

UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

FES



Année 2013

Thèse N° 070/13

L'EXPRESSION DU RECEPTEUR HER2 DANS LE CANCER GASTRIQUE OU DE JONCTION OESO-GASTRIQUE METASTATIQUE ETUDE PROSPECTIVE A PROPOS DE 30 CAS

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 22/04/2013

PAR

Mme. LAHZAOUI TOURIA

Née le 09 Avril 1986 à Talssint

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Cancer gastrique ou de la jonction oeso-gastrique metastatique

Récepteur HER2 - Immunohistochimie - Thérapie ciblée

JURY

Mme. AMARTI RIFFI AFAF.....	PRESIDENT
Professeur d'Anatomie pathologique	
Mme. MAHASSINI NAJAT.....	RAPPORTEUR
Professeur d'Anatomie pathologique	
M. HACHI HAFID.....	JUGES
Professeur de Chirurgie Générale	
Mme. EL KHANNOUSSI BASMA.....	
Professeur agrégé d'Anatomie pathologique	
M. EL MESBAHI OMAR.....	
Professeur agrégé d'Oncologie médical	

PLAN

Introduction	3
Généralité :	4
Voies d carcinogénèse de cancer gastrique.....	7
Etude moléculaire du récepteur HER2	9
A. Structure du récepteur her2	10
B. Mécanisme d'activation.....	12
C. Rôle physiologique	13
D. Oncogène cellulaire	13
Matériel et méthode.....	15
1. Type et population étudiée	15
2. Recueil des données	15
3. Déroulement de l'étude	16
4. Détermination de la surexpression du récepteur HER2.....	16
5. Analyse statistique.....	20
Résultat	22
1. Descriptif.....	22
2. Analytique	32
Discussion	40
I. Epidémiologie	40
II. Etude anatomopathologique de HER2	41
A. Technique d'étude	41
1. Prélèvement.....	41
2. Principes techniques	42
B. Détermination de profil HER2	43
1) Immunohistochimie.....	44

a. Principe	44
b. Outils	45
c. Interprétation	46
d. Le Score retenu pour l'évaluation du statut HER2 par immunohistochimie	48
e. Avantage et inconvénient	51
2) Hybridation in situ fluorescente ou FISH.....	52
3) Hybridation in situ non fluorescente : SISH/ CISH	54
C. Concordance entre IHC et la Fish.....	56
III. Expression de her2 et corrélation avec les paramètres clinique et histologiques.....	57
A. Taux d'expression de her2 dans cancer gastrique et de la JOG.	57
B. Sources de variation de test IHC dans la détection de l'expression de HER2	58
C. Corrélation avec les paramètres	62
IV. Intérêt de récepteur her2 dans la pratique clinique	65
A. Intérêt thérapeutique	65
B. Intérêt pronostic	68
V. Recommandations pour la pratique clinique de HER2 :	69
CONCLUSION	70
RESUME	71
BIBLIOGRAPHIE	76

INTRODUCTION

Dans le monde, près de 930000 nouveaux cas de cancers gastriques sont diagnostiqués par an soit 8,4% de l'ensemble des cancers [1]. Son pronostic est mauvais, il représente à l'échelle mondiale la 2^{ème} cause de mortalité par cancer avec près de 7000 décès / an. En France, on estime à 4 576 le nombre de décès en 2005, en faisant la 9^e cause de décès par cancer chez l'homme et la femme [1].

Les formes potentiellement curatives, c'est-à-dire accessibles à un traitement chirurgical, ne représentent que moins de la moitié des cas au diagnostic. De plus, malgré un traitement chirurgical à visée curative, beaucoup de patients sont exposés à une récurrence métastatique nonobstant les progrès apportés par les traitements complémentaires péri- ou postopératoires. Ainsi les formes métastatiques restent encore majoritaires [1]. Selon le registre des cancers de RABAT, 56,6% des cancers gastriques sont diagnostiqués en stade IV (métastatique). Leur pronostic est marqué par une médiane de survie spontanée de l'ordre de 3 à 6 mois.

Actuellement, après le cancer de sein, la thérapie ciblée par l'HERCEPTINE fait désormais partie de l'arsenal thérapeutique utilisé dans le traitement de cancer gastrique et de la JOG métastatique surexprimant la protéine HER2. Il a fait preuve d'efficacité en matière de survie globale.

Au Maroc, l'Herceptine fait partie du protocole thérapeutique des malades souffrant de cancer gastrique ou de la JOG métastatique. Vu le coût élevé et le niveau socio-économique bas des malades, la plupart d'entre eux n'ont pas pu bénéficier du traitement.

L'objectif de notre travail est d'établir la prévalence de l'expression de récepteur HER2 dans le cancer gastrique et de la JOG dans le contexte marocain afin de sélectionner les patients pour le traitement par l'Herceptine et d'étudier la corrélation entre la surexpression de HER2 et les paramètres cliniques et histologiques.

GENERALITES

Le cancer de l'estomac constitue une affection préoccupante par sa fréquence et sa gravité. Des progrès récents ont permis d'éclaircir l'éthiopathogénie des cancers gastriques en confirmant la relation avec l'Hélicobacter Pylori.

Le diagnostic de cancer gastrique et de la JOG repose sur l'endoscopie digestive haute, mais il est souvent tardif en raison d'une longue phase asymptomatique ou de l'existence de symptômes peu spécifiques digestifs et extra-digestifs. Le recours aux examens radiologiques a beaucoup d'intérêt dans le cadre du bilan d'extension et dans l'orientation thérapeutique.

Le diagnostic de certitude est basé sur l'étude anatomopathologique de prélèvement tumoral. Le type histologique le plus fréquent des tumeurs gastriques ou de la JOG est l'adénocarcinome selon la classification OMS 2010. Il représente 90% des cancers de l'estomac [2] et fera l'objet de notre étude.

Les tumeurs de la jonction œsogastrique sont considérées comme des cancers de l'œsophage sauf si leur épicentre est dans l'estomac à plus de 5 cm de la jonction œsogastrique ou si l'épicentre est gastrique à moins de 5 cm de la JOG mais sans extension œsophagienne.

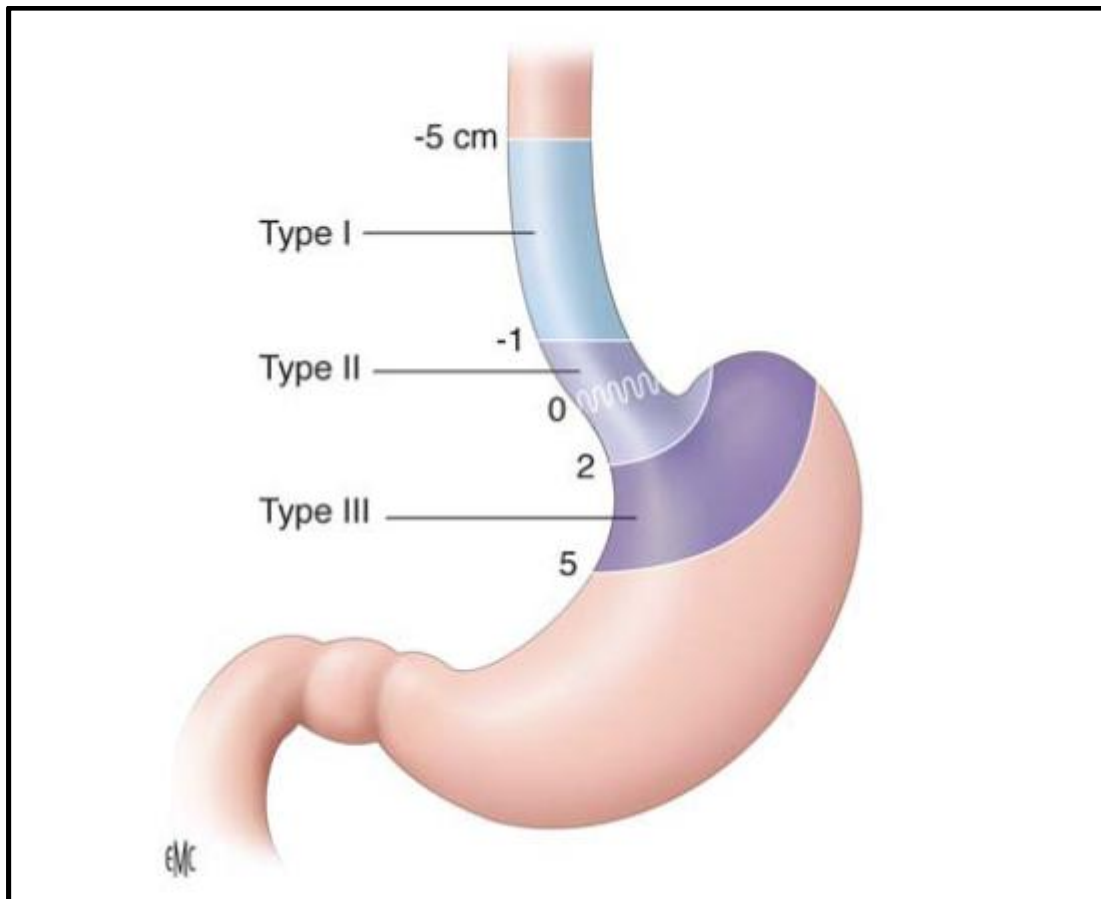


Figure 1 :représentation schématique de la classification de swieret.[3]

La classification de swieret est la classification le plus communément admise :[3,4]

- Ø Type 1 : centre tumoral situé entre 1 et 5 cm au-dessus de la ligne Z*, cette entité correspond aux adénocarcinomes du bas œsophage.
- Ø Type 2 : centre tumoral entre 1 cm au-dessus et 2 cm au-dessous de la ligne Z, cette entité correspond aux adénocarcinomes du cardia vrai.
- Ø Type 3 : centre tumorale entre 2 et 5 cm au-dessous de la ligne Z, cette entité correspond au cancer sous cardinal de l'estomac.

La ligne de Z étant la jonction oeso-gastrique endoscopique et histologique.

Le traitement à visée curatif s'applique pour les formes précoces et repose sur la chirurgie associée plus ou moins à la chimio-radiothérapie.

Le traitement palliatif s'adresse aux formes avancées et il est basé sur :

1. La chimiothérapie : les adénocarcinomes gastriques sont relativement chimio-sensibles mais les réponses sont de courte durée. Malgré de nombreux essais, les progrès de la chimiothérapie au stade métastatique sont modestes, la survie médiane ne dépassant pas 12 mois. Néanmoins, il a été démontré que la chimiothérapie prolongeait la survie des patients d'environ 6 mois par rapport aux soins palliatifs. [5, 6,7]
2. La radiothérapie : Elle a pour but d'améliorer le contrôle local et régional de la maladie.
3. La chirurgie : La gastrectomie peut être discutée au cas par cas, en situation métastatique, à visée symptomatique (hémorragie, sténose, perforation, douleurs incontrôlables, etc.) en tenant compte des alternatives endoscopiques ou radiologiques interventionnelles [8]. En situation non symptomatique, la gastrectomie n'est pas recommandée. [9]
4. La thérapie ciblée : Plusieurs thérapies ciblées sont développées dans le cancer de l'estomac, essentiellement dans les stades avancés. Plusieurs essais randomisés sont en cours et trois d'entre eux sont déjà publiés (Tableau) [9]. Le seul essai de phase III positif à ce jour est l'essai TOGA avec l'Herceptine ciblant HER2. [10]

Actuellement, l'Herceptine fait désormais partie de l'arsenal thérapeutique utilisé en cas d'adénocarcinome de l'estomac et de la JOG surexprimant le récepteur HER2, à un stade localement avancé et/ou métastatique et qui a fait preuve d'efficacité en matière de survie globale des patients.

Tableau 1 : Principaux essais de phase III évaluant une thérapie ciblée en 1re ligne

[1]

Cible	Molécule	Essai	phase	Ligne	Résultats
Métalloprotéases	Marimastat	Bramhall	III	1re ou 2 ^e	NEGATIF
HER2	Trastuzumab	TOGA	III	1 ^{re}	POSITIF
VEGF	Bevacizumab	AVAGAST	III	1 ^{re}	NEGATIF
EGFR	Cetuximab	EXPAND	III	1 ^{re}	EN COUR
	Panitumumab	REAL-3	III	1 ^{re}	EN COUR

Mécanisme de la carcinogénèse du cancer gastrique :

Depuis 1970, le cancer gastrique est connu comme l'étape finale de la gastrite chronique avec une évolution successive vers l'atrophie gastrique, la dysplasie et le cancer [11]. L'essentiel de la gastrite chronique est dû à l'infection par H. pylori, la gastrite auto-immune étant moins fréquente [12]. Le mécanisme par lequel H. pylori agit dans la carcinogénèse gastrique pourrait faire impliquer :

- Ø Une accélération du renouvellement des cellules épithéliales qui augmente le risque d'altération d'ADN.
- Ø Effet direct des métabolites bactérien sur la muqueuse gastrique.
- Ø Effet des produits endogènes de l'inflammation pouvant être à l'origine des mutations intervenant dans la transformation maligne des cellules. [13]

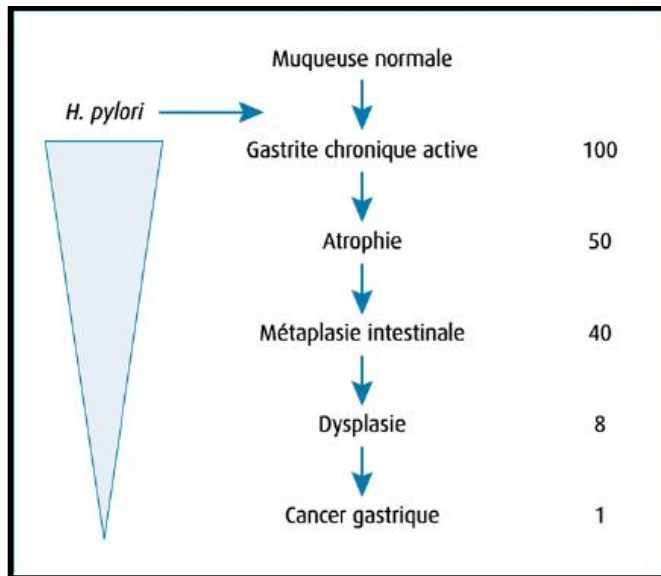


Figure 2 : cascade d'anomalie gastrique conduisant au cancer [11]

Toutefois, moins de 1 % des patients infectés par *H. pylori* développeront un cancer gastrique [12]. L'infection à *H. pylori* n'est donc pas suffisante à elle seule pour induire un cancer, mais elle intervient à un stade précoce de la cancérogenèse, associée à d'autres facteurs de risque.

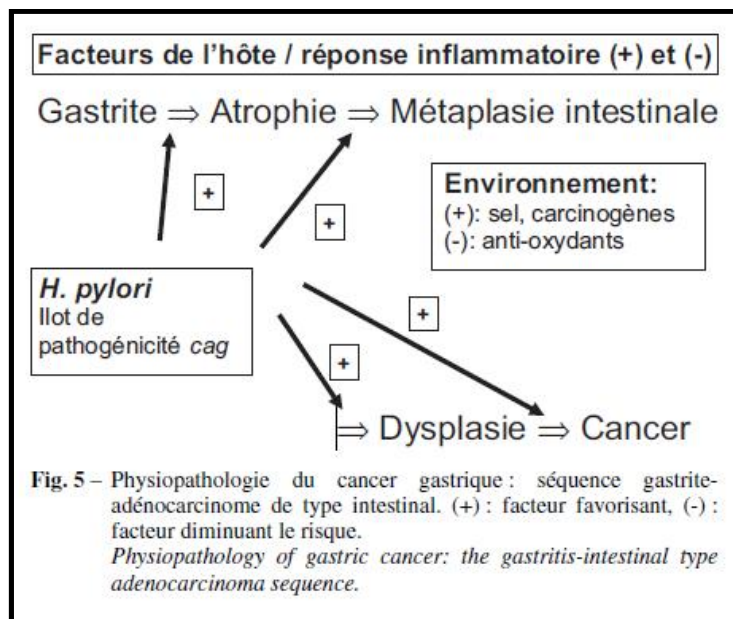


Figure 3 : mécanisme d'action de *H. pylori*. [102]

Ainsi des altérations génétiques d'oncogène et de gènes suppresseurs ont été bien identifiées. Les principales modifications décrites sont les amplifications et les mutations ponctuelles.

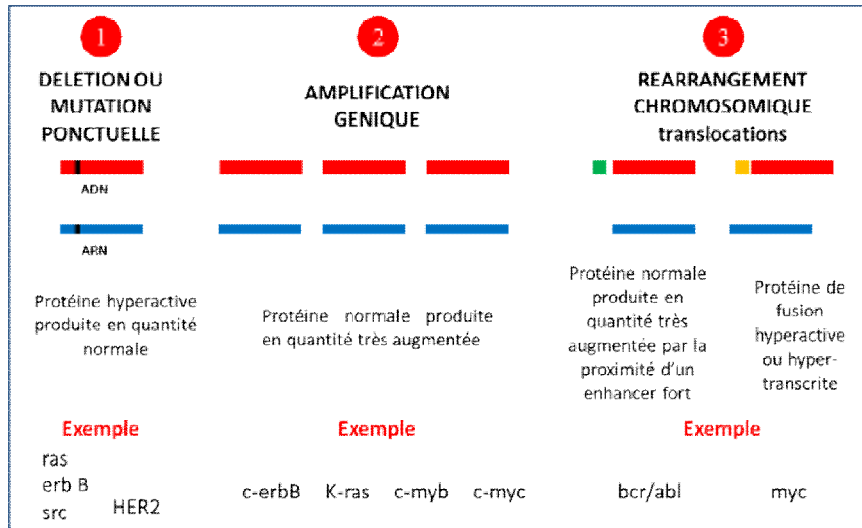


Figure 4 : mécanismes d'activation des proto-oncogènes en oncogènes.[103]

La mutation du gène Ki-ras et l'augmentation de l'expression de la protéine p21 ras sont relativement fréquentes. Parmi les autres altérations génétiques citons les altérations des gènes p21 et p27 [14,15,16], les altérations des gènes codant pour différents facteurs de croissances (HGF, FGF, EGF) et pour leurs récepteurs (TGFβ-RII, HER)[17,18]. Ce dernier a fait l'objet de plusieurs études de recherche pour comprendre le mécanisme de son action et aussi pour s'en servir comme cible thérapeutique.

Biologie moléculaire, cellulaire et structurale du récepteur her2.

Le récepteur HER2 fait partie d'une famille de 4 récepteurs membranaires ubiquitaires appelés erbB ou HER (HER1, HER2, HER3, HER4)) du facteur de croissance EGF qui est impliqué dans le développement et le fonctionnement normal de différents organes. C'est le premier récepteur tyrosine kinase caractérisé et cloné

et la forte homologie avec un oncogène viral (v erbB) en fait aussi l'un des premiers proto oncogène ou oncogène caractérisé et cloné. [19,20]

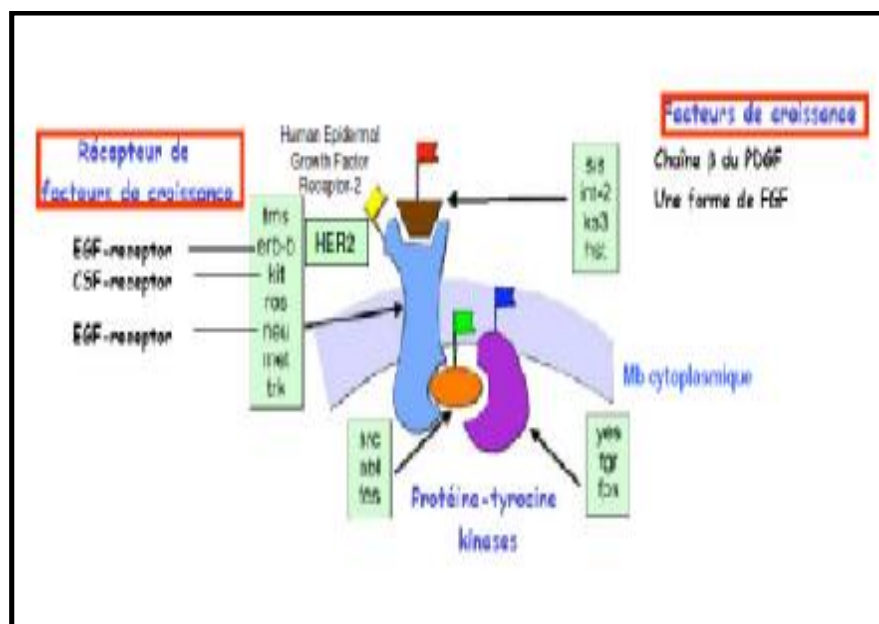


Figure 5 : différent facteur de croissance et leurs récepteurs membranaires.[103]

A. Structure du récepteur HER2 :

L'HER2 est un récepteur de 185kDa, codé par le proto-oncogène neu (autre dénomination possible du récepteur : HER2/neu) situé sur le chromosome 17q21.

[19, 21, 22]

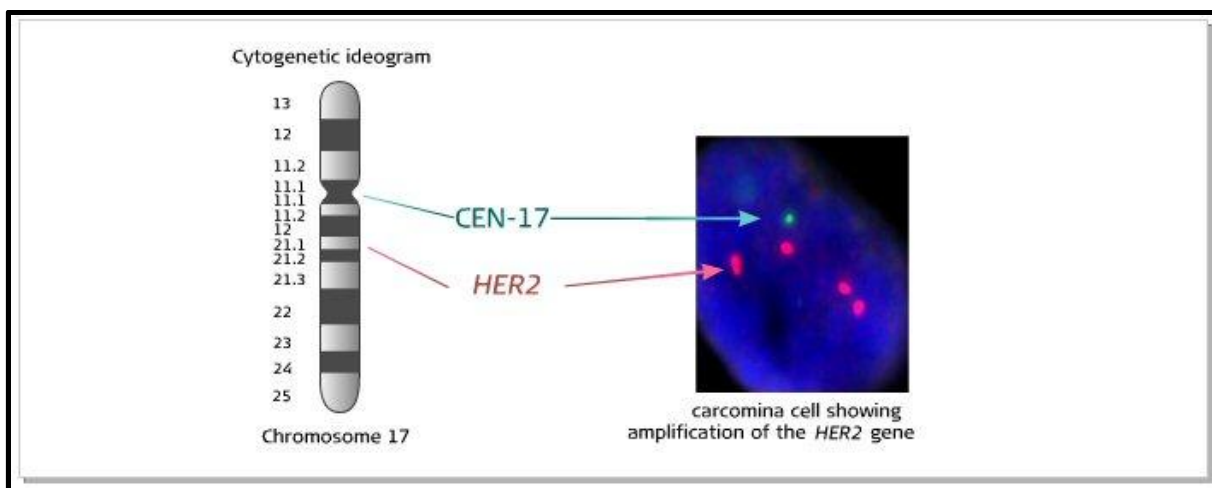


Figure 6 : localisation du récepteur her2 sur le chromosome 17.[104]

L'HER2 a été identifié la première fois en 1981 [21] et c'est en 1987 que Slamon et al ont décrit la première fois son importance biologique dans le cancer du sein. [23] Le récepteur HER2 est composé d'une région extracellulaire liant le ligand, une région transmembranaire et une troisième intracytoplasmique possédant une activité tyrosine kinase [19].

*le domaine extracellulaire : elle est composé de 4 sous domaines (de I à IV) répétés deux a deux et se succédant en alternance. [24,25]

*le domaine transmembranaire : composé d'une courte séquence d'acides aminés (23, 24 AA) caractérisés par leur très grande hydrophobie.

