

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques Sciences Biologiques Appliquées et Santé

Expression de biomarqueurs moléculaires dans les cancers gastriques

Réalisé par :

MOUHIB SALMA

Encadré par :

- Pr BENNIS Sanae (FMPF)
- Pr GUISSI Sanae (FSTF)

Soutenu le : 07/ 06/ 2018

Devant le jury composé de :

- Pr. EL FARICHA Omar(FSTF)
- Pr. GUISSI Sanae (FSTF)
- Pr. BENNIS Sanae (FMPF)

Année universitaire 2017-2018

Dédicaces

A mes chers parents Nul mot ne saurait exprimer à sa juste valeur le dévouement et le profond respect que je porte envers vous. Rien au monde ne pourra compenser tout ce que vous avez fait pour moi. Grâce à vos tendres encouragements et grands sacrifices, vous avez su créer le climat affectueux propice à la poursuite de mes études. Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et de mon grand amour.

A ma très chère mère Bouchra :
Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon cher papa Mohammed :
Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter.

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, qui étudie de l'esprit et te protège de tout mal.

A ma très chère sœur Kenza et mes très chers frères Ismail et Marouane :

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mes accompagnants dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Complicité fraternelle et amour inconditionnel nous réunissent.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes chers professeurs, pour leurs vaillants efforts qu'ils ont prodigués.

A mes chers collègues,
Mes vives amitiés à tous mes collègues et camarades d'études.

Pour votre présence à mes côtés, pour vos conseils, pour tous ces grands moments partagés, et pour votre amitié de longue date. Soyez assurés de mon amitié. Merci d'avoir supporté mes nombreux doutes et découragements et merci pour votre optimisme et votre motivation résistant à toutes épreuves.

A ma chère grand-mère maternelle Lalla Amina:
Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.
Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A La mémoire de mon grand père maternel
La mémoire de mon grand-père paternel
La mémoire de ma grand-mère paternelle

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon coeur, que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A ma très chère tante Ouafae MIKOU et sa famille :

Vous avez toujours été présente pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A ma très chère famille MASRAR et MOUHIB :

Je vous offre ce modeste travail, en témoignage de tous les sacrifices, le soutien, et les encouragements que vous m'avez accordé tout au long de mon chemin.

Remerciements

Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour concrétiser mes aspirations.

Au terme de mon projet de fin d'études, j'exprime ma profonde gratitude à Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et tout le cadre administratif et professoral pour leurs efforts considérables, Mes profonds remerciements s'adressent également à, **Pr. HALOTI SAID**, coordonnateur de la filière « *Sciences Biologiques Appliquées et Santé* » qui a consacré un peu de son temps précieux afin de mener à bien ce travail.

Je joins, ainsi, tous mes remerciements les plus chaleureux à toute l'équipe pédagogique de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès et tous les enseignants responsables de la formation de LST Sciences Biologiques Appliquées et Santé, pour avoir assuré le suivi de la formation.

Ma gratitude s'adresse également à Mme. **LE PROFESSEUR BENNIS SANAE**, je suis fière et heureuse d'avoir été l'une de ses étudiantes. Je la remercie d'avoir accepté d'encadrer ce projet et de me faire part de son expérience. Les résultats de ce travail doivent beaucoup aux exigences de sa rigueur scientifique, à ses orientations, et à son talent pédagogique. C'est pour moi, l'opportunité de lui exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements pour son esprit ouvert et ses conseils précieux. Je ne saurais exprimer ma reconnaissance, certes, car sa bonté est indescriptible.

J'adresse mes plus sincères remerciements à mon encadrante Mme. **LE PROFESSEUR GUISSI SANAE** pour son encadrement pédagogique très consistant ainsi que pour l'intérêt avec lequel elle a suivi la progression de mon travail et pour ses conseils efficaces, ses judicieuses directives pour la réussite de ce travail tout au long de ma période de projet. J'ai eu le privilège de bénéficier de son savoir et de sa grande expérience qui, alliés à ses qualités humaines resteront pour moi un modèle. J'adresse mes plus vifs remerciements à Mr. **LE PROFESSEUR EL FARICHA OMAR**. Que vous acceptiez de siéger parmi cet honorable jury est pour moi un grand honneur.

Un spécial remerciement à Mr. JEAN-PAUL NSHIZIRUNGU, Mme. SENHAJI NADIA, Mme. LOUATI SARA et Mme. SQUALLI HUSSAINI ASMAE pour le temps précieux qu'ils ont consacré pour m'aider. J'ai eu le plaisir de bénéficier de vos expériences et de vos explications. Je vous remercie de m'avoir encouragé et m'avoir accordé toute votre confiance, votre disponibilité, l'aide et les conseils concernant les missions évoquées lors des différents suivis tout au long de ces deux mois.

Ma reconnaissance, ma gratitude et mes remerciements s'expriment également envers mes ami(e)s et mes collègues qui grâce à leurs conseils, leurs critiques, leur orientation, leur disponibilité et leur support moral et intellectuel j'ai pu réussir et mettre au point ce travail. Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à ma famille et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tous ces intervenants, je dois ma reconnaissance, ma profonde reconnaissance et mon profond respect.

Table des matières

<u>Table des matières</u>	
<u>Liste des abréviations</u>	
<u>Liste des figures</u>	
<u>Liste des tableaux</u>	
<u>Lieu du stage</u>	
<u>Introduction</u>	1
<u>Etude bibliographique</u>	2
<u>I-Epidémiologie – Pathogénie du cancer gastrique</u>	3
<u>I.1 Définition</u>	3
<u>I.2 Données épidémiologiques</u>	3
<u>I.2-1. Distribution géographique</u>	3
<u>I.2-2. Sexe et âge</u>	4
<u>I.2-3. Facteurs de risque</u>	4
<u>II. Physiopathologie du cancer gastrique</u>	9
<u>II.1 Rappel anatomique et physiologique</u>	9
<u>II.1-1. Structure</u>	10
<u>II.1-2. Régions de l'estomac</u>	11
<u>II.1-3. Couches de la paroi de l'estomac</u>	12
<u>II.1-4. Fonction</u> :	13
<u>II.2 Les types de cancer de l'estomac</u> :	14
<u>II.2-1. Adénocarcinomes- localisation</u> :	15
<u>II.2-2. Classification histologique du cancer de l'estomac</u>	15
<u>III- Stadification</u>	19
<u>IV-Bases moléculaires /génétiques des adénocarcinomes</u>	20
<u>IV.1. Processus du développement tumoral</u>	20
<u>IV.2. Principales altérations génétiques impliquées dans le développement du cancer de l'estomac</u>	21

<u>Matériel et méthodes</u>	25
<u>I-Etude histologique</u>	26
<u>I.1. La fixation</u>	26
<u>I.2. L'inclusion</u>	27
<u>I.3. Microtomie ou réalisation des coupes</u>	29
<u>I.4. La coloration</u>	30
<u>I.5. Le montage</u>	31
<u>II-Immunohistochimie</u>	31
<u>II.1. Principe</u>	31
<u>II.2. Rôle</u>	32
<u>Résultats et discussions</u>	34
<u>I-Données épidémiologiques</u>	35
<u>I.1. Répartition du carcinome gastrique selon les tranches d'âge</u>	35
<u>I.2. Répartition du carcinome gastrique selon le sexe</u>	35
<u>I.3. Répartition du carcinome gastrique selon l'origine</u>	36
<u>I.4. Facteurs de risque</u>	36
<u>I.5. Symptômes cliniques</u>	37
<u>I.6. Répartition du carcinome gastrique selon la localisation de la tumeur</u> ...	37
<u>I.7. Répartition du carcinome gastrique selon l'étude histologique</u>	37
<u>II-Immunohistochimie</u>	38
<u>II.1. Résultats immunohistochimiques</u>	38
<u>III- Discussion</u>	40
<u>Conclusion</u>	42
<u>Annexe 1 : Protocole de la coloration HES</u>	
<u>Annexe 2 : Protocole expérimental de l'immunohistochimie manuelle</u>	
<u>Annexe 3 : Fiche d'exploitation</u>	

Références bibliographiques

Liste des abréviations

17p	bras court du chromosome 17
19q	bras long du chromosome 19
Ac	Anticorps
ADCC	Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps
ADK	Adénocarcinome
ADN	Acide Désoxyribonucléotide
Ag	Antigène
ARF	Alternative Reading Frame
ATCD	Antécédent
CD	Cluster of Differentiation
CDH1	Cadherin 1
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CG	Cancer Gastric
CpG	Cytosine-phosphate-Guanine
DAB	3-3' Diaminobenzididine
EBV	Virus d'Epstein-Barr
EGF/ EGFR	Epidermal Growth Factor/ Receptor
ERBB2	Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2
FISH	Hybridation Fluorescente In Situ
H2O2	Eau oxygénée

HES	Hématoxyline-Eosine-Safran
HER2	Human Epidermal Growth factor Receptor 2
Hp	Helicobacter pylori
IARC	International Agency for Research on Cancer
IHC	Immunohistochimie
IMC	Indice de Masse Corporelle
GIST	Tumeur Stromale Gastro-Intestinale
Ki67	Kiel 67
LOH	Loss of Heterozygosity
MDM2	Murine Double Minute 2
MSI	Microsatellite Instability
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
MSC	Cellules Souches Mésenchymateuses
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OG	Œsophage-Gastric
P53	Protéine 53
PBS	Phosphate Buffered Saline
PI3K	Phosphatidyl Inositol-3-Kinase
PTEN	Phosphatase And Tensin homolog
RAS	Rat sarcoma
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TP53	Tumor Protein 53
TNM	Tumor-Node-Metastase

Liste des figures

<i>Figure 1 : Schéma de l'initiation et du développement tumoral proposé par Jean-Marie Houghton</i>	5
<i>Figure 2 : Polypes gastriques [32]</i>	6
<i>Figure 3 : Carcinogénèse gastrique</i>	9
Figure 4 : Schéma générale du tube digestif	10
Figure 5 : Régions de l'estomac	11
Figure 6 : Couches de la paroi de l'estomac	12
Figure 7 : Schéma des couches de l'estomac.....	13
Figure 8 : Etude au microscope d'un adénocarcinome révélant des vacuoles contenant de la mucine.....	14
Figure 9 : Adénocarcinome bien différencié tubulopapillaire de type intestinal selon la classification de Lauren	15
Figure 10 : La cascade gastrique précancéreuse, P.Correa. Journal des maladies digestives 2012	16
Figure 11 : Adénocarcinome de type diffus selon la classification de Lauren : nombreuses cellules tumorales isolées en « bague à chaton », mêlées à des plasmocytes	17
Figure 12 : Les types histologiques de la classification de l'OMS	17
<i>Figure 13 : Cellules en bague à chaton [60]</i>	18
<i>Figure 14 : Aspect macroscopique d'une linite gastrique</i>	18
Figure 15 : Classification tumor-nodes-metastasis (TNM) des cancers de l'estomac (Union internationale contre le cancer) [62].....	19
Figure 16 : Représentation schématique des différentes étapes de la cancérogenèse	20
Figure 17 : Les caractéristiques des cellules cancéreuses [60].....	21

Figure 18 : Cause et pathogénèse du CG de type intestinal compris les facteurs de l'hôte, moléculaires et de l'environnement impliqués dans la genèse des ADK	22
Figure 19 : Fixation du tissu	26
Figure 20 : Aspect macroscopique d'une résection gastrique avec une tumeur stromale d'aspect blanchâtre développée dans la musculature (étoiles en bas) et soulève la muqueuse (flèches en haut) [79].....	27
Figure 21 : Histokinette.....	28
<i>Figure 22 : Inclusion dans la paraffine</i>	<i>29</i>
Figure 23 : Inclusion des fragments dans les cassettes	29
<i>Figure 24 : Microtome.....</i>	<i>29</i>
<i>Figure 25 : Etalement sur les coupes.....</i>	<i>29</i>
Figure 26 : Image après coloration HES de la muqueuse gastrique, grossissement x 100	30
Figure 27 : Méthode immuno-enzymatique indirecte	31
Figure 28 : Distribution des patients selon les tranches d'âge.....	35
Figure 29 : Distribution des patients selon le sexe	35
Figure 30 : Distribution des patients selon le milieu d'origine.....	36
Figure 31 : Facteurs de risque.....	36
Figure 32 : Répartition du carcinome gastrique selon la localisation de la tumeur. ...	37
Figure 33 : Marquage membranaire basolatéral du biomarqueur HER2 dans la muqueuse gastrique en fonction du score.....	39
Figure 34 : Marquage nucléaire du biomarqueur p53 dans la muqueuse gastrique...	39
Figure 35 : Marquage nucléaire du biomarqueur Ki67 dans la muqueuse gastrique..	39

Liste des tableaux

Tableau 1 : Rôle de chaque anticorps étudié	33
Tableau 2 : Anticorps primaires utilisés en IHC	33
Tableau 3 : Répartition du carcinome gastrique selon les symptômes cliniques	37
Tableau 4 : Résultats des anticorps primaires HER2, p53, Ki67	38

Lieu du stage

Mon stage de deux mois s'est déroulé au sein du laboratoire de recherche de biologie moléculaire situé à la faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès sous la direction de Mme. LE PROFESSEUR BENNIS SANAË.



Introduction

Le cancer gastrique représente un problème de santé publique majeur par sa fréquence et sa gravité. Bien que son incidence soit en diminution depuis deux décennies, le cancer gastrique occupe actuellement le 5^{ème} rang des cancers les plus fréquemment diagnostiqués dans le monde. Il est la 3^{ème} cause de mortalité par cancer dans le monde [1]. Au Maroc, le cancer gastrique tient la 2^{ème} place des cancers digestifs après le cancer colorectal [2]. La carcinogénèse gastrique est un processus multifactoriel qui fait intervenir des lésions précancéreuses, des facteurs alimentaires, génétiques et environnementaux dont l'*Helicobacter pylori* est le principal facteur étiologique [3, 4,5]. Le pronostic du cancer gastrique est en général sombre, mais il s'est notablement amélioré au cours de ces dernières années grâce à l'avènement des thérapies ciblées comme l'anti-HER2. Récemment, une étude réalisée dans le cadre du projet TCGA a permis de mettre en évidence 4 sous-types moléculaires du cancer gastrique : sous-type EBV, sous-type MSI, sous-type dit génomiquement stable (GS) et le sous-type présentant une instabilité chromosomique (CIN) [6]. En raison de la variabilité du pronostic au sein du même sous-type moléculaire, il existe un intérêt croissant pour la recherche de biomarqueurs spécifiques afin d'identifier des sous-groupes de patients plus agressifs [7].

Dans notre étude, nous avons évalué l'expression de HER2, p53 et Ki-67 chez les patients marocains atteints de carcinomes gastriques. Ces protéines ont été choisies en fonction de leur rôle clé dans le développement et la progression du cancer gastrique. TP53 est le gène suppresseur de tumeur le plus fréquemment altéré dans les cancers humains, y compris le carcinome gastrique, et il est supposé jouer un rôle majeur dans le contrôle du cycle cellulaire et l'apoptose [8,9]. Les mutations du gène TP53 semblent être cruciales dans la carcinogénèse gastrique. Quant au Ki-67, ce biomarqueur est un antigène qui correspond à une protéine non-histone nucléaire exprimée par les cellules dans toutes les phases du cycle cellulaire sauf la phase G0. De ce fait Ki-67 est un bon indice de la prolifération tumorale [10].

Etude bibliographique

I-Epidémiologie – Pathogénie du cancer gastrique

I.1 Définition

Le cancer gastrique (CG) est une forme de cancer due essentiellement à la présence d'une tumeur maligne (cancéreuse) développée à partir de la muqueuse gastrique (revêtement interne de la paroi gastrique) ou la sous-muqueuse, on parle alors de cancer précoce. Il dérive de l'épithélium glandulaire en débutant par la formation d'adénomes, qui ensuite peuvent évoluer vers une dysplasie de degré croissant, de modéré à sévère [11]. Cette dysplasie associe des anomalies architecturales de l'épithélium des glandes (stratification, plissement, bourgeonnement), des anomalies cellulaires nucléaires (anisonucléose, hyperchromasie, anomalies des mitoses) et cytoplasmiques (perte de la mucosécrétion), aboutissant à la formation d'un cancer.

Il existe différentes formes de cancer de l'estomac :

- *Le lymphome gastrique affectant le système lymphatique

- *Le sarcome touchant les tissus musculaires

- *La majorité des cancers gastriques se traduisent par un adénocarcinome dû à la présence d'une tumeur stromale-gastro-intestinale qui se développe au dépend des tissus de soutien du tube digestif (les envahir et les détruire), pour ensuite métastaser (se propager) d'autres organes du corps : pancréas, côlon et la rate en empruntant la voie vasculaire et lymphatique.

I.2 Données épidémiologiques

1.2-1. Distribution géographique

Le cancer de l'estomac est un réel problème de la santé publique, c'est l'un des cancers les plus mortels et les plus fréquents dans le monde, il représente la deuxième cause de mortalité par cancer [12]. Dans la base Globocan en 2012, base du Centre International de Recherche sur le Cancer, il a été estimé que le cancer gastrique est au cinquième rang pour la fréquence des cancers dans le monde après le cancer des poumons, des seins, le cancer colorectal et de la prostate [1]. L'incidence des cancers de l'estomac est l'objet de grandes variations géographiques [13]. Presque les deux tiers des cancers de l'estomac s'observent dans les pays en voie de développement [14]. Le nombre des cas incidents par cancer gastrique est estimé à 952 000 par la base de données Globocan 2012.

