Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

N° d'ordre 77 /2021

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr : Jean Paul NSHIZIRUNGU

Discipline : Biomédecine

Spécialité : Génétique et Biologie moléculaire

Sujet de la thèse : Etude des différents groupes moléculaires des cancers gastriques et leur impact sur la prise en charge des patients de la région Nord-Est du Maroc

Formation Doctorale : Sciences Médicales et Recherche Translationnelle

Thèse présentée et soutenue le 25 Octobre 2021 devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
Pr. Mohammed EL AZAMI EL IDRISSI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Président
Pr. Abdallah BADOU	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca	Rapporteur
Pr. Rabii AMEZIANE EL HASSANI	Pr. Habilité	Faculté des Sciences de Rabat	Rapporteur
Pr. Laila BOUGUENOUCH	Pr. Agrégé	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Rapporteur
Pr. Samira EL FAKIR	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Examinateur
Pr. Dafr-Allah BENAJAH	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Examinateur
Pr. Rui MANUEL REIS	Professeur	Faculté de Médecine-Université de Minho-Portugal	Examinateur
Pr. Sanae BENNIS	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Directrices de thèse
Pr. Ihsane MELLOUKI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Tanger	

Laboratoire d'accueil : Recherche Biomédicale et Translationnelle.

Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

Etablissement : Faculté de Médecine et de Pharmacie-Fès.

Titre de la thèse : Etude des différents groupes moléculaires des cancers gastriques et leur impact sur la prise en charge des patients de la région Nord-Est du Maroc

Nom et prénom du candidat : Jean Paul NSHIZIRUNGU
Spécialité : Génétique et Biologie moléculaire

Résumé de la thèse

Le cancer gastrique constitue un problème de santé publique par sa fréquence et sa gravité. En effet, il est le cinquième cancer le plus fréquent et la quatrième cause de décès par cancer dans le monde. Il est représenté essentiellement par les adénocarcinomes gastriques (90% des cancers gastriques). Il n'existe pas une mais plusieurs formes d'adénocarcinomes gastriques, et toutes ne répondent pas aux mêmes traitements. Hélas, jusqu'ici, les médecins manquent d'outils pour prédire à quel traitement un cancer gastrique donné allait le mieux répondre. Plusieurs classifications histologiques ont été proposées pour les adénocarcinomes gastriques, par exemple la classification de Lauren qui distingue le type intestinal du type diffus, ou la classification de l'OMS qui distingue les types papillaires, tubulaires, mucineux (colloïde) ou à cellules peu cohésives. En pratique clinique, ces classifications sont peu utilisées car ils n'ont pas d'implication thérapeutique. Aujourd'hui, grâce à la nouvelle classification moléculaire cela pourrait changer.

En effet, deux groupes de recherche à savoir le groupe TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) et l'ACRG (*Asian Cancer Research Group*) ont récemment proposé deux nouvelles classifications moléculaires du cancer gastrique en utilisant les nouveaux outils d'analyse à haut débit permettant une analyse exhaustive au niveau de l'ADN, de l'ARN et au niveau protéique. Ainsi, l'étude TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) a rapporté quatre groupes moléculaires de cancer gastrique : les tumeurs infectées par le virus Epstein-Barr « EBV », les tumeurs montrant une instabilité des microsatellites « MSI », les tumeurs génomiquement stables « GS », et les chromosomiquement instables « CIN ». Par ailleurs, le groupe ACRG (*Asian Cancer Research Group*) a décrit en 2015 une autre classification moléculaire du cancer gastrique, qui a également identifié quatre sous-types: les tumeurs montrant une instabilité microsatellite «MSI», les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse «MSS/EMT», les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active «MSS/p53+», et les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive « MSS/p53-».

Ces deux classifications (TCGA et ACRG) ont considérablement élargi nos connaissances sur l'hétérogénéité et la complexité moléculaire du cancer gastrique. Cependant, les technologies d'analyse à haut débit utilisées dans ces deux études (TCGA et ACRG) sont très coûteuses et ne sont pas disponibles dans la plupart des laboratoires, ce qui est un obstacle à l'intégration de ces classifications moléculaires dans la pratique clinique de routine. Ce projet de thèse a pour objectif général de répartir les tumeurs gastriques en groupes moléculaires établis par TCGA et ACRG, en utilisant des techniques disponibles dans la pratique diagnostique de routine. Par ailleurs, une autre classification dite « classification intégrée » regroupant les sous-types moléculaires TCGA et ACRG a été proposée.

Notre travail a consisté en une étude rétrospective et prospective concernant 125 patients recrutés, entre 2014 et 2018, et traités dans le centre hospitalier Hassan II de Fès. Nous avons d'abord établi le profil épidémiologique de notre population, suivi d'une analyse histologique pour poser le diagnostic d'un adénocarcinome gastrique. Une étude immunohistochimique a été réalisée à travers l'utilisation d'un panel de biomarqueurs protéiques incluant l'oncoprotéine membranaire HER2, la protéine d'adhérence cellulaire E-cadhérine, le facteur de contrôle apoptotique p53, le facteur de prolifération cellulaire Ki67 et le ligand PD-L1. La technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) était utilisée dans cette étude pour détecter l'amplification du gène HER2 dans les cas équivoques (Score 2+). La mise en évidence de l'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV) était réalisée par hybridation in situ des ARN EBER (EBER ISH). La détermination du phénotype MSI a été réalisée par PCR multiplex et génotypage des 5 marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphes (NR27, NR21, NR24, BAT25 et BAT26).

Pour les tumeurs avec instabilité des microsatellites (MSI-High), nous avons étudié le profil mutationnel des 22 cibles de l'instabilité microsatellite par PCR multiplex et génotypage. Les 22 gènes étudiés sont : *TCF4, BAX, TGFbRII, PTEN exon 7, PTEN exon 8, EGFR, MSH3, MSH6, ATM, ATR, BLM, BRCA1, BRCA2, DNAPKcs, MBD4, MRE11, RAD50, XRCC2, WISP3, XPO5, TRBP2 et HSP110*.

Nos résultats ont montré que les différents groupes moléculaires présentaient des caractéristiques clinicopathologiques et un pronostic distinct. Les tumeurs infectées par EBV étaient retrouvées exclusivement chez les hommes. Les tumeurs appartenant au groupe moléculaire GS (classification TCGA), MSS/EMT (classification ACRG) et les tumeurs montrant une expression aberrante de la E-cadhérine (classification intégrée) étaient plus fréquemment de type histologique diffus et étaient diagnostiquées chez les patients jeunes. Le groupe moléculaire MSI était associé à une meilleure survie globale dans toutes les classifications (TCGA, ACRG et classification intégrée). La détermination du statut mutationnel des gènes cibles a montré que les gènes les plus fréquemment mutés dans les tumeurs MSI étaient *HSP110* (84,6 %), *EGFR* (30,8 %), *BRCA2* (23,1 %), *MRE11* (23,1 %) et *MSH3* (23,1 %). De plus, nous avons également détecté des mutations dans d'autres gènes impliqués dans des voies cellulaires clés : *MBD4* (15,4 %), *TGFβRII* (15,4 %), *TCF4* (7,7 %), *XRCC2* (7,7 %), *TRBP2* (7,7 %) et *PTEN exon7* (7,7 %).

A travers cette étude, nous avons essayé de reproduire les classifications moléculaires TCGA et ACRG en utilisant des techniques disponibles dans le diagnostic de routine. Ces classifications peuvent être utilisées non seulement pour répartir les patients en différents groupes moléculaires mais également pour prédire le pronostic, ce qui permettrait certainement une meilleure prise en charge des patients atteints d'un cancer gastrique.

Mots clés : Cancer gastrique, classification moléculaire, biomarqueurs moléculaires, pronostic, région Nord-Est du Maroc

Liste des publications

1- **Jean Paul Nshizirungu**, Sanae Bennis, Ihsane Mellouki, Mohammed Sekal, Dafr-Allah Benajah, Nada Lahmidani, Hicham El Bouhaddouti, Karim Ibn Majdoub, Sidi Adil Ibrahimi, Sónia Pires Celeiro, Marta Viana-Pereira, Fernanda Franco Munari, Guilherme Gomes Ribeiro, Vinicius Duval, Iara Santana, Rui Manuel Reis. Reproduction of The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Asian Cancer Research Group (ACRG) gastric cancer molecular classifications and their association with clinicopathological characteristics and overall survival in Moroccan patients. **Disease Markers**, vol. 2021, Article ID 9980410, 12 pages, 2021. https://doi.org/10.1155/2021/9980410.

2- **Jean Paul Nshizirungu**, Sanae Bennis, Ihsane Mellouki, Dafr-Allah Benajah, Nada Lahmidani, Hicham El Bouhaddoutti, Karim Ibn Majdoub, Sidi Adil Ibrahimi, Sónia Pires Celeiro, Marta Viana-Pereira, Rui Manuel Reis. Microsatellite Instability Analysis in Gastric Carcinomas of Moroccan Patients. **Genet Test Mol Biomarkers**. 2021 Feb ;25(2) :116-123. https://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0146.

3- **Jean Paul Nshizirungu**, Sanae Bennis, Ihsane Mellouki, Mohammed Sekal, Dafr-Allah Benajah, Nada Lahmidani, Hicham El Bouhaddouti, Karim Ibn Majdoub, Sidi Adil Ibrahimi, Sónia Pires Celeiro, Marta Viana-Pereira, Rui Manuel Reis. Gastric adenocarcinoma classification: Association with clinicopathological features and overall survival in Moroccan patients. **Annals of Oncology**. VOLUME 32, SUPPLEMENT 3, S166, JULY 01, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.05.250 (Abstract).

4- **J.P. Nshizirungu**, M.R. Rui, V.P. Marta, C.Sónia, I. Mellouki, H. El Bouhaddouti, K. Ibn Majdoub, L. Chbani, N. Lahmidani, J. Hammani, S.A. Ibrahimi, S. Bennis. Analysis of Microsatellite Instability in Gastric Cancer: Association with Clinicopathological Characteristics. **The Journal of Molecular Diagnostics**, Vol. 22, Supplement, May 2020 (Abstract).

5- **J. Nshizirungu**, M. Rui, V. Marta, P. Sónia, I. Mellouki, L. Chbani, H. Jalila, S. Bennis. Instabilité des microsatellites et infection par le virus d'Epstein–Barr dans les carcinomes gastriques. **Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique**.Volume 68, Supplement 3, September 2020, Page S141. https://doi.org/10.1016/j.respe.2020.03.084 (Abstract).

6- B. Efared, **J. Nshizirungu**, N. Hammas, H. El Fatemi, L. Chbani. Gastric signet ring cell carcinoma: a comparative analysis of clinicopathologic features. **Virchows Archiv** (2019) 475 (Suppl 1): PS-20-020. https://doi.org/10.1007/s00428-019-02631-8 (Abstract).

Liste des communications orales

1- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. « Cancer de l'estomac : Statut du HER2 et statut du RAS » In : 1er Congrès international : Maladies chroniques et qualité de vie organisé par le pôle « Santé, Recherche Biomédicale, Biomolécules et Qualité de vie ». 15-16/12/2016, Fès-Maroc.

2- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. PROFIL D'EXPRESSION DES GENES HER2 ET KRAS CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'ADENOCARCINOME GASTRIQUE. In : 2ème Journée du doctorant en biologie de l'USMBA sous le thème « Pharmacologie et Biotechnologie ». 10-05-2017, Fès-Maroc.

3- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. « Expression du HER2 et de la E- cadhérine dans les carcinomes gastriques : à propos de 100 cas » In : Colloque International des Jeunes Chercheurs « CIJC2017 » ». 18-19/12/2017, Tétouan-Maroc.

4- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. Microsatellite instability (MSI) and Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER2) status in gastric cancer: Prevalence and clinical significance in Moroccan population. In : 2ème congrès international « Biotechnologie au service de la société- Biotech 2017 ». 22-24/11/2017, Fès-Maroc.

5- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. "Expression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), p53 and Ki 67 in gastric cancer patients ". Summer School organized by the Hassan II Academy of Science and Technology Rabat in close cooperation with the Al Akhawayn University on advances in cancer therapy. 16-18/6/2018, Ifrane-Maroc.

6- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. Immunohistochemical evaluation of p53 and Ki-67 expression in gastric cancer. In : 3ème Journée du doctorant en biologie de l'USMBA. 27/06/2018, Fès-Maroc.

Liste des communication affichées

1- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. Cancer gastrique : Biomarqueurs et facteurs pronostiques. In : 2ème forum des doctorants du pole « Santé, Recherche biomédicale, Biomolécules et qualité de vie ». 04/11/2016, Fès-Maroc.

2- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. Expression and clinicopathological significance of Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER2) in Moroccan patients with gastric cancer. In : Les 3èmes journées scientifiques internationales du service d'oncologie médicale du CHU Hassan II de Fès. 22-23/09/2017, Fès-Maroc.

3- **JP. Nshizirungu**, E. Boubacar, J. Hammani, L. Chbani, I. Mellouki, S. Bennis. Assessment of immunohistochemical biomarkers in patients with gastric cancer and their association with clinicopathological characteristics. In : 1ère Edition des journées de recherche de l'association marocaine pour la recherche sur le cancer. 10 Mai 2018, Rabat-Maroc.

4- Boubacar EFARED, **JP. NSHIZIRUNGU**, A. DIARRA, A. MAZTI, G. ATSAM, L. TAHIRI, N. HAMMAS, H. ELFATEMI, I. MELLOUKI, S. BENNIS, L. CHBANI. Particularités clinicopathologiques et comparatives des carcinomes gastriques au nord-est marocain : à propos de 257 cas. In : Carrefour des pathologies. 07-10/11/2016, Paris-France.

5- **J.P. Nshizirungu**, M.R. Rui, V.P. Marta, C. Sónia, I. Mellouki, H. El Bouhaddouti, K. Ibn Majdoub, L. Chbani, N. Lahmidani, J. Hammani, S.A. Ibrahimi, S. Bennis. Instabilité des microsatellites et infection par le virus d'Epstein-Barr dans les carcinomes gastriques. 14e Conférence francophone d'Épidémiologie Clinique 27e Journée des statisticiens des Centres de lutte contre le cancer, EPICLIN 2020. 15-16 Septembre 2020.

6- Boubacar Efared, **J. Nshizirungu**, N. Hammas, H. El Fatemi, L. Chbani. Gastric signet ring cell carcinoma: a comparative analysis of clinicopathologic features. 31st European Congress of Pathology. 7 – 11 September 2019.

7- **J.P. Nshizirungu**, M.R. Rui, V.P. Marta, C. Sónia, I. Mellouki, H. El Bouhaddouti, K. Ibn Majdoub, L. Chbani, N. Lahmidani, J. Hammani, S.A. Ibrahimi, S. Bennis. Analysis of Microsatellite Instability in Gastric Cancer: association with clinicopathological characteristics. The 2nd AMP Europe Congress:Clinical Genomics: Beyond the Somatic Mutation. September 14-16, 2020, Milan-Italy.

8- **Jean Paul Nshizirungu**, Sanae Bennis, Ihsane Mellouki, Mohammed Sekal, Dafr-Allah Benajah, Nada Lahmidani, Hicham El Bouhaddouti, Karim Ibn Majdoub, Sidi Adil Ibrahimi, Sónia Pires Celeiro, Marta Viana-Pereira, Rui Manuel Reis. Gastric adenocarcinoma classification: Association with clinicopathological features and overall survival in Moroccan patients. ESMO 23rd World Congress on Gastrointestinal Cancer. June 30 – July 3, 2021.

Dédicaces

Je dédie cette thèse comme preuve de respect, de gratitude et de reconnaissance à :

Mes très chers parents **Mr. Faustin MUSONERA et Mme Pascasie MUKAMPARIRWA**, qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de ces années. Votre amour, vos prières, tous les sacrifices consentis et vos précieux conseils m'ont permis d'aller jusqu'au bout de ce travail et ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourrait être à la hauteur des sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Puisse Dieu tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

Mes chers frères et sœurs : **Jean Claude, Jado, Flora, Diane, Alice, Néema, Dede, Remy, Jojo, Tite et Hirwa**. Vous qui m'admirez tant et qui sont toujours fiers de moi et de mes réalisations. Ce travail est le fruit de vos encouragements et une modeste récompense de votre confiance en moi. Que Dieu vous bénisse et vous protège.

Ma fiancée **Aline ABAYIZERA**. Tu m'as toujours soutenu et encouragé durant toutes les étapes de ce travail. Dans les moments difficiles, tu as su me réconforter et me remonter le moral, je t'en suis très reconnaissant. Je te dédie ce travail en témoignage de l'amour que j'éprouve à ton égard. Je te souhaite tout le bonheur et la réussite dans tes études. Je t'aime fort.

Mes amis et collègues du laboratoire de recherche biomédicale et translationnelle : **Ghita, Asmae, Brahim, Salma, Ilham, Fatima, Ihsane, Sara, Nadia**. Merci pour les bons moments passés ensemble. Vous avez rendu mon séjour au Maroc inoubliable. Vous êtes les meilleurs!

La communauté Rwandaise au Maroc. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Remerciements

Ce travail est l'aboutissement de six années de recherche au cours desquelles j'ai bénéficié de l'encadrement, des encouragements et du soutien de plusieurs personnes, à qui je tiens à dire profondément et sincèrement merci.

En premier lieu, j'adresse de chaleureux remerciements à mes directrices de thèse, **Mme Sanae Bennis**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès et **Mme Ihsane Mellouki**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Tanger, d'avoir cru en moi pour me confier ce projet. Je vous remercie pour votre disponibilité, pour vos conseils avisés, nos longues séances de discussion sur le sujet et pour vos encouragements. Ce mémoire de thèse tel qu'il se présente maintenant doit beaucoup à vos relectures méticuleuses et corrections tant au point de vue du fond que de la forme. J'ai pris un grand plaisir à travailler avec vous. Soyez assurées de ma sincère gratitude.

Je tiens aussi à remercier **Mr. Rui Manuel Reis**, Directeur du Centre de Recherche en Oncologie Moléculaire de Barretos-Brazil et Professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Minho-Portugal, qui m'a accueilli au sein de son équipe de recherche au laboratoire de ICVS (*Life and Health Sciences Research Institute*). C'est grâce à lui que j'ai pu effectuer une partie importante et déterminante de mes recherches, à savoir l'analyse de l'instabilité microsatellite, la mise en évidence de l'infection par le virus d'Epstein-Barr et l'étude de l'expression du ligand PD-L1. En guise de ses qualités humaines et professionnelles je lui adresse mes plus vifs remerciements.

Je remercie vivement **Mr. Sekal Mohammed**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès, pour son implication dans la lecture des lames et la prise des photos (HES et immunohistochimie). Il m'a beaucoup appris, j'ai apprécié son enthousiasme et sa sympathie. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

Je voudrais remercier les rapporteurs de cette thèse, **Mr. Abdallah BADOU**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca ; **Mr. Rabii AMEZIANE EL HASSANI**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat et **Mme Laila BOUGUENOUCH**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès ; pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. Vos remarques et suggestions ont largement contribué à la valorisation de ce mémoire de thèse. Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude et mes remerciements les plus sincères.

Mes remerciements vont également aux examinateurs de cette thèse, **Mr. Mohammed EL AZAMI EL IDRISSI**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès ; **Mr. Dafr-Allah Benajah**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès et **Mme Samira El Fakir**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès ; pour avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma plus grande reconnaissance.

Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire ICVS-Minho, plus particulièrement, **Dr. Marta Viana Pereira** et **Mme Sónia Pires Celeiro** pour leur aide et leur bonne humeur. Nous avons partagé de bons moments.

J'exprime ma gratitude aux anatomopathologistes du « Barretos Cancer Hospital », plus particulièrement **Dr. Guiherme Ribeiro, Dr. Vinicius Duval et Dr. Iara Santana**, pour le temps qu'ils ont consacré pour la lecture des lames immunohistochimiques (PD-L1 et EBV). Je vous remercie pour vos commentaires et suggestions.

Ma reconnaissance va au **Dr. Fernanda Munari** du Centre de Recherche en Oncologie Moléculaire – Barretos, pour son aide dans la prise des photos concernant l'expression du ligand PD-L1 et l'infection par le virus d'Epstein-Barr.

J'adresse mes remerciements à tout le personnel de différents services du CHU Hassan II de Fès : service d'Hépato-gastroentérologie, service d'anatomo-pathologie, service de chirurgie viscérale, service de radiothérapie et service d'oncologie médicale ; pour leur collaboration dans la réalisation de ce travail de thèse.

Enfin, ce travail doctoral n'aurait pu être mené à bien sans l'aide de différents financeurs qui, au travers de leur soutien matériel, ont reconnu mon travail et m'ont fait confiance : la Faculté de Médecine et de Pharmacie – Université Sidi Mohamed Ben Abdellah ; Centre de Recherche en Oncologie Moléculaire-Barretos ; ICVS-Minho.

Liste des abréviations

1XSSC	Sodium chloride, 0.3 M sodium citrate
5-FU	5 Fluoro-uracile
ACRG	Asian Cancer Research Group
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNp	ADN polymérase
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AP	Phosphatase alcaline
ARHGAP 26	Rho GTPase Activating Protein 26
ASCO	American Society of Clinical Oncology
ATM	Ataxia-telangiectasia mutated gene
ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3 related checkpoint kinase 1
B2M	Bêta-2microglobuline
BART	BamH1-A Rightward Transcripts
BAX	BCL2-associated X protein
BCIP	5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Phosphate
BLM	Bloom syndrome gene
BRCA1	Breast cancer gene 1
BRCA2	Breast cancer gene 2
CAP	College of American Pathologists
CD274	Cluster of Differentiation 274
CD279	Cluster of Differentiation 279
CDKN2A	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
CGDH	Cancer gastrique diffus héréditaire
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIN	Chromosomal instability
CLDN18	Claudin 18
CPS	Combined Positive Score
CT	Computed Tomography
DAB	3,3'-Diaminobenzidine
DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
DNAPKcs	DNA-dependent protein kinase, catalytic subunit
dNTPs	Désoxyribonucléosides triphosphate
DO	Densité optique
DSME	Dissection sous-muqueuse endoscopique
EBER	Epstein-Barr-encoded RNA
EBNA	Epstein-Barr Nuclear Antigen
EBV	Epstein-Barr virus
ECF	Epirubicine, Cisplatine, 5-Fluororuracile
ECX	Epirubicine, Cisplatine, Capécitabine
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EMT	Epithelial–mesenchymal transition
EXO1	Exonucléase-1
FAM	6-Carboxyfluorescein
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Hybridation in situ fluorescente
FLOT	5-Fluorouracile, Leucovorine, Oxaliplatine et docétaxel
FMPF	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès

FOLFOX	Acide folinique, 5-Fluorouracile, Oxaliplatine
GLOBOCAN	Global Cancer Observatory
GS	Genomic stability
H. pylori	Helicobacter Pylori
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
HER2	Human epidermal growth factor receptor-2
HES	Hématoxyline-Eosine-Safran
HEX	Hexachloro-6-carboxyfluorescein
HHV-4	Herpès humain de type 4
HLA-B	Human Leukocyte Antigen-B
HR	Hazard ratio
HSP110	Heat shock protein 110
IARC	Agence Internationale de Recherche sur le Cancer
ICVS	Life and Health Sciences Research Institute
IDL	Boucles d'insertion/deletion
IL-1ra	Antagoniste du récepteur de l'interleukine-1
IL-1β	Interleukine-1β
ILS600	Internal Lane Standard 600
JOG	Jonction oeso-gastrique
kDa	Kilodalton
LB	Lymphome de Burkitt
LMP	Latent Membrane Protein
MAP	Mitogen-Activated Protein
MBD4	Methyl-CpG binding domain protein 4
MMR	Système de réparation des mésappariements
MRE11	Meiotic recombination 11 homolog
MSH3	MutS homolog 3
MSH6	MutS homolog 6
MSI	Instabilité des microsatellites
MSS	Microsatellite stable
NBT	Nitro Bleu Tétrazolium
NED	2, 7, 8-Benzo-5-fluoro-2, 4, 7-trichloro-5-carboxyfluorescein
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odds Ratio
P53	Protein 53
PAF	Polypose adénomateuse familiale
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR	Polymerase chain reaction
PD-1	Programmed cell death 1
PD-L1	Programmed death-ligand 1
PI3K	Phosphatidylinositol-3 kinases
PJS	Syndrome de Peutz-Jeghers
PPS	Protein Precipitation Solution
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
QMVR	Quasimonomorphic variation range
RCT	Radiothérapie Conformationnelle Tridimensionnelle
RGO	Reflux gastro-œsophagien
RHOA	Ras Homolog gene family, member A
RME	Résection muqueuse endoscopique

RMI	Radiothérapie par Modulation d'Intensité
Rpm	rotations par minute
SG	Survie globale
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TCF4	Transcription factor-4
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TDM	Tomodensitométrie
TEP	Tomographie par émission de positons
TGFβRII	Transforming growth factor b type II receptor
ToGA	Trastuzumab for Gastric Cancer
TRBP2	TAR RNA binding protein 2
UICC	Union for International Cancer Control
VEGFR2	Vascular endothelial growth factor receptor 2
WISP3	WNT1-inducible-signaling pathway protein 3
XPO5	Exportin-5
XRCC2	x-ray repair cross-complementing protein 2

Liste des figures

Figure 1: Régions de l'estomac humain 6

Figure 2: Différentes couches composant la paroi gastrique 7

Figure 3: Incidence du cancer gastrique dans le monde selon Globocan 2020..... 8

Figure 4: Mortalité du cancer gastrique dans le monde selon Globocan 2020 10

Figure 5: Cancer gastrique de type intestinal 17

Figure 6: Cancer gastrique de type diffus 18

Figure 7: Adénocarcinome micropapillaire..... 19

Figure 8: Adénocarcinome tubulaire..... 19

Figure 9: Adénocarcinome mucineux 20

Figure 10: Carcinome à cellules en bague à chaton 20

Figure 11: Cascade de Correa 25

Figure 12: Les différentes voies de signalisation médiées par le récepteur HER2 27

Figure 13: Deux mécanismes généraux d'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales..... 29

Figure 14: L'axe PD-1/PD-L1 inhibe l'activation, la prolifération, la survie et la sécrétion cytotoxique des cellules T dans les cellules cancéreuses 30

Figure 15: Signalisation PD-1/PD-L1 dans la réponse immunitaire antitumorale..... 31

Figure 16: Voies de signalisation de la p53 33

Figure 17: Mécanisme de l'adhésion de deux cellules adjacentes médiée par les protéines E-cadhérines 34

Figure 18: Les différentes voies de signalisation régulées par la protéine E-cadhérine 35

Figure 19: Représentation schématique du mécanisme de réparation des erreurs de réplication par le système MMR 40

Figure 20: Représentation schématique du génome d'EBV et les gènes de latence 45

Figure 21: Classification moléculaire du cancer gastrique proposée par TCGA 47

Figure 22: Carte génétique et localisation des sondes LSI HER2/CEP17 68

Figure 23: Principe de la technique d'amplification de l'ADN par PCR..... 73

Figure 24: Révélation de l'amplification des 5 marqueurs microsatellites sur gel d'agarose… 75

Figure 25: Eléctrophérogramme : (A) profil MSI-H, (B) profil MSI-L et (C) profil MSS 78
Figure 26: Les patients inclus dans l'étude 84
Figure 27: Répartition des patients selon le sexe 85
Figure 28: Répartition des patients selon les tranches d'âge 86
Figure 29: Répartition des adénocarcinomes gastriques selon leur aspect endoscopique 88
Figure 30: Répartition des adénocarcinomes gastriques selon leur localisation anatomique .. 89
Figure 31: Délai diagnostique des adénocarcinomes gastriques dans cette étude 90
Figure 32: Répartition des adénocarcinomes gastriques selon la classification de Lauren 91
Figure 33: Immunomarquage de la protéine p53 92
Figure 34: Immunomarquage de la E-cadhérine 93
Figure 35: Immunomarquage de l'antigène Ki-67 94
Figure 36: Marquage du ligand PD-L1 95
Figure 37: Résultat de l'hybridation in situ EBER 96
Figure 38: Immunomarquage membranaire de la protéine HER2 97
Figure 39: Résultat de la technique FISH : Amplification du gène HER2 98
Figure 40: Eléctrophérogramme montrant (A) un profil MSS et (B) un profil MSI-H 99
Figure 41: Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires TCGA 103
Figure 42: Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires ACRG 106
Figure 43: Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires de la classification intégrée 109
Figure 44: Courbes de survie globale en fonction du statut HER2 112
Figure 45: Survie globale en fonction de l'expression de la protéine p53 113
Figure 46: Courbes de survie globale en fonction de l'expression de la E-cadhérine 114
Figure 47: Courbes de survie globale en fonction de l'expression de la protéine Ki-67 115
Figure 48: Courbes de survie globale selon le statut EBV 116
Figure 49: Courbes de survie globale selon le phénotype MSI 117
Figure 50: Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires TCGA 118
Figure 51: Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires ACRG 119