*le domaine Intra-cytoplasmique : composé d'une région juxta membranaire dont le rôle n'est pas entièrement élucidé, un domaine à activité tyrosine kinase et un domaine C terminal riche en site de phosphorylation très important pour la conduction du signal. [26,27]

La région extracellulaire de l'ERBB2 est différente des autres. L'ERBB2 a une conformation fixe qui ressemble à l'état activé par le ligand. En outre, cette structure rend la liaison au ligand impossible parce que l'emplacement n'est pas accessible pour l'interaction. [28]

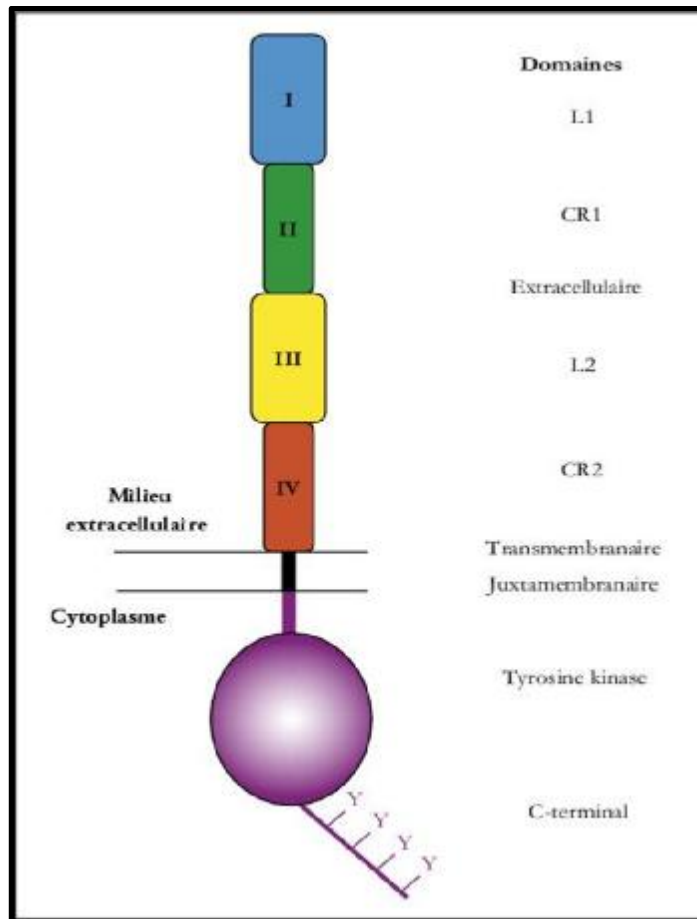


Figure 7 : Structure schématique des récepteurs de la famille ErbB. [31]

B. Mécanisme d'activation :

En l'absence de ligand, ces récepteurs existent majoritairement sous forme de monomère inactif. La fixation d'un ligand va entraîner la formation des dimères (homodimère ou hétérodimère), les dimères les plus actifs sont ceux qui comprennent HER2 qui, bien que ne possède pas de de ligand, va être activé lors de son association à un autre récepteur de la famille HER. Cette dimérisation induit l'activation de l'activité tyrosine kinase qui se traduit par une phosphorylation de résidus tyrosine présent sur les récepteurs eux même (autophosphorylation), Le récepteur est alors internalisé puis dégradé. [19, 28, 29]

Deux grandes voies de transduction du signal sont activées : la voie de MAP kinase et la voie MAPK-indépendante p70/p85S6K qui est couplée au PI3K. [29]

Ces voies de signalisation conduisent à l'activation de protéines impliquées dans la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, la migration cellulaire, la différenciation cellulaire ou bien encore dans la survie cellulaire.[19]

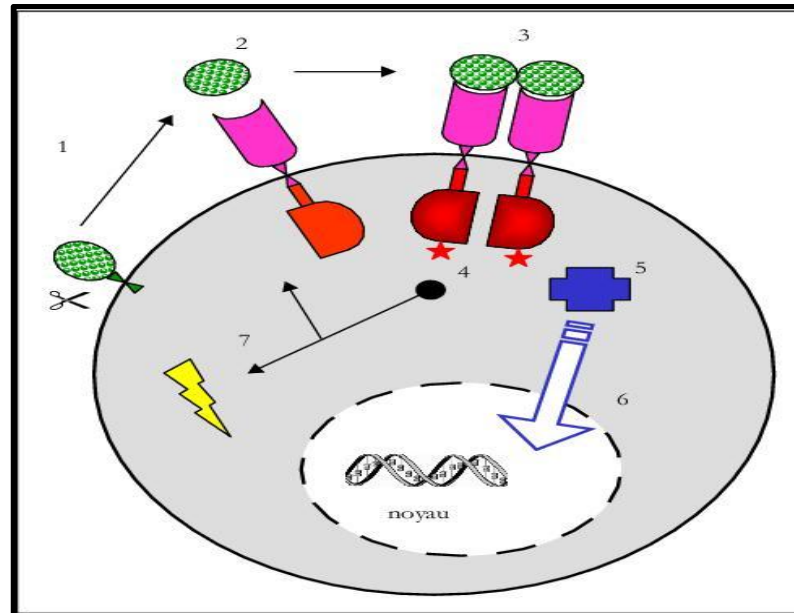


Figure 8 : Mécanismes d'activation et de signalisation des récepteurs ErbB.[31]

C. Rôle physiologique :

Au niveau cellulaire, les voies de signalisation activées par les récepteurs HER participent à la prolifération, la migration et la différenciation de plusieurs types cellulaires. Ils ont aussi un effet anti-apoptotique. Ils sont présent dans différents organes y compris le cœur (her2), le système nerveux, les glandes mammaires ainsi que des épithéliums en générale [27,30]. Cela peut expliquer les effets indésirables des thérapies ciblant ces récepteurs.

D. oncogène cellulaire

Les récepteurs ErbB ont été les premiers récepteurs membranaires clairement impliqués dans la genèse de beaucoup de cancers notamment les tumeurs solides par différents mécanismes [31]. Les altérations observées sont des

mutations, des surexpressions avec ou sans amplification du gène ou une stimulation anormale par leur ligand [26, 32]. L'implication d'ErbB2 ou HER2 dans la cancérogénèse est le fait de sa surexpression souvent due à une amplification génique telle que décrit dans le cancer de sein, estomac.[31]

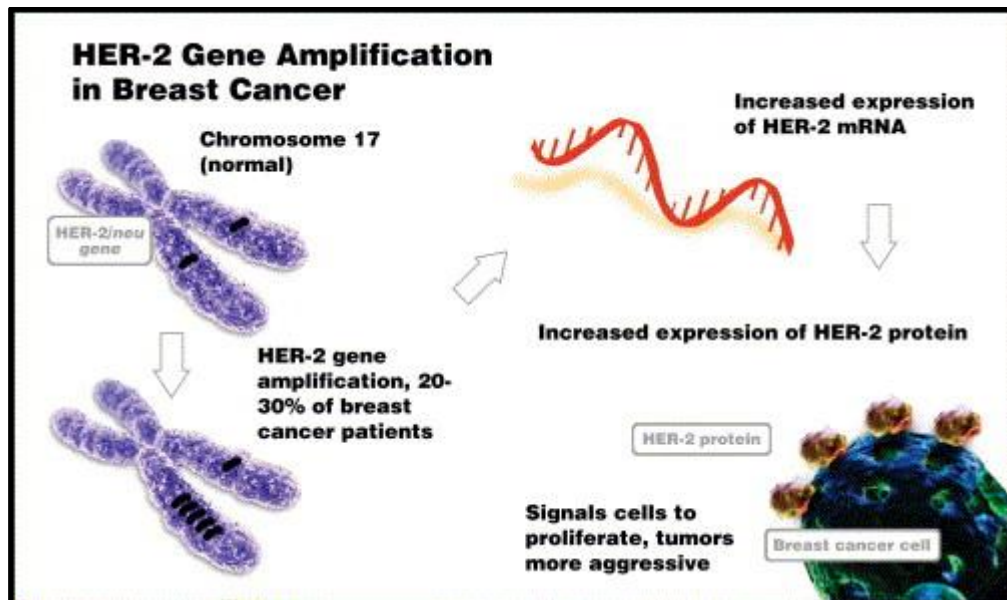


Figure 9 : surexpression du récepteur HER2 due a une amplification génique.

MATERIEL ET METHODE :

1. Type et population étudiée :

Il s'agit d'une étude prospective débutée en janvier 2011 jusqu'au décembre 2012, menée au sein du laboratoire d'anatomopathologie de l'institut nationale d'oncologie et le service d'anatomopathologie ibn Sina de RABAT.

Notre étude inclut les patients ayant un adénocarcinome gastrique ou de la jonction œsogastrique colligés au sein du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital IBN Sina et de l'INO et n'ayant pas reçu de traitement antérieur. Tous nos malades étaient en stade avancé métastatique stade IV.

2. Recueil des données :

Les données sont recueillies d'une façon prospective sur une période de 2 ans, du janvier 2011 au décembre 2012, à partir :

- Ø Des dossiers cliniques des patients contenant les observations cliniques, les bilans radiologiques et biologiques.
- Ø Les comptes rendus anatomopathologiques rédigés par les anatomopathologistes du laboratoire IBN SINA et de l'INO.
- Ø Lettres de liaisons adressées par les médecins du secteur privé et public.

Une fiche d'exploitations est établie pour chaque patient, précisant les données épidémiologiques, radiologiques, anatomopathologiques, thérapeutiques et évolutifs.

L'affichage des données en vue de traitement a été réalisé sur tableau Excel.

3. Déroulement de l'étude :

Dans notre travail, la majorité des biopsies et des pièces opératoires ont été lu et étudié au sein de service d'anatomopathologie de l'hôpital IBN SINA d'Avicenne, 2 cas ont été lus au laboratoire de l'INO, dont une biopsie et une pièce opératoire. Le tableau ci-dessous résume la répartition des patients selon les services.

Tableau 2 : répartition des malades en fonction des services

Service	Nombre de cas
Laboratoire IBN SINA	28 cas
Laboratoire de l'INO	2 cas

Une demande de la recherche de la surexpression du récepteur HER2 est établie pour chaque patient et la réalisation de l'herceptest était faite au laboratoire d'anatomopathologie de l'INO par immunohistochimie.

4. Détermination du statut HER2 :

a) Etape macroscopique

∅ Le prélèvement :

Notre étude a porté sur 13 pièces opératoires, 6 pièces de gastrectomie totale et 7 pièces de gastrectomie partielle et 17 biopsies.

Tableau 3 : les différents types de prélèvement.

Prélèvement	Biopsies	Gastrectomie totale	Gastrectomie partielle
Nombre de cas	17	6	7

§ Les biopsies : Les fragments sont mesurés et examinés en totalité.

§ Les pièces opératoires :

- la pièce est mesurée dans les 3 axes, pesée et ancree. repérage et description de la tumeur (siège, mesure, aspect macroscopique).
- des prélèvements de la tumeur et de tissu sain en coupe de 2 à 3 mm ont été réalisés.
- Préparation des échantillons :

§ Fixation : fixation de tous les prélèvements au formol tamponné à 10 %

§ Déshydratation :

L'échantillon tissulaire est fixé, puis progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées jusqu'à ce que toute l'eau (des tissus et du milieu de fixation) ait été soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu.

§ Inclusion en paraffine chauffée :

L'échantillon est alors immergé dans de la paraffine chauffée à une température dépassant juste son point de fusion, puisque celle-ci est solide à température ambiante.

§ Refroidissement :

Une fois l'échantillon bien imprégné, on le laisse refroidir dans un moule rempli de paraffine qui se solidifie.

§ Réalisation de coupes :

En se refroidissant, le fragment, imbibé de paraffine, se trouve inclus dans un bloc solide à partir duquel, grâce à un microtome comportant un rasoir, des coupes de 5 microns d'épaisseur sont obtenues.

§ Réhydratation :

Une fois les plans de coupe réalisés, ils sont déposés sur une lame de verre et la paraffine est dissoute par un solvant organique avant un temps de réhydratation par des solutions alcooliques de plus en plus diluées. Quand la réhydratation est achevée, les coupes sont colorées par HES.

b) Etape microscopique :

Les cas de notre étude ont été classés selon la classification OMS 2010 qui distingue 4 types d'ADK :[33]

- L'adénocarcinome papillaire : il s'agit d'un carcinome bien différencié exophytique composé de longs doigts bordés par des cellules cubiques ou cylindriques supportées par un centre fibrovasculaire du tissu conjonctif.

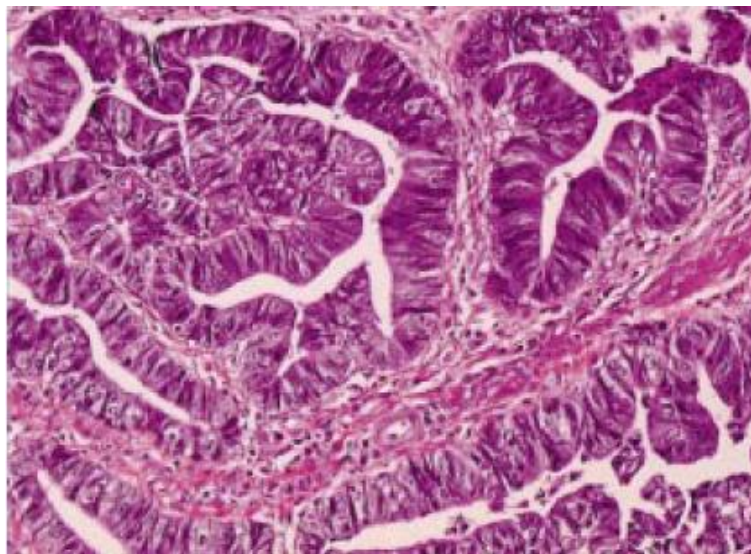


Figure 10 : adénocarcinome gastrique tubulopapillaire.[13]

- l'adénocarcinome tubulaire : il est composé de tubules dilatés et de ramifications de diamètre variable.

- l'adénocarcinome mucineux (ou colloïde muqueux ou mucoïde), composé de cellules épithéliales malignes qui apparaissent en petits groupes flottant au sein de lacs de mucus.
- l'adénocarcinome peu cohésif ou à cellules indépendantes composé principalement de cellules en bague à chaton caractérisées par une centrale optiquement clair, gouttelette globoïde de la mucine cytoplasmique avec un noyau excentré.

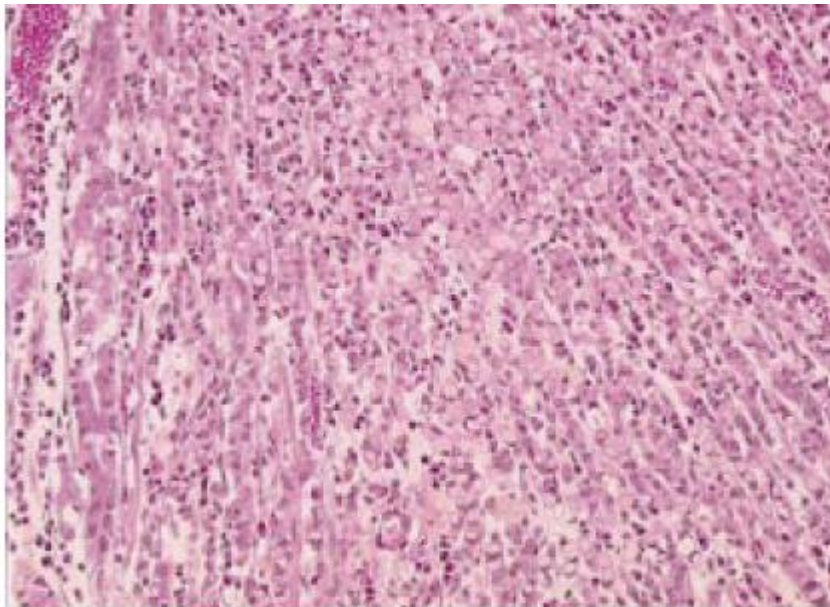


Figure 11 : Adénocarcinome à cellules indépendantes en « bague à chaton »[13]

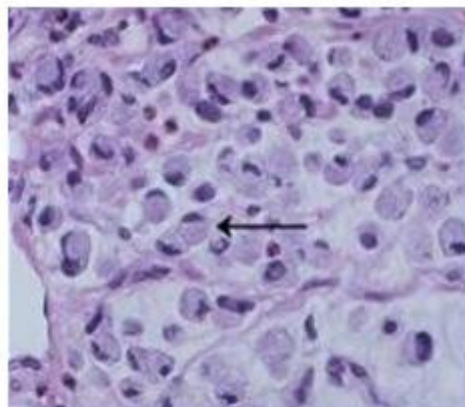


Figure 12: Coupe histologique montre une cellule en bague à chaton.[13]

- les adénocarcinomes mixtes : il englobe de discrètes formations tubulaire, papillaire et des cellules en bague à chaton.

Pour chacun de ces types, le degré de différenciation est précisé : bien, moyennement et peu différencié.

c) immunohistochimie :

Elle a été réalisée manuellement et à l'automate. 20 cas par technique manuelle utilisant le kit Herceptest avec l'anticorps A485 et 10 cas ont été fait par le kit Pathway utilisant le clone 4B5 de Ventana.

Des lames de control contenant trois lignés cellulaires des notes d'intensité de coloration de 0, 1+, 3+ sont fournies pour valider les cycles de coloration. Les résultats sont donnés en score selon les recommandations de Hoffman et al. (Voir annexe 1)

5. Analyse statistique :

Toutes les variables étaient résumées par l'utilisation des statistiques descriptives. Les variables qualitatives sont présentées en terme de proportion et les variables quantitatives en terme de moyenne, valeurs extrême et écart-type.

Dans un premier temps, une analyse descriptive était effectuée concernant : Les caractéristiques épidémiologiques, siège de la lésion, le type histologique et le potentiel métastatique.

La deuxième étape est une analyse unie variée dégageant la corrélation entre le sexe, l'âge, la localisation, le type histologique et le profil d'expression du récepteur HER2.

Pour chaque test statistique utilisé, le test était considéré comme significatif lorsque p (degré de signification) était inférieur à 0,05.

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel SPSS version 13.0 en collaboration avec le laboratoire bio-statistique, de recherche clinique et d'épidémiologie de la faculté de médecine de RABAT.

RESULTATS

1. Etude descriptive :

Dans notre travail, nous présentons des résultats préliminaires de l'étude et ce depuis janvier 2011 jusqu'au décembre 2012. Nous avons inclus durant cette période 30 patients ayant un cancer gastrique ou d la JOG métastatiques. Les résultats étaient comme suit :

a) L'âge :

L'âge de nos patients varie entre 24 et 76 ans avec une moyenne de 53,97 (\pm 14,6). 40% des cas avaient un âge moins de 50 ans.

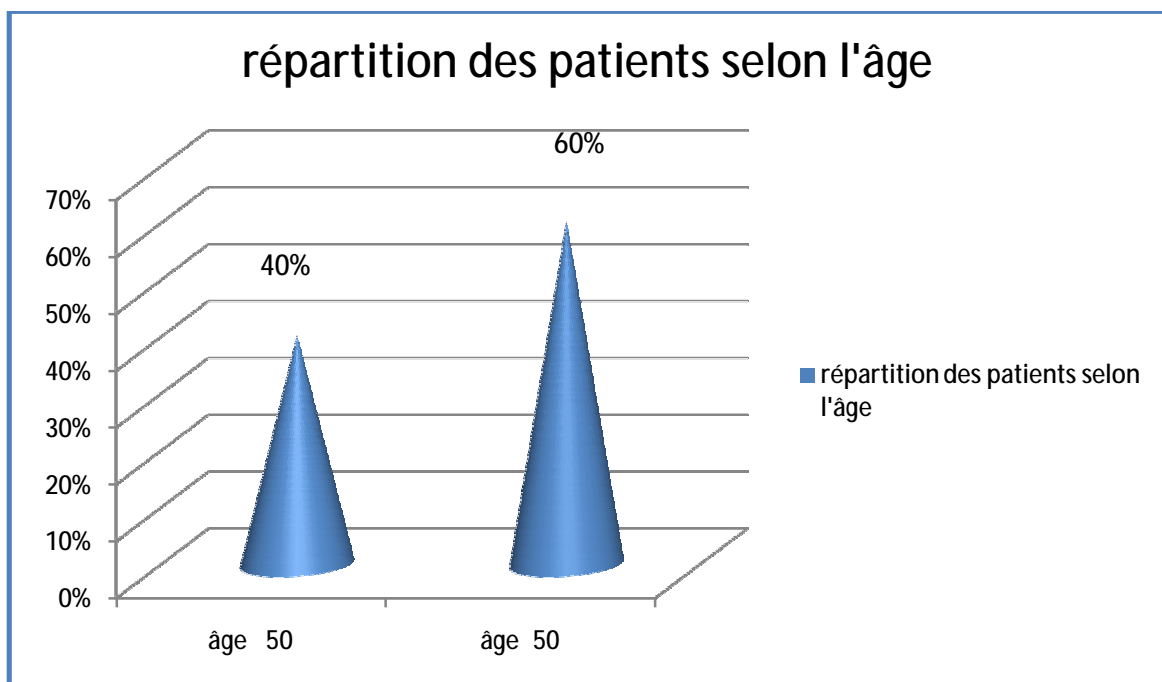


Figure 11 : répartition des malades selon l'âge.

b) Le sexe :

On note une prédominance masculine avec un sexe ratio H/F de 1,72. (19 hommes et 11 femmes)

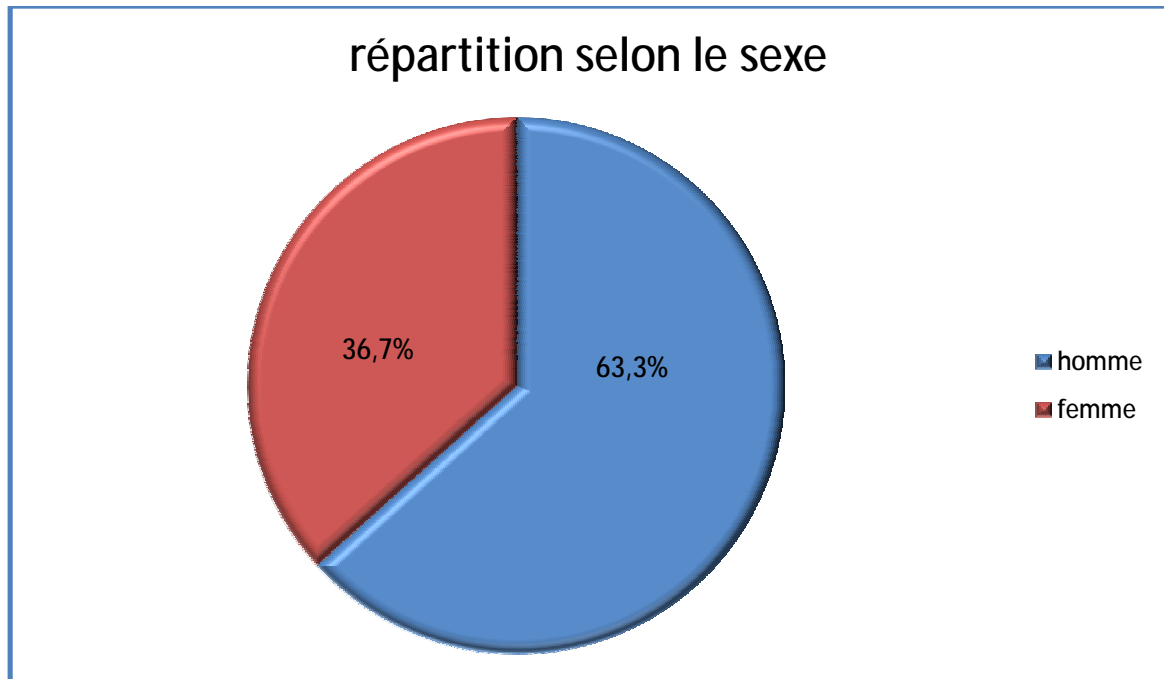


Figure 12 : répartition des malades selon le sexe

c) Le siège de la lésion :

Dans notre travail, 27 de nos patients (90%) avaient une mono-localisation de la tumeur. la localisation antrales et fundique sont les plus fréquentes (27%, 23,3% respectivement). la localisation œsogastrique représente 23,3% des cas..