Malgré, que l'incidence et la mortalité globale du cancer gastrique soient en baisse dans la plupart des pays, reflétant une nette diminution des cancers gastriques distaux, nous assistons parallèlement à une nette augmentation des cancers proximaux du cardia [15], où le nombre de nouveaux cas et de décès sont sensés augmenter en raison de l'augmentation de la prévalence de l'obésité favorisant les reflux gastro-œsophagiens et en raison du vieillissement de la population [16]. En France, le cancer gastrique se situe au 13^{ème} rang avec un nombre incident arrivant à 6556 cas /an et représente 2,2% de l'ensemble des cancers et 13,4% des cancers digestifs (2^{ème} rang après le colorectal) [16].

Au Maroc, le registre d'oncologie de Rabat [17] et le registre de cancers de la ville de Casablanca [18] montrent que le cancer gastrique constitue le 6-7^{ème} cancer au Maroc, et le deuxième cancer digestif au Maroc (Selon une étude réalisée en 2012 par Chbani L. et al dans la région de Fès-Boulemane) [2] après les cancers colorectaux, l'incidence du cancer de l'estomac au Maroc reste plus faible que celle dans les pays développés, et se rapproche de celle des pays du Maghreb.

1.2-2. Sexe et âge

Le cancer de l'estomac est plus fréquent chez l'homme, dans toutes les régions du monde avec un sex-ratio variant de 1,3 à 2,5 [19]. Il survient rarement avant l'âge de 40 ans. L'incidence augmente rapidement au-delà, avec un pic pendant la septième décennie. Les tranches d'âge les plus touchées se situent entre 50 et 70 ans [20].

L'âge moyen de survenue du cancer gastrique est de 65 ans pour les pays où les taux d'incidence sont modérément élevés. Il apparaît environ 10 ans plus tôt, peut-être du fait d'un diagnostic plus précoce, dans les pays où l'incidence est forte [21].

Une étude rétrospective menée au centre de radiothérapie et d'oncologie Ibn Rochd, entre janvier 2006 et décembre 2007 concernant une série de 144 patients traités pour un cancer de l'estomac, l'âge moyen des patients était de 56 ans (24–90 ans). Le sex-ratio hommes/femmes était de 1,9 [22].

1.2-3. Facteurs de risque

a. Helicobacterpylori

L'Helicobacterpylori (Hp) a été découvert en 1982 par Marshall et Warren dans l'antrum gastrique humain. C'est une bactérie spiralée (bacille à gram négatif), à transmission oro-fécale ; reconnue par l'OMS comme carcinogène gastrique certain en 1994 [23]. Par la suite,

différents travaux ont suggéré le rôle de cette bactérie dans de nombreuses maladies gastriques et duodénales (gastrite, maladie ulcéreuse, lymphome, cancer gastrique) [24].

Certaines souches d'*Helicobacter pylori* produisent des cytotoxines (CagA et VacA) qui sont les facteurs de sa virulence. L'infection en général est acquise dès l'enfance mais les lésions d'Hp apparaissent à l'âge adulte. Pelayo CORREA a montré que Hp induit une gastrite superficielle, évoluant progressivement vers la gastrite chronique atrophique, la métaplasie et la dysplasie [25].

Les mécanismes impliquant l'Hp dans le développement d'un carcinome gastrique ont été précisés par « Mac Farlane et Munro » [26] : Hp provoque une inflammation chronique, responsable d'une prolifération cellulaire, ce qui augmente le risque d'erreur spontanée dans la réplication de l'ADN. D'un autre côté, l'Hp réduit la concentration d'acide ascorbique dans l'estomac, dont le rôle est de diminuer le taux de nitrosamine gastrique.

Généralement, les infections pourraient être responsables de l'initiation et du développement tumoral selon trois étapes. Tout d'abord, l'infection doit être responsable d'une inflammation chronique. Cette inflammation entraîne des dommages cellulaires, compensés par une augmentation de la prolifération qui pourrait favoriser le développement de néoplasies. Ensuite, les pathogènes peuvent insérer des oncogènes ou modifier les oncogènes cellulaires ce qui pourrait inhiber les gènes suppresseurs de tumeurs ou favoriser la prolifération. Enfin, les pathogènes peuvent agir sur le système immunitaire et entraîner une immunosuppression ce qui augmenterait le risque de développer un cancer.

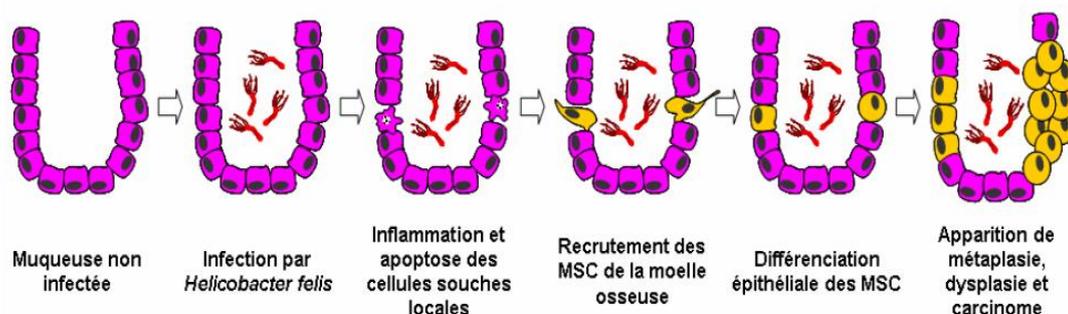


Figure 1 : Schéma de l'initiation et du développement tumoral proposé par Jean-Marie Houghton

L'infection de la muqueuse gastrique par *Helicobacter pylori* est responsable d'une inflammation chronique et d'une apoptose des cellules souches locales. Les MSC de la moelle osseuse sont alors recrutées afin de rétablir une muqueuse normale. Cependant, dans un microenvironnement infectieux et inflammatoire, les MSC subissent une perturbation de leur différenciation et dérivent vers des cellules cancéreuses [27].

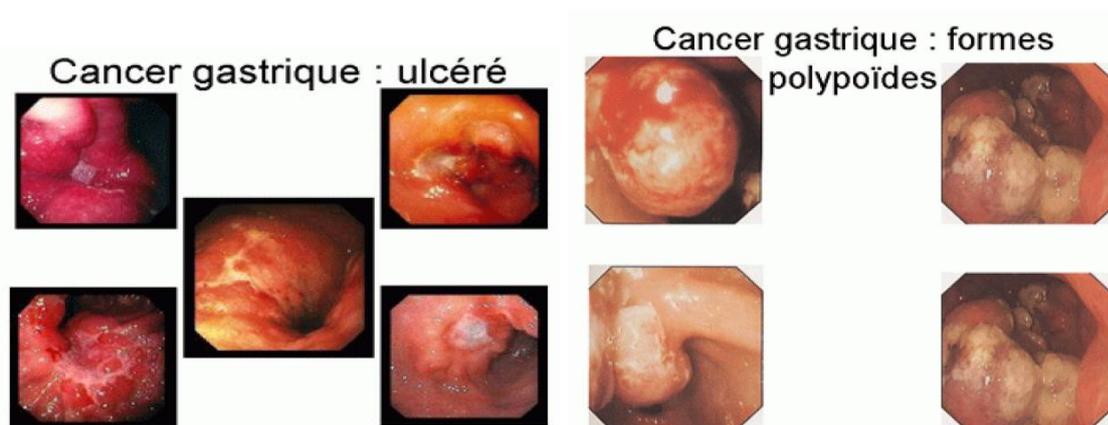
b. Lésions précancéreuses

Certaines pathologies telles que la gastrite chronique atrophique, l'ulcère chronique de l'estomac, la gastrite hypertrophique de Ménétrier ou maladie de Ménétrier, la maladie de Biermer (gastrite atrophique auto-immune) et les polypes adénomateux ont un risque significativement élevé de se dégénérer en un cancer gastrique.

La réaction inflammatoire due à l'infection par l'Hp est le point de départ commun à tous les processus de carcinogenèse gastrique. Ces lésions épithéliales gastriques sont dues aux métabolites réactifs de l'oxygène produits lors de la réaction inflammatoire (surtout le NO). Une gastrite atrophique apparaît, puis survient un passage à la métaplasie intestinale. Cela serait en rapport avec l'infection à Hp et/ou une prédisposition génétique et/ou des facteurs d'environnement (Nitrosamines) [28, 29].

c. Polypes gastriques

Les adénomes (tubuleux, vilieux, et tubuleux vilieux) représentent 10% des polypes gastriques, ils ont un grand potentiel de malignité et se développent fréquemment sur les gastrites chroniques atrophiques. Le risque de cancérisation est plus marqué pour les polypes de taille supérieure à 2 cm ou de type vilieux [30]. L'adénome pylorique est un type rare de polype gastrique. Son incidence représente 2,7 %. Il comporte souvent des foyers de néoplasie intra-épithéliale de bas et de haut grade, avec au moment du diagnostic ou au cours du suivi, dans un tiers des cas, l'association à un adénocarcinome gastrique intra-muqueux ou invasif [31].



d. Facteurs environnementaux/alimentaires

✓ L'exposition à des rayonnements ionisants

Les personnes qui ont été exposées aux rayonnements ionisants au Japon à la suite de l'explosion d'une bombe atomique pendant la Seconde Guerre mondiale risquent davantage d'être atteintes d'un cancer de l'estomac, en particulier si elles étaient enfants lors de l'exposition à la radiation, c'est ce qui explique son incidence élevée. Des études ont démontré que les personnes exposées aux rayonnements émis lors d'accidents nucléaires ou à des retombées nucléaires risquent également plus d'être atteintes d'un cancer de l'estomac.

Certaines études laissent entendre que les personnes traitées avec certaines formes de radiothérapie risquent davantage d'être atteintes d'un cancer de l'estomac [33].

✓ Le tabac et l'alcool

Le tabagisme a été prouvé comme facteur de risque de survenue de cancer gastrique, il était classé par l'agence internationale de recherche des cancers (IARC) comme carcinogène du 1^{er} groupe au niveau gastrique. Les patients infectés par Hp et fumeurs auraient 2,3 fois plus de risque de développer un cancer gastrique que les patients infectés mais non-fumeurs.

La relation entre consommation d'alcool a été explorée par plusieurs études qui ne permettent pas d'établir clairement que l'alcool soit un facteur de risque pour ce cancer. Une relation dose dépendante entre la consommation de 26 cigarettes et d'alcool et l'adénocarcinome a aussi été démontrée [34].

✓ L'obésité

Certaines données révèlent que l'obésité ou un indice de masse corporelle élevé (IMC) peut accroître le risque de cancer de l'estomac, en particulier dans la première partie de l'estomac située près de l'œsophage qu'on appelle le cardia [35].

✓ Virus d'Epstein-Barr

L'infection au virus d'Epstein-Barr (EBV) pourrait accroître le risque d'apparition d'un lymphome non hodgkinien dans l'estomac, un type rare de cancer de l'estomac. Elle pourrait également faire augmenter le risque d'adénocarcinome, le type le plus fréquent de cancer de l'estomac [36].

✓ Facteurs alimentaires

Dans la carcinogenèse gastrique, l'alimentation se situe au 1^{er} plan des facteurs prédisposant au cancer de l'estomac, ce dernier est l'aboutissement de plusieurs mécanismes aussi bien exogènes qu'endogènes.

– Le sel ayant un taux élevé de nitrates, sa consommation importante serait associée à une diminution de l'acidité, ralentissement de la vidange gastrique avec un prolongement du temps de contact entre les nitrosamines et la muqueuse gastrique responsable de la gastrite atrophique, créant un milieu propice pour le développement d'*Helicobacter pylori* [37,38].

– Les nitrates, les amines hétérocycliques et les hydrocarbures aromatiques ont un fort potentiel carcinogène. Ces nitrites proviennent essentiellement soit du fait des procédés de fabrication (salaisons, fumaisons, conserves), soit en raison de la conversion de nitrate en nitrite par les bactéries colonisant l'estomac (en particulier *Helicobacter pylori*). Cette dernière réaction ne se produit pas à moins de 2°C [39], ainsi la consommation importante d'aliments salés et l'infection par l'Hp interagissent synergiquement. La diminution de la quantité de nitrites alimentaires dans les procédures de stockage des aliments peut expliquer la diminution de l'incidence du cancer de l'estomac dans les pays industrialisés [40,41].

Une très haute incidence du cancer gastrique a été dénombrée dans les pays où ces modes de conservation sont utilisés à haut échelon.

– Certaines études ont démontré que les légumes et fruits riches en vitamine C et bêta-carotène ont un rôle protecteur sur la muqueuse gastrique, en limitant la transformation des nitrates en nitrosamines [42].

e. Facteurs génétiques

La présence de facteurs génétiques influençant le risque individuel de développer un cancer gastrique est suggérée, d'une part par l'existence d'un risque multiplié par 2 ou 3 chez les apparentés de premier degré d'un sujet atteint, et d'autre part par le polymorphisme d'une grande variété de gènes susceptibles de modifier l'effet de l'exposition aux carcinogènes environnementaux tel que le polymorphisme des cytokines impliquées dans la réponse inflammatoire secondaire à l'infection par l'*Helicobacter pylori* [43].

Les formes familiales de cancer se définissent classiquement par la survenue d'au moins 2 cas de cancer chez des apparentés de 1^{er} degré [44]. On estime que 1 à 3 % des cancers gastriques sont d'origine héréditaire [45]. Parmi eux, il faut distinguer :

*Le **cancer gastrique diffus héréditaire (CGDH)** est causé par une mutation germinale du gène CDH1 à transmission autosomique dominante responsable de la perte de fonction de la protéine E-cadhérine[46].

*Le **syndrome de Lynch** (aussi appelé **cancer colorectal héréditaire sans polypose**, ou **HNPCC**) est causé par la mutation des gènes qui corrigent les erreurs lorsque les cellules se divisent et que l'ADN est copié.

*Le **syndrome de Li-Fraumeni** est habituellement causé par une mutation du gène TP53 ou CHEK2. Il est lié à un haut risque d'apparition de plusieurs types de cancer, dont le cancer de l'estomac.

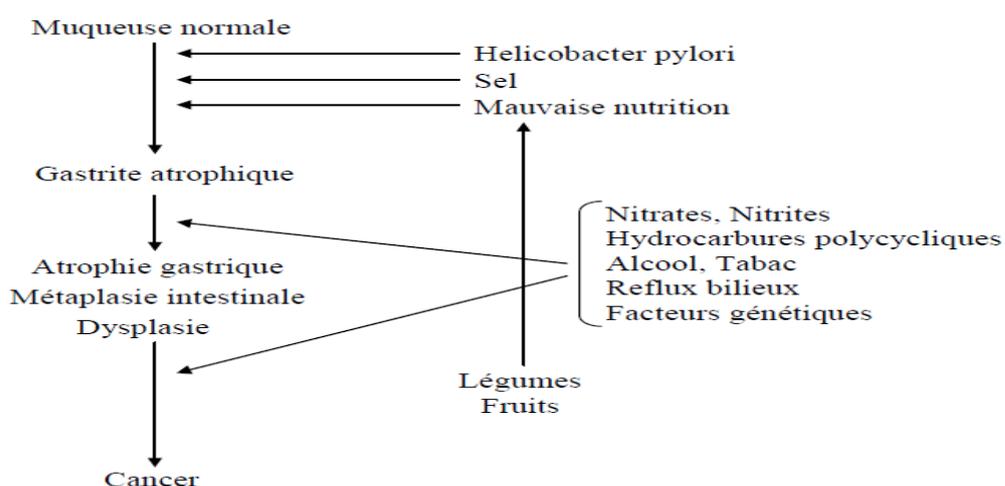


Figure 3 : Carcinogénèse gastrique

II. Physiopathologie du cancer gastrique

II.1 Rappel anatomique et physiologique

- ✚ Le cancer de l'estomac, aussi appelé cancer gastrique, commence dans l'estomac. Pour le comprendre, il est utile de connaître la structure et la fonction normale de l'estomac.
- ⇒ Après avoir mâché et avalé de la nourriture, cette dernière pénètre dans l'œsophage. L'œsophage rejoint l'estomac au niveau de la jonction gastroœsophagienne (GE), qui se trouve juste sous le diaphragme (une cloison musculuse située sous les poumons qui sépare la cage thoracique de l'abdomen).
- ⇒ L'estomac est un organe musculaire en forme de J, situé dans la cavité abdominale sous la partie gauche du diaphragme semblable à un sac qui retient de la nourriture et commence à la digérer en sécrétant le suc gastrique ; sa taille varie d'une personne à l'autre et en fonction des repas (figure 4) [47, 48, 49].

