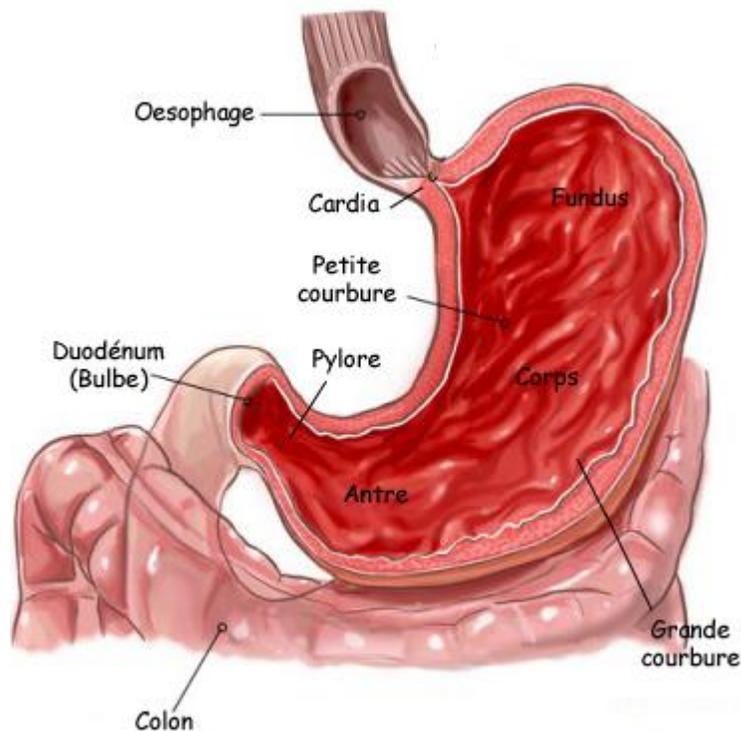


Figure 2 : Anatomie de l'estomac (Didier.,2017).

1.4- Histologie de l'estomac

La paroi gastrique est constituée de plusieurs couches de tissu (**Figure 3**). On distingue de la profondeur vers la superficie les composants suivants (Zaanan et al., 2018):

- ✓ **Muqueuse (mucosa) :** C'est le revêtement interne de l'estomac, lorsque l'estomac est vide la muqueuse est plissée. Ces replis (rides) gastriques s'ouvrent au fur et à mesure que l'estomac se remplit de nourriture.
- ✓ **Couche sous-muqueuse (Submucosa) :** Elle couvre la muqueuse, composée de tissu conjonctif qui comprend de gros vaisseaux sanguins et lymphatiques, des cellules nerveuses et des fibres (Zaanan et al., 2018).
- ✓ **Muscleuse (muscleuse externe ou muscularis propria) :** C'est le muscle principal de l'estomac, constitué de 3 couches de muscles et couvre la sous-muqueuse.
- ✓ **Séreuse :** C'est la membrane fibreuse qui recouvre l'extérieur de l'estomac, appelée aussi péritoine viscéral.

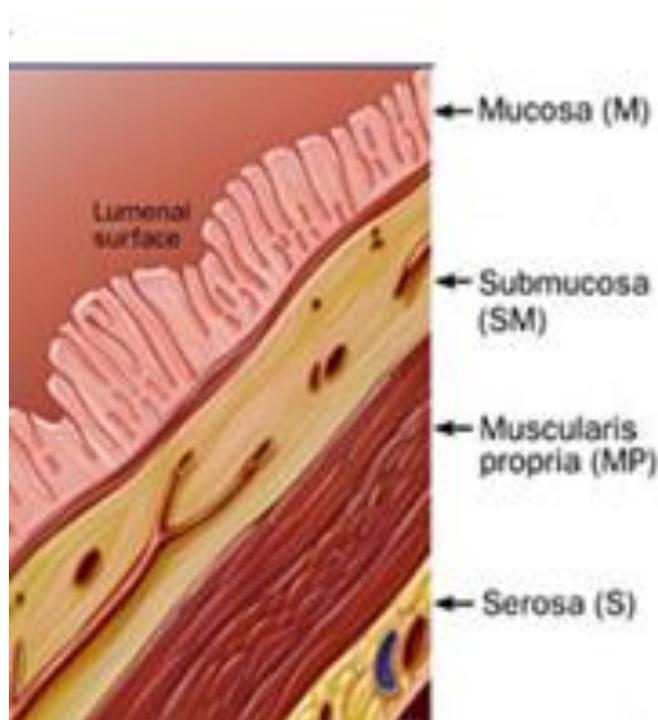


Figure 3 : Histologie de l'estomac (Johns Hopkins Medicine, 2001).

I. 2. Cancer gastrique

Le cancer gastrique est un cancer développé dans les tissus qui tapissent l'estomac à la surface de la muqueuse épithéliale ou en profondeur, dans la paroi gastrique à partir d'ulcérations cellulaires de la muqueuse gastrique (Nshizirungu, 2014). L'entité histologique la plus courante du cancer gastrique est l'*Adénocarcinome* qui représente **90%** de toutes les tumeurs de l'estomac. Il existe aussi les lymphomes gastriques de *phénotype B* Mucosa associated lymphoid tissue (**MALT**) ou les tumeurs stromales gastro-intestinales (**GIST**) (Huguet et al.,2020).

I.2.1- Épidémiologie

Le cancer gastrique (CG) est l'une des tumeurs malignes les plus courantes dans le monde, c'est la quatrième principale cause la plus répondeuse (Machlowska et al., 2020). Plus d'un million de nouveaux cas de cancer gastrique sont enregistrés chaque année, et avec plus de **768.000** morts. Il est classé en deuxième position dans les causes de décès par cancer (Abnet et al., 2021).

a- Fréquence

A l'échelle mondiale son incidence décline au rythme de **2%** à **3%** avec un nombre d'environ **990 000** personnes diagnostiquées par an. Toutefois en Algérie, son incidence est faible, même s'il arrive au deuxième rang des cancers digestifs (Abid, 2016).

b- Sexe ratio

L'incidence de CG est différente en ce qui concerne le sexe et la variabilité géographique. Les hommes sont deux à trois fois plus sensible que les femmes (Canseco-Ávila et al.,2019).

c- Age

Le taux d'incidence de CG augmente progressivement avec l'âge, la valeur médiane au diagnostic est de **70 ans**. En effet, environ **10%** des carcinomes gastriques sont détectés à l'âge de **45 ans** ou moins. par ailleurs le CG est plutôt rare et n'est pas répondeuse dans la population jeune (Fehim et al.,2017).

d- Siege

L'incidence du CG montre une énorme diversité géographique, ainsi, plus de **50%** des nouveaux incidents surviennent dans les pays en développement. Les zones avec le taux le plus élevé dans le développement du GC englobe, l'Amérique centrale et du Sud, l'Europe de l'Est et l'Est Asie (Chine et Japon). Les régions à faible risque comprennent l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Asie du Sud, Afrique du Nord et de l'Est et Amérique du Nord (**Mellouki et al.,2014**).

I. 2.2- Facteurs De Risques

I. 2.2.1/ Environnementaux

a) *Helicobacter Pylori* (*H.Pylori*)

Environ **80 %** des cancers de l'estomac sont en relation avec une infection à *Helicobacter pylori*, qui est reconnue comme un cancérogène de classe I du développement de CG par l'Organisation mondiale de la santé depuis **1994**. Etant une bactérie à Gram négatif qui colonise la muqueuse gastrique, émet une réponse immunitaire de l'hôte et persiste toute la vie si elle n'est pas éradiquée par un traitement approprié. C'est une condition associée au processus précancéreux qui induit une hyperméthylation de l'ADN, spécialement les ilots CpG, qui entraîne un silençage des gènes suppresseurs de tumeurs tel CDH1 (**Chollet, 2014**).

b) Alimentation

La corrélation entre les facteurs alimentaires et le risque de développement de CG est largement étudiée, et elle est d'une importance primordiale dans la carcinogenèse gastrique ainsi :

- Une alimentation riche en sel est associée à une augmentation de l'incidence de la mortalité et un risque accru de cancer de l'estomac. Le World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research (WCRF / AICR) a souligné qu'une consommation excessive de sel (**chlorure de sodium**) pourrait agir comme dévastant pour la muqueuse gastrique (**Yusefi et al., 2018**). Ceci entraîne une gastrite atrophique (**Machlowska et al.,2020**), une augmentation de la synthèse d'ADN et une prolifération cellulaire, ce qui favorise l'infection chronique à *Helicobacter pylori* (**Delahaye,2012**).

- Le nitrite utilisé dans certains aliments comme les nourritures fumées, marinées ou conserve, qui a une incidence importante dans le cancer gastrique, notamment dans certains pays comme le Japon et l'Islande (**Epplein et al., 2010**).
- L'hydrocarbure polycyclique dans les aliments fumés à fort potentiel carcinogène.

Contrairement, les fruits et les légumes jouent un rôle protecteur (**Epplein et al., 2010**). Ainsi, il existe une relation inverse entre la consommation de fruits et le cancer gastrique. Ceci est démontré par quelques études qui stipulent, que les légumes et les fruits riches en vitamine C et en bêta-carotène (des antioxydants), protègent la muqueuse gastrique, en limitant la transformation des nitrates en nitrosamines (**Guggenheim et Shah, 2012**).

c) Alcool

Parmi les diverses habitudes qui jouent un rôle dans le développement du CG, l'impact de la consommation d'alcool a été prise en compte (**Machlowska et al., 2020**). **Duell et al., (2011)**, ont confirmé la modeste augmentation du risque de cancer gastrique associé à la consommation d'alcool. Spécifiquement, ils ont observé qu'une consommation modérées d'alcool > 60 g/ jr augmente le risque de cancer gastrique.

d) Tabac

Le tabagisme est un facteur de risque établi de cancer gastrique (**IARC, 2016**). L'étude **EPIC** a démontré que l'arrêt du tabac est associé à une diminution du risque de développer un cancer gastrique. (**Guggenheim et Shah , 2012**).

e) Autres

Les cancers gastriques les moins courants comprennent l'infection à *l'Epstein Barr virus EBV* (**Murphy et al., 2009**), et les individus du groupe sanguin A (**American Cancer Society, 2016**).

I. 2.2.2/ Génétique

a) Cancer gastrique diffus héréditaire HDCG

Le **HDCG** est un syndrome de cancer gastrique d'origine héréditaire, caractérisé par l'apparition précoce d'un adénocarcinome gastrique à pauvre différenciation avant l'âge de **40 ans**. Ce type de cancer est causé par une mutation de la lignée germinale dans le gène **CDH1** située sur le chromosome **16q22**, qui code pour la E-cadhérine, une protéine d'adhésion cellulaire dépendante du calcium, responsable de l'interaction cellule-cellule et de la polarité cellulaire (**Fitzgerald et al.,2010**).

b) Syndrome de Lynch

Le cancer gastrique a été identifié avec une incidence accrue chez les familles atteintes du syndrome de **Lynch** (**Lynch et al., 2005**). L'étude de (**Aarnio et al., 1997**) a révélé une incidence dans environ **11%** des familles à syndrome de Lynch, portant des mutations germinales dans les gènes **MLH1**, **MSH2** ou **MSH6**, ce qui augmente le risque de développer un cancer gastrique.

c) Polypose adénomateuse familiale (FAP) :

La polypose adénomateuse familiale (**FAP**) est une augmentation significative du développement des polypes adénomateux de l'intestin antérieur et postérieur. Les polypes gastro-intestinaux supérieurs se produisent fréquemment dans l'antrum gastrique (polypes de la glande fundique), Les patients atteints de **FAP** portent une mutation germinale dans un gène suppresseur de tumeur **TP53** (**Gallagher et al., 2006**) et (**Capelle et al.,2010**).

d) Antécédent familial du cancer de l'estomac

Le risque de développer un cancer de l'estomac est élevé lorsqu'il existe chez un parent du premier degré (parents, frères, sœurs ou enfants), et conduit à la prédisposition dont **10 à 30 %** des personnes sont suspecté à avoir cette maladie (**Saffaee et al., 2012**), ont montré que les antécédents familiaux de cancer gastrique, en particulier chez les parents de premier grade, augmentent le risque de cancer gastrique (**Yusefi et al., 2018**).

e) Le sexe

La fréquence est plus développée chez les hommes que chez les femmes, les causes sont incertaines, cependant, les œstrogènes tels hormones sexuelles femelles, pourraient avoir un effet protecteur (**Karimi et al., 2014**).

f) Antécédent d'intervention chirurgicale sur l'estomac

Il existe un risque plus élevé de développer un cancer de l'estomac dans la partie restante, lorsqu'une partie de cet organe est enlevée par chirurgie en raison d'un ulcère gastrique (**Chollet et al.,2014**).

I. 2.3 - Carcinogénèse gastrique

- Deux hypothèses concernant l'étape des lésions précancéreuses ont été mises en évidence. La première, concerne l'altération des propriétés physiques et chimiques du mucus gastrique par *H. pylori* en le rendant plus sensible aux facteurs carcinogènes. La deuxième est en relation avec le régime alimentaire, notamment, l'excès de sel et la déficience en acide ascorbique de l'hôte ce qui favorise le processus carcinogène.

H. pylori (**HP**), Peut entraîner une gastrite à prédominance antrale (inflammation au niveau de l'antrum gastrique), associée à une hypersécrétion acide et à la maladie ulcéreuse illustrée dans l'étape **1** de la (**Figure 4**).

Dans d'autres cas, la gastrite est à prédominance fundique qui s'accompagne progressivement d'une baisse de la sécrétion acide, due à une raréfaction des cellules pariétales. C'est dans cette situation qu'une atrophie totale s'installe au bout de plusieurs années, conduisant la filiation entre gastrite chronique atrophique et cancer gastrique en passant par la dysplasie illustré dans étape **3** de la (**Figure 4**).

Par ailleurs, le changement du pH favorise une prolifération de la flore bactérienne intestinale douée d'une activité nitrate réductase qui métabolise les nitrates en nitrosamine, substance cancérigène (**Uemura et al., 1997**). C'est ainsi qu'une muqueuse de type intestinal, remplace progressivement la muqueuse gastrique appelée métaplasie gastrique. Dans ce cas le cancer est de type intestinal et c'est la forme la plus fréquente des cancers gastriques (**Uemura et al.,2001**).

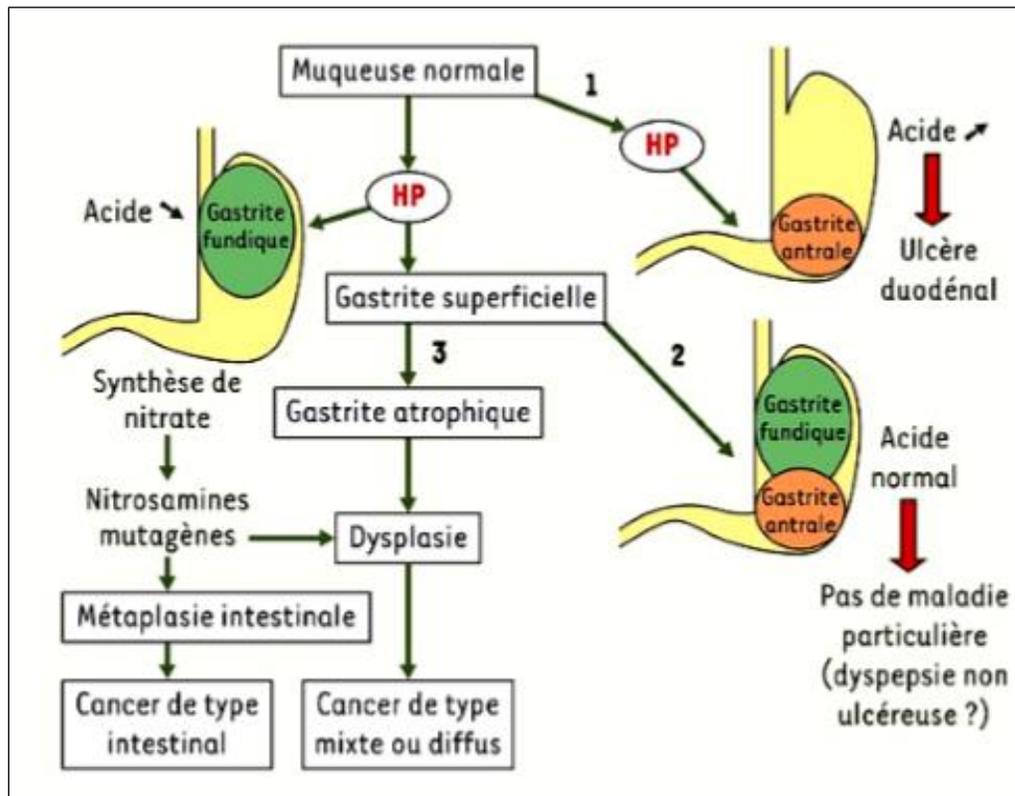


Figure 4: Physiopathogénique de l'implication de *H. pylori* dans le cancer gastrique (sobhani ,2004).

- La séquence des mutations survenant dans la transition des lésions précancéreuse jusqu'au cancer avec des altérations des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs qui touchent différents gènes de facteurs de croissances tel que **FGF**, **EGF**, **HGF** et leur récepteur **TGFβ** et **HER** ont été détecté (Lahzaoui,2003).

I. 2.4 Manifestations cliniques

Selon (Aparicio et al., 2004), les cancers de l'estomac sont le plus souvent diagnostiqués chez des patients symptomatiques qui présentent des formes évoluées, car les tumeurs débutantes sont asymptomatiques et rarement détectées en dehors d'une politique de dépistage ciblée. Les symptômes les plus observées sont :

a- Douleur épigastrique

Le motif de consultation le plus fréquent, Des douleurs sous forme de brûlure ou de pesanteur lors du diagnostic initial d'un antécédent d'ulcère gastrique est retrouvée dans environ un quart des cas (Aparicio et al., 2004).

b- Perte de poids (Amaigrissement)

La réduction pondérale résulte plus d'une réduction des apports alimentaires que d'une augmentation du catabolisme, et peut être rapportée à l'anorexie, les nausées, les douleurs abdominales, la sensation de satiété précoce, et/ou la dysphagie. C'est un signe plus tardif (Aparicio et al., 2004).

c- Dysphagie

C'est un symptôme des cancers du cardia ou de la jonction œsogastrique qui se définit comme une difficulté à la déglutition ou un trouble résulte d'une anomalie du transport des aliments liquides et/ou solides, du pharynx à l'estomac (Aparicio et al., 2004).

d- Vomissements

Présents dans **25%** des cas des cancers gastriques et surviennent plus fréquemment lorsque la tumeur envahit le pylore ou en cas de tumeur diffuse (Aparicio et al., 2004).

e- Hémorragies digestives :

Un saignement extériorisé par une hématomèse ou un méléna est retrouvé dans **20%** des cas ; une anémie due à une carence martiale témoigne un saignement occulte est fréquent (Aparicio et al., 2004).

f- Manifestations systémiques des cancers gastriques

Il s'agit de manifestations cutanées (kératose séborrhéique diffuse, d'anémie hémolytique, de micro-angiopathie. de néphropathies membrane-prolifératives et de syndromes d'hyper coagulation (syndrome de Trousseau) (Aparicio et al., 2004).

I. 2.5- Diagnostique

L'augmentation du taux de survie à cinq ans est probablement liée au diagnostic précoce, A l'aide d'un examen clinique les signes généraux comme l'amaigrissement, les douleurs épigastriques sont repérées ... ect (Agnes et al., 2017),(Huguet et al.,2020).

Lorsque la maladie est évoluée, d'autres signes cliniques, tels qu'une masse importante au niveau de l'estomac, la présence de ganglions lymphatiques volumineux peuvent être identifiés. Si le médecin suspecte un cancer gastrique, il proposera la réalisation d'une endoscopie (Al-Batran et al., 2019).

a- Fibroscopie ou l'endoscopie

Cet examen examine l'intégralité de la surface interne du système digestif haut (œsophage, estomac, et duodénum) afin de repérer la présence d'éventuelles lésions en introduisant un système optique fin et souple (l'endoscope) jusqu'à l'estomac, en passant par la bouche ou par le nez du patient. ce système optique est couplé avec des instruments miniaturisés qui permettent de réaliser de petits prélèvements (biopsie) en cas de lésion suspecte est découverte (Agnes et al., 2017).

b- Bilan d'extension

Il consiste à évaluer dans quelle mesure le cancer s'est étendu au reste de l'organisme, ensuite quand le diagnostic de cancer gastrique est confirmé, un traitement le plus approprié pour le patient est déterminé.

Ce bilan débute avec un interrogatoire et un examen clinique standard. Ensuite avec un scanner de l'ensemble du tronc. Pour observer le thorax, l'abdomen et la région pelvienne qui apporte des informations sur la position de la tumeur au sein de l'estomac et par rapport aux organes voisins, permettant de mieux visualiser le tube digestif sur l'image (Tunaci,2002).

I. 2.6- Différentes classifications

Du point de vue morphologique, le cancer gastrique est très hétérogène, ce qui est reflétée par la diversité des classifications histopathologies, ainsi on distingue :

A- Classification de Lauren

La plus utilisée a été proposée par Lauren (**Lauren ,1965**), au niveau de laquelle le cancer gastrique est divisé en différentes types qui se distinguent l'un de l'autre cliniquement et épidémiologiquement (**Johnston et Beckman, 2019**):

- 1- **Tumeurs de type intestinal** : Elles sont généralement bien différenciées, souvent ulcéreuses, et sont associées à une métaplasie intestinale de l'estomac (**Johnston et Beckman, 2019**).
- 2- **Tumeurs de type diffus** : Ce sont des lésions infiltrantes mal différenciées, qui conduisent à un épaissement de l'estomac (linitis plastica).

Les patients atteints de tumeurs de type diffus semblent avoir un pire pronostic que ceux atteints de tumeurs de type intestinal.

- 3- **Tumeurs de type mixtes** : Certains patients atteints d'un cancer gastrique ont un type à la fois intestinal et diffus dans l'échantillon de cancer gastrique. Il existe peu d'études évaluant le comportement et le pronostic du cancer gastrique de type mixte (**Johnston et Beckman, 2019**).

B- Classification de l'OMS

La classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) est plus détaillée que la classification de Lauren, elle divise le cancer de l'estomac en 5 principaux types (**WHO,2010**):

- **Adénocarcinome tubuleux** : Ce type est composé de petits tubes (tubules) ramifiés de différentes tailles.
- **Adénocarcinome papillaire** : Cette tumeur croît hors de la paroi gastrique et comporte des excroissances en doigts de gant qui pointent vers l'intérieur de la cavité de l'estomac. Ces cellules ont habituellement l'apparence et le comportement de cellules normales (**Curtis et al.,2014**).
- **Adénocarcinome mucineux** : Il y a beaucoup de mucine (constituant principal du mucus) à l'extérieur des cellules cancéreuses.
- **Carcinomes à cellules indépendantes** : ils englobent les carcinomes à cellules en bague à chaton et d'autres : Ces cellules cancéreuses sont regroupées en paquets.
- **Carcinome mixte ou composant** : Il consiste en un mélange de différents types d'adénocarcinome de l'estomac.

C- Classification TNM (édition 2016)

Le système TNM est le langage clinique de classification tumorale basée sur des facteurs anatomique comprennent la taille de la tumeur (T), l'atteinte ganglionnaire régionale (N) et la présence des métastases à distance (M). Ces facteurs sont regroupés en différents stades et reflètent le pronostic de la tumeur dont la gravité augmente avec le stade (Cserni et al.,2018) .

Tableau I: Taille de tumeurs primitives (T) (Wittekind, 2015)

Tis	Tumeur intra-épithéliale sans invasion de la lamina propria, dysplasie de haut grade.
T1	Tumeur limitée à la muqueuse ou à la sous-muqueuse (cancer superficiel).
T1a	Tumeur envahissant la lamina propria ou la musculaire muqueuse.
T1b	Tumeur envahissant la sous muqueuse.
T2	Tumeur étendue à la musculuse.
T3	Tumeur envahissant la sous séreuse (y compris ligament gastro-colique ou gastro-hépatique ou grand épiploon).
T4	Tumeur envahissant la séreuse ou les organes adjacents.
T4a	Tumeur envahissant la séreuse (péritoine viscéral).
T4b	Tumeur envahissant un organe ou une structure de voisinage (rate, côlon transverse, foie, diaphragme, pancréas, paroi abdominale, surrénale, rein, intestin grêle et rétropéritoine).

Tableau II: Invasion ganglionnaire (N) (Wittekind, 2015)

Nx	ganglions non évaluables.
N0	Pas d'invasion ganglionnaire.
N1	1à2ganglionsrégionauxmétastatiques.
N2	3 à 6 ganglions régionaux métastatiques.
N3	7ouplusganglionsrégionauxmétastatiques.
N3a	7à15ganglionsrégionauxmétastatiques.
N3b	16 ou plus ganglions régionaux métastatiques.

Tableau III : Tumeur métastatique ou non métastatique (M) (Wittekind, 2015)

M0	pas de métastase.
M1	métastase à distance (dont ganglions rétro-pancréatiques, mésentériques, para-aortiques, sous-claviculaires).

HER2

Le récepteur du facteur de croissance épidermique humain 2 (**HER2**) est l'une des altérations ciblées les mieux caractérisées dans les tumeurs solides. Actuellement, il est reconnu que sa surexpression / amplification est impliquée dans les cancers gastriques localement avancés ou métastatiques (**Li et al.,2020**).

Certaines études ont rapporté que le statut **HER2** positif dans le cancer gastrique est associé à une aggravation du pronostic, une agressivité accrue de la maladie et une survie raccourcie. Cependant d'autres études n'ont rapporté aucune valeur pronostique pour le statut **HER2** (**Van Cutsem et al.,2016**).

Par conséquent, l'objectif de notre étude est d'évaluer le statut **HER2** dans le cancer gastrique, afin d'identifier les patients susceptibles d'être recrutés dans un essai thérapeutique ciblant **HER2** dans le cancer gastrique métastatique avancé ou pas notamment le trastuzumab (Herceptin).

II. 1- Définition :

HER2 (Human epidermal growth factor receptor2) est une protéine de type récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase de poids **185 kda** et de **1255** acide aminées, également connu sous le nom de L'homologue **2** de l'oncogène viral de la leucémie érythroblastique (**ErbB2**), membre de la famille des récepteur transmembranaire du facteur de croissance épidermique humain (**EGFR**) (**Li et al.,2020**).

Néanmoins, la surexpression et l'amplification de son gène (**Her2/ neu**) ; un proto oncogène situé sur le chromosome 17q21 présenté dans (**la figure 5**) d'une structure similaire à l'oncogène **v-erbB** de l'érythroblaste aviaire (**Metayer, 2016**), est présente dans une variété de tumeurs humaines et par conséquent **12 à 20%** des adénocarcinomes gastriques sont **HER2** positifs (**Li et al.,2020**).

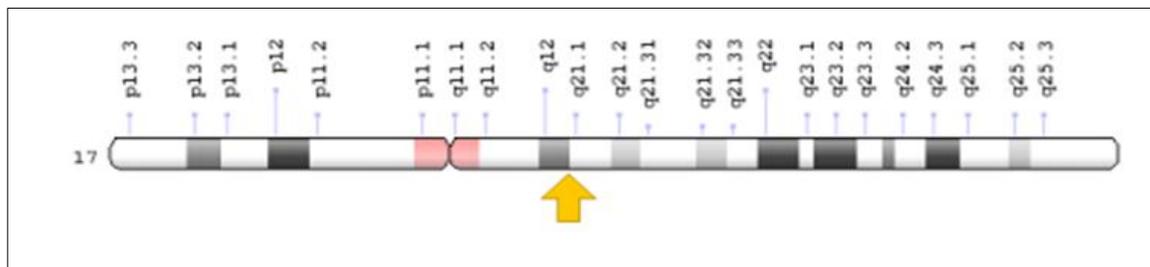


Figure 5 : Emplacement du gène sur le chromosome 17 d'après le NCBI (Metayer, 2016)

II. 2- Structure du récepteur HER2

Les protéines de la famille **HER** (EGFR), sont des tyrosines kinases (TK) transmembranaires de type I, qui comprennent quatre membres (**HER1 ou EGFR, HER2, HER3 et HER4**). Ces derniers ont une structure similaire et activent les voies de signalisation intracellulaires en réponse aux signaux extracellulaires (**Tebbutt et al., 2013**) (figure 6).

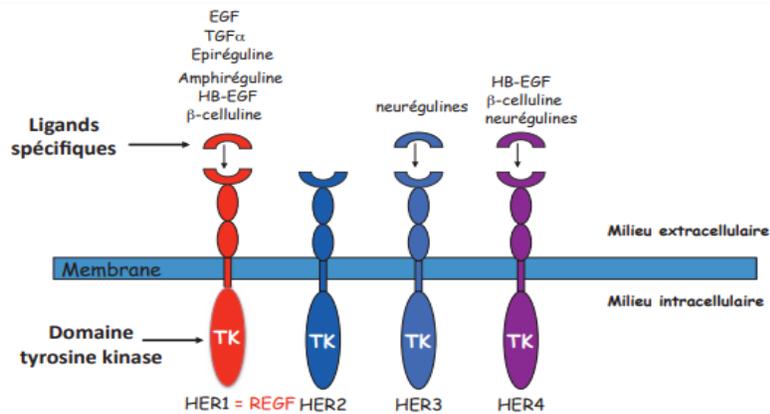


Figure 6 : Les Récepteurs de Famille HER (Lièvre et Laurent-Puig, 2010)

La structure du récepteur **HER2** est constituée de trois domaines :

- Un domaine de liaison au ligand extracellulaire,
- Un domaine transmembranaire.
- Un domaine tyrosine kinase intracellulaire (**Fornara et al., 2011**).

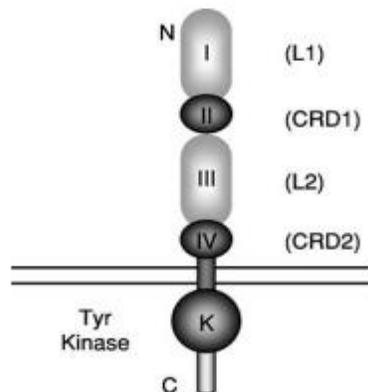


Figure 7 : Structure du récepteur HER 2 (Leahy, 2004).