La répartition selon la localisation est bien détaillée dans la figure ci-dessous.

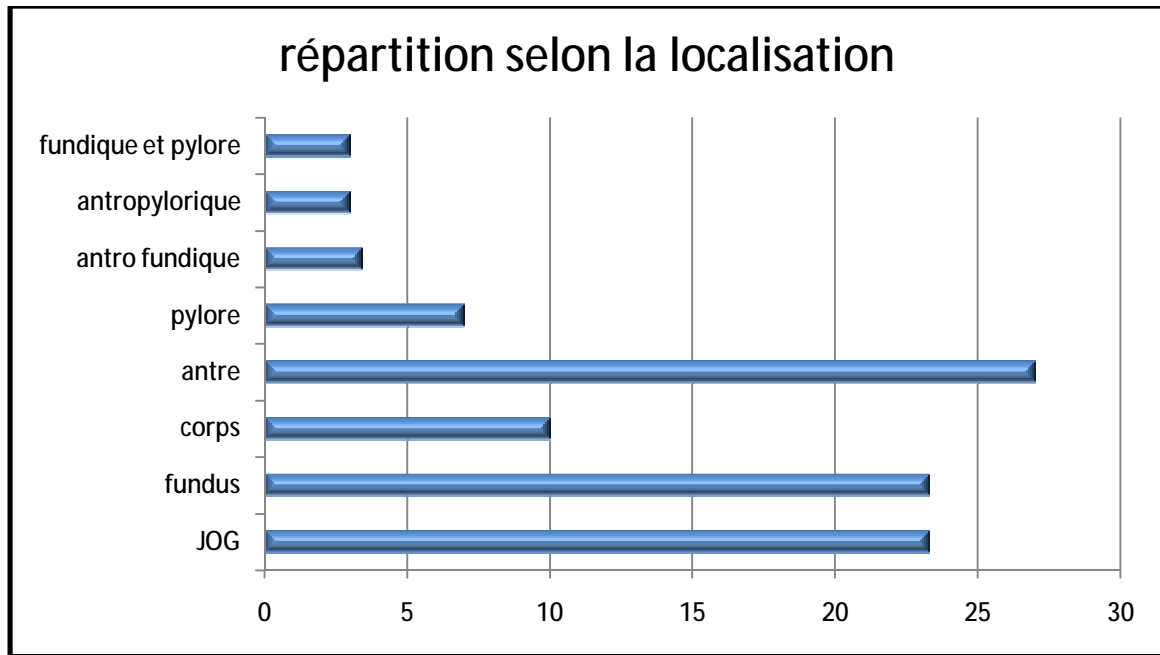


Figure 13 : répartition des malades selon la localisation

10% des cas avaient une double localisation.

Répartition selon la localisation : estomac/ JOG

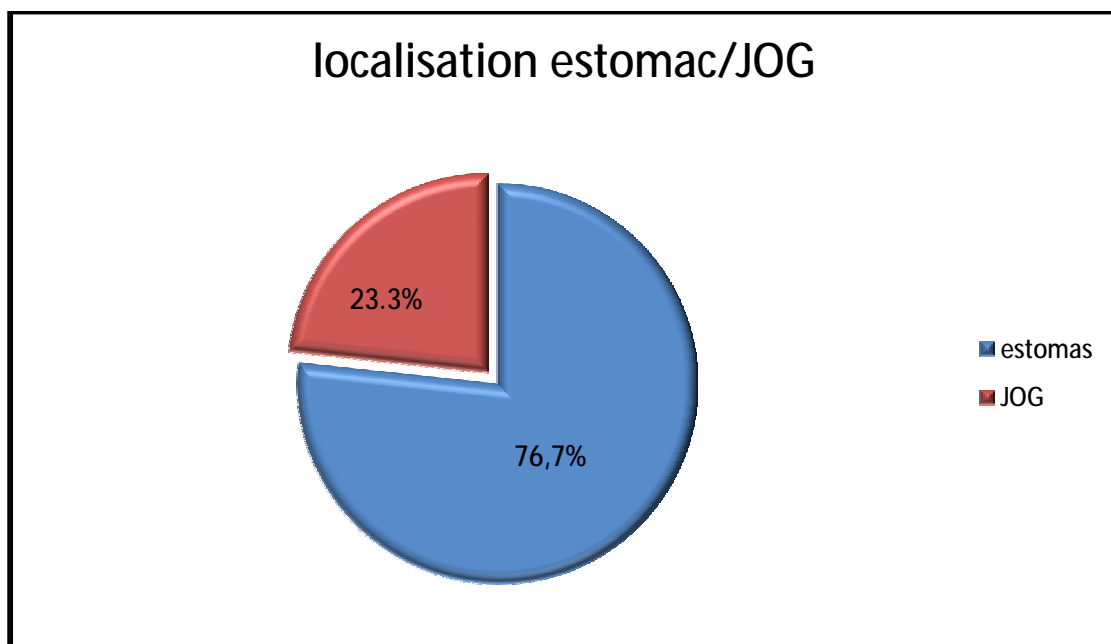
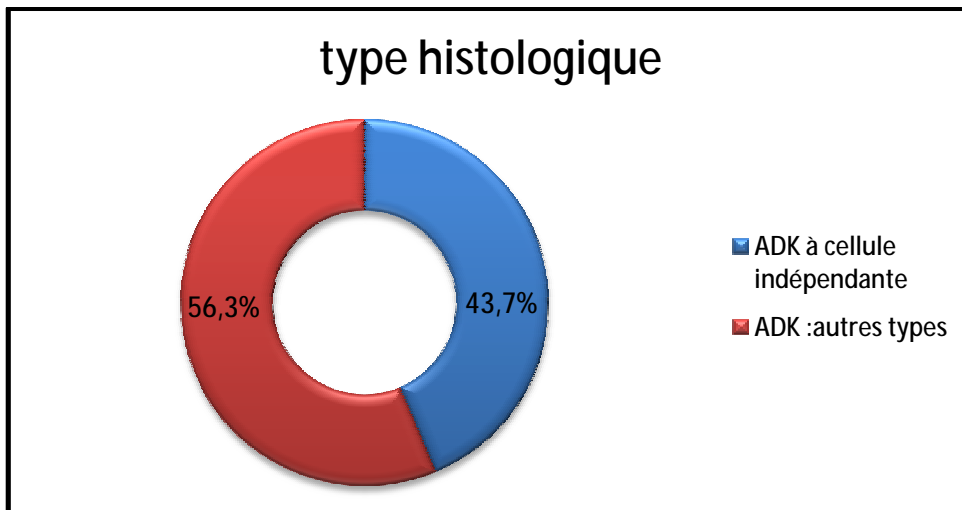


Figure 14 : répartition des malades selon la localisation : estomac/JOG

d) Le type histologique :

Seul l'ADK fait l'objet de notre étude. 13 cas soit 43,3% sont de type peu différenciés en « bague à chaton ».



Cinq des ADK non à cellules indépendantes sont bien différenciés soit 29,41% sont moyennement différenciés (n=7), 3 sont peu différenciés et 2 ne sont pas déterminés.

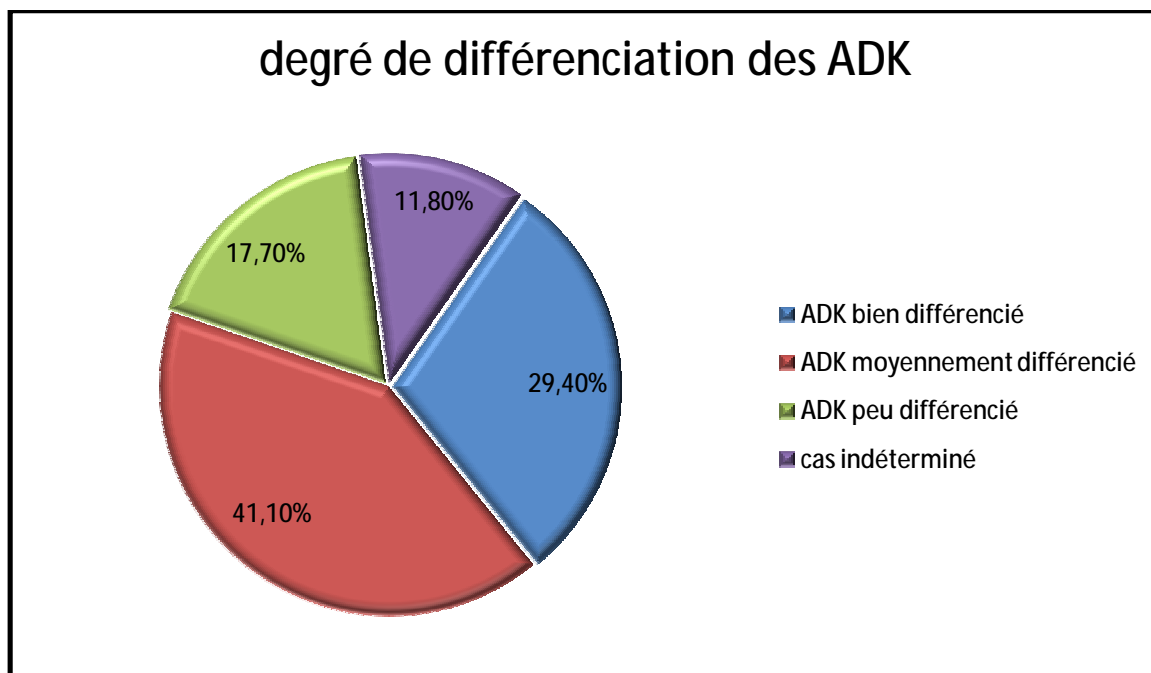


Figure 15 : degré de différenciation des ADK

e) Les embolies vasculaires :

Les embolies vasculaires tumorales étaient présents dans 10% des cas

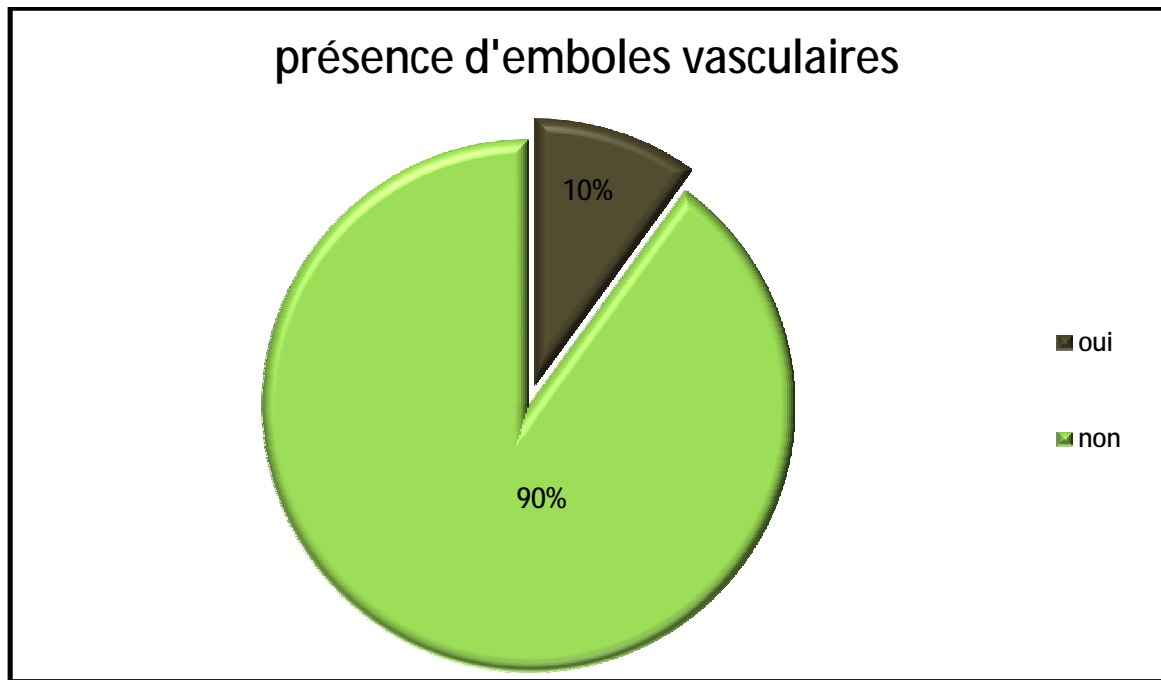


Figure 16 : présence des embolies vasculaires

f) L'infection à H. Pylori :

L'infection à H. Pylori figure chez 20% des malades (n=6). 16,4% sont hp négatifs (n=5). Par contre la détermination de la présence de l'infection à H. Pylori n'est pas pue se faire chez 19 malades soit 64,4%.

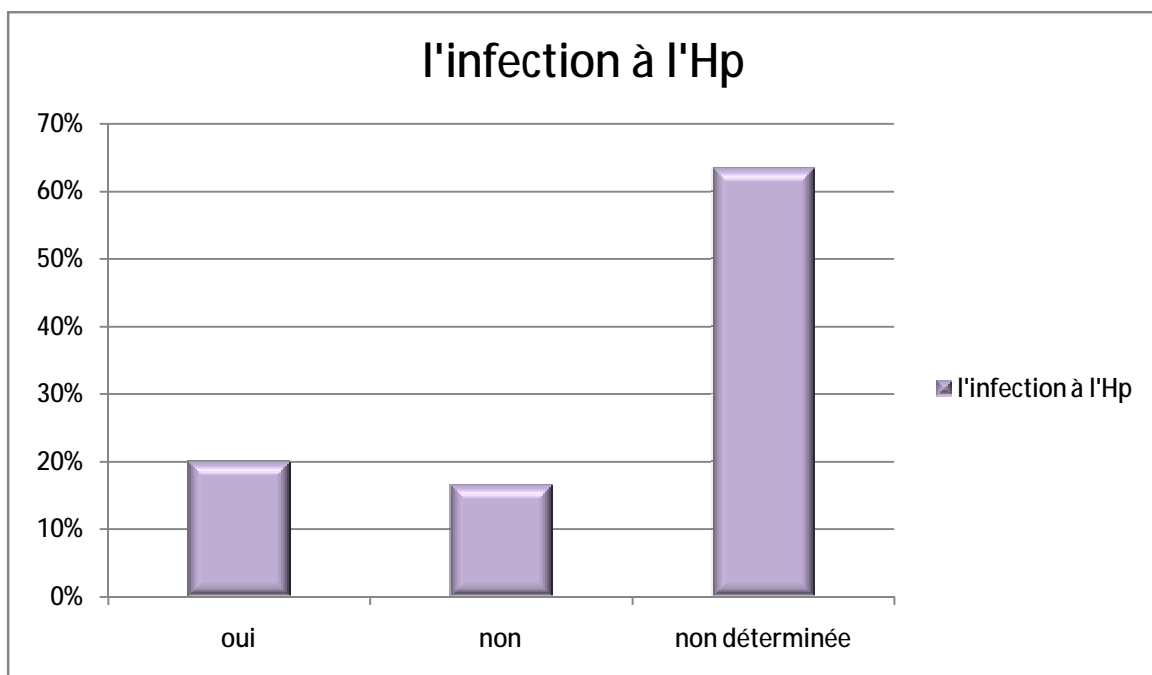


Figure 17 : l'infection à H. pylori

g) L'expression du récepteur HER2 :

L'expression du récepteur HER2 a été recherchée chez tous les patients par immunohistochimie. L'interprétation est établie selon la grille recommandée pour évaluer l'intensité de marquage.

Trois de nos patient avaient un score positif (score 3+) soit 10%, 2 cas équivoques avec un score 2+ soit 6,7%, 25 (83,3%) cas ayant un test négatif répartis entre 1+ et 0+.

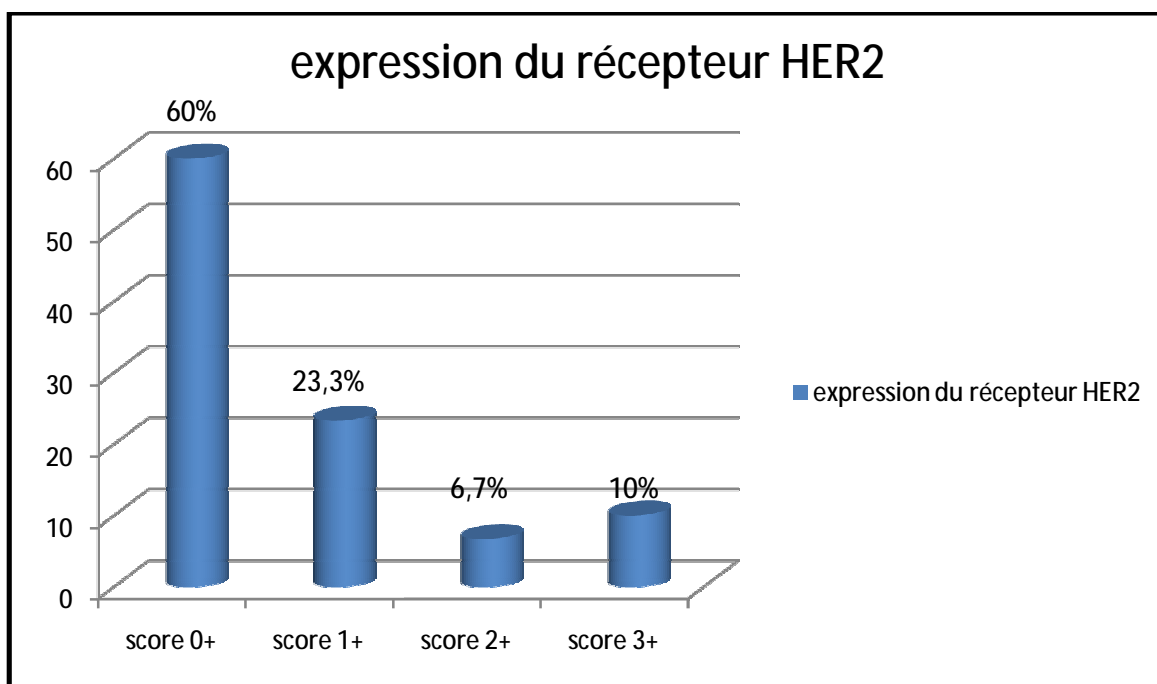


Figure 18 : pourcentage de l'expression de récepteur HER2 pour chaque score.

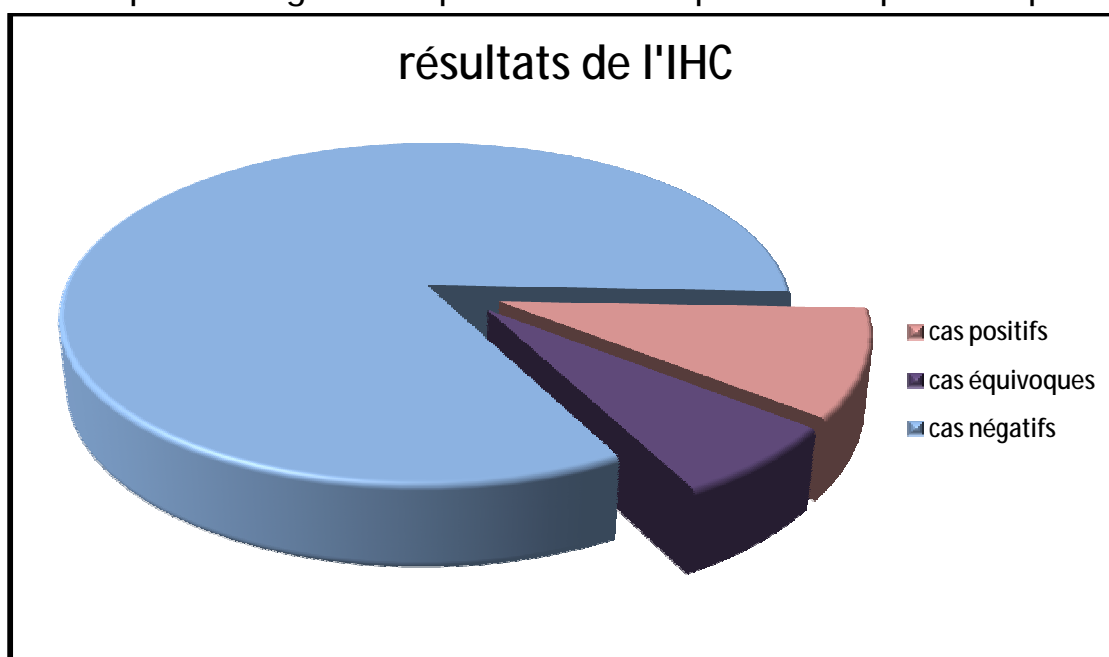


Figure 19 : expression de récepteur HER2

Le tableau ci-dessous montre nombre de cas pour chaque score, réparti en fonction de la nature de prélèvement.

Tableau 4 : répartition des différents scores en fonction de type de prélèvement.

	Score 0 et 1	Score 2	Score 3	Total
biopsie	13(76,4%)	2(11,8%)	2(11,8%)	17
pièce	12(92,3%)	0	1(7,7%)	13

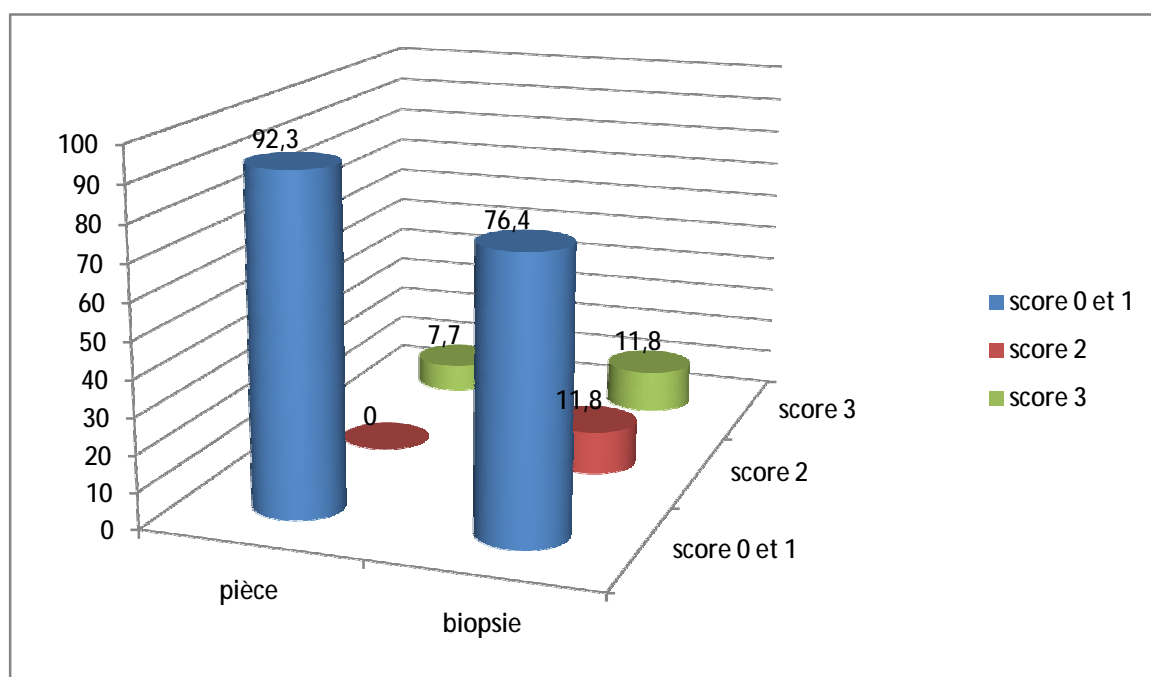


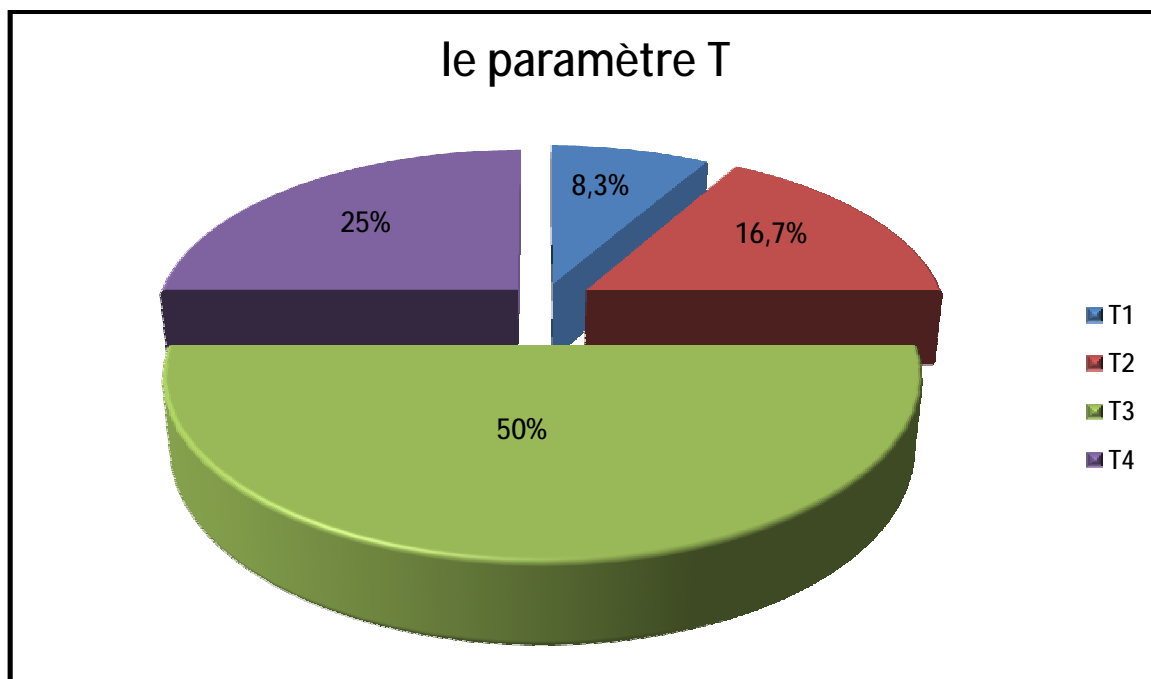
Figure 20 : répartition des résultats de IHC en fonction de prélèvement.