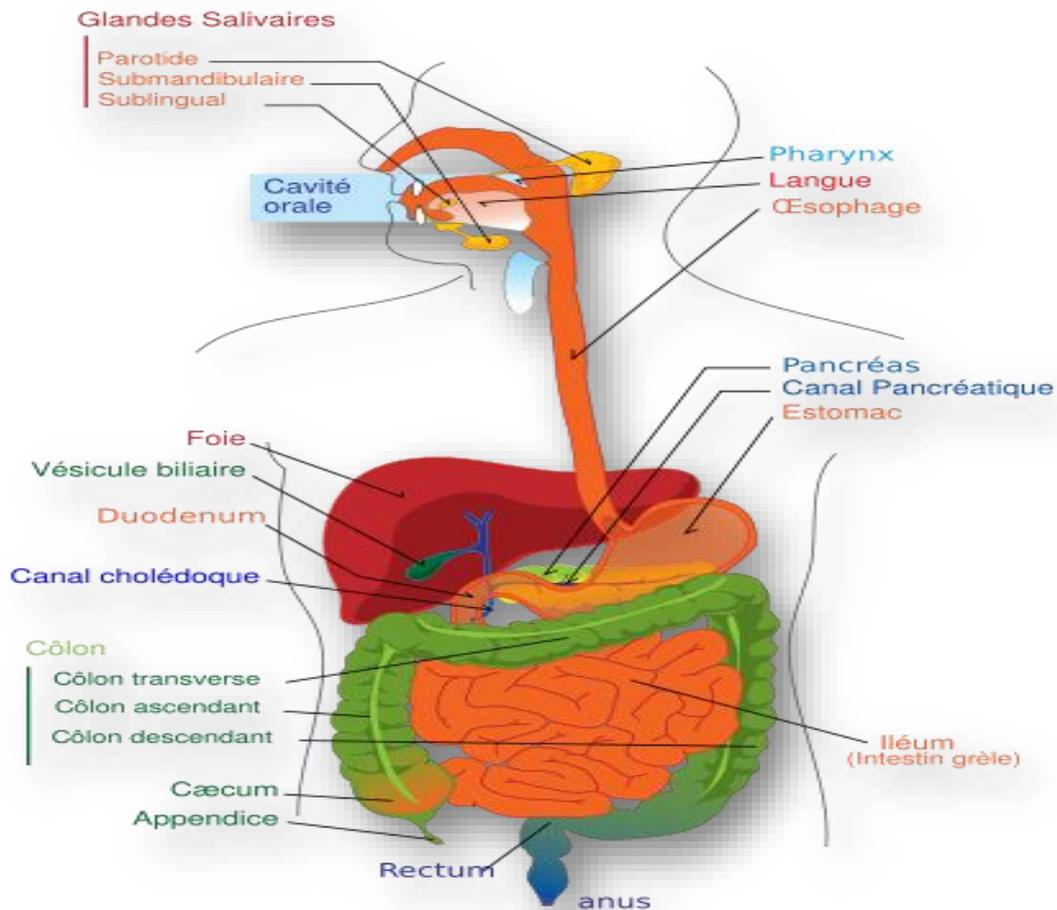


Figure 4 : Schéma générale du tube digestif

II.1-1. Structure

L'estomac fait partie de l'appareil digestif et est relié aux organes suivants :

- L'œsophage – organe en forme de tube qui relie la bouche et la gorge à l'estomac. Le point de contact entre l'œsophage et l'estomac est appelé jonction œsophago-gastrique (OG).
- L'intestin grêle (parfois appelé petit intestin) – organe semblable à un long tube qui s'étend de l'estomac jusqu'au côlon (gros intestin). La première partie de l'intestin grêle, celle qui communique avec l'estomac, est appelée duodénum.

L'estomac est entouré d'un grand nombre de ganglions lymphatiques [47, 48, 49].

II.1-2. Régions de l'estomac

L'estomac est divisé en 5 régions (figure 5).

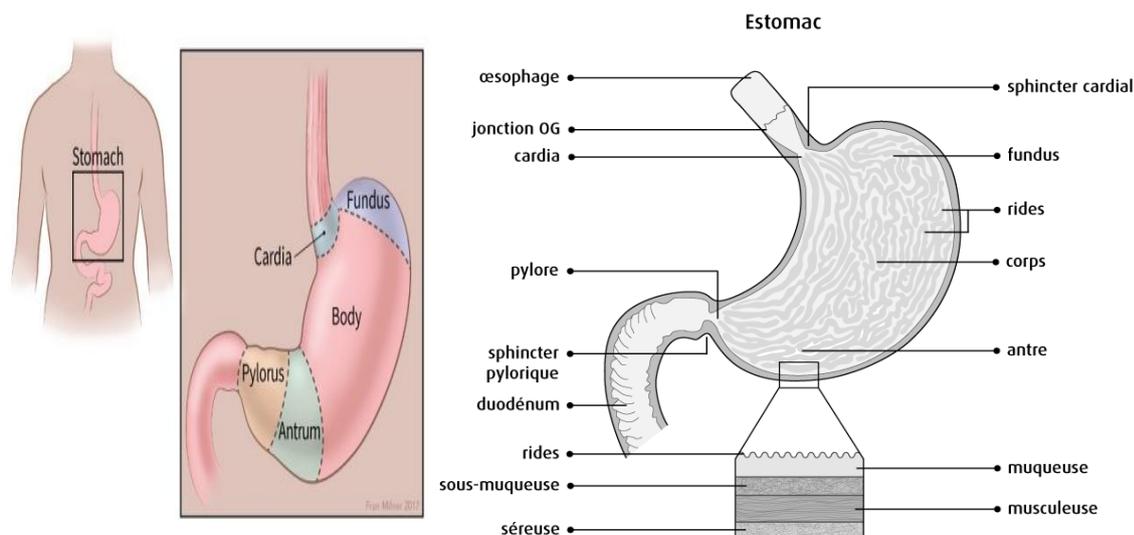


Figure 5 : Régions de l'estomac

- **Le cardia** est la région initiale de l'estomac. Il est situé sous l'œsophage avec lequel il communique. Il renferme le sphincter cardiaal, un mince anneau musculaire qui empêche le contenu gastrique de remonter dans l'œsophage.
- **Le fundus** est la région supérieure de l'estomac, arrondie située à gauche du cardia et au-dessous du diaphragme.
- **Le corps (corpus)** : la partie principale de l'estomac et la plus grande entre ses parties supérieures et inférieures, où les aliments sont brassés et commencent à se désintégrer.
- **L'antre** (parfois appelé **antre pylorique** ou **antrum**) est la partie inférieure de l'estomac où la nourriture se mélange avec le suc gastrique. L'antre entrepose les aliments décomposés jusqu'à ce qu'ils soient prêts à être évacués dans l'intestin grêle.
- **Le pylore** est la dernière partie de l'estomac qui communique avec l'intestin grêle. Cette région comprend le sphincter pylorique, un anneau de muscles épais qui agit comme une valve pour réguler la vidange du contenu de l'estomac (appelé chyme) dans le duodénum (la première partie de l'intestin grêle). Le sphincter pylorique empêche aussi le contenu du duodénum de remonter dans l'estomac [47, 48, 49].

II.1-3. Couches de la paroi de l'estomac

L'estomac est constitué de plusieurs couches de tissus (figure 6).

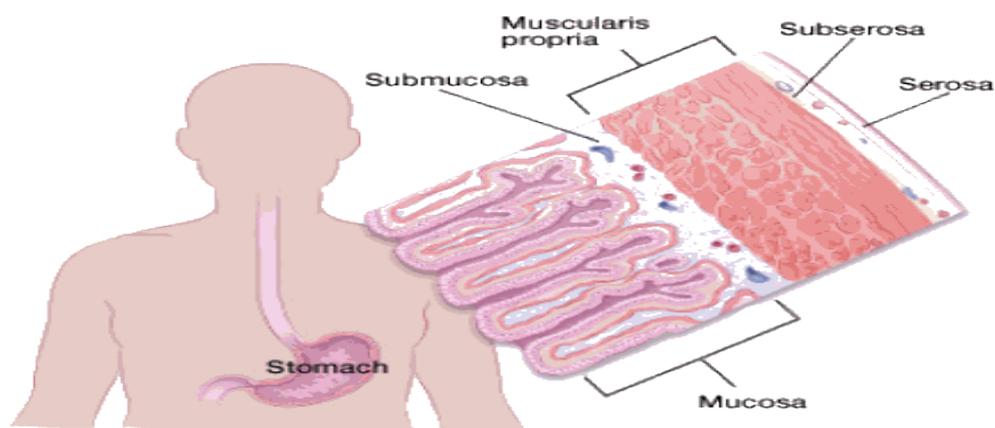


Figure 6 : Couches de la paroi de l'estomac

- La muqueuse (membrane muqueuse) est le revêtement interne de l'estomac. Lorsque l'estomac est vide, la muqueuse est plissée. Ces replis (rides) gastriques s'aplanissent au fur et à mesure que l'estomac se remplit de nourriture.

Elle possède des cellules spécialisées et des glandes qui produisent de l'acide chlorhydrique et des enzymes digestives pour digérer la nourriture.

Cette muqueuse a des régions cardiales et pyloriques qui sécrètent du mucus pour protéger le revêtement de l'estomac de l'acide produit pour la digestion en évitant une autodigestion. L'épithélium doit être régénéré rapidement (trois jours environ) afin d'éviter un amincissement de la muqueuse, ce qui provoquerait des ulcères gastriques.

- La couche suivante est la sous-muqueuse : couche du support qui couvre la muqueuse. Elle est composée de tissu conjonctif qui comprend de gros vaisseaux sanguins et lymphatiques, des cellules nerveuses et des fibres.
- La musculuse (musculuse externe ou muscularispropria) est une épaisse couche de muscle qui couvre la sous-muqueuse, se déplace et mélange le contenu de l'estomac. C'est le muscle principal de l'estomac et il est constitué de 3 couches de muscles :(longitudinale, circulaire, oblique) (figure 7).
- La séreuse est la membrane fibreuse. Elle comporte 2 couches externes qui enveloppent l'estomac. La séreuse de l'estomac est aussi appelée péritoine viscéral[49, 50].

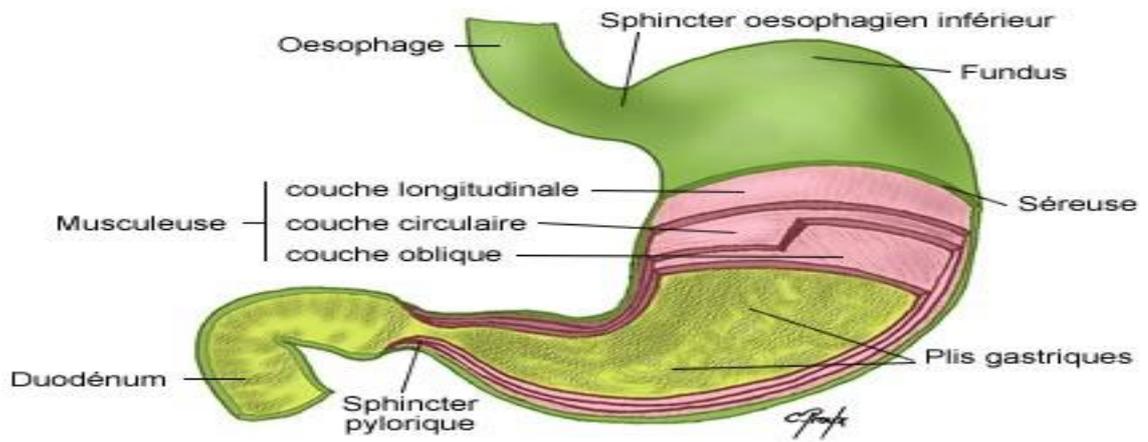


Figure 7 : Schéma des couches de l'estomac

*Les couches sont importantes pour déterminer le stade (étendue) du cancer et pour aider à déterminer le pronostic d'une personne (perspectives). A mesure qu'un cancer se développe de la muqueuse vers des couches plus profondes, le stade devient plus avancé et le pronostic n'est pas aussi bon.

II.1-4. Fonction :

L'estomac a 3 fonctions principales :

- le **stockage alimentaire** (entreposage temporaire) où cette poche musculieuse permet d'emmagasiner une quantité importante de nourriture. L'estomac peut en fait s'étirer grâce à sa paroi élastique et ses replis gastriques. Lorsqu'il est vide, l'estomac possède un volume d'environ 500 ml. Rempli de liquide ou de nourriture, il peut passer à un volume de 4 L (4 000 ml).
 - **Brassage et désintégration des aliments** grâce à la contraction puis à la relaxation des couches musculaires de l'estomac.
 - **Digestion de la nourriture** après un repas, l'estomac met entre 2 et 6 heures pour se vider dans l'intestin grêle. Les entrées et les sorties qui se produisent au niveau de l'estomac sont contrôlées aux deux extrémités grâce à des petits muscles circulaires appelés sphincters, à la fin de l'œsophage, c'est le **cardia** et à l'entrée de l'intestin grêle, le **pylore**.
- ✓ La nourriture est décomposée en une mixture épaisse et acide appelée chyme. Le sphincter pylorique se relâche une fois que le chyme est complètement formé, puis le chyme passe dans le duodénum. Le duodénum joue un grand rôle dans l'absorption des aliments ingérés, mais pas l'estomac. L'estomac absorbe uniquement l'eau, l'alcool et certains médicaments.

- ✓ Les 2 parties inférieures (antrum et pylore) s'appellent **l'estomac distal**. L'estomac a 2 courbes qui forment ses frontières intérieures et extérieures. Elles sont appelés respectivement, **la petite courbure** et **la grande courbure**[49, 50].

II.2 Les types de cancer de l'estomac:

Adénocarcinome : la plupart (environ 90% à 95%) des cancers de l'estomac sont des adénocarcinomes. Un cancer de l'estomac ou cancer gastrique est presque toujours un adénocarcinome : ce terme vient du grec adéno qui signifie glande et carcino qui signifie Cancer. Il s'agit d'une [tumeur maligne](#) qui se développe au dépend de l'épithélium glandulaire et elle se caractérise lors des analyses microscopiques anatomo-pathologiques par un aspect de glande (tubes glandulaires) ou par la présence des sécrétions mucineuses (muco-sécrétions (figure 8).

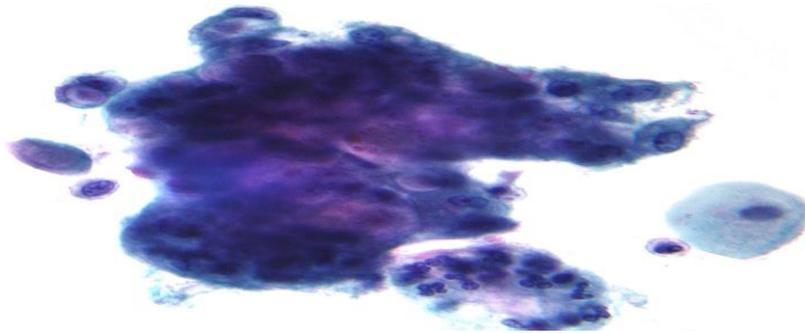


Figure 8 : Etude au microscope d'un adénocarcinome révélant des vacuoles contenant de la mucine

Lymphome : il s'agit du cancer du tissu du système immunitaire qui se trouve parfois dans la paroi de l'estomac. Etant un [cancer](#) du [système lymphatique](#), il se développe au dépend des [lymphocytes](#). Le traitement et les perspectives dépendent du type de lymphome.

Tumeur stromale gastro-intestinale (GIST) : ces tumeurs rares commencent dans des formes très précoces de cellules dans la paroi de l'estomac appelées : **cellules interstitielles de Cajal**. Certaines de ces tumeurs sont non cancéreuses (bénignes) ; d'autres sont cancéreuses. Bien que les **GIST** peuvent être présents n'importe où dans le tube digestif, la plupart se trouvent dans l'estomac.

Tumeur carcinoïde : c'est une tumeur de différenciation neuroendocrine qui envahit les cellules productrices d'hormones de l'estomac, entraînant [la limite plastique de l'estomac](#). La plupart de ces tumeurs ne se propagent pas à d'autres organes.

D'autres cancers : tels que le carcinome épidermoïde, le carcinome à petites cellules et le léiomyosarcome, peuvent également débiter dans l'estomac, mais ces cancers sont très rares [51, 52, 53,54, 55].

II.2-1. Adénocarcinomes- localisation :

Du point de vue anatomopathologique, les adénocarcinomes gastriques sont divisés en deux grands groupes en fonction de leur localisation. Ceux situés au niveau de la jonction avec l'œsophage, ou cardia, sont appelés proximaux ; par opposition aux cancers distaux, situés au niveau du corps ou de l'antra gastrique. L'infection par *H. pyloria* été montrée associée uniquement avec les cancers distaux [51, 52, 53,54, 55].

II.2-2. Classification histologique du cancer de l'estomac

Il existe plusieurs systèmes de classification du cancer de l'estomac dans le monde. 2 systèmes sont principalement cités :

Classification de Lauren :

La classification de Lauren est la plus couramment utilisée. Elle inclut à la fois des critères histologiques et architecturaux et des critères de modes d'extension en se basant sur l'apparence et le comportement du tissu gastrique lors de l'examen au microscope.

La classification de Lauren divise les adénocarcinomes distaux de l'estomac en 2 principaux types : (Lauren, 1965).

- **Type intestinal :** Les cellules tumorales sont bien différenciées, se développent lentement et ont tendance à former des glandes. On observe plus souvent ce type chez l'homme que chez la femme et il affecte plus souvent les personnes âgées. Il apparaît après une gastrite chronique atrophique évoluant lentement sur de nombreuses décennies, ce qui explique l'âge élevé d'apparition de ce cancer, en moyenne entre 70 et 80 ans (Gore, 1997) (figure 9).

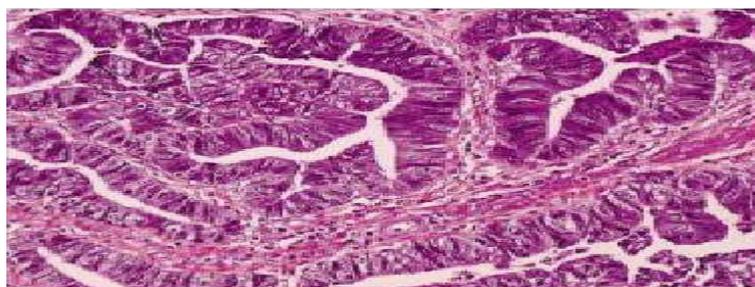


Figure 9 : Adénocarcinome bien différencié tubulopapillaire de type intestinal selon la classification de Lauren

L'évolution histopathologique est bien connue et suit des étapes bien définies. Correa a proposé une voie expliquant cette évolution dénommée la « Cascade de Correa » [56].