Figure 52: Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires de la classification intégrée 120

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification TNM 8ème édition 2017 23

Tableau 2 : Caractéristiques des différents anticorps utilisés dans l'étude 62

Tableau 3 : Interprétation de l'immunomarquage HER2 dans les cancers gastriques 63

Tableau 4 : Programme ThermoBrite de dénaturation/hybridation 67

Tableau 5: Modalité de comptage des signaux pour l'évaluation du statut du gène HER2, selon les recommandations ASCO/CAP 69

Tableau 6 : Les séquences d'amorces des marqueurs du panel pentaplex 74

Tableau 7: Composition du mélange réactionnel de la PCR 74

Tableau 8 : Programme de la PCR 75

Tableau 9 : Fourchette de variation quasimonomorphique des marqueurs du panel pentaplex 77

Tableau 10 : Les séquences d'amorces utilisées pour l'amplification des gènes cibles 80

Tableau 11 : Composition du mélange réactionnel de la PCR 81

Tableau 12 : Programme du thermocycleur 81

Tableau 13 : Facteurs de risque du cancer gastrique retrouvés dans cette étude 86

Tableau 14 : Fréquence des signes cliniques des patients inclus dans l'étude 87

Tableau 15: Fréquence de l'expression de la protéine p53 92

Tableau 16 : Fréquence de l'expression de la E-cadhérine dans cette étude 93

Tableau 17: Statut de l'indice de prolifération cellulaire Ki-67 dans les adénocarcinomes gastriques 94

Tableau 18 : Profil mutationnel des 22 gènes cibles analysés dans cette étude 100

Tableau 19 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires TCGA 104

Tableau 20 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires ACRG 107

Tableau 21 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires de la classification intégrée 110

Sommaire

Introduction générale 1

Revue Bibliographique 5

1- Anatomie de l'estomac humain 6

2- Epidémiologie et facteurs de risque du cancer gastrique 8

2.1- Epidémiologie 8

2.2- Facteurs de risque 11

3- Symptômes cliniques et critères diagnostiques 14

3.1- Symptômes cliniques 14

3.2- Critères diagnostiques 15

4- Histologie du cancer gastrique 16

4.1. Classification histologique des adénocarcinomes gastriques 17

4.2- Classification TNM 21

5- Mécanismes de la carcinogenèse gastrique 24

6- Biomarqueurs moléculaires des cancers gastriques 26

6.1- Récepteur-2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) 26

6.2- Voie de signalisation PD-L1 et son intérêt dans le cancer gastrique 28

6.3- Protéine p53 et cancer gastrique 32

6.4- Voie de signalisation E-cadhérine et son implication dans le cancer gastrique 34

6.5- L'antigène Ki-67 37

6.6- Instabilité des microsatellites « MSI » 38

6.7- Infection par le virus d'Epstein-Barr 43

7- Classification moléculaire du cancer gastrique 47

7.1- Classification TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) 47

7.2- Classification ACRG (*Asian Cancer Research Group*) 50

8- Prise en charge thérapeutique du cancer gastrique 51

8.1- Chirurgie 51

8.2- Chimiothérapie 53
8.3- Radiothérapie 54
8.4- Thérapies ciblées 55
8.5- Immunothérapie 56
Matériel et Méthodes 57
1- Population d'étude 58
2- Etude histologique 58
3- Immunohistochimie 61
4-Détection du virus d'Epstein-Barr par Hybridation in situ 65
5. Recherche de l'amplification du gène *HER2* par hybridation in situ fluorescente 66
6- Etude moléculaire 70
6.1- Extraction d'ADN 70
6.2- Etude de l'instabilité des microsatellites 73
6.2.3- Détermination du profil mutationnel des gènes cibles 79
7- Analyse statistique 82
Résultats 83
I- Etude descriptive 85
II- Etude immunohistochimique 92
III- Cytogénétique moléculaire 98
IV- Etude de l'instabilité microsatellite et gènes cibles du point de vue moléculaire 99
V- Classification moléculaire du cancer gastrique 101
1- Classification TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) 102
2- Classification ACRG (*Asian Cancer Research Group*) 105
3- Classification intégrée 108
VI- Analyse de la survie globale 111
1- Survie globale des patients en fonction des biomarqueurs moléculaires étudiés 112
2- Survie globale des patients en fonction des différents groupes moléculaires 118

Discussion 121

Conclusions et perspectives 132

Références bibliographiques 135

Introduction générale

Le cancer gastrique représente un problème de santé publique majeur par sa fréquence, son agressivité et son faible taux de guérison au stade symptomatique. Bien que son incidence soit en diminution, en particulier en Occident, le cancer gastrique occupe actuellement le cinquième rang des cancers les plus fréquents dans le monde avec plus d'un million de nouveaux cas diagnostiqués chaque année dans le monde (Sung et al. 2021).

Selon les estimations mondiales de 2020, le cancer gastrique est la quatrième cause de décès par cancer dans le monde (Sung et al. 2021). Ce taux élevé de mortalité est dû à son diagnostic souvent tardif, à l'hétérogénéité biologique et surtout au profil génétique des tumeurs gastriques.

Au Maroc, les données sur le cancer existant actuellement sont ceux des registres du grand Casablanca, du registre de Rabat et quelques études sur une partie de la population marocaine. Selon le nouveau registre de la région du grand Casablanca, un total de 822 cas de cancer gastrique (3.4% des cas de l'ensemble des cancers) a été enregistré entre 2008 et 2012, soit une incidence brute de 4.1 pour 100 000 habitants (Benider et al. 2016). Selon les statistiques sur le cancer de GLOBOCAN 2020, le cancer gastrique est le 7ème cancer le plus fréquemment diagnostiqué (2294 nouveaux cas, soit 3.9% de tous les cancers) et la 3ème cause de décès par cancer (2016 décès, soit 5.7% de tous les décès liés au cancer) au Maroc (https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/504-morocco-fact-sheets.pdf).

Les résultats cliniques sont souvent imprévisibles et varient considérablement d'un patient à l'autre, malgré les récents progrès en matière de diagnostic et de traitement. L'arrivée de la biologie moléculaire avec la compréhension des mécanismes impliqués dans la pathogenèse du cancer gastrique constitue une étape critique pour parvenir à un traitement personnalisé de cette maladie, d'où l'intérêt de la thérapie ciblée et de l'immunothérapie.

Plusieurs classifications histologiques ont été proposées pour classer les cancers gastriques, dont les plus couramment utilisées sont la classification de Lauren qui décrit les types intestinaux, diffus et mixtes, et la classification de l'OMS 2010 qui décrit les types papillaires, tubulaires, mucineux et à cellules indépendantes (Hu et al. 2012). Les deux classifications permettent de mieux comprendre l'histogenèse et la biologie du cancer gastrique, mais leur utilité est limitée dans le choix thérapeutique en raison de l'hétérogénéité biologique des tumeurs gastriques. Ainsi, la prise en charge des patients au fil du temps ne présente pas d'amélioration palpable. Les tristes résultats cliniques reflètent l'inefficacité d'une approche unique pour une pathologie multifactorielle, complexe et très hétérogène.

Cela soulève la question de l'hétérogénéité moléculaire du cancer gastrique et suggère l'existence de voies de carcinogenèse distinctes, sans oublier l'existence d'hétérogénéité intra-tumorale comme source de résistance aux traitements.

Le récent profilage génomique et moléculaire complet a conduit à une compréhension approfondie du cancer gastrique. En effet, les classifications moléculaires émergentes basées sur la génétique, l'épigénétique, et les signatures moléculaires sont très prometteuses pour le développement de stratégies thérapeutiques personnalisées, plus précises et plus efficaces, à titre d'exemple l'immunothérapie.

Deux groupes de recherche à savoir le groupe TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) et l'ACRG (*Asian Cancer Research Group*) ont récemment proposé deux nouvelles classifications moléculaires tout en utilisant les nouveaux outils d'analyse à haut débit permettant une analyse exhaustive au niveau de l'ADN, de l'ARN et au niveau protéique.

Ainsi, l'étude TCGA a rapporté quatre sous-types moléculaires de cancer gastrique : les tumeurs positives pour le virus Epstein-Barr « EBV », tumeurs montrant une instabilité des microsatellites « MSI », tumeurs à génome stable « GS », et tumeurs avec instabilité chromosomique « CIN » (Bass et al. 2014).

Par ailleurs, l'ACRG a décrit en 2015 une autre classification moléculaire du cancer gastrique, qui a également identifié quatre sous-types: les tumeurs présentant une instabilité microsatellite « MSI », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active « MSS/p53+ », et les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive « MSS/p53-» (Cristescu et al. 2015).

Ces classifications moléculaires ont considérablement élargi nos connaissances sur l'hétérogénéité et la complexité moléculaire du cancer gastrique. Cependant, les technologies d'analyse à haut débit utilisées dans ces deux études (TCGA et ACRG) sont très coûteuses et ne sont pas disponibles dans la plupart des laboratoires, ce qui est un obstacle à l'intégration de ces classifications moléculaires dans la pratique diagnostique de routine.

Ce projet de thèse, soutenu par la Faculté de Médecine - Pharmacie « FMPF » et le CHU Hassan II de Fès, a pour objectif général l'étude de l'apport de la classification moléculaire des cancers gastriques dans le diagnostic et la prise en charge des patients recrutés, entre 2014 et 2018, et traités dans le centre hospitalier cité ci-dessus.

Pour la réalisation de ce projet, nous avons essayé de reproduire les algorithmes de classification du cancer gastrique en sous-types moléculaires établis par TCGA et ACRG, en appliquant des techniques simples et routinières des laboratoires de pathologie du monde entier (immunohistochimie, hybridation in situ et la PCR multiplex).

Ce travail de thèse étalé sur une période de 6 ans a abouti à la réalisation d'un mémoire que nous avons préféré subdiviser en quatre chapitres :

- Le premier chapitre consiste à présenter une revue bibliographique récente traitant les actualités dans ce domaine.

- Le deuxième chapitre est consacré à la description de la méthodologie et les différentes techniques histologiques et moléculaires utilisées pour la réalisation de ce projet de mémoire.

- Le troisième chapitre traite l'ensemble des résultats clinicopathologiques et histo-moléculaires obtenus, en passant par l'analyse statistique descriptive réalisée avec le logiciel SPSS. Par la suite, nous avons jugé nécessaire d'établir des associations entre les différents sous-types moléculaires et les facteurs clinicopathologiques des patients, puis d'évaluer l'impact des différentes altérations moléculaires sur la survie des patients.

- Le quatrième chapitre a pour objectif la discussion de nos résultats, tout en les confrontant avec les études récentes nationales et internationales dans ce domaine afin d'expliquer les divergences notées.

Le mémoire est achevé par une conclusion générale et des perspectives.

Revue Bibliographique

1- Anatomie de l'estomac humain

L'estomac est un organe musculaire en forme de « J » du tube digestif, situé entre l'œsophage et le duodénum. Il joue un rôle important dans la digestion des aliments par action mécanique (mélange et décomposition des aliments par contraction et relaxation des couches musculaires de l'estomac) et chimique en mélangeant les aliments aux sucs gastriques (eau, acide chlorhydrique, enzymes). L'estomac humain peut être subdivisé en cinq régions (Figure 1) :

- **Le cardia** : il s'agit d'un orifice reliant l'œsophage à l'estomac. Il est aussi appelé « jonction gastro-œsophagienne ». Le cardia est constitué par des muscles repliés sous forme d'un sphincter fonctionnel qui lui s'ouvre pour laisser passer les aliments et se refermer pour empêcher le contenu de l'estomac de remonter dans l'œsophage.
- **Le fundus** : Aussi appelé « grosse tubérosité », il représente la zone arrondie située à gauche du cardia et sous le diaphragme.
- **Le corps** : Il occupe les 2/3 du volume.de l'estomac. C'est là que la nourriture est mélangée et commence à se décomposer.
- **L'antre** : Il représente la partie inférieure de l'estomac. Il débouche sur le pylore, ce qui fait qu'il est parfois appelé « l'antre pylorique », L'antre retient la nourriture décomposée jusqu'à ce qu'elle soit prête à être libérée dans l'intestin grêle.
- **Le pylore** : c'est la partie qui relie l'estomac à l'intestin grêle. Cette région comprend le sphincter pylorique, qui permet le passage du contenu de l'estomac (chyme) vers le duodénum et empêche le contenu du duodénum de retourner dans l'estomac.

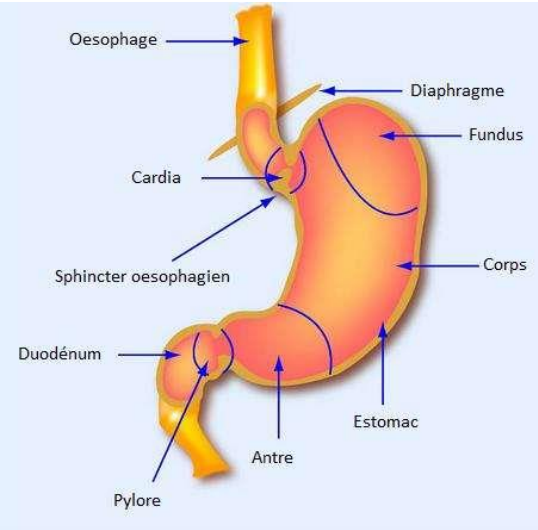


Figure 1: Régions de l'estomac humain (https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-cardia-7994/)

L’estomac possède une paroi composée de quatre couches superposées qui sont réparties de l'intérieur vers l'extérieur de la façon suivante (Figure 2) :

- **La muqueuse** : constitue la paroi interne de l’estomac dont la fonction est de protéger l’estomac des sucs digestifs sécrétés par ses parois (acide chlohydrique et des enzymes). Cette muqueuse est constituée de trois parties : un épithélium simple, une lamina propria (ou chorion) et une musculaire muqueuse (muscularis mucosae).

- **La sous-muqueuse** : Il s’agit d’une couche de tissu conjonctif recouvrant la muqueuse. Elle renferme les gros vaisseaux sanguins, les lymphatiques et le plexus sous-muqueux (un réseau de nerfs sympathiques) qui commande la motilité du tube digestif.

- **La musculeuse** : Il s’agit d’une couche de tissu musculaire lisse constituée de trois sous-couches distinctes : une interne oblique, une moyenne circulaire et une externe longitudinale.

- **La séreuse** : Elle est aussi connue sous le nom de « péritoine viscéral ». C’est la membrane la plus externe de la paroi gastrique et est composée par une couche de tissu conjonctif bordée par un mésothélium d’aspect endothélial.

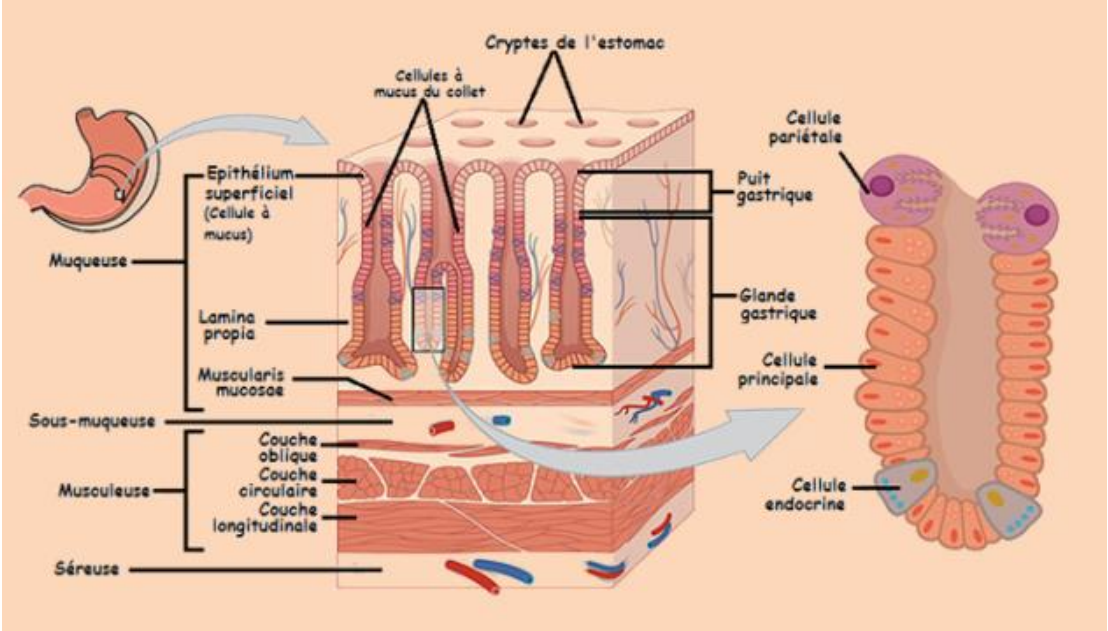


Figure 2: Différentes couches composant la paroi gastrique (Francis C. 2021)

2- Epidémiologie et facteurs de risque du cancer gastrique

2.1- Epidémiologie

Le cancer gastrique est l'un des cancers les plus fréquents dans le monde. Selon les estimations de GLOBOCAN (The Global Cancer Observatory : un projet visant à fournir des estimations les plus à jour possible de l'incidence, la mortalité et la prévalence de la majorité des cancers au niveau international), 1 089 103 nouveaux cas de cancer gastrique ont été recensés en 2020 (5.6% de tous les nouveaux cancers), ce qui en fait le 5ème cancer le plus fréquent dans le monde, derrière les cancers du sein, du poumon, colorectaux et de la prostate (Sung et al. 2021).

Il existe une disparité géographique considérable de la prévalence du cancer gastrique dans le monde avec les taux les plus élevés en Asie orientale (par exemple en Mongolie, au Japon, en République de Corée), alors que l'incidence en Amérique du Nord, en Europe du Nord et en Afrique est généralement faible (Bray et al. 2018). Dans certains pays d'Asie occidentale « l'Iran, le Turkménistan et le Kirghizistan », le cancer gastrique est le plus fréquemment diagnostiqué et la principale cause de décès par cancer chez les hommes (Bray et al. 2018).

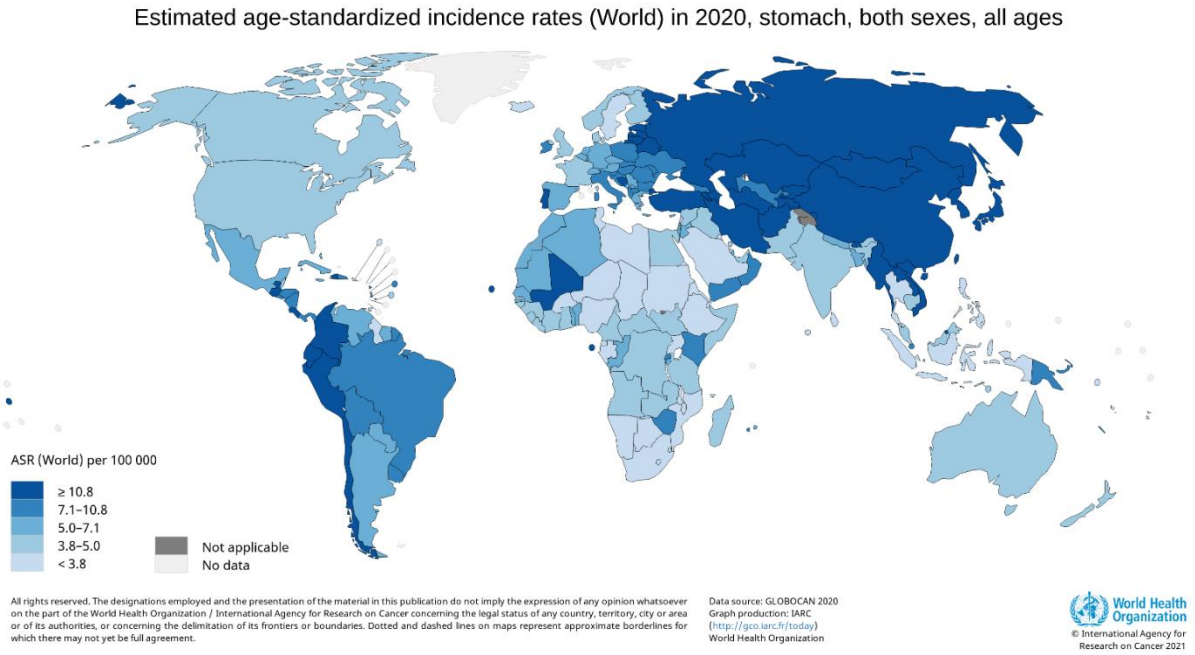


Figure 3: Incidence du cancer gastrique dans le monde selon Globocan 2020 (http://gco.iarc.fr/today)

Cependant, il est à noter que le cancer gastrique ne suit pas toujours un schéma de distribution géographique clair. Puisque dans certains pays asiatiques les taux sont relativement faibles comme dans le cas de l'Inde (Torre et al. 2015). Par ailleurs, il faut souligner la présence des groupes à très haut risque au sein des populations à faible risque, par exemple, les Asiatiques vivant aux Etas – Unis d'Amérique (Kamineni et al. 1999 ; Lui et al. 2014 ; Taylor et al. 2014). Une étude sur les migrants asiatiques vivant aux USA a montré une diminution du taux d'incidence du cancer gastrique chez ces derniers comparés aux populations dans les pays d'origine (Kim et al. 2015). Cette variation du taux d'incidence suggère l'implication des facteurs environnementaux dans la survenue du cancer gastrique.

Le cancer gastrique peut être divisé en cancer du cardia (ou de la jonction oeso-gastrique) et non-cardia (cancers distaux) bien qu'il soit souvent considéré comme une seule entité, avec généralement une prédominance des formes distales (Colquhoun et al. 2015). L'incidence des formes distales du cancer gastrique est en diminution depuis plusieurs décennies. Cette baisse d'incidence pourrait s'expliquer par la diminution de l'infection à Helicobacter pylori due à l'amélioration des conditions de vie et d'hygiène, la consommation des fruits et légumes, l'utilisation de la réfrigération comme méthode de conservation des aliments (Balakrishnan et al. 2017; Rawla and Barsouk 2019).

Contrairement aux cancers gastriques distaux, l'incidence des cancers gastriques du cardia est en augmentation en particulier dans les pays développés (Rawla and Barsouk 2019). L'obésité et le reflux gastro-œsophagien « RGO » avec métaplasie de Barrett sont les principaux facteurs incriminés pour expliquer cette augmentation de l'incidence des formes du cardia (Mayne and Navarro 2002 ; Corley, Kubo, and Zhao 2008).

Le cancer gastrique est la 4ème cause de décès par cancer dans le monde avec 768 793 décès en 2020 (7.7% de tous les décès liés au cancer), derrière les cancers du poumon (18%), colorectaux (9.4%) et du foie (8.3%) (Sung et al. 2021). Ce taux de mortalité élevé est dû au diagnostic tardif et à l'hétérogénéité biologique et génétique des tumeurs gastriques (Carrasco-Garcia et al. 2018). Les taux de mortalité sont les plus élevés en Asie de l'Est, Europe centrale et orientale et l'Amérique du sud, les mêmes régions à forte incidence (Bray et al. 2018).

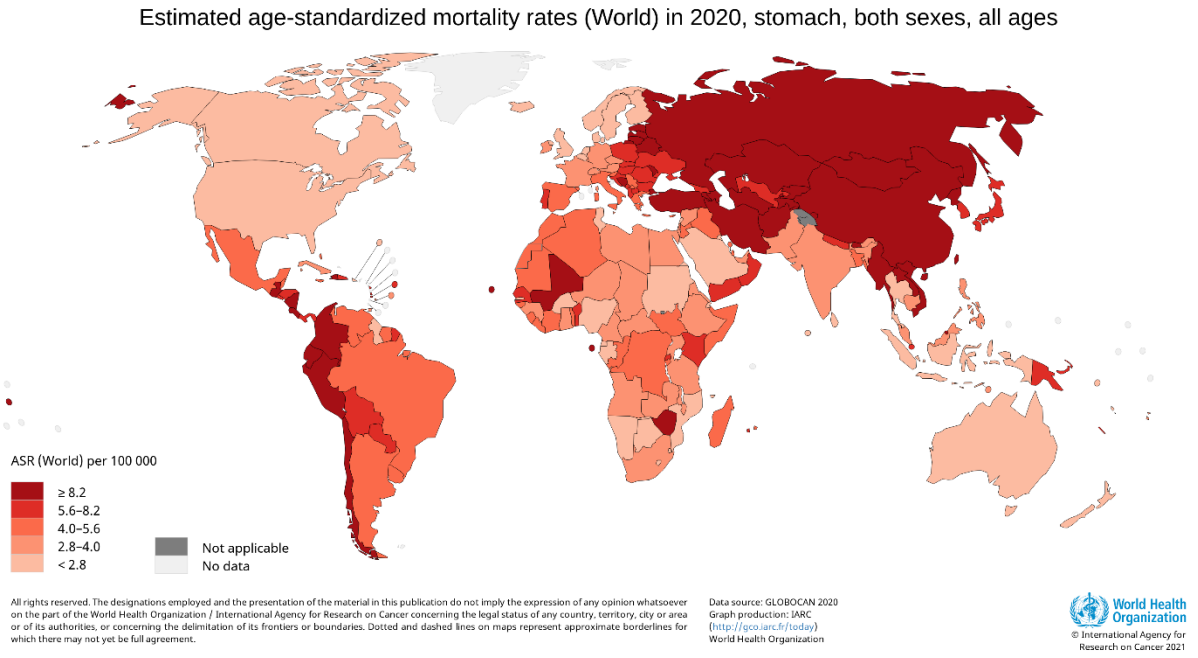


Figure 4: Mortalité du cancer gastrique dans le monde selon Globocan 2020 (http://gco.iarc.fr/today)

Au Maroc, les données sur le cancer existant actuellement sont ceux des registres du grand Casablanca, du registre de Rabat et quelques études sur une partie de la population marocaine. Selon le nouveau registre de la région du grand Casablanca, un total de 822 cas de cancer gastrique (3.4% des cas de l'ensemble des cancers) a été enregistré entre 2008 et 2012, soit une incidence brute de 4.1 pour 100 000 habitants (Benider et al. 2016). Dans la région de Fès Boulemane (Maroc), le cancer gastrique se situe au 2ème rang de l'ensemble des cancers digestifs après le cancer colorectal, il représente environ 30% des cancers digestifs dans cette région (Chbani et al. 2012). Selon les statistiques sur le cancer de GLOBOCAN 2020, le cancer gastrique est le 7ème cancer le plus fréquemment diagnostiqué (2294 nouveaux cas, soit 3.9% de tous les cancers) et la 3ème cause de décès par cancer (2016 décès, soit 5.7% de tous les décès liés au cancer) au Maroc (https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/504-morocco-fact-sheets.pdf).

2.2- Facteurs de risque

Le cancer gastrique est une pathologie complexe et multifactorielle, des facteurs environnementaux, génétiques et un certain nombre d'affections jouent un rôle dans son étiologie.

2.2.1- Facteurs environnementaux

Plusieurs facteurs environnementaux sont impliqués dans la survenue du cancer gastrique, les principaux étant l'infection à Helicobacter pylori, l'alimentation, le tabagisme et l'infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV).

2.2.1.1- Helicobacter pylori

L'infection à Helicobacter pylori (H. pylori), souvent acquise au cours de l'enfance et associée à un faible statut socio-économique, est reconnue comme le facteur de risque environnemental majeur pour le développement du cancer gastrique. H. pylori a été classée comme carcinogène de classe I pour le cancer gastrique depuis 1994 par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC/OMS). Bien que très répandue (plus de 50% de la population mondiale), cette infection n'est à l'origine d'un cancer que chez 1 à 3% de toutes les personnes infectées (Ahn and Lee 2015 ; Figura 2016).