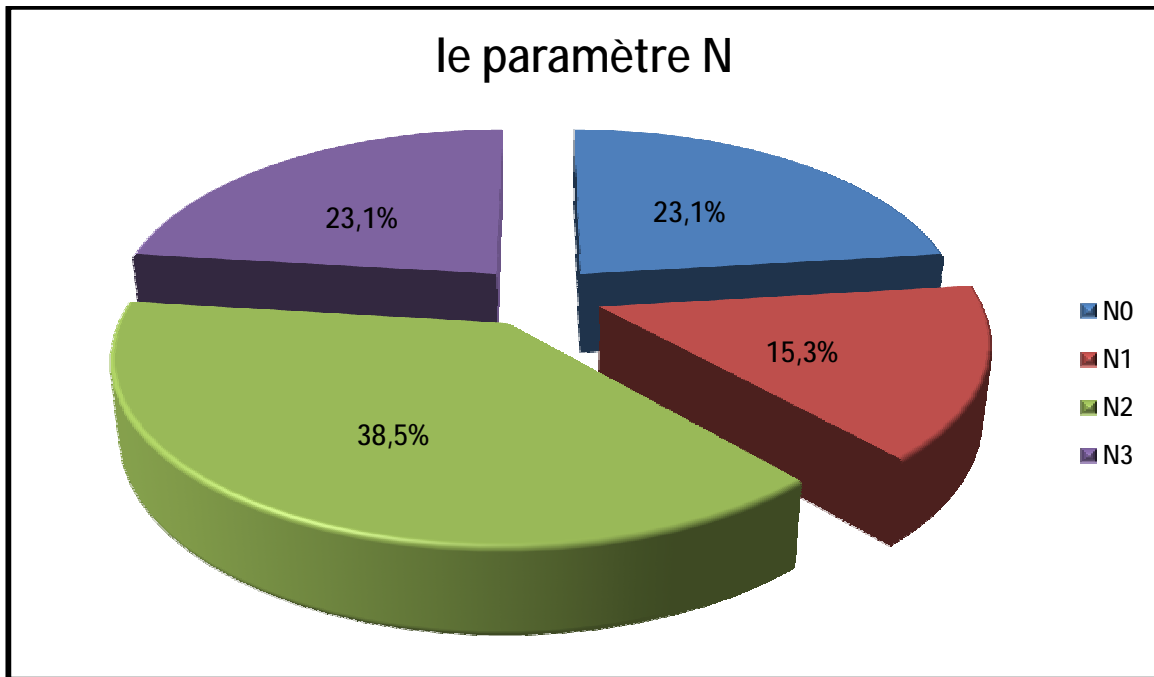
h) Stade TNM : (voir annexe 3)

Tous nos malades étaient en stade métastatique (M1), les paramètres T et N ont été identifiés pour les malades opérés selon la classification TNM 2009. Ainsi on avait pour :

- T1 : 1 cas. N0 :3 cas
- T2 : 2 cas N1 : 2 cas
- T3 :6 cas N2 :5 cas
- T4 : 3 cas N3 :3cas

Le paramètre T n'est pas identifié chez un seul malade.





i) Potentiel métastatique :

Tous nos malades étaient en stade avancé métastatique, l'envahissement tumoral intéressait les sites pulmonaire, hépatique et ganglionnaire dans 36,6%, péritonéale dans 43,3%, on note aussi 2 cas d'envahissement osseux, un cas de métastase au niveau de la peau et un cas de krukenberg.

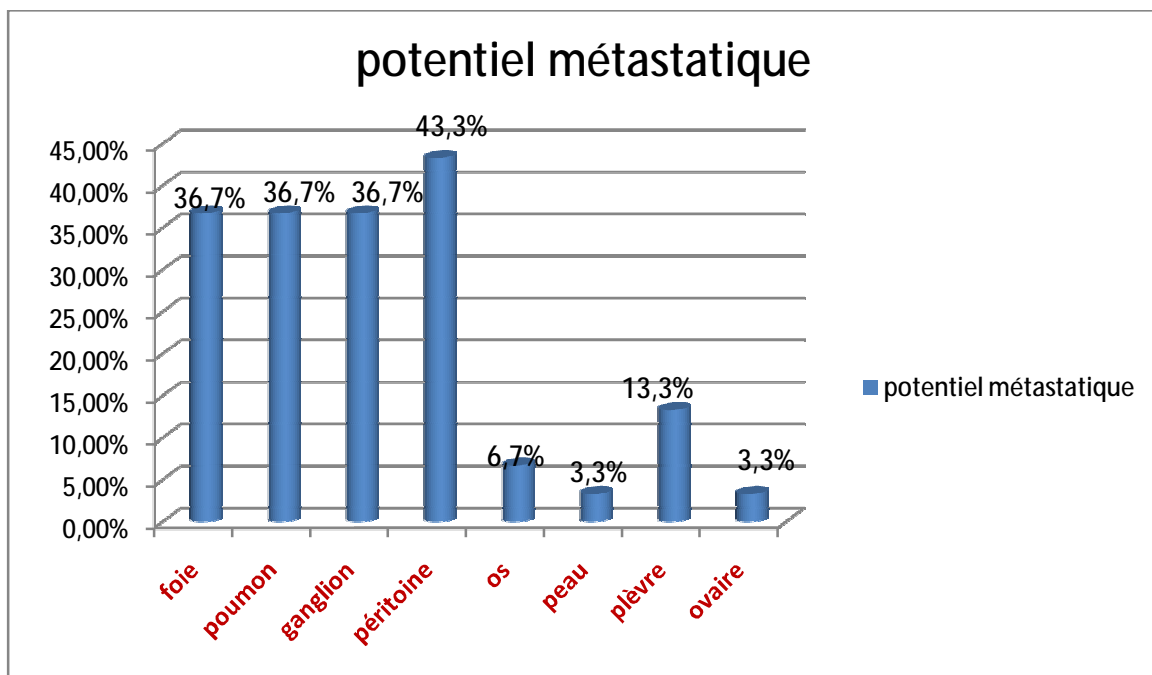


Figure 21 : différents sites de métastases chez nos malades.

j) La conduite thérapeutique :

Le traitement de nos malades est basé sur la chirurgie et la chimiothérapie. 17 de nos malades étaient inopérables et ont reçu une chimiothérapie palliative. Les autres cas ont bénéficié d'une gastrectomie totale (n=6) ou une gastrectomie partielle (n=7).

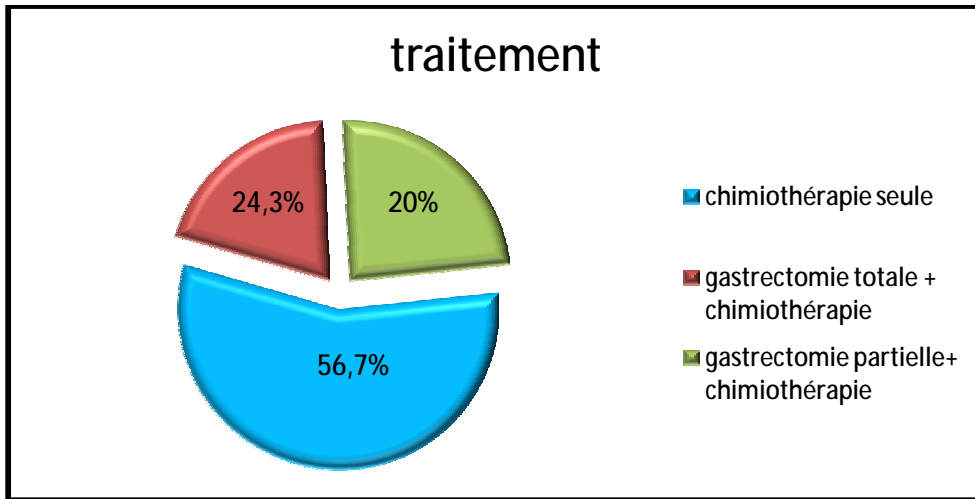


Figure 22 : conduite thérapeutique chez nos malades

L'évolution à 6 mois est marquée par le décès dans 30% et une progression de la maladie dans 11,1%. 20% (n=6) ont été perdus de vue (PDV).

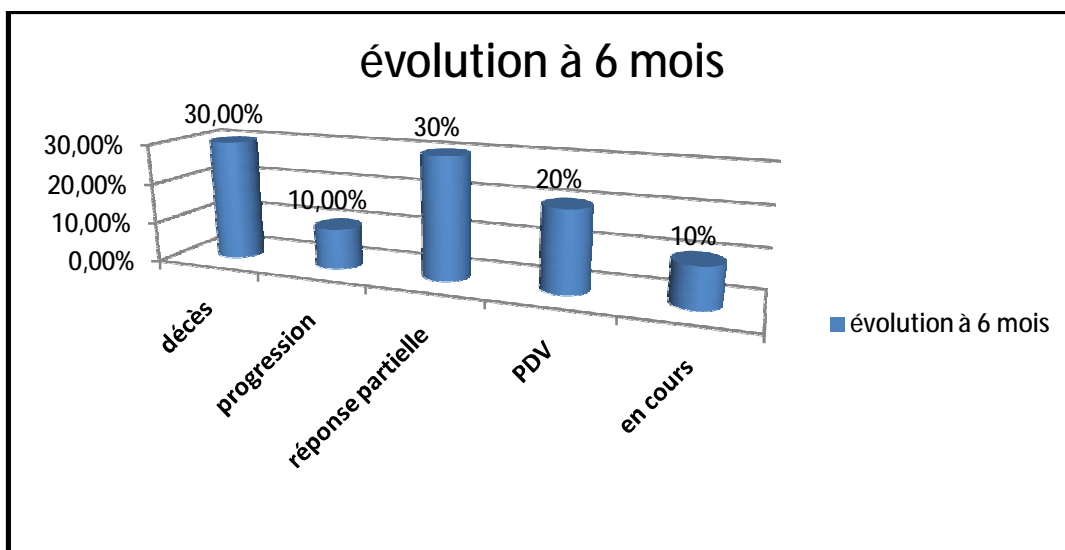


Figure 23 : évolution à 6 mois de nos malades.

2. Etude analytique :

L'analyse uni-variée entre l'expression du récepteur HER 2 et les autres paramètres est très limitée par le nombre insuffisant de nos malades.

a) L'âge :

Nous avons subdivisé nos malades en deux groupes : un groupe contenant les malades dont l'âge est moins de 50 ans et un deuxième avec les malades de plus de 50 ans. L'âge moyen chez les patients exprimant le récepteur HER2 est de 50,66 ans alors qu'il est de 56,08 chez les patients qui ne l'expriment pas.

On a constaté que 66,7 % des patients qui expriment HER 2 avaient un âge moins de 50 ans et 64 % des cas qui ne l'expriment pas avaient un âge supérieur à 50 ans.

L'étude de la corrélation entre l'âge et l'expression n'est pas significative avec un $p=0.233$

Tableau 5: Corrélation entre l'âge et le profil d'expression de HER2

	Score 0 et 1	Score 2	Score 3
Age ≤50	9 (36%)	1 (50%)	2 (66,7%)
Age >50	16 (64%)	1 (50%)	1(33,3%)
totale	25	2	3

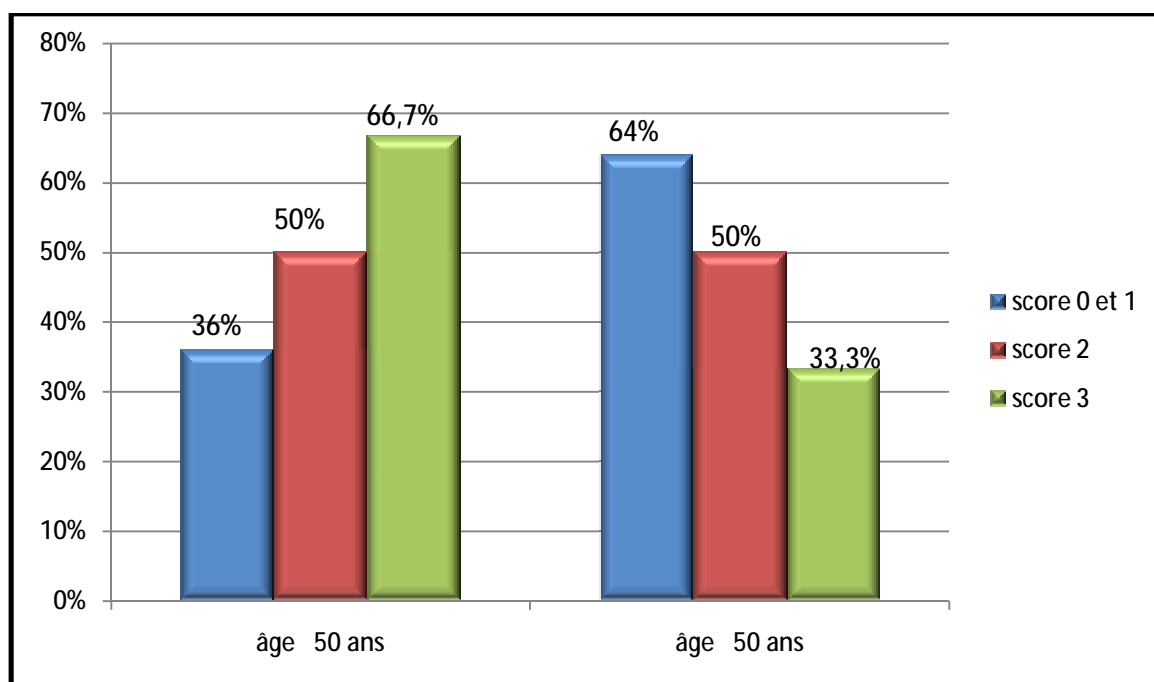


Figure 13: répartition des scores obtenus par IHC en fonction des tranches d'âge.

b) Le sexe :

On note une prédominance masculine pour la positivité de l'expression de her2 mais la corrélation entre le sexe et l'expression de HER2 ne trouve pas de lien entre eux avec un ($p=0,702$).

Corrélation entre le sexe et l'expression de her2

Tableau 6: Corrélation entre le sexe et l'expression de HER2

	Score 0 et 1	Score 2	Score 3
Homme	16(64%)	1(50%)	2(66,7%)
femme	9(36%)	1(50%)	1(33,3%)
total	25	2	3

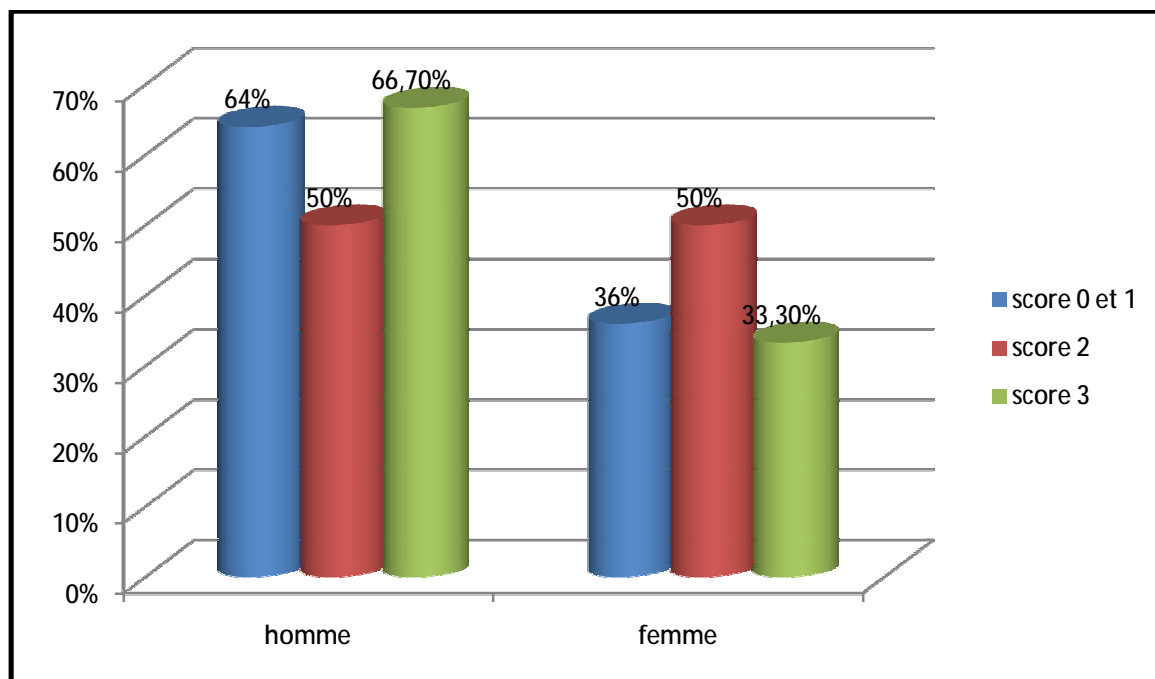


Figure 14: répartition des scores obtenus par IHC en fonction de sexe des malades.

c) Le siège tumoral

On note une prédominance de la localisation gastrique pour les patients ayant un score 3+ et aussi pour les cas qui sont négatifs pour le test, quand aux cas équivoques ils sont tous au niveau de la JOG. Le tableau et le diagramme représente le pourcentage de chaque score au niveau de chaque localisation.

Tableau 7: répartition de chaque score en fonction de la localisation tumorale.

	Score 0 et 1	Score 2	Score 3
Estomac	21(84%)	0	2(66,7%)
JOG	4(16%)	2(100%)	1(33,3%)
total	25	2	3

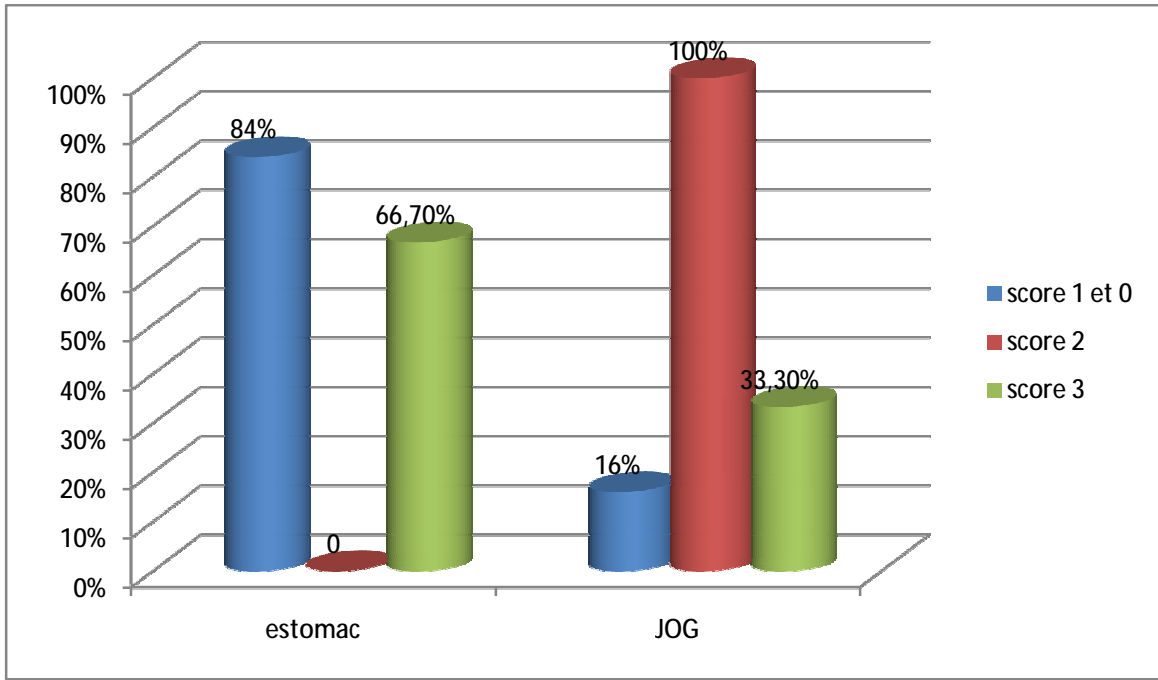


Figure 15: répartition des scores en fonction de siège tumoral.