On retrouve parmi ses caractéristiques structurales plusieurs zones avec deux nomenclatures des domaines ont été proposés ; **L1** (domaines I), **CRD1** (domaine II), **L2**(domaine III) et **CRD2** (domaine IV) appelées sous domaines, qui forment de façon successive et répétées deux à deux en alternance la partie extracellulaire.

a) **Domaine extracellulaire**

Ce domaine extracellulaire contient dans sa structure un acide aminé (la cystéine) que l'on retrouve de façon importante. Celle-ci permettra aux différents ligands de pouvoir s'attacher au récepteur (**Okines et al.,2011**).

b) **Domaine transmembranaire**

Composé d'une courte séquence d'acides aminés (**23 à 24 AA**), qui lui confère une activité hydrophobe, il permet au récepteur de s'ancrer dans la membrane plasmique (**Okines et al.,2011**).

c) **Domaine intracellulaire**

Il est similaire au domaine extracellulaire, composé de plusieurs sous parties. On trouve Successivement la partie juxta membranaire puis la zone tyrosine kinase et enfin le domaine C-terminal (**Okines et al.,2011**).

La partie C-terminale qui se trouve à l'état inactif contient la région catalytique. Celle-ci permet à la boucle de recouvrir le sillon de fixation de l'ATP, donc c'est dans cette zone où la phosphorylation de tyrosine aura lieu (**Okines et al.,2011**) .

II. 3- Rôle physiologique du récepteur HER 2 :

Les récepteurs ErbB sont exprimés dans des tissus d'origine épithéliale ; mésenchymateuse et neuronale où ils jouent des rôles dans le développement, la prolifération et la différenciation. En conjonction avec L'**EGF** ils sont impliqués dans le développement embryonnaire précoce et dans le renouvellement des cellules souches dans des tissus normaux, comme des couches cellulaires du derme, le foie, l'intestin, la glande surrénale et le cerveau (**Barrios et al., 2009**).

Au niveau cellulaire, les voies de signalisation activées par les récepteurs **HER2** participent à la prolifération, la migration, l'angiogenèse, la survie cellulaire, l'apoptose et la différenciation de plusieurs types cellulaires présent dans différents organes y compris le cœur, le système nerveux, les glandes

mammaires ainsi que des épithéliums en générale. Ce qui explique les effets indésirables des traitements ciblant **HER2** (Lahzaoui, 2013).

II. 4 -Mécanisme d'activation d'HER2 et transduction du signal

L'**HER2** (**ERBB2**) en tant que récepteur de surface cellulaire nécessite la formation d'hétérodimères avec **HER 1**, **HER 3** et **HER 4** pour une activité catalytique complète et une conformation active. Toutefois, il n'a pas de ligand et sa fonction de signalisation est engagée par ses partenaires hétérodimériques grâce à leurs ligands qui stabilisent cette interaction et permet l'autophosphorylation du domaine tyrosine kinase des récepteurs pour transmettre des signaux extracellulaires et initier deux voies de signalisation majeures via la protéine kinase activée, notamment, la voie **MAPK** (mitogen-activated protein kinase) et la voie **PI3K** (phosphatidyl inositol 3 kinase) / **Akt**. Ensuite, activation de la transcription en stimulant la prolifération cellulaire, inhibition de l'apoptose, puis le complexe ligand / récepteur est internalisée et dégradée (**Figure 8**) (Gerson et al., 2017).

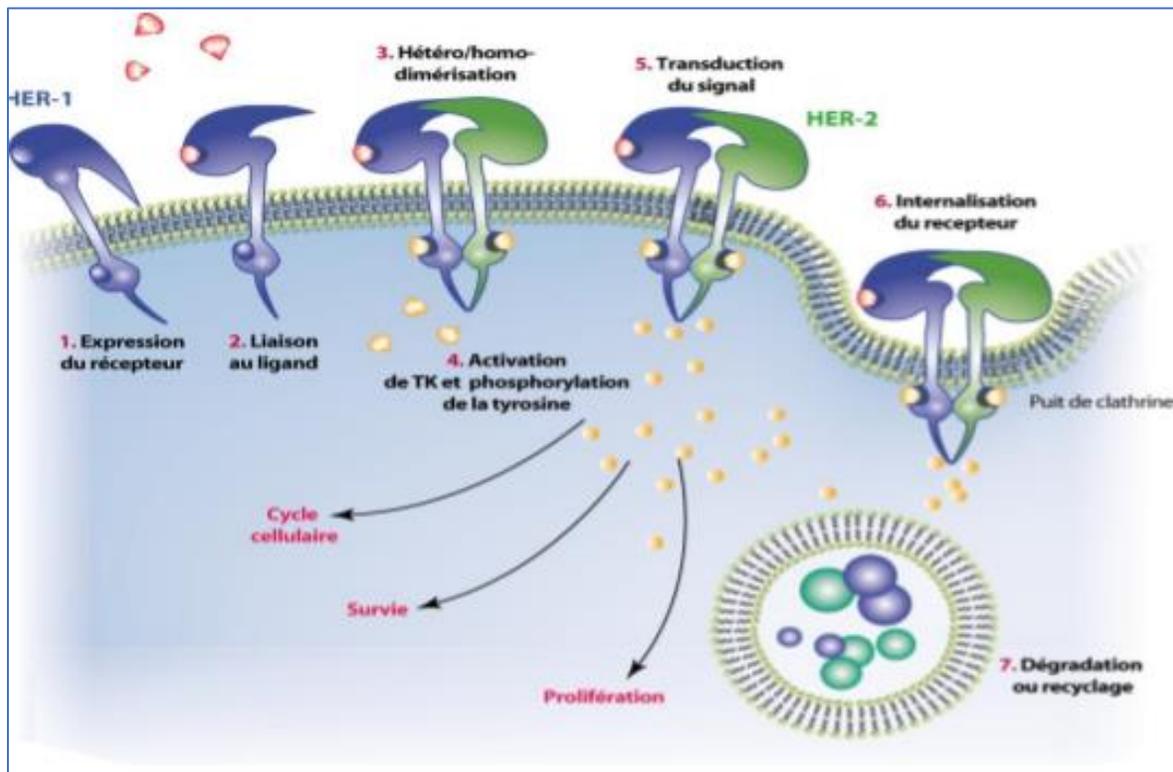


Figure 8 : Activation du récepteur HER2 et mécanisme d'action (Lièvre et Laurent-Puig,2010)

a) Voie RAS / MAPK

La fixation du ligand (**EGF** ou **TGF α**) au récepteur **EGFR** engendre son hétérodimérisation avec **HER2** et son activation qui induit la phosphorylation aux résidus tyrosines kinases située sur le domaine intracellulaire. Ces résidus phosphorylés servent de site d'encrage pour la protéine adaptatrice qui aide à traduire et communiquer le signal aux protéines à domaine SH2 (Src homology 2), tel que la protéine Grb2 (growth factor receptor bound protein 2) ou SHC (Src homology 2 domain containing) ou PI3 Kinases. Leur domaine SH3 permet l'activation de la protéine SOS qui est considéré comme un facteur d'échange du GDP pour les protéines RAS par l'activation de son GTPase qui stimule une cascade de phosphorylation des protéines MAPK : qui sont la protéine kinase Raf (MAPKKK), qui phosphoryle la protéine MEK1/2 (MAPKK) qui phosphoryle à leur tour la Erk1/2 (MAPK) qui va être transloqué dans le noyau et activer par phosphorylation différents facteurs de transcription tel que :

- ✓ C-fos et C-myc , impliqués dans la prolifération cellulaire,
- ✓ Séquestration de Bad et inhibition de la caspase-9, bloquant ainsi les processus apoptotiques ;
- ✓ Jun ou la protéine AP-1 déclenche la transcription des gènes qui activent la transcription de gènes qui codent pour d'autres facteurs de transcription d'une famille de gènes tardifs tel que E2F. Ce dernier a un rôle de contrôler l'entrée en phase S car ces gènes codent pour les cyclines ou les Cdk, dont la production conduit à la formation du complexe Cdk-Cycline et phosphoryle Rb et provoque le passage de G1 à S (**Olivier et al.,2011**).

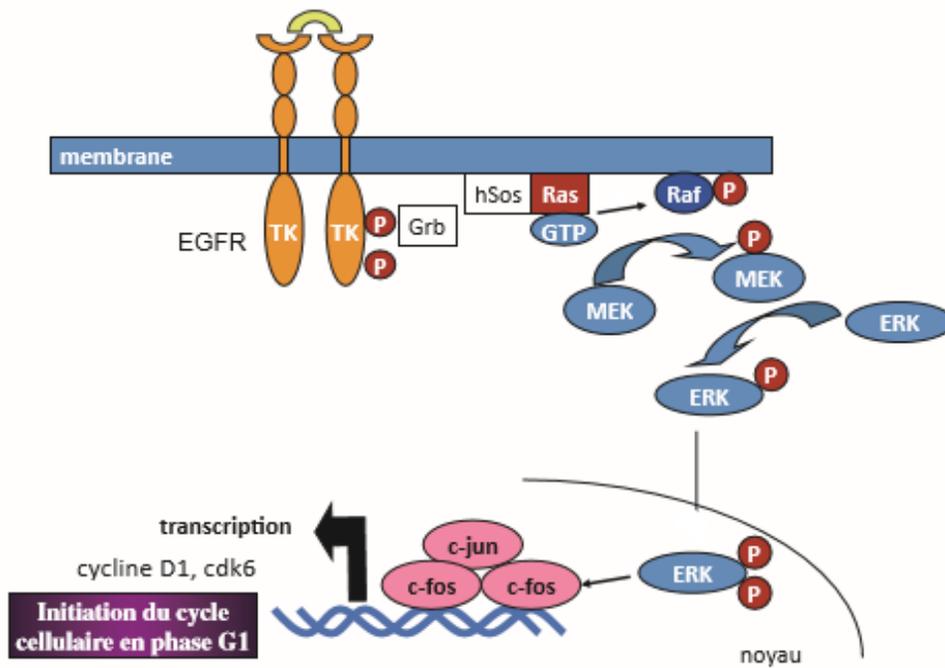


Figure 9 : Voies de signalisation RAS/MAPK (Lièvre et Laurent-Puig, 2010).

b) Voie PI3K / Akt

Selon (Brotelle et Bay 2016), la protéine hétérodimérique PI3K est une tyrosine kinase composée de domaines (sous-unités) suivants :

- ✓ Sous unité catalytique p110 (PIK3CA)
- ✓ Sous unité régulatrice p85 (PIK3R1) qui porte un domaine SH2, ce dernier reconnaît les phosphotyrosines de RTK.

Il existe 2 mécanismes menant à l'activation de la voie PI3k:

Mécanisme directe : Après dimérisation entre le récepteur HER3 et HER2 par interaction ligand /récepteur et l'activation de celui-ci en aval d'une interaction Ligand /Récepteur (RTK, RCPG, récepteurs de cytokines et intégrines) (Brotelle et Bay, 2016),

Partie II : récepteur de facteurs de croissance épidermique humain 2

Mécanisme indirecte : Il se fait par la protéine RAS, c'est le lien entre la voie de signalisation MAPK et la voie PI3K.

Une fois activée, la kinase PI3K va migrer vers la paroi interne de la membrane plasmique et par la suite elle catalyse l'action de phosphorylation sur son substrat de PIP2 pour former PIP3 (par addition d'un groupement phosphate). Ensuite, il y aura le recrutement de protéine serine thréonine kinase Akt par la PIP3, après cette étape plusieurs protéines clés vont être phosphorylés (tel que GSK et mTOR) conduisant à l'expression ou l'inhibition des gènes clés de la cellule (**Araki et Miyoshi.,2017**).

Un grand nombre d'activités seront mise en jeu pour promouvoir la survie cellulaire et la prolifération :

- ✓ Activation IKK inhibition de l'apoptose et GSK3 ce qui stoppe le cycle cellulaire
- ✓ Activation mTOR (mechanistic target of rapamycin) activant elle-même la traduction
- ✓ Activation NDM2 inhibant la p53 qui induit l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose et la réparation de l'ADN. (**Olivier et al.,2011**)

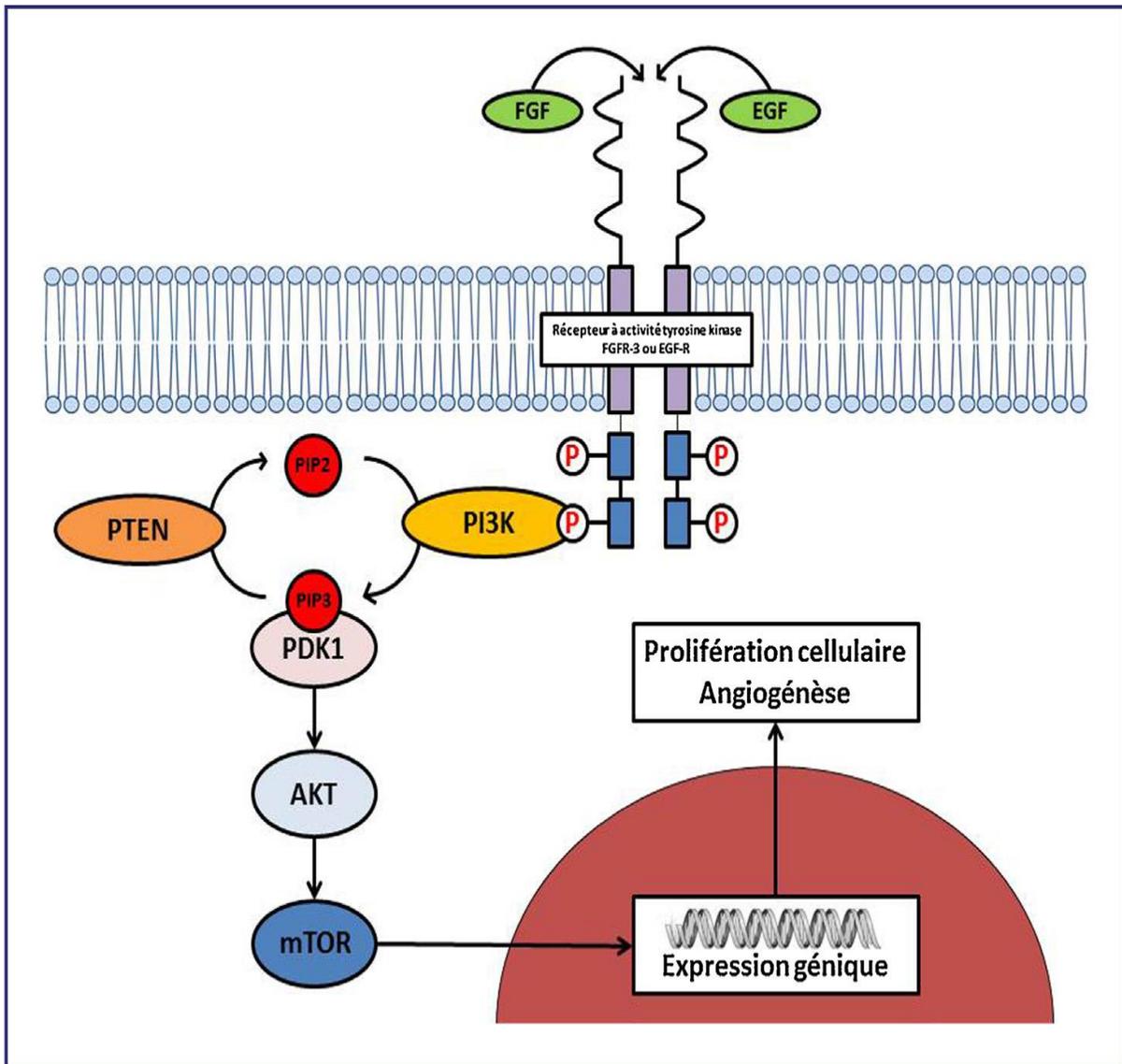


Figure 10 : Voie PI3K initiée par le récepteur de la famille EGFR (Seisen et *al.*,2014)

II. 5 – Oncogenèse cellulaire

La surexpression du récepteur **HER2** est liée à la pathogenèse de plusieurs tumeurs particulièrement étudié dans le cancer du sein. Cette surexpression est liée récemment au cancer gastrique par une amplification génique (**figure 11**), due à différents mécanismes ou les altérations observées sont des mutations, des amplifications du gène ou bien une stimulation anormale par leurs ligands.

L'amplification et l'hyper expression d'**ErbB2** ou **HER2** est impliquée dans la cancérogénèse par un doublement de nombre de copie du gène, supérieur à **5** ou **10**, ce qui conduit à une augmentation de la production de ARNm et une synthèse accrue de la protéine **HER2**. Le nombre de récepteurs **HER2** à la surface des cellules est donc multiplié par 100 (**Lahzaoui, 2013**).

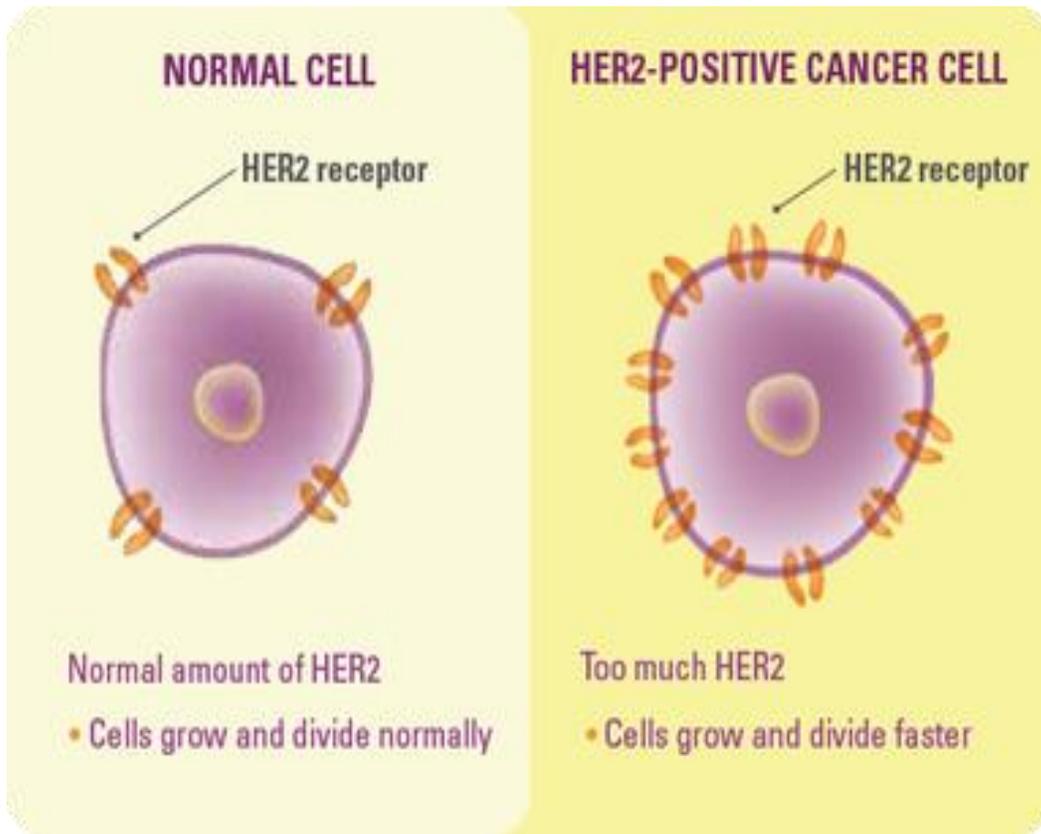


Figure 11 : Surexpression du récepteur HER2 (Arienti et *al.*,2019).

II. 6- Méthode de détermination HER2

Les méthodes de détermination du statut de **HER2** sont :

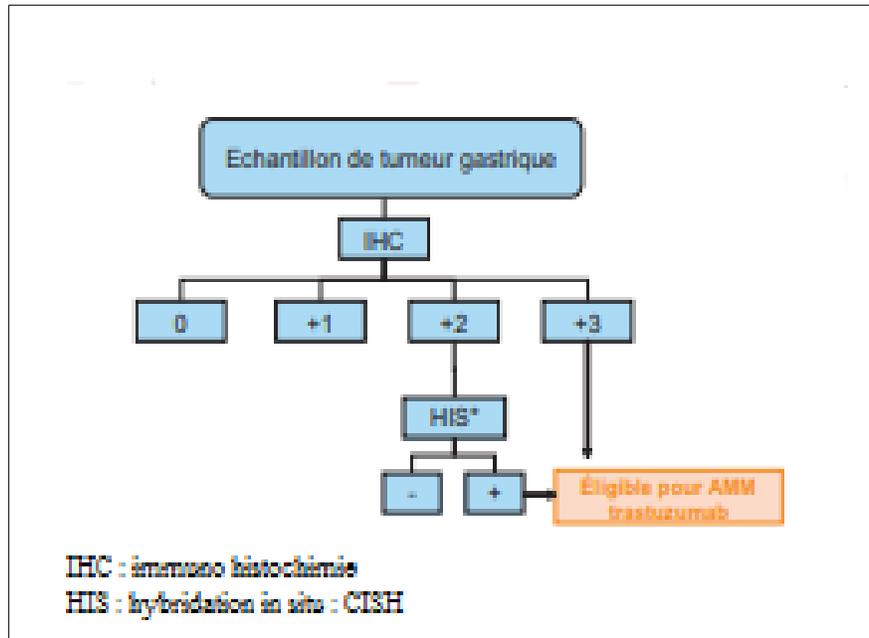


Figure 12 : Méthodes de détermination du statut HER2 (Penault-Llorca et al.,2011)

a) Technique IHC

La technique d’immunohistochimie (IHC) utilisée souvent en pratique clinique. Elle met en évidence le niveau d’expression de la protéine **HER2** à la surface des cellules tumorales. La coloration produite par cette technique s’interprète de façon semi-quantitative à l’aide d’une échelle de **0 à 3+** présenté dans le (Tableau IV). Les résultats de l’IHC identifient **3** scores de **HER2** :

Tableau IV : Score d’immunohistochimie pour l’expression de **HER2** dans le cancer gastrique (Penault-Llorca et al.,2011).

Caractéristiques du marquage	Score	Classification
Pas de marquage ou marquage membranaire dans < 10 % des cellules	Score 0	Négative
Marquage membranaire faible/imperceptible dans ≤10 % des cellules ; les cellules ne sont marquées que sur une petite partie de leur membrane Tout marquage ne rentrant pas dans la catégorie 2+ ou 3+	Score 1+	Négative

Marquage membranaire complet ou basolatéral, faible à modéré dans \geq 10 % des cellules	Score 2+	Equivoque
Marquage membranaire complet ou basolatéral modérée à fort dans \geq 10 % des cellules	Score 3+	Positive

Ces résultats d'**IHC** doivent être interprétés dans une manipulation suivant un protocole validé, avec un témoin multi tissulaire aux nombres de copies du gène **HER2** connus (témoin à **2** copies, témoin amplifiée à faible niveau et témoin amplifiée à fort niveau).

Les scores **2+** sont aussi appelés “**cas équivoques**” et comprennent les cas avec une surexpression hétérogène de **HER2**. Les carcinomes avec un score **2+** doivent avoir une détermination du statut du gène **HER2** par hybridation in situ, afin que les cas amplifiés pouvant bénéficier d'un traitement **anti-HER2**. La détermination du statut du gène **HER2** se fait par hybridation in situ en révélation analysable en lumière optique (CISH : hybridation in situ chromogénique).

Quand la **CISH**, une tumeur est considérée comme amplifiée pour **HER2**, si sur au moins **20** noyaux de cellules carcinomateuses infiltrantes le ratio **HER2**/centromère du chromosome **17** est supérieur à **2** ou le nombre de signaux de **HER2** seul supérieur à **6**. Selon les recommandations de **Asco/ Cap2016**.

II.7- Traitement

II. 7.1-Thérapie ciblée

Lorsque le cancer gastrique est avancé et que des métastases se sont formées dans d'autres organes, certaines « thérapies ciblées » peuvent être proposées. Ce traitement agit spécifiquement sur les cellules cancéreuses en ciblant l'**HER2**, c'est la meilleure thérapie anti-tumorale qui a moins d'effets secondaires.

Parmi les thérapies ciblées utilisée dans le cancer gastrique et surtout dans les stades avancés et métastatiques, on distingue (**Zhu et al.,2021**) :

II. 7.4.1-Les anticorps monoclonaux (mAb) :

Plusieurs anticorps monoclonaux ciblant **HER2** ont été évalués dans des essais cliniques chez des patients atteints d'un cancer gastrique **HER2-positif**, notamment :

➤ **Le Trastuzumab (Herceptin®)**

C'est un anticorps monoclonal humanisé qui bloque le fonctionnement du récepteur **HER2** en le reconnaissant, par son fragment Fab Fragment antigen binding. Un épitope situé sur la portion extra-membranaire **IV** du récepteur (**Cho et al., 2003**) pour limiter les effets de sa surexpression.

Cet anticorps agit à différents niveaux (**figure 13**):

- Il a la capacité d'empêcher le clivage de la portion extra membranaire du récepteur **HER2** et d'éviter ainsi, la formation d'une protéine tronquée **HER2 active** et ceci en inhibant sa protéolyse.
- C'est un antagonisme de la transduction du signal de croissance cellulaire propre au statut **HER2+**. Lorsqu'il se fixe sur **HER2** par l'action du fragment **Fab du trastuzumab**, il peut partiellement limiter la dimérisation de **HER2** avec un autre partenaire (**De et al.,2013**). En conséquence, les voies de signalisation sous-jacentes au récepteur, (**PI3K/AKT, RAS/MAPK**) se trouvent inhibées, favorisant ainsi, la survie et la prolifération cellulaires et induisent l'activation de l'apoptose des cellules tumorales. Il stabilise la p27, qui est un inhibiteur des **CDK** (Cyclin-Dependent Kinases), inhibant ainsi, le cycle cellulaire et la croissance tumorale (**Spector et al.,2009**).
- Stimulation de l'internalisation et de la dégradation du récepteur **HER2**, il forme des complexes avec **HER2** et seront internalisés avant d'être rapidement dégradés.
- Les fragments de **HER2** sont ensuite présentés via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH I). Ils permettent le recrutement et stimulation des cellules immunes responsables de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (**ADCC Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity**) par réponse immune anti tumorale afin de déclencher une lyse cellulaire (**Barok et al.,2007**).
- Diminution de l'expression du facteur de croissance vasculaire endothélial (**VEGF**) ainsi que d'autres facteurs antigéniques. D'autres mécanismes d'action de trastuzumab sont inconnus (**Pogue-Geile et al., 2013**).

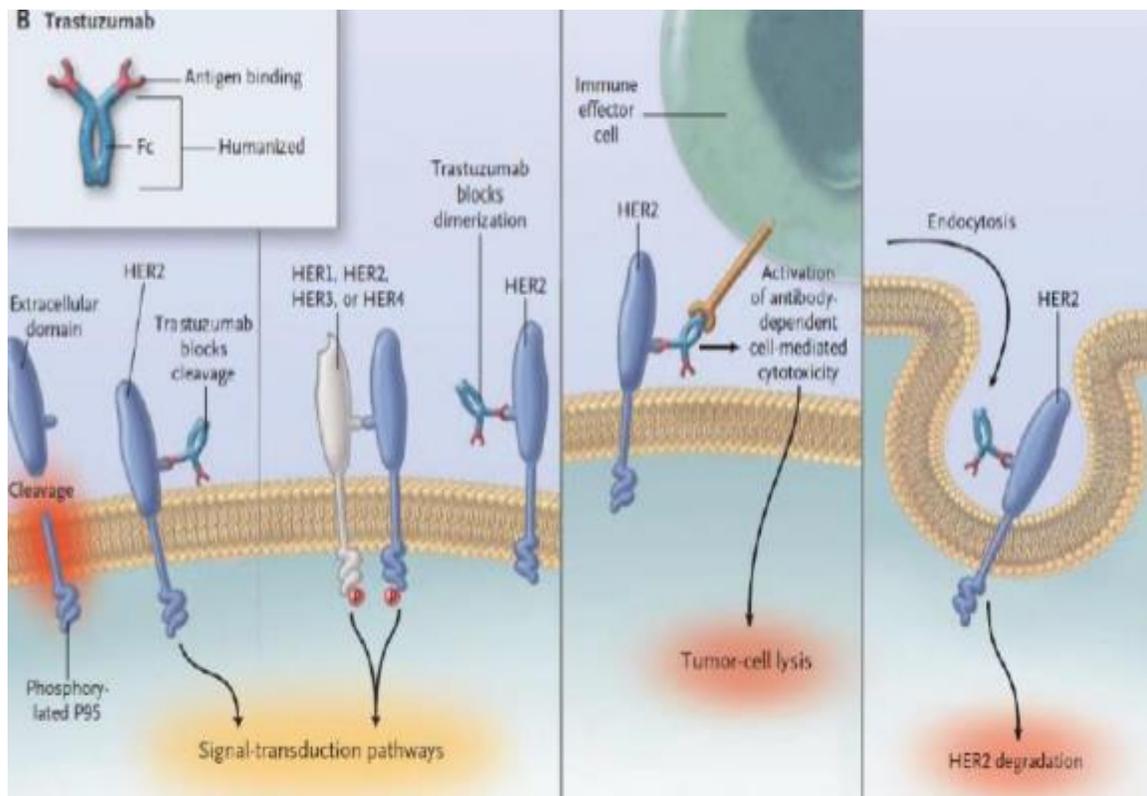


Figure 13 : Mécanismes d'action de Trastuzumab (Hudis,2007)

➤ **Pertuzumab :**

Le pertuzumab est un anticorps monoclonal humanisé développé, sa structure est proche à celle du trastuzumab. Il se lie au domaine extracellulaire de **HER2** et empêche l'hétéro-dimérisation de **HER2** avec **HER-1, HER-3 et HER-4** (Zhu et al.,2021) inhibant ainsi l'activation de la signalisation intracellulaire stimulé par un ligand (**EGF ou TGF α**) (Spector et al.,2009) .

Par ailleurs, le pertuzumab induit à la fois l'inhibition et un mécanisme **ADCC** semblable au trastuzumab par l'intermédiaire de cellules NK (Gonçalves et al.,2013). Dans des modèles précliniques de cellules cancéreuses gastriques surexprimant **HER2**, le pertuzumab donne une efficacité lorsqu'il est associé à trastuzumab. Néanmoins en milieu clinique, le pertuzumab est un traitement des **HER2**-positifs résistants au trastuzumab qui peuvent être particulièrement efficaces (Figure14) (Yamashita-Kashima et al., 2012).