La relation entre l'infection à H. pylori et le cancer gastrique est suggérée avant tout par des données épidémiologiques. En 1991, Parsonnet et al, dans une étude cas-témoins portant sur 109 patients atteints de cancer gastrique et 109 sujets témoins, ont montré que le taux d'infection à H. pylori était élevé chez les patients atteints de cancer gastrique (84% vs 61% pour les sujets témoins) et que l'Odds Ratio (OR) de développer un cancer gastrique chez les patients infectés était de 3.6 avec un intervalle de confiance à 95 % qui varie de 1.8 à 7.3 (Parsonnet et al. 1991).

Une étude prospective incluant 1526 patients japonnais (1246 patients infectés par H. pylori et 280 patients non infectés) suivis sur une période moyenne de 8ans (intervalle de 1 à 10 ans), a montré que 36/1246 (2.9%) patients infectés ont développé un cancer gastrique au cours de la période de suivi (vs 0% pour les patients non infectés) (Uemura et al. 2001).

Certaines populations, notamment en Afrique et en Asie du sud, présentent une forte prévalence de l'infection à H. pylori mais avec une faible incidence du cancer gastrique (Holcombe 1992; Zaidi 2016). Cette divergence de la réponse à l'infection à H. pylori est attribuée à une interaction entre les facteurs de virulence de la souche bactérienne (notamment les sous types CagA et VacA), les facteurs environnementaux (habitudes alimentaires), l'immunité et la génétique de l'hôte (Zaidi 2016).

Plusieurs études rapportent l'utilité de l'éradication de H. pylori pour une prévention du cancer gastrique, notamment en l'absence des lésions précancéreuses initiales (Wong et al. 2004 ; Lee et al. 2013 ; Lee et al. 2016 ; Leung et al. 2018 ; Saltzman 2019).

2.2.1.2- Alimentation

La consommation excessive de sel, souvent due aux méthodes traditionnelles de conservation des aliments (salaison) est associée à un risque accru de la survenue du cancer gastrique (D'Elia, Galletti, and Strazzullo 2014 ; Umesawa et al. 2016). Des études révèlent qu'une diète riche en sel provoque une gastrite atrophique ou une dysplasie, favorisant ainsi la carcinogenèse gastrique (Peleteiro et al. 2011 ; D'Elia et al. 2012 ; Fang et al. 2015 ; Song et al. 2017). Une consommation excessive du sel augmente le risque de développer un cancer gastrique par plusieurs mécanismes :

- Elle serait associée à une diminution de l'acidité gastrique, créant ainsi un milieu propice pour le développement de l'Helicobacter Pylori, qui est un puissant agent carcinogène (Gaddy et al. 2013).

- Elle contribue à la modification de la viscosité de la muqueuse protégeant la paroi gastrique, entraînant son exposition à de composés cancérigènes (les composés N-nitroso et les hydrocarbures aromatiques polycycliques).

- Elle peut agir comme un stimulant de la muqueuse gastrique, entraînant des réponses inflammatoires de l'épithélium gastrique, qui peuvent augmenter la synthèse de l'ADN et une prolifération cellulaire dans le cadre du processus de réparation, augmentant ainsi la probabilité de mutations endogènes (Wang, Terry, and Yan 2009 ; Fang et al. 2015).

L’utilisation du sel dans la conservation des aliments a été progressivement remplacée par la réfrigération. Cette évolution explique la diminution importante du nombre de cas de cancers gastriques diagnostiqués dans les pays développés depuis plusieurs décennies (D’Elia et al. 2012). Inversement, le rôle protecteur d’une alimentation riche en fruits et légumes ou en vitamine C a été suggéré dans de nombreuses études (Steevens et al. 2011 ; Gonzalez et al. 2012). Les antioxydants contenus dans ces aliments inhibent les radicaux libres potentiellement carcinogènes.

2.2.1.3- Tabagisme

Le tabagisme a été associé à un risque accru de cancer gastrique, qui augmente avec la fréquence et la durée du tabagisme. Des études ont rapporté que les fumeurs ont un risque élevé de développer un cancer de l’estomac dans le cardia (HR, 2.86 – 4.10) par rapport aux parties distales de l’estomac (HR, 1.52- 1.94) (Ladeiras-Lopes et al. 2008 ; Shikata et al. 2008 ; Nomura et al. 2012). Une autre étude a montré que le tabagisme augmente le risque d’être infecté par une souche plus virulente de H. pylori (H. pylori CagA+), et avec une charge bactérienne plus élevée (Santibáñez et al. 2015).

2.2.1.4- Infection par le virus d'Epstein-Barr (EBV)

Le virus d’Epstein-Barr (EBV) est détecté dans environ 10% des cancers de l’estomac (Shinozaki-Ushiku, Kunita, and Fukayama 2015). Une méta-analyse de 70 études, comprenant 15952 patients, a montré que le cancer gastrique associé à l’infection par EBV était plus fréquent chez les hommes, et se développait plus souvent dans le cardia et le corps que dans la région antrale (Murphy et al. 2009). Une méta-analyse récente de Tavakoli et al., incluant 71 études, a rapporté que l'infection par EBV augmentait plus de 18 fois le risque de cancer gastrique (Tavakoli et al. 2020).

2.2.2- Facteurs génétiques de l'hôte

Certains variants génétiques de l'IL-1β (L'interleukine-1β) et IL-1ra (antagoniste du récepteur de l'IL-1) sont impliqués dans la carcinogenèse gastrique par leur action modulatrice de la réponse inflammatoire. En effet, plusieurs études ont décrit que le polymorphisme des gènes codant pour l'IL-1β et l'IL-1ra sont associés à la présence d'une hypochlorhydrie chronique en réponse à l'infection par H. pylori et qu'ils étaient associés à la survenue d'un cancer gastrique (El-Omar et al. 2000 ; Machado et al. 2001 ; El-Omar et al. 2003 ; He et al. 2011 ; Oliveira, Duarte, and Silva 2012 ; Hong et al. 2016).

L'IL-1β est une cytokine pro-inflammatoire induite par une infection à H. pylori et est un inhibiteur puissant de la sécrétion d'acide gastrique. Ses effets favorisent l'hypochlorhydrie, favorisant la poursuite de la colonisation de H. pylori et la gastrite plus sévère (Camargo et al. 2006). Ainsi, les personnes porteuses des polymorphismes IL-1ß qui sont aussi colonisés par une souche virulente de H. pylori ont un risque accru de développer un cancer gastrique.

2.2.3- Syndromes de prédisposition héréditaire

Certains syndromes héréditaires peuvent augmenter le risque de cancer gastrique, ils sont rares et ne représentent que 1-3% des cancers gastriques (van der Post et al. 2019). Ces syndromes comprennent le cancer gastrique diffus héréditaire « CGDH », la polypose adénomateuse familiale « PAF », le syndrome de Lynch, le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Peutz-Jeghers « PJS » (Oliveira et al. 2015). Le CGDH est causé par une mutation du gène CDH1 aussi appelé gène E-cadhérine. Ce syndrome aboutit à un grand risque de développement de cancers gastriques, ces derniers sont de type diffus, et apparaissent à un âge jeune.

3- Symptômes cliniques et critères diagnostiques

3.1- Symptômes cliniques

Le cancer gastrique est souvent soit asymptomatique, soit symptomatique mais non spécifique dans les stades précoces. La présence des symptômes au moment du diagnostic est en faveur d'un cancer avancé et non curable. Plusieurs et différents symptômes sont associés à ce cancer, dont les plus fréquents sont l'épigastralgie, la dyspepsie, l'anorexie, les nausées, les vomissements et l'altération de l'état général. Une dysphagie ou une régurgitation peut survenir dans le cancer gastrique proximal ou dans le cancer de la jonction gastro-œsophagienne. L'anémie peut être présente dans les cas des cancers gastriques hémorragiques.

3.2- Critères diagnostiques

Le diagnostic initial de cancer gastrique est souvent tardif, puisque la plupart des patients sont asymptomatiques au cours des stades précoces. Ce cancer est diagnostiqué par examen endoscopique, au cours duquel la localisation de la tumeur dans l'estomac et son aspect macroscopique sont déterminés. Ainsi, des biopsies sont effectuées pour poser le diagnostic et le confirmer histologique.

L'approche thérapeutique, qu'elle soit curative ou palliative, est totalement dépendante de la stadification clinique, c'est ainsi que tous les patients doivent être classés selon la dernière édition de l'Union for International Cancer Control « UICC » et de l'American Joint Committee on Cancer « AJCC » (Smyth et al. 2016).En outre la prise en charge de chaque patient doit passer par une réunion de concertation pluridisciplinaire pour la prise de décision collégiale.

La tomodensitométrie « TDM » de l'abdomen et du thorax fournit des informations sur la présence de métastases dans le foie, les poumons ou le péritoine. L'échoendoscopie pourrait être utile pour différencier les cancers superficiels qui ne pénètrent pas au-delà de la sous-muqueuse (T1) ou de la muscularis propria (T2) des cancers avancés (T3–T4). L'avantage de cet examen clinique est la distinction entre les cancers T1 et T2 avec une sensibilité et une spécificité de 0.85 (IC à 95% 0.78–0.91) et 0.90 (0.85–0.93) pour T1et T2 respectivement (Mocellin and Pasquali 2015).

Le stade tumoral, la taille, la différenciation et la présence d'une ulcération peuvent être utiles pour identifier les patients aptes à une résection endoscopique. La TEP-TDM « TEP : Tomographie par émission de positons » peut être utile pour détecter les métastases occultes par CT-scanner « CT : Computed Tomography », mais elle est moins sensible dans les cancers de type mucineux ou diffus (Smyth et al. 2012).

La rechute péritonéale est fréquente chez les patients atteints d'un cancer gastrique réséqué, en particulier pour le type diffus. D'où la recommandation de la laparoscopie exploratoire avant la décision chirurgicale pour les tumeurs au stade 1B ou plus (Smyth et al. 2016).

La cytologie a sa place dans ce cancer. En effet, les patients ayant une cytologie positive lors d'un lavage péritonéal montrent des taux élevés de récidive après chirurgie ; bien que la conversion en cytologie négative après chimiothérapie puisse être associée à une meilleure survie (Jamel et al. 2018).

4- Histologie du cancer gastrique

Selon le type des cellules trouvées dans la paroi gastrique, on distingue plusieurs types de cancer gastrique : adénocarcinomes, lymphomes, tumeurs stromales gastro-intestinales, et tumeurs carcinoïdes. Le traitement ainsi que le pronostic dépendent du type de cancer gastrique.

- Adénocarcinomes : 90% à 95% des cancers gastriques sont classés adénocarcinomes. L'adénocarcinome est un type de cancer qui prend naissance dans le tissu glandulaire. Il provient du tissu glandulaire qui résulte d'une invagination du tissu épithélial tapissant les surfaces et les cavités des organes du corps. L'adénocarcinome gastrique prend naissance dans les cellules qui forment la couche la plus interne de l'estomac, précisément dans les cellules produisant du mucus.

- Lymphomes : Ce sont des cancers du tissu du système immunitaire que l'on retrouve parfois dans la paroi de l'estomac. Les lymphomes de l'estomac sont plutôt rares et ne représentent qu'environ 4% de l'ensemble des cancers gastriques.

- Tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) : Ces types de tumeurs se forment à partir de cellules de la paroi gastrique appelées cellules interstitielles de Cajal, un type de tissu musculaire lisse. Certaines de ces tumeurs sont non cancéreuses (bénignes) ; d'autres sont cancéreuses et peuvent se retrouver n'importe où dans le tube digestif, mais la plupart sont localisées dans l'estomac.

- Tumeurs carcinoïdes : C'est un type rare de cancer à croissance lente qui prend naissance dans les cellules hormonales de l'estomac. Ces tumeurs ne se propagent dans d'autres organes et ne représentent qu'environ 3% de tous les cancers de l'estomac.

4.1. Classification histologique des adénocarcinomes gastriques

4.1.1. Classification de Lauren

Depuis sa mise en place en 1965, la classification de Lauren est l'une des plus couramment utilisées dans les cancers gastriques. Cette classification, basée sur les critères histologiques, architecturaux et des critères de mode d'extension, permet de diviser les cancers gastriques en deux types majeurs, intestinal et diffus (Lauren 1965).

Le type intestinal (53%) est constitué de cellules tumorales bien différenciées formant des structures glandulaires, généralement bien délimitées en périphérie (Figure 5). Il se développe lentement et est souvent précédée d'une phase précancéreuse prolongée, associée à une gastrite atrophique sévère avec métaplasie intestinale. Il affecte plus souvent les personnes âgées et est plus fréquemment observé chez les hommes.

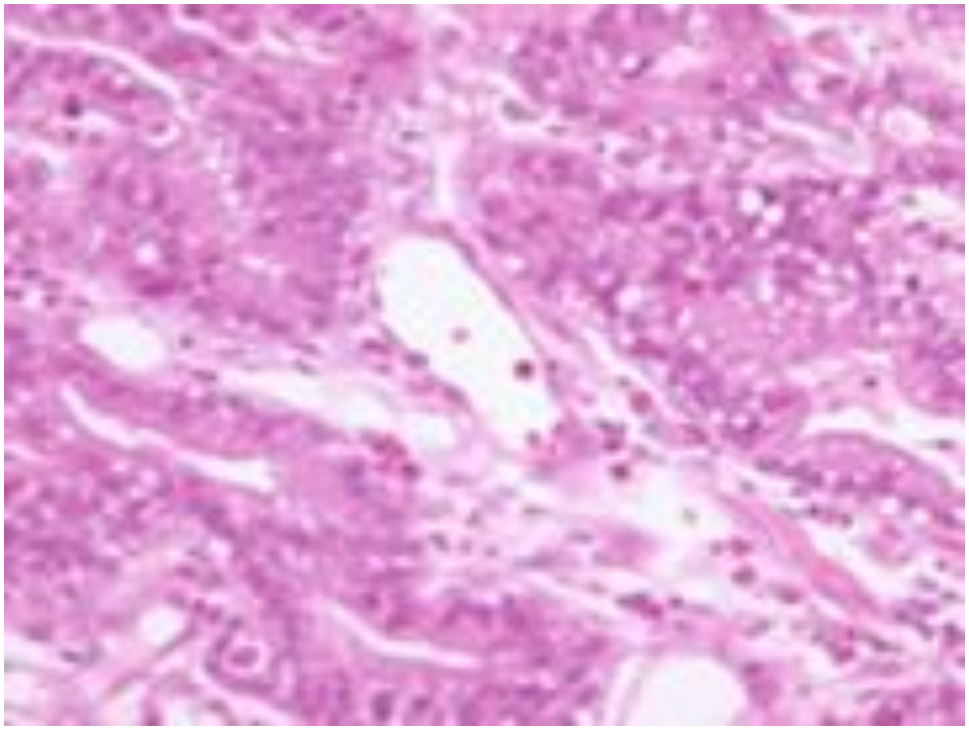


Figure 5: Cancer gastrique de type intestinal (Konishi et al. 2016)

Le type diffus (32%) est composé de cellules tumorales peu différenciées qui s'étendent plus ou moins diffusément dans la paroi gastrique. Ce type est caractérisé par une infiltration muqueuse de cellules tumorales comportant un cytoplasme rempli de mucine et un noyau excentré, leur donnant un aspect de cellules en bague à chaton (Figure 6). Il survient fréquemment chez les patients jeunes et forme des métastases plus rapidement que les cancers gastriques de type intestinal. Les cancers gastriques diffus sont très agressifs et affectent autant l'homme que la femme.

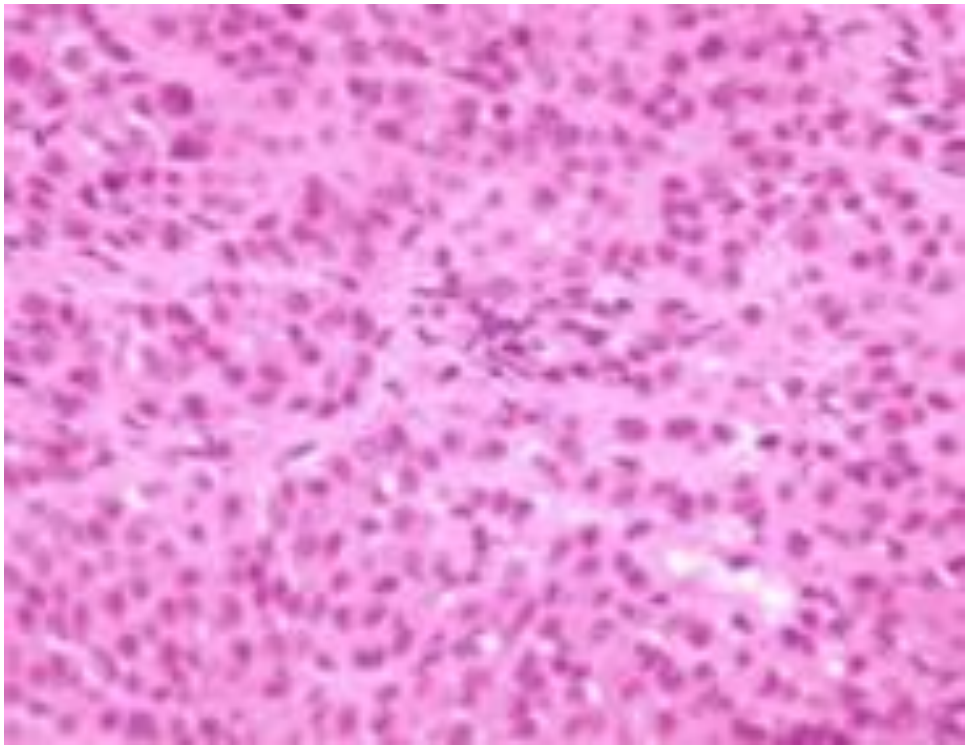


Figure 6: Cancer gastrique de type diffus (Konishi et al. 2016)

La classification de Lauren comporte un troisième type dit mixte ou inclassable (15%), qui associe les deux aspects (intestinal et diffus).

4.1.2. Classification de l'OMS 2010

La classification de l'OMS, est basée essentiellement sur des critères morphologiques et permet de distinguer quatre types : adénocarcinomes papillaires, tubulaires, mucineux et à cellules indépendantes (Bosman et al. 2010). Cette classification est moins communément utilisée car elle n'a aucune implication thérapeutique.

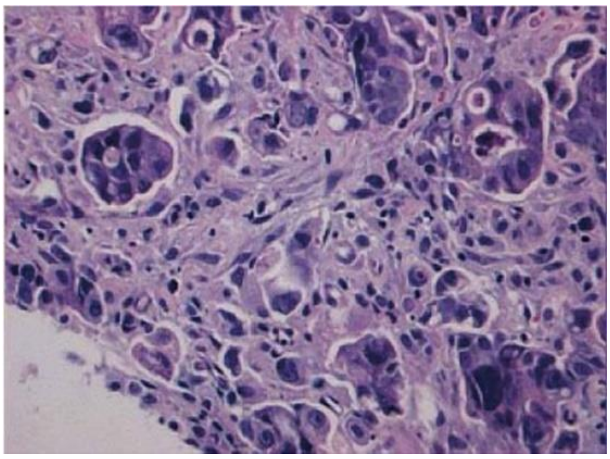


Figure 7: Adénocarcinome micropapillaire : Petits amas papillaires de cellules tumorales dépourvus de noyau microvasculaire et entourés d'espaces vides (Hu et al. 2012).

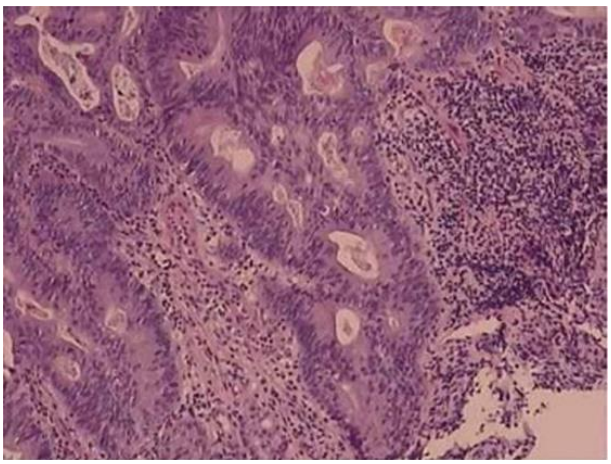


Figure 8: Adénocarcinome tubulaire : Glandes néoplasiques de forme irrégulière et fusionnées avec mucus et débris intraluminaux (Hu et al. 2012).

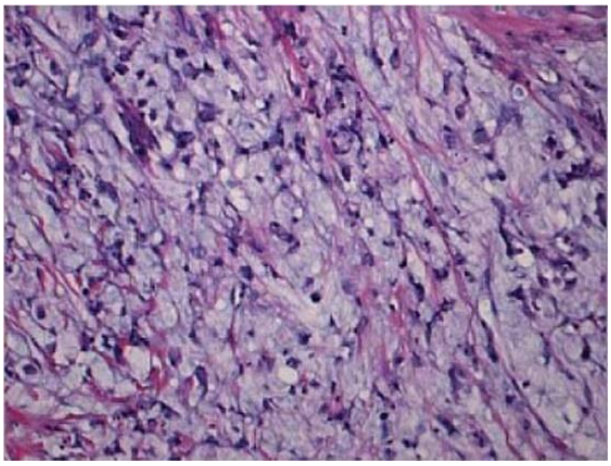


Figure 9: Adénocarcinome mucineux : Cellules tumorales dispersées ou en amas flottant dans la mucine extracellulaire (Hu et al. 2012).

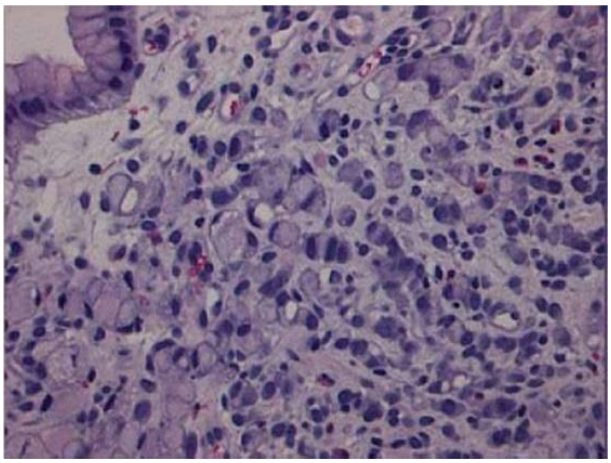


Figure 10: Carcinome à cellules en bague à chaton : Les cellules en bague à chaton sont principalement au niveau de la lamina propria superficielle (Hu et al. 2012).

4.2- Classification TNM

La classification TNM est un système international de classement des cancers selon leur extension anatomique. En fonction de l'évolution de la connaissance des tumeurs et des différentes études sur la corrélation entre un stade TNM et la survie des patients, cette classification est régulièrement mise à jour, la dernière étant la 8ème édition en 2017.

Elle mesure la propagation des cellules cancéreuses sur le site de la tumeur primitive (T), dans les ganglions lymphatiques périphériques (N, pour nodules) et à distance pour une éventuelle dissémination métastatique (M).

Trois types de classification TNM sont proposés : cTNM, pTNM et yTNM. La cTNM est une classification clinique qui se base sur les données pré-thérapeutiques, résultat de l'imagerie, de l'endoscopie, de biopsies, de l'exploration chirurgicale et des autres examens complémentaires. La pTNM est une classification histologique qui se base sur les résultats de l'examen histopathologique après une chirurgie. On parle de yTNM lorsque la classification TNM (cTNM ou pTNM) est effectuée durant ou après traitement néoadjuvant.

La classification TNM s'est imposée car elle constitue le meilleur facteur pronostique utilisé en clinique aujourd'hui (Yaprak 2019). Une classification précise du stade de la tumeur est cruciale pour l'évaluation pronostique et la prise de décision de la stratégie thérapeutique qui est spécifique au stade tumoral (Dicken et al. 2005).

Le système de stadification TNM de l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) pour le cancer gastrique a été révisé à plusieurs reprises au cours des trois dernières décennies (Hermanek and Sobin 1987; Sobin and Fleming 1997 ; *Frederick et al.*2002).

T : Tumeur primitive

Tx : Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive

T0 : Pas de tumeur primitive

Tis : Carcinome in situ : tumeur intra-épithéliale sans invasion de la lamina propria, dysplasie de haut grade

T1 : envahissement de la lamina pro pria, la muscularis mucosae ou de la sous-muqueuse,

T1a : Tumeur envahissant la lamina propria ou la muscularis mucosae

T1b : Tumeur envahissant la sous-muqueuse

T2 : Tumeur envahissant la musculeuse

T3 : Tumeur envahissant la sous-séreuse, le tissu conjonctif sans envahissement des structures adjacentes ou du péritoine viscéral,

T4 : Tumeur envahissant la séreuse (péritoine viscéral) ou des structures adjacentes,

T4a : Tumeur perforant la séreuse

T4b : Tumeur envahissant les structures adjacentes

N : Adénopathies régionales

Nx : Renseignements insuffisants pour classer les adénopathies

N0 : Pas de signe d'atteinte des ganglions lymphatiques régionaux

N1 : Envahissement de 1 à 2 ganglions lymphatiques régionaux

N2 : Envahissement de 3 à 6 ganglions lymphatiques régionaux

N3 : Envahissement de plus de 7 ganglions lymphatiques régionaux

N3a : Envahissement de 7 à 15 ganglions lymphatiques régionaux

N3b : Envahissement de 16 ou plus ganglions lymphatiques régionaux

M : Métastases à distance

Mx : Renseignements insuffisants pour classer la (les) métastase(s) à distance

M0 : Pas de métastases à distance

M1 : Présence de métastase(s) à distance

Tableau 1: Classification TNM 8ième édition 2017 (Gonzalez RS. 2021)

Stade		T	N	M
Stade 0		Tis	N0	M0
Stade I	Stade IA	T1	N0	
	Stade IB	T1	N1	
		T2	N0	
Stade II	Stade IIA	T1	N2	
		T2	N1	
		T3	N0	
	Stade IIB	T1	N3a	
		T2	N2	
		T3	N1	
		T4a	N0	
Stade III	Stade IIIA	T2	N3a	
		T3	N2	
		T4a	N1	
		T4a	N2	
		T4b	N0	
	Stade IIIB	T1	N3b	
		T2	N3b	
		T3	N3a	
		T4a	N3a	
		T4b	N1	
		T4b	N2	
	Stade IIIC	T3	N3b	
		T4a	N3b	
		T4b	N3a	
		T4b	N3b	
Stade IV		Tout T	Tout N	M1

5- Mécanismes de la carcinogenèse gastrique

Il existe deux types histologiques du cancer gastrique (intestinal et diffus) différents l'un de l'autre de point de vue morphologique, clinique et épidémiologique. Le cancer gastrique diffus est composé de cellules tumorales individuelles infiltrantes qui ne forment pas de structures glandulaires. Le cancer gastrique intestinal est composé de cellules tumorales bien différenciées, qui ont tendance à former des glandes, et sont associées à une métaplasie intestinale de la muqueuse gastrique.

La carcinogenèse gastrique est un processus complexe et multifactoriel impliquant un certain nombre de facteurs étiologiques et de multiples altérations génétiques et épigénétiques. Le modèle de la carcinogenèse gastrique communément connu est celui proposé par Correa (Correa 1992) et ne s'applique qu'au cancer gastrique de type intestinal. Cette carcinogénèse est le résultat d'une évolution séquentielle allant de la gastrite chronique au cancer via l'atrophie gastrique, la métaplasie intestinale et la dysplasie, connue sous le nom de la cascade de Correa. Pour le mécanisme de développement du cancer gastrique diffus, il n'est pas encore clairement établi et il s'avère donc que les voies de la carcinogenèse sont différentes d'un type à l'autre.

L'atrophie gastrique : est due essentiellement à une d'inflammation chronique de la muqueuse, conduisant à une perte de cellules glandulaires gastriques. L'atrophie gastrique peut être légère (avec réduction de moins d'un tiers des glandes) ou sévère (avec réduction des deux tiers des glandes).