Si on subdivise notre échantillon en deux : un groupe qui n'exprime pas le récepteur HER2(0 et 1+) et un groupe qui l'exprime(2+ et 3+), le diagramme sera comme suit :

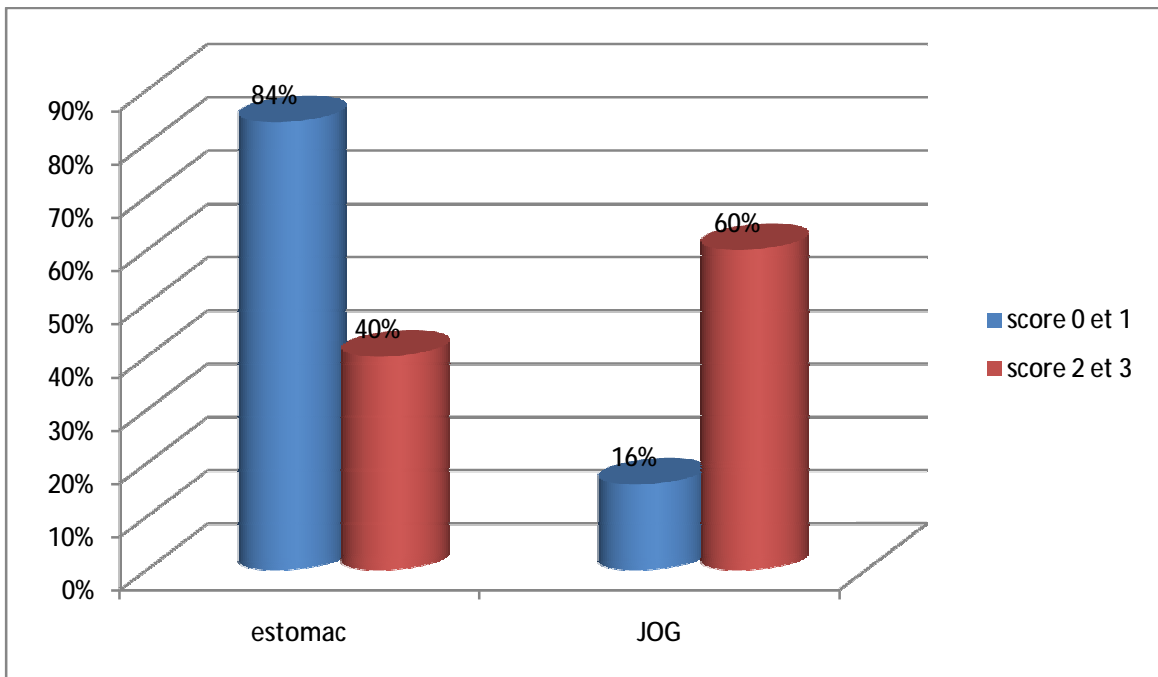


Figure 16 : répartition des scores (0 et 1/ 2 et 3) en fonction de siège tumoral.

On note que le récepteur HER2 est plus exprimé au niveau de la JOG que dans l'estomac. Le calcul de l'indice p est à 0,068. Il n'est pas significatif donc il n'y a pas de corrélation entre le siège et l'expression du récepteur HER2.

d) le type histologique et l'expression du HER2 :

les cas ayant un score 3+ (soit 66,7%) et les 2 cas équivoques ont un ADK peu différencié non à cellules indépendantes par contre, on n'a pas trouvé de lien significatif entre le type histologique et l'expression du récepteur HER2. (p=0,261)

Tableau 8: répartition de chaque score en fonction de type histologique.

Cellule indépendante	Score 0 et 1	Score 2	Score 3
oui	12 (48%)	0	1 (33,3%)
non	13(52%)	2 (100%)	2 (66,7%)
	25	2	3

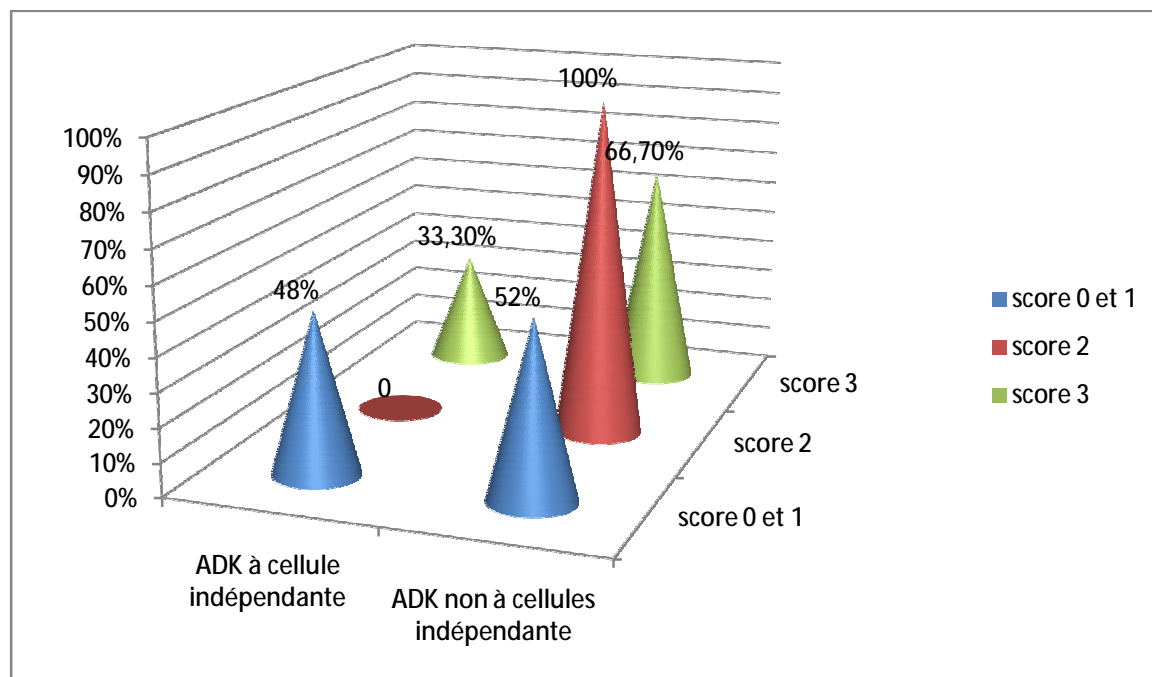


Figure 17: répartition des scores en fonction de type histologique.

e) les embolés vasculaires :

Aucun de nos malades qui expriment HER2 présente des embolés vasculaires.

Corrélation entre les embolés vasculaire et HER2 n'est pas significative. ($p=0,720$)

Tableau 9: répartition de chaque score en fonction de la présence d'embolée vasculaire.

Embolés vasculaire	Score 0 et 1	Score 2	Score 3	Totale
présence	3(12%)	0	0	3
absence	22 (88%)	2(100%)	3 (100%)	27
	25	2	3	

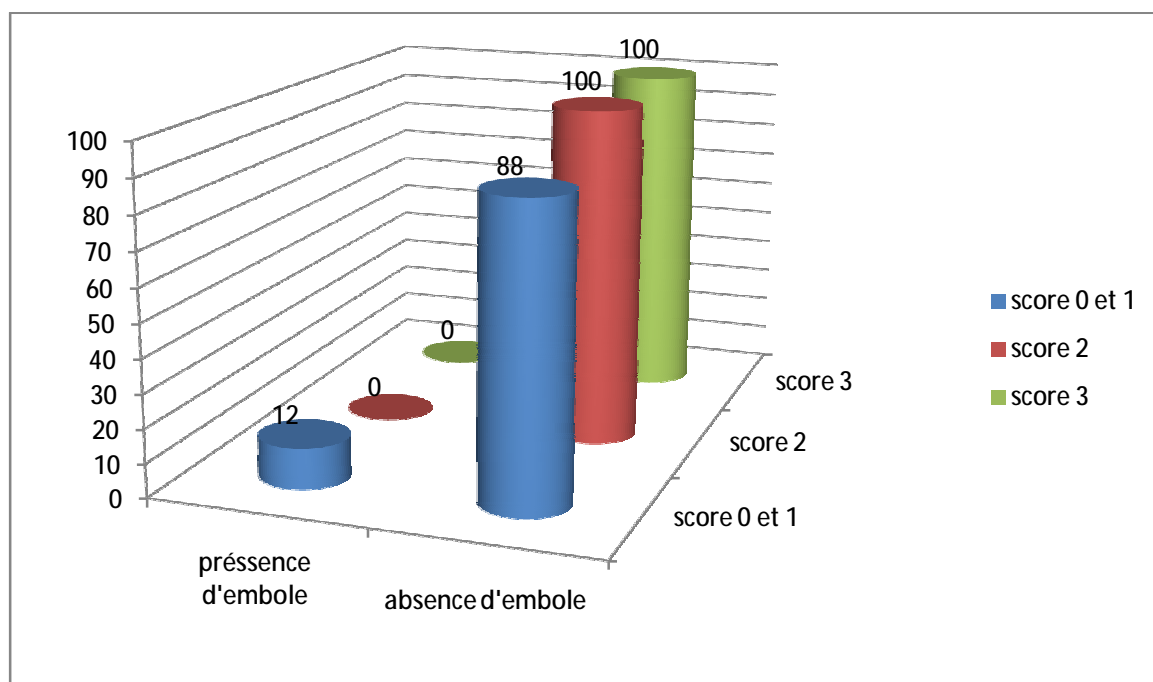


Figure 18: répartition des scores en fonction de la présence d'embolés vasculaire.

f) le potentiel métastatique :

Dans notre travail, 66,6% des patients qui expriment le récepteur HER2 ont des métastases péritonéales contre 44% pour ceux qui ne l'expriment pas. Néanmoins, il n'y pas de relation significative entre le potentiel métastatique et le profil HER2. ($p=0,63$)

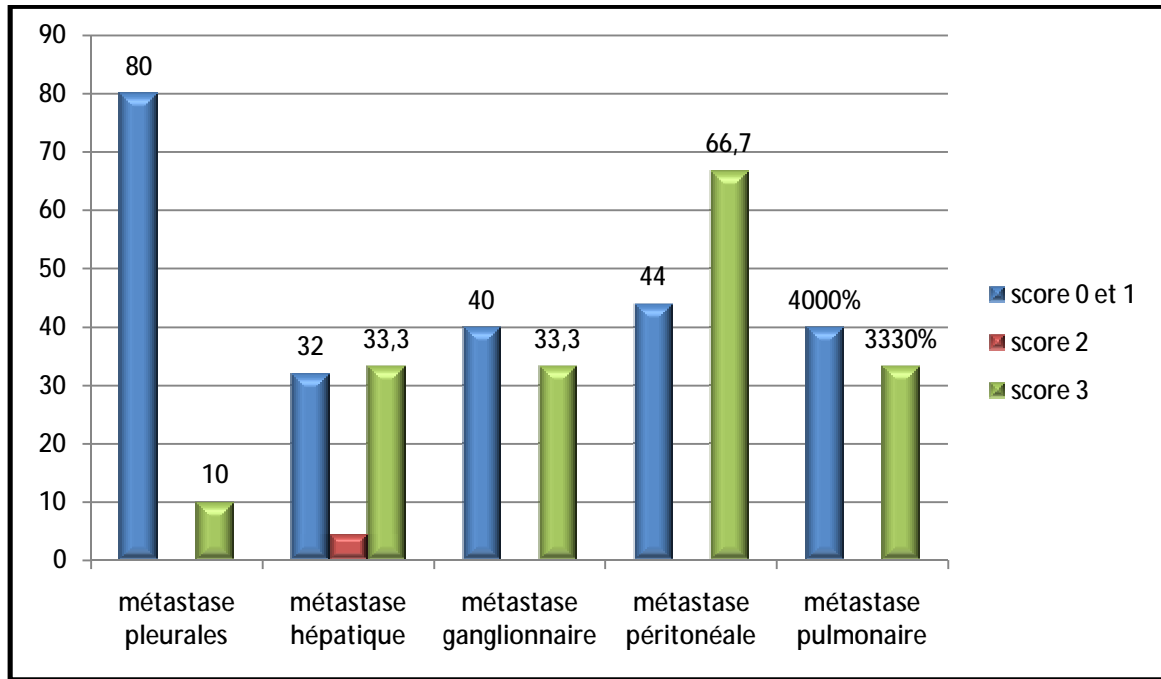


Figure 19: répartition des différents sites de métastases en fonction de différents scores.

g) Evolution après 6 mois :

Ce diagramme représente l'évolution de nos patient après 6 mois, la plupart de nos malades n=26 ont reçu la chimiothérapie palliative, 3 ont présenté une intolérance avec des complications suite à leur première cure et ont arrêté, les 3 derniers sont en cour de traitement. pour les malades ayant score 3+, ils n'ont pas reçu l'Herceptine vue le manque de moyens.

L'évolution est marquée par le décès dans 33,3% pour les cas HER2 positif et pour les deux malades équivoques pour le test.

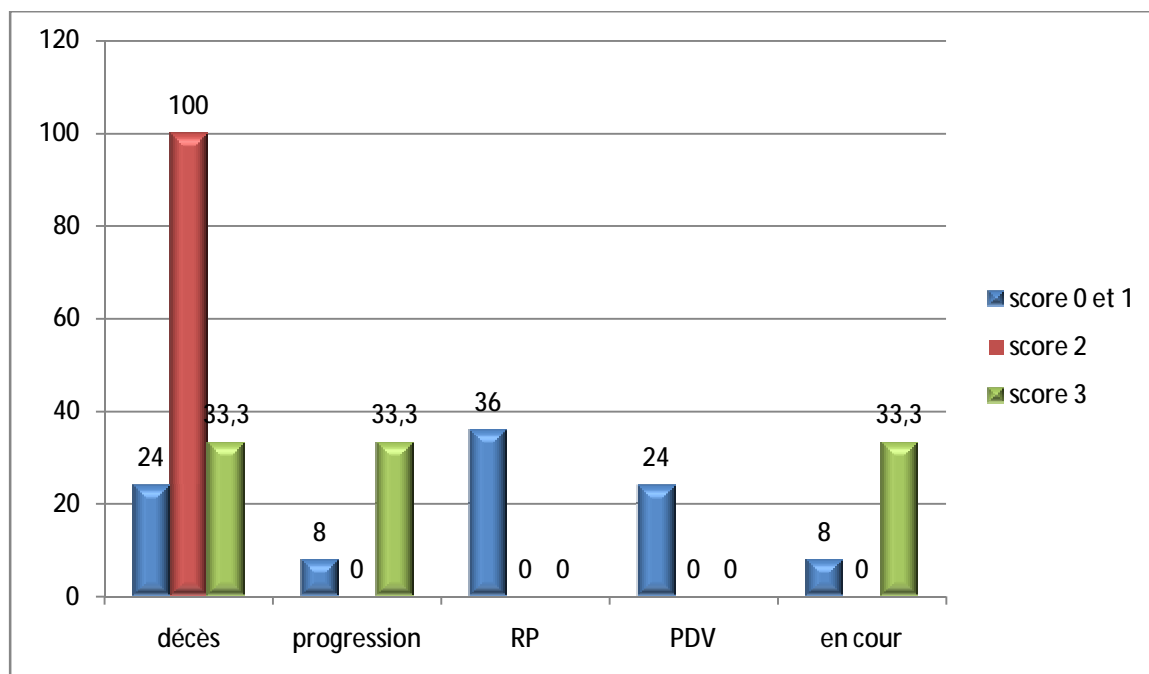


Figure 20: évolution après 6 mois en fonction des différents scores.

DISCUSSION

I. Etude épidémiologiques :

Le cancer de l'estomac reste au niveau mondial le deuxième cancer par chiffre de mortalité, il est grevé d'un mauvais pronostic avec une moyenne de survie de 10 à 11 mois.[34,35,36]

En France, le cancer gastrique se situe au 5ème rang des cancers, le deuxième rang des cancers digestifs après le cancer colorectal avec environ 7000 nouveaux cas et 5000 décès par an. L'âge moyen de survenue est de 70 ans avec une prédominance masculine (sex-ratio :2,5).[37]

Au Maroc, il représente aussi le deuxième cancer du tube digestif aussi bien chez l'homme que chez la femme. Son incidence a augmenté de 3,6 en 2005 à 4,6 en 2007.l'âge moyen chez l'homme est de 58,6 ans et chez la femme 55,5 ans. (Registre des cancers de CASA).[38]

Il représente le cancer le plus fréquent à RABAT aussi bien chez l'homme que chez la femme avec une moyenne d'âge plus élevée chez l'homme (61,8 ans) et un peu plus basse pour la femme (51,4 ans). Il touche plus les hommes que les femmes. (Registre des cancers RABAT)[39].

En Tunisie, selon une étude publiée en 2012, l'âge moyen des patients est de 58,8 ans avec des extrêmes allant de 18 à 94 ans. Le sexe ratio est de 1,72.[40]

Dans notre étude, l'âge moyen de nos patients est de 53,97ans (56,10 ans pour l'homme et 50,27 ans pour la femme) une valeur qui a tendance à baisser par rapport à l'âge moyen décrit ci-dessus et dans la littérature.la prédominance masculine est constante dans toutes les séries.

Tableau : montrant l'âge moyen et le sexe ratio de l'ADK gastrique des différentes séries.

Tableau 10: montrant l'âge moyen et le sexe ratio de l'ADK gastrique des différentes séries.

	âge moyen (ans)	Age moyen chez l'homme (ans)	Age moyen chez la femme (ans)	Sexe ratio H/F
Maroc	56,6	61,8	51,4	2
France	70			2,5
Etude Fès	52	-	-	3,2
Etude Tunisie	58,8	-	-	1,04
Notre série	53,97	56,10	50,27	1,72

II. Etude anatomopathologique du récepteur HER2 :

A. Technique d'étude :

1) Type de prélèvement :

La détection du marqueur her2 est acceptable sur les biopsies de la tumeur primitive ou des métastases et les pièces opératoires [41,42]. Dans ce dernier cas le bloc utilisé doit être représentatif de la tumeur. Dans le cas de biopsie, 5 à 8 biopsies sont recommandées de manière à agrandir la représentativité de la tumeur (recommandations du Thésaurus national de cancérologie digestive [43]) « cinq à huit biopsies doivent être réalisées et atteindre autant que possible la sous-muqueuse ; dans la forme linitique, il est utile de réaliser soit des biopsies multiples profondes au même endroit, soit une macrobiopsie à l'anse diathermique ». L'utilisation de micro puces de tissus n'est pas recommandée en raison de

l'hétérogénéité de l'expression de marqueur her2 et de son amplification dans ce type de tumeur. [44]

Dans notre travail, 80% de surface des blocs des pièces opératoires est représentée par la tumeur. En revanche, on avait quelques insuffisances pour les biopsies vue que, souvent, sont de petite taille. 2 cas ont été exclus pour lesquels le matériel était épuisé.

2) Principes techniques :

Ø La fixation :

Elle permet la conservation morphologique des structures cellulaires, c'est un prérequis indispensable à l'obtention des tests IHC et HIS fiables.

Les recommandations internationales préconisent une fixation au formol 10 % tamponné de 24-48 heures pour les pièces opératoires et de six à huit heures pour les biopsies [45, 46, 47].

Pour assurer une pénétration optimale du fixateur, il est nécessaire de fixer les échantillons le plus rapidement possible soit moins d'une heure après le prélèvement [48].le liquide de Bouin est à proscrire car il empêche tout recours à une technique d'IHS.[49]

Dans notre étude, et comme dans l'étude TOGA, nos échantillons ont été fixé conformément aux recommandations internationales (ASCO/CAP, UK, Canada) au formol 10% tampon phosphate PH neutre durant 24 à 48 heures pour les pièces opératoires et durant 6 à 8 heures pour les biopsies.

Ø L'inclusion en paraffine :

Les prélèvements ayant achevé leur fixation sont déposés dans des cassettes en plastique pour déshydratation par passage dans des alcools. L'alcool est éliminé par des solvants (xylène) puis la paraffine liquide à 56° imprègne les tissus et est refroidie.la température de la paraffine ne doit pas excéder à 60°, idéalement à 56-

57°C [50]. Une fois fixé, les échantillons peuvent être conservés plusieurs années à une température ne dépassant pas 27°C. [51, 52]

Ø La coupe du bloc de paraffine au microtome :

Les coupes doivent être faites dans une région représentative de la tumeur en s'appuyant sur la coloration à l'hématoxyline / éosine (H&E) ou à l'hémalum / Eosine / safran (HES). L'épaisseur standard de la coupe devrait être entre 3 et 4 µm selon le tissu.

Les sections doivent être montées sur lame ayant de bonne qualité d'adhésion et séchées adéquatement. Après section, étalement, on peut avoir une diminution de la sensibilité avec le temps [53]. C'est pour cette raison qu'il est recommandé de préparer les lames extemporanément pour la technique IHC ou au maximum 2 semaines à l'avance.[50].

B. Détermination du statut HER2

Les deux méthodes recommandées actuellement sont l'IHC et l'HIS, sur coupes fixées et incluses en paraffine. Ces deux techniques présentent une grande spécificité puisqu'elles permettent une visualisation directe du signal recherché au niveau des cellules carcinomateuses.

La technique d'IHC est suffisante pour déterminer le statut HER2 des tumeurs dans environ 90 % des cas [50]. Seuls les cas ambigus sont actuellement vérifiés par une technique d'HIS. Comme l'IHC, les techniques d'HIS colorimétriques chromogéniques ou argentiques (BrISH pour Brightfield in situ hybridization) permettent un bon contrôle morphologique du tissu. Néanmoins, la technique d'HIS la plus évaluée par rapport à la réponse à l'Herceptine reste la technique de FISH [50].

Dans notre travail, la recherche du profil HER2 est faite seulement par IHC et elle était suffisante dans 94%(28 cas), seul 2 cas étaient ambigus. Par faute de

moyen, les techniques d'IHC ne sont pas réalisées. Pour la série faite au laboratoire d'anatomopathologie de CHU de Fès, IHC était concluante pour 83% des cas, 16,1% nécessitent le recours à la technique HIS. Dans l'étude TOGA, elle était suffisante pour 88%, 388 cas parmi 3280 étaient ambigus.

Tableau 11: reproductivité de la technique IHC dans différentes études.

étude	Nombre de cas	Nombre de cas score 2+ (ambigus)	IHC suffisante
TOGA	3280	288	88%
FES	31	5	83%
Notre étude	30	2	94%

A la lumière de ce tableau, on rejoint les recommandations pour la pratique de test HER2 dans le cancer gastrique ou de la JOG métastatique qui préconisent l'IHC comme un test initial. Les cas ambigus seront confirmés par les techniques d'IHC.

1) Immunohistochimie

a) Principe :

C'est une technique qui permet l'identification "in situ", sur coupe histologique, d'un antigène cellulaire ou tissulaire. Cette technique est basée sur une réaction spécifique antigène-anticorps utilisant des anticorps mono ou polyclonaux conjugués à une substance fluorescente ou à une enzyme qui réagit avec son substrat en donnant une coloration facile à voir au microscope optique en lumière blanche ou ultra-violette.

Elle est reconnue comme la technique de référence pour déterminer le statut de HER2 dans les cancers du sein et actuellement dans le cancer gastrique ou de la JOG métastatique. La mise en évidence de HER2 est un peu différente de

l'immunohistochimie courante : il s'agit ici de mettre en évidence une surexpression et non une expression basale puisque à l'état normal, on trouve environ 10 000 récepteurs à la surface cellulaire et jusqu'à 100 fois plus en cas de surexpression.

b) Outils de l'IHC : 2 possibilités

- Les kits standardisés

Deux kits standardisés, sont largement répandus et utilisés. Le premier commercialisé a été le kit Herceptest® commercialisé par Dako (Glostrup, Danemark), utilisant l'anticorps (AC) polyclonal A485, puis le kit Pathway® utilisant le clone 4B5 commercialisé par Ventana-Roche (Tucson, AZ, États-Unis). L'étude ToGA a été réalisée avec le kit Herceptest®.

Tableau 12 : trousse commerciale disponibles pour la détection du marqueur HER2 par IHC.

Détection par IHC		
Trouse	Compagnie	Anticorps
Ventana™ PATHWAY HER-2/neu	Roche Tissue Diagnostics	4B5
Herceptest™	Dako	A0485

- Les anticorps

Plusieurs anticorps spécifiques anti-HER2 sont également disponibles. Les plus utilisés sont l'AC monoclonal NCL-CB11 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, Royaume-Uni), l'AC monoclonal SP3 (Microm, Lyon, France), l'AC monoclonal 4B5 (Ventana-Roche) et l'AC poly clonal A485 (Dako), tous dirigés contre la partie intracytoplasmique de la protéine HER2. L'AC Tab250 (Invitrogen, Carlsbad, CA, États-Unis) reconnaît le domaine extracellulaire de HER2.

Notre série, comme dans l'étude TOGA, a été réalisée en grande partie (20 cas) par le kit Herceptest utilisant l'anticorps polyclonale A485. 10 cas ont été fait par le kit Pathway utilisant le clone 4B5.

c) Règles d'interprétation :

L'optimisation de la technique IHC passe par l'apprentissage de l'interprétation de l'immunomarquage et l'utilisation de témoins. Telle que valider par Hoffmann et al, l'interprétation est basée sur l'intensité du marquage et le pourcentage des cellules marquées. [54]

Ø Témoin interne :

Contrairement au cancer de sein, on ne peut pas utiliser les glandes gastriques non tumorale comme contrôle interne négatif du marquage her2 car elles peuvent être positives en IHC en particulier les zones de générations [50].