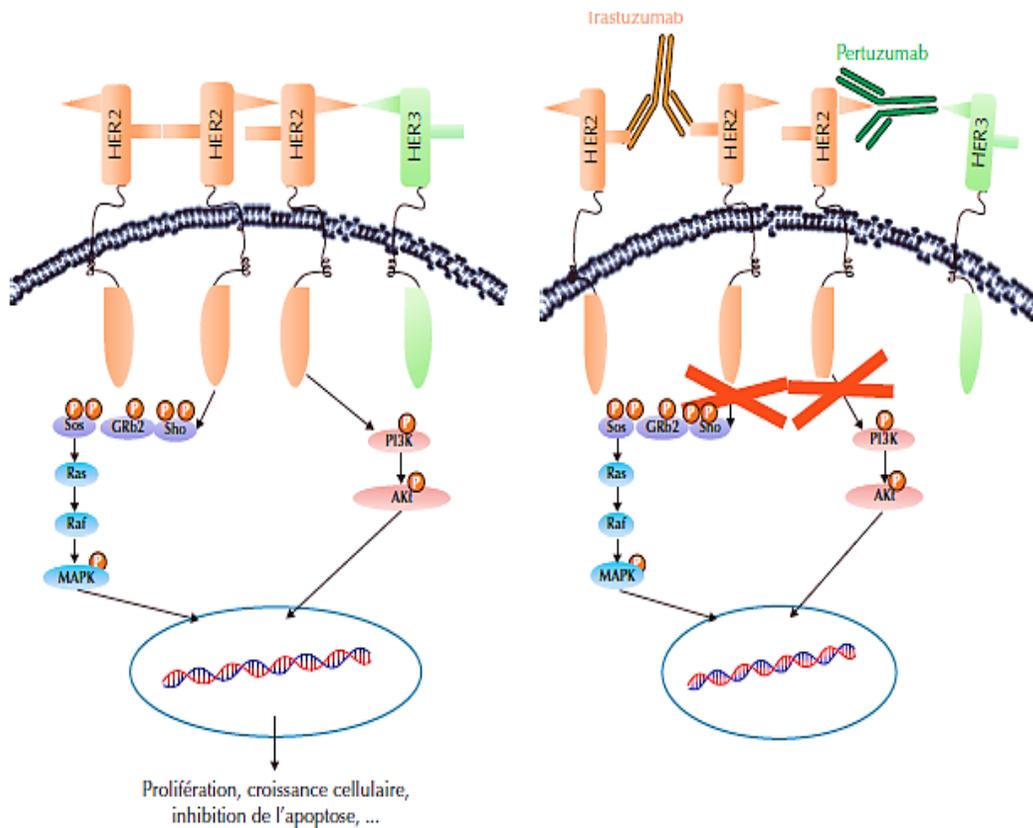


Figure 14 : Mécanisme d'action de trastuzumab et pertuzumab (Gonçalves et al., 2013).

II. 7.4.2- Inhibiteurs des tyrosines kinases ITK

Les inhibiteurs de tyrosines kinases **ITK** sont en mesure de se fixer sur un des domaines intracellulaires du récepteur de façon à pouvoir le bloquer sélectivement. Ils permettent d'exercer une action anti dimérisante qui induit une diminution de phosphorylation des récepteurs ce qui inhibe la croissance des cellules tumorale et leurs métastase et l'annulation de la transduction du message en bloquant les voies de signalisations suivantes (Zhu et al., 2021) :

- **Le lapatinib** est un inhibiteur mixte qui appartient à la classe des **4 Anilino-quinazolines**. Il est en mesure d'interagir avec plusieurs récepteurs, notamment **ErbB1 et ErbB2**. En effet, il inhibe l'**ErbB1 et ErbB2** avec une faible dissociation à partir de ces récepteurs. Ainsi lorsque ces récepteurs sont inhibés, la croissance tumorale dépendante de signaux intracellulaire ne progresse pas.

Lapatinib a fait ses preuves dans les différents essais réalisés, dans le but de démontrer son efficacité dans les traitements **HER2+** et comme une alternative aux traitements chez les patients qui présentent une résistance au trastuzumab (**Zhu et al,2021**).

- Le **neratinib** est un inhibiteur irréversible de récepteurs **HER2**, ciblant les récepteurs **HER1, HER2 et HER4**, et qui permet une baisse de la transduction du signal (**Zhu et al., 2021**).

II. 7.4.3- Autres nouvelles thérapies

➤ **Zanidatamab (ZW25)**

ZW25 est un nouveau type d'anticorps bispécifique, se liant simultanément à deux épitopes non chevauchants de **HER2** qui sont les domaines extracellulaires **IV** et **II**. Actuellement des études sont en cours, afin d'évaluer les activités antitumorales de **ZW25**, en combinaison avec une chimiothérapie comme traitement pour les patients atteints d'adénocarcinome gastrique métastatique **HER2-positif** (**Zhu et al., 2021**).

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

La surexpression de **HER 2** est généralement élucidée dans le cancer du sein, mais elle a récemment attiré l'attention des chercheurs dans différents types de tumeurs solides, notamment les cancers gastriques avec un pourcentage d'amplification de **7.3** à **20.2%** pour un but thérapeutique.

Méthodes de détermination du statut HER2

Nous avons effectués notre étude au service d'anatomie Pathologique au **CHU de Douera à Alger**, qui s'est déroulée du **18 Avril 2021** jusqu' au **30 juin 2021** sur une période de **3** mois.

Dans notre étude, nous avons cherché à :

- Déterminer le statut **HER2** des adénocarcinomes gastriques par la méthode d'immunohistochimie.
- Confirmation des statuts équivoque à score **2+** avec la technique d'hybridation *in situ* a chromogène (**CISH**).
- Evaluer la prévalence de surexpression de **HER2** au niveau des cellules tumorales à partir d'une série homogène de **20 patients** atteints d'adénocarcinomes gastriques colligées au service d'anatomie Pathologique au **CHU de Douera à Alger**.

Notre travail consiste à :

- Une étude épidémiologique et rétrospective des patients atteints d'adénocarcinomes gastriques en Algérie.
- Une détermination des types histologiques
- Une évaluation du statut **HER2** dans le cancer gastrique

Les étapes de notre étude sont résumées par l'organigramme ci-dessous (**Figure 15**).

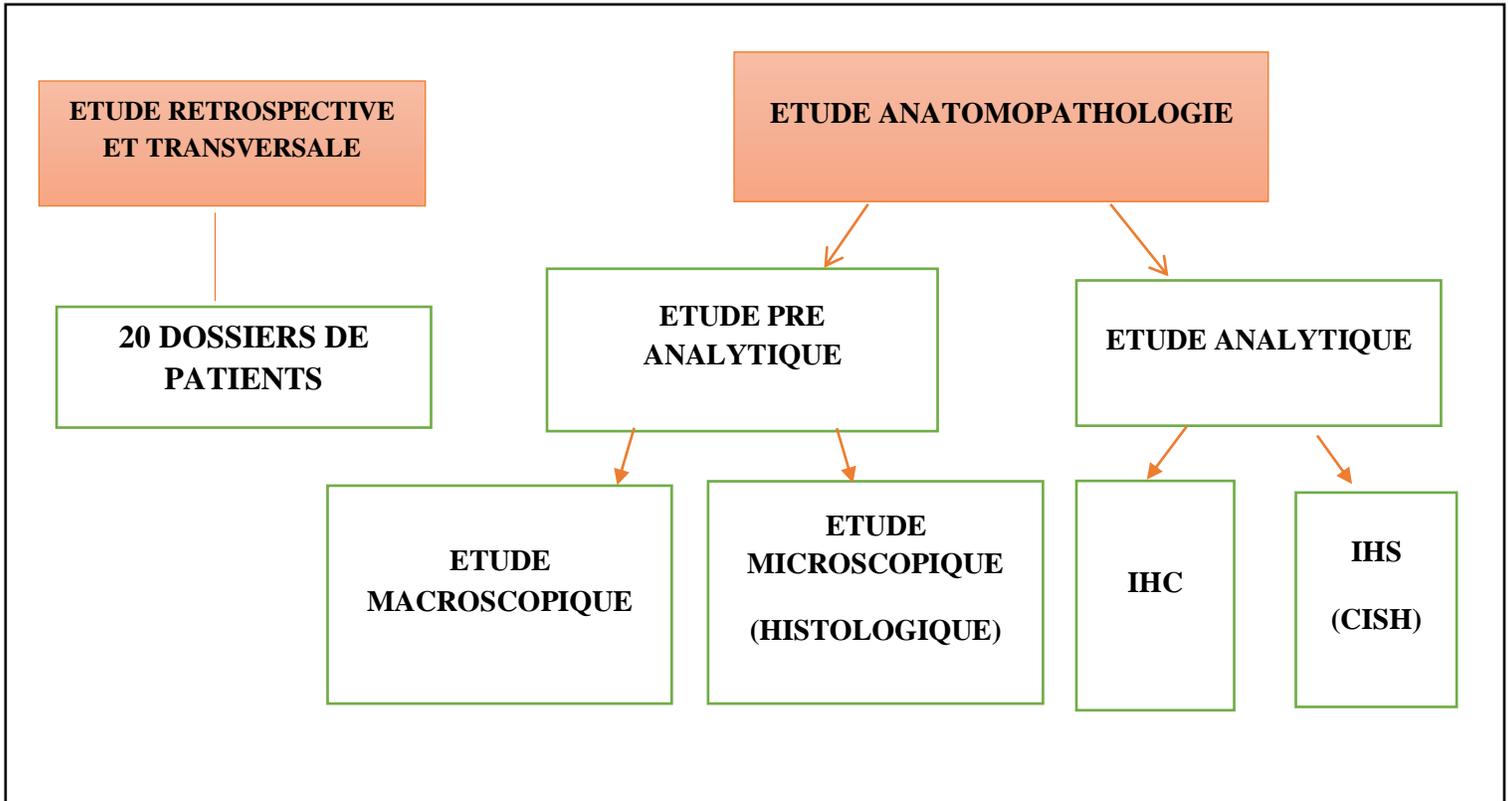


Figure 15: Organigramme de l'étude expérimentale

IHS : Hybridation *In Situ*.

IHC : Immunohistochimie.

III. 1. Matériel

1- Echantillonnage

Notre échantillonnage est représenté par des fragments de lésions tumorales gastriques à partir des biopsies ou des pièces opératoires, suivie d'un examen macroscopique et anatomopathologique en se référant aux fiches des malades.

2- Matériels biologique

- Biopsie
- Pièces gastriques

3- Matériel non biologique

- Le matériel et réactifs utilisés pour réaliser une étude histologique se compose de (Voir **ANNEXE I Tableau I**),
- Le matériel utilisé pour l'immunohistochimie (Voir **ANNEXE I (Tableau II)**),
- Le matériel et appareillage utilisé dans la technique d'hybridation *in situ* CISH (Voir **ANNEXE I (Tableau III)**) :

III. 2- Méthodes

III. 2. 1- Étude rétrospective :

Pour réaliser notre étude rétrospective, nous avons procédé à la consultation des dossiers des patients. Ces derniers ont permis d'obtenir les informations suivantes :

- Le sexe
- L'âge
- La nature de l'échantillon prélevée
- La localisation de la tumeur au niveau de l'estomac
- Taille de tumeur
- La classification **d'OMS pTNM 2010** types histologiques
- Le grade de différenciation histologique

III. 2. 2- Etude anatomopathologique :

C'est le diagnostic de certitude d'adénocarcinome gastrique qui repose sur l'examen histologique montrant la présence de cellules tumorales, reconnues par comparaison avec les structures normales permettant de préciser le type histologique par analyse microscopique.

L'anatomopathologie a un intérêt majeur pour :

- L'identification des maladies et de nombreuses infections (cancers par exemple).

- Donner des informations précieuses sur l'extension des lésions par l'examen des pièces opératoires (organes ou tissus prélevés lors d'une intervention), pour permettre ainsi de choisir le traitement le plus approprié.
- Aider à comprendre l'enchaînement des symptômes et la cause de la mort par l'autopsie.

A l'issue de l'examen anatomopathologique, le pathologiste rédige un compte-rendu où il donne les résultats et précise les caractéristiques de l'ADK. Ce compte-rendu est transmis au médecin traitant.

a) technique histologique (HE):

La technique HE repose sur les étapes suivantes :

• Prélèvements tissulaires :

Les prélèvements tissulaires analysés au laboratoire sont obtenus soit par biopsie ou par résection d'une pièce opératoire.

Ces prélèvements sont adressés au service d'anatomopathologies du **CHU Douera** et sont accompagner d'une fiche comportant le renseignement clinique et personnel du patient à savoir le Nom, Prénom, les antécédents et le numéro de dossier pour chaque malade noté comme suit :

D / Numéro du dossier / MOIS/ ANNEE

A- Fixation

Le tissu reçu doit impérativement être fixée dans du Formol pur à **36%** tamponné à **10 %** ; un agent fixateur qui entraîne la formation d'un gel permettant la stabilisation de la structure tissulaire dans une quantité suffisante **10** fois le volume du prélèvement.

Pour s'assurer de sa bonne pénétration dans le tissu, les petits fragments de tissus sont imbibés durant **6 h** et les grands fragments pendant **48 h** dans un but de :

- Eviter l'autolyse en bloquant les enzymes endogènes responsables de la destruction des cellules
- Maintenir la structure cellulaire et tissulaire dans un état proche de l'état physiologique
- Préserver la réactivité des cellules pour une étude immunohistochimique

B – Examen macroscopique

Au cours de l'examen macroscopique, les fragments sont dénombrés, orientés, mesurés et leur aspect externe est décrit à l'œil nu, pour sélectionner les lésions et les territoires à prélever et déterminer leurs natures pour l'étude microscopique (**figure 16**).



Figure 16 : Détection et mesure de la lésion d'un $\frac{3}{4}$ eme partie de gastrectomie (Photo originale).

Les fragments sont mis directement dans une cassette préalablement identifiée avec le numéro du dossier du patient. Ces cassettes sont mises dans du formol à **10%** avant leur passage dans l'appareil à circulation.

C- Circulation

Cette étape se fait à l'aide d'un automate de circulation (Leica), elle s'effectue en **3** étapes :

i. Déshydratation

Elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau présent à l'aide de l'éthanol. Les prélèvements sont placés dans 3 bains successifs d'éthanol de degrés de concentration croissants : **70, 95, 100 (2 h** chacun), jusqu'à ce que toute l'eau contenue dans le tissu soit soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu.

ii. Éclaircissement

L'éthanol est remplacé par un solvant organique de la paraffine, le principal agent éclaircissant est le Xylène. Ce solvant remplace l'éthanol et permet d'enlever les impuretés (les graisses). Cette étape d'éclaircissement est réalisée dans **3** bains de Xylène (**2 h** dans chaque bain).

iii. L'imprégnation ou inclusion

Elle consiste à remplacer le Xylène présent dans les cellules par de la paraffine liquéfiée et les prélèvements sont placés successivement dans trois bains de paraffine (fusion à **60°C**), afin de s'assurer de l'imprégnation totale du tissu.

- L'automate effectue ces étapes de déshydratation, d'éclaircissement et d'imprégnation et après **24 h**, les prélèvements sont récupérés et introduits au niveau de la station d'enrobage (**(Figure 2) Annexe II**).

D- Enrobage

L'enrobage consiste à former des blocs en paraffines qui se rigidifient à travers :

- L'ouverture des cassettes, les couvercles sont jetés.
- Le fragment est récupéré, bien placé et orienté dans un moule métallique adapté à sa taille qui sera recouvert d'une quantité suffisante de paraffine. Ce moule placé sera sur une plaque refroidissante.
- La paraffine est coulée par-dessus pour s'assurer de l'homogénéité du bloc. Ces moules seront placés sur une plaque refroidissante pour solidifier la paraffine.
- Les blocs sont démoulés, une fois la paraffine durcit.

Cette étape permet de conserver les rapports architecturaux des structures tissulaires et pour fournir un support rigide pendant et après la découpe.

E- Microtomie

Après refroidissement et démoulage des blocs de paraffine, on procède à des coupes de **2 à 4µm** d'épaisseur (grâce à un microtome (**(figure 3, Annexe II)**). Ces coupes fines permettent à l'anatomopathologiste de voir les détails cyto-nucléaires. Une seule couche de cellules est obtenue et les coupes s'attachent les uns aux autres pour former un ruban. Ces derniers vont être placés dans un bain-marie à **37° C** pour détendre la paraffine et éviter la formation des plis. Ensuite les lames sont déposées sur une plaque chauffante, afin de permettre une bonne adhésion de l'échantillon à la lame en verre.

F- Coloration

La coloration de routine s'effectue par **2** méthodes : automatique ou manuelle avec montage de lame et lamelle.

La coloration de routine **HE (Hémato-xyline et Eosine)** (morphologie) est effectuée dans un automate après déparaffinage, pour réaliser cette coloration plusieurs étapes sont réalisées (**Houlot R.,1984**).

i. Étuvage des lames

Toutes les lames sont déposées dans une étuve à **40°C** pendant **24 h**. Cette étape est dite séchage car elle vise à éliminer les particules de paraffine (déparaffinage physique par Température).

ii. Déparaffinage

Les lames doivent être prolongées dans **3** bains de xylène pendant **5 mn** chacun, afin de les déparaffiner complètement (déparaffinage chimique) pour une meilleure imprégnation de colorants dans les différents tissus.

iii. Réhydratation

Le but de cette étape est de remplacer le xylène par l'eau, à travers un passage dans **5** bains d'éthanol à concentrations décroissantes, puis les lames sont rincées avec du l'eau courante pendant **3mn**.

iv. Coloration

Le noyau est révélé en bleu par l'hématoxyline de Harris, alors que l'éosine permet d'obtenir un cytoplasme rose réalisé de la manière suivante :

- ✓ Les lames sont placées dans un bain d'hématoxyline de Harris durant **6 à 10 mn** puis rincées à l'eau courante.
- ✓ Afin d'enlever l'excès d'hématoxyline, les coupes sont différenciées dans l'acide chlorhydrique à **70°C (1 à 2 plongées)**, jusqu'à obtention d'une coloration rose.
- ✓ Les lames sont ensuite déposées dans un bain d'eau courante puis bleuit dans l'eau ammoniacale (plusieurs plongées jusqu'à obtention d'une couleur bleue), ceci permet la différenciation et la coloration des noyaux en bleu.
- ✓ Les lames sont bien rincées à l'eau du robinet.
- ✓ Les lames sont placées dans de l'éosine alcoolique (**4 à 6 mn**), puis mises dans trois bains d'éthanol de concentration croissante (**70, 95° et 100°**) et ce pour déshydrater le tissu. Finalement elles sont plongées dans un bain de xylène pour éclaircir le tissu.

G- Montage

Il est réalisé sous une hotte aspirante qui consiste à fixer une lamelle couvre objet sur la lame préalablement traitée avec quelques gouttes de résine synthétique, l'Eukitt, afin de protéger la coupe de la dégradation.

- **Etapas de montage**

- Sortir les lames du xylène.
- Déposer quelques gouttes d'Eukitt.
- Placer la lamelle.
- Nettoyer l'excès de résine.

b) **Technique d'immunohistochimie :**

L'immunohistochimie (**IHC**) est une méthode de localisation et d'identification d'un constituant (protéine antigénique) membranaire, nucléaire ou cytoplasmique, située dans les cellules d'un tissu grâce à une réaction Antigène- anticorps (**Ag-Ac**) (**Penault-Llorca et al.,2011**).

Cette dernière est utilisée pour :

- Le diagnostic histopathologique et le suivie des tumeurs malignes
- Le choix thérapeutique pour de meilleures chances de survie et de guérison des patients
- Le traitement ciblé par détection de molécules ayant une importance pronostique et thérapeutique tel que le **HER2** dans notre étude.

Principe

Le principe de l'**IHC** repose sur une réaction immunologique qui consiste à la reconnaissance d'un antigène par un anticorps spécifique et la révélation enzymatique de ce complexe par une réaction chimique.

Dans notre étude nous avons utilisé la méthode indirecte d'**IHC**, qui se fait en **3** étapes ; entre l'antigène anticorps primaire, anticorps secondaire puis le révélateur. En incubant l'anticorps primaire dans la substance cible, puis en liant un anticorps secondaire marqué à l'anticorps primaire.

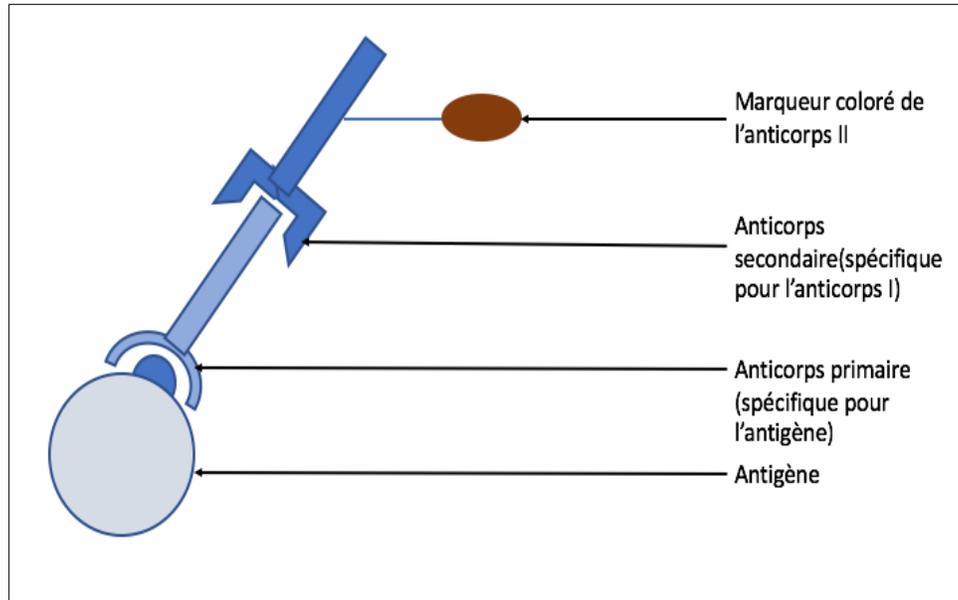


Figure 17 : Le principe d'immunohistochimie (Degalez,2019)

Cette méthode se déroule comme suit :

• **Préparation du tissu**

La préparation des tissus se fait de la même façon que la technique **HE**, allant de la fixation du prélèvement à la confection des coupes dans un but de le maintenir dans un état plus proche à l'état vivant.

1- Préparation des coupes

Dans cette étape des nouvelles coupes sont réalisées à partir des blocs de paraffine, qui contiennent la lésion sélectionnée par le pathologiste.

- ✓ Le microtome est réglé à une épaisseur de **4 à 5 µm**.
- ✓ Etalement des coupes obtenues dans un bain marie puis recueillies sur des lames spéciales (les lames silanisés) pour une meilleure adhésion et éviter le décollement des coupes lors de la manipulation.
- ✓ Les lames sont mises sur une la plaque chauffante.
- ✓ Etuvage des lames à **37°C** pendant **24h**.

2- Déparaffinage

Les coupes sont déparaffinées dans **3** bains de xylène successifs de **5 mn** chacun.

3- Réhydratation

- ✓ Les coupes sont réhydratées dans **3** bains d'alcool à concentration décroissantes **90, 80,70 (5 mn** chacun)
- ✓ Rincer dans l'eau distillée pendant **5 mn**.

4- Démasquages des sites Antigenique

- ✓ Placer les lames dans des solutions de démasquage **TRS** (Target trival solution) préalablement préparé à **PH 6** spécifique à l'anticorps anti **HER2** au bain marie à **97°C** pendant **45 mn**.
- ✓ Refroidir les lames pendant **10 mn** à une température ambiante.
- ✓ Rinçage a l'eau distillée pendant **5 mn**.
- ✓ Cerclage des coupes retenues sur les lames avec un crayon hydrophobe (Dakopen), pour limiter la zone de diffusion des solutions d'immunohistochimie sur le prélèvement (**Annexe III**).

- Blocage des peroxydases endogènes tissulaires

Cette étape a pour but de bloquer l'activité des peroxydases endogènes présentes dans certaines cellules (polynucléaires, monocytes) et réduire la coloration du fond indésirable dans l'**IHC** (Bruit de fond).

- ✓ Déposer les lames dans une chambre humide obscure.
- ✓ Ajouter **100 ul** d'eau oxygénée **H2O2** à **3%** pendant **10 minutes**.
- ✓ Rinçage des lames à l'eau distillée, puis plonger dans trois bains de tampon **PBS** (Wash Buffer WB) **5 mn**.

5- Application de l'anticorps primaire

- ✓ Incubation à une température ambiante pendant **30 mn** dans une chambre humide fermée.
- ✓ déposer **100 ul** de l'anticorps primaire spécifique à **HER2** (polyclonal Rabbit anti human **c-erb B2** onco protein) ; **anti HER2** utilisée à une dilution de **1/800**.
- ✓ Rinçage dans trois bains de **PBS** durant **5 mn** chacun.

6- Application de l'anticorps secondaire

- ✓ Application de l'AC secondaire (Biotinylated Link).
- ✓ Incubation pendant **5 à 15 mn**.
- ✓ Rincer dans trois bains successifs de **PBS** durant **5 mn** chacun.

7- Révélation

- ✓ Le chromogène de la peroxydase **DAB** (3,3- Di amino benzidine) est déposé sur les lames puis incubé pendant **15 mn** .
- ✓ Rincer avec de l'eau distillée.

8- Contre coloration

- ✓ Les lames sont imprégnées dans les bacs de coloration à l' hématoxyline de Meyer durant **2 mn**.
- ✓ Rinçage à l'eau courante pendant **5 mn**.
- ✓ Bleuissement des lames dans de l'eau courante.
- ✓ Rinçage à l'eau distillée.

9- Montage

- ✓ Utilisation d'une goutte de colle résine de montage EuKit sur les lames
- ✓ Recouvrir les lames avec des lamelles

10- Observation au microscope photonique

Concernant les grossissements pour observer les scores :

- Score **0+** est (**40X**).
- Score **1+** est (**20X**) – (**40X**).
- Score **2+** est (**10X**) – (**20X**).
- Score **3+** est (**10X**).

c) Technique d'hybridation *in situ* (ISH)

Elle permet de visualiser la présence d'ADN ou d'ARN spécifique à l'intérieur d'une cellule ou d'un tissu. L'**ISH** est parmi les méthodes indirectes relativement nouvelles qui visent plutôt à détecter une amplification du gène codant pour la production d'une protéine, comme le cas de la protéine **HER2**. L'hybridation *in situ* chromogénique **CISH** est une forme d'**ISH** qui utilise une réaction chromogénique pour mettre en évidence les sondes d'ADN hybridées au site du gène du récepteur **HER2** (**Halling et Wendel, 2008**).

Principe

La technique d'hybridation chromogénique *in situ* (CISH) est une technique qui utilise des sondes d'acide nucléique (ADN ou ARN) parce qu'elle repose sur la complémentarité des bases nucléiques entre elles, due au fait que si l'on place dans un même milieu deux mono-brins inverses complémentaires, ils vont naturellement se rapprocher pour former une hélice. La réaction enzymatique avec les substrats chromogènes, conduit à la formation de précipités colorés. Après avoir contre-coloré le noyau avec un colorant nucléaire, les fragments de sonde ADN hybridés sont visualisés au microscope optique. Le but de cette technique est l'évaluation de l'amplification ou la surexpression du gène du récepteur **HER2**, qui a des répercussions pronostiques et thérapeutiques dans le cancer gastrique (Halling et Wendel, 2008).

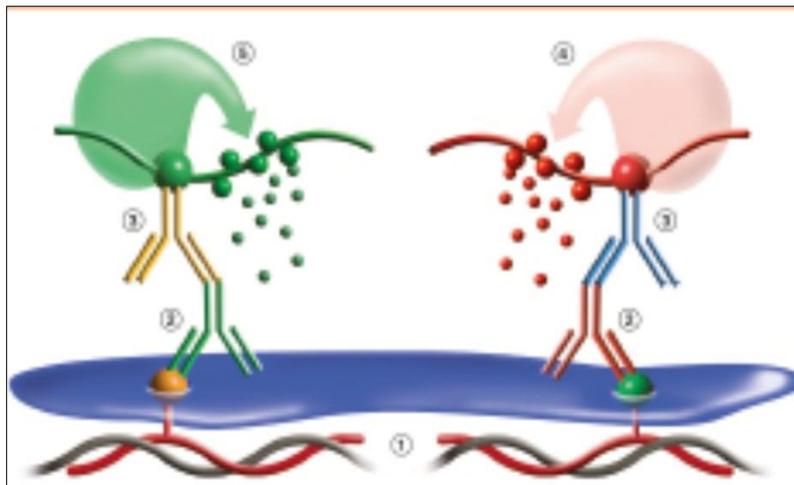


Figure 18 : Principe de CISH (à partir du système ZytoDot® 2CTM).

L'avantage de cette technique est de donner une information qualitative et visuelle sur le gène étudié qui peut être une alternative à l'expérience d'immunohistochimie. Les étapes de cette technique sont comme suit (à partir du système ZytoDot® 2CTM) :

A. Pré traitement :

- 1- Les blocs détectés par le pathologiste qui contiennent la lésion déjà traité par immunohistochimie et diagnostiquée à score élevée, sont coupés en **3 à 5µm** par microtome.
- 2- Utilisation des lames silanisée pour fixer le tissu sur les lames et éviter le décollement.
- 3- Incubation de **2 à 16 h** à **50 - 60 °C** sur une plaque chauffante.
- 4- Mettre dans 2 bacs de xylène pendant **5 mn** chacun, pour un déparaffinage complet **10 mn**.
- 5- Réhydratation de la lame en mettant dans 3 bacs d'éthanol à **96 %**, **3 mn** chacun.