La métaplasie intestinale : Elle se produit lorsque la muqueuse gastrique change et ressemble davantage à une muqueuse de type intestinal. On distingue la métaplasie intestinale complète (métaplasie de type grêle) et la métaplasie intestinale incomplète (métaplasie de type colique). Le risque de cancer gastrique est élevé dans le cas de métaplasie intestinale « type incomplet » que la métaplasie intestinale « type complet ».

Dysplasie et cancer superficiel : Elle est définie par une altération dans l'architecture glandulaire associée à des troubles de la différenciation cellulaire sans signes d'infiltration néoplasique. Le passage de la gastrite chronique au cancer gastrique est favorisé par plusieurs facteurs environnementaux et génétiques. En effet, seul 1% des individus ayant une gastrite chronique développe un cancer gastrique (Kuipers 1999).

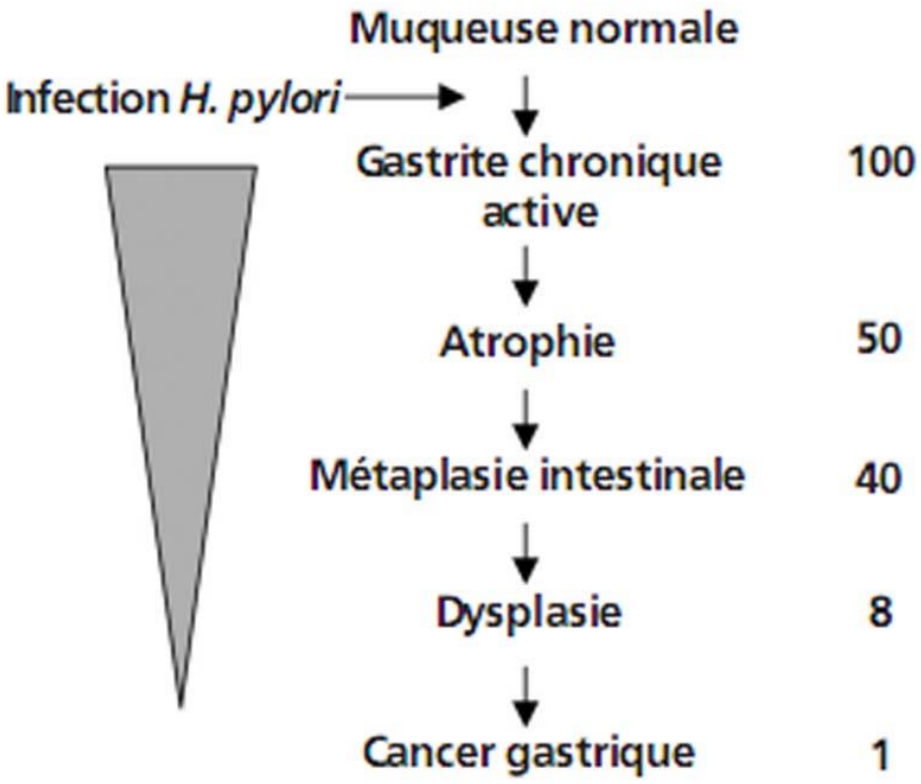


Figure 11: Cascade de Correa : Modèle de progression histologique conduisant au cancer gastrique de type intestinal (Lamarque 2008 ; Huang et al. 2019).

6- Biomarqueurs moléculaires des cancers gastriques

6.1- Récepteur-2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2)

6.1.1- Biologie du récepteur HER2 et voie de signalisation cellulaire

La famille des récepteurs membranaires HER « Human Epidermal growth factor Receptor » comporte 4 membres : HER1 (EGFR), HER2, HER3 et HER4 (Moasser 2007). Ces quatre récepteurs ont une structure primaire très semblable, composée de 3 domaines : un domaine de fixation du ligand extracellulaire riche en cystéine, un domaine transmembranaire lipophile et un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase (Perrier et al. 2018). Le récepteur HER2 se distingue des autres (HER1, HER3 et HER4) par la conformation particulière de son domaine extracellulaire qui est dépliée de façon permanente, ce qui permet l'exposition de son bras de dimérisation et assure son activation. Cette conformation chimique favorise et privilégie son hétérodimérisation (Gutierrez and Schiff 2011 ; Iqbal and Iqbal 2014).

La surexpression du récepteur HER2, notamment dans certains cancers y compris le cancer gastrique, peut entrainer la formation d'homodimères conduisant ainsi à son activation en absence du ligand (Zhou and Agazie 2012). La dimérisation du récepteur HER2 (homodimère ou hétérodimère) entraine l'activation de son domaine intracellulaire par autophosphorylation des résidus tyrosines spécifiques dans le domaine catalytique, puis le recrutement des protéines de signalisation capables de reconnaitre des résidus tyrosine phosphorylés. Ces événements vont entrainer l'activation des voies de signalisation en aval, telles que la voie des MAP kinases « Mitogen-Activated Protein » impliquée dans la prolifération cellulaire « RAS/RAF/MAPK », la voie des PI3 kinases « Phosphatidylinositol-3 » impliquée dans la survie et l'angiogenèse (PI3K/AKT/mTOR) et celle de la phospholipase C (Figure 12) (Iqbal and Iqbal 2014).

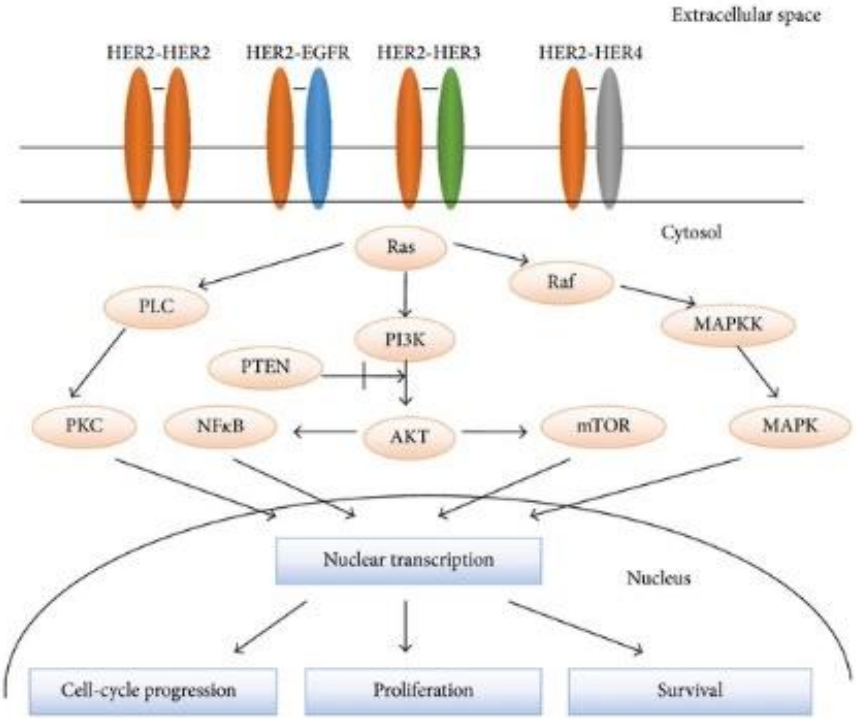


Figure 12: Les différentes voies de signalisation médiées par le récepteur HER2 (Iqbal and Iqbal 2014)

6.1.2- HER2 et Cancer gastrique

La surexpression du récepteur HER2, résultant d'une amplification génique a été identifiée pour la première fois en 1987 dans le cancer du sein (Slamon et al. 1987). La surexpression protéique HER2 joue un rôle important dans la prolifération, l'apoptose, l'adhérence, l'angiogenèse et l'agressivité de nombreuses tumeurs y compris les tumeurs gastriques (Kaur and Dasanu 2011). La surexpression protéique ou l'amplification génique du marqueur HER2 a été détectée dans 7-34% des adénocarcinomes gastriques (Rüschoff et al. 2012).

Plusieurs études ont rapporté l'activité antitumorale du trastuzumab (anticorps dirigé contre le domaine extracellulaire de la protéine HER2) dans les cancers gastriques surexprimant le récepteur HER2 (Matsui et al. 2005 ; Fujimoto-Ouchi et al. 2007). Une étude de phase III ToGA « Trastuzumab for Gastric Cancer » a évalué l'apport du trastuzumab dans le traitement des adénocarcinomes gastriques ou de la jonction oeso-gastrique « JOG » avancés HER2+.

Les résultats de l'étude ont montré que l'association du trastuzumab à la chimiothérapie augmentait significativement la survie globale par rapport à la chimiothérapie seule (13.8 vs 11.1 mois ; HR 0.74 ; IC 95 % : 0.60-0.91 ; p=0.0046) (Bang et al. 2010). D'où l'autorisation de mise sur le marché « AMM » dans le traitement d'adénocarcinome gastrique métastatique ou de la JOG surexprimant le récepteur HER2.

En outre, d'autres études ont montré que la surexpression du marqueur HER2 est associée aux formes agressives de ce cancer (Jørgensen and Hersom 2012 ; Aguiar Junior, Artigiani Neto, and Forones 2016 ; Lei et al. 2017). Ainsi, la détermination du statut HER2 est recommandée pour une éventuelle thérapie ciblée et pour l'évaluation du pronostic.

6.2- Voie de signalisation PD-L1 et son intérêt dans le cancer gastrique

PD-1 (*Programmed cell death protein 1*) est également connu sous le nom de CD279 (*cluster of differentiation 279*). C'est un récepteur transmembranaire de la famille des immunoglobulines, encodé par le gène PDCD1 situé sur le chromosome 2. Il est exprimé à la surface des lymphocytes T CD4+, T CD8+, T natural killer (TNK), les cellules B et les monocytes activés (Larsen, Appay, and Sauce 2013).

Ce récepteur possède deux ligands, PD-L1 et PD-L2 (*Programmed Death-Ligand 1/2*). PD-L1, également appelé CD274 (*Cluster of Differentiation 274*) ou B7H1 (*B7 Homolog 1),* est exprimé à la fois dans les cellules tumorales et dans les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral, sous l'effet des signaux inflammatoires (interféron, interleukines,…), de l'hypoxie et des processus d'oncogenèse (Ostrand-Rosenberg, Horn, and Haile 2014). PD-L2 est quant à lui, principalement exprimé par les macrophages, les cellules dendritiques et faiblement retrouvé dans les cellules tumorales (Solinas et al. 2020).

L'expression de PD-L1, qu'elle soit constitutive ou induite (Figure 13), permet aux cellules tumorales d'inhiber la réponse immunitaire anti-tumorale. L'expression constitutive de PD-L1 dans les cellules tumorales, se développe par mutations génomiques conduisant à l'activation de différentes voies de signalisation oncogéniques (à titre d'exemple, activation de la voie PI3K-AKT par perte de PTEN) (Ju et al. 2020).

L’expression induite de PD-L1 est due à la production de molécules inflammatoires (en particulier l’interféron gamma IFN-γ) pour limiter l’activation des lymphocytes T et éviter une réponse immune excessive (Mimura et al. 2018 ; Imai et al. 2020). Cela pourrait expliquer la forte association observée entre l’expression de PD-L1 et l’abondance de l’infiltrat de CTL (*Cytotoxic T Lymphocytes*) (Wang et al. 2018).

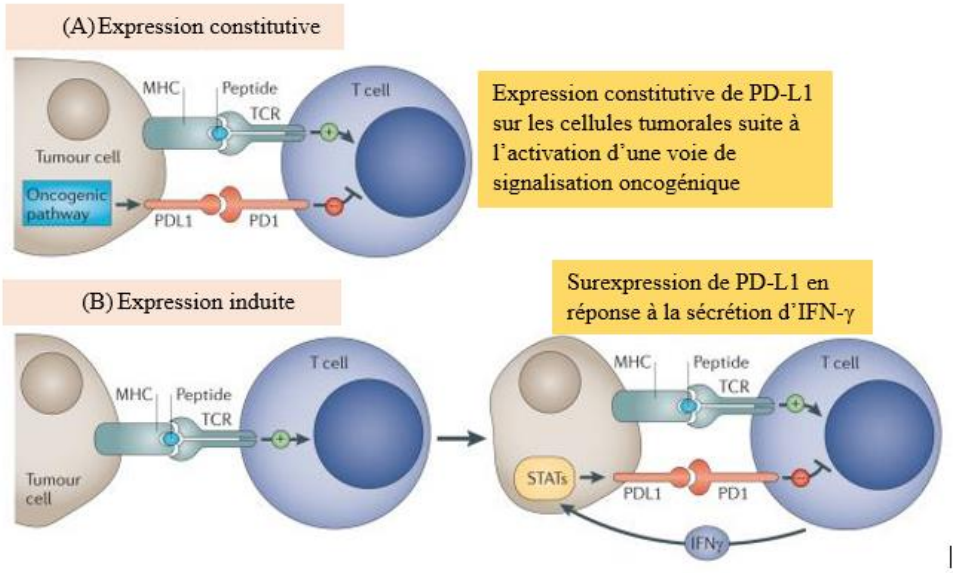


Figure 13: Deux mécanismes généraux d'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales (Pardoll 2012)

L’interaction du récepteur PD-1 des lymphocytes T avec son ligand PD-L1 (exprimé par les cellules tumorales) conduit à l’inactivation des lymphocytes T et à la non destruction des cellules tumorales (Figure 14). Il en résulte alors un état d’épuisement des lymphocytes T (*T cell exhaustion*), ce qui favorise leur apoptose permettant ainsi aux cellules tumorales de se développer après échappement à la surveillance du système immunitaire (Figueroa-Protti et al. 2019).

Les chercheurs scientifiques ont développé des molécules inhibitrices des points de contrôle immunitaire, capables de se lier avec PD1 ou PD-L1 pour bloquer leur interaction, restaurer la fonction du système immunitaire et de reconnaitre puis détruire les cellules tumorales. Ainsi, l'immunothérapie est devenue, actuellement, l'une des voies les plus prometteuses dans le traitement du cancer gastrique grâce à l'émergence de ces inhibiteurs des points de contrôle immunitaire (Magalhães, Fontes-Sousa, and MacHado 2018 ; Akyala, Verhaar, and Peppelenbosch 2018 ; Brar and Shah 2019).

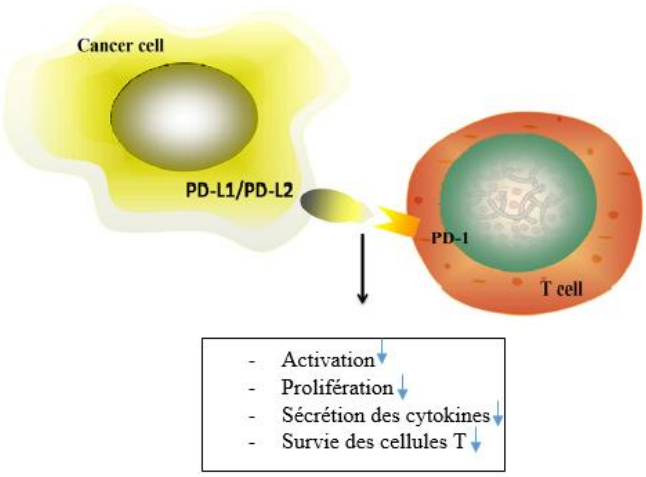


Figure 14: L'axe PD-1/PD-L1 inhibe l'activation, la prolifération, la survie et la sécrétion cytotoxique des cellules T dans les cellules cancéreuses (Han, Liu, and Li 2020).

Le pembrolizumab (anti-PD1) a eu l'AMM pour le traitement de plusieurs types de cancers, y compris le cancer gastrique (Fashoyin-Aje et al. 2019). Par ailleurs, des essais cliniques sont en cours pour évaluer l'efficacité d'autres inhibiteurs des points de contrôle immunitaire (immune checkpoints inhibitors), notamment le nivolumab (anti-PD-1), l'avelumab (anti-PD-L1), le durvalumab (anti-PD-L1) et le tremelimumab (anti-CTLA4) (Kelly et al. 2020 ; Chen et al. 2020 ; Moehler et al. 2021).

Il est à noter que l'essai de phase II, ONO-4538, et l'essai de phase III, ATTRACTION-2, ont montré que l'administration du nivolumab est associée à une amélioration de la survie globale des patients atteints du cancer gastrique (Kang et al. 2017), ce qui a conduit à son approbation au Japon pour le traitement du cancer gastrique avancé qui a récidivé après chimiothérapie (https://ascopost.com/News/58104).

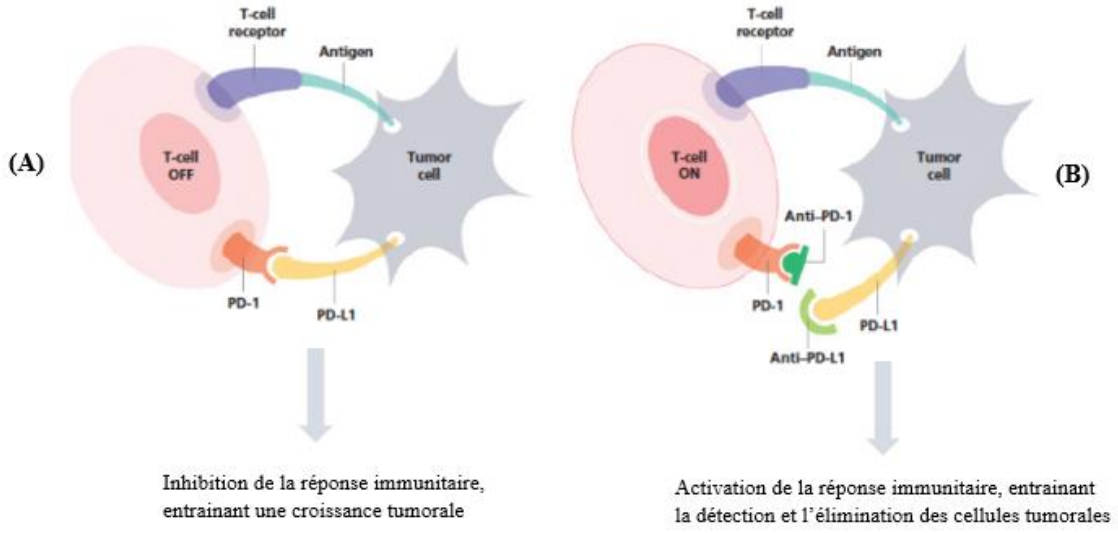


Figure 15: Signalisation PD-1/PD-L1 dans la réponse immunitaire antitumorale : ***(A)*** *Inhibition de la réponse des lymphocytes T et évasion immunitaire de la cellule tumorale suite à l'interaction PD-1/PD-L1 ;* ***(B)*** *Activation de la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T avec l'utilisation d'anticorps anti-PD1 et anti-PDL1 pour bloquer l'interaction PD-1/ PD-L1 (http://www.personalizedmedonc.com/publications/faculty-perspectives/faculty-perspectives-rationale-for-pd-l1-expression-as-a-biomarker-in-immuno-oncology/as-a-biomarker-in-immuno-oncology/).*

6.3- Protéine p53 et cancer gastrique

C’est une phosphoprotéine nucléaire de 53kDa, composée de 393 acides aminés et codée par le gène TP53 localisé sur le bras court du chromosome 17 (17p13). La p53 est un facteur de transcription nucléaire qui régule l’expression de nombreux gènes cibles impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire et/ou l'apoptose (Chen 2016).

Dans des conditions normales, la p53 cytosolique est faiblement exprimée, cela est dû à la dégradation protéasomale médiée en grande partie par l'ubiquitine ligase MDM2 (Ozaki and Nakagawara 2011). Dans des conditions de stress, la p53 est phosphorylée et acétylée, ce qui la dissocie du MDM2 et permet son passage et son accumulation dans le noyau cellulaire (Inoue et al. 2005). La p53 nucléaire agit activement en cas d’endommagement de l’ADN, en mettant en jeu des systèmes de réparation après arrêt du cycle cellulaire (Figure 16). Le taux de p53 revient à la normale et le cycle cellulaire reprend son activation si l’ADN est réparé. En revanche, lorsque l’ADN a subi de graves endommagements, la p53 déclenche la voie pro-apoptotique pour éliminer les cellules affectées. Ainsi, la p53 a la capacité de maintenir l'intégrité génomique de la cellule et de ses composantes. C’est pour cette raison qu’elle est généralement nommée « gardienne du génome » (Lane 1992).

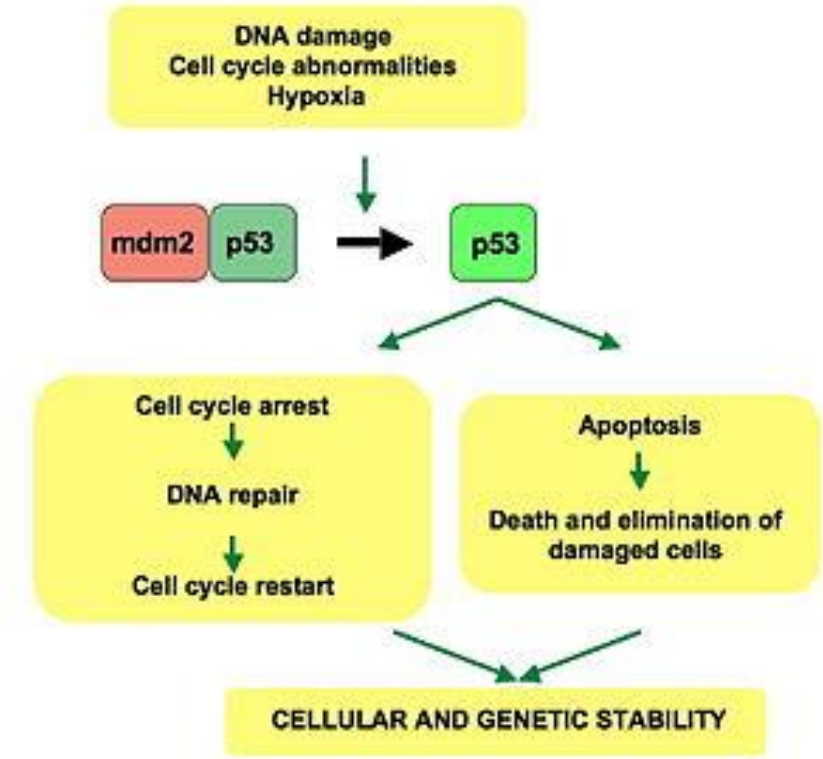


Figure 16: Voies de signalisation de la p53 : Dans une cellule normale, p53 est inactivée par son régulateur négatif, mdm2. Lors de dommages à l'ADN ou d'autres contraintes, diverses voies conduiront à la dissociation du complexe p53 et mdm2. Une fois activé, la p53 induira un arrêt du cycle cellulaire pour permettre soit la réparation de l'ADN, soit l'apoptose pour éliminer la cellule endommagée (Abd Elhameed et al. 2018).

L'inactivation mutationnelle est l'un des mécanismes moléculaires les plus courants derrière le dysfonctionnement de p53. Plus de 50% des cancers humains présentent des mutations inactivatrices du gène *TP53*, y compris le cancer gastrique (Olivier, Hollstein, and Hainaut 2010 ; Perri, Pisconti, and Vittoria Scarpati 2016). La réactivation de p53 est considérée comme une stratégie à explorer pour le traitement du cancer (Zawacka-Pankau and Selivanova 2015).

6.4- Voie de signalisation E-cadhérine et son implication dans le cancer gastrique

6.4.1- Structure et fonction de la protéine E-cadhérine

La E-cadhérine est une glycoprotéine transmembranaire codée par le gène CDH1, lui-même localisé sur le bras long du chromosome 16 (16q 22.1) humain (Carneiro et al. 2012 ; Anbiaee et al. 2013). C'est est une molécule d'adhésion cellulaire qui joue un rôle majeur dans l'organisation de l'architecture épithéliale, le maintien de la polarité et de la différenciation cellulaire (Xin Liu and Chu 2014). Elle fait partie de la sous-famille des cadhérines classiques et sa structure est composée de 3 domaines : extracellulaire, transmembranaire et cytoplasmique. En présence d'ions calcium, les domaines extracellulaires des molécules E-cadhérine des cellules adjacentes interagissent pour former une jonction cellulaire (Figure 17). La partie cytoplasmique contient le domaine de fixation à la β-caténine, qui à son tour se lie à l'α-caténine, servant d'intermédiaire reliant la E-cadhérine aux filaments d'actine du cytosquelette (Mège and Ishiyama 2017).

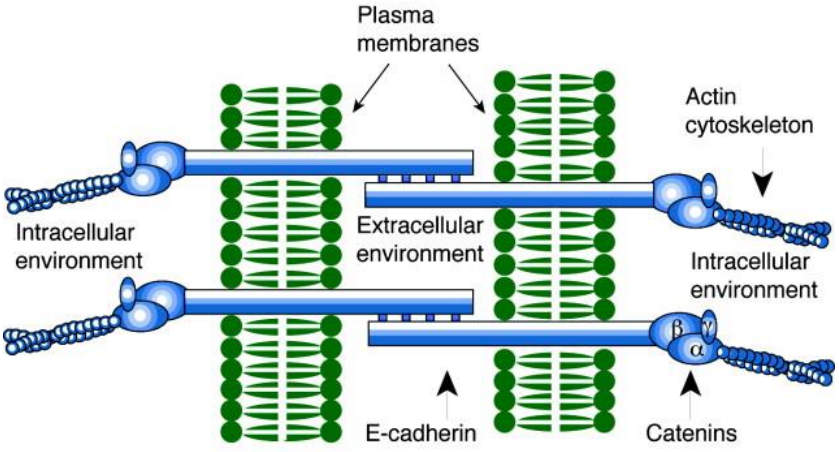


Figure 17: Mécanisme de l'adhésion de deux cellules adjacentes médiée par les protéines E-cadhérines (Senior 1998).

Le complexe cadhérine-caténine pourrait moduler diverses voies de signalisation impliquées dans la carcinogenèse gastrique, y compris la voie Wnt, la voie des Rho GTPases, la voie NF-κB, la voie de l'EGFR et la voie Rac-MAPK (Figure 18) (Howard et al. 2011 ; Gaojian Luo et al. 2016).

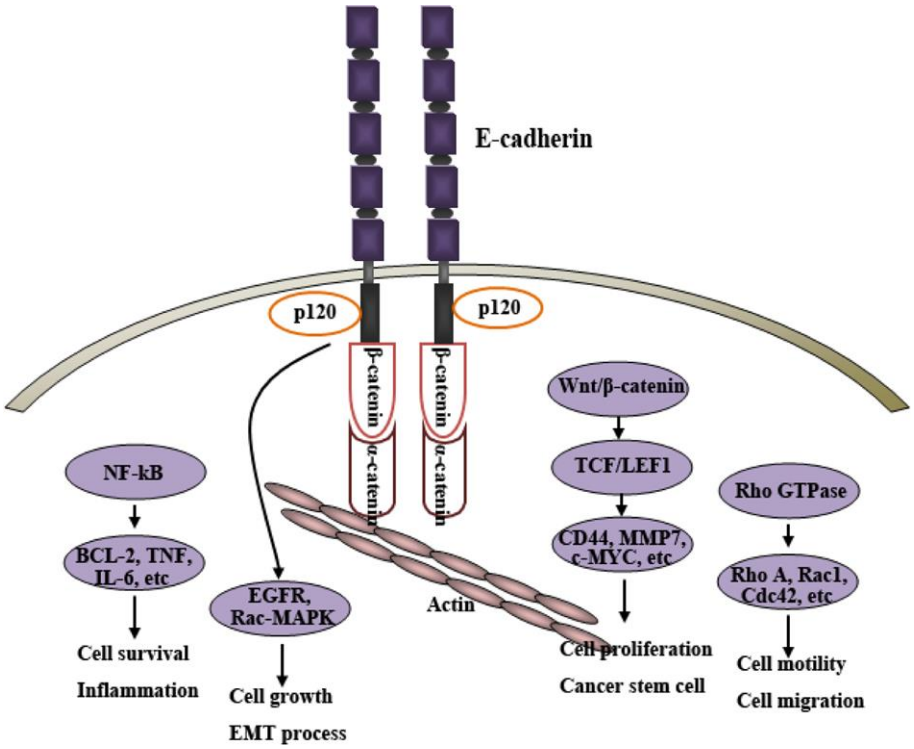


Figure 18: Les différentes voies de signalisation régulées par la protéine E-cadhérine (Gaojian Luo et al. 2016).