Ø Témoin externe

Afin de calibrer la technique IHC, il est recommandé de tester une centaine de cas de carcinomes invasifs (mammaires ou gastriques) et de confronter les données de l'IHC avec celles d'une technique d'HIS, éventuellement avec l'aide d'un centre expert HER2 si l'on a une activité « digestif » exclusive car les cancers de l'estomac et de la JOE sont beaucoup plus rares que les cancers du sein. [50]

Dans notre travail on a utilisé des témoins externes de lignées cellulaires et des cas témoins du service vérifier par HIS pour cancer du sein.

Ø Evaluation de l'intensité du marquage

Pour évaluer de façon reproductible l'intensité du marquage par IHC, le degré du grossissement microscopique (\times) auquel le marquage membranaire est clairement visible doit être pris en compte. Soit : [54,55]

- grossissement faible (2,5–5 \times) : identification du score 3+ (complet, en U ou latéral) ;
- grossissement intermédiaire (10–20 \times) : score 2+ (complet, en U ou latéral);

- fort grossissement (40 ×) : score 1+ (tout marquage membranaire) ou négatif.

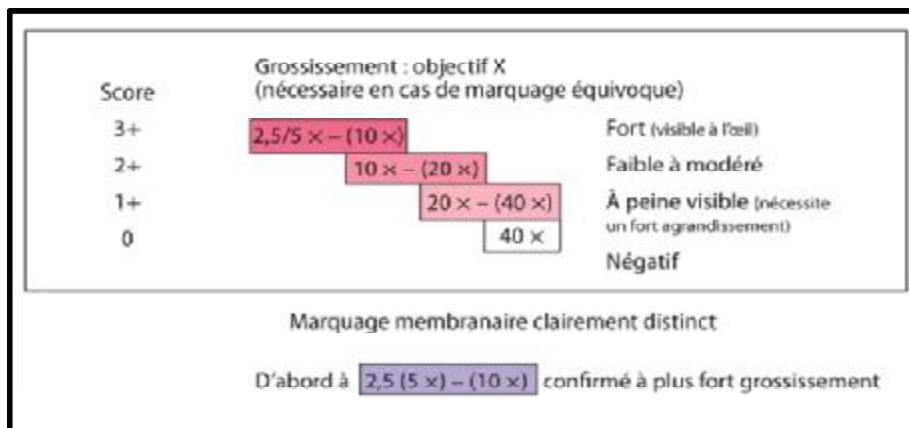


Figure 21 : Score d'évaluation de l'intensité du marquage³

Ø Pourcentage des cellules marquées

En raison de l'hétérogénéité du statut HER2 dans les carcinomes gastriques, les règles d'application du score HER2 dans les cancers mammaires (30 % de cellules positives au moins) ne peuvent être transposées aux cancers gastriques. En fait, un marquage visible clairement, dès le faible grossissement, comme membranaire, complet, en U ou latéral, est considéré comme 3+, avec un seuil de 10 % de cellules marquées pour les pièces opératoires et le marquage d'au moins cinq cellules adjacentes cohésives pour les biopsies.[50]

d) Le Score retenu pour l'évaluation du statut HER2 par immunohistochimie dans les cancers gastriques ou de la JOG.


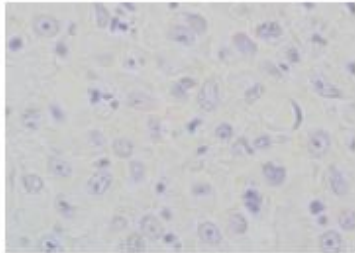
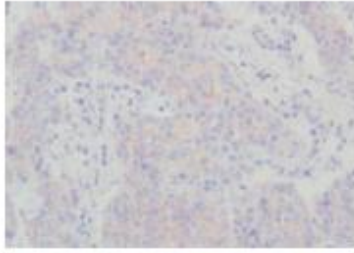
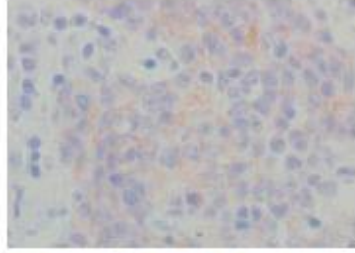
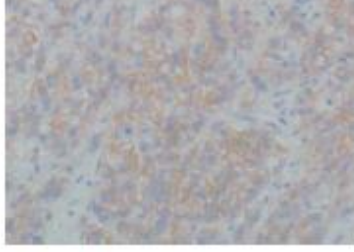
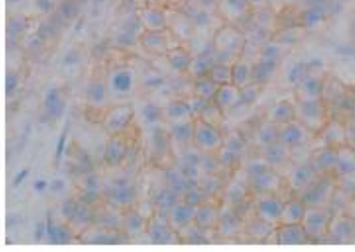
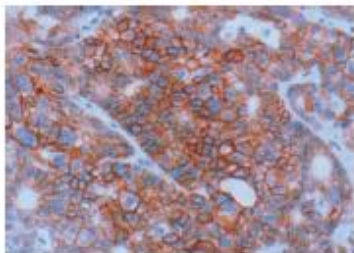
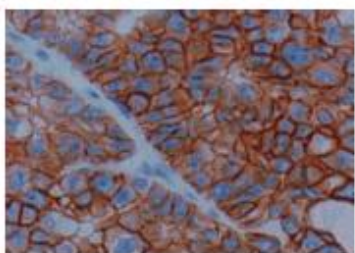
Tableau 13: score établie pour évaluation de l'expression de HER2 dans biopsie et pièce opératoire

Score d'intensité de coloration	Coloration de l'échantillon chirurgical	Coloration de la biopsie	Evaluation de la surexpression de HER2
0	Aucune coloration ou une coloration membranaire dans < 10% des cellules tumorales	Aucune coloration ou une coloration membranaire dans les cellules tumorales	négative
1+	Coloration membranaire faible/à peine perceptible dans > 10% des cellules tumorales ;les cellules sont colorées que dans une partie de leur membrane	d'amas de cellule tumorale avec une coloration membranaire faible ou à peine perceptible indépendamment du pourcentage de cellule tumorale colorée.	négative
2+	le marquage membranaire est complet, basolatéral ou latéral, d'intensité moyenne ou faible dans plus de 10 % des cellules tumorales invasives.	d'amas de cellules tumorales avec une coloration membranaire faible à modérée, basolatérale ou latérale complète, indépendamment du pourcentage de cellule tumorale colorée.	équivoque
3+	le marquage membranaire est complet, basolatéral ou latéral et intense dans plus de 10 % des cellules tumorales invasives	d'amas de cellules tumorales avec une coloration membranaire forte, basolatérale ou latérale complète, indépendamment du pourcentage de cellule tumorale colorée.	positive



Figure 22 : Critère du Scor IHC pour l'évaluation du her2 dans cancer gastrique et la JOG(ref)

Tableau 14. Résultats d'IHC pour la classification de l'expression du marqueur HER2 dans le cas de cancer gastrique ou de la JOG.

Caractéristiques du marquage		Résultats /Classification
20 X	40 X	
		0 / négatif
		1+ / négatif
		2+ / équivoque
		3+ / positif

Dans notre travail, on a adopté la même grille d'interprétation (ci-dessus) de test IHC à la recherche de profil HER2.

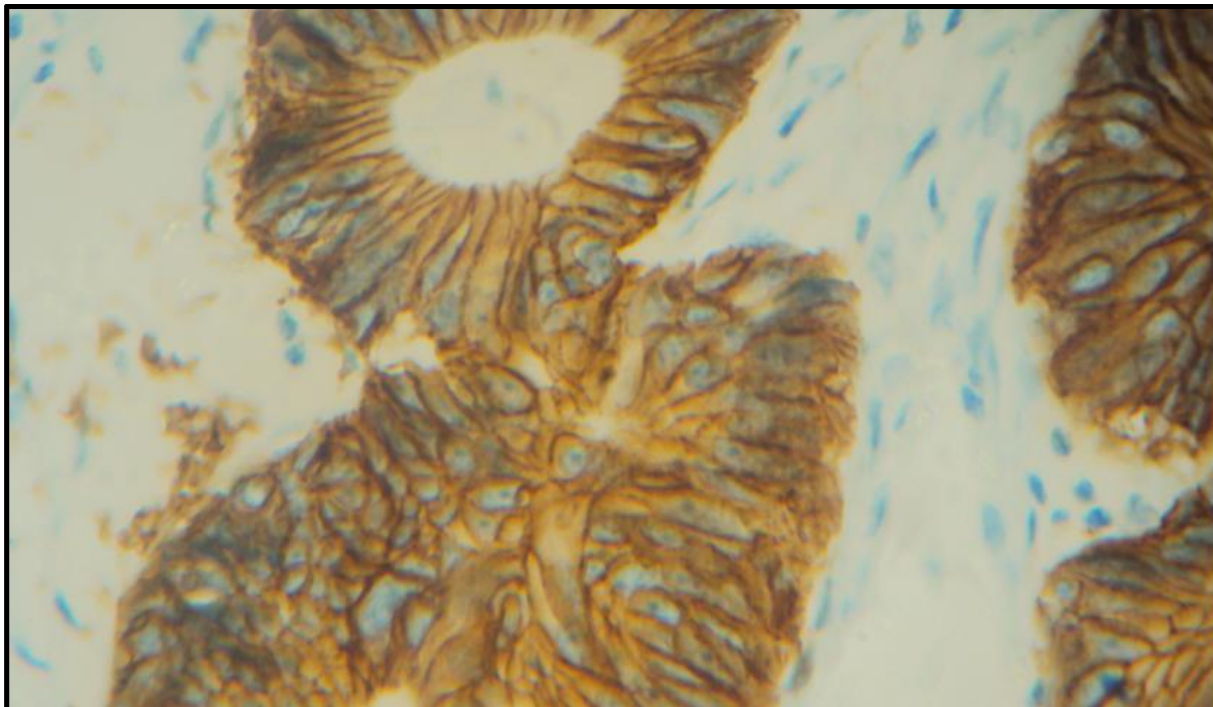


Figure 23 : photo prise d'un ADK avec un score HER2 3+.

e) Avantage et inconvénient de l'IHC :[56-59]

La technique immunohistochimique a plusieurs avantages :

- elle permet de s'assurer que la tranche de section comporte la tumeur qui permet d'éviter les faux positifs et les faux négatifs.
- elle peut être réalisée à partir de prélèvements cytologiques, de tissus congelés ou fixés en paraffine.
- elle permet de travailler sur de petits fragments.
- Il est possible de renouveler l'analyse sans disposer d'un nouveau prélèvement.
- son coût est plus faible.
- Sa réalisation pratique est plus simple et permet l'analyse simultanée de nombreux échantillons.
- C'est une technique utilisable en routine.
- Il existe une possibilité d'archivage et de consultation ultérieure.

Cependant, cette technique a certains inconvénients :

- l'absence d'une méthode standardisée.
- le manque d'une expression quantitative objective du récepteur.
- la reproductibilité de la coloration immunohistochimique est parfois critiquée.
- les variations du seuil de positivité entre les laboratoires.
- Le contrôle de qualité n'est pas encore généralisé.
- la validation clinique de la technique n'est pas actuellement terminée.

2) Hybridation in situ fluorescente ou FISH

Ø Principe

La technique d'hybridation fluorescente (FISH ou fluorescent in situ hybridization) permet de repérer la présence d'anomalies chromosomiques par un système couplé anticorps-fluorophore.

Le principe en est le suivant :

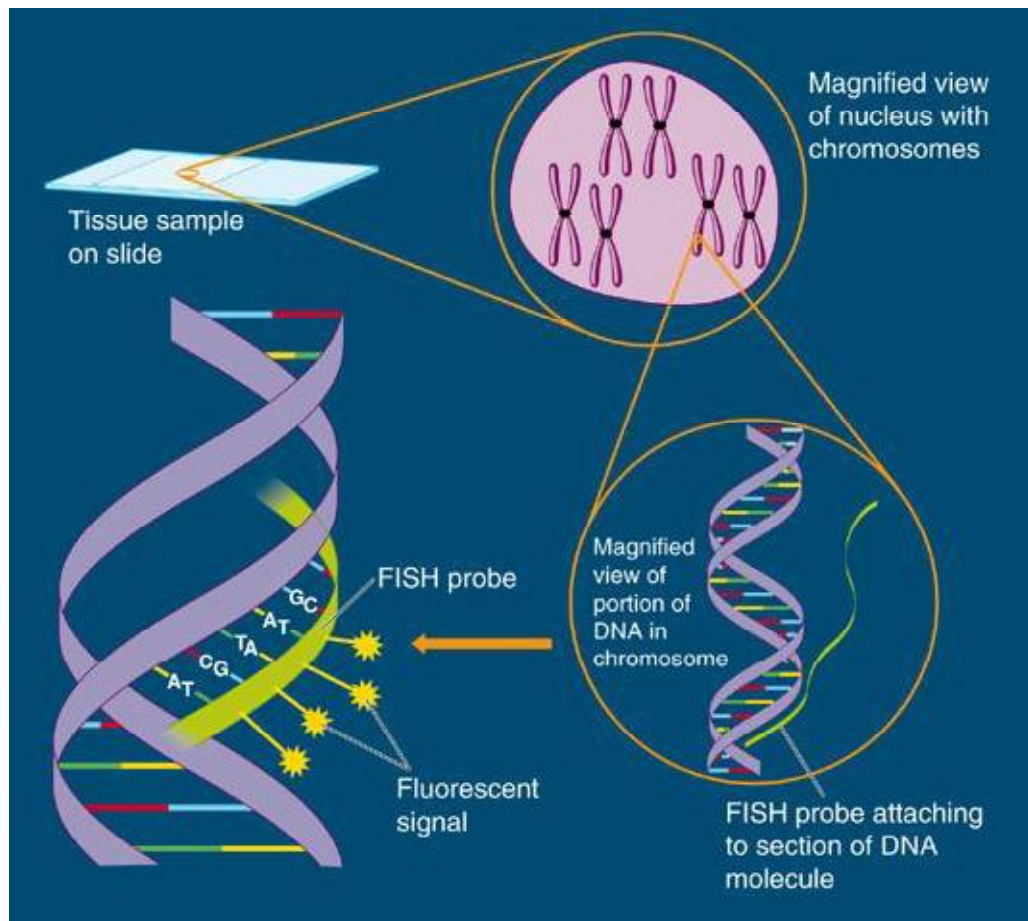


Figure 24 : principe de la technique Fish

- C'est une méthode indirecte de détection du statut HER2 qui permet un contrôle morphologique de grande spécificité, avec visualisation directe du signal recherché au niveau des cellules cancéreuses, il consiste à une hybridation de l'ADN tumoral en une étape, avec une sonde fluorescente reconnaissant le gène HER2, une deuxième sonde reconnaissant le centromère 17 peut être couplée à la première ou bien être réalisée ultérieurement.
- On détecte par cette technique l'amplification du gène et non sa surexpression, et dans 5 à 10% des cas, il peut y avoir surexpression sans amplification.
- La FISH permet de détecter les cas douteux en IHC.

Ø Les outils de la technique FISH : [50]

3 kits sont disponibles :

- les kits PathVysion (Abott/Vysis, Downers Grove, IL, États-Unis) et
- HER2 FISH pharmDx (Dako), incluant tous deux la sonde centromérique du chromosome 17,
- INFORM/HER2 (Ventana/Roche), comportant la sonde HER2 seule.

Ø Avantage et inconvénients [60,61]

La FISH est quantitativement plus précise avec un score simple, mais elle est plus coûteuse, elle demande plus de temps, elle est techniquement exigeante, nécessite un microscope à fluorescence, sa fluorescence diminue rapidement, et elle ne permet pas de visualiser les caractéristiques morphologiques.

3) Hybridation in situ non fluorescente

▼ Hybridation in situ colorimétrique ou CISH

L'hybridation in situ colorimétrique (CISH), dans laquelle les copies du gène HER-2 sont détectées au moyen d'une réaction à la peroxydase, a récemment été introduite comme une alternative à la FISH [61]. La CISH permet de calibrer la technique immunohistochimique ou servir de contrôle de qualité. [62]

Le principe général de la CISH repose sur l'hybridation d'une séquence d'ADN spécifique avec les gènes HER2 des cellules tumorales. Son originalité tient au mode de révélation qui met en jeu, comme en immunohistochimie, un chromogène. Pour la CISH, la sonde est marquée à la digoxygénine et pourra être révélée par une cascade de réactions antigène anticorps. [63]


Le kit le plus utilisé est le Zymed/Invitrogen, à révélation par un chromogène.

▼ Hybridation in situ argentique ou SISH

L'hybridation in situ argentique (SISH) est une nouvelle technique d'ISH qui utilise la précipitation d'ions argent pour le repérage des sondes d'ADN hybridées, deux sondes séparées sont utilisées : une pour le gène HER2 et l'autre pour le centromère du chromosome 17. Le kit le plus utilisé est Ventana/Roche.

▼ Avantages et inconvénients

Les avantages de la CISH sont son moindre coût, son évaluation par les microscopes optiques classiques, l'analyse histologique similaire au marquage immunohistochimique, et sa facilité d'interprétation. Toutefois l'utilisation de la CISH seule est controversée à cause de la possibilité de faux positifs secondaires à la présence d'une polysomie pour le chromosome 17. [61,64]

 Score retenu pour HIS dans l'évaluation du statut HER2 [50,65]

Les résultats de FISH, CISH et SISH sont exprimés par un ratio entre le nombre de copies des HER2 et le nombre de copies du chromosome 17, dans environ 20 à 40 cellules comptées, ainsi :

- amplification de HER2 : $HER2 > 6$ copies (si sonde her2 unique) ou $HER2/CEN17 > 2.2$.
- résultat ambigu : $4 < HER2 < 6$ ou $1.8 < HER2/CEN17 < 2.2$.
- Absence de l'amplification d'HER2: $HER2 < 4$ ou $HER2/CEN17 < 1.8$.

Pour l'interprétation, il est important de repérer les zones invasives et de réaliser les comptes de signaux dans ces zones-là. Comme les tumeurs gastriques peuvent être très hétérogènes, il convient de balayer toute la coupe à la recherche des zones amplifiées. Pour ces deux raisons, dans le cancer gastrique les techniques d'HIS avec sondes non fluorescentes semblent les plus adaptées à la pratique de

routine. Lorsque le ratio est compris entre (ratio de 1,8 à 2,2), il est suggéré de compter plus de noyaux (au moins 20 de plus) et dans d'autres zones tumorales et/ou d'autres coupes. [50]

C. Concordance entre IHC et FISH :

Contrairement au cancer de sein, la concordance entre l'expression protéique et l'amplification de gène ont été controverses. Les études publiées en 1990-1991 n'ont pas observé de bonne concordance entre les deux méthodes [66]. Dans une série de 40 cas analysée par Lemoine et al. [67], 26% expriment HER2 contre 13% seulement qui témoignent d'une amplification génique. Un résultat similaire est obtenu par Kamed et al qui ont détecté une surexpression protéique sans amplification génique.[68]

Des études récentes indiquent toute fois une concordance élevée entre la surexpression dans IHC et l'amplification par FISH ou SICH. Yano et al ont trouvé un taux de concordance de 87% (58,5% pour 2+ et 88% pour 3+) [69]. Dans l'essai TOGA la concordance aussi est de 87%, les différences étaient en grande partie dans les cas IHC 0 et 1+ avec FISH positive. [70]

Tableau 15 : concordance entre IHC et la FISH dans l'essai TOGA.[50]

Tableau 3 Concordance entre FISH et immunohistochimie (IHC) dans l'étude ToGA [13]. <i>Concordance between FISH and IHC in the ToGA trial [13].</i>					
	IHC 0, n (%)	IHC 1+, n (%)	IHC 2+, n (%)	IHC 3+, n (%)	Total, n (%)
FISH+	94 (4,9)	96 (15,7)	212 (54,6)	354 (94,9)	756 (23,0)
FISH-	1815 (95,1)	514 (84,3)	176 (45,4)	19 (5,1)	2524 (77,0)
Total	1909 (100,0)	610 (100,0)	388 (100,0)	373 (100,0)	3280 (100,0)

Les pourcentages reflètent le statut FISH dans chaque sous-groupe IHC.

III. Expression du récepteur HER2 et corrélation avec les paramètres clinicohistologiques.

A. Le taux d'expression du her2 dans le cancer gastrique et de la JOG :

Dans notre série, le taux de positivité du test immunohistochimique pour la détection du récepteur HER2 est de 10%. Ce taux reste dans la limite recommandée dans la littérature qui est de 4% à 28% [44]. Il est également respecté dans plusieurs séries : série de N.ABIDA faite au laboratoire d'anatomopathologie, CHU Habib Bourguiba en Tunisie, qui avait un taux d'expression de 10% [71], étude YONENURA et AL (11,9%)[72], UCHENO et AL (11%) [73] et Gracia et al (11%) [74].

Ce taux est bien inférieur à celui noté dans des séries de littérature notamment l'étude TOGA qui a montré un taux d'expression(IHC et HIS) à 22% [50] et aussi l'étude faite au laboratoire d'anatomopathologie au CHU de fes qui ont mis en évidence un taux d'expression de 32,3% à IHC seul augmenté à 35% par amplification d'un cas équivoque 2+.[75]

D'autres études ont montré un taux bien inférieur tel qu'une étude récente incluant deux cohortes, allemande et anglaise, et la série de Grsch et al qui avaient une valeur positive à 4%.[76]

Tableau 16 : taux d'expression du récepteur her2 dans différente séries.

Études	Nombre d'échantillons	Types de test	HER2+ (%)
Yonemura <i>et al.</i> [25]	260	IHC	11,9
Tateishi <i>et al.</i> [38]	179	IHC	12
Ohguri <i>et al.</i> [39]	136 primitifs	IHC	25,7
	50 gg métas	IHC	44
Mizutani <i>et al.</i> [26]	226	IHC	14,2
Uchino <i>et al.</i> [27]	108	IHC	11
Motojima <i>et al.</i> [28]	120	IHC	27,5
Lee <i>et al.</i> [40]	225	IHC	27,4
Nakajima <i>et al.</i> [29]	128	IHC	16,4
		FISH	11,7
Allgayer <i>et al.</i> [30]	189	IHC	12
Pinto deSousa <i>et al.</i> [31]	157	IHC	15,3
Garcia <i>et al.</i> [32]	108	IHC	11
Tanner <i>et al.</i> [33]	231	CISH	12,2
Park <i>et al.</i> [34]	182	IHC	15,9
Gravalos <i>et al.</i> [35]	166	IHC	13
Zhang <i>et al.</i> [36]	102	IHC	18,6
Yan <i>et al.</i> [37]	128	IHC	9,4
		FISH	11,7
Grasch <i>et al.</i> [38]	924	IHC	4
		Allemande 418	5,7
		Anglaise 447	2,5

Tableau 17 : comparaison de notre taux d'expression de récepteur HER2 avec d'autres séries.

	N	méthode	Taux de positivité(%)
Etude Fès	31	IHC	32,5
Etude tunisienne	100	IHC	10
Notre étude	30	IHC	10

B. Source de variation de taux de positivité de her2 dans les tests immunohistochimiques :

La différence de taux d'expression du récepteur HER2 par IHC rapportée par les différentes séries peut être due à :

1. Les étapes pré analytiques :

La préparation des échantillons doit être conforme aux recommandations internationales (ASCO/CAP, UK, CANADA). Ainsi, une période de fixation plus courte peut entraîner des faux positifs à l'IHC.