- 6-** Localiser et cercler les zones d'intérêts des lames avec du Pen à Diamonds
- 7-** Mettre dans les peroxydases d'hydrogène **H₂O₂** à **3%** pendant **5 mn** pour bloquer les peroxydases androgéniques
- 8-** Lavage dans **2** becs d'eau distillée, **1mn** chacun

B. Démasquage

1. Incuber dans du **PT2** (EDTA) **15 mn** au bain marie à **95°C**.
2. Rincer dans deux bacs à l'eau distillée **2 mn** chacun à température ambiante.
3. Digestion enzymatique grâce à l'enzyme pepsine environs **45** secondes à **37°C** dans l'hybridizer ou chambre humide.
4. Rincer à l'eau distillée de **1 à 2 mn**.
5. Déshydratation à l'éthanol dans des bacs à ordre croissant (**70%, 90%, 100%**) pendant 1 mn chacun.
6. Sécher a l'air.

C. Préparation des sondes

1. Centrifuger la sonde pour la rendre homogène à l'aide de centrifugeuse.
2. Mettre une goutte de sonde de **10 µl**.
3. Couvrir la lame avec la lamelle grâce à une colle spécifique **FIXOGUM**.

D. Dénaturation

- Dénaturer le tissu **5 mn** à **80 °C** pour réaliser la cassure des liaisons hydrogènes.

E. Hybridation

- Hybridation du tissu pendant **16 h** à **37°C**.

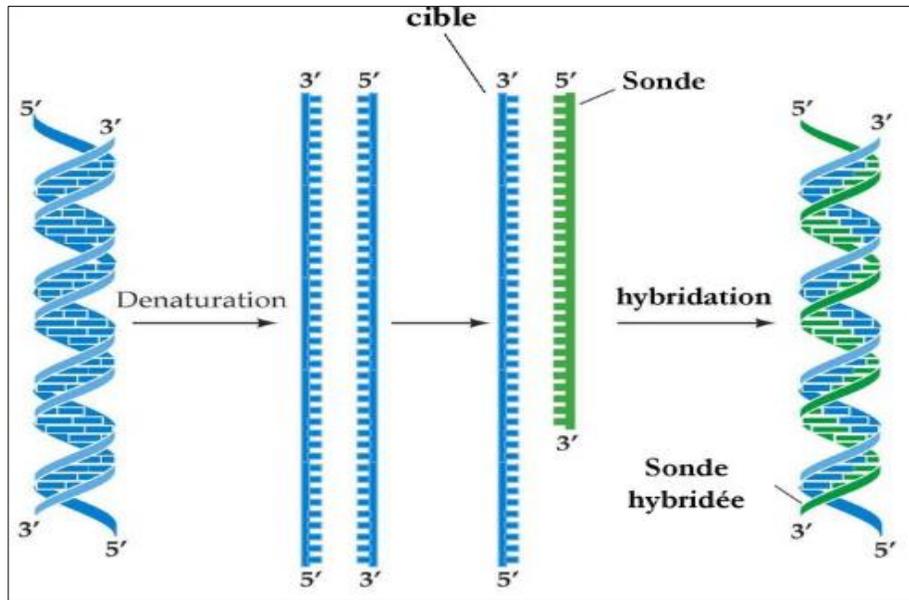


Figure 19 : Etapes de CISH (Ouldjoui, 2017).

F. Post traitement

1. Enlever la colle
2. Enlever la lamelle avec prudence en lavant dans un bain de wash buffer SSC à température ambiante pendant **5 mn** pour décoller la lamelle.
3. Mettre les lames sans lamelles dans un bac de SSC à **75°C**.
4. Rinçage dans **2** bacs d'eau distillée à température ambiante 1 mn chacun.

G. Révélation des sondes

1. Laver avec le TBS Wash buffer déjà diluée pendant **20 mn** à température ambiante.
2. Appliquer une à deux gouttes le premier anticorps (Antidig DRB) **15 mn** à **37 °C**.
3. Rinçage dans **3** bacs de Wash buffer TBS à température ambiante **1 mn** chacun.
4. Appliquer une à deux gouttes le deuxième anticorps HRB **15 mn**.
5. Rinçage dans **3** bacs de Wash buffer TBS à température ambiante **1 mn** chacun.
6. Révélation du centromère avec **2** gouttes du révélateur AB-RED **20 mn** à **37°C**.
7. Laver dans **3** bacs de l'eau distillée pendant **1 mn**.
8. Révélation du gène **erbb2 (HER2)** par les **2** gouttes du révélateur HRP-GREEN pendant **20 mn** à **37°C**.

9. Laver dans **2** bacs de l'eau distillée pendant **1 mn** à température ambiante.
10. Contre colorer avec le produit CS2 Bleu nucléaire pendant **1 mn**.
11. Laver sous eau du robinet.
12. Incuber dans **3** bacs d'éthanol pendant **30 secondes** chacun.
13. Mettre dans **2** bacs de Xylène.
14. Sécher à l'air pendant **2 mn**.
15. Mettre les lamelles sur les lames puis conserver au réfrigérateur.
16. Lecture au microscope optique.

Chapitre III :

Résultats & Discussions

Notre travail est porté sur un échantillonnage de **20 patients** composé de femmes et hommes âgés entre **31 à 89 ans** et atteints d'adénocarcinomes gastriques. Ces patients sont colligés et suivie au service d'Anathomo-pathologie au **CHU Douera à Alger**. Cependant, la taille de l'échantillonnage est réduite à cause :

- D'une disponibilité réduite des pièces et biopsies gastriques type adénocarcinome durant la période de stage.
- De la pandémie au **COVID 19**.
- De manque de réactifs suite aux prix exorbitant.

III.1- Répartitions du cancer gastrique selon différents paramètres

L'analyse des résultats de notre étude a permis de faire les répartitions du cancer gastrique par la manière suivante :

III.1-1-Paramètres démographiques

a) Le sexe

La répartition de l'adénocarcinome gastrique dans notre échantillonnage est présentée dans la (**Figure 20**). Nos résultats ont montrés une prédominance masculine de **14 hommes** contre **6 femmes** avec un sexe ratio de : **2,33**.

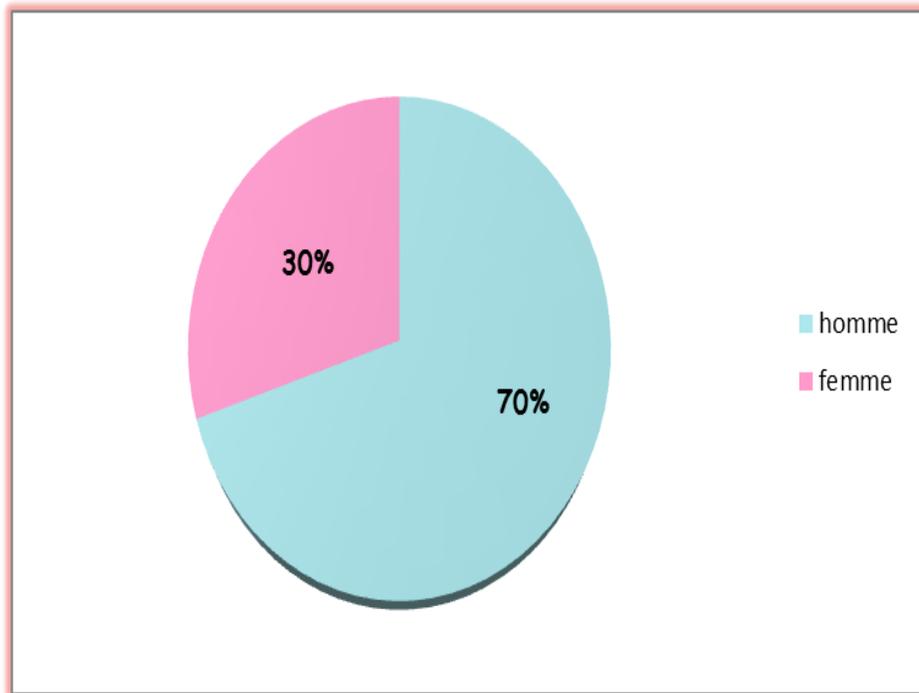


Figure 20 : Répartition d'adénocarcinomes gastrique selon le sexe.

Notre analyse épidémiologique des données, témoigne une nette prédominance masculine, cette dernière a été mise en évidence avec **14 hommes (70%)** des cas et **6 femmes (30%)** soit un sexe ratio de **2.3M/F**. Ces résultats sont approximativement proche de ceux trouvés dans les différentes études de recherches, notamment celle de **Fadlouallah et al.,(2015)** chez une population Marocaine avec un sexe ratio de **2.4M/F** et celle de **Bagny et al.,(2015)** chez une population Togolaise avec un sexe ratio de **2.5M/F**.

Inversement à nos résultats, les travaux de **Canseco-Ávila et al.,(2019)** sur des patients Mexicains ont montré une incidence féminine plus élevée, avec un pourcentage de **51.19% (43 cas)**, par rapport aux taux enregistré chez les hommes qui est de **48.81% (41cas)**.

Cette variation dans les résultats est probablement liée aux spécificités des populations et la prédominance des facteurs de risques dans ces pays. Nos résultats sont en accord avec la majorité des données bibliographiques qui ont montré une forte prévalence masculine.

b) Age :

Selon les résultats observés dans la (**figure 21**), l'âge de nos patients atteints d'adénocarcinomes gastrique varie entre **30 et 89 ans**. La tranche d'âge dominante est entre **[40-49] ans** et **[70-79] ans**, suivie d'un pourcentage plus bas chez les patients âgés de **[30-39] ans** et **[60-69] ans**. Cependant le plus faible taux est enregistré chez les patients de **[50-59] ans** et **[80-89] ans**.

De plus, l'âge moyen est de **57.15 ans** et l'âge médian est de **53 ans**.

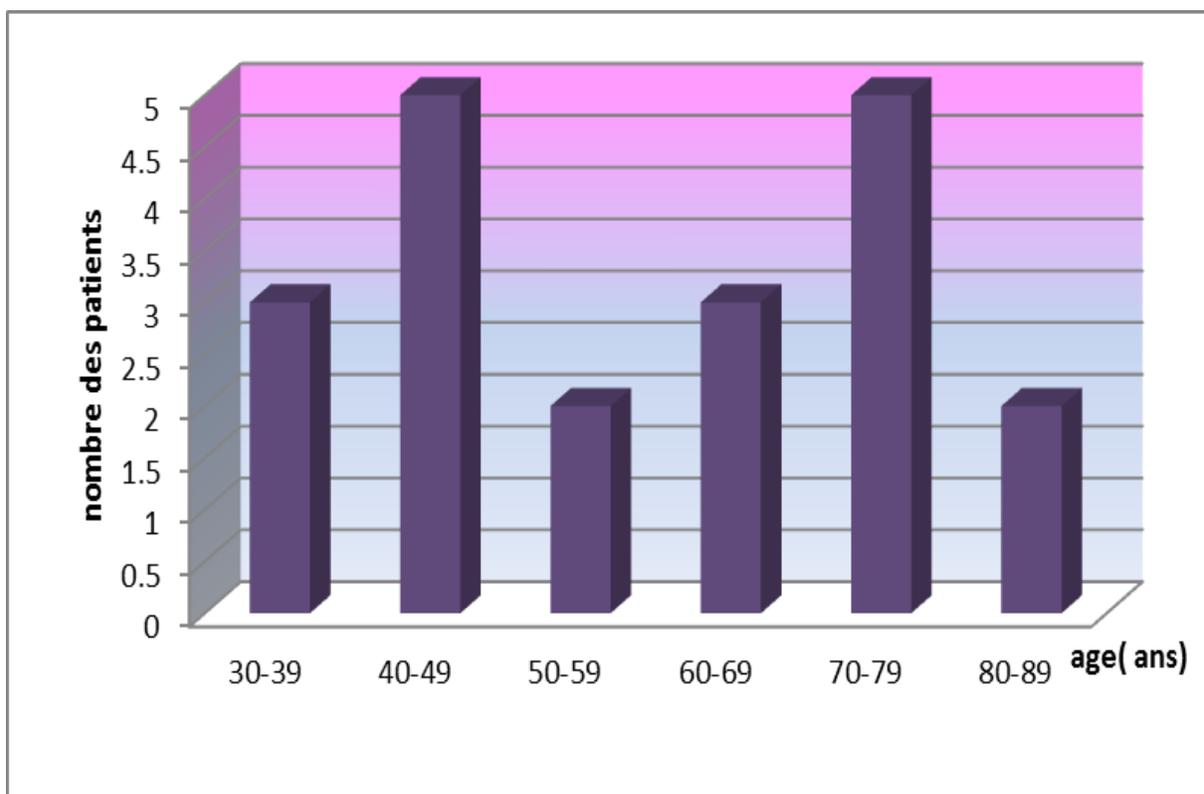


Figure 21: Répartition d'adénocarcinomes gastrique selon l'âge.

En effet, la répartition d'adénocarcinome gastrique par rapport à l'âge, a montré que l'âge moyen de nos malades est de **57.15 ans** avec des extrémités allant de **30 à 89 ans**. En outre, l'âge médian est de **53 ans**. Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés dans plusieurs études, notamment celle de **Naim et Uri, (2010)** chez une population Marocaine, qui ont rapportés un âge moyen de **56 ans**, avec des extrémités de **24 à 90 ans**, et celle de **Canseco-Ávila et al.,(2018)** chez une population mexicaine avec un âge moyen de **57.3 ans**

En revanche, nos valeurs sont en discordance avec l'étude de **Togo et al.,(2011)**, qui ont trouvé chez une population Malienne une moyenne d'âge de **51 ans** et qui reste inférieur aux nôtres. Nos aboutissements peuvent être expliqués par la différence des populations et des habitudes alimentaires et environnementales des populations.

Toutefois, l'étude de **Warsingih et al.,(2021)** portée sur une population indonésienne, a révélé un âge moyen de **68 ans**, ce résultat est plus élevé par rapport à la valeur trouvée dans notre étude. Ceci pourra être lié à la variabilité géographique déjà mentionné en partie théorique.

III. 1.2- Paramètres histologiques

III. 1.2.1/-Nature de prélèvement

L'analyse des résultats concernant la nature des prélèvements a révélé selon la (**figure 22**), les constatations suivantes :

- **11** prélèvements dont **55,7 %** biopsies, **35%** gastrectomies et un taux de **10%** de blocs communiqués

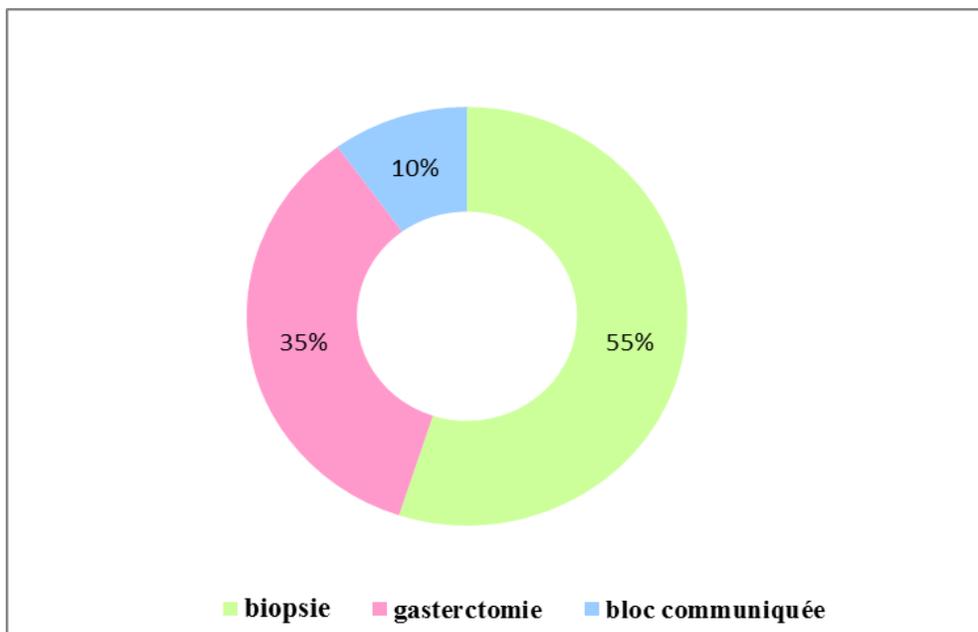


Figure 22 : Répartitions d'adénocarcinome gastrique selon la nature des prélèvements.

III. 1.2.2. Taille de la tumeur

Les résultats illustrés sur la (**figure 23**) indique les répartitions des masses selon leurs tailles, ainsi la taille des tumeurs de nos échantillons varie de **0.2 cm** à **9 cm** et elles sont classées comme suit :

- **13 cas** tumorales dont la taille varie entre **0.2-3cm**.
- **3 cas** tumorales avec une taille qui varie entre **[3 à 5] cm**.
- **4 cas** tumoraux où la taille varie entre **[5 à 9] cm**.
-

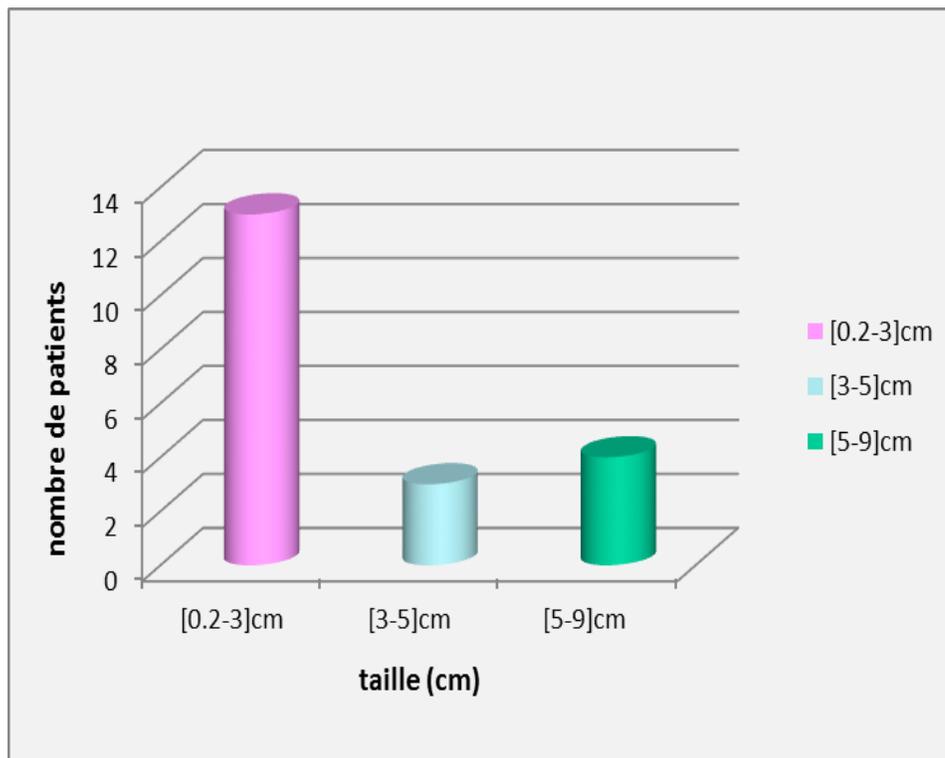


Figure 23 : Répartition des masses tumorale selon la taille.

Nos résultats ont révélé une taille tumorale qui varie entre **0.2** jusqu'à **9 cm**, avec une moyenne de **2.31 cm** et une taille médiane de **1.5 cm**. Ces valeurs sont inférieures à celles trouvées dans l'étude de **Amrani et al.,(2020)** chez une population Marocaine, qui a identifié des tailles tumorales variant de **2.5 cm** à **11cm** avec une moyenne de **5.17 cm** et celles rapportées par **Li et al.,(2021)** ou la taille médiane est de **5.22 cm** avec une taille tumorale qui varie de **0.5 cm** à **20 cm**.

La variabilité de nos résultats peut être liée à la présence majoritaire de prélèvements par biopsie (55%) . Selon l'étude de (Im et al.,2012) une tumeur mesurant moins de 5 cm est considérée comme mauvais pronostic.

III. 1.2.3. Grade de différenciations histologique :

Les résultats de la répartition d'adénocarcinome gastrique selon le grade de différenciations et la structure sont représentés par les figures 24, 25, 26 et 27 respectivement. En effet, une répartition fréquente de grade peu différencié avec un taux de 50% (10 cas) (figure 25), suivie par le grade moyennement différencié avec un pourcentage de 30 % (6 cas) (figure 26) et le grade bien différencié avec une valeur minimale de 20 %, 4 cas (figure 27).

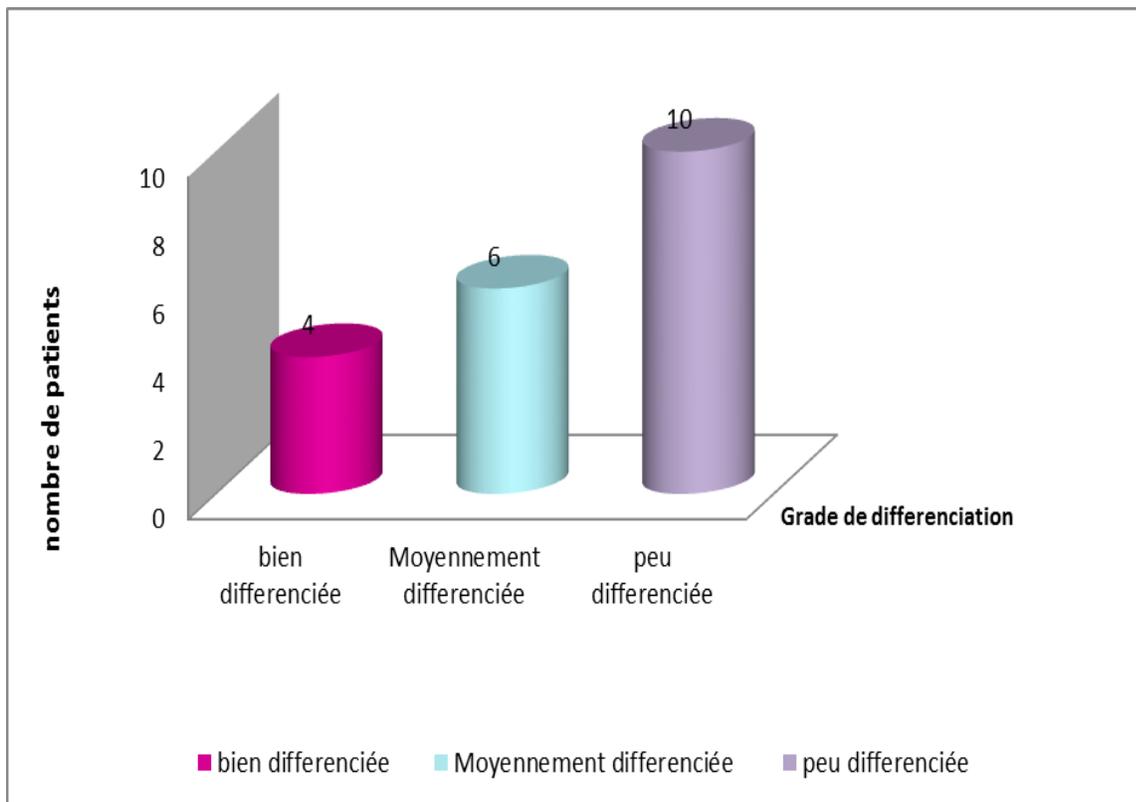


Figure 24 : Répartition des adénocarcinomes gastrique selon le grade de différenciation.

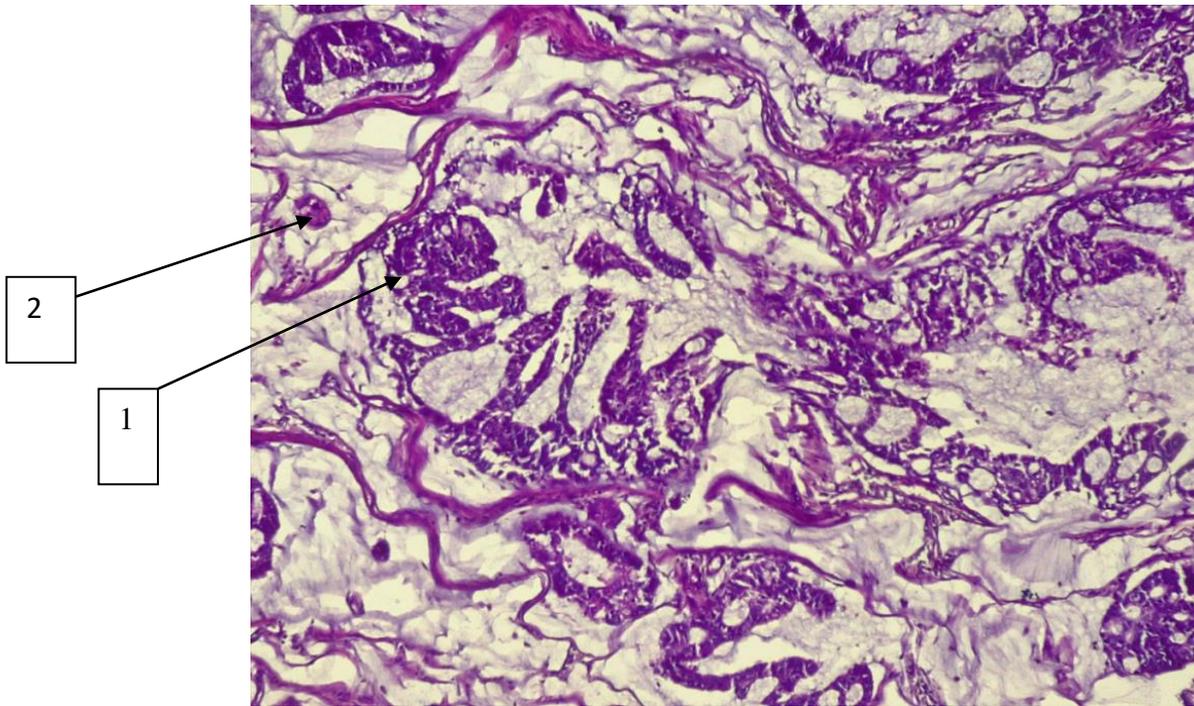


Figure 25 : Adénocarcinome gastrique peu différenciée G : 40x (HE).

1 : *Structure glandulaire.*

2 : *Noyaux tumorale à division mitotiques anarchiques.*

Les ADK peu différenciés sont caractérisés par la présence de structures glandulaires à moins de **25 %** dans le tissu, ils contiennent des cellules cancéreuses peu différenciées ou indifférenciées (**Figure 25**) et ont une apparence et un comportement très différents de ceux des cellules normales gastrique. Elles semblent immatures, peu formées et pas organisées, comme les cellules normales. Ces tumeurs ont tendance à être plus agressives, à croître rapidement et à se propager souvent. Elles sont Caractérisées par une augmentation du nombre de cellules en mitoses et des mitoses anormales. Elles engendrent un mauvais pronostic que celles du type bien différencié (**Adam, et Petit., 2016**)

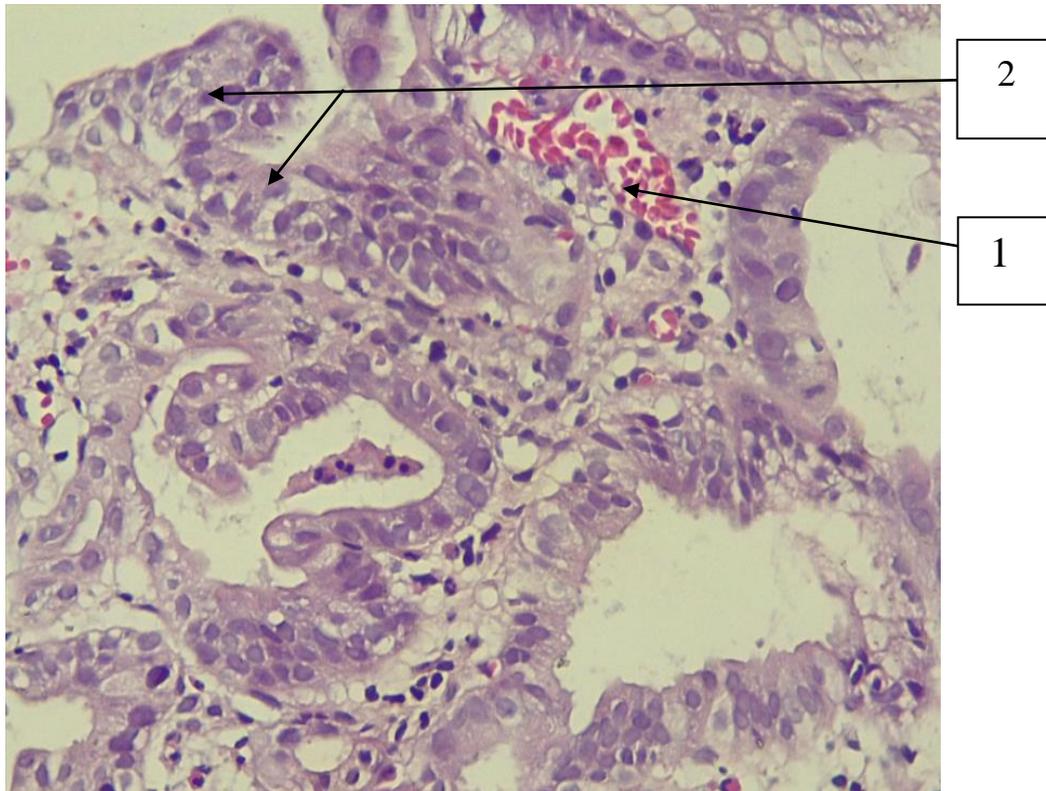


Figure 26 : Adénocarcinome gastrique moyennement différenciée G : 40x (HE).

- 1- Globules rouges (éclatement d'un vaisseau sanguin).*
- 2- Anisocaryose : inégalités des tailles des noyaux des cellules.*

Ce type d'adénocarcinome gastrique a des structures glandulaires de **25 à 50%**. Ses cellules cancéreuses modérément différenciées, ont une apparence et un comportement entre ceux des cellules cancéreuses bien différenciées et ceux des cellules cancéreuses indifférenciées (**Adam et Petit., 2016**).