La perte d'expression de la protéine E-cadhérine induit une perte des jonctions entre les cellules et donc une faible adhérence cellulaire, ce qui facilite la migration et l'invasion des cellules tumorales vers les tissus adjacents et/ou les organes à distance (Na et al. 2020).Par ailleurs, la perte de fonction de la protéine E-cadhérine stimule les signaux actifs qui initient la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), qui est un phénomène réversible par lequel les cellules épithéliales se dédifférencient et passent sous une forme mésenchymateuse plus mobile (Thiery and Sleeman 2006 ; Xin Liu and Chu 2014).

Les cellules en TEM perdent leur propriété adhésive, leur polarité cellulaire et acquièrent une grande plasticité et une capacité à quitter le tissu épithélial pour migrer vers un site distant. Elle constitue un processus nécessaire à la dissémination et à l'implantation dans les organes distants (formation des métastases) (Tsai and Yang 2013 ; Banyard and Bielenberg 2015 ; Carrizo 2017).

6.4.2- Mutations du gène CDH1 et cancer gastrique diffus héréditaire

Le cancer gastrique héréditaire « CGDH » est un syndrome à prédisposition génétique, hérité selon un modèle autosomique dominant. Les cancers survenant selon ce syndrome représentent 1 à 3 % de l'ensemble des cancers gastriques qui sont généralement de type diffus et sont également associés à un risque élevé de la survenue du cancer du sein lobulaire (Mi et al. 2018 ; Blair et al. 2020). Ces cancers diffus surviennent à un âge précoce (avant 40 ans), sont caractérisés par une pauvre différenciation cellulaire et par une présence de cellules en « bague à chaton ».

Génétiquement, le syndrome du CGDH est causé par une mutation constitutionnelle du gène CDH1 (codant pour la protéine E-cadhérine), toutefois des mutations du gène CTNNA1 (codant pour l'α-caténine) sont également retrouvées dans une minorité des patients atteints de ce syndrome (Majewski et al. 2013 ; Luo et al. 2018 ; Blair et al. 2020).

Selon les recommandations internationales, une consultation d'oncogénétique à la recherche des mutations du gène CDH1 doit être réalisée au sein des familles á haut risque présentant les critères cliniques suivants (van der Post et al. 2015) :

- La présence d'au moins deux cas de cancer gastrique (quel que soit l'âge de survenue) chez des apparentés au premier ou au second degré, dont l'un au moins est de type histologique diffus,

- La présence d'un cas de cancer gastrique diffus avant l'âge de 40 ans,

- La présence d'une agrégation personnelle ou familiale de cancer gastrique diffus et de cancer du sein lobulaire, dont l'un au moins est diagnostiqué avant l'âge de 50 ans.

Compte tenu du mauvais pronostic de ces cancers héréditaires, une gastrectomie totale prophylactique est proposée aux personnes présentant à l'un des critères cliniques cités ci-dessus et porteurs de la mutation du gène CDH1 (van der Post et al. 2015).

6.5- L’antigène Ki-67

Le Ki-67 a été décrit pour la première fois dans les noyaux de cellules de lymphome de Hodgkin (Gerdes et al. 1983). C’est une protéine nucléaire non histone, codée par le gène MKi67 qui est localisé sur le chromosome 10q25. Cette protéine « Ki-67 » est présente pendant toutes les phases actives du cycle cellulaire (G1, S, G2 et mitose), mais absente pendant la phase quiescente (G0). Cette caractéristique a fait du Ki-67 un marqueur cliniquement important pour estimer le taux de prolifération des cellules tumorales (Li et al. 2015 ; Sun and Kaufman 2018). En effet, elle est impliquée dans la biogenèse de l’ARN ribosomal et dans la régulation de la chromatine lors de la division cellulaire (Rahmanzadeh et al. 2007).

L’expression du Ki-67 varie considérablement durant les différentes phases du cycle cellulaire (G1, S, G2 et M) et elle est maximale pendant la phase de mitose (Sobecki et al. 2017). Par contre, elle est dégradée lorsque la cellule arrête sa prolifération. Pendant l’interphase, le Ki-67 est détecté exclusivement dans les fibres denses du nucléole, tandis que dans la mitose, la plupart du ki-67 est déplacé à la surface des chromosomes (Cuylen et al. 2016 ; Penault-Llorca, Bayol, and Radosevic-Robin 2017).

La détection nucléaire du Ki-67 par immunomarquage, dans les cellules tumorales, permet l’évaluation de l’activité prolifération de ces cellules (un index Ki-67 élevé indique que les cellules cancéreuses se divisent rapidement). La valeur pronostique de Ki-67 n'est pas clairement établie dans le cancer gastrique. Cependant, plusieurs études ont rapporté que l’expression du Ki-67 était corrélée au mauvais pronostic des patients (Ko et al. 2017 ; Guanying Luo et al. 2017 ; Seo et al. 2019).

6.6- Instabilité des microsatellites « MSI »

6.6.1- Le système de réparation des mésappariements de l'ADN

Le système de réparation des mésappariements (MMR : mismatch repair) est un processus de reconnaissance et de réparation des mésappariements commis par l'ADN polymérase (ADNp) lors de la réplication de l'ADN. Ce processus de correction des erreurs réplicatives permet d'augmenter la fidélité de la réplication de l'ADN, essentielle à la préservation de l'intégrité du génome.

La fidélité de réplication est en très grande partie due à la sélection de base par voie de complémentarité des appariements Watson-Crick (A-T, C-G) assurée par l'ADNp durant la polymérisation nucléotidique. Il arrive que l'ADNp incorpore un nucléotide incorrect (avec un taux d'une erreur pour 10^4 à 10^5 nucléotides incorporés) qui entraine un mésappariement. Toutefois, une correction est possible grâce à l'activité exonucléasique 3' → 5' de la polymérase. Cette dernière hydrolyse le nucléotide incorrect, pour incorporer le bon nucléotide et reprendre la réplication.

L'activité de la relecture par l'ADNp améliore la fidélité du processus réplicatif et fait chuter le taux d'erreur de réplication à une erreur tous les 10^7 à 10^8 nucléotides incorporés (Arana and Kunkel 2010). Les erreurs qui en échappent peuvent être réparées de manière post-réplicative par le système MMR dans l'ADN double brin. Ce dernier assure la correction des mésappariements et les petites boucles d'insertion/délétion (IDL : Insertion/Deletion Loops) sur le brin néosynthétisé. L'intervention du système de réparation contribue à baisser le taux d'erreur de la réplication à une erreur pour 10^{10} bases répliquées.

6.6.2- Mécanisme de réparation des erreurs par le système MMR

Chez l'homme, le système MMR comprend deux principaux complexes qui sont MutS et MutL. Le complexe MutS existe en deux versions : MutSα constituée par MSH2/MSH6 et MutSβ constituée par MSH2/MSH3. Le premier hétérodimère (MSH2/MSH6) reconnaît préférentiellement des mésappariements de bases et des petites boucles d'un à deux nucléotides. Le second hétérodimère (MSH2/MSH3) reconnaît principalement les IDLs de plus grandes tailles (2-10 nucléotides) (Hsieh and Yamane 2008).

Concernant le complexe MutL, trois versions ont été identifiées : MutLα composée de MLH1 /PMS2 ; MutLβ composée de MLH1/PMS1 et MutLγ composée de MLH1/MLH3. L'hétérodimère MutLα (MLH1 /PMS2) joue un rôle majeur dans la réparation des mésappariements. Toutefois, le rôle des hétérodimères MutLβ (MLH1/PMS1) et MutLγ (MLH1/MLH3) dans la réparation des mésappariements n'est pas encore bien élucidé.

La première étape de la réparation des erreurs est la reconnaissance par le complexe MutS du mésappariement ou IDL. La deuxième étape est caractérisée par distinction entre le brin matrice et le brin néosynthétisé (contenant l'erreur) par le système MMR. Cette distinction est assurée par la capacité de MutS à former une pince coulissante « *sliding clamp* » qui glisse le long de l'ADN à la recherche des coupures qui constituent un signal de reconnaissance du brin néosynthétisé. La troisième étape correspond au déclenchement du processus de réparation qui se fait par le recrutement de l'hétérodimère MutLα. L'activité endonucléase de MutLα, stimulée par la protéine PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*), est responsable de l'incision du brin néosynthétisé. Cette incision sert de point d'ancrage à l'exonucléase EXO1 qui va dégrader un fragment d'ADN contenant le mésappariement. Le fragment éliminé est resynthétisé grâce à l'ADNp, puis lié par la ligase.

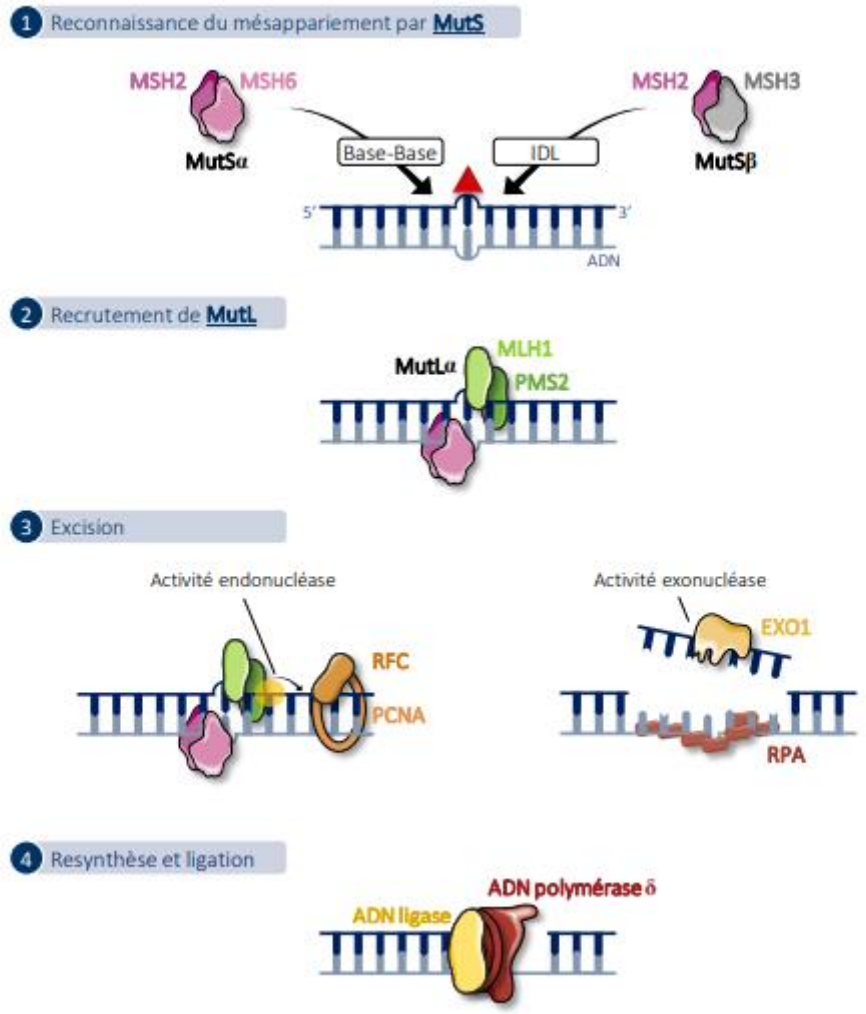


Figure 19 : Représentation schématique du mécanisme de réparation des erreurs de réplication par le système MMR (Malorie 2017).

6.6.3- Défaillance du système MMR et instabilité des microsatellites

La défaillance du système MMR se traduit par une perte d'expression d'au moins une de ses protéines, entrainant l'accumulation des erreurs qui touchent plus particulièrement les séquences microsatellites lors de la réplication de l'ADN. Les microsatellites sont des courtes séquences d'ADN formées par une répétition en tandem de 1 à 6 bases nucléotidiques. Ces séquences sont dispersées dans des régions codantes et non codantes du génome avec une prépondérance dans les régions non codantes (Yamamoto and Imai 2015).

En raison de leur nature répétitive, les microsatellites sont particulièrement sujets des erreurs de réplication par glissement (slippage) de la polymérase. Ainsi la taille des microsatellites subit des changements par insertion ou délétion d'un ou plusieurs nucléotides. Le phénomène s'appelle instabilité microsatellite « MSI pour microsatellite instability ». Ce type d'instabilité génétique est un événement clé dans le développement des cancers MSI-H (MSI-High) et est utilisé pour identifier ces tumeurs sur le plan moléculaire.

Les cancers gastriques MSI peuvent être observés dans les formes sporadiques et dans le contexte du syndrome de Lynch (Hudler 2012). Le syndrome de Lynch est dû à des mutations autosomiques dominantes dans les gènes du système MMR, principalement hMLH1 et hMSH2 et moins fréquemment hPMS2 et hMSH6 (Leite et al. 2011). En outre, une délétion constitutionnelle de l'extrémité 3′- EPCAM, qui se trouve directement en amont du gène MSH2, pourrait provoquer le syndrome de Lynch par silençage épigénétique de MSH2 (Tutlewska, Lubinski, and Kurzawski 2013).

6.6.4- Instabilité microsatellite et gènes cibles

L'inactivation des protéines MMR peut être causée par des mutations dans la région codante, la méthylation du promoteur ou des réarrangements chromosomiques menant à une perte d'hétérozygotie (Leite et al. 2011 ; Yuza et al. 2017). La perte fonctionnelle des protéines MMR résulte en un phénotype hyper-mutateur avec un grand nombre de mutations faux-sens et de décalage du cadre de lecture dans certains gènes à séquences répétées. Ces gènes sont appelés gènes cibles de l'instabilité microsatellite et sont impliqués dans diverses fonctions cellulaires, telles que le maintien de l'intégrité génomique (*MSH3, MSH6, ATM, ATR, BLM, BRCA1, BRCA2, DNAPKcs, MBD4, MRE11, RAD50 et XRCC2*), la régulation du cycle cellulaire et de l'apoptose (*TCF4, BAX, TGFβRII, HSP110, PTEN et EGFR*) et la biogenèse des microARN (*XPO5, TRBP2*) (Falchetti et al. 2008 ; Yamamoto et al. 2012 ; Yamamoto and Imai 2015).

L’altération de ces gènes a pour conséquence la production d’une protéine tronquée non fonctionnelle.

6.6.5- Importance de la détermination du statut MSI dans le cancer gastrique

Le statut MSI constitue un facteur prédictif de réponse à l’immunothérapie dans de nombreuses tumeurs solides, y compris le cancer gastrique (Marcus et al. 2019). Suite aux résultats favorables des essais cliniques (Le et al. 2015 ; Le et al. 2017), la FDA (*Food and Drug Administration*) a donné son approbation pour l’utilisation du pembrolizumab dans le traitement de tumeurs solides non résécables ou métastatiques présentant une instabilité microsatellite (statut MSI-H) (Marcus et al. 2019). Une étude récente a été réalisée pour montrer l’efficacité du pembrolizumab dans le cancer gastrique métastatique. Les résultats de l’étude ont montré que les patients MSI-H répondaient mieux au traitement (pembrolizumab) avec un taux de réponse globale de 85.7% (Kim et al. 2018). D’où la nécessité de déterminer le statut MSI afin de sélectionner les patients éligibles à l’immunothérapie.

Contrairement au cancer colorectal, les données de la littérature restent controverses concernant l’intérêt du statut MSI pour prédire l’efficacité de la chimiothérapie à base de 5-FU (5 Fluoro-uracile) dans le cancer gastrique. Certaines études suggéraient l'absence d'efficacité de la chimiothérapie adjuvante par 5FU chez les patients MSI-H (An et al. 2012), tandis que d'autres n'observaient pas de corrélation entre le statut MSI et l'efficacité de la chimiothérapie adjuvante à base de 5-FU pour le cancer gastrique (Zhao et al. 2019).

Par ailleurs, la valeur pronostique du statut MSI dans les cancers gastriques a été suggérée par plusieurs études (Bae et al. 2015 ; Mathiak et al. 2017 ; Miceli et al. 2019 ; Cai et al. 2020). Deux méta-analyses récentes ont rapporté que les patients ayant des tumeurs gastriques MSI-H avaient une meilleure survie globale par rapport à ceux ayant des tumeurs MSI-L/MSS (Polom et al. 2018 ; Pietrantonio et al. 2019).

6.7- Infection par le virus d'Epstein-Barr

6.7.1- Histoire de la découverte du virus d'Epstein-Barr

Le virus d'Epstein-Barr (EBV pour *Epstein-Barr virus*) a été découvert en 1964 dans les cellules en culture dérivées de lymphome affectant les enfants en Afrique de l'Est. L'histoire de cette découverte remonte aux années « 1950 » avec les travaux du chirurgien anglais Denis Burkitt en Ouganda, où il décrivit un nouveau cancer à localisation maxillaire chez les enfants d'Afrique de l'Est, qui portait par la suite son nom : le lymphome de Burkitt « LB ».

Une étude épidémiologique a été réalisée pour déterminer la répartition des symptômes et la prévalence du LB. La distribution géographique de ce fléau s'étale de la côte Ouest à la côte Est Africaine dans la zone équatoriale où sévit le paludisme. Devant ces données épidémiologiques et cliniques, D. Burkitt incriminait un agent infectieux propagé par un vecteur dépendant du climat dans la pathogenèse de ces lymphomes.

D.Burkitt, en 1961, a présenté le lymphome nouvellement décrit lors d'une conférence à la « Middlesex Hospital » de Londres. Par ailleurs, le virologue Anthony Epstein connu par ses recherches sur les virus des tumeurs du poulet était fasciné par le LB de demanda à Burkitt de lui envoyer des échantillons de tumeur et essaya d'isoler la cause virale du LB.

Après deux ans de tentatives échouées, l'équipe d'Epstein réussit à mettre en culture les cellules tumorales dérivées du LB. En 1964, Epstein, Achong et Barr découvrent en microscopie électronique la présence des particules virales, appelées plus tard virus d'Epstein-Barr dans les lymphoblastes en culture provenant d'un patient atteint de LB (Epstein, Achong, and Barr 1964).

6.7.2- Classification et structure du virus EBV

Le virus d'Epstein-Barr (EBV), également appelé virus de l'herpès humain de type 4 (HHV-4), est un virus gamma-herpès de la famille des Herpesviridae. Il est le prototype du genre Lymphocryptovirus. L'EBV est un virus à ADN composé d'un noyau protéique de forme toroïdale enveloppé d'ADN, d'une nucléocapside à 162 capsomères, l'existence d'un tégument protéique entre la nucléocapside et l'enveloppe et enfin une enveloppe externe avec des spicules de glycoprotéines codées par le virus. Le génome de l'EBV est une molécule d'ADN bicaténaire d'environ 172 kb renfermant plus de 85 gènes.

L’ADN de l’EBV est de forme linéaire mais devient circulaire et persiste principalement sous la forme d’un épisome circulaire, après infection de la cellule hôte (Ok, Li, and Young 2015).

6.7.3- Cycle de vie viral

L’EBV est un virus ubiquitaire qui infecte la quasi-totalité (>90%) de la population adulte mondiale. Il est transmis essentiellement par voie salivaire du porteur vers l’hôte en pénétrant la région de l’oropharynx. Comme tous les virus de l'herpès, l'EBV est capable de persister toute la vie dans la cellule hôte, sans provoquer de maladie dans la majorité des cas (Crawford 2001).

Les lymphocytes B sont les principales cibles de l'infection à EBV, en raison de leur expression de CD21 (glycoprotéine exprimée seulement dans les lymphocytes B matures et qui joue le rôle du récepteur d’EBV). Cependant, l’EBV peut également infecter les cellules épithéliales par le biais de processus distincts, notamment le transfert de cellules B infectées (Shannon-Lowe and Rowe 2011). Les cellules épithéliales sont des sites d'infection lytique qui permet la production et la diffusion de nouvelles particules virales. Une fois que l'infection à EBV est établie dans les cellules B ou les cellules épithéliales, le virus reste dans un état de latence en tant qu’épisome et n’exprime aucun gène viral, ce qui lui permet d’échapper à la surveillance du système immunitaire et ainsi de persister à long terme dans la cellule hôte.

L’état de latence est caractérisé par l’expression des gènes codant pour les antigènes nucléaires de l’EBV « *EBNA, Epstein-Barr Nuclear Antigen* », les protéines membranaires de latence « *LMP, Latent Membrane Protein* », les ARN viraux EBER « *EBV-encoded RNA* », les ARN BART « *BamH1-A Rightward Transcripts* », les micro-ARN BART et BHRF1.

Les produits des gènes de latence contribuent aux propriétés d’immortalisation et de transformation par EBV en détournant la machinerie cellulaire afin de contrôler la prolifération et la survie des cellules infectées. En fonction des gènes exprimés, on distingue trois types de latence, associés à différentes pathologies malignes (Figure 20) (Zhao et al. 2020).

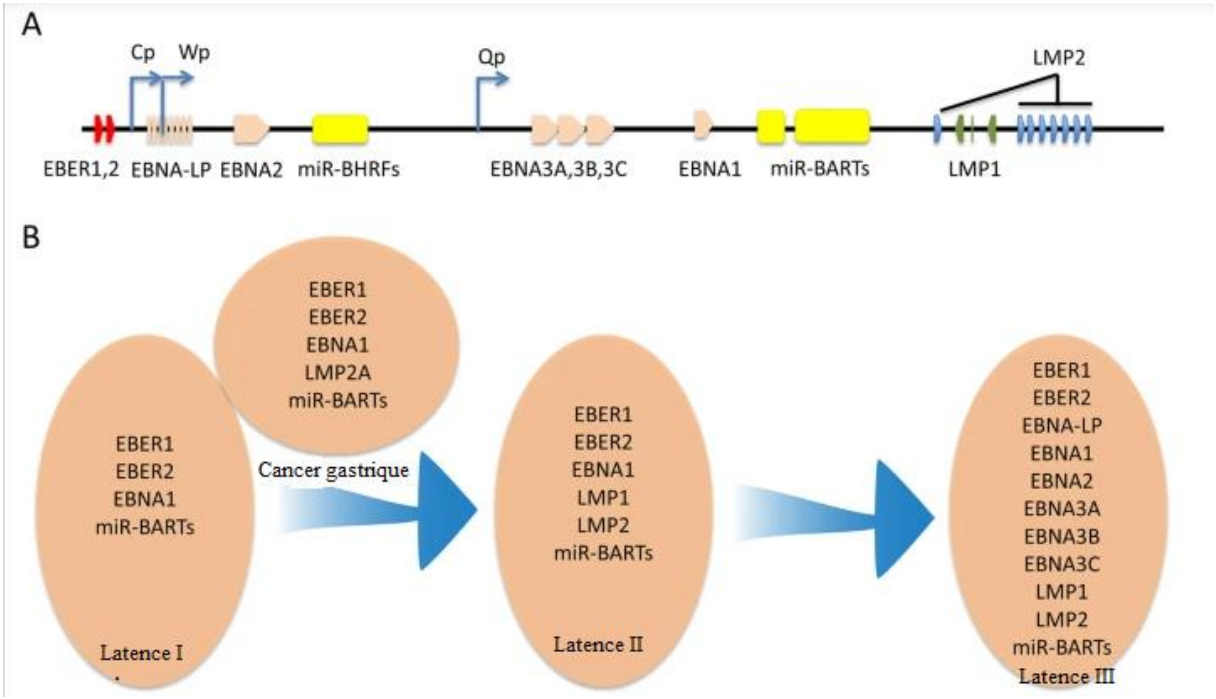


Figure 20 : ***(A)*** *Représentation schématique du génome d'EBV et les gènes de latence* ***(B)*** *Spectre d'expression des gènes latents sous différents types de latence (Zhao et al. 2020).*

Le cancer gastrique appartient à la latence I, mais la protéine LMP2A qui est généralement associée à la latence II peut être détectée dans environ 50% des cas (Zhao et al. 2020).

6.7.4- Infection à l'EBV et cancer gastrique

L'infection par EBV se produit souvent dans les lymphocytes B et l'épithélium oral. Le mécanisme par lequel l'EBV infecte les cellules épithéliales gastriques n'est pas encore connu. Il est possible que la salive contenant le virus EBV soit ingérée et que le virus infecte directement les cellules épithéliales. Une autre explication est que l'EBV est réactivé d'une manière ou d'une autre dans les lymphocytes B de l'estomac et libéré pour infecter les cellules épithéliales (Hutt-Fletcher 2017). Il a été proposé que les lymphocytes infectés par EBV entrent en contact avec les cellules épithéliales via l'intégrine β1 / β2, puis favorisent le contact cellule-cellule en transloquant la molécule d'adhésion intracellulaire-1 à la surface cellulaire. Enfin, la particule virale est transmise par voie d'endocytose médiée par la clathrine (Nanbo et al. 2016).

En 1990, Burke et al. (Burke et al. 1990) ont rapporté pour la première fois l'association entre l'EBV et le carcinome gastrique de profil histologique similaire au lymphoépithéliome. Par la suite, Shibata et Weiss (1992) ont démontré une infection à EBV dans les adénocarcinomes gastriques d'histologie ordinaire (Shibata and Weiss 1992). Ces découvertes indiquent que les carcinomes gastriques associés à l'EBV représentent environ 10% de tous les carcinomes gastriques dans le monde (Nishikawa et al. 2018).

Une méta-analyse récente regroupant 13 études, soit un total de 4599 patients, a suggéré que l'infection EBV dans le cancer gastrique était associée à une tendance peu fréquente aux métastases ganglionnaires et à un taux de mortalité plus faible dans différentes populations (Constanza Camargo et al. 2014a). Les tumeurs gastriques EBV+ semblent plus fréquemment localisées dans le fundus ou le corps de l'estomac (62 %), et sont plus souvent retrouvées chez des hommes (81 %), avec un type histologique intestinal dans 75 % des cas (Bass et al. 2014).

Avec l'avènement de l'immunothérapie dans les cancers gastriques, la détermination du statut EBV est devenue de plus en plus nécessaire. En effet, plusieurs études ont rapporté que le statut EBV+ constitue un facteur prédictif de l'efficacité du pembrolizumab (anti-PD1) chez les patients atteints du cancer gastrique (Kim et al. 2018 ; Xie et al. 2020 ; Rodriquenz et al. 2020).

7- Classification moléculaire du cancer gastrique

7.1- Classification TCGA (*The Cancer Genome Atlas*)

Dans l'étude TCGA, une étude menée dans le cadre du projet TCGA « *The Cancer Genome Atlas* » incluant 295 adénocarcinomes gastriques, a permis d'identifier plusieurs sous-types de tumeurs gastriques et également l'émergence de nouvelles molécules utilisées dans les essais de thérapie ciblée. Cette nouvelle classification moléculaire divise le cancer gastrique en quatre sous-types (Figure 21) : les tumeurs infectées par le virus Epstein-Barr « EBV » ; les tumeurs montrant une instabilité des microsatellites « MSI » ; celles à génome stable « GS » et d'autres avec instabilité chromosomique « CIN » (Bass et al. 2014).

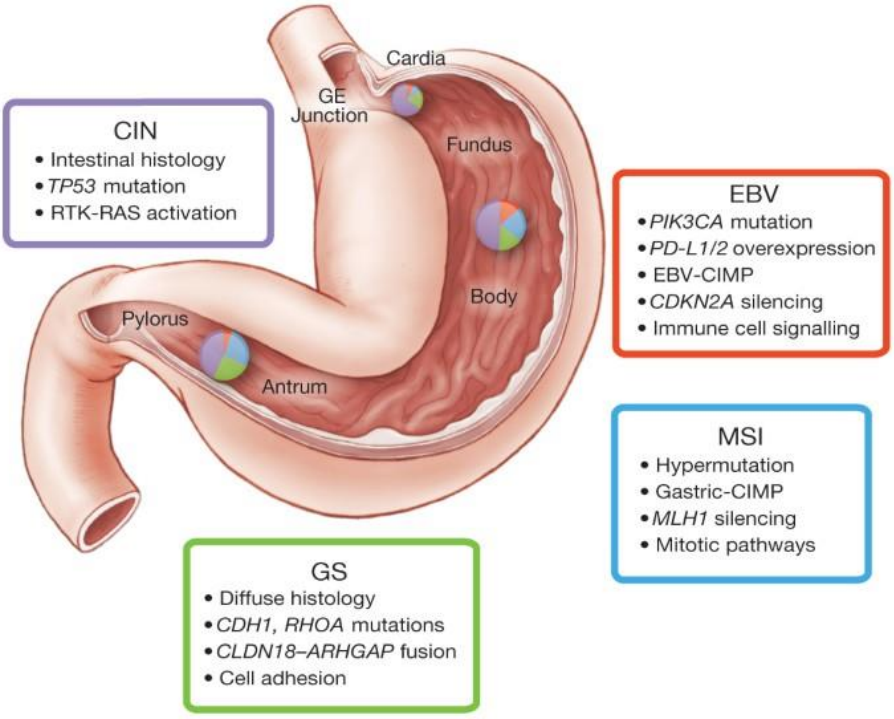


Figure 21 : Classification moléculaire du cancer gastrique proposée par TCGA (Bass et al. 2014)

7.1.1- Sous-type moléculaire EBV (tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr)

L'infection par EBV était retrouvée dans les cellules épithéliales gastriques chez 26 patients sur 295 (soit 9 % des cas). Ces tumeurs positives à l'EBV sont fréquemment localisées au niveau du corps gastrique, en particulier au niveau du fundus (62 %), et étaient plus souvent retrouvées chez le sexe masculin (81 %) avec un type histologique intestinal dans 75 % des cas (Bass et al. 2014).