Plusieurs publications rapportent que l'utilisation de fixateur à base d'alcool est à l'origine de faux positif en IHC et de sur-digestion des noyaux avec HIS.[77,78]

2. Condition de démasquage antigénique (tampon utilisé, ph de la solution..) :

Le démasquage des antigènes est recommandé lorsque l'une ou l'autre des deux trousse commerciales est utilisée pour l'IHC. Un mauvais démasquage peut être la cause de variation dans la détection de l'expression du marqueur HER2 (p. ex. : source de bruit de fond, marquage non spécifique). Un démasquage excessif peut être détecté en évaluant le marquage du tissu normal adjacent au tissu tumoral. Selon la trousse commerciale utilisée, l'essai doit être rejeté et repris si le tissu normal possède un marquage positif. Il est recommandé de suivre les directives, les délais et les températures recommandés par le fabricant selon le réactif utilisé.[79]

3. La concentration d'AC utilisé, le type d'AC, le temps d'incubation :

Il est conseillé de suivre les étapes recommandées par le fabricant pour chaque trousse utilisée. Quand au type d'anticorps, une étude franco-allemande multicentrique a montré une variabilité des résultats. Le kit pathway utilisant le clone 4B5 a donné de très bons résultats supérieurs à l'Herceptest avec une bonne concordance inter-observateur.

Tableau 18 : tableau comparatif entre la sensibilité de test par le kit herceptest et pathway.

FISH/BDISH result (n=27)	IHC score					
	4B5			Herceptest		
	Negative (0/1+)	Equivocal (0/1+ vs. 2+/3+)	Positive (2+/3+)	Negative (0/1+)	Equivocal (0/1+ vs. 2+/3+)	Positive (2+/3+)
Negative (n=18)	12	5	1	11	7	0
Equivocal (n=1)	0	1	0	0	1	0
Positive (n=8)	0	3	5	0	6	2

On note que pour test d’HIS positif, 5 cas parmi 8 avaient un score 3+ par l’AC 4B5 contre seulement 2 cas par l’Herceptest. [80]

Dans notre étude, 20 de nos échantillons ont été testé par le kit Herceptest contre seulement 10 cas avec le kit 4B5 qui est, selon l’étude ci-dessus, le plus sensible. Cela peut influencer nos résultats.

4. Ancienneté des blocs utilisés :

D’après une étude publiée en 2003, Une diminution significative de l’incidence de HER2 en fonction de la durée du stockage de blocs de paraffine a été observée: 42-33% pour les échantillons tumoraux inclus en paraffine en 2002-2001; 8,3%, 15,7%, 11,1% pour les années 2000, 1999, 1998, respectivement, de 0% pour les cas embarqués en 1997. [52]

Cette diminution de l’immunomarquage est aussi observée lors de section et étalement sur lame, C’est pour cette raison qu’il est recommandé de préparer les lames extemporanément pour la technique IHC ou au maximum 2 semaines à l’avance. [50]

Dans notre travail, le test HER 2 a été en prospectif et les coupes d’IHC ont été toutes réalisées 12H auparavant.

5. Type de prélèvement : primitif ou métastase :

Peu de données sont disponibles pour les cancers gastriques. Dans deux études, les taux de surexpression HER2 étaient homogènes dans la tumeur primitive et les adénopathies métastatiques [81, 82]. Une équipe italienne a effectué une HIS par FISH sur 68 cancers gastriques avec biopsies disponibles à la fois sur la tumeur primitive et une métastase [69]. Pour une seule tumeur (1,5 %), le résultat était discordant (primitif négatif et métastase surexprimée) [83]. Il n'était pas précisé si les métastases étaient synchrones ou métachrones. La possibilité de modification du statut HER2 sur les métastases métachrones ne pouvait donc pas être écartée. Une étude plus large, sur des biopsies de métastases synchrones et métachrones, reste utile pour confirmer ces résultats.

6. Subjectivité du pathologiste vue que l'IHC n'est pas une technique standardisée.

Il est recommandé d'éliminer les marquages non spécifiques (ne pas interpréter le marquage dans les zones de bordure si elles sont altérées, ne pas interpréter un marquage de la zone non tumorale, s'assurer que le marquage est bien membranaire et éliminer le marquage nucléaire et cytoplasmique. [50]

Dans notre série, on a procédé à une lecture en évitant les zones périphériques. Toutes nos lames ont bénéficié d'une double lecture par deux anatomopathologistes. A noter que les malades ayant bénéficié du test sur des biopsies n'ont pas été vérifiés sur pièces opératoire vue qu'ils ne sont pas opérables.

C. Corrélation entre l'expression de HER2 et les autres paramètres (clinicopathologique):

Plusieurs études se sont intéressées à l'expression de récepteur HER2 et sa corrélation avec les paramètres concernant l'âge, le sexe, le type histologique la localisation, le potentiel métastatique ainsi que la survie des malades. dans notre travail

Ø L'âge :

Nous avons noté une tendance à la diminution de la surexpression de récepteur HER2 avec l'âge. 66,7 % des patients qui expriment HER 2 avaient un âge moins de 50 ans et 64 % des cas qui ne l'expriment pas avaient un âge supérieur à 50 ans, ainsi L'âge moyen chez les patients exprimant le récepteur HER2 est de 50,66 ans alors qu'il est de 56,08 ans chez les patients qui ne l'expriment pas. c'est ce qui est rapporté par une étude chinoise de Fei Zhou et Li Ning [84], la surexpression de HER2 est plus marquée chez les patients dont l'âge est inférieur à 65 ans mais la corrélation entre l'âge et le profil d'expression de HER2 n'est pas significative c'est ce qui est décrit par une série de TANNER.M [85] publiée en 2005 contrairement à la série tunisienne qui rapporte une relation significative entre les deux avec un $p=0,046$.

Tableau 19 : corrélation entre l'âge et le récepteur her2 dans l'étude de Fei Zhou et Li Ning

Caractéristiques clinico-pathologiques	HER-2 surexpression / amplification		P
	HER-2/neupositive (n = 27)	HER-2/neunegative (n = 200)	
Âge			
<65 ans	18	96	
≥ 65 ans	9	104	0,151

Ø Le sexe :

Dans la série tunisienne et l'étude de TANNER.M, aucune corrélation n'est trouvée entre le sexe et le profil d'expression de her2.

Ø La localisation :

Dans l'étude TOGA, L'expression du récepteur her2 est plus marquée dans les ADK de la JOG qu'au niveau des ADK gastrique (32% vs 18%, p=0,001).cette différence est aussi citée par plusieurs séries de littératures : celle de TANNER et al qui a constaté un taux d'expression de 12,2% dans cancer gastrique versus 24% pour cancer de la JOG, série de GRAVALOS et al (25% pour JOG vs 9,5% CG), [86] série de Lordick et al (32% pour JOG vs 18% pour CG). [70] (Voir tableau)

Tableau20 : corrélation entre l'expression de HER2 et la localisation.

Auteur	n	Type histologique				Localisation			Méthode
		Intestinal (%)	Diffuse (%)	Mixte / inconnue (%)	P	GEJ (%)	Gastrique (%)	P	
Tanner et al. [39]	231	21,5	2	5	0,005	24	12	-	CISH
Grávalos et al. [28]	166	16	7	14	0,27	25	9,5	0,01	IHC, FISH
Lordick et al. [31]	1527	34	6	20	-	32	18	-	IHC, FISH

GEJ, jonction gastro-oesophagienne; CISH, l'hybridation in situ chromogène; IHC, immunohistochimie.

Dans notre étude, on n'a pas trouvé de corrélation significative entre la localisation tumorale et le profil HER2, mais on note une prédominance du siège gastrique pour les cas positifs 3.

Si on subdivise notre échantillon en deux : un groupe qui n'exprime pas le récepteur her2(0 et 1+) et un groupe qui l'exprime(2+ et 3+), le diagramme sera comme suit :

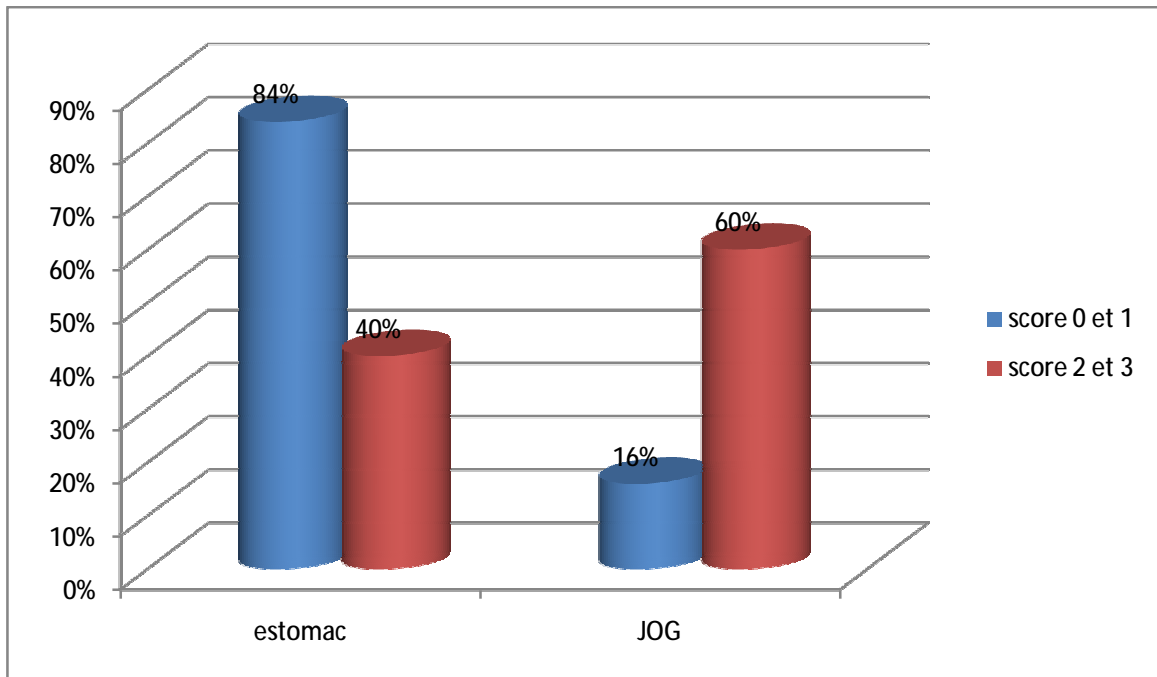


Figure 25 : répartition des scores(0 et 1/ 2 et 3) en fonction de siège.

On note que le récepteur HER2 est plus exprimé au niveau de la JOG que dans l'estomac. Le calcul de l'indice p est à 0,068. Il n'est pas significatif donc il n'y a pas de corrélation entre le siège et l'expression du récepteur HER2, il nous faut un échantillon plus représentatif.

Ø Le type histologique :

Dans notre travail, on a subdivisé nos échantillons en deux groupes : un groupe qui présente un ADK peu différencié à cellules indépendantes et un deuxième groupe qui englobe les autres formes histologiques selon la classification OMS 2010 pour se rapprocher des données de la littérature. Ainsi on a observé, comme plusieurs études que la surexpression de HER2 varie en fonction de type histologique, Grávalos C et A Jimeno ont montré qu'elle est moins fréquente dans les tumeurs à cellules indépendantes par rapport à la forme intestinale. (7% vs 16%, $p=0,276$) [70]. Lordick et al, Dans leur résumé présenté à l'Européen Cancer Organisation en 2007, ont conclu à une positivité de HER2 significativement

différente entre les tumeurs à cellules indépendantes et les formes intestinales. (6% vs 34%).

Cette différence est aussi noté par notre étude, la série tunisienne, l'étude TOGA et d'autre séries de littératures. [73, 85, 86, 88].

Certaines études trouvent des résultats discordants notamment une série de ZHANG XL publiée en 2009, l'expression de her2 est plus fréquente dans les cancers à cellules indépendantes (26,7% vs 7,1%, $p=0,05$). [87]

Ø Le potentiel métastatique :

Le profil her2 est corrélé à un mauvais pronostic et l'agressivité de la maladie [74, 87, 89, 90, 91, 92, 74]. la majorité des malades sont diagnostiqués à un stade avancé métastatique. la série tunisienne a constaté un lien significatif entre le profil HER2 et le potentiel métastatique ($p=0,005$) et la tendance à s'accompagner de carcinose péritonéale ($p=0,005$). ce dernier point est noté dans notre étude, 43% des métastases étaient une carcinose péritonéale par contre cette tendance n'est pas significative.

IV. Intérêt de récepteur her2 dans la pratique clinique

A. Intérêt thérapeutique :

1. Données précliniques :

Des AC murin dirigés contre HER2 ont montré une activité prometteuse sur un modèle animal de cancer gastrique [93]. L'humanisation des AC, évitant ainsi la réponse immunitaire anti-murin, date des années 1990 [94]. Trastuzumab est un AC monoclonal de la classe des IgG dirigé contre HER2. Des études in vitro et chez l'animal ont montré qu'il inhibait la prolifération des cellules tumorales qui expriment HER2 et c'est puissant cytotoxique cellulaire AC dépendant. Dans

d'autres études, il était actif dans deux modèles animaux dans le cancer gastrique avec une synergie d'action avec cisplatine et FU.[95, 92]

2. Données cliniques :

Suite à ces résultats précliniques favorables, 3 essais de phase II et un essai randomisé de phase III sont activés.[85,92,96]

L'étude TOGA a évalué l' HERCEPTINE associé à une chimiothérapie à base de CISPLATINE et FU versus chimiothérapie seule dans le traitement de cancer gastrique ou de la JOG localement avancé ou métastatique. L'objectif principal était la survie.

Les résultats de cet essai ont montré que l'adjonction de l' HERCEPTINE à la chimiothérapie améliorait significativement la médiane de la survie (11,1 mois vs 16 mois) sans effets secondaires notables. Le risque de décès était réduit de 26%. [50,97]

Tableau 21 : résultat de l'essai TOGA dans la population globale.(50)

Tableau 2 Résultats de l'essai ToGA dans la population globale et dans le sous-groupe exploratoire (IHC2+/FISH+ ou IHC3+) [13].							
<i>Results of ToGA trial in the whole population and in the exploratory subgroup (IHC2+/FISH+ or IHC3+) [13].</i>							
Population (n)	Définition de HER2+	Taux de réponse		Survie sans progression médiane (mois)		Survie globale médiane (mois)	
		FP	FP + T	FP	FP + T	FP	FP + T
Intention de traiter (584)	IHC3+ et/ou FISH+	34,5%	47,2% (p=0,0017)	5,5	6,7 [HR 0,71; 95% IC 0,59–0,85] (p=0,0002)	11,1	13,8 [HR 0,74; 95% IC 0,60–0,91] (p=0,0046)
Sous-groupe exploratoire (446)	IHC2+/FISH+ ou IHC3+	NR	NR	NR	NR	11,8	16,0 [HR 0,65; 95% IC 0,51–0,83]

NR : non rapporté ; HR : *hazard ratio* ; FP : fluoropyrimidine + cisplatine ; FP + T : fluoropyrimidine + cisplatine + trastuzumab.

3. Chez qui le traitement par TRASTUZUMAB est-il recommandé :

Vue que la cible de l' HERCEPTINE est la protéine HER2, les cas IHC 0 et 1+ / FISH positive ne sont pas concernés par le traitement, c'est ce qui est aussi montré par l'essai TOGA dans l'analyse d'un sous-groupe. L' HERCEPTINE est plus efficace chez la population ayant un cancer gastrique ou de la JOG métastatique IHC3+ et / ou IHC2+ et FISH+. (Tableau ci-dessus).

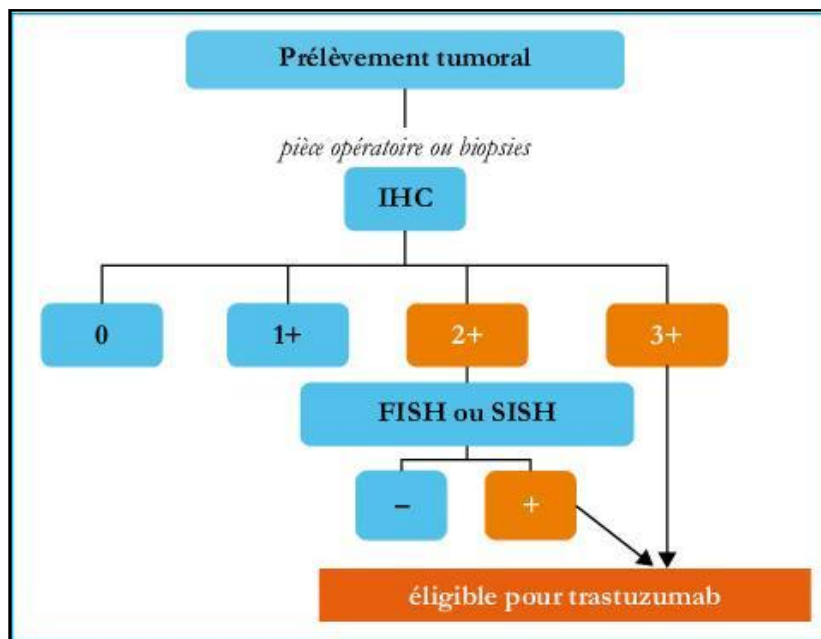


Figure 26: Algorithme des tests HER2 dans les cancers gastriques.

Ainsi, le l' HERCEPTINE a obtenu le 19 janvier 2010 une extension de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en Europe dans le traitement de l'adénocarcinome métastatique de l'estomac ou de la JOG, avec surexpression tumorale de HER2, en association à la cisplatine et au 5-FU chez les patients n'ayant pas été précédemment traités pour leur maladie métastatique.

Au Maroc, il a eu l'AMM en septembre 2011, son usage est très limité dans notre contexte. Dans notre étude, aucun de nos patients n'a reçu le traitement par le l'Herceptine vue le coût et le niveau sociaux économique bas de la majorité des malades.

B. Intérêt pronostic :

Les travaux étudiant la relation entre le pronostic de cancer gastrique ou de la JOG et la surexpression de HER2 ont tous montré son association à un mauvais pronostic et à une diminution de la survie globale. Selon une série menée de 2005 jusqu'au 2010 par M. Bayrak, la survie globale chez les patients ayant un score 3+ est beaucoup plus faible que ceux ayant un score 2+ et moins (0 et 1+) (8.22 ± 0.88 mois versus 15.55 ± 1.63 mois, respectivement avec un $p < 0.05$).[100]

Une autre étude publiée par T Mizutani et M. Onda a suggéré que les patients en stade précoce de la maladie et qui surexpriment le récepteur HER2 avaient un taux de survie plus défavorable que les patients qui ne l'expriment pas, mais pas au stade avancé ($P < 0,001$).[101]

Le récepteur HER2 est corrélé dans plusieurs séries de littérature à d'autres facteurs pronostiques comme l'invasion tumorale le stade TNM et l'envahissement ganglionnaire notamment l'étude de T. Mizutani et M. Onda. Le récepteur HER2 est confirmée dans l'étude de H. Allgayer et R. Babic comme un nouveau facteur pronostique indépendant pour la survie globale dans le cancer gastrique. Une autre série de S. Uchino et H. Tsuda l'a considéré comme un indicateur pronostic important.[73,91,101]

En revanche, une série publiée en 1992 par M. Tateishi et T. Toda suggère que la présence ou l'absence de c-erbB-2 protéines ne peuvent pas servir d'indicateur pronostic dans les ADK gastriques. Les taux de survie à 5 ans des patients ayant un profil HER2 positif et négatif étaient de 57% et 59%, respectivement.[76]

V. recommandations pour la pratique clinique :

- Tout patient avec un cancer gastrique doit être testé pour HER2.
- Il convient de réaliser au moins 5 à 8 biopsies endoscopiques pour les cancers inopérables (et aussi opérable car la chimiothérapie préopératoire peut rendre difficile le testing her2 sur la pièce opératoire).
- L'IHC doit être le test initial.
- Les tumeurs IHC 2+ doivent être testées par FISH ou SISH.
- Le test doit être réalisé dans des laboratoires entraînés et participant des contrôles de qualité externes.
- Les résultats doivent être rendus rapidement (idéalement dans 5 jours).

CONCLUSION

Le cancer de l'estomac représente la 2ème cause de décès par cancer dans le monde, il est grevé d'un mauvais pronostic avec une moyenne de survie ne dépassant pas un an avec les traitements actuellement disponibles. L'avènement de nouvelles thérapeutiques rend la recherche de nouveaux facteurs pronostiques comme le récepteur HER2 indispensable pour une meilleure prise en charge.

Dans notre étude, nous avons noté un taux d'expression de récepteur HER2 de 10%, une valeur qui reste dans la fourchette rapportée par la littérature.

L'expression de récepteur HER2 avait tendance à augmenter chez les patients plus jeune et pour les adénocarcinomes non à cellules indépendantes par rapport aux autres formes histologiques. Il s'accompagne plus de métastase péritonéale et il est plus fréquent dans les tumeurs de la JOG que les tumeurs gastriques.

Au cours de cette étude, la corrélation entre les paramètres étudiés et le profil HER2 n'est pas significative. Un échantillon plus large pourra remédier à ce problème.

Les cas de score 2+ dont la positivité n'a pas été confirmée par d'autre technique d'ISH par faute de moyens peut influencer nos résultats.

Le récepteur HER2 est associé à un mauvais pronostic et à une diminution de la survie globale. La thérapie ciblée par l'Herceptine en association avec la chimiothérapie améliore significativement la médiane de survie sans effet indésirable notable.

Ces données incitent à suggérer la recherche systématique du profil HER2 chez les patients atteints de cancer gastrique et de la JOG métastatique.

RESUME

Le cancer de l'estomac représente la 2ème cause de décès par cancer dans le monde, il est grevé d'un mauvais pronostic. L'avènement de la thérapie ciblée par l'Herceptine rend la recherche de nouveaux facteurs pronostiques comme le récepteur HER2 indispensable pour une meilleure prise en charge.

L'objectif de de notre travail est d'établir la prévalence de l'expression de récepteur HER2 dans le cancer gastrique et de la JOG métastatique dans le contexte marocain afin de sélectionner les patients pour le traitement par l'Herceptine et d'étudier la corrélation entre la surexpression de HER2 et les paramètres cliniques et histologiques.

Matériel et méthode :

Nous avons mené une étude prospective descriptive et analytique du mois de janvier 2011 au mois de décembre 2012 soit une période de 2 ans au sein de laboratoire d'anatomopathologie de CHU IBN SINA et l'Institut Nationale d'Oncologie. Nous avons inclus durant cette période 30 patients. la recherche de profil HER2 est faite par immunohistochimie sur des coupes fixées et incluses en paraffine.

Résultat :

L'âge de nos patients est compris entre 24 et 76 ans avec un âge moyen de 53 ans. Une prédominance masculine est observée avec 19 hommes et 11 femmes, soit un sexe ratio de 1,72. La localisation gastrique est retrouvée dans 76,6%(n=23), alors que la localisation oeso-gastrique est notée dans uniquement 23,3%(n=7). Tous les malades avaient des métastases (stade IV), les sites standards étaient intéressés, pulmonaire hépatique et ganglionnaire dans 36,6%, péritonéale dans 43,3%, on note aussi 2 cas d'envahissement osseux, un cas de métastase au niveau

de la peau et un cas de métastase ovarienne krukemberg. Les embolies vasculaires ont été trouvés dans 10% des cas (n=3). Notre étude a porté sur 17 cas d'adénocarcinomes et 13 cas de d'adénocarcinomes peu différenciés à cellules indépendantes soit 43,3%.

A l'étude immunohistochimique, la recherche de la surexpression de l'Her2 a montré que 18 (60%) cas étaient de score 0, 7 (23,3%) cas de score 1, 2 (6,7%) cas de score 2 et 3 (10%) cas de score 3.