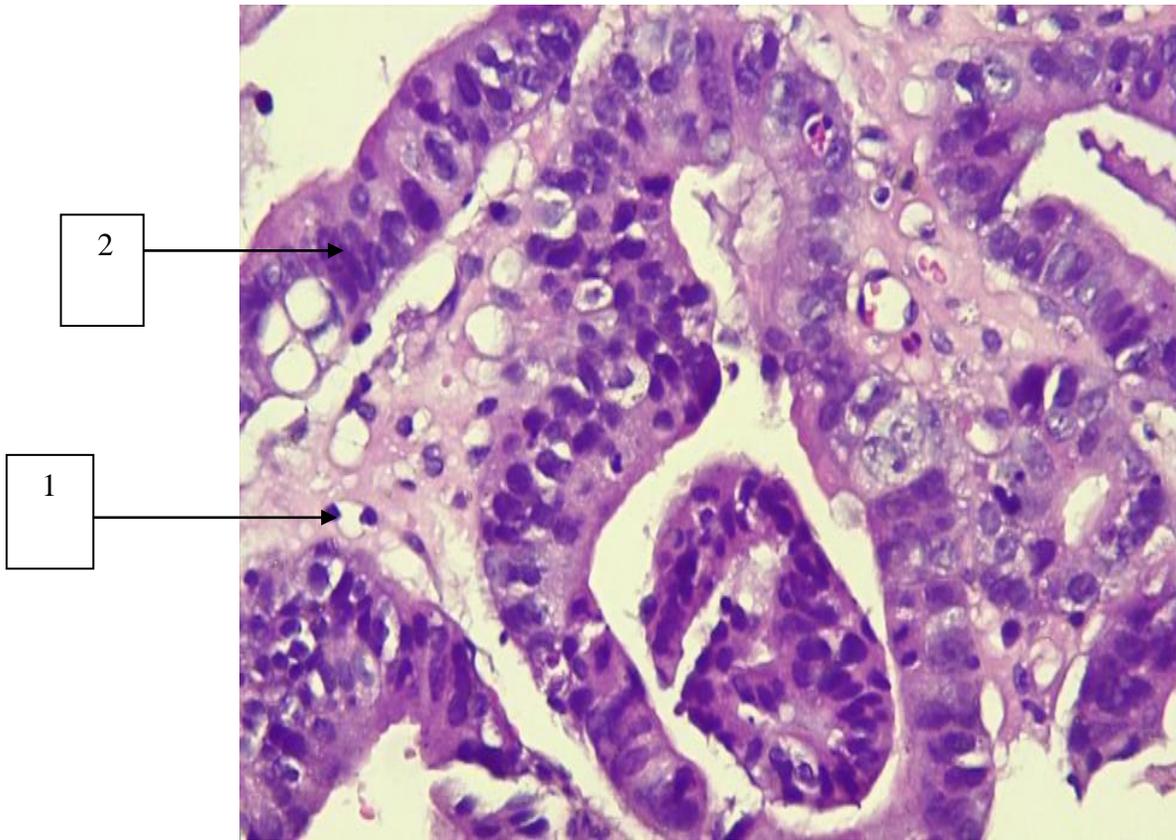


Figure 27 : Adénocarcinome gastrique bien différenciée (G : 40x, HE).

1 : *Noyaux tumorale*

2 : *Divisions anarchiques des cellules tumorales.*

Par ailleurs, ces cellules cancéreuses de l'adénocarcinome bien différenciées contiennent une structure glandulaire de plus de **70 %**, elles ont une apparence et un comportement proches de ceux des cellules normales gastrique. Ces tumeurs ont tendance à être moins agressives, et donc elles ont tendance à croître et à se propager lentement (**Adam et Petit.,2016**).

Les caractéristiques observées dans nos résultats sont similaires à ceux trouvées par **Badary et al., (2017)** chez des patients égyptiens, dont le taux de grading pour les adénocarcinomes peu, moyennement et bien différenciée sont respectivement de **47.6 %**, **42.9%** et **9.5%**. Des constatations identiques ont été mentionnées par **Xi et al.,(2020)** chez une population chinoise, avec des valeurs de **56.7%** , **36.4%** et **6.9%**

pour les grading peu, moyennement et bien différenciée respectivement. Néanmoins des résultats controversés ont été trouvés par (Fadlouallah et al., 2014).

La différence entre nos résultats et les aboutissements des autres études peut être liée au dépistage précoce des cancers gastriques dans certains pays.

III. 1.2.4. Infiltrations filet nerveux

L'infiltration des filets nerveux est présente avec un pourcentage de **45% (9 cas)**, par contre **20 % (4 cas)** ne présentent pas cette infiltration, alors que **35 %** des cas sont non déterminés.

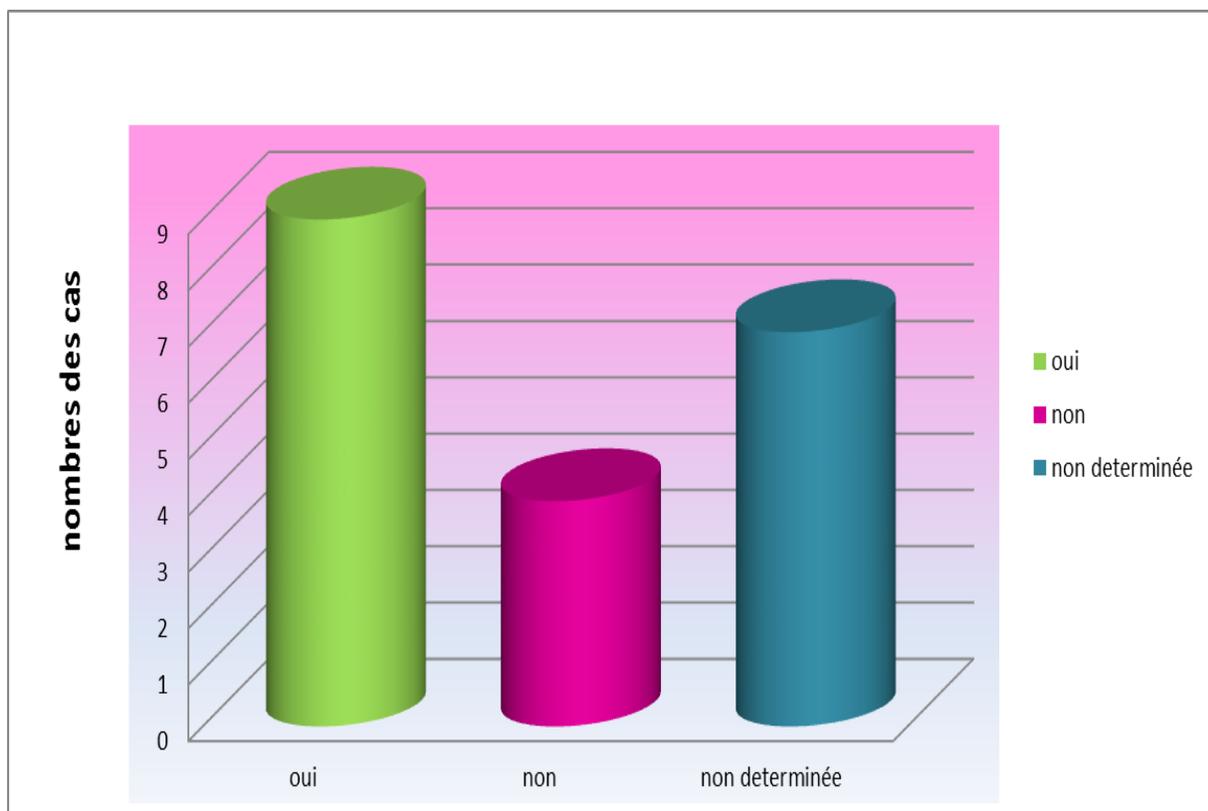


Figure 28 : Répartitions des adénocarcinomes gastriques selon l'infiltration du filet nerveux.

A travers ces résultats, on déduit que nos valeurs se rapprochent de ceux rapportés par Sun et al., (2020), alors qu'elles sont en discordance avec celles enregistrées par les études de Li et al., (2020) et Gulken et al., (2021).

Par ailleurs, l'invasion influence sur les caractéristiques pathologiques des tumeurs malignes, favorise les métastases et induit une réduction de la survie des patients atteints du cancer.

cette différence est probablement dûe à la présence des stade avancé et métastases à distance.

III. 1.2.5. Selon le type histologique

Les cas étudiés ont été classée histologiquement selon la classification **OMS 2010**, dont on distingue 5 types histologiques : Nous avons trouvé **45% des cas** présentent un adénocarcinome gastrique à cellule indépendante l'équivalent de **(9 cas)** (**figure 32**), tandis que **15%** des cas ont un adénocarcinome gastrique tubuleux environ **(3cas)** (**figure 31**). Quant aux ADK mucineux et mixte (composant) présentent **5 % (1 cas chacun)**, (**figure 30 et 33**). De plus, l'adénocarcinome papillaire est à une valeur minimale de **0% (0 cas)** et enfin **30 %** des cas sont indéterminés.

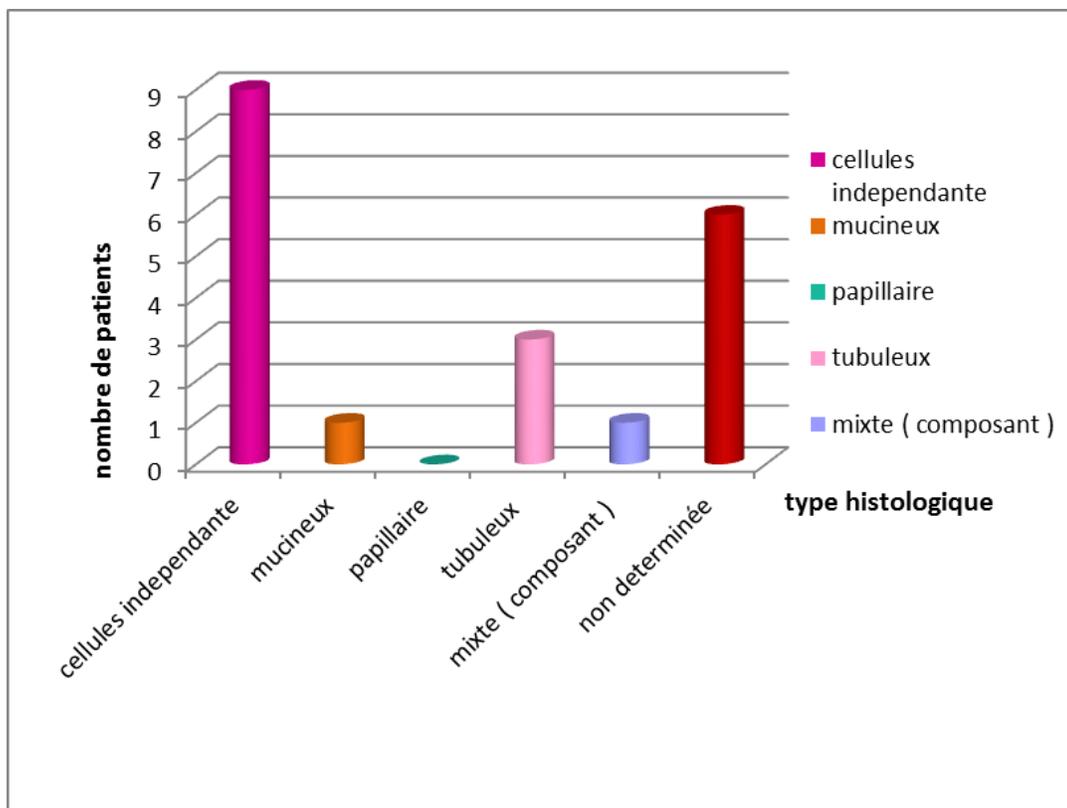


Figure 29: Répartition des patients selon le type histologique.

III. 1.2.5.1/ Etude microscopique des lames :

Pour identifier les types d'ADK observés sur les lames histologiques des patients étudiés, nous nous sommes référées à la classification de l'OMS 2010. Nous avons distingué 4 types d'adénocarcinomes :

a) L'Adénocarcinome gastrique mucineux (mucoïde) :

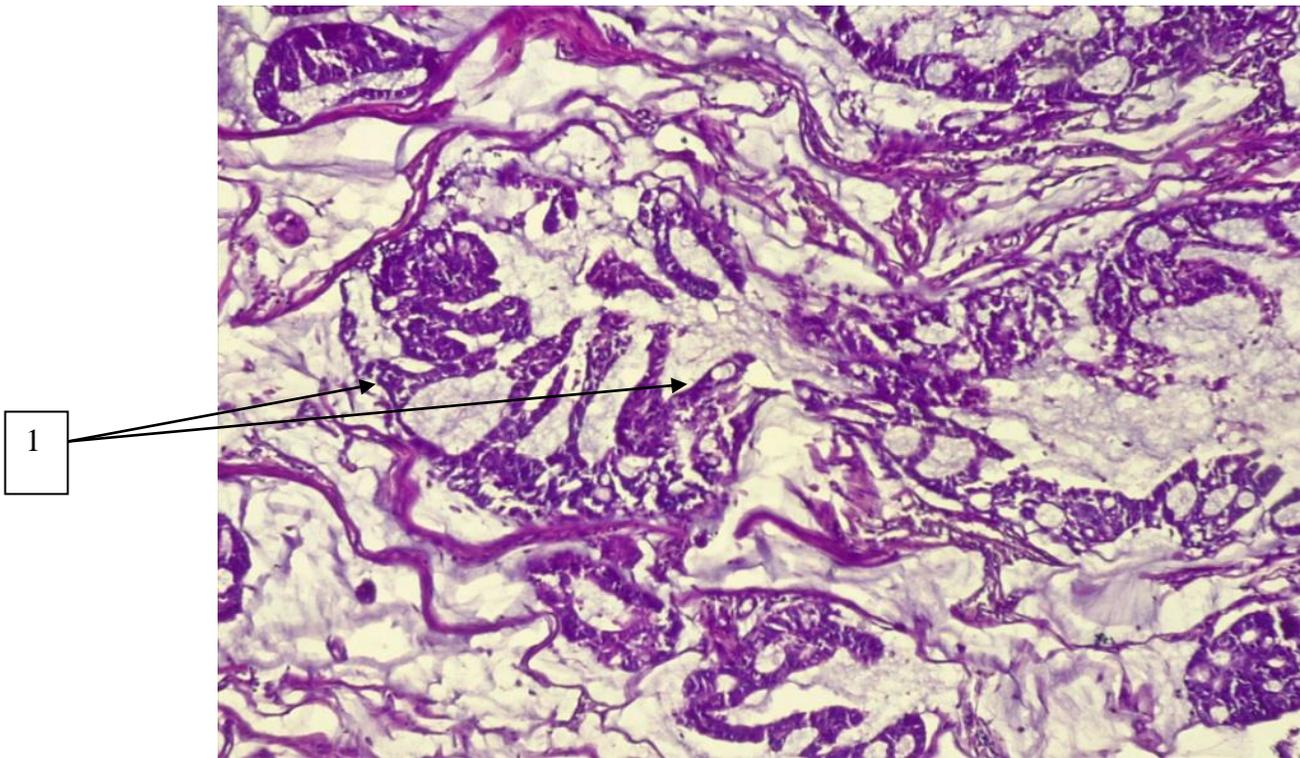


Figure 30 : Adénocarcinome gastrique mucineux (HE, G :40x).

1 : Mucines

Ce type a une présence massive de glandes sécrétoires des mucines qui sont les constituants principaux du mucus secrétée en dehors des cellules cancéreuses (**Figure 30**).

En ce qui concerne le type d'ADK mucineux, des valeurs similaires ont été rapporté par **Li et al., (2021)**, qui ont trouvés **46 cas** sur **1127 patients**. De même, l'étude de **Xi et al.,(2020)** portée sur **9594**

patients chinois, ont enregistré **422 cas** . Des valeurs approximativement équivalentes à nos résultats (**10 cas** sur **214 patients**) ont été signalés par **Feng et al., (2021)**.

b) L'adénocarcinome gastrique tubuleux :

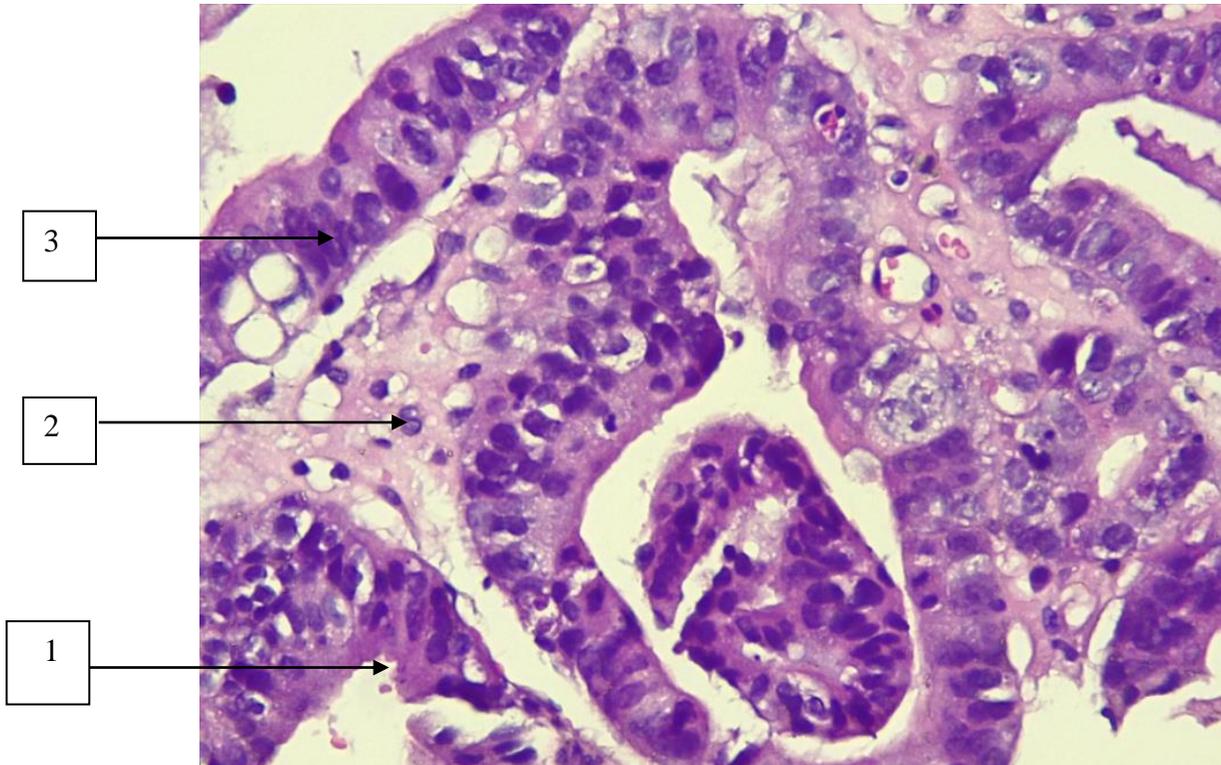


Figure 31 : Adénocarcinome gastrique tubuleux (G : 40x, HE).

1 : *Ramification des tubules.*

2 : *Noyau de cellule cancéreuse.*

3 : *Division anarchique de noyau de cellule cancéreuse.*

Cet adénocarcinome est composé de tubules dilatés et de ramifications de diamètre variable (**figure 31**), il a des cellules avec de très grands noyaux à divisions cellulaires mitotiques anarchiques.

Par contre le taux d'ADK du type tubuleux trouvés dans cette étude est inférieur à celui déterminé par **Li et al.,(2020)** qui est de **707** cas sur un total de **1127** patients. Aussi, **Pala et al.,(2013)** ont noté **47 cas** sur **88** patients et en **2020**, **Xi et al** ont identifié **5203 cas** sur **9594** patients.

c) Adénocarcinome gastrique à cellules indépendantes :

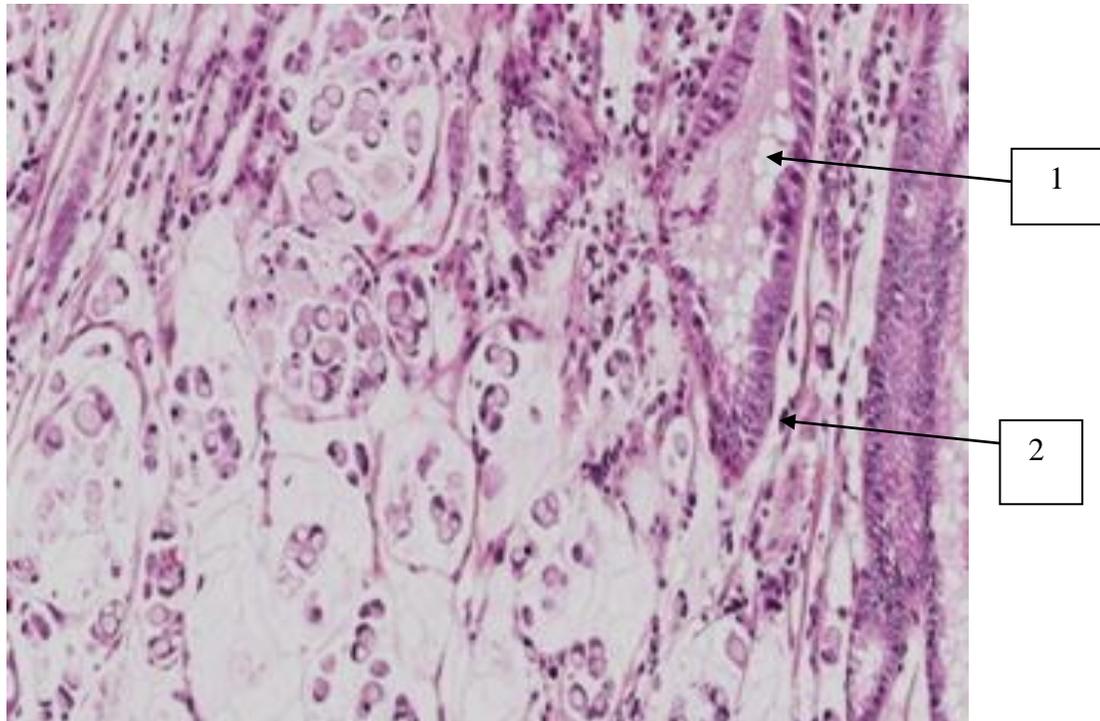


Figure 32 : Adénocarcinome gastrique à cellule indépendante (G : 40x).

1 : *Mucines.*

2 : *Cellule noyaux atypiques et anisocaryoses.*

Il est composé principalement de cellules en bague à chaton regroupés sous forme d'amas, caractérisé par un noyau extra centrée atypique (à critères inhabituelles) et anisocaryoses (noyaux à ailles inégales) et des gouttelettes de mucines. Il ne possède pas d'architecture glandulaire et les cellules ont perdu leur pouvoir d'adhésion (**Figure 32**).

En comparant les résultats de notre étude histologique concernant l'adénocarcinome à cellules indépendantes (bague à chaton) avec ceux de **Warsingih et al .,(2021)**, nous constatons une large différence, ces auteurs ont trouvé seulement **3 cas** sur une populations de **64** patients ce qui est inférieur par rapport à nos résultats. De même avec l'étude de **Feng et al .,(2021)** qui ont révélés sur **214** patients **29 cas** uniquement.

d) Adénocarcinome composant (Mixte)

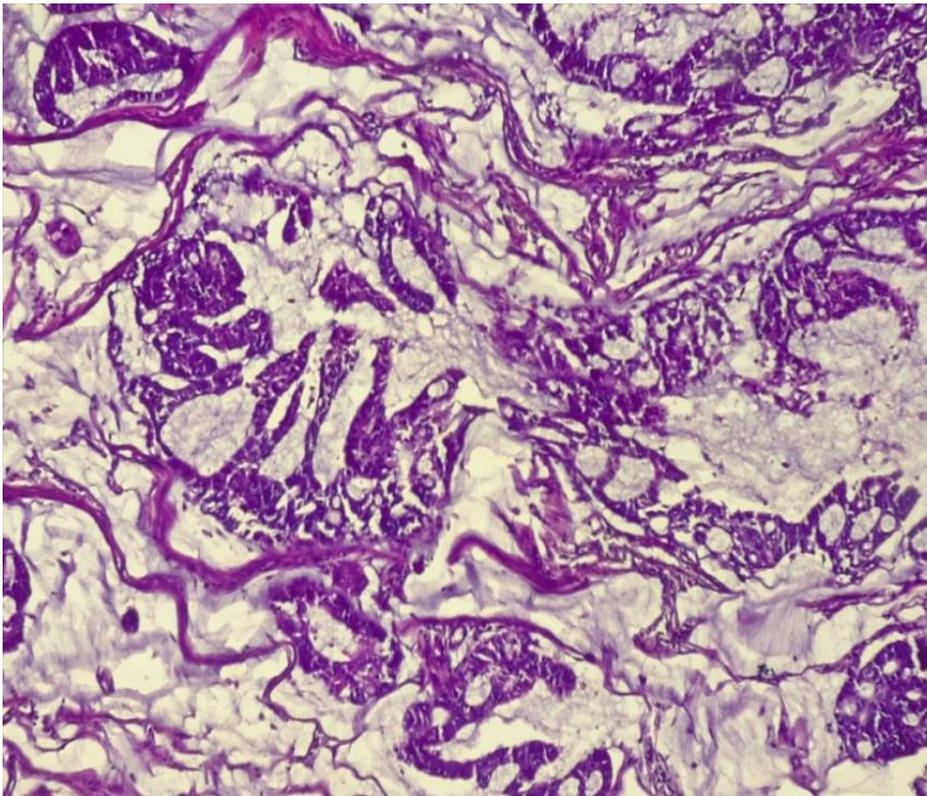


Figure 33: Adénocarcinome gastrique de type composante (mixte) (G : 40x HE).

Cet ADK est composé de plus d'un type d'adénocarcinomes gastriques, notamment le type mucineux (déjà décrit) et le type papillaire qui comporte des excroissances qui pointent vers l'intérieur de l'estomac (exophytiques) composées de longs doigts de gants. (**Figure 33**).

Concernant nos résultats observés pour le de types mixtes nous avons remarquées que nos valeurs sont semblables à celles rapporté par **Pala et al .,(2013)** qui ont trouvé sur **88** patients seulement **6** cas. Par contre

les travaux de **Xi et al.,(2020)** ont rapportés **1072** cas sur **9594** patients , ces valeurs sont plus élevés à nos résultats ainsi que l'étude menée par **Li et al.,(2020)** qui a révélé **179** cas sur un total de **1127** patients.

La variabilité de réparation selon les types histologique peut être expliquée par la spécificité de laboratoire et l'échantillonnage reçu dans la période de stage.

III. 1.2.6. Selon la Classification histologique de pTnm :

a) Selon taille de tumeur :

Selon la (**figure 34**) nos résultats indique la taille des tumeurs gastriques, nous avons obtenu les résultats suivants :

- **T1** : tumeur limitée à la muqueuse ou à la sous muqueuse (tumeur superficiel) aucun cas (**0%**) n'a été détectée dans notre étude.
- **T2** : tumeur étendue à la musculuse, notre étude a révélé deux cas (**10%**).
- **T3**: tumeur envahissant la sous séreuse (y compris les ligaments gastrocolique et gastrohépatique ou le grand épiploon), nous avons enregistré **5 cas** environ (**25%**).
- **T4** : tumeur envahissant la séreuse ou les organes adjacents, nous avons trouvé **3 cas (15%)**, cependant **10 cas** l'équivalent de **50%** sont classé non déterminés.

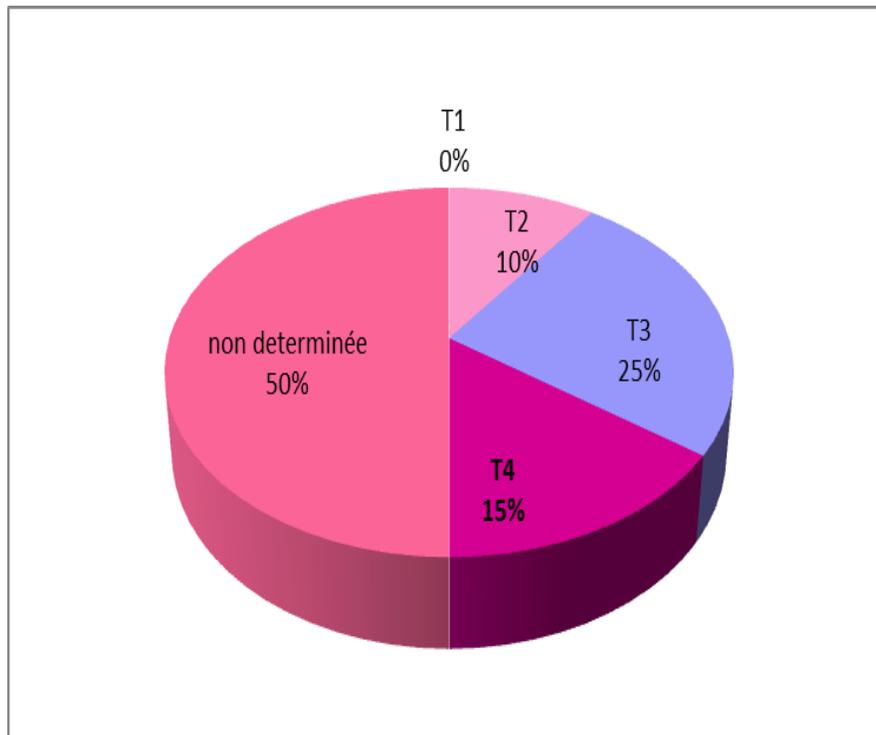


Figure 34 : Répartition selon Le paramètre T (Taille de Tumeur).

Nos résultats concernant le stade **T1** concordent avec l'étude de **Pala et al.,(2013)** qui ont révélé **4 cas** sur **88** patients et celle de **Franceshini et al.,(2020)** qui ont détecté à leurs tours **11 cas** sur **61** malades. Inversement à nos résultats, l'étude de **Koseki et al.,(2021)** a montré **1806 cas T1** sur un nombre total de **2885** patients.

Concernant le stade **T2**, nos résultats ont identifiée **2 cas** sur **20** patients, ceci vas dans le même sens que les résultats de **Pala et al.,(2013)**, qui ont trouvé **11 cas T2** sur **88** patients.

Toutefois, les travaux de **Franceshini et al.,(2020)** sur une population de **61** malades et ceux de **Koseki et al., (2013)** chez une population Japonaise de **2885** malades ont détecté **19** et **370 cas** classé **T2** respectivement.