Le sous-type moléculaire EBV est fortement associé à de fréquentes mutations du gène PIK3CA (80%) et par une hyperméthylation de l'ADN au niveau de promoteurs de certains gènes, en particulier du gène CDKN2A (*Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A*) codant pour la protéine régulatrice du cycle cellulaire p16. Dans l'étude TCGA, toutes les tumeurs EBV positives ont démontré la méthylation du promoteur CDKN2A. Par ailleurs, des mutations de deux autres gènes *ARID1A* (55%) et *BCOR* (23%) ont été retrouvées dans les tumeurs EBV+. Dans ce sous-type tumoral, une amplification des gènes *JAK2, CD274 (PD-L1), PDCD1LG2 (PD-L2) et ErbB2* ont été également détectées. En outre, le sous-type EBV est caractérisé par une activation des voies médiées par l'IL12, suggérant une présence notable de cellules immunitaires, et donc un rationnel à tester des inhibiteurs de checkpoints immunitaires dans ces formes tumorales (Bass et al. 2014).

Les caractéristiques moléculaires des cancers gastriques, EBV positifs, sont distinctes de celles d'autres sous-types et certaines de ces altérations génétiques peuvent être exploitées thérapeutiquement. En effet, les inhibiteurs de PI3K, les inhibiteurs de JAK2 et les antagonistes de PD-L1/2 peuvent avoir une valeur thérapeutique pour le traitement des patients ayant un cancer gastrique EBV positif (Kang et al. 2019). Des mutations fréquentes du gène *PIK3CA* suggèrent l'évaluation des inhibiteurs de PI3K dans les cancers gastriques EBV positifs. Bien que toujours dans les stades précliniques, BKM 120, qui est un inhibiteur de PI3KCA, et BEZ235, un double inhibiteur de la PI3KCA et mTOR, ont montré la capacité de réduire la viabilité cellulaire et d'induire l'apoptose des cellules cancéreuses (Mueller et al. 2012). Récemment, il a été rapporté que l'inhibiteur EZH2 pourrait être une nouvelle cible thérapeutique des cancers présentant des mutations du gène *ARID1A* (Bitler et al. 2015).

7.1.2- Sous-type moléculaire MSI (tumeurs montrant une instabilité microsatellite)

Ce sous-type moléculaire « MSI » regroupe 22% des patients recrutés dans l'étude TCGA. Les cancers MSI sont observés plus fréquemment chez les femmes (56%) et sont diagnostiqués à un âge avancé (âge médian, 72 ans) (Bass et al. 2014). Ces tumeurs sont caractérisées par la perte de fonction des gènes du système MMR, principalement en raison de l'hyperméthylation du promoteur du gène MLH*1* (Bass et al. 2014). Cette défaillance du système MMR se traduit par un taux de mutations somatiques très élevé caractérisant les cancers MSI. En effet, les mutations dans plusieurs gènes *(KRAS, ERBB3, TP53, PTEN, EGFR et PI3KCA)* ont été retrouvées dans le sous type MSI. Contrairement au cancer colorectal, aucune mutation du gène *BRAF V600E* n'a été retrouvée dans les cancers gastriques MSI+. En outre, on note la présence des altérations des gènes impliqués dans la réponse immunitaire dont *HLA-B (Human Leukocyte Antigen-B) et B2M (bêta-2microglobuline)*. D'où l'intérêt de l'immunothérapie dans les tumeurs MSI+ (Rodriquenz et al. 2020).

7.1.3- Sous-type moléculaire GS (tumeurs génomiquement stables)

Ce sous type de cancer gastrique regroupe 20% des cas inclus dans l'étude TCGA. Il est caractérisé par la prédominance des cancers gastriques de type diffus (70%) qui sont plus souvent observé chez des patients plus jeunes (âge médian 59 ans). Sur le plan moléculaire, les tumeurs GS sont caractérisées par les altérations des voies de signalisation impliquées dans l'adhésion cellulaire dont le gène CDH1 qui code pour la protéine E-cadhérine. En outre, des mutations du gène *RHOA « Ras Homolog gene family, member A »* ainsi que la fusion des gènes *CLDN18 « Claudin 18 » et ARHGAP26 (Rho GTPase Activating Protein 26)* sont mises en évidence dans les tumeurs GS (Bass et al. 2014). Il est à noter que les mutations du gène *RHOA,* impliqué dans la motilité cellulaire, étaient retrouvées quasi exclusivement dans les tumeurs GS. Ainsi, ce gène pourrait être un bon candidat pour les nouvelles molécules utilisées en thérapie ciblée.

7.1.4- Sous-type moléculaire CIN (tumeurs avec instabilité chromosomique)

Les tumeurs CIN représentaient 50% des cas, souvent localisées au niveau de la jonction œsogastrique et étaient de type histologique intestinal dans 80% des cas. Elles sont caractérisées par les altérations des gènes codant pour des récepteurs tyrosine kinase de la voie RAS *(EGFR, HER2, NRAS/KRAS)* et par des mutations somatiques fréquentes du gène *TP53* (71%) (Bass et al. 2014).

7.2- Classification ACRG (*Asian Cancer Research Group*)

En 2015, *l'Asian Cancer Research Group* « ACRG » a proposé une autre classification en rapport avec le pronostic. Cette classification subdivise les tumeurs gastriques en quatre sous-types moléculaires: les tumeurs présentant une instabilité microsatellite « MSI », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active « MSS/p53+ », et les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive « MSS/p53-» (Cristescu et al. 2015).

7.2.1- Sous-type moléculaire MSI (tumeurs montrant une instabilité microsatellite)

Les tumeurs appartenant au sous type MSI étaient préférentiellement localisées dans la région antrale (75%), présentaient une histologie de type intestinale (60%) et étaient observées dans les formes diagnostiquées précocement aux stades I ou II. Ces tumeurs sont caractérisées par une perte d'expression du gène *MLH1* qui se traduit par un phénotype hypermutateur, avec les mutations dans les gènes *ARID1A* (44,2%), de la voie PI3K-PTEN-mTOR (42%), *KRAS* (23,3%) et *ALK* (16,3%). Par ailleurs, ce sous-type MSI était associé au meilleur pronostic et au faible taux de récidives (22%) (Cristescu et al. 2015).

7.2.2- Sous-type moléculaire MSS/EMT (tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse)

Les tumeurs MSS/EMT étaient diagnostiquées à des stades avancés (III/IV) chez les patients jeunes. La majorité de ces cancers (80%) présentaient une histologie de type diffus. Sur le plan moléculaire, ce sous type MSS/EMT est caractérisé par la perte d'expression du gène *CDH1* et un faible taux de mutations. En outre, ces tumeurs étaient de mauvais pronostic et montraient le taux le plus élevé (63%) de récidives (Cristescu et al. 2015).

7.2.3- Sous-type moléculaire MSS/p53+ (tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active)

Les cancers gastriques MSS/p53+ étaient caractérisés par des mutations des gènes APC, ARID1A, KRAS, PIK3CA et SMAD4. En outre, une infection à l'EBV était plus fréquemment observée dans ce sous-type MSS/p53+ que dans les autres sous-types moléculaires. Par ailleurs, elles sont de pronostic intermédiaire après les tumeurs MSI (Cristescu et al. 2015).

7.2.4- Sous-type moléculaire MSS/p53- (tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive)

Le sous-type moléculaire MSS/p53- présentait le taux le plus élevé de mutations du gène *TP53* (60%) avec une faible fréquence d'autres mutations. L'amplification des gènes *EGFR, HER2, CCNE1, CCND1, MDM2, ROBO2, GATA6 et MYC* était présente dans les tumeurs MSS/TP53. Le pronostic de ce sous-type moléculaire est devancé par MSS/p53+ et MSI (Cristescu et al. 2015).

8- Prise en charge thérapeutique du cancer gastrique

8.1- Chirurgie

La chirurgie, en particulier à un stade précoce, est le seul traitement potentiellement curatif du cancer gastrique de stade I à IIIB. Elle peut également être envisagée à titre palliatif pour les cancers gastriques de stade IV. L'extension de la résection dépend de la localisation anatomique de la tumeur dans l'estomac, elle consiste généralement en une gastrectomie totale pour les tumeurs proximales et subtotale pour les tumeurs distales. La chirurgie permet également la résection des ganglions lymphatiques envahis par des métastases.

Au cours des dernières décennies, la chirurgie du cancer gastrique a été dominée par deux grandes discussions : l'une sur l'étendue optimale du curage ganglionnaire ; et l'autre sur le développement de nouvelles techniques peu invasives telles que la résection endoscopique et la chirurgie laparoscopique. Pour le curage ganglionnaire, on distingue trois sortes qui dépendent de l'emplacement des ganglions lymphatiques à enlever (Japanese Gastric Cancer Association. 2017) :

- Curage ganglionnaire D1 : comprend les ganglions lymphatiques périgastriques et ceux de l'artère gastrique gauche.

- Curage ganglionnaire D2 : comprend tous les ganglions lymphatiques D1 et les ganglions lymphatiques existant le long de l'artère hépatique commune, l'artère hépatique propre et l'artère splénique, excepté les ganglions hilaires spléniques ainsi que ceux de l'axe cœliaque.

- Curage ganglionnaire D3 : comprend tous les ganglions D2, complétés par des ganglions lymphatiques para-aortiques et hépato-duodénaux.

La nécessité d'un curage ganglionnaire D2 ou D3 a été débattue avec bien entendu, les travaux japonais qui sont en faveur d'un curage extensif. Cependant, une étude randomisée a comparé un curage D1 et D3 et elle a montré une survie plus faible ainsi qu'un fort taux de morbidité dans le groupe traité par curage extensif (Robertson et al. 1994). Deux autres études prospectives randomisées européennes n'ont pas trouvé de bénéfice en survie globale si on compare D1 à D2 (Cuschieri et al. 1999 ; Bonenkamp et al. 1999).

Un curage D1 est recommandé pour les cancers de stade I et pour les patients à risque opératoire élevé. Les recommandations actuelles chez un patient en bon état général sont de pratiquer un curage D2, sans splénectomie sauf en cas d'adénopathies de l'artère splénique ou de cancer de la grosse tubérosité atteignant la séreuse (Dikken et al. 2013 ; Smyth et al. 2016 ; Martín-Richard et al. 2020). Un minimum de 15 ganglions doit être analysé pour un curage D1 et de 25 ganglions pour un curage D2.

8.1.1- Résection endoscopique

Une résection endoscopique peut être réalisée pour les tumeurs gastriques très précoces (T1a), bien différenciées, non ulcérées et dont la taille est ≤ 2 cm (E. C. Smyth et al. 2016 ; Martín-Richard et al. 2020). Il existe deux principales techniques de résection endoscopique : la résection muqueuse endoscopique « RME » et la dissection sous-muqueuse endoscopique « DSME ». La DSME s'est avérée plus efficace que la RME, mais nécessite une plus grande compétence et est associée à des taux de perforation plus élevés (Martín-Richard et al. 2020). La RME est pratiquée pour les cancers gastriques superficiels de taille inférieure à 10 –15 mm à faible risque d'envahissement ganglionnaire (lésion classé Paris 0-IIa) (Pimentel-Nunes et al. 2015). Cependant, les directives asiatiques et européennes recommandent la DSME comme traitement de choix pour la plupart des lésions néoplasiques superficielles gastriques (IV, B) (Smyth et al. 2012 ; Sanomura et al. 2012 ; Choi et al. 2013 ;Pimentel-Nunes et al. 2015).

8.1.2- Chirurgie laparoscopique

La chirurgie laparoscopique est une procédure mini-invasive utilisée chez les patients atteints d'un cancer gastrique qui ne sont pas éligibles au traitement endoscopique (Kitano, Iso, and Moriyama 1994). Les avantages de la chirurgie laparoscopique sont multiples, elle permet de réduire la morbidité postopératoire, de réduire le temps d'hospitalisation et donne de meilleurs résultats esthétiques sous forme d'une petite cicatrice. Les enjeux techniques de la chirurgie laparoscopique pour le cancer gastrique sont centrés sur le curage ganglionnaire.

Lorsque la chirurgie laparoscopique a été introduite pour la première fois, le curage ganglionnaire D1 a été réalisé en raison des difficultés techniques impliquées dans le curage ganglionnaire systématique. Cependant, les progrès de l'instrumentation laparoscopique, tels que les cisailles coagulantes ultrasoniques pour sceller les vaisseaux sanguins, ont rendu possible le curage ganglionnaire étendu qui comprend les ganglions lymphatiques supra-pancréatiques. La fréquence du curage ganglionnaire D2 a progressivement augmenté en raison de ces progrès (Kanaya et al. 2011). Bien que les données soient encore controversées, un certain nombre d'études a montré que l'approche laparoscopique dans le traitement du cancer gastrique avancé est faisable, sûre et oncologiquement adéquate (Cai et al. 2012 ; Moisan et al. 2012).

8.2- Chimiothérapie

La chirurgie peut être curative mais la majorité des patients présentent des récidives. Ainsi, la prise en charge du patient est en faveur d'une chimiothérapie péri-opératoire pour augmenter les chances de la résection curative. Un essai clinique anglais (UK MRC MAGIC) a montré une amélioration de survie globale à 5 ans (23% versus 36%) pour les patients stade II et III traités par chimiothérapie préopératoire par rapport à ceux traités par la chirurgie seule (Cunningham et al. 2006). Ainsi, la chimiothérapie péri-opératoire est devenue le standard pour la prise en charge des patients ayant un cancer gastrique résécable (Smyth et al. 2016). La Société Européenne d'oncologie médicale recommande donc une chimiothérapie péri-opératoire à base de platine ou une association de fluoropyrimidines pour les patients atteints d'un cancer gastrique résécable stade ≥1B (Smyth et al. 2016).

En 2017, une étude multicentrique, randomisée de phase III incluant 716 patients atteints du cancer gastrique, a comparé différentes associations de chimiothérapies conventionnelles à savoir : FLOT (5-fluorouracile, leucovorine, oxaliplatine et docétaxel), ECF/ECX (épirubicine, cisplatine, 5-fluororuracile ou capécitabine). Elle a montré que la chimiothérapie péri-opératoire FLOT (survie médiane=50 mois) augmente la survie des patients par rapport à la chimiothérapie ECF/ECX (médiane de survie=35 mois) (Al-Batran et al. 2017).

Bien que la chimiothérapie FLOT ait montré un taux de réponse supérieur aux schémas ECF/ECX, elle présente des effets secondaires significatifs. Par conséquent, il est recommandé d'utiliser le FOLFOX (acide folinique, 5-fluorouracile, oxaliplatine) pour les patients en mauvais état de performance pour une meilleure tolérance.

8.3- Radiothérapie

Les progrès technologiques en radiothérapie conformationnelle tridimensionnelle « RCT » et en radiothérapie par modulation d'intensité « RMI » ont amélioré la prise en charge thérapeutique du cancer gastrique. La radiothérapie peut être utilisée pour :

- réduire la taille d'une tumeur avant une chirurgie afin qu'elle soit plus facile à retirer par intervention chirurgicale (traitement néoadjuvant). Ce processus permet aux patients inopérables d'être éligibles à l'opération.

- détruire les cellules cancéreuses subsistant après une chirurgie (traitement adjuvant). Cela permet de réduire le risque de récidive.

- pour les cancers qui ne peuvent être éliminés par chirurgie, la radiothérapie peut parfois être utilisée pour ralentir la croissance du cancer et soulager les symptômes tels que la douleur, les saignements ou les problèmes d'alimentation (traitement palliatif).

La radiothérapie adjuvante est recommandée chez les patients n'ayant pas reçu de chimiothérapie préopératoire. En revanche, l'utilisation de la radiothérapie en postopératoire après la chimiothérapie préopératoire ne présente aucun bénéfice pour le patient (Smyth et al. 2016).

8.4- Thérapies ciblées

Bien que la chirurgie soit la principale modalité de traitement du cancer gastrique, la plupart des patients présentent une maladie avancée au moment du diagnostic, ce qui limite l'efficacité de la chirurgie. La méthode appropriée pour la prise en charge de ces patients est la chimiothérapie et/ou la radiothérapie. Cependant, le taux de réponse objective n'est que de 20 à 40% et la durée médiane de survie globale n'est que de 6 à 11 mois après la chimiothérapie (Jemal et al. 2011). De plus, les effets secondaires de la chimiothérapie ne peuvent être ignorés.

Grâce aux progrès de la biologie moléculaire et de notre compréhension des mécanismes moléculaires qui interviennent dans la carcinogenèse gastrique, l'attention s'est tournée vers le développement de molécules thérapeutiques plus individualisées « thérapies ciblées » afin d'améliorer l'efficacité des traitements et de limiter les effets secondaires indésirables pour les patients. Les thérapies ciblées agissent efficacement sur les cellules tumorales et en bloquant les voies de signalisation étroitement associées à la tumorigenèse, modulant ainsi le comportement biologique des cellules tumorales (Riquelme et al. 2015).

Le trastuzumab et le ramucirumab, ciblant respectivement HER2 et VEGFR2 « Récepteur-2 du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire », sont les seules thérapies ciblées actuellement approuvées par la FDA « Food and Drug Administration » pour une utilisation clinique dans la prise en charge du cancer gastrique.

L'utilisation en première ligne du trastuzumab (Herceptin), en association avec le cisplatine et le 5-FluoroUracile, a démontré une amélioration significative de la survie sans progression et celle globale, par rapport à la chimiothérapie seule, chez les patients présentant un adénocarcinome métastatique de l'estomac ou de la jonction gastro-œsophagienne avec surexpression du HER2 (Bang et al. 2010).

Le ramucirumab (Cyramza), en monothérapie ou en association avec le paclitaxel, a obtenu l'AMM pour le traitement de 2ème ligne des patients atteints d'un adénocarcinome métastatique de l'estomac ou de la jonction gastro-œsophagienne (Casak et al. 2015).

En outre, d'autres thérapeutiques ciblées sont en cours d'essai clinique, notamment pour des inhibiteurs de l'EGFR (cetuximab, panitumumab), des inhibiteurs conjoints de HER2 et EGFR (lapatinib), des inhibiteurs de mTOR (everolimus) ou encore des inhibiteurs de MET.

8.5- Immunothérapie

Le développement des anticorps monoclonaux ciblant les points de contrôle immunitaire a suscité un grand intérêt ces dernières années. Ces anticorps se sont avérés capables d'induire une rémission tumorale et se sont révélés efficaces dans le traitement de divers types de cancers, y compris le cancer gastrique. Les points de contrôle immunitaire (PD-1, PD-L1, CTLA-4) sont sollicités pour activer le système immunitaire afin d´ éviter le développement des tumeurs.

La capacité de cibler ces points de contrôle et améliorer l'activité des lymphocytes T, est un mécanisme clé pour empêcher l'échappement des tumeurs de la cytotoxicité immunologique. L'utilisation d'anticorps monoclonaux ciblés contre PD-1, PD-L1 et CTLA-4 a été progressivement mise en œuvre dans la recherche clinique. De plus, on pense que les effets synergiques de divers immunosuppresseurs représentent un mécanisme de traitement efficace.

Actuellement, seul le pembrolizumab (anti-PD1) est approuvé pour le traitement du cancer gastrique présentant une défaillance du système MMR qui se traduit par un phénotype MSI-H, ayant progressé après deux ou plusieurs lignes de chimiothérapie (Marcus et al. 2019 ; Smyth et al. 2020). D’autres molécules qui pourraient être utilisées en immunothérapie sont en cours d’essai clinique et sont attendues dans un avenir proche pour le traitement du cancer gastrique, notamment l’avelumab (anti-PD-L1), nivolumab (anti-PD1), ipilimumab (anti-CTLA-4).

Matériel et Méthodes

1- Population d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 166 patients atteints d'adénocarcinome gastrique recrutés et diagnostiqués au service de gastroentérologie du CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2014 et décembre 2018. Les cas inclus dans l'étude sont au nombre de 125 patients. 41 cas ont été exclus à cause de l'absence du bloc tissulaire. Les données cliniques et histologiques sont recueillies à partir du dossier médical informatisé du patient (HOSIX) et sont insérées de façon anonyme dans un tableau Excel. Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique Hospitalo-Universitaire de Fès sous la référence : Nº 18/17.

2- Etude histologique

L'étude histologique correspond à l'étude de prélèvements tissulaires obtenus soit par endoscopie (biopsie) soit par acte chirurgical (pièce opératoire). Le prélèvement tissulaire est réalisé au service de gastroentérologie du CHU Hassan II de Fès par un gastro-entérologue. Ces prélèvements sont directement fixés puis acheminés dans les plus brefs délais au laboratoire d'anatomopathologie pour une étude histologique. Le prélèvement passe par une série d´étapes avant qu'il ne soit lu et interprété par le médecin anatomopathologiste.

2.1- Etapes pré-analytiques

a. Fixation

Il est indispensable de fixer le prélèvement tissulaire afin de permettre son analyse morphologique. Le but de la fixation est de préserver le tissu dans un état le plus proche possible de l'état in vivo tout en empêchant l'autolyse et la dégradation dues à une prolifération bactérienne ou fongique. Elle se fait par immersion du prélèvement dans un liquide fixateur et répond à des règles strictes qui motivent le transfert rapide des prélèvements vers le laboratoire d'anatomie pathologique. Elle doit être immédiate après le geste chirurgical (pièces opératoires) ou après prélèvement endoscopique (biopsies) afin d'éviter la putréfaction.

La fixation doit être brève pour éviter la rétraction tissulaire et doit se faire dans un volume suffisant de fixateur correspondant à 5 fois le volume du prélèvement. La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement : un minimum de 2 à 5 heures pour une biopsie et de 24 à 48 heures pour une pièce opératoire est recommandée.

Le choix du fixateur incombe aux laboratoires de pathologie. Cependant, le formol à 10% est le principal fixateur validé au niveau international et de bonne qualité pour les études de biologie moléculaire. Il est à noter que la qualité de la fixation conditionne la qualité de l'étude anatomopathologique, toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile, voire impossible (dessiccation et/ou autolyse du tissu).

b. Examen macroscopique

L'examen macroscopique est basé sur l'examen à l'œil nu ou parfois à l'aide d'une loupe d'une pièce opératoire. Au cours de cet examen, un descriptif détaillé de la pièce opératoire est établi (taille mesurée dans les 3 dimensions, couleur, forme, aspect à la coupe, pesée, …). L'examen macroscopique permet de fournir des indications pour le pronostic de la maladie (taille et localisation du cancer). Il permet aussi de sélectionner les zones à prélever pour l'étude microscopique. Ces zones d'intérêt sont prélevées et déposées dans des cassettes en plastique identifiées, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

c. Inclusion en paraffine

L'inclusion consiste à infiltrer et enrober le tissu à examiner avec de la paraffine. Elle est précédée par deux étapes essentielles à savoir la déshydratation et l'imprégnation. La déshydratation consiste à retirer l'eau du tissu puisque le milieu d'inclusion utilisé (paraffine) est hydrophobe. Elle est réalisée par passage du tissu dans des bains d'alcool (éthanol) à concentrations croissantes (70%, 80%,90% puis 100%). L'imprégnation consiste à remplacer l'alcool (la paraffine étant non miscible à l'alcool) par un solvant miscible à la paraffine. On utilise dans cette étape d'imprégnation le xylène ou le toluène. Une fois totalement imprégné, le prélèvement est placé dans de la paraffine liquide (chauffée à 56 ºC) contenue dans de petits moules. Après refroidissement, on procède alors au démoulage. On obtient un bloc solide de paraffine l'intérieur duquel le prélèvement tissulaire est inclus.

d. Coupes et coloration HES (Hématoxyline-Eosine-Safran)

Des coupes de 3 à 5 microns d'épaisseur sont effectuées par un microtome et étalées sur des lames en verre. La coloration hématoxyline-éosine- safran « HES » est alors réalisée. C'est une coloration trichromatique de base pour toute étude histologique en anatomopathologie. L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, l'éosine colore les cytoplasmes en rose et le safran colore les fibres collagènes en jaune.

Le protocole de la coloration HES commence par le déparaffinage des lames à l'étuve (58ºC) pendant toute la nuit, suivie par le passage des lames dans deux bains successifs de toluène de 5min chacun. On effectue ensuite une réhydratation par passage des lames dans des bains d'éthanol à concentrations décroissantes (100%, 80%et 70%) durant 5min chacun, suivi d'un lavage à l'eau courante pendant 1 min. Après déparaffinage et réhydratation, les lames sont prêtes à être colorées. Pour ce faire, elles sont immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5min puis lavées à l'eau courante pendant 1min avant un passage dans des bains d'alcool chlorhydrique et d'alcool ammoniacal. Après un rinçage à l'eau courante, les lames sont mises dans un bain d'éosine à 2% pendant 5min. Ensuite, un passage rapide dans une succession de bains d'éthanol à concentrations croissantes est réalisé. Les lames passent alors dans un bain d'éthanol-méthanol pendant 1min puis dans un bain de toluène. La coupe colorée est protégée par une lamelle de verre. Elle est alors prête à être analysée au microscope photonique.

3- Immunohistochimie

3.1- Principe

L'immunohistochimie permet la détection d'un antigène par un anticorps spécifique dans les cellules. Le complexe antigène-anticorps ainsi formé est révélé par une enzyme qui en présence de son substrat catalyse une réaction chromogénique. Dans nos conditions, il s'agit d'une reconnaissance antigène-anticorps des cellules d'une coupe tissulaire.

3.2- Protocole d'étude

La veille de la technique, des coupes tissulaires de 5µm d'épaisseur sont réalisées, étalées sur des lames SuperFrost et incubées une nuit à l'étuve à 58°C. Le lendemain, les lames sont déparaffinées par passage dans deux bains de toluène de 10 min chacun. Après le déparaffinage, la réhydratation est faite par une succession de bains, d'abord trois bains d'éthanol, puis un bain d'eau. Chaque bain a duré 5min. Par la suite, les peroxydases endogènes sont inhibées en incubant les lames dans du peroxyde d'hydrogène « H_2O_2 »3% pendant 10min. Un démasquage antigénique par la chaleur est ensuite effectué pour pallier aux changements de conformation des épitopes (rendant parfois certains antigènes indétectables par les anticorps) induits par la fixation dans le formol. Cette étape est réalisée par immersion des lames pendant 25 min dans une solution de tampon citrate à pH=6 préalablement chauffé à 95°C, puis un rinçage au PBS « Phosphate Buffered Saline » a été réalisé pendant 5 min. Une solution bloquante est ensuite appliquée pendant 15 min afin de bloquer les sites de fixation non spécifiques, puis une incubation avec l'anticorps primaire (anti-antigène recherché) à une dilution optimale (Tableau 2). Le temps d'incubation de ce dernier diffère selon la nature de l'anticorps. En effet, cette durée d'incubation a été mise au point et ajustée pour chaque anticorps et peut durer jusqu'à 1h. Après rinçage au PBS (2 bains de 5 min chacun), l'anticorps secondaire est appliqué pendant 1h à température ambiante, suivi d'un nouveau rinçage au PBS (2x5min). Le complexe streptavidine-peroxydase est appliqué pendant 15 min à température ambiante. Après rinçage au PBS (2x5min), les lames sont alors recouvertes d'une solution de la DAB « 3,3'-Diaminobenzidine » pendant 4 à 10 min pour la révélation. Par la suite, les coupes sont rincées à l'eau courante (10 min), puis contre-colorées pendant 2 minutes à l'hématéine de Harris, puis rincées à l'eau courante (10 min) et bleuies dans une solution saturée de carbonate de Lithium.