Les différentes étapes sont représentées dans la figure suivante issue d'un modèle murin de carcinome gastrique de type intestinal après infection par *H. pylori* par exemple.

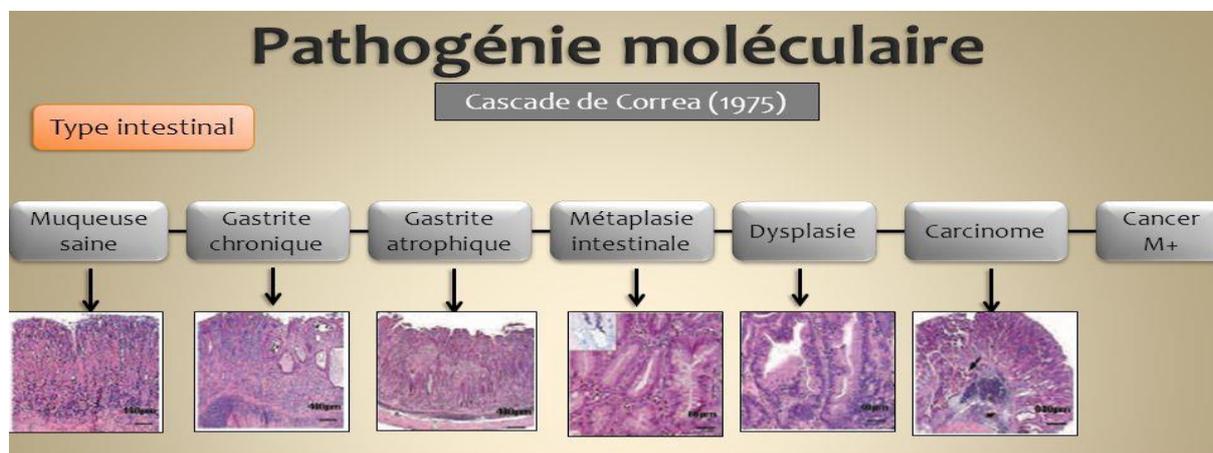


Figure 10 : La cascade gastrique précancéreuse, P. Correa. Journal des maladies digestives 2012

Brièvement, la pathologie commence par une gastrite chronique, inflammation de la muqueuse gastrique, passant d'un stade superficiel à un stade atrophique caractérisé par une perte variable des glandes gastriques et un recrutement de cellules inflammatoires dans les zones glandulaires. Ce stade est associé à la perte des cellules pariétales gastriques, responsables de la production d'acide chlorhydrique, et donc d'une perte des fonctions sécrétoires gastriques [57].

Cette phase est donc liée à une hypochlorhydrie, favorable au développement tumoral. Cette gastrite mène à un état de métaplasie dite intestinale où les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique acquièrent un phénotype de cellules épithéliales intestinales. Cette métaplasie peut évoluer vers une dysplasie, étape correspondant à l'apparition d'une néoplasie. Cette dysplasie précède l'apparition de l'adénocarcinome correspondant à une tumeur maligne invasive [58].

Les personnes présentant une gastrite atrophique du corps de l'estomac ont un risque de développer un cancer 90 fois supérieur aux patients présentant une muqueuse normale.

- **Type diffus** : Les cellules tumorales sont peu différenciées, se comportent agressivement et ont tendance à se disperser dans tout l'estomac (plutôt que de former des glandes). Ce type se propage à d'autres parties du corps (métastases) beaucoup plus rapidement que les tumeurs de type intestinal. Il affecte autant l'homme que la femme et a tendance à survenir chez des personnes plus jeunes que le type intestinal (figure 11).

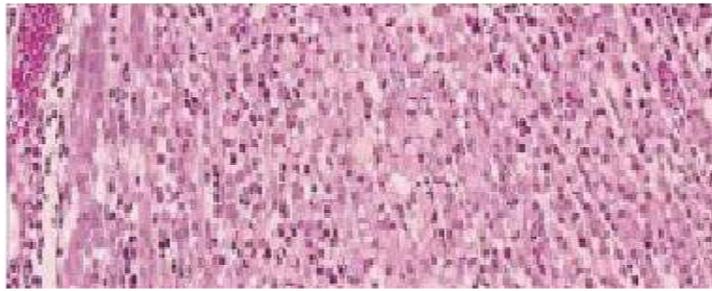


Figure 11 : Adénocarcinome de type diffus selon la classification de Lauren : nombreuses cellules tumorales isolées en « bague à chaton », mêlées à des plasmocytes

La classification de Lauren comporte également **un type** d'adénocarcinome dit **mixte**, composé des types intestinal et diffus.

Classification de l'OMS

La classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) est plus détaillée que la classification de Lauren, elle propose de classer les ADK gastriques en bien, moyennement, et peu différencié.

En dehors du degré de différenciation et en fonction de données cytologiques et architecturales, la classification de l'OMS divise le cancer de l'estomac en 5 principaux types :

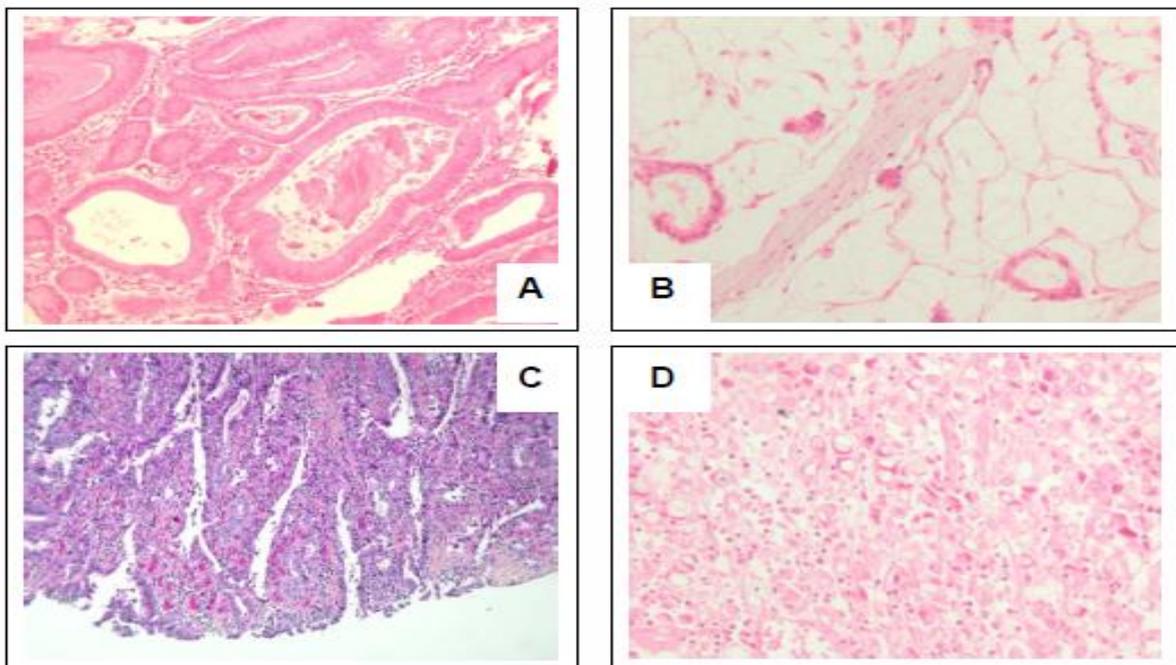


Figure 12 : Les types histologiques de la classification de l'OMS

- **A : Adénocarcinome tubuleux** – Ce type est composé de petits tubes (tubules) ramifiés de différentes tailles.
- **B : Adénocarcinome mucineux** – Il y a beaucoup de mucine (constituant principal du mucus) à l'extérieur des cellules cancéreuses.
- **C : 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.
- **D : Carcinomes à cellules indépendantes** (y compris le carcinome à cellules en bague à chaton et d'autres) – Ces cellules cancéreuses sont regroupées en paquets, il constitue la forme histologique habituelle de la linite plastique [58].
- **Carcinome mixte** – Il consiste en un mélange de différents types d'adénocarcinome de l'estomac.

✚ Forme histologique particulière de l'adénocarcinome

La linite plastique :

La linite gastrique (ou linite plastique) est une forme diffuse d'adénocarcinome, elle représente la forme typique des cancers infiltrants. Elle est d'un aspect macroscopique avec une paroi gastrique épaissie, rigidifiée, peu plissée, se laissant difficilement expandre par l'exsufflation et caractérisée par une prolifération cellulaire en amas non organisée. A l'histologie, il s'agit habituellement d'un ADK à cellules indépendantes en bague à chaton (>50%) [59, 60].



Figure 13 : Cellules en bague à chaton [60]

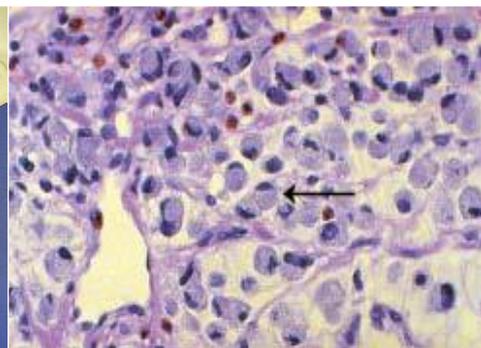


Figure 14 : Aspect macroscopique d'une linite gastrique

III- Stadification

La stadification ou classe, décrit un cancer en fonction de la quantité de cancer présente dans le corps et de son emplacement lors du diagnostic initial. C'est ce qu'on appelle souvent l'étendue du cancer. On se sert de l'information révélée par les examens pour savoir quelle est la taille de la tumeur, quelles parties de l'organe sont atteintes par le cancer, si le cancer s'est propagé à partir de son lieu d'origine et où il s'est propagé [61].

Classification TNM

Le système de stadification le plus fréquemment employé pour le cancer de l'estomac est la classification TNM. Dans le cas du cancer de l'estomac, il y a 5 stades, soit le stade 0 suivi des stades 1 à 4. Pour les stades 1 à 4, on utilise souvent les chiffres romains I, II, III et IV. En général, plus le numéro du stade est élevé, plus le cancer s'est propagé [62].

Tumeur primaire (T)	
Tis	Carcinome in situ (tumeur intra-épithéliale sans infiltration de la <i>lamina propria</i>)
T1	Tumeur envahit la <i>lamina propria</i> ou la sous-muqueuse
T2	Tumeur envahit la musculaire propre (T2a) ou la sous-séreuse (T2b)
T3	Tumeur perce la séreuse (envahit le péritoine sans invasion des structures avoisinantes)
T4	Tumeur envahit les structures avoisinantes (rate, côlon, foie, pancréas, glandes surrénales, intestin grêle, diaphragme, paroi abdominale et rétropéritoine)
Ganglions lymphatiques régionaux (N)	
N0	Pas de métastases dans les ganglions régionaux
N1	Métastases dans 1 à 6 ganglions régionaux
N2	Métastases dans 7 à 15 ganglions régionaux
N3	Métastases dans > 15 ganglions régionaux
Métastases à distance (M)	
M0	Pas de métastases à distance
M1	Métastases à distance (les ganglions rétropancréatiques, paraaortiques, portes, rétropéritonéaux et mésentériques sont considérés comme métastatiques)

Figure 15 : Classification tumor-nodes-metastasis (TNM) des cancers de l'estomac (Union internationale contre le cancer) [62]

Les trois initiales symbolisent la propagation de la maladie cancéreuse sur le site de la tumeur primitive (T), dans les ganglions lymphatiques voisins (N pour *nodeen* anglais) et à distance pour d'éventuelles métastases (M).

Quand les médecins décrivent le stade, ils peuvent employer les mots local, régional ou distant. Local signifie que le cancer se trouve seulement dans l'estomac et qu'il ne s'est pas propagé à d'autres parties du corps. Régional signifie près ou autour de l'estomac. Distant signifie dans une partie du corps plus éloignée de l'estomac.

IV-Bases moléculaires /génétiques des adénocarcinomes

IV.1. Processus du développement tumoral

Un cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme. Ces cellules dérivent toutes d'un même clone ou cellule initiatrice qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment. Au cours de l'évolution de la maladie, certaines cellules peuvent migrer de leur lieu de production et former des métastases [63, 64,65]. L'apparition d'une cellule cancéreuse est liée à l'accumulation des anomalies dans son ADN, son comportement anormal est dû au dérèglement de certains de ses gènes.

La cancérogénèse comprend trois étapes : l'initiation, la promotion et la progression. L'initiation se caractérise par des altérations génomiques (mutations, perte de gène, réarrangements chromosomiques...). Cette étape reste sous contrôle tant que les mécanismes de régulation de l'homéostasie cellulaire fonctionnent. La promotion est l'étape caractérisée par la survie et l'expansion clonale des cellules « initiées ». Cette prolifération cellulaire intervient lorsque les cellules sont plus sensibles aux signaux stimulateurs de la croissance.

Au cours de la progression, la taille de la tumeur augmente substantiellement. Devenue autonome, la cellule cancéreuse peut aussi envahir d'autres tissus et former des métastases [64,65].

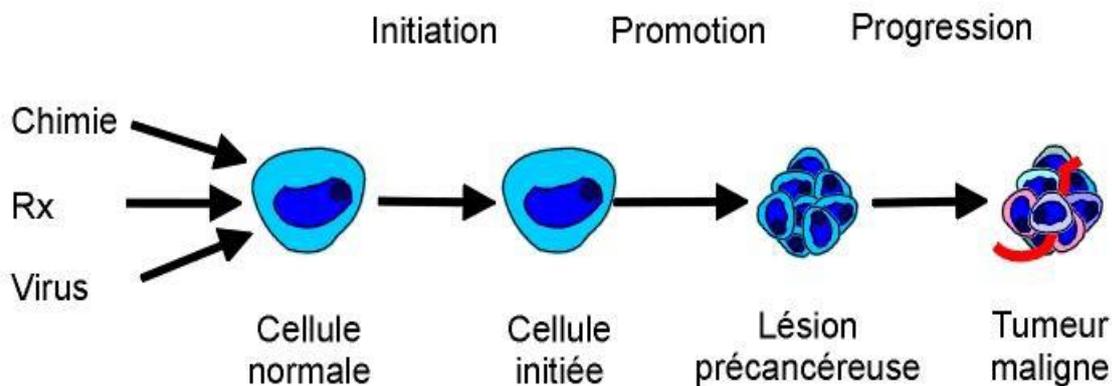
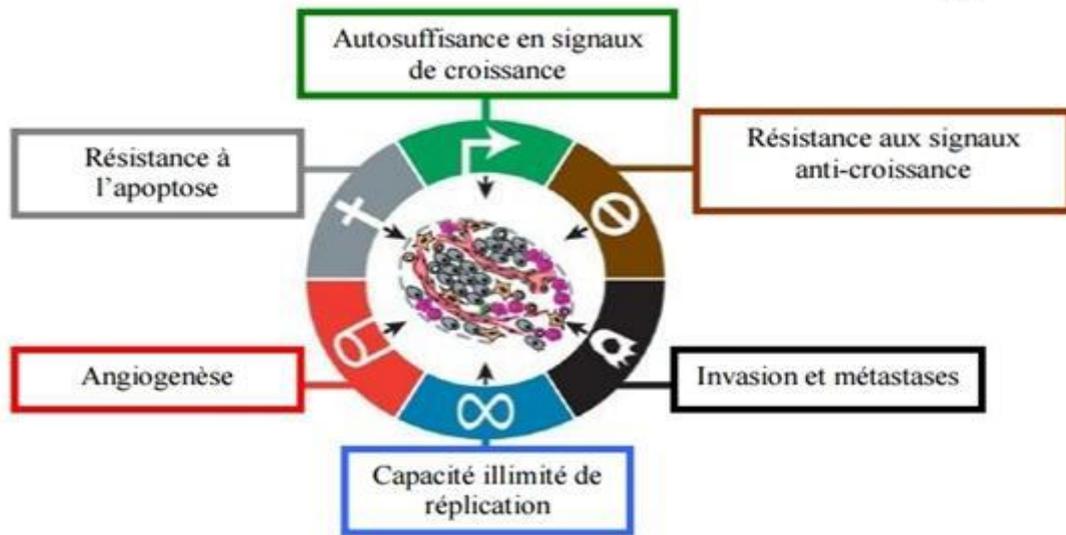
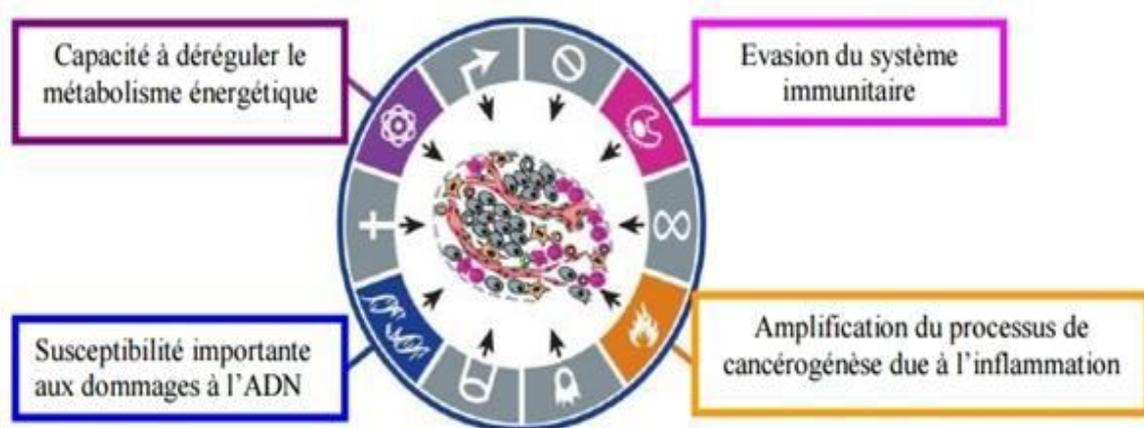


Figure 16 : Représentation schématique des différentes étapes de la cancérogénèse

Cette transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse est un processus long, qui peut durer des dizaines d'années. Au terme de cette transformation, la cellule cancéreuse a acquis un certain nombre de caractéristiques : son indépendance vis-à-vis des signaux qui régulent (favorisent ou freinent) habituellement sa croissance et sa division, sa capacité à échapper au processus de la mort cellulaire programmée et sa capacité à se diviser indéfiniment.