Pour le stade **T3** nous avons trouvés **5 cas** sur **20** patients, ceci concorde avec les résultats de **Franceshini et al.,(2020)** qui ont enregistré **21 cas** sur **61** malades. Néanmoins, nos résultats sont en discordance avec les études de **Pala et al .,(2013)** et **Koseki et al .,(2021)** qui ont rapportés **62** et **213 cas T3** chez **88** et **285** patients respectivement.

Quant au stade **T4**, les valeurs obtenues dans notre étude se rapprochent de celle de **Koseki et al .,(2021)**. Contrairement les travaux de **Pala et al .,(2013)** ont rapporté un nombre de cas de **62** chez une population de **88** patients. Parallèlement à cette étude, **Franceshini et al.,(2020)** ont enregistré un nombre de cas **T4** doublement plus élevés à nos résultats.

Cette différence des valeurs de cette classification est probablement liée au nombre limité d'échantillons et même à la présence des stades avancés dans notre tranche étudiée

b) Selon le paramètre nombre de ganglions :

Les résultats obtenus dans cette étude concernant le nombre ganglionnaire sont illustrés dans (**Figure 35**). Nous avons déduits les cas suivants :

- **N0** : pas d'envahissement ganglionnaire, **1 cas** sur **20 patients** l'équivalent de **5%**
- **N1** : **1 à 2** ganglions métastatiques avec **2 cas** à raison de **10%**.
- **N2** : **3 à 6** ganglions régionaux métastatiques, **3 cas** avec un taux de **15%** ont été détectés .
- **N3** : **7 à 15** ganglions régionaux métastatiques, avec **4 cas** à raison de **20%**.
- **10 cas** ont été signalés comme résultats non déterminées (**50%**).

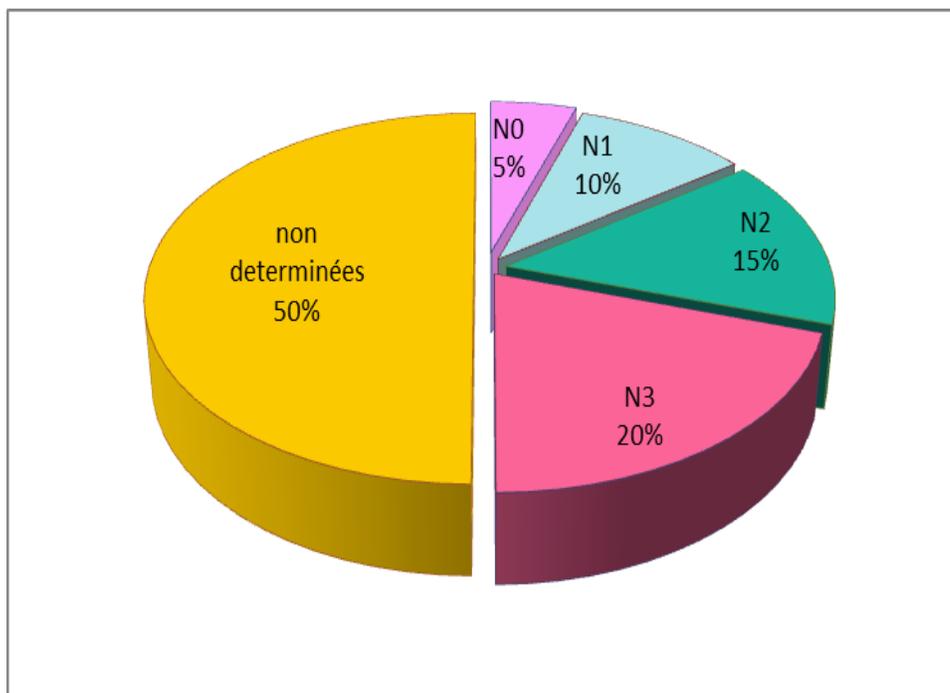


Figure 35 : Répartition selon paramètre N (nombre de ganglions).

L'invasion ganglionnaire dans notre étude a révélé un seul cas **N0** sur **20**. En revanche, ce résultat ne corrobore pas avec les travaux de **Li et al .,(2020)** qui ont dénombrés **922 cas** sur un total de **1127** patients, ainsi, que l'étude de **Koseki et al., (2021)** qui a identifié une valeur hautement élevée **2885 cas N0** sur **2479** patient. De même, pour **Feng et al.,(2021)** qui ont noté **132 cas N0** chez **214** patients .

Le Stade ganglionnaire **N1** est constaté chez **2 cas** de nos patients. Cette valeur se rapproche de celle trouvé par **Koseki et al.,(2021)**. Cependant, **Li et al .,(2020)** ont détectés sur **1127** patient **244 cas N1**, ces résultats vont dans le même sens que ceux rapportés par **Feng et al.,(2021)** qui sont de **45cas N1** sur **214** patients. Ces résultats sont significativement élevés par rapport à ce trouvé dans notre étude.

Concernant le stade ganglionnaire **N2** nous avons trouvés **2 cas** sur **20** patients ce qui ne concorde pas avec les travaux de **Li et al.,(2020)** chez **1127** patients et ceux de **Koseki et al.,(2021)** sur **2885** malades , qui ont trouvé respectivement **251** et **255 cas N2** respectivement. Toutefois, nos valeurs sont en accord avec les travaux de (**Feng et al.,2021**).

Enfin pour le stade ganglionnaire **N3** nous avons observé **4 cas sur 20**, cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Li et al.,(2020)**. De même, nos résultats dépasse de loin ceux enregistrés par **Feng et al.,(2021)**, qui ont dénombré **10 cas N3** uniquement sur **214** patients. De plus, nos résultats sont identiques à ceux rapportés par (**Koseki et al.,2021**).

Cette différence des valeurs de cette classification est probablement liée au nombre limité d'échantillons et même à la présence des stades avancé dans notre tranche étudiée.

c) Selon le paramètre **M** (métastatique ou non) :

Les résultats de cette étude représentée par (**figure 36**) révèlent :

- **20% (4 cas)** sont des tumeurs métastatiques.
- **25% (5 cas)** sont des tumeurs non métastatiques.
- **55% (11 cas)** sont classés non déterminées.

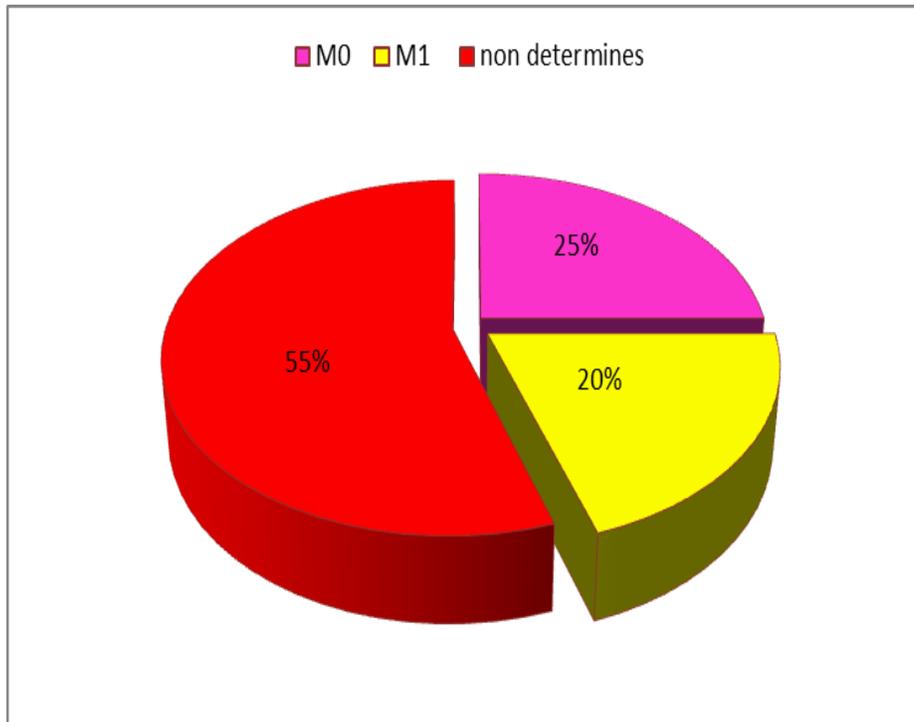


Figure 36 : Répartition selon le paramètre M (métastatique ou non).

Nos résultats liés à la présence ou l'absence de métastase, montrent dans un premier lieu, une prédominance des cas non métastatique **M 0** avec **5 cas** sur **20** patients. Ce résultat est en discordant avec celui de **Franceschini et al.,(2020)**, qui n'ont noté aucun cas non métastatique chez **61** patients. Contrairement, **Li et al.,(2020)** ont trouvé une valeur extrêmement importante des cas non métastatiques avec un nombre de **1112 cas** sur un total de **1127 malades**.

Dans un second lieu, le nombre des cas métastatiques **M1** dans notre étude est de **4 patients** sur **20**, ce qui est inférieur aux valeurs trouvée par **Li et al.,(2020)** et **Franceschini et al,(2020)** qui ont enregistré un nombre des cas métastatique de **9 et 2** sur un nombre de patients de **1127 et 61** patients respectivement.

Cette différence des valeurs de cette classification est probablement liée au nombre limité d'échantillons et même à la présence des stades avancé dans notre tranche étudiée.

III. 1.2.7. La répartition selon le siège anatomique région de la lésion

Nos résultats obtenus dans cette étude sont illustrés sur la (**figure 37**) qui montre des valeurs élevées de la localisation antrale des ADK. Le plus fréquemment touché avec un taux de **20% (4 cas)** , **15%** sont de

localisation fundique (**3 cas**) en égalité avec la région antro-pylorique, suivie de la région cardiaque avec un pourcentage de **10%** (**2 cas**). En revanche un seul **cas** seulement est de localisation pylorique (**5 %**), et **35%** des **cas** sont de localisation indéterminée **7 cas**.

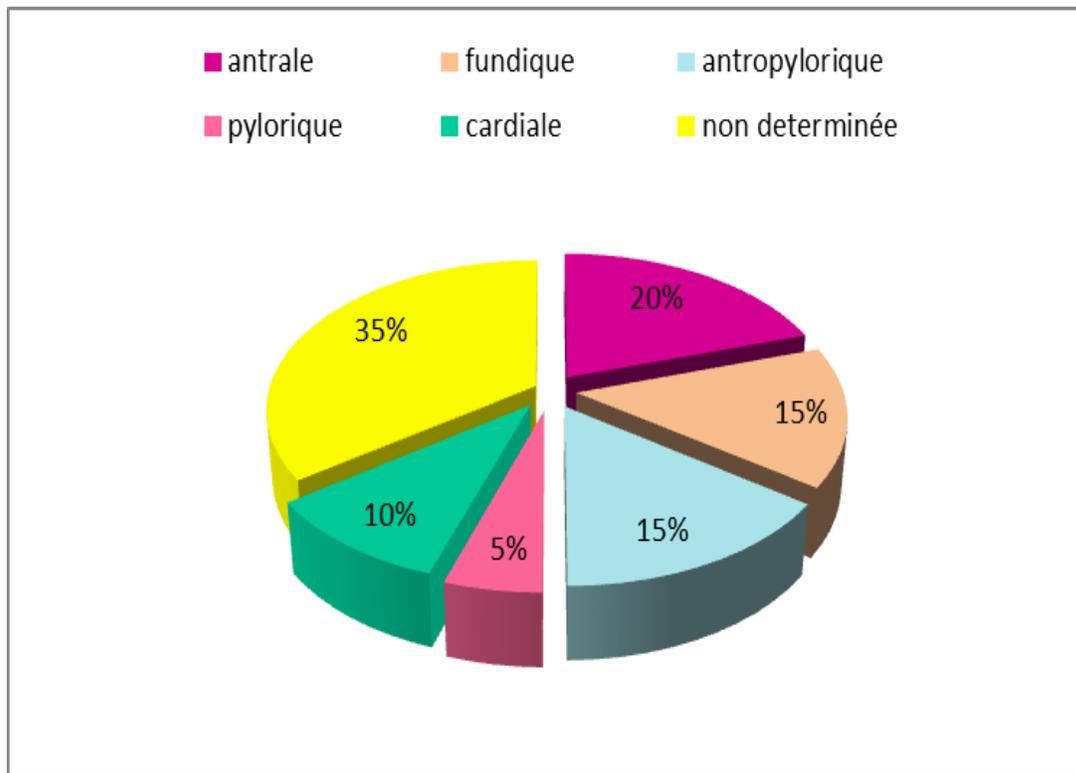


Figure 37 : Répartition des patients selon le siège anatomique.

D'après ces résultats et selon le degré de la localisation tumorale, nous déduisons que la partie antrale est la plus touchée. Ce résultat va dans le même sens que l'étude de **Pala et al.,(2013)** avec un pourcentage de **83%**, celle de **Yan et al ., (2014)** avec un taux de **46.3%** et enfin **Gulken et al.,(2021)** avec une valeur de **25%**.

On peut expliquer la variabilité entre ces résultats par la spécificité de laboratoire et de l'échantillonnage.

III. 1.3.Etude immuno-histochimique :

III. 1.3.1- Selon l'expression de la protéine HER2

Nous avons effectué la technique d'immunohistochimie sur **6 cas** parmi les **20** patients susceptibles d'avoir une grande surexpression du récepteur **HER2**, et nous avons observé les résultats illustrés dans la (**Figure 38**), où nous avons enregistré un taux de **50 %** environ **3 cas**, avec un score **0+** (**Figure 39**), **33%** l'équivalent de **2 cas** avec un score **1+** (**figure 40**), **17%** à raison d'un cas score **2+** équivoque (**Figure 41**), et **0%** de score **3+** (**Figure 42**).

Il faudrait confirmer le score **2+** par la technique de biologie moléculaire (**CISH**)

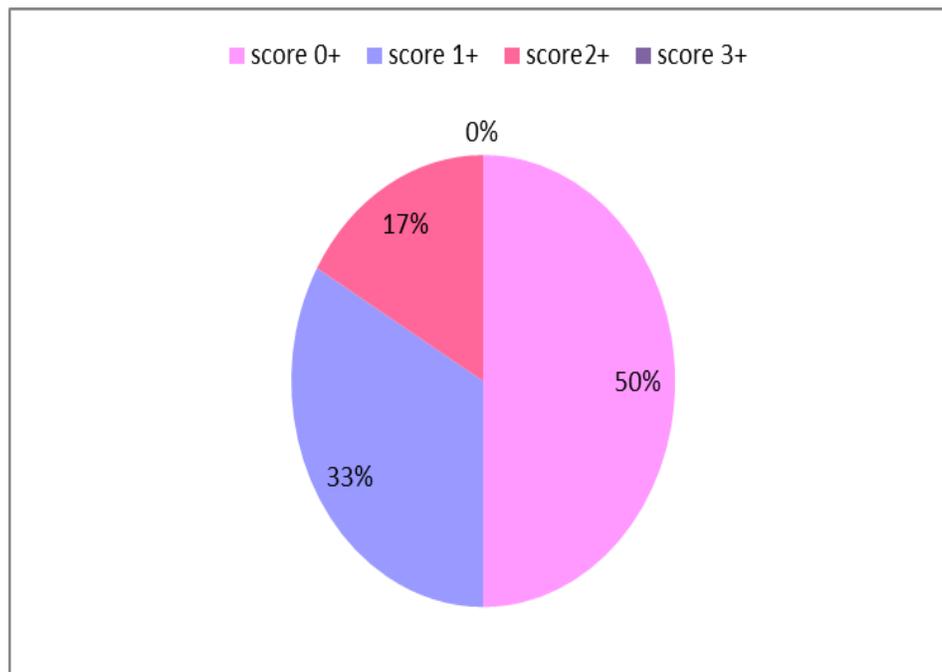


Figure 38 : Répartition des patients selon l'expression du récepteur HER2.

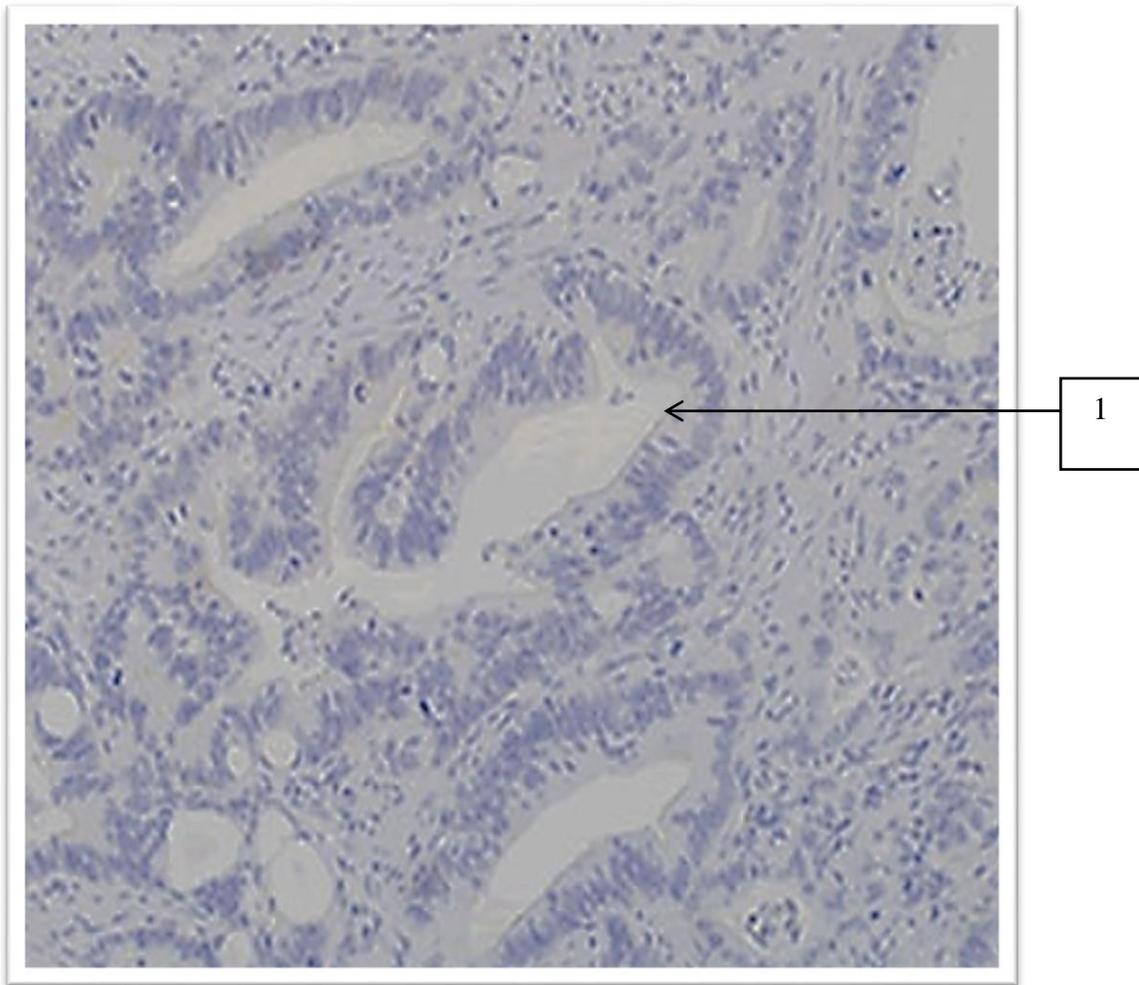


Figure 39 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique avec un score 0+ G 40x.

1- Marquage imperceptible.

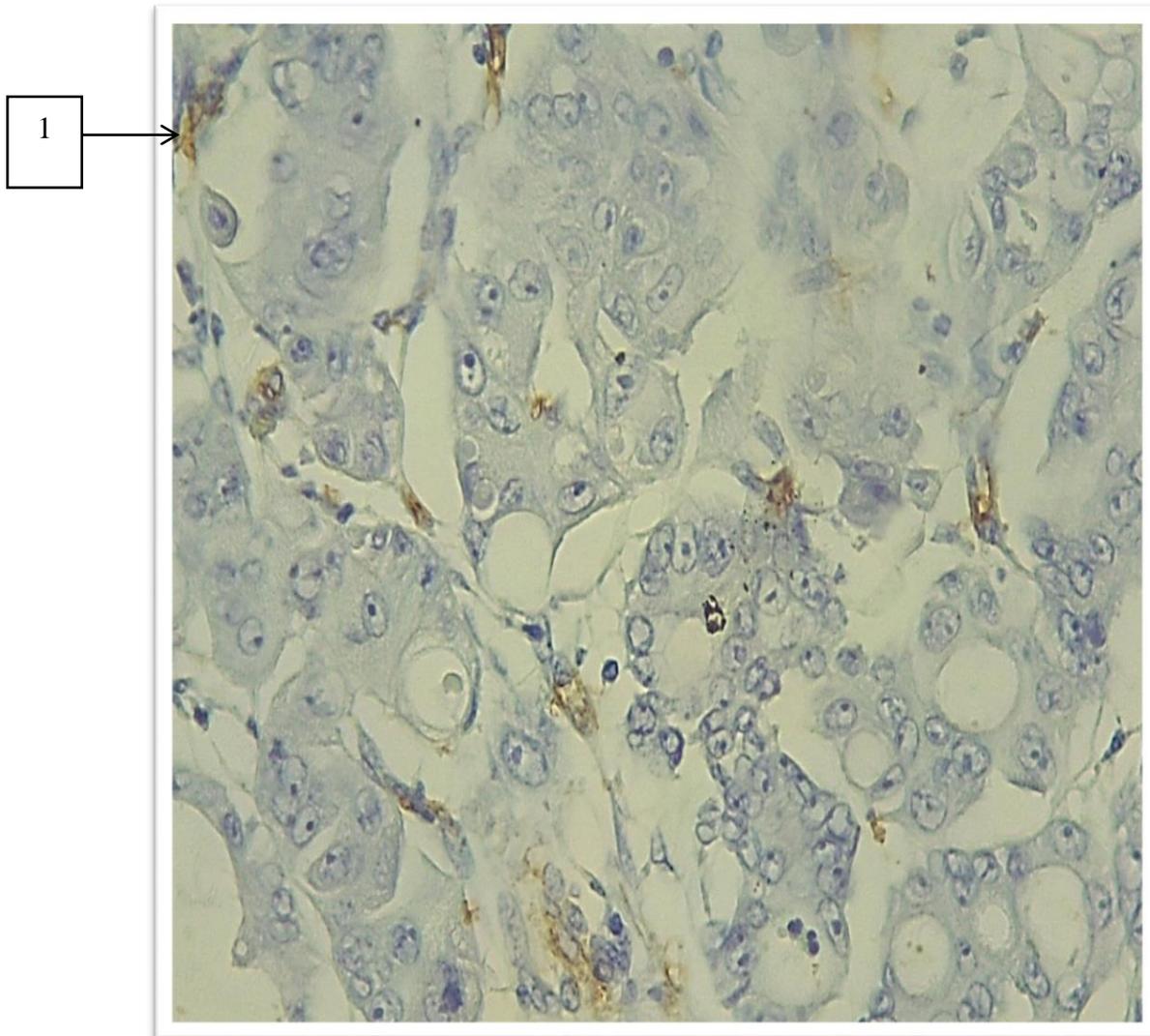


Figure 40 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique avec un score 1+ G: 20x.

1- *Présence de marquage du récepteur HER2 dans 5 cellules adjacentes cohésives.*

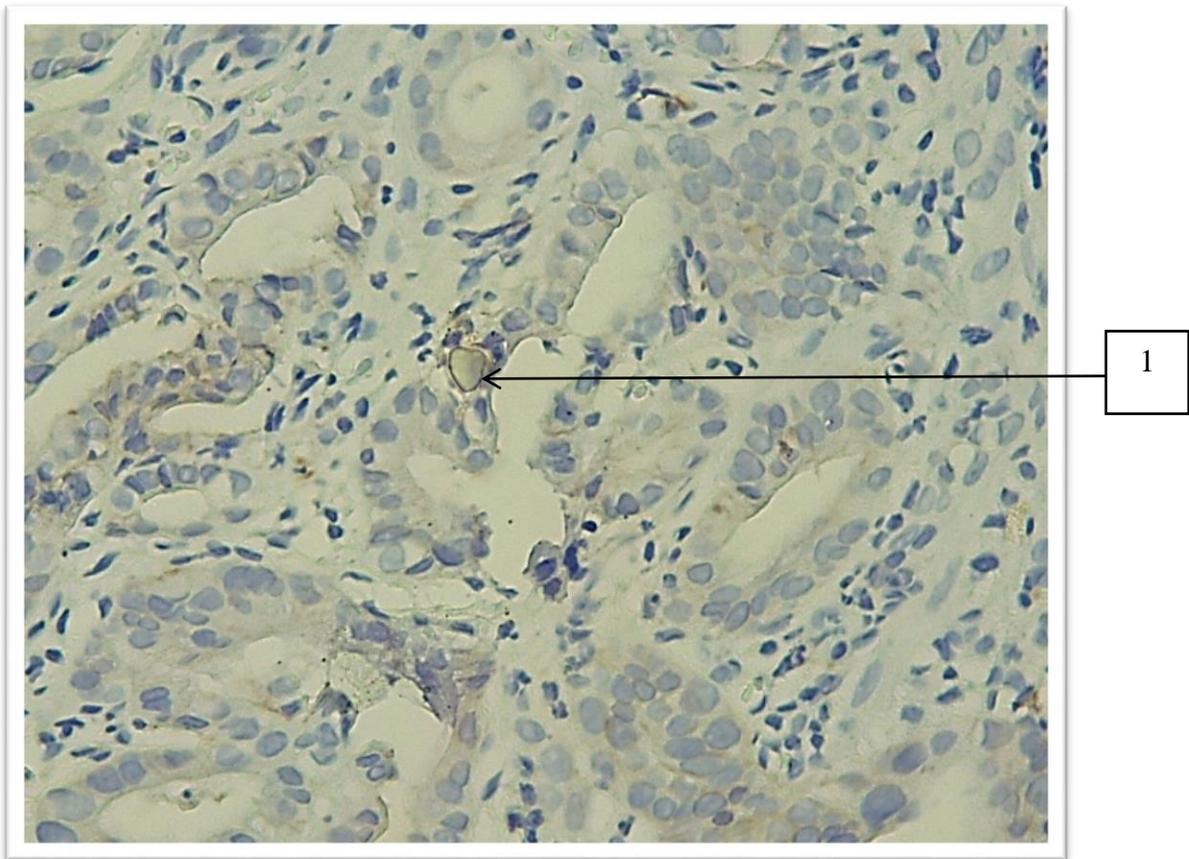


Figure 41 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique avec un score 2+ (équivoque) G:20x.

1- *Marquage basolatérale du récepteur HER2 de 10 cellules adjacentes.*

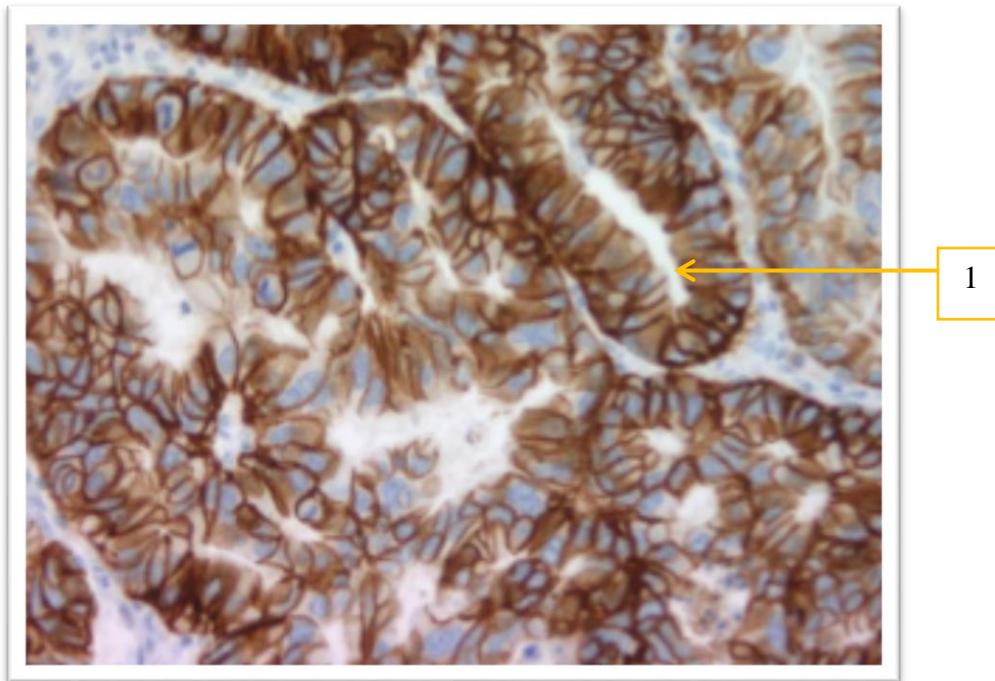


Figure 42 : Marquage de HER2 d'adénocarcinome gastrique avec un score 3+ a G : 10x

(Grillo *et al.*, 2013).

1- Marquage basolatérale intense du récepteur HER2.

L'étude immunohistochimique pour la recherche de l'expression du récepteur **HER2** a été réalisée sur **6 cas** des **20** patients étudiés. En effet, nous avons identifiée selon la (**Figure 38**), **3 cas** sur **6** score **0+**, représenté par la (**Figure 39**). Cette dernière montre une absence de marquage. Ce qui prouve l'absence d'expression du récepteur **HER2**, ce résultat va pas dans le même sens que celui de **Motoshima et al.,(2018)** qui n'ont identifié aucun cas, score **0+** chez **212** patients . Nos résultats se rapprochent du résultats de **Kim et al.,(2007)** ou sur une population de **248** ils ont trouvé **91** cas avec un score **0+**.

D'autres part, nous avons trouvé **2 cas** score **1+** sur **6** patients (**Figure 38**). La photomicrographie (**Figure40**) correspond à ce score qui révèle un marquage membranaire incomplet et une intensité faible <10% des cellules.

Ces observations sont similaires à ceux de **Kim et al.,(2007)** qui parmi **248** patients, ont trouvés **101** cas score **+1**. Contrairement à nos résultats, **Motoshima et al.,(2018)** n'ont identifié aucun cas score **1+**.

Par ailleurs, un seul cas ambigu score **2+** a été identifié sur **6** malades (**Figure 38**). La représentation photomicrographique de ce score est illustrée dans la (**Figure 41**) où nous remarquons des cellules avec un marquage membranaire totale, d'intensité modérée **>10 %**.