Après rinçage rapide à l'eau courante, les coupes sont recouvertes d'une lamelle à l'aide d'un milieu de montage, puis la visualisation de l'immunomarquage au microscope optique.

Il est à noter que pour chaque étude immunohistochimique, nous avons inclus des témoins positif et négatif comme contrôles externes afin de valider la spécificité de la technique et d'éviter les faux marquages (faux positifs et faux négatifs). Par ailleurs, nous avons réalisé des dilutions en cascade pour chaque anticorps afin de déterminer la dilution optimale qui permet d'éviter les bruits de fond. La dilution ainsi que les caractéristiques de chaque anticorps sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques des différents anticorps utilisés dans l'étude

Anticorps	**Fournisseur**	**Clone**	**Dilution**
HER2	Dako	A0485	1/600
E-cadhérine	Ventana	36	Prêt à l'emploi
P53	Dako	DO-7	Prêt à l'emploi
Ki67	Dako	MIB-1	Prêt à l'emploi
PD-L1	Dako	22C3	Prêt à l'emploi

3.3- Evaluation du marquage immunohistochimique

- Le marqueur HER2 : L'interprétation de l'immunomarquage du marqueur HER2 dans les cancers gastriques, telle que validée par Hoffmann et al, est basée sur l'évaluation de l'intensité du marquage membranaire et le pourcentage des cellules marquées (Hofmann et al. 2008). L'évaluation de l'intensité du marquage membranaire est effectuée de façon reproductible en tenant en compte le grossissement microscopique (G-X) à partir duquel le marquage est clairement visible (Tableau 3).

Tableau 3 : Interprétation de l'immunomarquage HER2 dans les cancers gastriques

Caractéristiques du marquage membranaire	Score (statut HER2)
- Absence de marquage ou marquage membranaire dans moins de 10 %* des cellules tumorales	0 (négatif)
- **Visible au fort grossissement (40X)** Marquage membranaire faible, à peine perceptible dans plus de 10 %* des cellules tumorales, les cellules ne sont marquées que sur une petite partie de leur membrane	1+ (négatif)
- **Visible au grossissement intermédiaire (10-20X)** Marquage membranaire complet, basolatéral ou latéral faible à modéré dans plus de 10 %*des cellules tumorales	2+ (équivoque)
- **Visible au faible grossissement (2.5-5X)** Marquage membranaire complet, basolatéral ou latéral modéré à intense dans plus de 10 %*des cellules tumorales	3+ (positif)

* Le seuil de 10 % des cellules tumorales marquées n'est appliqué que pour les pièces opératoires. Pour les biopsies, un marquage d'au moins cinq cellules adjacentes cohésives est considéré positif.

En ce qui concerne les cas équivoques, la confirmation de la positivité se fait par la technique d'hybridation in situ fluorescente « FISH » décrite plus tard (page 67).

- **Le marqueur p53 :** Les mutations du gène TP53, fréquemment observées dans les tumeurs gastriques, s'accompagne d'une accumulation nucléaire de la protéine p53 mutée. L'absence de marquage ou un marquage nucléaire diffus (≥ 80% des cellules tumorales marquées) de forte intensité sont interprétées comme une expression aberrante de la protéine p53 (Setia et al. 2016 ; Sun et al. 2019).

- Le marqueur E-cadhérine : L'immunomarquage de la protéine E-cadhérine est évalué en utilisant un score de 0 à 3 (0=absence du marquage, 1= marquage cytoplasmique, 2=marquage membranaire et cytoplasmique, 3=marquage membranaire). Les tumeurs montrant une perte d'expression (score = 0) ou une expression cytoplasmique (score = 1) sont interprétées comme présentant une expression aberrante de la protéine E-cadhérine (Setia et al. 2016 ; Sun et al. 2019).

- Le marqueur PD-L 1 : L'expression de la protéine PD-L1 est évaluée en utilisant le score CPS (Combined Positive Score), correspondant au nombre de cellules PD-L1+ (cellules tumorales, lymphocytes et macrophages) divisé par le nombre total de cellules tumorales viables, multiplié par 100. Le marquage PD-L1 positif est membranaire, complet ou incomplet et le seuil de positivité correspond au CPS≥1 (Krohn et al.2019).

- Le marqueur Ki67 : L'index Ki-67 représente le pourcentage de noyaux colorés par l'anticorps Ki-67. Le marquage est interprété comme positif si plus de 10% des cellules tumorales présentent un marquage nucléaire de forte intensité.

4-Détection du virus d’Epstein-Barr par Hybridation in situ

Des coupes histologiques de 4 µm d’épaisseur sont étalées sur des lames SuperFrost, puis ces dernières sont déparaffinées dans une étuve à 65 ° C pendant 1 h. La recherche du génome viral est réalisée par Hybridation in situ (*ISH, In Situ Hybridization*) des transcrits d'ARN EBER « *Epstein-Barr virus Early RNA* » à partir d’échantillons tissulaires fixés et inclus en paraffine. L’hybridation est effectuée de façon automatisée sur l’instrument BenchMark ULTRA à l’aide de la sonde INFORM EBER (Ventana). La révélation a été réalisée à l'aide du kit de détection ISH iView Blue (Ventana). Ce kit contient un anticorps primaire et un anticorps secondaire biotinylé conjugué à la phosphatase alcaline « AP » qui est utilisée comme enzyme chromogène. Au cours du processus EBER-ISH, la sonde marquée à la fluorescéine s’hybride avec des séquences cibles d'ARN spécifiques dans des cellules. Cette étape est suivie par l'ajout d'un conjugué enzymatique streptavidine-AP (phosphatase alcaline) qui se lie à la biotine présente sur l'anticorps secondaire. La sonde marquée à la fluorescéine est ensuite visualisée avec du 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate « BCIP » et du chromogène nitro bleu tétrazolium « NBT », qui produit un précipité bleu facilement détecté par microscopie optique.

5. Recherche de l'amplification du gène *HER2* par hybridation in situ fluorescente

5.1. Principe

L'hybridation in situ fluorescente (FISH) est une technique de cytogénétique moléculaire fondée sur la réassociation spécifique des brins d'ADN grâce à la complémentarité des bases nucléotidiques. Les fragments d'ADN marqués par fluorescence, appelés sondes, et leurs brins d'ADN complémentaires dans les échantillons sont dénaturés puis ré-appariés pendant l'hybridation. Par la suite, les hybridations aspécifiques et la sonde non hybridée sont éliminées par lavage stringent. Après une contre coloration des noyaux au DAPI, les hybrides spécifiques sont visualisés sous microscope à fluorescence.

5.2. Protocole de la technique FISH

La veille de la technique, des coupes histologiques de 3µm d'épaisseur sont réalisées et étalées sur des lames Superfrost®. Les lames sont ensuite placées dans une étuve à 58ºC pendant toute la nuit. La technique FISH se fait en plusieurs étapes :

- **Déparaffinage**

L'étape de déparaffinage est réalisée par immersion des lames dans une succession de bains, d'abord dans du toluène (2 bains, 10 min chacun) et ensuite dans l'éthanol absolu (2 bains, 5 min chacun). Les lames sont ensuite séchées sur le THERMOBRITE réglé à 45°C (pendant 5min) ou à température ambiante.

- **Prétraitement**

Les lames sont immergées dans la solution de prétraitement 1XSSC (sodium chloride, 0.3 M sodium citrate, pH= 5.3) préchauffée à 80ºC pendant 35min. Ensuite, les lames sont placées dans de l'eau distillée pendant 3 min.

- **Traitement à la pepsine**

Les lames sont placées sur le ThermoBrite à 37°C et le fragment tissulaire est recouvert avec la pepsine diluée à 5mg/ml. La digestion enzymatique se fait pendant 20 min, suivi par un lavage à l'eau distillée pendant 3 min. Les lames sont ensuite déshydratées dans un gradient croissant d'éthanol (70%, 85% et 100%) pendant 2 min chacun, puis séchées avant de procéder à l'étape d'hybridation.

- **Hybridation par la sonde**

A partir de cette étape, il est recommandé de travailler en lumière réduite de manière à préserver les fluorochromes des sondes. La sonde est décongelée à température ambiante, puis centrifugée et vortexée. 10µl de sonde sont déposés sur chaque préparation tissulaire qui est ensuite recouverte d'une lamelle de 22mm x 22mm (en évitant la formation de bulles). L'ensemble (lame-lamelle) est scellé avec de la colle (Rubber-cement), puis placé dans le ThermoBrite et laissé incuber à 37°C pendant 5 min avant de lancer le programme suivant de dénaturation/hybridation (Tableau 4) :

Tableau 4 : Programme ThermoBrite de dénaturation/hybridation

	Température	Temps
Dénaturation	74ºC	5min
Hybridation	37ºC	20h

- **Lavages post-hybridation**

A la fin de l'hybridation, les lames sont sorties du ThermoBrite et la colle est retirée sans retirer la lamelle. Les lames sont ensuite placées dans la solution de lavage 2XSSC/0,3% NP40 à température ambiante pendant 1min. Les lamelles sont ensuite délicatement retirées et les lames sont transférées dans la solution 2XSSC/0,3% NP40 à 73°C pendant 3min, puis un rinçage rapide dans la même solution à température ambiante est effectué. Par la suite, les lames sont laissées sécher à température ambiante et toujours à l'obscurité.

- **Contre-coloration des noyaux au DAPI**

En fonction de la taille du fragment traité, 10 à 20µl de DAPI « 4',6-diamidino-2-phénylindole » sont déposés sur une lamelle couvre-objet et la lame échantillon est ensuite retournée sur la lamelle en évitant les bulles. Les lames sont stockées à 4ºC dans l'obscurité (boites opaques) jusqu'à la lecture sous microscope à épifluorescence.

5.3. Caractéristiques de la sonde utilisée

La détection de l'amplification du gène HER2 a été réalisée sur des échantillons tissulaires fixés et inclus en paraffine à l'aide de la sonde « PATHVYSION HER-2 DNA probe kit ». Ce kit est constitué de deux sondes hybridant sur le chromosome 17 (Figure 22) :

- **La sonde LSI HER2** marquée en SpectrumOrange est une sonde hybridant au niveau du gène HER2 dans la région 17q12.

- **La sonde CEP17** marquée en SpectrumGreen est une sonde centromérique hybridant avec l'ADN de la région 17p11.1 q11.1. Cette sonde sert de contrôle interne et permet de mettre en évidence d'éventuelles variations du nombre de copies du chromosome 17 (polysomies ou monosomies).



Figure 22: Carte génétique et localisation des sondes LSI HER2/CEP17 sur le chromosome 17 (https://www.molecularcatalog.abbott/int/en/PathVysion-HER-2-DNA-Probe-Kit-II).

5.4- Analyse des résultats FISH

Les résultats de FISH sont exprimés par un ratio entre le nombre de signaux HER2 (rouges) par rapport au nombre de signaux centromériques (verts). Le comptage est réalisé sur 20 noyaux. La définition de la positivité de la FISH est un rapport HER2/CEP17 supérieur ou égal à 2,2. Lorsque ce rapport est compris entre 1,8 et 2,2, il est suggéré de compter plus de noyaux (au moins 20 de plus) dans d'autres zones tumorales (Tableau 5) (Hofmann et al. 2008).

Tableau 5: Modalité de comptage des signaux pour l'évaluation du statut du gène HER2, selon les recommandations ASCO/CAP

Rapport des signaux HER2/CEP17	Statut du gène *HER2*
< 1.8	Non amplifié
1.8 – 2.2	Ambigu
> 2.2	Amplifié

Pour l'interprétation, il est important de repérer les zones invasives et de réaliser les comptes de signaux à ce niveau. Comme les tumeurs gastriques sont très hétérogènes, il convient de balayer toute la coupe à la recherche des zones amplifiées.

6- Etude moléculaire

6.1- Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN constitue une étape cruciale dans toute étude moléculaire. Son objectif consiste à l'isolement de l'ADN de bonne qualité et en quantité suffisante pour s'assurer de l'efficacité des applications en aval comme la réaction de polymérisation en chaîne « PCR ». L'extraction d'ADN a été réalisée à partir des coupes tissulaires étalées sur lames en utilisant une méthode développée dans le centre de recherche ICVS « Life and Health Sciences Research Institute » de la Faculté de médecine de l'Université de Minho (Braga-Portugal). Pour chaque cas, cinq lames de 10µm ont été réalisées pour en extraire l'ADN selon les étapes suivantes :

- **Déparaffinage et réhydratation de tissus sur lame**

Les lames sont placées à l'étuve réglée à une température de 60°C, pendant 20min, suivi de leur passage dans deux bains de xylène de 5min chacun. La réhydratation se fait en immergeant les lames dans des bains d'éthanol de degrés décroissant (100º, 96º et 70º), puis dans l'eau distillée. Le déparaffinage et la réhydratation sont réalisés par l'automate de coloration de lames (Leica AutoStainer XL).

- **Macrodissection des tissus**

Les lames sont plongées dans un bain d'hématoxyline de Harris (1 sec) pour rendre le tissu bien visible, puis rincées à l'eau courante. La macrodissection du tissu tumoral (préalablement identifiée par un pathologiste) et du tissu sain (s'il est disponible) a été réalisée à l'aide d'une aiguille stérile, les tissus sont ensuite transférés séparément dans un tube Eppendorf de 1,5 ml.

- **Lyse des tissus**

Les tissus sont resuspendus dans 15µl de tampon de lyse ATL et 10 µl de protéinase K sont ajoutées, puis une incubation toute la nuit à 55ºC. Le temps d'incubation peut être prolongé, si le tissu n'est pas complètement lysé. La quantité d'ATL dépend de la taille du tissu. Si on a mis plus d'ATL, il est recommandé d'augmenter proportionnellement la quantité de la protéinase K.

- **Précipitation des protéines**

Après inactivation de la protéinase K par la chaleur (98ºC, pendant 10 min), les tissus sont refroidis à température ambiante et 50 µl de solution de précipitation des protéines (*PPS, Protein Precipitation Solution*) et 1 µl de glycogène sont ajoutés, puis centrifugation (13000 rpm, 10 min, 4ºC).

- **Précipitation d'ADN**

Après centrifugation, le surnageant contenant l'ADN génomique est transféré dans un nouveau tube Eppendorf, 150µl d'isopropanol sont ajoutés, les tubes sont incubés à -80ºC pendant 1h afin de précipiter l'ADN, puis centrifugation (13000 rpm, 20min, 4ºC).

- **Lavage de l'ADN des contaminants résiduels**

Après centrifugation et rejet du surnageant, 150 µl d'éthanol 70% préalablement refroidi (4ºC) sont ajoutés afin d'éliminer les résidus d'isopropanol sur l'échantillon.

- **Hydratation d'ADN**

Après centrifugation et rejet du surnageant, les échantillons sont incubés à température ambiante pour permettre l'évaporation des résidus d'éthanol. L'ADN est hydraté par ajout de 15 µl d'eau sans nucléase (*nuclease free water*). La quantité d'eau à ajouter dépend de la taille du culot d'ADN.

6.1.1- Quantification d'ADN

L'ADN extrait a été quantifié en mesurant l'absorbance (ou densité optique, DO) à 260 nm (zone d'absorbance maximale des acides nucléiques) par spectrophotométrie à l'aide d'un NanoDrop ND-1000. La pureté de l'ADN extrait est évaluée par mesure de l'absorbance à 280nm et 230nm. Un rapport DO260/DO280 compris entre 1,8 et 2 est généralement accepté comme « pur ». Si ce rapport est nettement inférieur à 1.8, cela peut indiquer la présence de protéines, de phénol ou d'autres contaminants qui absorbent fortement à 280 nm ou près de celle-ci. S'il est supérieur à 2, ce rapport indique une probable contamination par des ARN. Le rapport DO260/DO230 est utilisé comme mesure secondaire de la pureté de l'ADN. Ce rapport pour l'ADN « pur » est généralement compris entre 2,0 et 2,2.

Si ce rapport est nettement inférieur, cela indique la présence de contaminants qui absorbent à 230 nm comme (EDTA, les glucides, le phénol, …).

6.1.2- Purification d'ADN

Les solutions ADN ne répondant pas aux critères de pureté précédemment cités, ont été purifiées. Premièrement, l'ADN est précipité par ajout de l'éthanol absolu (2 volumes), puis incubation à -20ºC pendant toute la nuit. Après centrifugation (20000 g, 25min) et rejet du surnageant, les impuretés résiduelles sont retirées par un lavage à l'éthanol 70% (3 fois). Les tubes sont laissés ouverts à température ambiante pour laisser évaporer l'éthanol résiduel, avant d'hydrater l'ADN par l'eau sans nucléase.

6.2- Etude de l’instabilité des microsatellites

6.2.1- Réaction de polymérisation en chaîne « PCR »

La PCR est une technique d’amplification in vitro permettant d'obtenir un grand nombre de copies identiques d'une région d'ADN spécifique. Le principe de la PCR consiste à réaliser une succession de nombreux cycles de réplication d'un ADN double brin.

Chaque cycle de PCR se décompose en trois étapes (Figure 23) :

- dénaturation de l’ADN matrice par la chaleur (95 °C) afin de séparer les deux brins,

- hybridation des amorces spécifiques de la région à amplifier,

- élongation qui consiste à la synthèse du brin complémentaire par la Taq polymérase à partir des extrémités 3’OH libres des amorces et des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

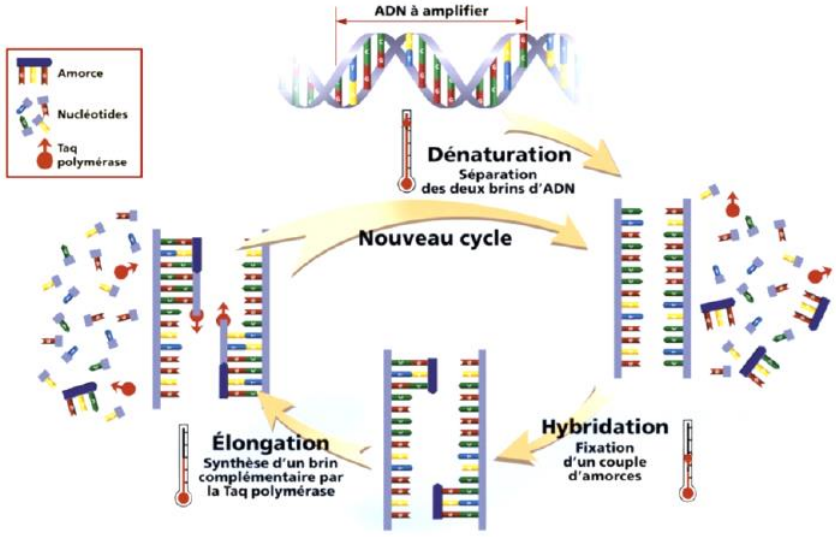


Figure 23: Principe de la technique d'amplification de l'ADN par PCR (https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/).

6.2.2- Détermination du statut MSI (Instabilité des microsatellites)

6.2.2.1- Protocole d'étude

L'analyse du statut MSI est effectuée en utilisant une technique qui ne nécessite pas l'analyse de l'ADN normal du patient, basée sur l'amplification de 5 marqueurs mononucléotidiques quasi-monomorphes (présentant peu de variants de taille) dans la population mondiale (NR27, NR21, NR24, BAT25 et BAT26) (Suraweera et al. 2002). Ces marqueurs sont co-amplifiés par PCR multiplex en marquant l'une des amorces avec un fluorochrome. Les fluorochromes utilisés sont : FAM (6-carboxyfluorescein) pour NR21 et BAT26, HEX (hexachloro-6-carboxyfluorescein) pour NR27 et BAT25 et NED (2, 7, 8-benzo-5-fluoro-2, 4, 7-trichloro-5-carboxyfluorescein) pour NR24. Les séquences des amorces utilisées pour chaque marqueur du panel pentaplex (Buhard et al. 2006) sont représentées dans le tableau 6.

Tableau 6 : Les séquences d'amorces des marqueurs du panel pentaplex

Marqueur	Amorce sens (5' ⟶3')	Amorce antisens (5'⟶ 3')
NR27	AACCATGCTTGCAAACCACT	CGATAATACTAGCAATGACC
NR21	GAGTCGCTGGCACAGTTCTA	CTGGTCACTCGCGTTTACAA
NR24	GCTGAATTTTACCTCCTGAC	ATTGTGCCATTGCATTCCAA
BAT25	TACCAGGTGGCAAAGGGCA	TCTGCATTTTAACTATGGCTC
BAT26	CTGCGGTAATCAAGTTTTTAG	AACCATTCAACATTTTTAACCC

Le milieu réactionnel et les conditions de PCR sont résumés dans les tableaux 7 et 8 suivants :

Tableau 7: Composition du mélange réactionnel de la PCR

Mix PCR	Volume pour une réaction
Master mix (Qiagen)	5µl
Mix primers	1 µl
Eau pure	3 µl
ADN (50ng/ µl)	1µl
Volume final	10µl

Tableau 8 : Programme de la PCR

	95ºC – 10min
38 cycles	94ºC- 30 sec 55ºC – 90 sec 72ºC – 90 sec
	72ºC – 10min
	8ºC - α

6.2.2.2- Electrophorèse sur gel d'agarose

Le contrôle de la réussite de l'amplification se fait par électrophorèse sur gel d'agarose des produits PCR. Pour cela, un gel d'agarose à 3% est préparé. Dans chaque puit, un mélange de 2µl de bleu de bromophénol et 3 µl de produit PCR sont déposés. La migration est réalisée à 140V pendant 30 min et les bandes d'ADN sont visualisées sous UV grâce à la présence du GreenSafe Premium qui émet une fluorescence verte lorsqu'il est lié à l'ADN. La réussite de l'amplification se traduit par la présence de 5 bandes, correspondant aux 5 marqueurs microsatellites (Figure 24).

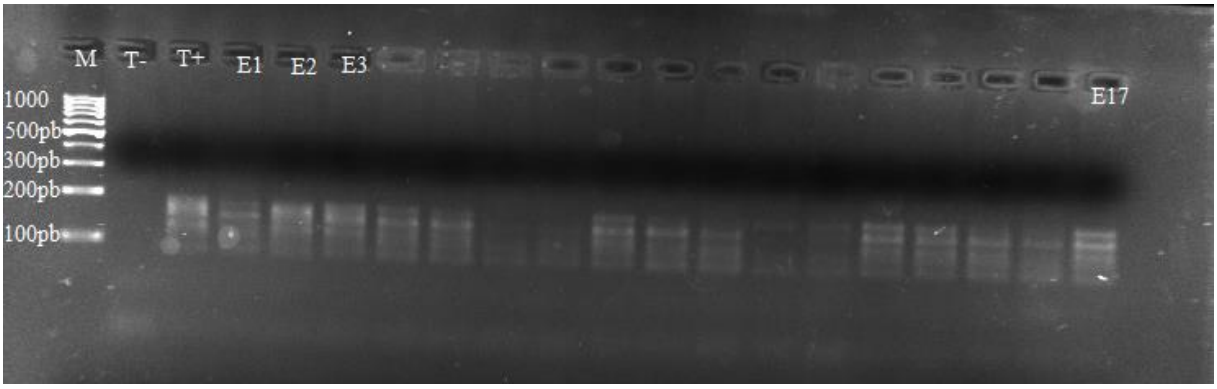


Figure 24: Révélation de l'amplification des 5 marqueurs microsatellites sur gel d'agarose. (M) : Marqueur de taille, (T-) : Témoin négatif, (T+) : Témoin positif, (E) : Echantillon.

6.2.2.3- Electrophorèse capillaire pour le génotypage des marqueurs microsatellites

Pour chaque échantillon, un mix a été préparé en mélangeant 9.5 µl de Formamide Hi-Di ™ (Applied Biosystem) avec 0.5 µl d'un marqueur de taille (*ILS600, Internal Lane Standard 600*). Le mix est vortexé puis aliquoté dans une plaque à 96 puits. Ensuite, 1 µl de produits PCR de chaque échantillon est ajouté. La plaque est centrifugée brièvement pour éliminer les bulles d'air, suivie d'une dénaturation des échantillons à 95 ° C pendant 3 minutes, puis placée dans le congélateur pendant 3 minutes. Ceci a pour but d'éviter la réhybridation des fragments. La plaque est ensuite introduite dans un instrument ABI 3730xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) pour la séparation des fragments en fonction de leur taille.

Le marqueur de taille (ILS 600) sert d'étalonnage pour assigner les tailles des fragments d'ADN cibles séparés par électrophorèse capillaire et un logiciel convertit alors les résultats en données numériques. Après l'électrophorèse capillaire, les fichiers de données numériques des fragments d'ADN (.fsa) générés par le séquenceur sont analysés par le logiciel GeneMapper v4.1 (Applied Biosystems).

6.2.2.4- Analyse des fragments

L'analyse des fragments a été réalisée en utilisant le logiciel GeneMapper v4.1 (Applied Biosystems). L'avantage du panel de 5 marqueurs mononucléotidiques utilisé dans notre étude (NR27, NR21, NR24, BAT25 et BAT26) est leur caractère quasimonomorphique, c'est-à-dire que leur taille est hautement conservée dans la population mondiale. Cela permet de conclure à la présence d'un phénotype MSI au niveau tumoral, sans avoir à effectuer une comparaison avec l'ADN normal du patient. Les mutations au niveau des microsatellites (insertions ou délétions) entraînent l'apparition d'allèles dont la taille sort de la fourchette de variation quasimonomorphique (*QMVR : quasimonomorphic variation range*). La fourchette de variation quasimonomorphique de chaque marqueur décrite par Buhard et ses collaborateurs (Buhard et al. 2006) a été établie dans notre étude en utilisant une série d'ADN normal (Tableau 9).

Tableau 9 : Fourchette de variation quasimonomorphique des marqueurs du panel pentaplex

Marqueur du panel pentaplex	QMVR
NR27	82-88
NR21	101-107
NR24	119-125
BAT25	142-148
BAT26	174-180

On distingue trois scénarios (Viana-Pereira et al. 2009) :

- **MSI-H (*MSI-high*) :** Lorsque la taille allélique d'au moins deux marqueurs du panel pentaplex sort de la fourchette de variation quasimonomorphique

- **MSI-L (*MSI-Low*) :** Lorsque la taille allélique d'un seul marqueur du panel pentaplex sort de la fourchette de variation quasimonomorphique

- **MSS (*MicroSatellite Stable*) :** Lorsqu'aucun marqueur du panel pentaplex ne sort de la fourchette de variation quasimonimorphique.