(A)



(B)

Figure 17 : Les caractéristiques des cellules cancéreuses [60]

(A) : Propriétés initiales de la cellule cancéreuse.
 (B) : Caractéristiques nouvelles de la cellule cancéreuse.

IV.2. Principales altérations génétiques impliquées dans le développement du cancer de l'estomac

Le cancer de l'estomac est une maladie génétiquement hétérogène et complexe. Le développement et la progression des cancers de l'estomac impliquent un certain nombre d'anomalies génétiques et épigénétiques des gènes suppresseurs de tumeurs, des oncogènes, des gènes régulateurs du cycle cellulaire et des molécules d'adhésion et des gènes réparateurs de l'ADN. L'accumulation de ces altérations génétiques serait différente dans le type intestinal et dans le type diffus de la classification de Lauren. Néanmoins, ces deux types de cancers de l'estomac partagent certaines altérations génétiques [66]. De nombreuses études cytogénétiques et moléculaires sont menées pour éclaircir ces mécanismes.

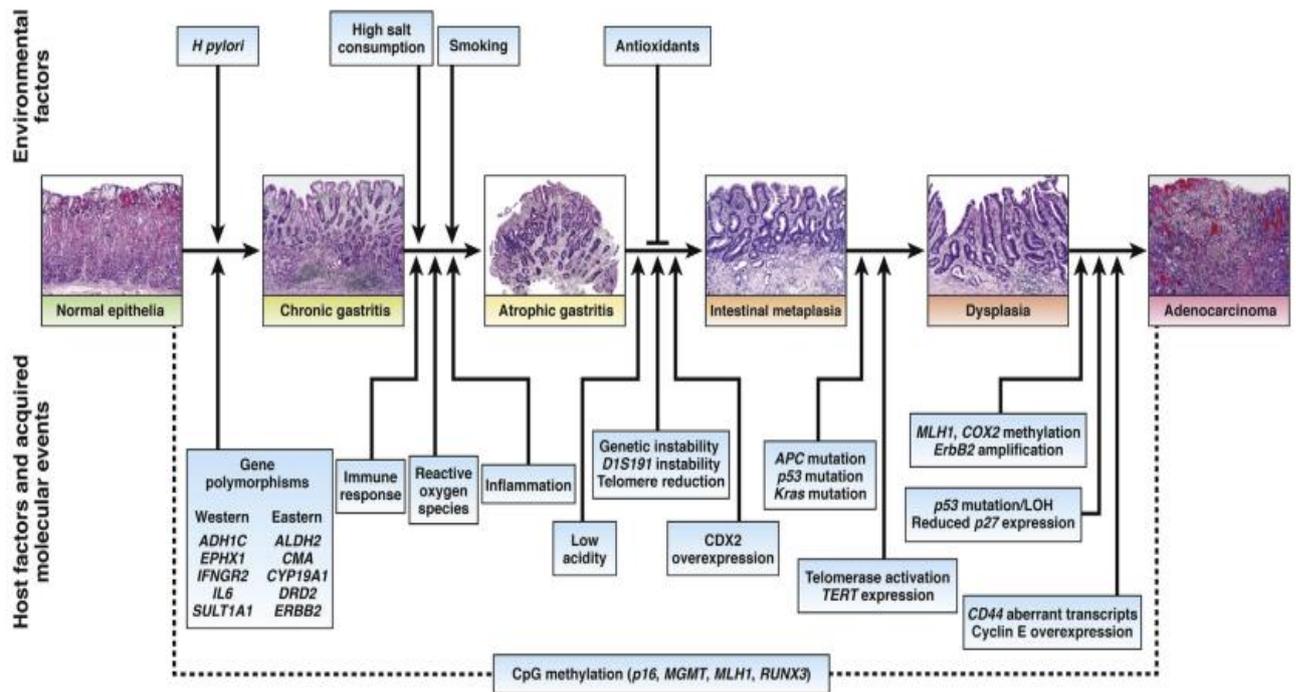


Figure 18 : Cause et pathogénèse du CG de type intestinal compris les facteurs de l'hôte, moléculaires et de l'environnement impliqués dans la genèse des ADK

Une recherche par biologie moléculaire d'une mutation activatrice peut être utile à but diagnostique (si l'immunohistochimie est négative par exemple) voire thérapeutique. Les tumeurs gastriques sont pour la plupart caractérisées par une mutation activatrice dans deux gènes codant pour des protéines [67,68]. Ces mutations aboutissent à une activation permanente de la voie de transduction sous-jacente et à une activation des signaux mitogènes. L'ensemble des voies de signalisation décrites sont en relation étroite les unes avec les autres : toutes participent, plus ou moins directement, à la poursuite du cycle cellulaire, à la prolifération/survie ou à l'inhibition de l'apoptose.

a. HER-2

HER-2 ou Human epidermal Growth Factor Receptor 2 est une glycoprotéine transmembranaire de 185 kda codée par l'oncogène c-erbB2-neu, localisé sur le chromosome 17 (17q21) [114]. Le récepteur HER2 fait partie de la famille des Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR ou ERBB), qui comporte 3 autres récepteurs-tyrosine kinases impliqués dans l'oncogénèse :

- HER-1 ou ERBB1, impliqué dans la voie des MAP kinases (Mitogen-activated protein kinase)
- HER-3 ou ERBB3, impliqué dans la voie PI3K (phosphatidyl-inositol 3-kinase) – mTOR (mammalian target of rapamycin)
- HER-4 ou ERBB4, dont les mécanismes restent incomplètement identifiés [69].

Les récepteurs HER ont été les premiers récepteurs membranaires clairement impliqués dans la genèse de beaucoup de cancers notamment les tumeurs solides par différents mécanismes. Les altérations observées sont des mutations, des surexpressions avec ou sans amplification du gène ou une stimulation anormale par leur ligand [70]. L'implication de HER2 dans la cancérogénèse est le fait de sa surexpression souvent due à une amplification génique. Ainsi, une surexpression est retrouvée dans 7 à 34% des cancers de l'estomac [71].

b. p14ARF-MDM2/4-p53

Le gène TP53 localisé sur le chromosome 17p13.1 codant pour la protéine p53 est un gène suppresseur de tumeur et un facteur de transcription bien connu impliqué dans de nombreux cancers qui régule des processus comme l'apoptose, la réparation de l'ADN, la néovascularisation, la différenciation et le métabolisme. Il agit comme un gardien du génome. La mutation de TP53 est une des anomalies majeures des cancers humains. Elle est fréquemment observée dans le cancer de l'estomac. Le gène TP53 peut être inactivé par deux mécanismes successifs ; la perte d'hétérozygotie et la mutation de l'allèle restant.

D'après le TCGA, une mutation inactivatrice de p53 a été retrouvée dans 40% des cancers gastriques de type intestinal. Ce gène étant impliqué dans le contrôle du cycle cellulaire on comprend aisément que sa mutation puisse permettre la genèse du cancer de l'estomac.

Des mutations du gène codant pour MDM2/4 ou ARF sont présentes dans 70% des cancers gastriques. Or MDM2/4 peut dégrader la protéine p53. Par conséquent, une amplification de cette protéine peut inhiber p53 et permettre la tumorigénèse [76, 78].

c. E-cadhérine

Comme nous le verrons plus loin, l'E-Cadhérine (CDH-1) appartient à la superfamille des cadhérines, protéines impliquées dans l'adhésion cellulaire –intercellulaire.

Le gène CDH1 de la E-Cadhérine situé sur le chromosome 16q22 joue un rôle important dans la carcinogénèse gastrique : des mutations germinales de CDH-1 ont été identifiées chez les patients atteints de la forme héréditaire des cancers gastriques de type diffus [72].

Dans les formes sporadiques, l'E-Cadhérine est fréquemment inactivée par LOH, mutation ou hyperméthylation [73,74]. La méthylation est observée dans plus de 50% des cancers sporadiques de type diffus de stade précoce, alors que les mutations sont surtout observées dans les cancers diffus de stade tardif [75].

d. hMLH1

Comme dans le cancer colo-rectal, l'inactivation de hMLH1 gène de réparation de l'ADN est le plus souvent liée à des phénomènes épigénétiques d'hyperméthylation des îlots CpG du promoteur du gène. La perte d'expression de hMLH1 qui en est la conséquence est fréquemment décrite dans les cancers de phénotype instable pour les microsatellites (MSI).

Le statut MSI est défini par la présence d'erreurs de réplication dans les séquences répétées en tandem de l'ADN appelées microsatellites [76].

20% des cancers gastriques de type intestinal de stade précoce sont de phénotype MSI. Dans la même étude, aucun cancer gastrique de type diffus de stade précoce ne présentait ce phénotype [77]. De plus certaines études suggéreraient que les cancers de l'estomac de phénotype MSI sont plus fréquents chez les sujets âgés, associés à une faible prévalence des métastases ganglionnaires, à un comportement moins agressif des cancers de l'estomac et à une survie plus longue dans les cancers de score II.

Matériel et méthodes

I-Etude histologique

Il s'agit d'une étude rétrospective, portée sur une série de 40 patients admis au service d'hépatogastro-entérologie du CHU Hassan II-Fès pour la prise en charge d'un cancer gastrique de type adénocarcinome. Dans le cas des adénocarcinomes, le matériel biologique correspond le plus souvent à des résections chirurgicales ou des biopsies réalisées sur le nodule tumoral, situées dans la pièce d'exérèse chirurgicale. Dans notre série, l'ensemble des 40 échantillons répartis sous forme de 30 biopsies et 10 pièces opératoires, fixés au formol et paraffinés, ont été collectés du Service d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de FES, pour s'assurer de la qualité de prélèvement et du contenu tumoral.

Les prélèvements destinés au laboratoire pour un examen histologique, passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient lus et interprétés par le pathologiste responsable.

La technique est réalisée en cinq étapes qui sont principalement :

I.1. La fixation

La fixation est une étape essentielle dans la préparation tissulaire. Son but est de conserver le prélèvement dans un état le plus proche possible de l'état in vivo par son action intrinsèque (empêcher l'hydrolyse et la digestion enzymatique des protéines) et extrinsèque (éviter la putréfaction des tissus par les microorganismes). Elle consiste à immobiliser les tissus in-situ, en particulier les antigènes, tout en préservant l'aspect structural du tissu.

Le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Hassan II utilise comme fixateur le formol tamponné à 10%, le volume du fixateur doit représenter environ 10 fois le volume du prélèvement et la durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement.



Figure 19 : Fixation du tissu

Un examen macroscopique est d'abord effectué, au cours duquel un descriptif détaillé de la biopsie ou de la pièce opératoire est établi et au cours duquel la pièce est examinée, mesurée, pesée puis disséquée.

Cet examen donne des indications pour le pronostic de la maladie et il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique : zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse. Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

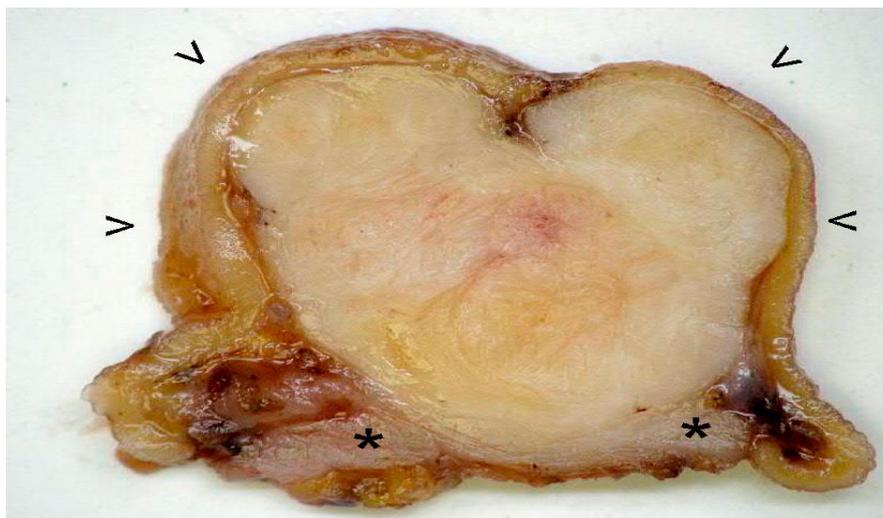


Figure 20 : Aspect macroscopique d'une résection gastrique avec une tumeur stromale d'aspect blanchâtre développée dans la musculuse (étoiles en bas) et soulève la muqueuse (flèches en haut) [79]

I.2. L'inclusion

Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltré.

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin. Or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide permettant d'obtenir des coupes minces au microtome.

L'inclusion est précédée par une étape de circulation :

Au cours de cette étape le milieu aqueux tissulaire est remplacé progressivement par le milieu d'inclusion (ou d'imprégnation). Le milieu d'inclusion utilisé au laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Hassan II-Fès est la paraffine : une substance liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'eau et dans l'alcool.

Comme cette substance est hydrophobe, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant son inclusion dans la paraffine. Vu qu'elle est aussi non soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation ; une double substitution doit être réalisée. L'eau est remplacée par l'alcool (déshydratation) et l'alcool par le toluène (substitution).

Pour réaliser cette étape, un automate d'inclusion appelé histokinette est utilisé. Il peut se charger de toutes les phases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être microtomisé.



Figure 21 : Histokinette

*L'étape de circulation consiste à faire séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires.

- ✓ **Fixation dans 2 bains de Formol 10% (30 min × 2).**
- ✓ **Déshydratation par l'alcool** : consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient, tenant compte que l'agent déshydratant doit être miscible en même temps à l'eau et à la paraffine. La déshydratation se fait dans **5 bains d'alcool de degré croissant 75%, 80%, 90%, 95%, et absolu (1h × 3, 1h30 et 2h).**
- ✓ **Eclaircissement par le toluène** : cette étape est destinée à remplacer l'alcool (l'éthanol n'étant pas miscible avec la paraffine) par un solvant de la paraffine et à chasser l'alcool par 3 bains successifs de toluène, en remplaçant l'agent déshydratant. Le toluène a un indice de réfraction proche de celui des protéines et le tissu devient transparent d'où le nom d'agent éclaircissant. Cette opération se déroule dans **3 bains de Toluène (1h, 1h30 et 2h).**
- ✓ **Enrobage dans la paraffine** : c'est l'étape terminale de la circulation, réalisée par passage du tissu dans la paraffine fondue (portée à 60°C) contenue dans de petits moules ; la chaleur provoque l'évaporation du toluène (et sa dissolution dans la paraffine), les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine ; **2 bains de Paraffine (2h et 3h)** sont utilisés. L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool).

Le bloc devient plus facile à manipuler que le tissu seul et il peut s'attacher à la pince porte-objet du microtome sans briser la pièce. Après la solidification à température ambiante, le démoulage est alors réalisé : des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine sont obtenus. Toutes ces étapes sont automatisées sauf la dernière, qui reste manuelle et qui consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe.



Figure 22 : Inclusion dans la paraffine



Figure 23 : Inclusion des fragments dans les cassettes

I.3. Microtomie ou réalisation des coupes

Après montage du bloc dans le porte-bloc du microtome, des fines tranches de 2 à 5 μm d'épaisseur sont effectuées puis immergées dans des bains d'alcool et par la suite étalées sur des lames en verre en les dépliant par flottation à la surface d'un bain chaud.



Figure 24 : Microtome

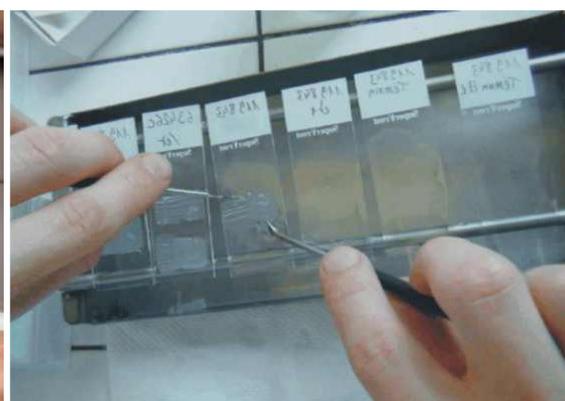


Figure 25 : Etalage des coupes

I.4. La coloration

Une coloration histologique est réalisée permettant de différencier finement tous les éléments du tissu. Elle consiste à accentuer les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Dans chaque échantillon, la tumeur est identifiée par coloration HES (hématoxyline-éosine safran). Elle a pour but de permettre la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme des cellules ainsi que des fibres de collagène.

L'hématoxyline colore le noyau en violet, l'éosine colore le cytoplasme en rose, et le safran se charge de colorer les fibres de collagène en jaune. Pour cela, les lames doivent être préparées, afin de pouvoir recevoir les colorants.

Il existe deux étapes préparatoires à la coloration : ce sont le déparaffinage et l'hydratation.

- Déparaffinage :

Cette étape consiste à incuber les lames à 70°C pendant 20 à 25 min pour faire fondre la paraffine de la pièce tissulaire et les faire plonger dans le toluène.

La pénétration des colorants utilisés, qui sont pour la plupart hydrophiles, ne peut se faire que si les tissus ont été imprégnés d'eau.