Ce résultat se rapproche de celui de **Kim et al.,(2007)** qui ont dénombré **46** cas de score **2+** chez **248** patients. Toutefois, **Motoshima et al.,(2018)** ont rapporté un nombre plus important des scores **2+**.

En revanche, aucun cas positif **HER2** de score **3+** caractérisé par un marquage complet cytoplasmique et membranaire basolatérale à intensité forte et nette n'a été détecté (**Figure 42**), ce qui corrobore avec l'étude de **Kim et al., (2007)** et de (**Motoshima et al.,2018**).

L'absence de compatibilité entre nos résultats et les résultats menés précédemment ne peut être expliquée que par le nombre minimal des échantillons étudiés par rapport aux autres travaux.

Ainsi, Le patient marqué score **2+** nécessite une confirmation du statut d'amplification de l'**HER2** par la technique d'hybridation in situ (**CISH**).

D'après la technique de confirmation **CISH**, qui consiste dans un premier lieu, à dénombrer le gène **HER2** dans les noyaux illustrés sous forme de spots verts (**Figure 43**) et dans un deuxième lieu énumérer le nombre des centromères du chromosome **17** sous forme de spots rouges (**Figure 43**).

La technique **CISH** appliquée pour notre patient a révélé les résultats suivants :

- Nombre de cellules analysées : **30**.
- Nombre de copies **HER2**: **75**.
- Moyenne de copie **HER2** (nombre de copies **HER2**/ nombre de cellules analysée) : **2.5**.
- Nombre de copies **CEP17**: **60**.
- Ratio (**HER2/CEP17**): **1.25**.

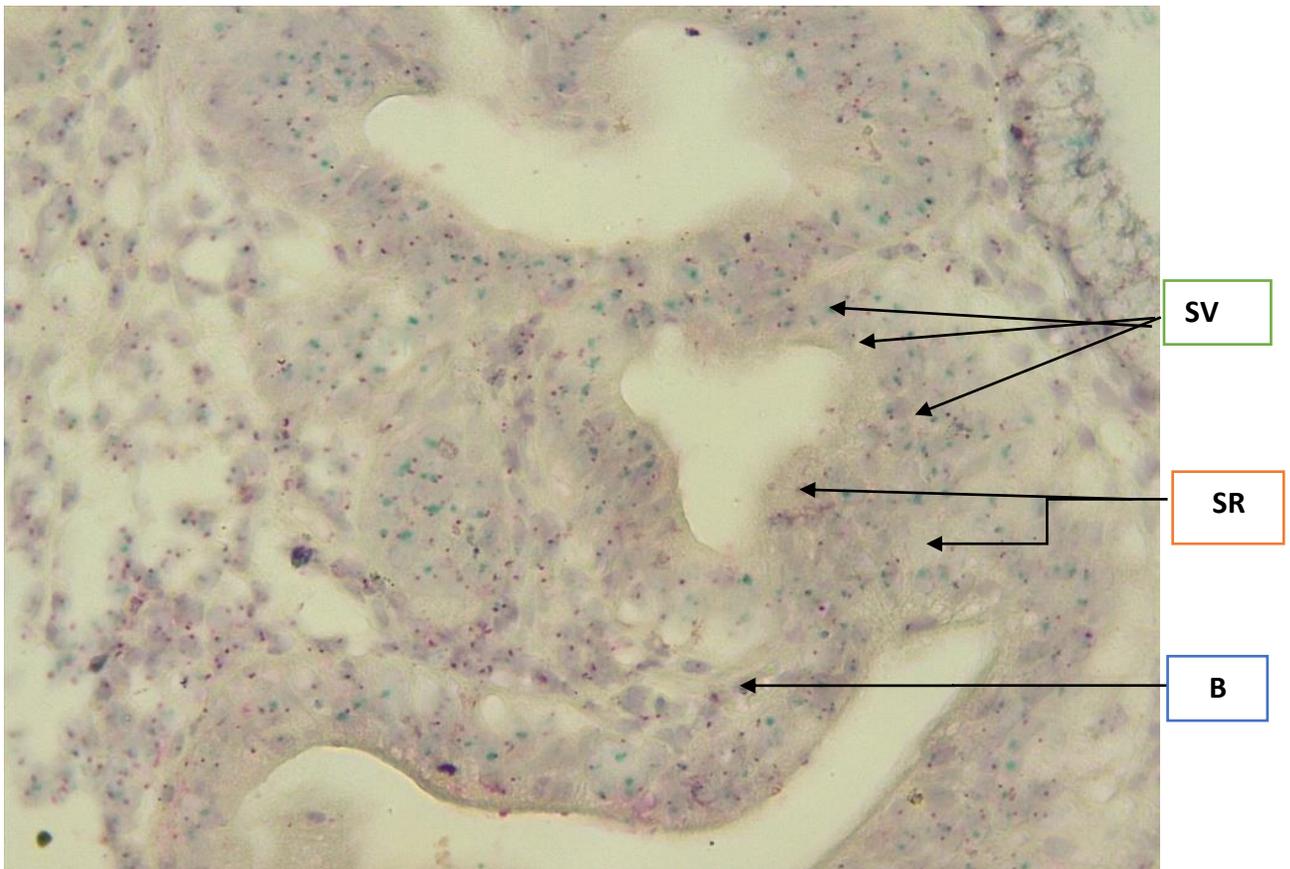


Figure 43: Photomicrographie de technique CISH d'un cas HER2 non amplifié.

SR: *Spots rouges centromeres chromosomes 17.*

SV: *Spots verts gene HER2.*

B: *Noyaux en bleu.*

D'après les recommandations d'**Asco/cap 2016**, qui stipule qu'un résultat est dit **HER2** positif (amplifié), lorsque le ratio d'amplification de **HER2** est >2 . Dans notre étude le seul cas score 2+ identifié est caractérisé par un Ratio de **1.25**, cette valeur reste inférieure aux recommandations d'**Asco/cap**. Ceci prouve que le statut de notre patient est **HER2** score 2+ non amplifié.

Nos résultats sont contradictoires avec plusieurs études qui ont rapportés des valeurs supérieures aux miennes, telle que l'étude de **Kiyose et al.,(2012)**, qui ont obtenue sur **13** patients analysés par **CISH**, **12**

cas amplifiés et d'autres résultats hautement supérieurs ont été aussi révélés par **Fanceschini et al.,(2020)** qui ont dénombrés **10 cas** amplifiés sur **37** patients. De même pour les résultats des travaux de **Di Pinto et al.,(2020)** qui ont dénombrés **43 cas** sur **70** patients , cette contradiction est due à la variation de la taille d'échantillonnage .

L'absence de compatibilité entre nos résultats et les résultats mène précédemment ne peut être expliquée que par le nombre minimal des échantillons étudié par rapport aux autre travaux.

Conclusion

Et

Perspectives

Conclusion et perspectives

Le cancer gastrique est le quatrième cancer le plus fréquent et la deuxième cause de décès par cancer dans le monde. Les facteurs de risque de la maladie comprennent l'infection à ***Helicobacter pylori***, facteurs génétique, l'âge, ou une consommation élevée de sel et une alimentation pauvre en fruits et légumes.

Cette étude consiste à étudier la relation entre les caractéristiques clinico-pathologiques du cancer gastrique et l'expression de **HER2** ainsi que la détermination du statut d'amplification de **HER2** par la technique **CISH**.

A l'instar des résultats obtenus nous déduisons que :

- Le cancer gastrique touche la catégorie d'âge entre **[40 à 49]** ans et **[70 à 79]** ans, avec une prédominance masculine et un sexe ratio de **2.33** M/F.
- Le type histologique **OMS** le plus fréquent est l'adénocarcinome à cellules indépendantes avec un taux de **45% (9 cas)** suivi du type tubuleux **15% (3cas)**, type mixte et mucineux (**5%**) avec (**1cas**) pour chacun et **0%** le type papillaire. La localisation antrale est majoritaire avec un taux de **20%**. Suivi par le siège fundique avec un pourcentage de **15 % (3 cas)** en égalité avec la localisation antro-pylorique, puis la région cardiale avec **10% (2 cas)** et enfin un taux de **5% (1 cas)** est de siège pylorique.
- Le grade peu différencié avec une valeur de **50 % (10 cas)**, suivie par le moyennement différenciée **30% (6 cas)** et le grade bien différenciée **20% (4 cas)**.
- L'infiltration du filet nerveux est importante avec un taux de **45% (9 cas)** et **20%** ne présentent aucune infiltration.
- Les résultats de répartition **TNM** ont montré que le taux des tumeurs primitifs **T1** et **T2** est de **10%**, suivi de **T3** à **25%** et **T4** à un pourcentage de **15 %**.
- Les nombres des ganglions **N0, N1, N2** et **N3** sont représentés par les pourcentages suivants **5%, 10%, 15%** et **20%** respectivement.
- Le taux des patients qui ont atteint le stade métastatique **M1** est de **20 %**, alors que **25 %** des cas sont au stade non métastatique **M0**.

- La protéine **HER2** non surexprimée avec un score **0+** est constaté chez **50%** des cas, à raison de **3** patients sur **6**. Pour le score **1+** le taux est de **33%**, alors que **17%** des cas, ont un statut **HER2** score **2+** représenté par un seul cas qui est vérifié dans un second temps par la technique d'hybridation in situ (**CISH**) et enfin **0%** est noté pour le score **3+**.
- D'après l'examen **CISH**, nos résultats ont révélé un ratio de (**HER2/CEP17**) de **1.25**, ce qui signifie selon la recommandation d'**Asco/cap** un ratio < 2 et donc une absence totale de l'amplification des gènes **HER2**.

Malgré son rôle pronostique controversé, **HER2** est émergé comme une nouvelle cible thérapeutique clé dans le cancer gastrique. Cette étude reste limitée suite à un échantillonnage étriqué, vu la non disponibilité du réactif **HER2**, en plus des conditions sanitaires difficiles à cause de la pandémie au **Covid 19**. Néanmoins, ce travail peut constituer une base pour développer d'autres études plus approfondies.

A l'issue de cette étude, plusieurs orientations peuvent être envisagées et pourront faire l'objet de travaux futurs:

- Elargir le nombre d'échantillonnage,
- Rechercher les cas **HER2** positifs et les comparer au stade précoce.
- Etudier la corrélation entre le stress oxydatif et l'expression de **HER2**.
- Mettre en évidence l'intérêt du test sanguin **HER2** afin de l'inclure dans le bilan de routine de diagnostic des patients atteints de cette maladie.

Références bibliographiques

1. **Aarnio, M., Salovaara, R., Aaltonen, L.A., Mecklin, J.P., Järvinen, H.J., (1997).** Features of gastric cancer in hereditary non-polyposis colorectal cancer syndrome.

Int. J. Cancer 74, p551–555.

2. **Abid,L.,(2016)** . Épidémiologie des cancers digestifs en Algérie : leçons à tirer en vue des priorités de santé publique
https://www.sahgeed.com/upload/files/1stAIBDD2016/Epidemiologie_des_cancers_digetifs_en%20Algerie.pdf

3. **Abnet, C.C., (2021).** Asian gastric cardia adenocarcinoma: A distinct and understudied cancer with etiologic similarities to both esophageal squamous cell carcinoma and noncardia gastric adenocarcinoma.

J. Natl. Cancer Cent. S2667005421000089.

4. **Abrahamo-Machado, L.F., Scapulatempo-Neto, C., (2016.)** HER2 testing in gastric cancer: An update.
World J. Gastroenterol. 22, 4619.

5. **Adam, C., PETIT, T (2016).** *Memento de pathologie*
4eme édition : Vernazobres-Grego, 574p.

6. **Agnes A, Estrella JS, Badgwell B.** The significance of a nineteenth century definition in the era of genomics: linitis plastica.

World J Surg Oncol 2017;15:p 123

7. **Al-Batran, S.-E., Homann, N., Pauligk, C., Goetze, T.O., Meiler, J., Kasper, S., Kopp, H.-G., Mayer, F., Haag, G.M., Luley, K., Lindig, U., Schmiegel, W., Pohl, M., Stoehlmacher, J., Folprecht, G., Probst, S., Prasnika, N., Fischbach, W., Mahlberg, R., Trojan, J., Koenigsmann, M., Martens, U.M., Thuss-Patience, P., Egger, M., Block, A., Heinemann, V., Illerhaus, G., Moehler, M., Schenk, M., Kullmann, F., Behringer, D.M., Heike, M., Pink, D., Teschendorf, C., Löhr, C., Bernhard, H., Schuch, G., Rethwisch, V., von Weikersthal, L.F., Hartmann, J.T., Kneba, M., Daum, S., Schulmann, K., Weniger, J., Belle, S., Gaiser, T., Oduncu, F.S., Güntner, M., Hozaeel, W., Reichart, A., Jäger, E., Kraus, T., Mönig, S., Bechstein, W.O., Schuler, M.,**

Schmalenberg, H., Hofheinz, R.D., (2019). Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a randomised, phase 2/3 trial.

The Lancet 393, p1948–1957.

8. American Cancer Society (2016). What is stomach cancer? Available at:

[https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/what-is-stomach-cancer.](https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/what-is-stomach-cancer.html)

html. Accessed 21 July 2021

9. Amrani Hassani Joutei, H., Mahfoud, W., Sadaoui, I., Fechtali, Tet Benomar, H. (2020). Étude des caractéristiques épidémiologiques cliniques et anatomopathologiques de l'adénocarcinome gastrique chez une population Marocaine.

Ann. Pathol. 40, p442–446.

10. Aparicio, T., Yacoub, M., Karila-Cohen, P., René, E., (2004). Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement.

EMC - Chir. 1, 47–66.

11. Araki, K., Miyoshi, Y. (2017). Ribociclib for HR-Positive, Advanced Breast Cancer.

N. Engl. J. Med. 376, 288–288.

12. Arienti, C., Pignatta, S., Tesei, A.(2019). Epidermal Growth Factor Receptor Family and its Role in Gastric Cancer

Front. Oncol.9:1308.

13. Badary, D.M., Abdel-Wanis, M.E., Hafez, M.Z., Aboulhagag, N.A., (2017). Immunohistochemical analysis of PTEN, HER2/neu, and ki67 expression in patients with gastric cancer and their association with survival.

Pathophysiology 24, 99–106.

- 14. Bagny, A., Bouglouga, O., Darre, T., Lawson-Ananissoh, L.M., Kaaga, Y.L., Sonhayé, L., Amegbor, K., Napo-Koura, G., Dosseh, E.D., Adjenou, K.E., Redah, D., (2015).** Profil épidémiologique et diagnostique des cancers digestifs au CHU Campus de Lomé : à propos de 250 cas.
J. Afr. Hépatogastroentérologie 9, p80–84.
- 15. Bang, Y.-J., Van Cutsem, E., Feyereislova, A., Chung, H.C., Shen, L., Sawaki, A., Lordick, F., Ohtsu, A., Omuro, Y., Satoh, T., Aprile, G., Kulikov, E., Hill, J., Lehle, M., Rüschoff, J., Kang, Y.-K., (2010).** Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomized controlled trial.
The Lancet 376, p687–697.
- 16. Barok, M., Isola, J., Pályi-Krekk, Z., Nagy, P., Juhász, I., Vereb, G., Kauraniemi, P., Kapanen, A., Tanner, M., Vereb, G., Szöllösi, J., (2007).** Trastuzumab causes antibody-dependent cellular cytotoxicity-mediated growth inhibition of submacroscopic JIMT-1 breast cancer xenografts despite intrinsic drug resistance.
Mol. Cancer Ther. 6, 2065–2072.
- 17. Barrios, C.H., Sampaio, C., Vinholes, J., Caponero, R. (2009).** What is the role of chemotherapy in estrogen receptor-positive, advanced breast cancer?
Ann. Oncol. 20, 1157–1162.
- 18. Brotelle, T., Bay, J.-O., (2016).** La voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR : description, développement thérapeutique, résistances, marqueurs prédictifs/pronostiques et applications thérapeutiques en cancérologie.
Bull. Cancer (Paris) 103, 18–29.
- 19. Chaabane, A., M'Sakni, I., Bougrine, F., Laabidi, B., Bouziani, A., (2012).** L'évaluation de Her-2/neu dans le cancer gastrique : à propos de 30 cas.

Ann. Pathol. 32, S177.

20. Canseco-Ávila, L.M., Zamudio-Castellanos, F.Y., Sánchez-González, R.A., Trujillo-Vizuet, M.G., Domínguez-Arrebillaga, S., López-López, C.A., (2019). Gastric cancer epidemiology in tertiary healthcare in Chiapas. *Rev. Gastroenterol.*

México Engl. Ed. 84, p–316.

21. Capelle, L.G., Van Grieken, N.C.T., Lingsma, H.F., Steyerberg, E.W., Klokman, W.J., Bruno, M.J., Vasen, H.F.A., Kuipers, E.J., (2010). Risk and Epidemiological Time Trends of Gastric Cancer in Lynch Syndrome Carriers in The Netherlands.

Gastroenterology 138, p487–492.

22. Chaudhry, S.R., Liman, M.N.P., Peterson, D.C., (2021). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Stomach,

In: Stat Pearls. Consultée le 24 mai. Stat Pearls Publishing, Treasure Island (FL):

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482334/>

23. Cho, H.-S., Mason, K., Ramyar, K.X., Stanley, A.M., Gabelli, S.B., Denney, D.W., Leahy, D.J., (2003). Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Fab.

Nature 421, P756–760.

24. Commissions prévention des cancers digestifs de la SFED et du CREGG, Chollet, R., Létard, J.-C., Vaillant, E., Delchier, J.-C., Canard, J.-M., Lapuelle, J., Palazzo, L., Chaussade, S., Sautereau, D., Pienkowski, P., Costil, V., Dalbiès, P., Cellier, C., Lecomte, T., Robaszkiewicz, M., Richard-Molard, B., (2014). Prévention du cancer de l'estomac.

Acta Endosc. 44, P219–222.

25. Cserni G, Chmielik E, Cserni B, Tot T. (2018). The new staging of breast cancer based on TNM.

Arch of Virchows. May 472 (5): 697-703.

26. Curtis, N.J., Noble, F., Bailey, I.S., Kelly, J.J., Byrne, J.P. (2014); Underwood., The relevance of the Siewert classification in the era of multimodal therapy for adenocarcinoma of the gastro-esophageal junction.
J.Surg.Oncol. 109(3):202–7.
27. De, P., Hasmann, M., Leyland-Jones, B., (2013). Molecular determinants of trastuzumab efficacy: What is their clinical relevance?
Cancer Treat. Rev. 39, P925–934.
28. Delahaye, F., (2012). Devons-nous consommer moins de sel ?
Médicale 41, P644–649.
29. Delagez, F. (2019) ``Immunohistochemistry ''e-agrocampus [WWW Document],
URL<https://tice.agrocampus-ouest.fr/mod/glossary/showentry.php?eid=507#> (accessed 7.30.21).
30. Di Pinto, F., Armentano, R., Arborea, G., Schena, N., Donghia, R., Valentini, A.M., (2020). Are Immunohistochemical Markers Useful in Phenotypic Gastric Cancer Classification?
Oncology 98, 566–574.
31. Didier, M., (2017). Ulcère gastro-duodenal: **Anatomie de l'estomac.**
URLhttp://hepatoweb.com/Estomac_anatomie.php?fbclid=IwAR0MnMZEqhVaofqd4SRBUydCjNZNi_e_mP_IKP6iUp3u2AzUw4gg7ufl6gdM (accessed 7.23.21).
32. Duell EJ, Travier N, Lujan-Barroso L, et al. (2011) Alcohol consumption and gastric cancer risk in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) cohort.
Am J Clint; 94:1266–1275.

- 33. Epplein, M., Shu, X.-O., Xiang, Y.-B., Chow, W.-H., Yang, G., Li, H.-L., Ji, B.-T., Cai, H., Gao, Y.-T., Zheng, W., (2010).** Fruit and Vegetable Consumption and Risk of Distal Gastric Cancer in the Shanghai Women's and Men's Health Studies.
Am. J. Epidemiol. 172, P397–406.
- 34. Fadlouallah, M., Krami, H., Errabih, I., Benzzoubeir, N., Ouazzani, L., Ouazzani, H., (2015).** Le cancer gastrique : aspects épidémiologiques au Maroc.
J. Afr. Cancer Afr. J. Cancer 7, P8–15.
- 35. Farouk, A., (2010).** La prise en charge du cancer de l'estomac au CHU , MED VI
[Thèse de doctorat au CHU Mohammed VI]. These89-10_4. Cancer gastrique au CHU Gabriel-Touré : aspects épidémiologique et diagnostique
- 36. Fehim, S., Bouhaous, R., Diaf, M., Drici, A.M., Khaled, M.B., (2017).** Epidemiological profile of gastric cancer in the northwestern region of Algeria: about 116 cases.
J. Gastrointest. Oncol. 8, P659–664.
- 37. Feng, F., Liu, J., Wang, F., Zheng, G., Wang, Q., Liu, S., Xu, G., Guo, M., Lian, X., Zhang, H., (2018).** Prognostic value of differentiation status in gastric cancer. **BMC Cancer 18, 865.**
- 38. Fitzgerald, R.C., Hardwick, R., Huntsman, D., Carneiro, F., Guilford, P., Blair, V., Chung, D.C., Norton, J., Ragnath, K., Van Krieken, J.H., Dwerryhouse, S., Caldas, C., (2010).** on behalf of the International Gastric Cancer Linkage Consortium, Hereditary diffuse gastric cancer: updated consensus guidelines for clinical management and directions for future research.
J. Med. Genet. 47, P436–444.

- 39. Franceschini, T., Capizzi, E., Massari, F., Schiavina, R., Fiorentino, M., Giunchi, F., (2020).** Immunohistochemical over-expression of HER2 does not always match with gene amplification in invasive bladder cancer.
Pathol. - Res. Pract. 216, P153 012.
- 40. Gallagher, M.C., Phillips, R.K.S., Bulow, S., (2006).** Surveillance and management of upper gastrointestinal disease in Familial Adenomatous Polyposis.
Fam. Cancer 5, 263–273.
- 41. Gerson, J.N., Skariah, S., Denlinger, C.S., Astsaturon, I., (2017).** Perspectives of HER2-targeting in gastric and esophageal cancer.
Expert Opin. Investig. Drugs 26, P531–540.
- 42. Goncalves, A., Isambert, N., Campone, M., Dieras, V., Boher, J.M., Boyer-Chamard, A., Esterni, B., Provansal, M., Extra, J.-M., Viens, P. (2013).** PIKHER2: A phase Ib/II study evaluating safety and efficacy of oral BKM120 in combination with lapatinib in HER2-positive, PI3K-activated, trastuzumab-resistant advanced breast cancer.
J. Clin. Oncol. 31(15), 7500-7504.
- 43. Grillo, F., Fassan, M., Ceccaroli, C., Giacometti, C., Curto, M., Zagonel, V., Ceppa, P., Nitti, D., Castoro, C., Fiocca, R., Ruge, M., Mastracci, L., (2013).** The Reliability of Endoscopic Biopsies in Assessing HER2 Status in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: A Study Comparing Biopsies with Surgical Samples.
Transl. Oncol. 6, 10–16.
- 44. Guggenheim, D.E., Shah, M.A., (2013).** Gastric cancer epidemiology and risk factors: Gastric Cancer, Epidemiology
J. Surg. Oncol. 107, 230–236.

- 45. Guleken, Z., Bulut, H., Gültekin, G.İ., Arıkan, S., Yaylım, İ., Hakan, M.T., Sönmez, D., Tarhan, N., Depciuch, J., (2021).** Assessment of structural protein expression by FTIR and biochemical assays as biomarkers of metabolites response in gastric and colon cancer.
Talanta 231, P1223 53
- 46. Halling, K.C., Wendel, A.J., (2008).** In Situ Hybridization: Principles and Applications for Pulmonary Medicine, in: Zander, D.S., Popper, H.H., Jagirdar, J., Haque, A.K., Cagle, P.T., Barrios, R. (Eds.), Molecular Pathology of Lung Diseases, Molecular Pathology Library.
New York, New York, NY, p. 117–129.
- 47. Hofmann, M., Stoss, O., Shi, D., Büttner, R., van de Vijver, M., Kim, W., Ochiai, A., Rüschoff, J., Henkel, T., (2008).** Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study.
Histopathology 52, P797–805.
- 48. Houlot R. (1984).** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie.
Ed. Maloine. P 225-227.
- 49. Hudis, C.A. (2007).** Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice.
N. Engl. J. Med. 357, 39–51.
- 50. Huguet, F., Rivin Del Campo, E., Labidi, M., Ménard, J., Sergent, G., Durand, B., Quéro, L., (2020).** Cancers gastriques et pancréatiques : la (chimio) radiothérapie néoadjuvante remplacera-t-elle la chimioradiothérapie adjuvante ?
Cancer/Radiothérapie 24, P493–500.
- 51. Hussein, W.M., Anwar, W.A., Attaleb, M., Mazini, L., Försti, A., Trimbitas, R.-D., Khyatti, M., (2016).** A review of the infection-associated cancers in North African countries. Infect.
Agent. Cancer 11, P35.

- 52. IARC.** Tobacco Smoking and Tobacco Smoke. IARC Monographs [Website] [cited (2016) 01–11]; Available from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol83/>.
- 53. Im, W.J., Kim, M.G., Ha, T.K., Kwon, S.J., (2012).** Tumor Size as a Prognostic Factor in Gastric Cancer Patient.
J. Gastric Cancer 12, p164.
- 54. Johnston, F.M., Beckman, M., (2019).** Updates on Management of Gastric Cancer.
Oncol. Rep. 21, P67.
- 55. Karimi, P., Islami, F., Anandasabapathy, S., Freedman, N.D., Kamangar, F., (2014).** Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* **23, P700–713.**
- 56. Kim, M.A., Jung, E.J., Lee, H.S., Lee, H.E., Jeon, Y.K., Yang, H.-K., Kim, W.H., (2007).** Evaluation of HER-2 gene status in gastric carcinoma using immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization, and real-time quantitative polymerase chain reaction.
Hum. Pathol.38, P1386–1393.
- 57. Kim HH, Han SU, Kim MC, Kim W, Lee HJ, Ryu SW, Cho GS , Kim CY, Yang HK , Park DJ , Song KY, Lee S, Ryu SY, Lee JH, Hyung WJ., (2019)** Effect of Laparoscopic Distal Gastrectomy vs Open Distal Gastrectomy on Long-term Survival Among Patients with Stage I Gastric Cancer: The KLASS-01 Randomized Clinical Trial.
JAMA Oncol Feb 7.6,120-725.
- 58. Kiyose, S., H. Igarashi, K. Nagura, T. Kamo, K. Kawane, H. Mori, T. Ozawa, M. Maeda, K. Konno, H. Hoshino, et al. (2012).** Chromogenic in situ hybridization (CISH) to detect HER2 gene amplification in breast and gastric cancer: Comparison with immunohistochemistry (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH).
Pathology International 62(11):728–734.

- 59. Koseki, Y., Hikage, M., Fujiya, K., Kamiya, S., Tanizawa, Y., Bando, E., Terashima, M. (2021).** Utility of a modified age-adjusted Charlson Comorbidity Index in predicting cause-specific survival among patients with gastric cancer. *Eur. J. Surg. Oncol.* **47**, 2010–2015.
- 60. Kunte S, Abraham J, Montero AJ.,(2020).** Novel HER2-targeted therapies for HER2-positive metastatic breast cancer. *Cancer.* **Oct 1;126(19):4278-4288.. Epub .**
- 61. Lahzaoui ,T., (2013).** L'expression du récepteur HER2 dans le cancer gastrique ou de jonction oeso-gastrique métastatique étude prospective à propos de 30 cas - PDF Téléchargement Gratuit [WWW Document],. URL <https://docplayer.fr/7056853- html> (accessed 22.07.21).
- 62. Lauren, P., (1965).** The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* **64:p31–49.**
- 63. Leahy, D.J., (2004).** Structure and Function of the Epidermal Growth Factor (EGF / ErbB) Family of Receptors, in: *Advances in Protein Chemistry.* Elsevier, pp. 1–27.
- 64. Li, F., Meng, G., Tan, B., Chen, Z., Ji, Q., Wang, X., Liu, C., Niu, S., Li, Y., Liu, Y., (2021).** Relationship between HER2 expression and tumor interstitial angiogenesis in primary gastric cancer and its effect on prognosis. *Pathol. - Res. Pract.* **217**, 153280.
- 65. Lièvre, A., Laurent-Puig, P., (2010).** La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancéro Dig. II.* <https://doi.org/10.4267/2042/30747>

66. Liu, Y., Xie, S., Zhu, K., Guan, X., Guo, L., Lu, R., (2021). CALD1 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancers.
Heliyon 7, e07257.
67. Lynch, H.T., Grady, W., Suriano, G., Huntsman, D.,(2005). Gastric cancer: new genetic developments.
Surg. Oncol. 90, p114–133; discussion 133.
68. Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R., Sitarz, R.,(2020). Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies.
Int. J. Mol. Sci. 21, P4012.
69. Mahadevan, V., (2017). Anatomy of the stomach.
Surg. Oxf. 35,p 608–611.
70. McQuilken, S.A., (2021). The mouth, stomach and intestines.
Anaesth.Intensive Care Med. 22 , 330-335.
71. Mellouki, I., laazar, N., Benyachou, B., Aqodad, N., Ibrahimi, A., (2014).Epidémiologie du cancer gastrique : expérience d'un centre hospitalier marocain.
Pan Afr. Med. J. 17. 2, 33- 42.
72. Metayer, R., (2016). Amplification de l'oncogène HER2 dans le cancer du sein chez la femme. Prise en charge thérapeutique par les inhibiteurs de tyrosine kinase et anticorps monoclonaux
dumas 01 p 238.
73. Motoshima, S., Yonemoto, K., Kamei, H., Morita, M., Yamaguchi, R., (2018). Prognostic implications of HER2 heterogeneity in gastric cancer.
Oncotarget 9, 9262–9272.