Les résultats épidémiologiques dans notre série concordent avec ceux de la littérature. En effet, ce cancer est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes et il touche plus particulièrement les personnes de plus de 55 ans [6]. Le taux de la surexpression de récepteur HER2 reste dans les limites recommandées par la littérature de 4% à 28%. Dans notre série, il a tendance à se présenter à un âge plus jeune (< de 50 ans) et plus souvent au niveau de la JOG. Il est moins fréquent dans les ADK à cellules indépendantes et s'associe aux métastases péritonéales. Cela est décrit par plusieurs séries de littérature qui ont pu conclure à une relation significative entre ces paramètres et l'expression de récepteur HER2. Ce qui n'était pas le cas dans notre série vu le nombre insuffisant des patients constituant notre échantillon. HER2 est associé à un mauvais pronostic et à une diminution de la survie globale ce qui suggère à une recherche systématique du profil HER2 chez les patients présentant un cancer de l'estomac et de la JOG métastatique.

SUMMARY

The stomach cancer is the second cause of cancer death in the world, it is subject to a poor prognosis. The advent of targeted therapy Herceptin makes the search for new prognostic factors such as the HER2 receptor essential for better management.

The objective of our work is to establish the prevalence of HER2 expression in gastric cancer and metastatic JOG in the Moroccan context to select patients for treatment with Herceptin and study correlation between HER2 overexpression and clinical and histological parameters.

Materials and methods:

We conducted a prospective, descriptive and analytical January 2011 to December 2012, a period of two years in the pathology laboratory of IBN SINA Hospital and the National Institute of Oncology. We have included in this period 30 patients. The profile search is done by HER2 immunohistochemistry on sections fixed and embedded in paraffin.

Result:

The age of our patients is between 24 and 76 years with a mean age of 53 years. A male predominance was observed with 19 men and 11 women, a sex ratio of 1.72. Gastric localization is found in 76.6% (n = 23), while the esophagogastric location is noted in only 23.3% (n = 7). All patients had metastases (stage IV), the standard sites were interested, hepatic and pulmonary lymph node in 36.6%, 43.3% peritoneal, there are also 2 cases of bone invasion, a case of metastasis at skin and a case of Krukenberg ovarian metastasis. Vascular emboli were found in 10% of cases (n = 3). Our study included 17 cases of adenocarcinoma and 13 cases of poorly differentiated adenocarcinoma in independent cells is 43.3%.

In the immunohistochemical study, the search for the overexpression of Her2 showed that 18 (60%) cases were scored 0, 7 (23.3%) cases of score 1, 2 (6.7%) cases of score 2 and 3 (10%) cases of score 3.

Epidemiological findings in our study are consistent with those in the literature. In fact, this cancer is more common in men than in women and it particularly affects people over the age of 55. [6] the rate of HER2 overexpression remains within the limits recommended by the literature of 4% to 28%. in our series, it tends to occur at a younger age (<50 years) and more often at the JOG.il is less common in the ADK-cell independent and is associated with metastasis peritoneal. This is described by several sets of literature that have been able to find a significant relationship between these parameters and receptor expression HER2.ce that was not the case in our series to the insufficient number of patients in our sample. HER2 is associated with poor prognosis and reduced overall survival suggesting a systematic search profile HER2 in patients with gastric cancer and metastatic JOG.

ملخص

BIBLIOGRAPHIES

- [1] R. Guimbaud, D. Bonnet, T. Valentin, C. Couteau, P. Rivera, M. Deslandres. Prise en charge de l'adénocarcinome métastatique de l'estomac. Post'U (2011) 175-184.
- [2] N. Moura, JF Fléjou. Cancer de l'estomac : anatomopathologie. EMC.9-027-A-05
- [3] N. Briez, C. Gronnier, C. Mariette. Cancer de la jonction œsogastrique : épidémiologie, diagnostic et traitement. EMC.9-027-A-20.
- [4] Stein HJ, Feith M, Mueller J, Werner M, Siewert JR. Limited resection for early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. Ann Surg 2000; 232: 733-42.
- [5] T. Aparicio, M. Yacoub, P. Karila-cohen, E. René. Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement. 2004. EMC.9-027-A-10
- [6] Glimelius B, Ekstrom K, Hoffman K, Graf W, Sjoden PO, Haglund U et al. Randomized comparison between chemotherapy plus best supportive care in advanced gastric cancer. Ann Oncol 1997; 8: 163-168.
- [7] Pyrhonen S, Kuitunen T, Nyandoto P, Kouri M. randomized comparison of fluorouracil, epirubicin and methotrexate (FEMTX) plus supportive care with supportive care alone in patient with non-resectable gastric cancer. Abaro cancer 1995; 7:587-591.
- [8] Swan R, Miner TJ. Current role of surgical therapy in gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12(3):372-9.
- [9] R. Guimbaud, D. Bonnet, T. Valentin, C. Couteau, P. Rivera, M. Deslandres. Prise en charge de l'adénocarcinome gastrique métastatique. Post'U (2011) 175-184.

- [10] Bang YJ, VanCutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, ToGA Trial Investigators, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376(9742):687-97
- [11] Jean Charles Delchier. Manifestations digestives de l'infection à *Helicobacter Pylori* chez l'adulte : de la gastrite au cancer. *Presse Med* 2008 ; 37 : 519-524.
- [12] Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multiple and multifactorial process_ Firt American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992; 52:6735-40.
- [13] Mourra N, Fléjou JF. Cancer de l'estomac: anatomie pathologique. EMC (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, paris, tous droits réservés). *Gastroentérologie*, 9-027-A-05,2001, 9p.
- [14] Kim DH, Lee HI, Shin HS, Sohn JH, Park CH et al. reduced expression of the cell-cycle inhibitors p27Kip1 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma. *Histopathology* 2000; 36: 245-251.
- [15] Oya M, Yao T, Tsuneyoshi M. Expression of cell-cycle regulatory gene products in conventional gastric adenoma: possible immunohistochemical markers of malignant transformation. *Hum Pathol* 2000; 31: 279-287.
- [16] Takano Y, Kato Y, Van Diest PJ, Masuda M, Mitomi H, Okayasu I. Cyclin D2 overexpression and lack of p27 correlate positively and cyclin E inversely with a poor prognosis in gastric cancer. *Am Pathol* 2000; 156: 585-594.
- [17] Ectors N. Cancer de l'estomac et états précancéreux. *Anatomopathologie*. In : Dupas JL, Fléjou JF éd. *Maladies de l'œsophage, de l'estomac et du duodénum*. Rueil-Malmaison : Amette, 1999 : 467-475.
- [18] Kim HS, Woo DK, Bae SI, Kim YI, Kim WH. Microsatellite instability in the adenoma-carcinoma sequence of the stomach. *Lab invest* 2000; 80: 57-64.

- [19] [Manner L., Milano G., Penault Llorca F., Merlin J.L. Targeting of membrane receptor tyrosine kinase: is there resistance in the HER? Bulletin du cancer, Vol 91, No 9, 685-94, Sépt 2004].
- [20] pierre Hubert. Les facteurs de croissance de la famille EGF et leurs récepteur.bull cancer 2006,hors-série: 17-24.
- [21] A. Perez, MD,HER-2 as a Prognostic, Predictive, and Therapeutic Target in Breast Cancer, Cancer Control 6(3):233-240, 1999.
- [22] Revillon F. et al.ErbB2 oncogene in humain breast cancer an dits clinical significance.Eur. J. Cancer 1998 ; 34 : 791-808
- [23] Bartlett J. et al.The clinical evaluation of HER-2 status : which test to use ? J Pathol 2003; 199: 411-417
- [24] Garrett, T. P. et al. Crystal structure of a truncated epidermal growth factor receptor extracellular domain bound to transforming growth factor α .Cell 110, 763-773 (2002)
- [25] Ogiso, H. et al.Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. Cell 110, 775-787 (2002).
- [26] Holbro T, civenni G, Hynes N. The Erb-B receptors and their role in cancer progression. Exp Cell Res 2003; 284: 99-110.
- [27] Holbro T, hynes N. Erb-B receptors : directing key signaling networks throughout life. Annu Rev Pbarmacol Toxicol 2004; 44: 195-217.
- [28] Nancy E. Hynes; Heidi A. Lane. ERBB Receptors and Cancer: The Complexity of Targeted Inhibitors. Nat Rev Cancer. 2005; 5(5):341-354.
- [29] S.Ménard et al. Role of HER2 Gene Overexpression in Breast Carcinoma; Journal of cellular physiology 182:p. 150 (2000).
- [30] Casalini P, Lorio M, Galmozzi E, Ménard S. Role of HER receptors family in development and differentiation.J Cell Pbysiol 2004; 200: 343-50.

- [31] Pierre Hubert. Growth factor of the EGF family and their receptors. Bull cancer 2006; hors série: 17-24.
- [32] Gschwind A, Fischer OM, Ullrich A. The discovery of receptortyrosine kinase: targets for cancer therapy. Nat Rev Cancer 2004; 4: 361-70.
- [33]
- [34] Fuchs CS, Mayer RJ. Gastric carcinoma. New Engl J Med 1995 ;333 : 32-41.
- [35] Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006 ; 12 : 354-62.
- [36] Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 2006 ; 24 : 2137-50.
- [41] Moelans et al. HER-2/ neustesting and therapy in gastroesophageal adenocarcinoma. Path Res Int vol 2011, 10 p.
- [42] Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. Adv Anat Pathol 2011; 18:53-59.
- [43] Thésaurus national de cancérologie digestive. <http://www.tncd.org/>, consulté en ligne le 5 mai 2011.
- [44] Bouche O, Penault-Llorca F. HER2 and gastric cancer: a novel therapeutic target for trastuzumab. Bull Cancer 2010; 97:1429-1440.
- [45] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. J Clin Oncol 2007 ; 25 : 118-45.

- [46] Comité consultatif en anatomopathologie. Guide sur l'assurance de la qualité en anatomopathologie – Phases pré-analytique et analytique. Direction québécoise du cancer. Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec. 2011. 37 p.
- [48] Jouret-Mourin, A, Hoorens, A, Kockx, M, Demetter, P et Van Cutsem, E. Belgian guidelines for HER2 testing in gastric cancer. *Belg J Med Oncol* 2011; 5:14-22.
- [49] Bouche O, Penault-Llorca F. HER2 and gastric cancer: a novel therapeutic target for trastuzumab. *Bull Cancer* 2010; 97:1429-1440.
- [50] Penault-Llorca F, Marie pierre C, Bouche O, Jean-françois E, Bideau F, Jean-philippe M, Thierry A, Genevieve M. HER2 and gastric cancer. Recommendation for clinical practice in 2011. *Annal de pathologie* 2011 ; 31 :78-87.
- [51] DiVito KA, Charette LA, Rimm DL, Camp RL. Long-term preservation of antigenicity on tissue microarrays. *Lab Invest* 2004; 84:1071-1078.
- [52] Risio M, De Rosa G, Sarotto I, Casorzo L, Capussotti L, Torchio B, Aglietta M, Chiecchio L. HER2 testing in gastric cancer: molecular morphology and storage time-related changes in archival samples. *Int J Oncol* 2003; 23:1381-1387.
- [53] Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, Winther H, Bonato MS, Storkel S. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 2004; 52:893-901.
- [54] Hofmann M, Stoss O, Shi D, Buttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Ruschof Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52:797-805.
- [55] Ruschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Hofler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch* 2010; 457:299-307.

- [56] Esteva FJ et al. Prognostic molecular markers in early breast cancer. *Breast Cancer Res* 2004, 6: 109-118
- [57] Aubriot M. Intérêt de l'immunohistochimie dans l'évaluation de l'expression des récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone dans les cancers du sein. Comparaison avec la méthode biochimique immunoenzymatique sur une série de 795 cas. Thèse N° 79; années 1999; Paris; faculté de médecine Sain Antoine.
- [58] Balaton AJ et al. Recommandations pour l'évaluation immunohistochimique des récepteurs hormonaux sur coupes en paraffine dans les carcinomes mammaires. Mise à jour 1999 *Annales de Pathologie*, Vol 19, N° 4 - août 1999, p. 336
- [59] J. P. Brettes, C. Mathelin, B. Gairard, J. P. Bellocq. *Cancer du sein*. Edition 2007
- [60] Lauren Hammock MD et al Strong HER-2/neu protein overexpression by immunohistochemistry often does not predict oncogen amplification by fluorescence in situ hybridization. *Human pathology*, Vol 34, Issue 10, October 2003, pp. 1043-1047.
- [61] Saez A et al HER-2 gene amplification by chromogenic in situ hybridisation (CISH) compared with fluorescence in situ hybridisation (FISH) in breast cancer-A study of two hundred cases. *The breast*, Vol 15; Issue 4, August 2006, p 519-527.
- [62] Arnould L et al/ Agreement between chromogenic in situ hybridisation (CISH) and FISH in the determination of HER2 status in breast cancer/. *Br j Cancer*. 2003; 88 (10): 1587-91.
- [63] Denoux Y et al. HER2 gene amplification assay : is CISH an alternative to FISH ? *Ann Pathol*. 2003 ; Dec ; 23 (6) : 617-22.
- [64] Grondin K et al. L'hybridation in situ colorimétrique (CISH) : un complément au FISH pour l'évaluation de l'amplification de l'HER2/NEU *Ann Pathol* 2006 : 26 : 68-78

[65] Antonio C Wolff et al. American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline :recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 testing in breast cancer. J of Clin Oncol 2007; 25: 118-145

[66] C. Gravalos, A. Jimeno². HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. Annals of Oncology 2008;19: 1523-1529.

[67] Lemoine NR, Jain S, Silvestre F et al. Amplification and overexpression of the EGF receptor and c-erbB-2 proto-oncogenes in human stomach cancer. Br J Cancer 1991; 64: 79-83.

[68] Kameda T, Yasui W, Yoshida K et al. Expression of ERBB2 in human gastric carcinomas: relationship between p185ERBB2 expression and the gene amplification. Cancer Res 1990; 50: 8002-8029.

[69] Yano T, Ochiai A, Doi T et al. Expression of HER2 in gastric cancer: comparison between protein expression and gene amplification using a new commercial kit. J Clin Oncol 2004; 22: 14S (Abstr4053).

[70] Lordick F, Bang YJ, Kang YK et al. HER2-positive advanced gastric cancer: similar HER2-positivity levels to breast cancer. Eur J Cancer 2007; 5(4): 271 (Abstr 3541)

[71] [N. Abid a, A. Khabir a, A. Khanfirb, M. Frikha b, I. Beyrouti c,T. Boudawaraa. Intérêt de l'étude de la sur-expression de Her-2 dans les adénocarcinomes gastrique :à propos de 100 cas

[72] Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. Cancer Res 1991 ; 51 : 1034-8.

[73] Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, Kinoshita T, Sasako M, Saito T, et al. Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Cancer 1993 ; 2 : 3179-84.

[74] García I, Vizoso F, Martín A, Sanz L, Abdel-Lah O, Raigoso P, et al. Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2003 ; 10 : 234-41.

[75] Hinde El Fatemi, Nawal Hammas, Karima Idrissi, Nawfel Mellas, Amal Bennani¹, Afaf Amarti, Anne Cayre, Frederique Penault-Ilorca, Omar Mesbahi. La recherche de la surexpression de la protéine et l'amplification du gène HER2 dans le cancer de l'estomac par immunohistochimie et Hybridation in Situ: expérience du CHU HASSAN II de Fès. *Pan Afr Med J.* 2012; 13: 79.

[76] Tateishi M, Toda T, Minamisono Y, Nagasaki S. Clinicopathological significance of c-erbB-2 protein expression in human gastric carcinoma. *J Surg Oncol* 1992 ; 49 : 209-12.

[77] Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, Barnes MJ, Schnitt SJ. Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system. *J Clin Oncol* 1999; 17:1983-1987.

[78] Penault-Llorca F, Vincent-Salomon A, Bellocq JP, Matthieu MC, Grogan GM, Treilleux I, Ettore F, Laberge-Le Couteulx S, Sigal B, Couturier J, Lacroix-Triki M, Antoine M, et al. [Update of the GEPICs' recommendations for HER2 status determination in breast cancers in France]. *Ann Pathol* 2010; 30:357-373.

[79] M. Jim Boulanger, Dr Bernard Têtu. Direction québécoise du cancer. Détection du marqueur HER2 dans le cadre du traitement du cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne. 2011 : p=11.

[80] Ruschoff J, Nagelmeier I, Baretton G, et al. HER2 testing in gastric cancer. What is different in comparison to breast cancer? *Der pathologe* 2010; 31: 208-17

[81] Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, et al. HER2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 2009 ; 40 : 769-77.

- [82] Yu GZ, Chen Y, Wang JJ. Overexpression of Grb2/HER2 signaling in Chinese gastric cancer: their relationship with clinicopathological parameters and prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009 ; 135 : 1331-9.
- [83] Negri FV, Bozzetti C, Lagrasta C, Crafa P, Nizzoli R, Leonardi F, et al. HER2 status in primary and paired distant metastatic sites of gastric carcinoma (abstract). *Ann Oncol* 2010 ; 21 (Suppl 8) : 823.
- [84] Zhou F, Li N, Jiang W, Hua Z, Xia L, Wei Q, Wang L. Prognosis significance of HER-2/neu overexpression/amplification in Chinese patients with curatively resected gastric cancer after the ToGA clinical trial. *World J Surg Oncol*. 2012 Dec 18;10:274.
- [85] Tanner M , M Hollmén , Junttila TT , Kapanen AI , Tommola S , Y Soini , Helin H , J Salo , Joensuu H , Sihvo E , K Elenius , Isola J . Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to Trastuzumab. *Ann Oncol*. 2005 Feb;16(2):273-8.
- [86] Gravalos C, Ma´rquez A, Garcı´a-Carbonero R et al. Correlation between Her2/neu overexpression/amplification and clinicopathological parameters in advanced gastric cancer patients: a prospective study 2007 Gastrointestinal Cancers Symposium. 130 (Abstr 89).
- [87] Zhang XL, Yang YS, Xu DP, Qu JH, Guo MZ, Gong Y, et al. Comparative study on overexpression of HER2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009 ; 33 : 2112-8.
- [88] Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Muller W. HER2 expression in gastric cancer: rare, heterogeneous and of no prognostic value-conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010 ; 32 : 57-65.
- [89] Parc DL, Yun JW, Park JH, et al. Her2 /neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371-9

- [90] nakajima M, Sawada H, Yamada Y, et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erbB in human gastric carcinomas. *Cancer* 1999;85: 1894-902.
- [91] Algayer H, B abic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. c-erbB is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumoro-rassociated protease system. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2201-9.
- [92] Matsui Y, Inotoma M, Tojigarmori M, et al. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 over-expression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 2005; 27: 681-5.
- [93] Kasprzyk PG, Song SU, Di Fiore PP, King CR. Therapy of an animal model of human gastric cancer using a combination of anti-erbB-2 monoclonal antibodies. *Cancer Res* 1992 ; 52 : 2771-6.
- [94] Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, et al. Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 ; 89 : 4285-9.
- [95] Hudis CA. Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med* 2007 ; 357 : 39-51.
- [96] Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, Moriya Y, Mori K, Tanaka Y, et al. Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007 ; 59 : 795-805.
- [97] Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy vs chemotherapy alone for treatment of HER2+ advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010 ; 376 : 687-97.

[100] Bayrak M , Olmez DE , Kurt E , Cubukcu E , T Evrensel , Kanat O , O Manavoglu. Prognostic significance of c-erbB2 overexpression in patients with metastatic gastric cancer. Oncol Clin Trad. 2013 Avr, 15 (4) :307-312. Epub 2012 août 22

[101] T Mizutani , Onda M , A Tokunaga , Yamanaka N , Y Sugisaki . Relationship of C-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. Cancer. 1 octobre 1993; 72 (7) :2083-8.

[102]* jean dominique de korwin. Hélicobacter pylori.gastroentérol clin Biol 2007 ;31 :1110-1117

[103]** R. de Crevoisier. Cancérogenèse et histoire naturelle du cancer. Février 2012.p :13. Centre Eugène Marquis. Université RENNE.

[104]***AD Watter, Going JJ, Cooke TG, Barllett JM. Breast Cancer Res Treat.2003 jan;77(2):109-14

-TNM : T...N...

-statut HER2 : 0 1 2 3 NF

STADE : I...II...III...IV.....

CHIMIOThERAPIE : *néo-adjuvante* : Oui Non

-protocoll:

-dose:

-Nombre de cycle:

Adjuvante : Oui Non

-protocoll:

-dose:

-Nombre de cycle:

Métastatique : Oui Non

-protocoll:

-dose:

-Nombre de cycle:

RCC (post-opératoire) : Oui Non

Dose de RTH :.....gy

Nombre de cycles :...

REPONSE THERAPEUTIQUE :

RC RP stabilisation progression

RECUl :

Délai actuel décès rémission rechute locale

Rechute métastatique

Annexe 2 :

<h3 style="margin: 0;">Cancer gastrique</h3> <h3 style="margin: 0;">Fiche de demande du statut HER2</h3>	
A l'attention de : _____	Fax : _____
Nbre de pages : _____	

Clinicien demandeur : _____ Date : _____ Signature : _____	Cachet <div style="border: 1px solid black; height: 50px; width: 100%;"></div>
--	---

Identification du Patient

Mr Mme **Nom :** _____ **Prénom :** _____ **Date de naissance :** ___/___/___
Nom de jeune fille : _____

Traitement(s) antérieur(s) au prélèvement

Aucun Chimiothérapie Radiothérapie Non renseigné

Commentaire(s) : _____

Informations sur le prélèvement

Compte-rendu anatomopathologique n° : _____

En date du : ___/___/___ Effectué par : _____

Origine

Tumeur primitive Métastase
 Adénocarcinome / estomac Adénocarcinome / jonction œsogastrique

Spécimen

Biopsie Pièce opératoire

Grille recommandée pour évaluer l'intensité de la coloration par immunohistochimie

Score d'intensité de coloration	Coloration de l'échantillon chirurgical	Coloration de la biopsie	Évaluation de la surexpression de HER2
0	Aucune coloration ou une coloration membranaire dans < 10 % des cellules tumorales	Aucune coloration ou une coloration membranaire dans les cellules tumorales	Négative
1+	Coloration membranaire faible / à peine perceptible dans ≥ 10 % des cellules tumorales : les cellules ne sont colorées que dans une partie de leur membrane	Amas de cellules tumorales avec une coloration membranaire faible / ou à peine perceptible indépendamment du pourcentage de cellules tumorales colorées	Négative
2+	Coloration membranaire complète, basolatérale ou latérale faible à modérée dans ≥ 10 % des cellules tumorales	Amas de cellules tumorales avec une coloration membranaire faible à modérée, basolatérale ou latérale complète, indépendamment du pourcentage de cellules tumorales colorées	Équivoque
3+	Forté coloration membranaire complète, basolatérale ou latérale dans ≥ 10 % des cellules tumorales	Amas de cellules tumorales avec une coloration membranaire forte, basolatérale ou latérale complète, indépendamment du pourcentage de cellules tumorales colorées	Positive

Hofmann M et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52:797-805.

Annexe 3 :

Classification TNM 2009 :

Paramètre T :

pTis : carcinome in situ

pT1 : tumeur infiltrant le chorion de la muqueuse(T1a) ou la sous muqueuse (T1b)

pT2 : tumeur infiltrant la musculature.

pT3 : tumeur infiltrant la sous séreuse sans atteinte du péritoine viscéral ou des structures adjacentes.

pT4 : tumeur infiltrant le péritoine viscéral (T4a) ou les structures adjacentes.

Les ganglions :

pN0 : absence de métastase ganglionnaire

pN1 : 1 à 2 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques

pN2 : 3 à 6 ganglions

pN3 : ≥ 7 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques

Métastase à distance :

M0 : absence de métastase

M1 : métastase à distance

LISTE DES ABREVIATIONS

ADK	: adénocarcinome
CISH	: Hybridation in situ colorimétrique
FISH	: hybridation in situ fluorescente.
H.Pylori	: Hélicobacter pylori.
HER2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
IHC	: immunohistochimie
JOG	: jonction œsogastrique
SISH	: Hybridation in situ argentique