- Hydratation :

Elle a pour objet de retirer le toluène du tissu et le remplacer par de l'eau. Le toluène et l'eau n'étant pas miscibles, le toluène est d'abord remplacé par l'alcool, puis les lames sont passées dans un bain d'eau courante permettant de remplacer l'alcool par l'eau.

Protocole de la coloration HES : (Annexe 1)

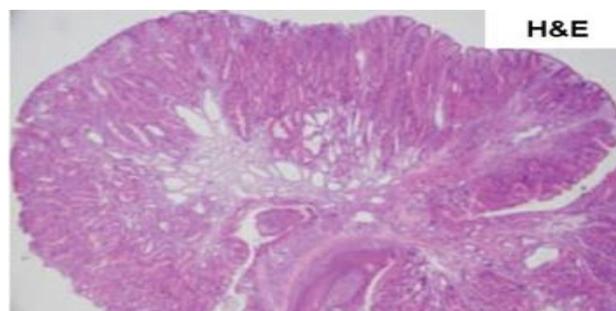


Figure 26 : Image après coloration HES de la muqueuse gastrique, grossissement $\times 100$

I.5. Le montage

Cette opération consiste, une fois la coloration terminée, à fixer à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre sur la coupe tissulaire. Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants.

La lame colorée et montée est ensuite transmise au médecin anatomopathologiste de la plateforme pour identifier une zone contenant plus de 50% de cellules tumorales.

La zone d'intérêt est cerclée avec un marqueur et ensuite séparée du reste de l'échantillon par macro-dissection, afin de s'assurer d'une proportion de cellules tumorales supérieure à 50 % et de réduire ainsi la contamination par les cellules normales. S'il y a plus de 50% de cellules tumorales, le test est considéré comme fiable [80]. Dans le cas contraire, les cellules saines peuvent interférer et il y a un risque de conclure à un résultat faux négatif.

II-Immunohistochimie

II.1. Principe

L'IHC consiste à mettre en évidence certaines protéines cellulaires, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène – anticorps. Le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur fluorescent ou enzymatique fixé directement ou indirectement sur l'anticorps.

Dans la méthode immunoenzymatique indirecte, l'Ac spécifique primaire est déposé sur le tissu, puis il est révélé par un deuxième Ac couplé à une enzyme à laquelle on fournit son substrat. Le produit coloré de la réaction enzymatique apparaît au niveau du site des complexes Ag-Ac. L'intensité du signal obtenu après la réaction antigène-anticorps dépend du pourcentage du marquage des cellules colorées.



Figure 27 : Méthode immuno-enzymatique indirecte

*Le mot immunohistochimie désigne la combinaison de l'immunologie et de l'histochimie, elle a 3 buts essentiels :

- Confirmer ou préciser l'origine du cancer primitif du patient.
- Identifier des cellules cancéreuses très indifférenciées.
- Donner des facteurs pronostiques ou prédictifs.

II.2. Rôle

En général l'immunohistochimie a joué un rôle important dans :

- L'émergence et la validation du concept des carcinomes gastriques. Elle constitue actuellement une fonction diagnostique importante en facilitant l'identification et la classification des tumeurs indifférenciées grâce à des marqueurs de différenciation épithéliale (Kératine, Cytokine...), musculaire (actine ...), vasculaire (CD34), lymphocytaire, neuroendocrinienne, et nerveuse.
- L'orientation vers une étiologie ou un point de départ de la tumeur dans le cadre de métastase, d'une porte d'entrée méconnue et dans le cadre d'un diagnostic différentiel large en cas de tumeur peu différenciée ou indifférenciée (pour certains tumeurs pulmonaires ou thyroïdiennes).
- La révélation hormonale (Gastrine, somatostatine).
- La mise en évidence des protéines d'intérêt contribuant au pronostic (intérêt pronostique).

En effet, l'immunohistochimie est largement utilisée pour le diagnostic et/ou le suivi des cancers par détection de cellules anormales telles que celles trouvées dans les tumeurs cancéreuses.

a) Les marqueurs utilisés

Une étude immunohistochimique a été faite selon une technique manuelle en utilisant un panel d'anticorps :

Tableau 1 : Rôle de chaque anticorps étudié

Anticorps	Fonction
HER2	Protéine impliquée dans les mécanismes de signalisation intracellulaire contrôlant la croissance, la survie, l'adhésion, la migration ainsi que la différenciation de la cellule. Elle constitue l'élément déclencheur d'une cascade de réactions biologiques fait d'elle l'origine de la <u>prolifération cellulaire</u> .
P53	Un <u>facteur de transcription</u> régulant de multiples fonctions cellulaires importantes comme la régulation du <u>cycle cellulaire</u> , l' <u>autophagie</u> ou l' <u>apoptose</u> .
Ki67	Un marqueur de prolifération tumorale présent dans les cellules prolifératives.

Tableau 2 : Anticorps primaires utilisés en IHC

Anticorps primaires	Fournisseur	Espèce	Clone	Dilution en IHC
HER2	Dako	Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb B-2 Oncoprotein	A0485	1/600
P53	Dako	Monoclonal Mouse Anti-Human	DO-7	Sans
Ki67	Dako	Monoclonal Mouse Anti-Human	MIB-1	Sans

Protocole expérimental de l'immunohistochimie manuelle : (Annexe 2)

b) Recueil des données

Les données ont été recueillies d'une façon prospective à partir des comptes rendus Anatomopathologiques, des fiches pré-remplis par les services de gastro-entérologues du CHU Hassan II de Fès et adressé avec le prélèvement comportant les données de la fiche d'exploitation(Annexe 3).

Résultats et discussions

I-Données épidémiologiques

Notre étude a inclus 40 patients présentant un carcinome gastrique, diagnostiqués et colligés au CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2016 et Avril 2018.

I.1. Répartition du carcinome gastrique selon les tranches d'âge

L'âge moyen de nos patients était de 58 ans, avec des extrêmes allant de 28 à 86 ans. L'étude de la distribution des cas par âge a montré que l'incidence du cancer gastrique est étroitement liée à l'âge. Les patients âgés (≥ 50 ans) représentent la tranche d'âge la plus dominante (75%).

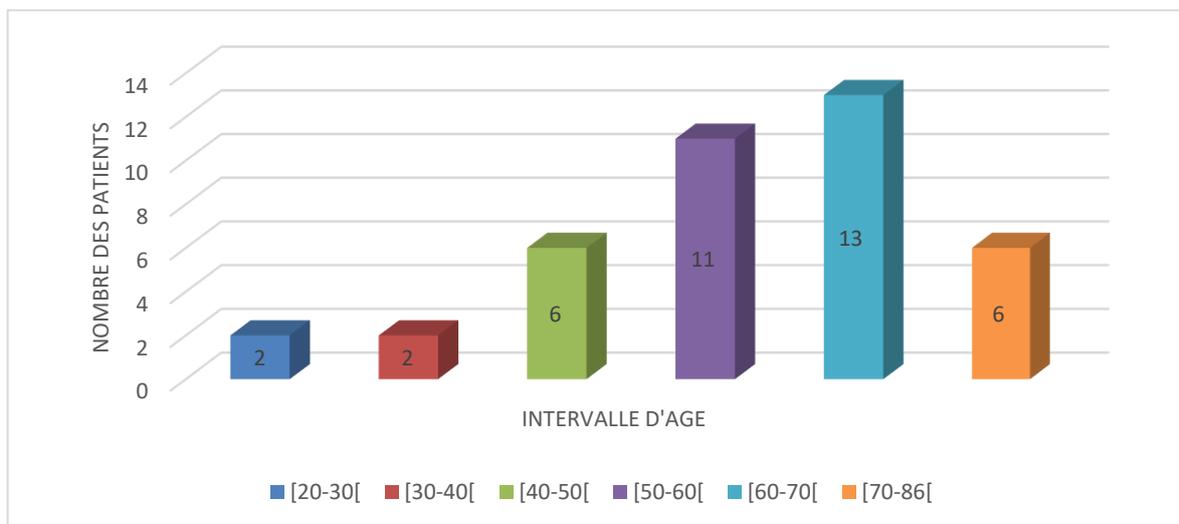


Figure 28 : Distribution des patients selon les tranches d'âge

I.2. Répartition du carcinome gastrique selon le sexe

La répartition du carcinome gastrique selon le sexe montre une prédominance masculine avec 25 hommes et 15 femmes, soit un sex ratio (homme/femme) de 1.7.

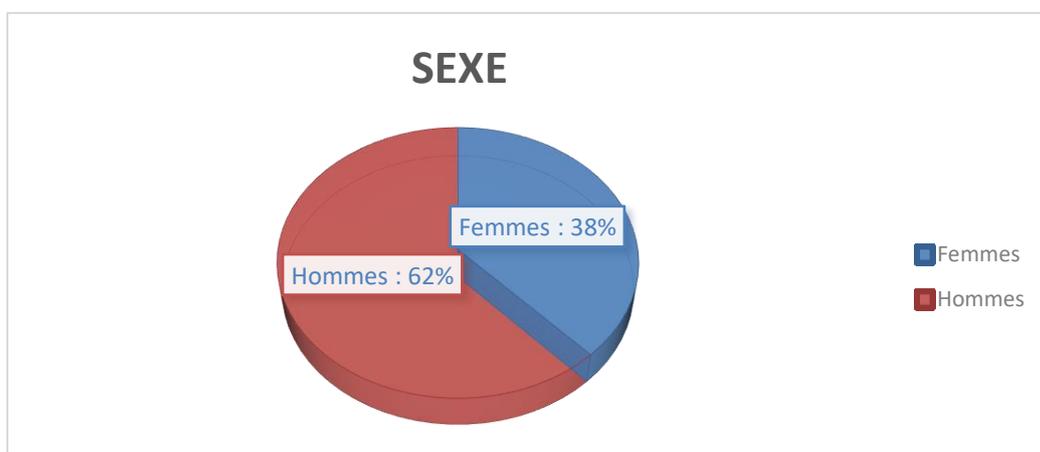


Figure 29 : Distribution des patients selon le sexe

I.3. Répartition du carcinome gastrique selon l'origine

La répartition du carcinome gastrique selon le milieu d'origine montre que 23/40 patients (60%) de nos patients provenaient du milieu rural.

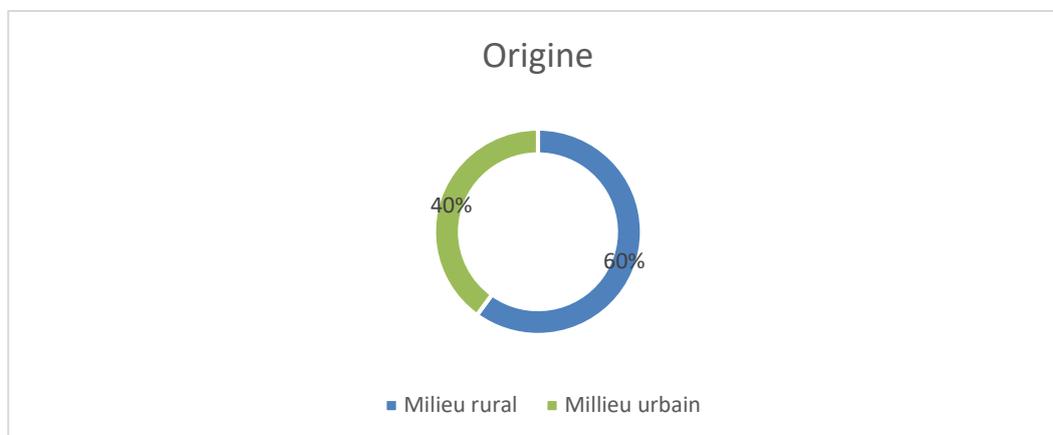


Figure 30 : Distribution des patients selon le milieu d'origine

I.4. Facteurs de risque

Les facteurs de risques retrouvés chez nos patients avec leur fréquence sont résumés dans la figure suivant :

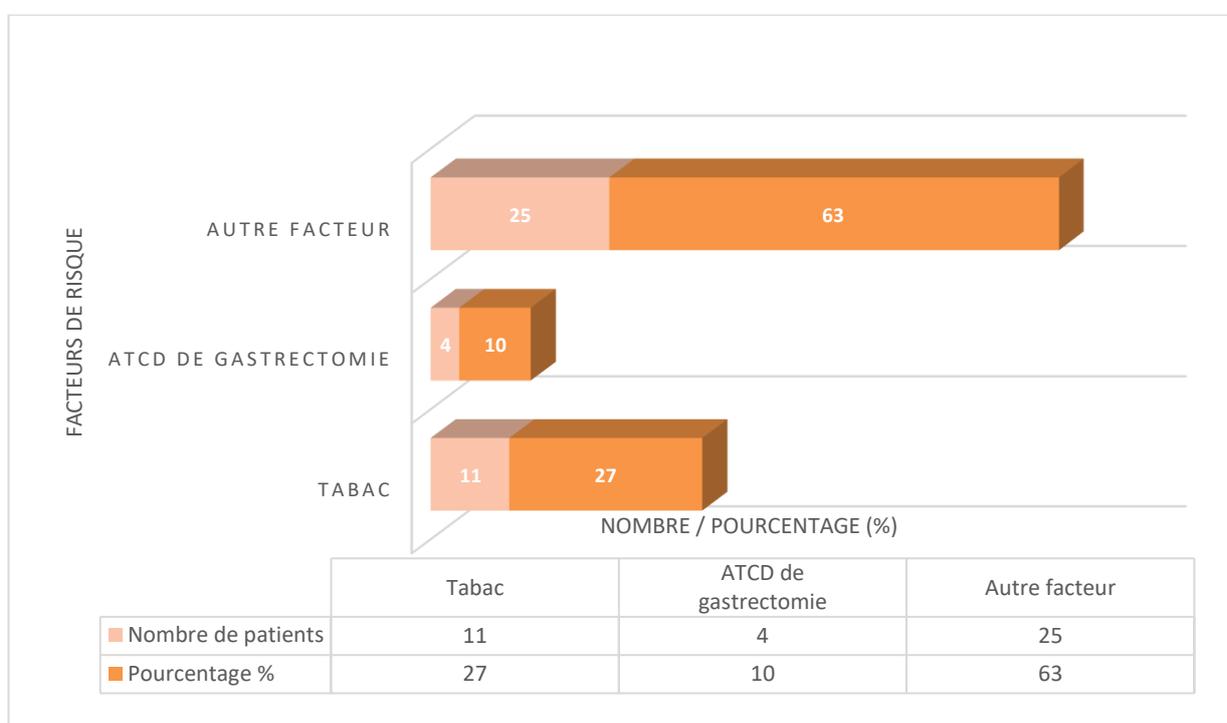


Figure 31 : Facteurs de risque

I.5. Symptômes cliniques

Les symptômes cliniques les plus observés dans notre série sont la douleur épigastrique (53%), la perte de poids (50%) et les vomissements (33%).

Tableau 3 : Répartition du carcinome gastrique selon les symptômes cliniques

Symptômes	Nombre	Pourcentage (%)
Asthénie	4	11
Anémie	4	11
Anorexie	4	11
Moelena	7	19
Dysphagie	6	17
Douleur épigastrique	19	53
Hématémèses	8	22
Vomissements	12	33
Amaigrissement	18	50

I.6. Répartition du carcinome gastrique selon la localisation de la tumeur

Différentes localisations tumorales ont été notées. La localisation pylorique a été la plus fréquente. Elle a été retrouvée dans 19/40 cas (47.5%).

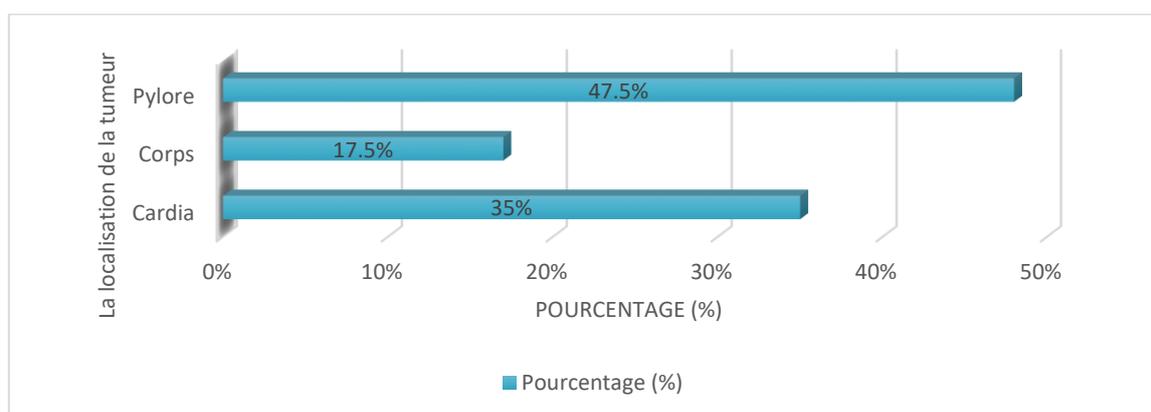


Figure 32 : Répartition du carcinome gastrique selon la localisation de la tumeur.

I.7. Répartition du carcinome gastrique selon l'étude histologique

Cette série est composée de 40 cas dont 31 adénocarcinomes et 9 carcinomes à cellules indépendantes. Selon la classification de Lauren, 29/40 cas (72.5%) sont de type intestinal et 11/40 cas (27.5%) sont de type diffus ou mixte. Selon le degré de différenciation, 26/40 cas (65%) sont bien /moyennement différenciés et 14/40 (35%) sont peu différenciés ou indifférenciés.