- 74. Murphy, G., Pfeiffer, R., Camargo, M.C., Rabkin, C.S., (2009).** Meta-analysis Shows That Prevalence of Epstein–Barr Virus-Positive Gastric Cancer Differs Based on Sex and Anatomic Location. **Gastroenterology 137, p824–833.**
- 75. Naim, A., Uri, N., (2010).** Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques des cancers gastriques : à propos de 144 cas du centre de radiothérapie et d'oncologie Ibn Rochd de Casablanca. **Cancer Radiother.**
CANCER RADIOTHER 14, p 654–654.
- 76. NHS, 2019.** Symptoms of stomach cancer .
URL <https://www.nhs.uk/conditions/stomach-cancer/> (accessed 7.14.21).
- 77. Nshizirungu J. (2015).** evaluation des deux gene: HER2 et KAS dans le cancer de l'estomac, Biotechnologie microbienne.
University sidi mohmed ben abdellah
- 78. Okines, A., Cunningham, D., Chau, I., (2011).** Targeting the human EGFR family in esophagogastric cancer.
Nat. Rev. Clin. Oncol. 8, P492–503.
- 79. Olivier, S., Mir, A.-M., Michalski, J.-C., Lefebvre, T. (2011).** Signalisation et prédispositions métaboliques liées au cancer colorectal.
Médecine/sciences 27, 514–520.
- 80. Ouldjoui, A. (2017).** Hybridation moléculaire
URL <https://slideplayer.fr/slide/14646069/> (accessed 5.9.21)
- 81. Pala, E.E., Bayol, U., Ozguzer, A., Akman, O., (2013).** HER2 status in gastric cancer: A comparison of two novel in situ hybridization methods (IQ FISH and dual color SISH) and two immunohistochemistry methods (A0485 and HercepTest™).
Res. Pract. 209, 548–P554..05.

- 82. Penault-Llorca, F., Chenard, M.-P., Bouché, O., Émile, J.-F., Bibeau, F., Metges, J.-P., André, T., Monges, G., (2011).** HER2 et cancer gastrique. Recommandations pour la pratique clinique en 2011. *Ann. Pathol.* **31**, P78–87.
- 83. Pogue-Geile, K.L., Kim, C., Jeong, J.-H., Tanaka, N., Bandos, H., Gavin, P.G., Fumagalli, D., Goldstein, L.C., Sneige, N., Burandt, E., Taniyama, Y., Bohn, O.L., Lee, A., Kim, S.-I., Reilly, M.L., Remillard, M.Y., Blackmon, N.L., Kim, S.-R., Horne, Z.D., Rastogi, P., Fehrenbacher, L., Romond, E.H., Swain, S.M., Mamounas, E.P., Wickerham, D.L., Geyer, C.E., Costantino, J.P., Wolmark, N., Paik, S., (2013).** Predicting Degree of Benefit From Adjuvant Trastuzumab in NSABP Trial B-31. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **105**, P1782–1788
- 84. Seisen, T., Cancel-Tassin, G., Colin, P., Cussenot, O., Rouprêt, M. (2014).** Voies de carcinogénèse et histoire naturelle des tumeurs de la voie excrétrice supérieure : état de l’art pour le rapport annuel de l’Association française d’urologie. *Prog. En Urol.* **24**, 943–953.
- 85. Sleator, R.D., Clifford, T., Hill, C., (2007).** Gut osmolarity: A key environmental cue initiating the gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection? *Med. Hypotheses* **69**, P–1092.
- 86. Sobhani, I., (2004).** *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Médecine/sciences* **20**, P431–436.
- 87. Spector, N.L., Blackwell, K.L., (2009).** Understanding the Mechanisms Behind Trastuzumab Therapy for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast *Cancer. J. Clin. Oncol.* **27**, P5838–5847.
- 88. Sun, J., Shen, D., Zheng, Y., Ren, H., Liu, H., Chen, X., Gao, Y., (2020).** USP8 Inhibitor Suppresses HER-2 Positive Gastric Cancer Cell Proliferation and Metastasis via the PI3K/AKT Signaling Pathway.

- 89. Taame,A.,(2008).**Adenocarcinome gastrique résultats du traitement chirurgicale et facteurs pronostiques (expérience de la Clinique chirurgicale A a propos de 254 cas).[These de doctorat a Rebat, Université Mohamed_sou; Faculté de médecine et de Pharmacie_Rebat].M070
- 90. Tebbutt, N., Pedersen, M.W., Johns, T.G., (2013).** Targeting the ERBB family in cancer: couples therapy.
Nat. Rev. Cancer 13, P663–673.
- 91. Tunaci, M., (2002).** Carcinoma of stomach and duodenum: radiologic diagnosis and staging.
Eur. J. Radiol. 42, P181–192
- 92. Togo, A., Diakité, I., Togo, B., Coulibaly, Y., Kanté, L., Dembélé, B.T., Traoré, A., Traoré, C., Kanouté, M., Diallo, G., (2011).** Cancer gastrique au CHU Gabriel-Touré : aspects épidémiologique et diagnostique
Afr. J. Cancer 3, P227–231.
- 93. Uemura, N., Mukai, T., Okamoto, S., Yamaguchi, S., Mashiba, H., Taniyama, K., Sasaki, N., Haruma, K., Sumii, K., Kajiyama, G., (1997).** Effect of Helicobacter pylori eradication on subsequent development of cancer after endoscopic resection of early gastric cancer. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored
Am. Soc. Prev. Oncol. 6, P639–642.
- 94. Uemura, N., Okamoto, S., Yamamoto, S., Matsumura, N., Yamaguchi, S., Yamakido, M., Taniyama, K., Sasaki, N., Schlemper, R.J., (2001).** Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer.
N. Engl. J. Med. 345, P784–789.

- 95. Valentini, V., Cellini, F., Minsky, B.D., Mattiucci, G.C., Balducci, M., D'Agostino, G., D'Angelo, E., Dinapoli, N., Nicolotti, N., Valentini, C., La Torre, G. (2009).** Survival after radiotherapy in gastric cancer: Systematic review and meta-analysis.
Radiother Oncol., Special Issue on Radiotherapy of Gastro-Intestinal Cancer 92, 176–183.
- 96. Van Cutsem, E., Sagaert, X., Topal, B., Haustermans, K., Prenen, H., (2016).** Gastric cancer.
The Lancet 388, P2654–2664.
- 97. Warsinggih, Syarifuddin, E., Marhamah, Lusikooy, R.E., Labeda, I., Sampetoding, S., Dani, M.I., Kusuma, M.I., Uwuratuw, J.A., Prihantono, Faruk, M., (2021).** Association of clinicopathological features and gastric cancer incidence in a single institution.
Asian J. Surg.4, 1015-9584
- 98. Watson, S., Validire, P., Cervera, P., Zorkani, N., Scriva, A., Lemay, F., Tournigand, C., Perniceni, T., Garcia, M.-L., Bennamoun, M., Paye, F., Louvet, C., (2013).** Combined HER2 analysis of biopsies and surgical specimens to optimize detection of trastuzumab-eligible patients in eso-gastric adenocarcinoma: a GERCOR study.
Ann. Oncol. 24, P3035–3039.
- 99. WHO – OMS. (2021). Classification of Tumors of the Digestive System.**
Fourth Edition Accessed July 27,
- 100. Wilson, R.L., Stevenson, C.E., (2019).** Anatomy and Physiology of the Stomach, in: Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract,
2 Volume Set. Elsevier, p 634–646.
- 101. Wittekind, C., (2015).** The development of the TNM classification of gastric cancer.
Pathol. Int. 65, 399–403.

- 102. Yamashita-Kashima, Y., Fujimoto-Ouchi, K., Yorozu, K., Kurasawa, M., Yanagisawa, M., Yasuno, H., Mori, K., (2012).** Biomarkers for antitumor activity of bevacizumab in gastric cancer models.
BMC Cancer 12, P37
- 103. Yan, Y., Lu, L., Liu, C., Li, W., Liu, T., Fu, W. (2015).**
HER2/neu over-expression predicts poor outcome in early gastric cancer without lymph node metastasis.
Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol. 39, 121–126.
- 104. Yusefi, A.R., BagheriLankarani, K., Bastani, P., Radinmanesh, M., Kavosi, Z., (2018).**
Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review.
Asian Pac. J. Cancer Prev. 19 (3), 591-603.
- 105. Zaanan, A., Bouché, O., Benhaim, L., Buecher, B., Chapelle, N., Dubreuil, O., Fares, N., Granger, V., Lefort, C., Gagniere, J., Meilleroux, J., Baumann, A.-S., Vendrely, V., Ducreux, M., Michel, P., (2018).** Gastric cancer: French intergroup clinical practice guidelines for diagnosis, treatments and follow-up (SNFGE, FFCD, GERCOR, UNICANCER, SFCD, SFED, SFRO
Dig. Liver Dis. 50, p768–779.
- 106. Zhao, D., Klempner, S.J., Chao, J., (2019).** Progress and challenges in HER2-positive gastro esophageal adenocarcinoma.
J. Hematol. Oncol. J Hematol Oncol 12, p 12.
- 107. Zhu, Y., Zhu, X., Wei, X., Tang, C., Zhang, W. (2021).**
HER2-targeted therapies in gastric cancer. *Biochim. Biophys. Acta BBA –*
Rev. Cancer 1876, 188549.

108. ZytoDot 2C - ZytoVision (2020) GmbH

[WWW Document],. URL <https://www.zytovision.com/products/zytodot2c> (accessed 7.30.21).

ANNEXE

ANNEXE I

Tableau I : Matériel et réactifs utilisés pour l'étude histologique

Appareillage	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">-Automate de circulation (Leica TP1020).-Appareil d'enrobage (Leica)-Microtome (LeicaRM2235).- Plaque chauffante-Bain marie.-Etuve (FN500)- Automate de coloration (Dako CoverStainer)	<ul style="list-style-type: none">-Formol (formaldéhyde à 10 %)-Solutions d'alcool (éthanol) à différentes concentration-Xylène (solvant organique)-Paraffine-Eau distillée-Hématoxyline-Eosine-Résine de montage (Eukit)-Lames-Lamelles

ANNEXE I

Tableau II: Matériel utilisé pour l'immunohistochimie

Matériels	Appareillage	Produits et Réactives
<ul style="list-style-type: none">- Lames silanisées- Chambre humide- Micropipettes- Lamelles- Dakopen- Bacs en verres	<ul style="list-style-type: none">- Microtome- Plaque chauffante- Bain marie	<ul style="list-style-type: none">- Xylène- Alcool- Eau oxygénée (H₂O₂)- Ac primaire- Ac secondaire- Wash Buffer (PBSPhosphate Buffered Saline)- Solution tampon de rinçage (TRS Target Retrieval Solution)- RévélateurDAB (3-3 Diamino Benzidine) +Chromogène.- Hématoxyline de MAYER- Microscope

ANNEXE I

Tableau III: Matériels utilisé pour l'hybridation in situ CISH

Matériels	Réactifs
- Lames silanisées	- Xylènes
- microtomes	- EDTA
- plaque chauffante	- Eau distillée
- bacs de Xylènes	- Enzyme pepsine
- bacs d'éthanol	- Anticorps primaire Antidig DRB
- Pen diamond	- Anticorps secondaire
- Chambre humide	- Nuclear blue solution
- Hybridizer	- TBS
- Centrifugeuse	- CS2
- Microscope optique	- Solution de rinçage
	- Révélateur de centromère AB-RED
	- Révélateur de gène HRP-GREEN

ANNEXE II

L'appareillage de l'étape histologique :



Figure 1 : L'automate (Leica)



Figure 2 : Appareil d'enrobage(Leica)



Figure 3: Microtome (Leica RM2235).



Figure 4 : Etuve (FN500).

ANNEXE II



Figure 5 : Bain marie



Figure 6: Microtome de coloration

Réactifs de l'étape histologique



Figure 7 : Formole

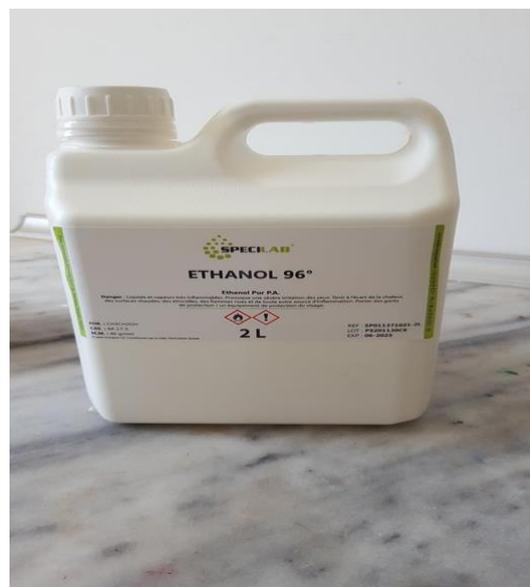


Figure 8 : Ethanol

ANNEXE II

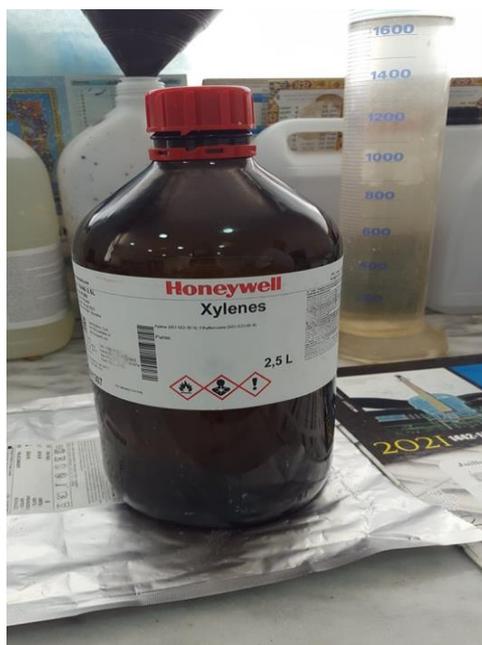


Figure 9 : Xylène



Figure 10 : Paraffine



Figure 11 : Hématoxyline de Meyer

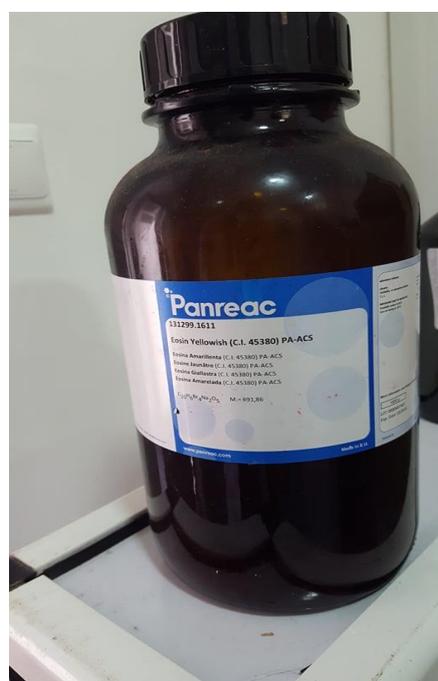


Figure 12 : Eosine

ANNEXE II



Figure 13 : Les lamelles



Figure 14 : Réception de la pièce gastrique

Les étapes histologiques :



Figure 15 : Mesure de la gastrectomie



Figure 16 : Localisation de la tumeur

ANNEXE II



Figure 17 : Mise des cassettes dans un automate a circulation



Figure 18 : Enrobage dans la paraffine



Figure 19 : Démoulage des cassettes

ANNEXE II



Figure 20 : Bloc d'un tissu gastrique susceptible de contenir ADK

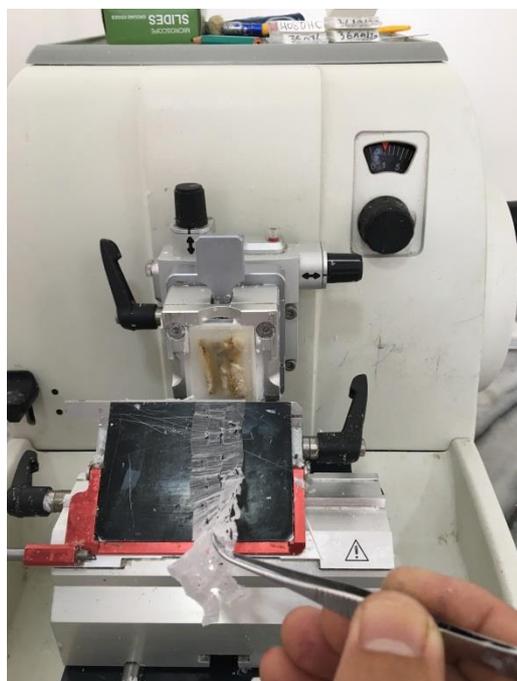


Figure 21 : Réalisation des coupes au microtome



Figure 22 : Lame sur une plaque chauffante

ANNEXE II



Figure 23 : Lames mise dans étuve



Figure 24 : Mise des lames dans bains de Xylène



Figure 25: Coloration des lames (manuelle)

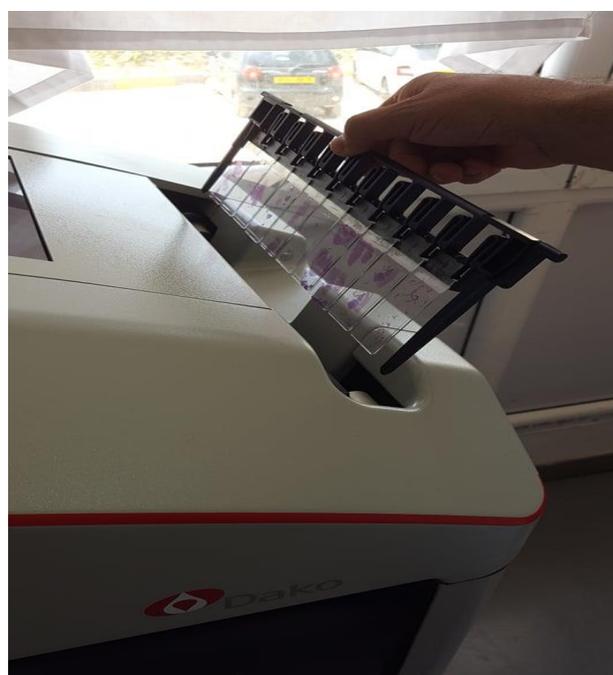


Figure 26: Coloration des lames dans l'automate

ANNEXE II

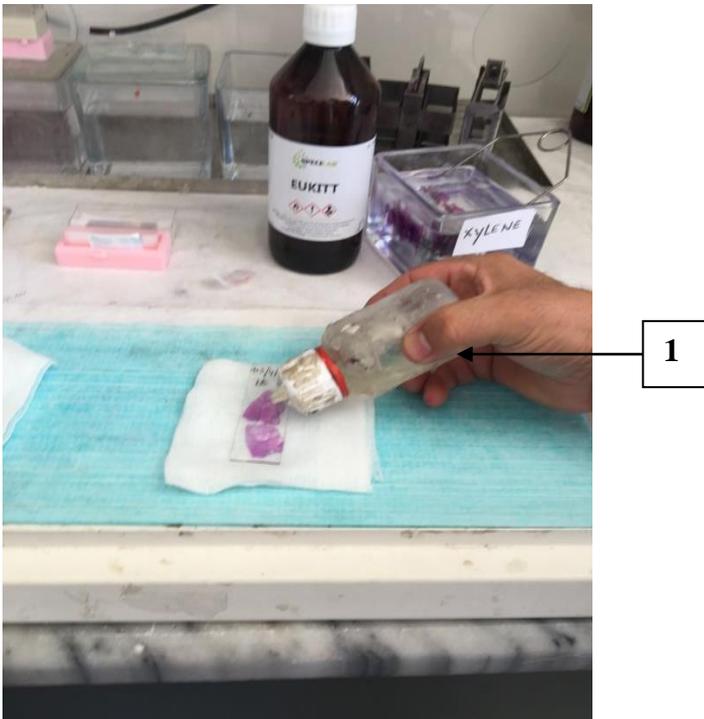


Figure 27 : Etape de montage lame et lamelle

1: *Résine de montage*

ANNEXE III

Réactifs et appareils de l'immunohistochimie



Figure 28: Bain marie



Figure 29: Hématoxyline de Meyer



Figure 30: Dakopen

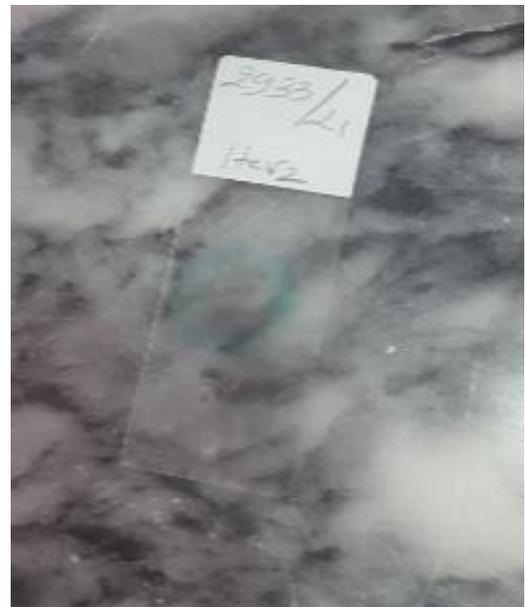


Figure 31 : Lame sianisée

ANNEXE III



Figure 32: Révélateur DAB + chromogène.



Figure 33: Anticorp primaire anti HER2 + diluant



Figure 34 : Préparation des coupes par microtome.

ANNEXE III



Figure 35 : Déparaffinage dans du xylène.



Figure 36 : Contournage de la zone d'échantillon.



Figure 37 : Application de l'anticorps secondaire dans la chambre humide.

ANNEXE III

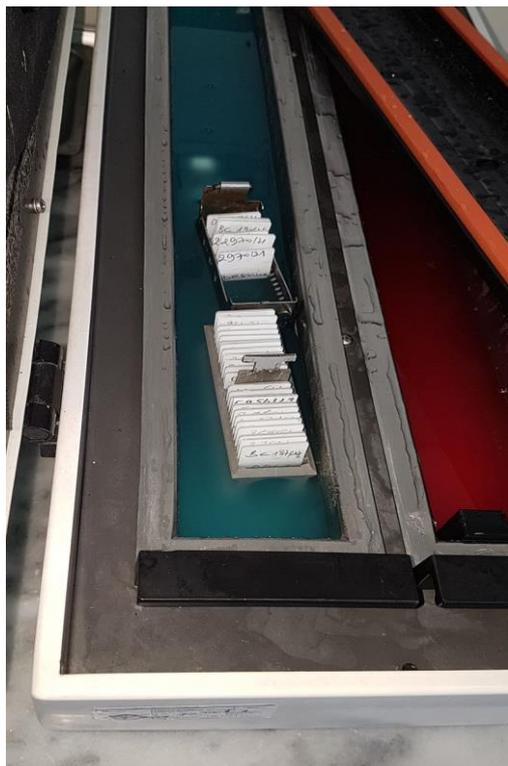


Figure 38: Coloration à hématoxyline de Meyer.



Figure 39: Rinçage à l'eau courante.

ANNEXE IV

Réactifs de la technique d'hybridation in situ CISH



Figure 40: Nuclear Blue solution



Figure 41: Colle Fixogum



Figure 42 : Enzyme pepsine



Figure 43: Sonde (HRP/AP-polymerase)

ANNEXE IV



Figure 44: Révélateur de gène (HRP-Green Solution)

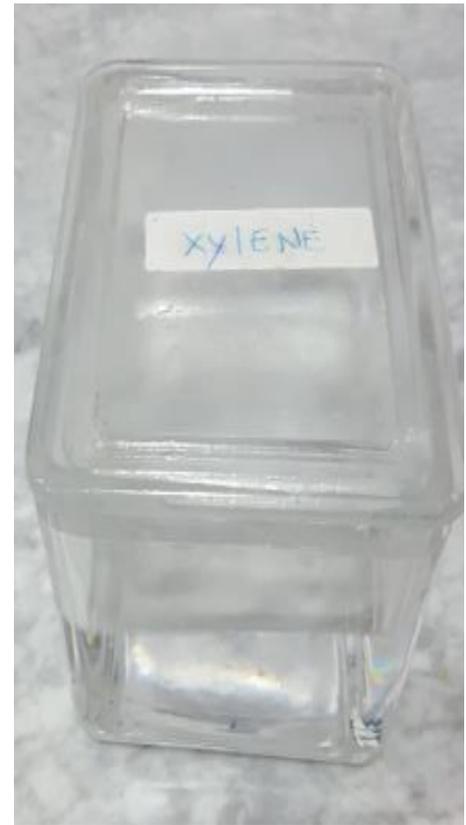


Figure 45: Xylène



Figure46 : Révélateur (AP RED Solution)



Figure 47 : Peroxydase d'hydrogène H2O2

ANNEXE IV



Figure 48 : Solution EDTA

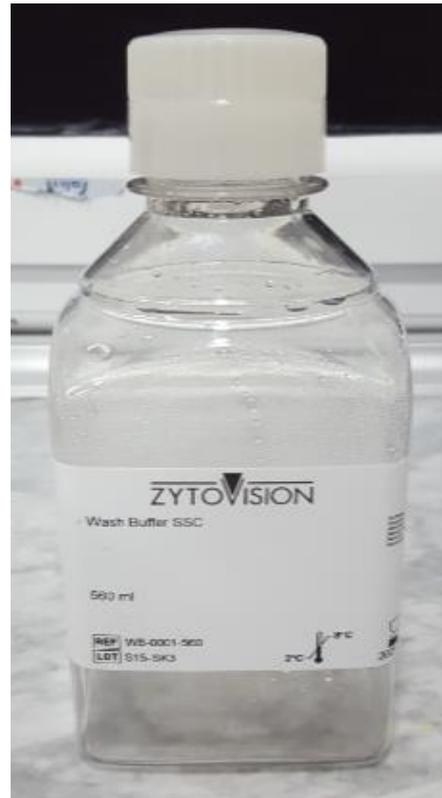


Figure 49: Solution de Rinçage (Wash buffer SSC)



Figure 50 : Appareil Hybridizer



Figure 51 : Diamond pen

ANNEXE IV



Figure 52 :Verre



Figure 53: Pince



Figure 54 : Porte lamelle

ANNEXE V

Tableau 1 : Répartitions selon le sexe

	Homme	Femme
Sexe	14	6

Tableau 2: Repartitions selon l'âge

Age	Effectif des patients
[30-39]	3
[40-49]	5
[50-59]	2
[60-69]	3
[70-79]	5
[80-89]	2

ANNEXE V

Tableau 3 : Répartitions selon le type de prélèvement

Nature du prélèvement	Nombre de cas
Biopsie	11
Gastrectomie	7
Bloc communiquée	2

Tableau 4 : Répartitions selon la taille de tumeurs

Taille des tumeurs	Nombre de cas
[0.2-3]cm	13
[3-5] cm	3
[5-9] cm	4

ANNEXE V

Tableau 5 : Répartitions selon le type de prélèvement

Grade histologique	Nombre de cas
bien différenciée	4
Moyennement différenciée	6
Peu différenciée	10

Tableau 6 : Répartitions selon le type histologique OMS

Type histologique	Nombre de cas
Cellules independante	9
Mucineux	1
Papillaire	0
Tubuleux	3

ANNEXE V

Mixte (composant)	1
non déterminée	6

Tableau 7 : Répartitions selon l'infiltration du filet nerveux

Infiltration	Nombre de cas
oui	9
non	4
non déterminée	7

Tableau 8 : Répartitions selon Le Paramètre T de la classification TNM

Classification selon paramètre T	NOMBRE DES CAS
T1	0

ANNEXE V

T2	1
T3	5
T4	4
Non déterminée	10

Tableau 9 : Répartitions selon Le Paramètre N de la classification TNM

Classification selon N	Nombres de cas
N0	1
N1	3
N2	2
N3	4
N4	0
Non déterminée	10

ANNEXE V

Tableau 10 : Répartitions selon Le Paramètre M de la classification TNM

classification selon M	Nombre de cas
M0	5
M1	5
non déterminée	10

Tableau 11 : Répartitions selon Le siège de la tumeur

Siege anatomique	Nombre de patients
Antrale	4
Fundique	3
Antro pylorique	3
Pylorique	1

ANNEXE V

Cardiale	2
Non déterminée	7

Tableau 11 : Répartitions selon Le siège de la tumeur

HER2	Nombre de cas
score 0+	3
score 1+	2
Score2+	1
score 3+	0

Tableau 1 : Répartitions selon le sexe

	Homme	Femme
Sexe	14	6

ANNEXE V

Tableau 2: Répartitions selon l'âge

Age	Effectif des patients
[30-39]	3
[40-49]	5
[50-59]	2
[60-69]	3
[70-79]	5
[80-89]	2

Tableau 3 : Répartitions selon le type de prélèvement

Nature du prélèvement	Nombre de cas
Biopsie	11
Gastrectomie	7
Bloc communiquée	2

Tableau 4 : Répartitions selon la taille de tumeurs

Taille des tumeurs	Nombre de cas
[0.2-3] cm	13
[3-5] cm	3
[5-9] cm	4

ANNEXE V

Tableau 5 : Répartitions selon le type de prélèvement

Grade histologique	Nombre de cas
bien différenciée	4
Moyennement différenciée	6
Peu différenciée	10

Tableau 6 : Répartitions selon le type histologique OMS

Type histologique	Nombre de cas
Cellules independante	9
Mucineux	1
Papillaire	0
Tubuleux	3
Mixte (composant)	1
non déterminée	6

Tableau 7 : Répartitions selon l'infiltration du filet nerveux

Infiltration	Nombre de cas
oui	9

ANNEXE V

non	4
non déterminée	7

Tableau 8 : Répartitions selon Le Paramètre T de la classification TNM

Classification selon paramètre T	NOMBRE DES CAS
T1	0
T2	1
T3	5
T4	4
Non déterminée	10

Tableau 9 : Répartitions selon Le Paramètre N de la classification TNM

Classification selon N	Nombres de cas
N0	1
N1	3
N2	2
N3	4
N4	0
Non déterminée	10

ANNEXE V

Tableau 10 : Répartitions selon Le Paramètre M de la classification TNM

classification selon M	Nombre de cas
M0	5
M1	5
non déterminée	10

Tableau 11 : Répartitions selon Le siège de la tumeur

Siege anatomique	Nombre de patients
Antrale	4
Fundique	3
Antropylorique	3
Pylorique	1
Cardiale	2
Non déterminée	7

ANNEXE V

Tableau 11 : Répartitions selon le siège de la tumeur

HER2	Nombre de cas
score 0+	3
score 1+	2
Score 2+	1
score 3+	0