II-Immunohistochimie

II.1. Résultats immunohistochimiques

Tableau 4 : Résultats des anticorps primaires HER2, p53, Ki67

		Nombre de cas	Pourcentage (%)
Statut HER2	Négatif	21	52.5
		11	27.5
	Equivoque	2	5
	Positif	6	15
P53	Négatif	19	47.5
	Positif	21	52.5
Ki67	Négatif	24	60
	Positif	16	40

L'interprétation du marquage HER2 est basée sur l'intensité du marquage membranaire et le pourcentage des cellules tumorales marquées. Un seuil de 10% des cellules tumorales marquées a été retenu pour les pièces opératoires et 5 cellules cohésives pour les biopsies [81]. L'immunomarquage HER2 a montré que 21/40 (52.5%) cas étaient de score 0. 11/40 (27.5%) cas de score 1. 2/40 (5%) cas de score 2 et 6/40 (15%) cas de score 3. Les scores 0 et 1 sont considérés comme négatifs, le score 3 comme positif et le score 2 comme équivoque. Dans cette dernière situation, la recherche de l'amplification du gène HER2 par FISH est nécessaire mais dans notre étude, la FISH n'a pas été réalisée faute de temps.

L'expression de la p53 montre un marquage nucléaire au niveau des cellules tumorales. Le seuil de positivité est de 10% des cellules tumorales marquées [82]. Dans notre série, l'expression de la p53 était positive dans 21/40 (52.5%) cas. Quant au marqueur Ki67, le seuil de positivité est fixé à 40% des cellules tumorales présentant un marquage nucléaire [83, 84, 85, 86]. Dans cette étude, 16/40 (40%) cas ont montré un indice de prolifération tumorale Ki67 élevé.

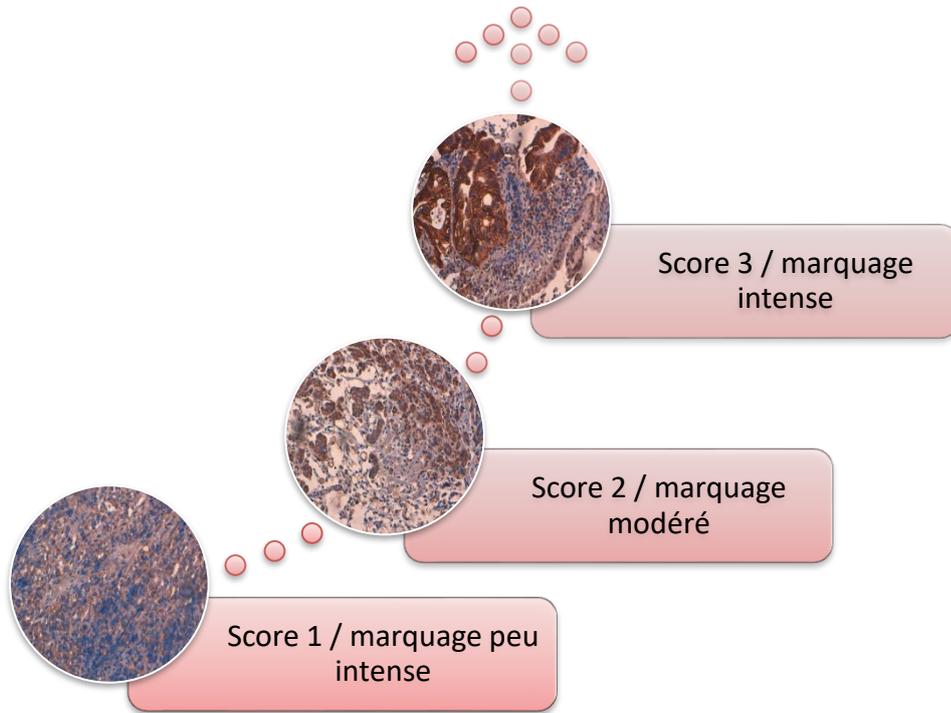


Figure 33 : Marquage membranaire basolatéral du biomarqueur HER2 dans la muqueuse gastrique en fonction du score

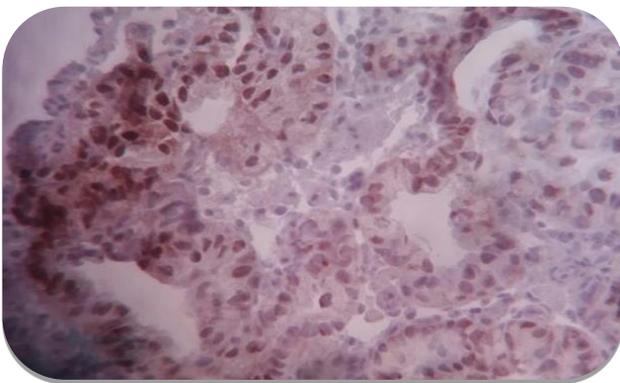


Figure 34 : Marquage nucléaire du biomarqueur p53 dans la muqueuse gastrique

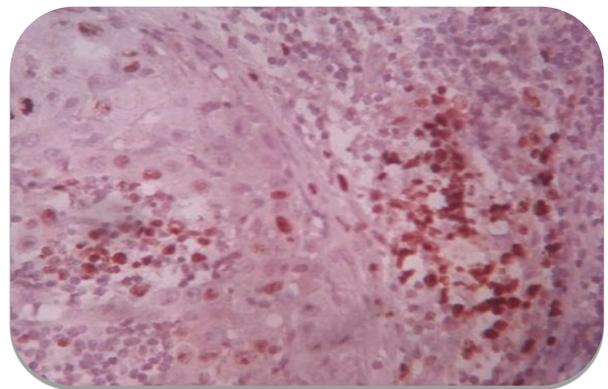


Figure 35 : Marquage nucléaire du biomarqueur Ki67 dans la muqueuse gastrique

III- Discussion

Les résultats obtenus dans notre étude descriptive sont en accord avec ceux de la littérature. En effet, l'âge moyen de nos patients et la prédominance masculine concordent avec les données qui ressortent dans d'autres études. Le cancer de l'estomac est rare avant l'âge de 50 ans. Le risque augmente avec l'âge et plus rapidement chez l'homme que chez la femme [80]. L'âge moyen de survenue de ce cancer est de 60 ans. Une étude rétrospective menée au centre de radiothérapie et d'oncologie Ibn Rochd, entre janvier 2006 et décembre 2007 concernant une série de 144 patients traités pour un cancer de l'estomac a trouvé que l'âge moyen des patients était de 56 ans (24–90 ans). Le sex-ratio hommes/femmes était de 1,9 [22]. Ce résultat concorde avec celui de notre série où la prédominance du sexe masculin a été mise en évidence avec 25 hommes (62,5%) et 15 femmes (37,5%) soit un sexe ratio de 1,7. Dans plusieurs séries [22,87], y compris notre étude, l'âge moyen de survenue du carcinome gastrique se situe aux alentours de 58 ans avec des extrêmes allant de 28 ans à 86 ans. 58% des patients consultaient dans un délai allant de 1 mois à 6 mois.

La plupart de nos patients (60%) proviennent des régions rurales. Ce résultat est similaire à celui réalisé dans un centre hospitalier marocain sur l'épidémiologie du cancer gastrique en 2014 dont 43.7% des patients provenaient souvent du milieu rural de la région de Fès [87]. Ceci suggère l'importance des facteurs environnementaux, notamment alimentaires dans la carcinogénèse gastrique [37, 38]. Cette différence d'incidence du cancer gastrique entre le milieu rural et le milieu urbain, peut être projetée à celle existant entre les pays développés et les pays sous-développés. Ainsi, plusieurs études ont montré que la consommation excessive de sel et d'aliments riches en sel est un facteur de risque du cancer de l'estomac. Une méta-analyse de sept études prospectives portant sur 270 000 personnes a montré une relation entre la consommation de sel alimentaire et le risque de cancer gastrique. Le risque était accru de 68% en cas de consommation élevée par rapport à une faible consommation [88]. Le sel agirait en favorisant l'inflammation de la muqueuse gastrique et en augmentant la prolifération cellulaire. D'autres études ont montré que la consommation de fruits et de légumes a un effet protecteur et qu'elle permet de réduire le risque de cancer gastrique d'environ 40% pour les fruits et 25% pour les légumes [42].

Sur le plan histologique, les 40 cas du cancer gastrique sont répartis sous forme de 31 adénocarcinomes (77.5%) et 9 carcinomes à cellules indépendantes. Ce résultat concorde avec celui d'une étude réalisée sur 343 patients admis au service d'hépatogastroentérologie du CHU Hassan II de Fès pour prise en charge d'une tumeur gastrique et dont 170 patients avaient un

adénocarcinome gastrique (49.5%) [87]. Le mode de révélation de l'adénocarcinome gastrique dans notre population a pris différents aspects cliniques. Ceci rejoint une étude concernant les symptômes cliniques les plus observés dans une série de 343 patients, où principalement les douleurs épigastriques (75%) ont été trouvées suivies d'une hémorragie digestive (19%) et enfin d'une dysphagie (11%). D'autres symptômes généraux par exemples l'asthénie et nausées/ vomissements [87] ont été aussi observés.

L'aspect microscopique est mis en évidence par la coloration HES qui n'est pas suffisante pour confirmer s'il s'agit d'un cancer gastrique d'où l'intérêt de recourir à l'immunohistochimie.

Les résultats de l'immunomarquage HER2 ont montré 6/40 (15%) patients surexprimant HER2 (score 3). Ces patients sont éligibles au traitement par Trastuzumab. 2/40 (4%) cas étaient ambigus (score 2 en IHC). Pour ces derniers, un complément par FISH est nécessaire pour la recherche de l'amplification du gène HER2.

L'étude de l'expression de la protéine p53 a montré une surexpression de cette dernière dans 21/40 cas (52.5%), ce qui est en accord avec les données de la littérature où le taux d'expression de p53 détecté par immunohistochimie varie de 13-54% dans le cancer de l'estomac [89].

Concernant Ki67 qui est un antigène nucléaire exprimé dans les cellules dans les phases actives du cycle cellulaire, l'étude de son expression a montré que 16/40 (40%) patients présentaient un indice de prolifération tumorale Ki67 élevé. Plusieurs études ont confirmé l'intérêt pronostique de Ki67 dans les carcinomes gastriques [90, 91, 92].

Conclusion

L'étude de l'expression de HER2, p53 et Ki67 dans les carcinomes gastriques est nécessaire pour une meilleure prise en charge et le suivi des patients.

Ainsi, la surexpression HER2 confère une éligibilité au traitement par Trastuzumab qui est un anticorps monoclonal humanisé ayant une grande affinité et spécificité pour HER2. Le Trastuzumab est qualifié d'un puissant médiateur de la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC) [93, 94].

La protéine p53 est une molécule indispensable au maintien de l'intégrité de la cellule et de ses composantes. Le gène codant pour la protéine p53 est inactivé dans le développement de nombreuses tumeurs malignes y compris le cancer gastrique. La surexpression due à l'accumulation de la protéine p53 mutée par immunohistochimie a été largement utilisée comme marqueur pour la détection d'anomalies de la p53 [86]. Plusieurs études ont été réalisées sur l'intérêt pronostique de la surexpression de la protéine p53 dans les carcinomes gastriques, mais les résultats restent controversés [95].

La réactivation de p53 représente une nouvelle stratégie thérapeutique. Des études de culture tissulaire dans le cancer gastrique ont démontré que les thérapies visant à diminuer la surexpression de p53 augmentent la sensibilité à la radiothérapie et à la chimiothérapie [96].

Dans la littérature, l'antigène nucléaire Ki 67 montre une variabilité du seuil de positivité [90, 91, 92]. L'étude de l'expression du ki67 doit bénéficier de recommandations internationales pour prouver sa reproductibilité et sa validité avant d'être intégré en pratique clinique, dans la liste des biomarqueurs.

Annexe 1: Protocole standard de la coloration

HES (Hématoxyline- éosine-safran)

La coloration **HES** est la coloration de base pour l'étude histologique de l'anatomopathologie :

- L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé
- L'éosine colore les cytoplasmes en rose
- Le safran colore les fibres collagènes en jaune

Etapas	Durée
1- Déparaffinage	
passage à l'étuve 60°C	1 nuit
2 bains de toluène	5 min / Bain
1 bain d'alcool à 70%	5 min
1 bain d'alcool à 80%	5 min
1 bain d'alcool absolu	5 min
Rinçage à l'eau courante	1 min
2- Technique	
1 bain de l'hématoxyline	5 min
Rinçage à l'eau courante	1 min
Passage dans l'alcool chlorhydrique	
Rinçage à l'eau courante	
Passage dans l'alcool ammoniacal	
Rinçage à l'eau courante	1 min
1 bain d'éosine 2%	5 min
Rinçage à l'eau courante	1 min
1 bain d'alcool à 70%	1 min
1 bain d'alcool à 80%	1 min
1 bain d'alcool absolu	1min
1 bain de safran	10 min
Ethanol-méthanol	1 min
1 bain de toluène	

Une fois la coloration est terminée, on fait un montage entre lame et lamelle.

Annexe 2 : Protocole expérimental de l'immunohistochimie manuelle

Etapés	Durée
- <u>Déparaffinage :</u>	
Passage à l'étuve (60°C).	1 nuit
Toluène (2bains).	5-10 mn chacun
Alcool absolu (3bains).	5-10 mn chacun
Rinçage à l'eau courante.	10 mn
- <u>Technique :</u>	
Egoutter les lames.	
Passage dans H ₂ O ₂ (à 3%).	10 mn
Rinçage à l'eau courante.	10 mn
Passage au bain-marie (95°C) dans du tampon citrate.	20 mn
Rinçage à l'eau courante	10 mn
Rincer avec du PBS (1bain).	5 mn
Egoutter les lames et entourer les fragments par le PAP-PEN.	
Mettre le bloquant sur le fragment (1à2gouttes/fragment) et disposer les lames dans une chambre humide.	10 à 15 mn
Enlever le surplus du bloquant en secouant.	
Application de l'anticorps primaire (1à2gouttes/fragment) et disposer les lames dans une chambre humide. (Ne pas oublier de graver le nom de l'Ac primaire sur la lame)	1 h
Egoutter un peu les lames ; les mettre dans un panier.	
Rinçage dans du PBS (2bains).	5 mn chacun
Application de l'anticorps secondaire (1à2gouttes/fragment) et disposer les lames dans une chambre humide.	1h
Rinçage dans du PBS (2bains).	5 mn chacun
Application de la peroxydase.	15 mn
Rinçage dans du PBS (2bains).	5 mn chacun
Egoutter les lames.	
Application sur chaque lame de 2 gouttes de chromogène fraîchement préparé (2gouttes de S+5ml d'AEC). (Pour 10 lames : 20 gouttes d'AEC substrat + ½ goutte d'AEC chromogène)	4 à 15 mn
Rinçage à l'eau courante.	10 mn
Egoutter les lames.	
Application de l'hématoxyline.	4 mn
Rinçage à l'eau courante.	10mn
Passage rapide dans du carbonate de lithium saturé. (7 fois)	Quelques secondes
Rinçage à l'eau de robinet.	
Montage à l'eau.	

Annexe 3 : Fiche d'exploitation

<p>Service d'hépatogastro-entérologie CHU Hassan II-Fès Médecin traitant..... Date création du dossier :...../...../.....</p>	<p>DOSSIER MEDICAL NEO ESTOMAC</p>		
<p>I) Identité:</p> <ul style="list-style-type: none"> • IP..... • Nom & prénom..... • Age:.....ans • Sexe: masculin Féminin • Origine..... • Adresse..... Milieu: U R Province..... • Date d'hospitalisation...../...../..... • Durée d'hospitalisation:..... • Tél:..... • Référéde: non Sioui centre desanté Autrehospitalpri vé 	<p>VI) Fibroscopie:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> ▪ FOGD: Siège: 1- Antropylorique 2- Petitecourbure 3- Corps 4- Cardia 5- Grandecourbure 6- Étendue ▪ ANAPATH: 1- adénocarcinome 2- linite 3- lymphoma 4- tumeurscarcinoides 5- tumeursecondaire 6- statut HP positif négatif 7- autre: </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding-left: 20px;"> <p>Macroscopie:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1- Tumeurvégétante 2- Ulcérée 3- Ulcéro-végétante 4- Grosplis </td> </tr> </table> <p>..... </p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FOGD: Siège: 1- Antropylorique 2- Petitecourbure 3- Corps 4- Cardia 5- Grandecourbure 6- Étendue ▪ ANAPATH: 1- adénocarcinome 2- linite 3- lymphoma 4- tumeurscarcinoides 5- tumeursecondaire 6- statut HP positif négatif 7- autre: 	<p>Macroscopie:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1- Tumeurvégétante 2- Ulcérée 3- Ulcéro-végétante 4- Grosplis
<ul style="list-style-type: none"> ▪ FOGD: Siège: 1- Antropylorique 2- Petitecourbure 3- Corps 4- Cardia 5- Grandecourbure 6- Étendue ▪ ANAPATH: 1- adénocarcinome 2- linite 3- lymphoma 4- tumeurscarcinoides 5- tumeursecondaire 6- statut HP positif négatif 7- autre: 	<p>Macroscopie:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1- Tumeurvégétante 2- Ulcérée 3- Ulcéro-végétante 4- Grosplis 		
<p>II) Motif d'hospitalisation:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- douleurépigastrique 2- hémateméses 3- vomissements 4- syndromes paranéoplasiques 5- amaigrissement 6- moelena 7- dysphagie 8- anorexie 9- anémie 10- asthénie 11- absence de signes 12- autres..... <p>Evolution des signes:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- inférieur à 1 mois 2- 1 mois-6 mois 3- Supérieur à 6 mois 	<p>VII) Biland'extension: RXPOUMON:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Normal 2- Métastasespulmonaires 3- Epanchementpleural <p>Autres :..... ECHO</p> <p>ABDOMINALE:faite nonfaite</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Normal 2- Métastaseshépatiques <ul style="list-style-type: none"> • Aspect..... • Taille..... • Nombre..... 3- Epanchementintrapéritonéal 4- Adénopathies <ul style="list-style-type: none"> • Localisations5- 5- Epanchementpleural 6- Autres..... <p>TDM TAP</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Tumeurlocalementévoluée nonmétastatique ▪ Métastaseshépatiques ▪ Métastasespulmonaires ▪ Carcinoseperitonéale ▪ Autres <p>AUTRES EXPLORATIONS RADIO : </p>		
<p>III) Facteurs de risques:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- ATCD degastrectomie 2- Polypesgastriques 3- ATCD d'ulcèregastrique 4- Maladie deMénétrier 5- ATCD de gastriteatrophique 6- Cancerfamilial 7- Alcool 8- tabac 	<p>VIII) Traitement :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- chirurgiepalliative 2- chirurgiecurative 3- chimiothérapie 4- contre-indication opératoire 5- abstentionthérapeutique préciser type de chirurgie..... 		
<p>IV) Examen physique</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Normal, OMS:..... 2- Masseépigastrique 3- Ascite 4- Ganglion detroisier 5- Autre:..... 	<p>IX) Evolution:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Guérison ▪ Récidive ▪ Complication ▪ Décédé ▪ Autres 		
<p>v) Biologie:</p> <p>-Hb.....g/dl -Taux de protide.....g/l, albumin.....g/l -ACE :....., CA 19,9.....</p>			

Références bibliographiques

- [1]. Globocan 2012: Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.
- [2]. Chbani L., Hafid I., Berraho M., Mesbahi O., Nejari C. et Amarti A ; 2013. Aspects épidémiologiques et anatomopathologiques des cancers dans la région de Fès-Boulemane (Maroc). Eastern Mediterranean Health Journal, EMHJ;19(3).
- [3]. W.-D. MENG. R.-X. CHU. B.-Z. WANG. L.-P. WANG. L.-L. MA. 2013. Helicobacter pylori infection and expressions of apoptosis-related proteins p53, ASPP2 and iASPP in gastric cancer and precancerous lesions PathologieBiologie; 1-4.
- [4]. WEI J, NOTO J, ZAIKA E, ROMERO-GALLO J, CORREA P, EL-RIFAI W, ET AL. 2012. Pathogenic bacterium Helicobacter pylori alters the expression profile of p53 protein isoforms and p53 response to cellular stresses. ProcNatlAcadSci U S A.
- [5]. YANG Z, SHU X, CHEN L, CHEN J, XIE Y, LU NH. 2012. Expression of p53-MDM2 feedback loop related proteins in different gastric pathologies in relation to Helicobacter pylori infection: implications in gastric carcinogenesis. Clin Res Hepatol Gas-troenterol; 36:235–43.
- [6]. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. The Cancer Genome Atlas Research Network. 2014; 513, 202–209.
- [7]. Dickens C, Lambert B, Cromwell T, and Piano MR. 2013. Nurse Overestimation of Patients' Health Literacy. 18(1). 62–69.
- [8]. Li X, Patrick YGM, Dau-Yin Chang W, Levine , Liu et al. 2001. Repair of oxidative DNA damage :Mechanisms and functions. 35(2); 141–170.
- [9]. Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Stemmermann GN, Noffsinger A. 2003. TP53 and gastric carcinoma. 21(3); 258-70.
- [10]. Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. 182(3); 311-22.
- [11]. Martini FH, Timmons MJ, Tallitsch RB. 2012. Human Anatomy. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.
- [12]. MINEURA L, JAEGLEA E, POINTREAU YF. 2010. DENISC Gastric cancer Cancer/Radiothérapie 14 Suppl. 1; S84–S93
- [13]. BERRINO F, SANT M, VERDECCHIA ET AL. 2002. Cancer incidence in five continents. IARC Scientific Publication (1); 155.
- [14]. LING Y. 2006. Incidence and mortality of gastric cancer in China. World J Gastroenterology; 12(1) :17-20.
- [15]. S, MATSUMOTO T, KOBORI Y, IDA M. 2002. Impact of Helicobacter Pylori infection and mucosal atrophy on gastric lesions in patients with familial adenomatous polyposis Gut.

- [16]. Institut national des cancers : Incidence et mortalité nationales des cancers.
- [17]. REGISTRE d'oncologie de rabat.
- [18]. REGISTRE DES CANCERS DE LA REGION DU GRAND CASABLANCA. 2004.
- [19]. NEUGUT AI, HAYEK M, HOWE G. 2006. Epidemiology of gastric cancer. Semin. Oncol .
- [20]. APARICIO T, YACOUB M, KARILA-COHEN P, RENE E. 2004. Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement. EMC-Chirurgie 1; 47-66.
- [21]. N.MARCATO, K.SLIM, C.DARCHA, G.BOMMELAER : Tumeurs gastriques. Traité de gastroentérologie, (31); 374-384.
- [22]. 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.
- [23]. Delchier J C. 2004. Les lésions précancéreuses gastriques: quelle prévention? GastroenterolClin Biol., 28 (5); 172-177.
- [24]. Correa P, Piazuelo MB. 2008. Natural history of Helicobacter pylori infection. Dig Liver Is 40(7); 490-6.
- [25]. Correa P. 1992. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res;52(24);6735-6740.
- [26]. MCFARLANE GA, MUNRO.A. 1997. Helicobacter pylori and gastric cancer. 84; 1190-1199.
- [27]. Bouché O, Lagarde S. Stomach cancer. 2005. Rev Prat.55(2); 123-30.
- [28]. Les lésions précancéreuses gastriques: quelle prévention? GastroenterolClin Biol., 28 (5); 172-177.
- [29]. Correa P, Piazuelo MB. 2008. Natural history of Helicobacter pylori infection. Dig Liver Is 40(7); 490-6.
- [30]. SEGOL.PH, ET AL. 1994. Cancer de l'estomac. Notions fondamentales et diagnostic. EncyclMédChir (Paris France), Gastro-entérologie, 9-027-A-10, 18p.
- [31]. CHATELAINA D, JEAN-FRANC, FLEJOUR O. 2011. Oesophageal and gastric pathology: Early neoplastic lesions. Case no. 7. Pyloric adenoma of the stomach. Annales de pathologie. 31; 385—389.
- [32]. SOCIÉTÉ NATIONAL FRANÇAISE DE GASTRO ENTÉROLOGIE. Objectifs nationaux d'apprentissage en gastro entérologie 2006.
- [33]. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2000. (75): Ionizing Radiation Part 1: X- and Gamma (γ)-Radiation, and Neutrons.
- [34]. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2004. (83): Tobacco smoke and involuntary smoking.
- [35]. American Institute for Cancer Research / World Cancer Research Fund. 2016. Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Stomach Cancer.
- [36]. International Agency for Research on Cancer (IARC). 1997. (70): Epstein-Barr virus and Kaposi's sarcoma herpesvirus/human herpesvirus 8.
- [37]. F.DELAHAYE. Devons-nous consommer moins de sel ? 2014. Presse Med.41; 644–649.

- [38]. CAMPOS F, CARRASQUILLA G, KORIYAMA C. 2006. Risk factors of gastric cancer specific for tumor location and histology in Cali, Colombia. *World J Gastroenterol*; 12(36); 5772-5779.
- [39]. Aparicio T, Yacoub M, Karila-Cohen P, René E. 2004. Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement. *Encyclopédie Médico-chir.*, 9-027-A-10.
- [40]. Gill S, Shah A, Le N, Cook EF, Yosida EM. 2003. Asian Ethnicity Related Differences in Gastric Cancer Presentation and Outcome Among Patients Treated at a Canadian Cancer Center. *J clinoncol.*, 21(11); 2070-76.
- [41]. Layke JC, Lopez PP. 2004. Gastric cancer: Diagnosis and Treatment Options. *Am Fam Physician*, 69(5) ; 1133-40.
- [42]. BENHAMICHE.A.M. 1997. Epidémiologie et étiologie des tumeurs gastriques malignes. *RevPrat* .47; 833-836.
- [43]. DEVESA SS, BLOT WJ, FRAUMENI JF JR.
Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998;83:2049–53.
- [44]. HEMMINKI K, JIANG Y. 2002. Familial and second gastric carcinomas: a nation wide epidemiologic study from Sweden. *Cancer* . 94; 1157-65.
- [45]. LAURENT-PUIG P. 2001. Intérêt de la gastrectomie prophylactique chez les sujets porteurs d'une mutation délétère du gène de l'E-cadhérine. *GastroenterolClin Biol*.25; 931-2.
- [46]. American Society of Clinical Oncology. 2014. Hereditary Diffuse Gastric Cancer.
- [47]. American Cancer Society. 2014. Stomach Cancer. Atlanta, GA: American Cancer Society.
- [48]. Czito BG, Palta M & Willett CG. 2013. Stomach cancer. Halperin EC, Wazer DE, Perez CA et al. 2013. Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. 58.
- [49]. Martini FH, Timmons MJ, Tallitsch RB. 2012. Human Anatomy. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings. National Cancer Institute. 2009. What You Need to Know About Stomach Cancer. Bethesda, MD: National Cancer Institute.
- [50]. Young B, O'Dowd G, Woodford P. 2014. Wheaters's Functional Histology. Churchill Livingstone.
- [51]. American Joint Committee on Cancer. 2010. AJCC Cancer Staging Handbook. Chicago: Springer.
- [52]. Avital, I et al. 2011. Cancer of the stomach. DeVita VT Jr, Lawrence TS, & Rosenberg SA. 2011. Cancer: Principles & Practice of Oncology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 80; 924-954.
- [53]. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH & Theise ND. 2010. WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC).
- [54]. Macmillan Cancer Support. 2013. Stomach Cancer. London, UK: Macmillan Cancer Support.
- [55]. Yao JC, Crane CH, Sano T, et al. 2010. Carcinoma of the stomach. Hong WK, et al. Holland Frei Cancer Medicine. People's Medical Publishing House. 84; 1086-1108.

- [56].Richard M. Peek, Jr. 2008.Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models.1(1) ; 50–55.
- [57].Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. 1996. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. 20(10) ; 1161-81.
- [58]. APARICIO, YACOUB M, KARILA-COHEN P, RENE E. 2004. Adénocarcinome gastrique: notions fondamentales, diagnostic et traitement. EMC-Chirurgie.
- [59]. Allal S, Ajana A, Gueddari FZ, Nassar I. 2013. Département de radiologie médicale, Hôpital Avicenne, Rabat Maroc.
- [60]. Gouzi JL, Huguier M, Fagniez PL, Launois B, Flamant Y, LacaineF,et al. 1989. Total versus subtotal gastrectomy for adenocarcinoma of the gastric antrum. A French prospective controlled study. 209(2); 162-6.
- [61]. American Joint Committee on Cancer.2010. AJCC Cancer Staging Handbook. Chicago: Springer.
- [62]. Brierley JD, Gospodarowicz MK and Wittekind C . 2017. TNM Classification of Malignant Tumours. Wiley Blackwell.
- [63]. Guo M., Hay B. 1999. Cell proliferation and apoptosis CurrOpin Cell Biol. 11;745-752.
- [64]. Soussi T., Beroud C. 2001. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome. Nat Rev Cancer.1; 233-240.
- [65]. Rakoff-Nahoum S. 2006.Why Cancer and Inflammation? Yale J BiolMed.79(3-4); 123–130.
- [66]. Panani AD. 2008. Cytogenetic and molecular aspects of gastric cancer clinical implications. Cancer Lett. 266(2); 99-115.
- [67]. Sanders KM. 1996. A case for interstitial cells as pacemakers and mediators in neurotransmission in the gastrointestinal tract. Gastroenterology. 111; 492-515.
- [68]. Daimaru Y, Kido H, Hashimoto H, Enjoji M. 1988. Benign schwannoma of the gastrointestinal tract: a clinicopathologic and immunohistochemical study. Hum Pathol. 19 ; 257-64.
- [69]. Cucherousset J, Yajizi N. 2012. HER2 et adénocarcinome gastrique. DOSSIER SPECIAL : Focus sur l'Anatomo-Cyto-Pathologie. Le nouveau Cancérologue. 5(3).
- [70]. Gschwind A, Fischer OM, Ullrich A. 2004. The discovery of receptor tyrosine kinase: targets for cancer therapy. Nat Rev Cancer. 4; 361-70.
- [71]. Janjigian YY, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Kelsen DP, Jäger E, et al. 2012. Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis. Ann Oncol. 23; 2656-2662.
- [72]. Gayther SA, Goringe KL, Ramus SJ, Huntsman D, Roviello F, Grehan N, et al. 1998. Identification of germ-line E-Cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. Cancer Res.58 (18); 4086-9.
- [73]. Becker KF, Atkinson MJ, Reich U, Becker I, Nekarda H, Siewert JR, et al. 1994. E-Cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. Cancer Res. 54(14); 3845-52.
- [74]. Machado JC, Oliveira C, Carvalho R, Soares P, Bex G, Caldas C, et al. 2001. E-Cadherin gene (CDH1) promoter methylation as the second hit in sporadic diffuse gastric carcinoma.Oncogene. 20(12); 1525-8.

- [75]. Tamura G. 2006. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol.*12 (2); 192-8.
- [76]. Gayther SA, Goringe KL, Ramus SJ, Huntsman D, Roviello F, Grehan N, et al. 1998. Identification of germ-line E-Cadherin mutations in gastric cancer families of European origin. *Cancer Res.* 58(18); 4086-9.
- [77]. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. 2006. *World J Gastroenterology.*
- [78]. Bellini MF, Cadamuro ACT, Succi M, Proenc MA, and Silva AE. 2012. Alterations of the TP53 Gene in Gastric and Esophageal Carcinogenesis.
- [79]. Campus d'anatomiepathologique.
- [80]. Bibeau F, Lopez-Crapez E, Di Fiore F, Thezenas S, Ychou M, Blanchard F, Lamy A, Penault-Llorca F, Frébourg T, Michel P, Sabourin JC, Boissière-Michot F. 2009. Impact of Fc {gamma}RIIa-Fc{gamma}RIIIa polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan. *27(7); 1122-9.*
- [81]. Hofmann M, Stoss O, Büttner R, et al. 2008. Assessment of HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology.* 52; 797-805.
- [82]. Shin A, Kim J, Park S. 2011. Gastric Cancer Epidemiology in Korea. *J Gastric Cancer.* 11(3); 135–140.
- [83]. Aparicio T, Yacoub M, Karila-Kohen P, René E. 2004. Adénocarcinome gastrique: notions fondamentales, diagnostic et traitement. *EMC.* 1(1) ; 1–84.
- [84]. Allegra CJ, Paik S, Colangelo LH, et al. 2003. Prognostic value of thymidylate synthase, Ki-67, and p53 in patients with Dukes' B and C colon cancer: a National Cancer Institute- National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project collaborative study. *J ClinOncol.* 21; 241-50.
- [85]. van Triest B, Pinedo HM, Blaauwgeers JL, et al. 2000. Prognostic role of thymidylate synthase, thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor, and proliferation markers in colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 6; 1063-72.
- [86]. Zeggai S, Harir N, Tou A, Sellam F, N. Mrabent M, Salah R. 2015. Immunohistochemistry and scoring of Ki-67 proliferative index and p53 expression in gastric B cell lymphoma from Northern African population: a pilot study.
- [87]. Mellouki I, Iazar N, Benyachou B, Aqodad N, Ibrahimi A. 2014. Epidémiologie du cancer gastrique: expérience d'un centre hospitalier marocain. *The Pan African Medical Journal.*
- [88]. Robaszkiewicz M. 2012. Facteurs de risque et prévention du cancer gastrique. *Acta Endoscopica.* 42(5); 232-236.
- [89]. Karim S. 2014. Clinicopathological and p53 gene alteration comparison between young and older patients with gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 15; 1375-9.
- [90]. Chen L, Li X, Wang GL. 2018. Clinicopathological Significance of Overexpression of TSPAN1, Ki67 and CD34 in Gastric Carcinoma.

- [91]. Ko GH, MD, PhD, Se-II Go, MD, Won Sup Lee, MD, PhD, Jeong-Hee Lee, MD, PhD, Sang-Ho Jeong, MD, PhD, Young-Joon Lee, MD, PhD, Soon Chan Hong, MD, PhD, Woo Song H, MD, PhD. 2017. Prognostic impact of Ki-67 in patients with gastric cancer—the importance of depth of invasion and histologic differentiation.
- [92]. Ayed B , Khabir A, Abid M, Bayroui MI, Gargouri A, Sellami-Boudawara T, Mokdad-Gargouri R. 2014. Clinicopathological and prognostic significance of p53, Ki-67, and Bcl-2 expression in Tunisian gastric adenocarcinomas.
- [93]. Janjigian YY, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Kelsen DP, Jäger E, et al. 2012. Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis. *Ann Oncol.* 23 ;2656-2662.
- [94]. Cucherousset J, Yajizi N. 2012. HER2 et adénocarcinome gastrique. DOSSIER SPECIAL : Focus sur l'Anatomo-Cyto-Pathologie. *Le nouveau Cancérologue.* 5(3) ; 123-126.
- [95]. Yıldırım M, Kaya V, Demirpençe O, Gunduz S, Bozcuk H. 2015. Prognostic Significance of p53 in Gastric Cancer: a Meta- Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev,* 16 (1); 327-332.
- [96]. Christopher L, Brooks Wei Gu, Lain et al. 2008. p53 Activation: A Case against Sir. 13(5) ; 377–378.