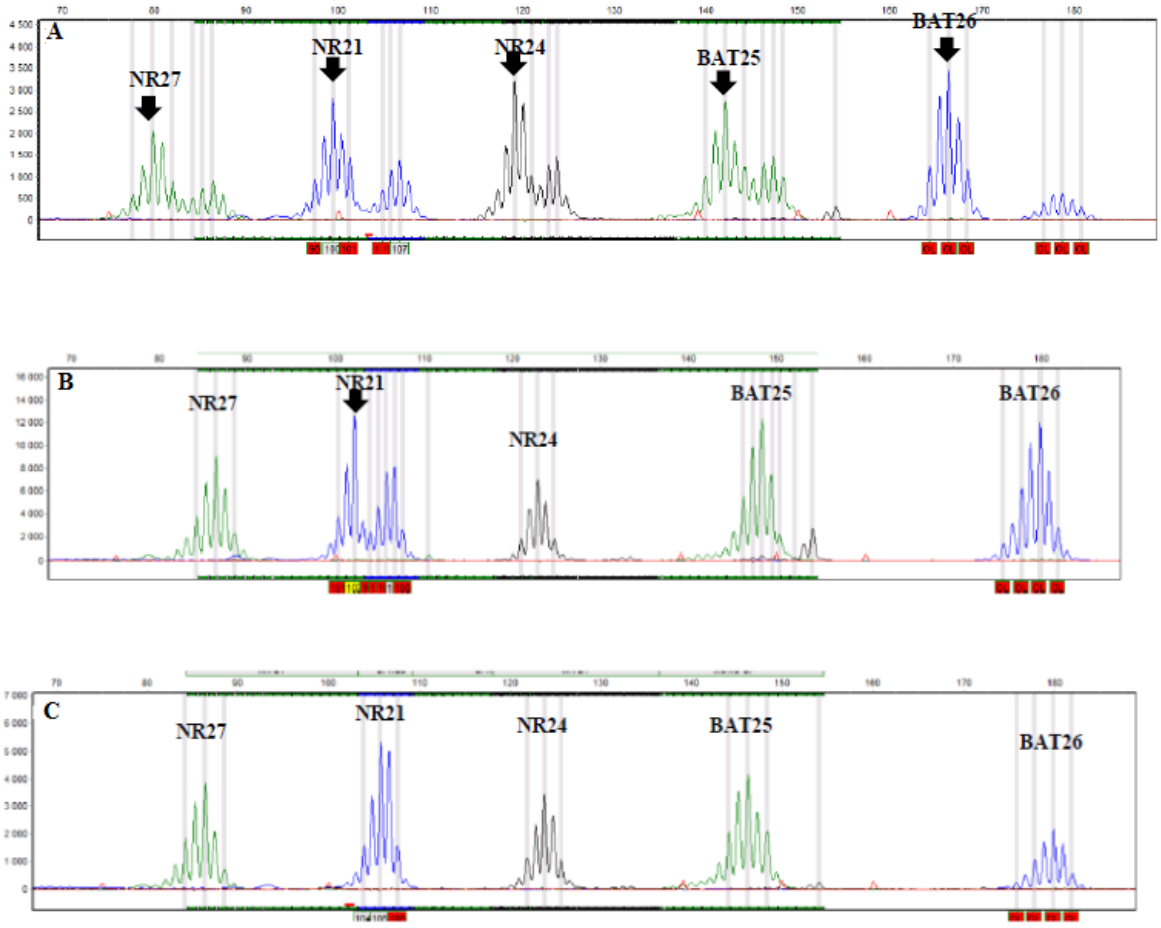


Figure 25 : Eléctrophérogramme montrant (A) un profil MSI-H, (B) un profil MSI-L et (C) un profil MSS

6.2.3- Détermination du profil mutationnel des gènes cibles de l'instabilité microsatellite

6.2.3.1- Protocole d'étude

La détermination du profil mutationnel des gènes cibles de l'instabilité microsatellite a été réalisée par PCR multiplex et le génotypage par électrophorèse capillaire. Vingt-deux gènes à séquences répétées ont été sélectionnés en raison de leur implication dans des voies cellulaires clés (maintien de l'intégrité génomique, régulation du cycle cellulaire, apoptose et synthèse des microARN). Les 22 gènes sélectionnés sont : *TCF4, BAX, TGFβRII, PTEN exon 7, PTEN exon 8, EGFR, MSH3, MSH6, ATM, ATR, BLM, BRCA1, BRCA2, DNAPKcs, MBD4, MRE11, RAD50, XRCC2, WISP3, XPO5, TRBP2 et HSP110*. La PCR a été réalisée des amorces marquées par des fluorochromes (FAM, HEX ou NED) spécifiques pour chaque gène cible. Le tableau 10 résume les séquences des différentes amorces utilisées pour la détermination du profil mutationnel des gènes cibles.

Tableau 10 : Les séquences d'amorces utilisées pour l'amplification des gènes cibles

Gène	Amorce sens	Amorce antisens
TCF4	GCCTCTATTCACAGATAACTC	GTTCACCTTGTATGTAGCGAA
TGFβ-RII	CTTTATTCTGGAAGATGCTG	CACATGAAGAAAGTCTCACCAGGC
PTEN ex 8	GTGCAGATAATGACAAGGAATA	GTTTCTTACACATCACATACATACAAGTC
RAD50	AACTGCGACTTGCTCCAGAT	CAAGTCCCAGCATTTCATCA
XRCC2	ACAGACTATCCCAAAGCTCTGAAG	AAGTAAGTGGGTGCTACTACTGCA
ATM	AAATCCTTTTTCTGTATGGGAT	GTTACTGAGTCTAAAACATGG
MSH6	GGGTGATGGTCCTATGTGTC	CGTAATGCAAGGATGGCGTG
BAX	TTCATCCAGGATCGAGCAGGGCGA	CACTCGCTCAGCTTCTTGGTGGAC
XPO5	TTTTCCACAGAAACCCTTGG	CCATCATTGTCCAGCACCT
EGFR	TACAGAAACGCATCCAGCAA	ACTTGTGGCTTGTGCTCCTT
MBD4	GATGCTGGAGCATGTGGT	CAGAACAAAAATTTGATCCTGAACTC
DNAPKcs	GAAGTTCTAGACTCATGGATG	GTGCATCTCACCTGTATCTGG
TRBP2	CGGGAGATGGTAGTCAGGAA	AAATGAGGATGGGACACACC
BRCA1	AGCCCACCTAATTGTACTG	CCATGAGTTGTAGGTTTCTG
MRE11	AATATTTTGGAGGAGAATCTTAGGG	AATTGAAATGTTGAGGTTGCC
WISP3	TCTCCCTTTGTTTTAGC	ATTGGTCACCCTGTTAG
ATR	TCTTCTGTAGGAACTTGAAAGCC	TGAAAGCAAGTTTTACTGGACTAGG
PTEN ex 7	CCTGTGAAATAATACTGGTATG	CTCCCAATGAAAGTAAAGTACA
MSH3	AGATGTGAATCCCCTAATCAAGC	ACTCCCACAATGCCAATAAAAAT
BLM	CTCTGCCACCAGGAAGAATC	ACAGCAGTGCTTGTGAGAAC
HSP110	CCCTGTCCATCCATTGGAATTGA	GGAACTGCATCTGTGACGGAA
BRCA2	TTGCTCACAGAAGGAGGACT	GCATTTGCTTCAAACTGGGCT

Le milieu réactionnel et les conditions de PCR sont résumés dans les tableaux 11 et 12 suivants :

Tableau 11 : Composition du mélange réactionnel de la PCR

Mix PCR	Volume pour une réaction
Master mix (Qiagen)	5µl
Mix primers	1 µl
Eau pure	3 µl
ADN (50ng/µl)	1µl
Volume final	10µl

Tableau 12 : Programme du thermocycleur

	95ºC – 15min
36 cycles	94ºC- 30 sec 55ºC – 90 sec 72ºC – 90 sec
	72ºC – 10min
	8ºC - α

6.2.3.2- Electrophorèse capillaire et analyse des fragments

La séparation des fragments par électrophorèse capillaire a été réalisée suivant le même protocole décrit précédemment pour la détermination du statut MSI. L'analyse des fragments a été réalisée en utilisant le logiciel GeneMapper v4.1 (Applied Biosystems). Des échantillons d'ADN normal (n=10) ont été analysés pour établir le profil du pic de référence pour chaque gène. La présence des profils de pics anormaux par rapport au profil de référence indique la présence d'une mutation. Pour les échantillons présentant des profils de pics anormaux, chaque PCR a été répétée au moins deux fois pour confirmer la présence de mutations.

7- Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS v20.0 (IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA). Les corrélations entre les caractéristiques clinicopathologiques et les différents sous-types moléculaires ont été analysées à l'aide d'un test du chi-deux ou d'un test exact de Fisher. La survie globale « SG » a été estimée par la méthode de Kaplan-Meier, et les différences de survie au sein des sous-types moléculaires ont été examinées par le test du log-rank. Une valeur p inférieure à 0,05 est considérée comme statistiquement significative.

Résultats

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 166 patients atteints d'adénocarcinome gastrique recrutés et diagnostiqués au service de gastroentérologie du CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2014 et décembre 2018. Les cas inclus dans l'étude sont au nombre de 125 patients. 41 cas ont été exclus à cause de l'absence du bloc tissulaire. Les données cliniques et histologiques sont recueillies à partir du dossier médical informatisé du patient (HOSIX) et sont insérées de façon anonyme dans un tableau Excel.

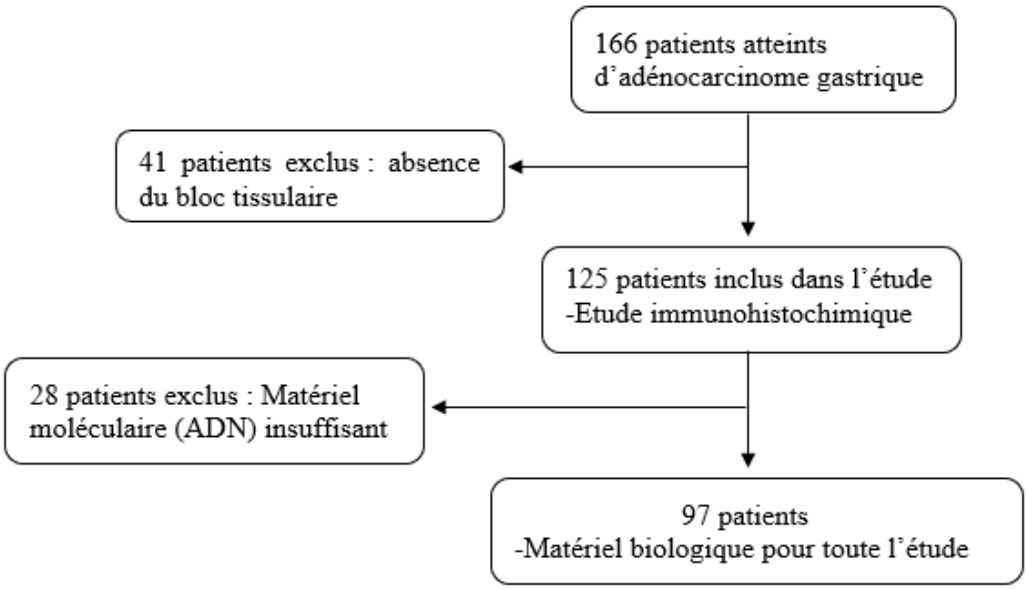


Figure 26 : Les patients inclus dans l'étude

Dans ce chapitre, nous allons présenter l'ensemble des résultats épidémiologiques et histo-moléculaires obtenus. Ensuite, nous allons répartir les patients en différents groupes moléculaires en se basant sur trois systèmes de classification : TCGA (*The Cancer Genome Atlas*), ACRG (*Asian Cancer Research Group*) et classification intégrée. Par ailleurs, nous avons jugé nécessaire d'établir des associations entre les différents groupes moléculaires et les facteurs clinicopathologiques des patients, puis d'évaluer l'impact des différentes altérations sur la survie des patients.

I- Etude descriptive

1- Répartition selon le sexe

Notre série d'étude est caractérisée par une prédominance masculine. En effet, cette population comprend 77 hommes (62%) et 48 femmes (38%), soit un sex-ratio de 1.6 (Figure 27).

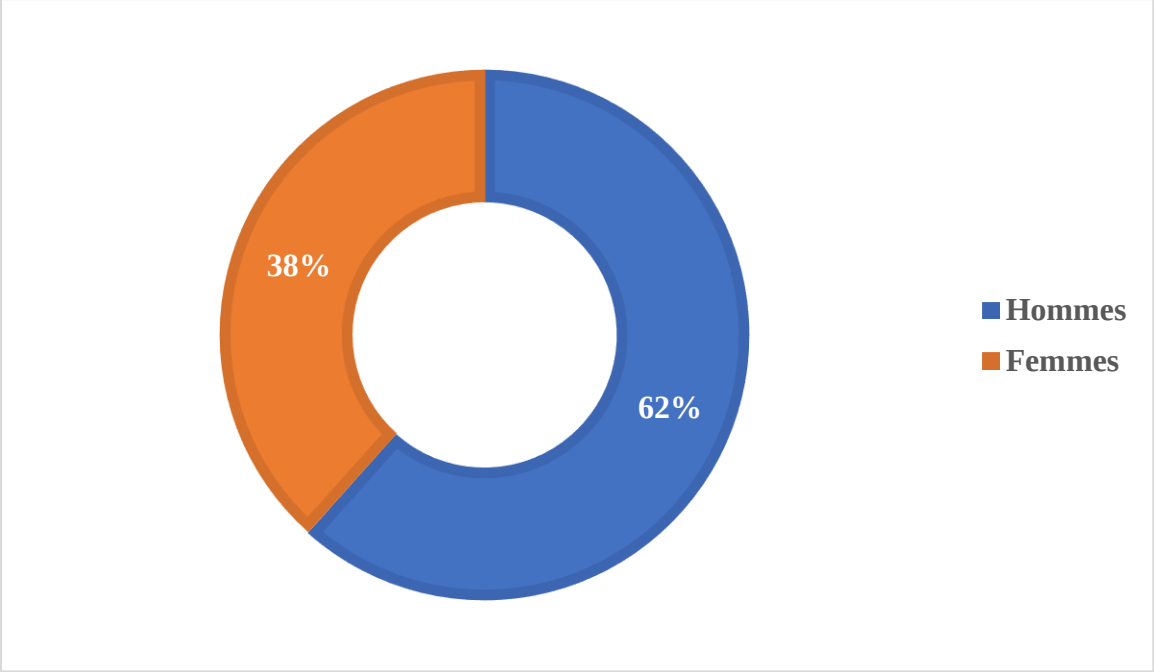


Figure 27: Répartition des patients selon le sexe

2- Répartition selon l'âge

L'âge moyen des patients de l'étude est de 58.7 ans avec un âge minimal de 24 ans et un âge maximal de 90 ans. Nous remarquons une augmentation de la fréquence en fonction de l'âge avec un pic dans la tranche d'âge [60-69 ans] (Figure 28).

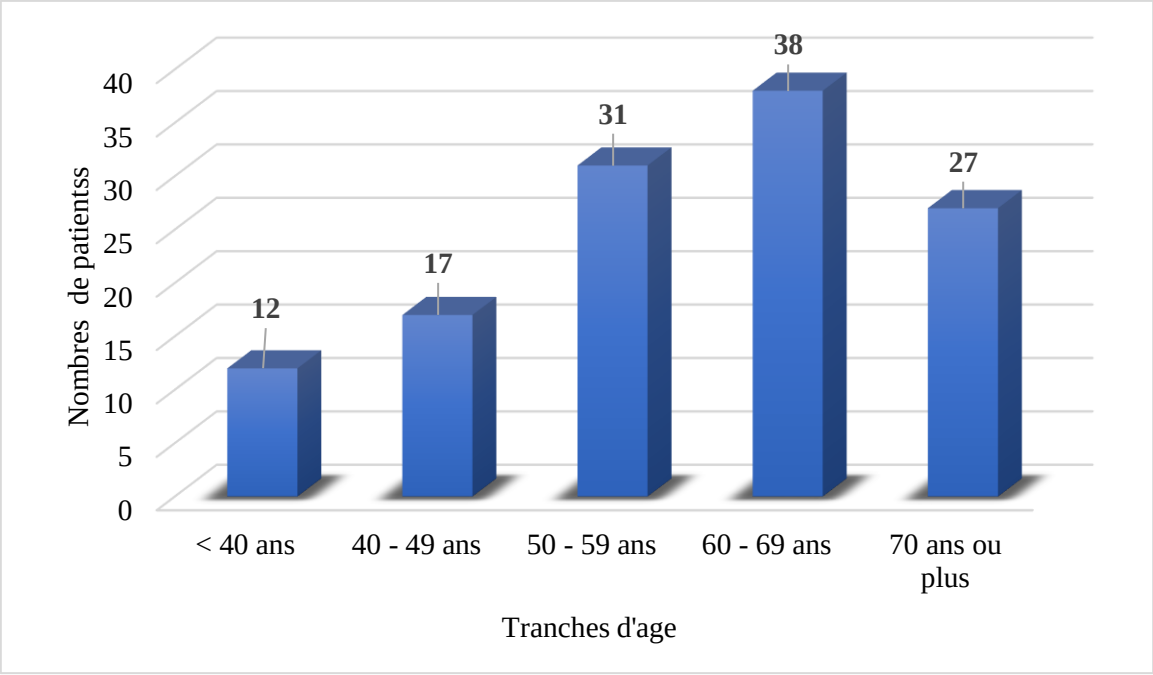


Figure 28 : Répartition des patients selon les tranches d'âge

3- Facteurs de risque

Le cancer gastrique est une maladie multifactorielle. Plusieurs facteurs environnementaux, alimentaires et génétiques ont été incriminés comme facteurs de risque de ce cancer. Les facteurs de risque du cancer gastrique relevés dans notre étude sont illustrés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Facteurs de risque du cancer gastrique retrouvés dans cette étude

Facteur de risque	Effectif	Pourcentage
Tabac	34	27.2%
ATCD de gastrectomie	8	6.4%
ATCD d'ulcère gastrique	4	3.2%

4- Signes cliniques

Les signes cliniques du cancer gastrique sont polymorphes et peuvent aller d'une simple gêne épigastrique à une masse tumorale abdominale palpable à l'examen physique. Les signes cliniques les plus fréquents et qui sont retenus dans cette étude sont les épigastralgies (55.2%), l'amaigrissement (48.0%), les vomissements (36.8%), moelena (24.8%), les hématémèses (23.2%), l'anémie (13.6%), l'anorexie (12.0%), l'asthénie (12.0%) et la dsyphagie (8.8%) (Tableau 14).

Tableau 14 : Fréquence des signes cliniques des patients inclus dans l'étude

Signes cliniques	Effectif	Pourcentage
Epigastralgies	69	55.2%
Amaigrissement	60	48.0%
Vomissements	46	36.8%
Moelena	31	24.8%
Hématémèses	29	23.2%
Anémie	17	13.6%
Anorexie	15	12.0%
Asthénie	15	12.0%
Dsyphagie	11	8.8%

Devant les signes cliniques décrits ci-dessus et pouvant suspecter un cancer gastrique, un examen endoscopique a été recommandé pour une exploration digestive.

5- Aspect endoscopique

Tous les patients de l'étude (n=125) ont bénéficié d'un examen endoscopique. La figure 29 représente les aspects endoscopiques retrouvés qui sont nombreux et différents. L'aspect ulcéro-végétant était le plus fréquent dans 68 % des cas (n=85), suivi de l'aspect ulcéré dans 18% des cas (n=22), aspect végétant dans 9% des cas (n=11), aspect infiltré dans 3% des cas (n=4), gros plis dans 1% des cas (n=2) et aspect sténosant dans 1% des cas (n=1).

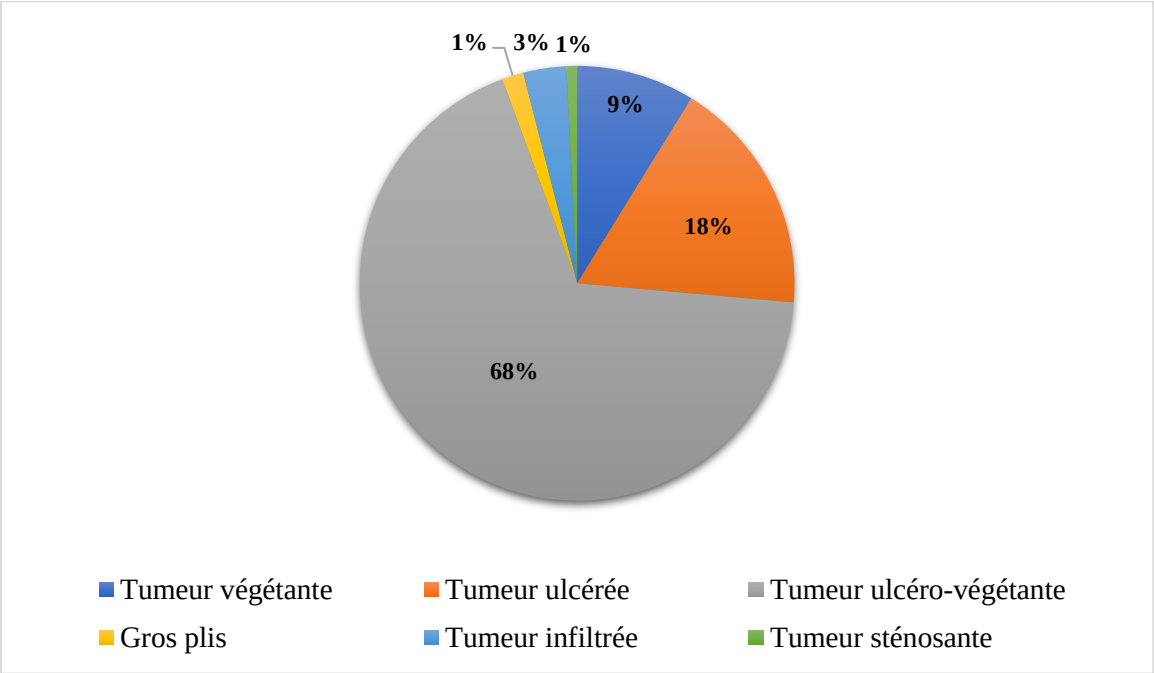


Figure 29 : Répartition des adénocarcinomes gastriques selon leur aspect endoscopique

6- Localisation anatomique de la tumeur

La localisation anatomique de la tumeur subdivise le cancer gastrique en deux groupes qui sont : cancer du cardia (situé dans l'estomac proximal) et non-cardia (situé dans l'estomac distal). Ces deux groupes se distinguent par des facteurs de risque et des caractéristiques épidémiologiques. Notre série d'étude est caractérisée par une prédominance des adénocarcinomes distaux (non-cardia) qui représentent 70% des cas (n=87). Les adénocarcinomes proximaux (cardia) représentent 30% des cas (n=38) (Figure 30).

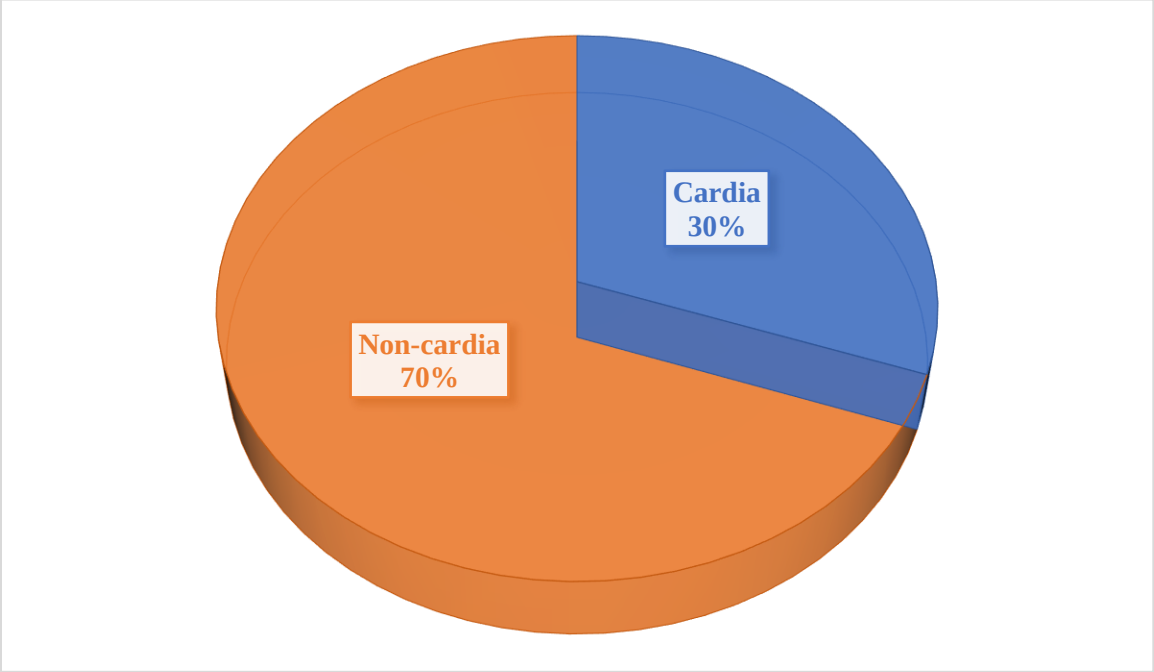


Figure 30 : Répartition des adénocarcinomes gastriques selon leur localisation anatomique

7- Evolution des signes

Divers signes cliniques peuvent précéder l'apparition d'une tumeur, toutefois, le délai entre la constatation des premiers signes cliniques et la découverte du cancer est variable. Dans notre série, 56% (n=70) des patients ont consulté dans un délai allant d'un à six mois, 20.8% (n=26) des patients ont consulté dans un délai supérieur à 6mois. 23.2% (n=29) des patients ont consulté dans un délai inférieur à un mois (Figure 31).

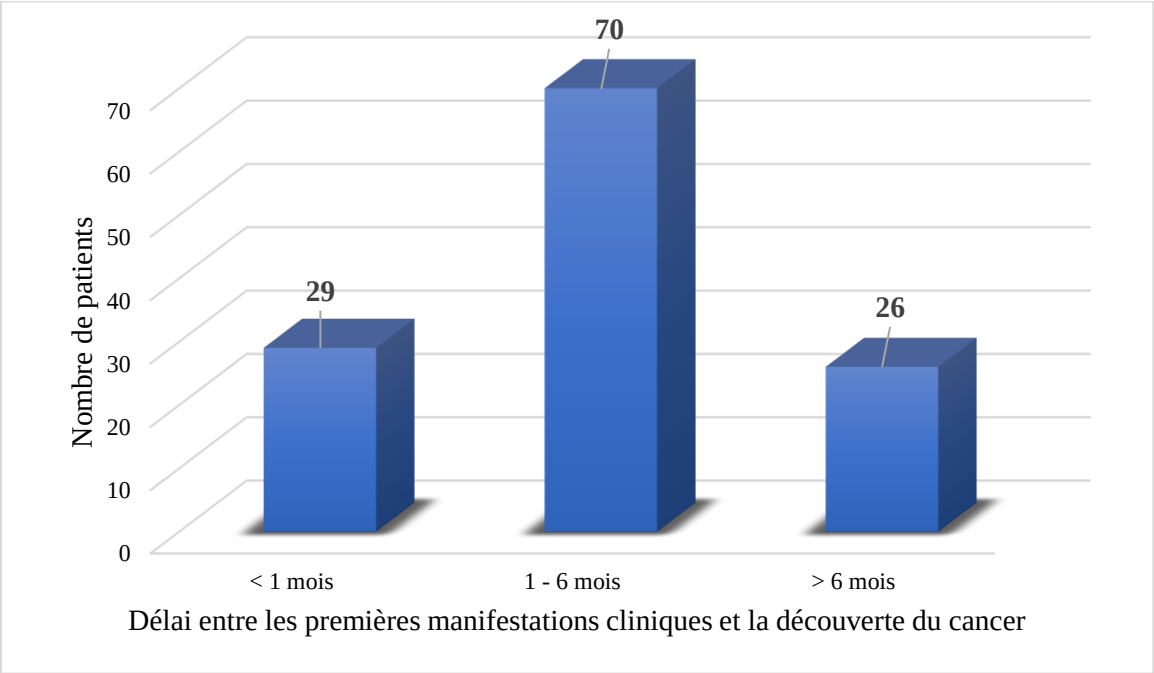


Figure 31 : Délai diagnostique des adénocarcinomes gastriques dans cette étude

8- Classification histologique de Lauren

La classification de Lauren basée sur les critères histologiques permet de distinguer trois types d'adénocarcinome gastrique :

- **Type intestinal :** se développe lentement et est souvent précédé d'une phase précancéreuse prolongée, associée à une gastrite atrophique sévère avec métaplasie intestinale. Ce type est caractérisé par les cellules tumorales bien différenciées formant des structures glandulaires.

- **Type diffus :** Ce type est caractérisé par une infiltration muqueuse de cellules tumorales comportant un cytoplasme rempli de mucine et un noyau excentré, leur donnant un aspect de cellules en bague à chaton. Les cancers gastriques diffus sont très agressifs et forment des métastases plus rapidement que les cancers gastriques de type intestinal. Dans ce type histologique, les cellules tumorales sont peu différenciées et s'étendent plus ou moins diffusément dans la paroi gastrique.

- **Type mixte :** Il associe les deux aspects (intestinal et diffus).

Le type histologique le plus fréquent dans cette étude est l'adénocarcinome intestinal, retrouvé dans 63% (n=79) des cas, suivi du type diffus dans 33% (n=41) des cas puis l'adénocarcinome mixte dans 4% (n=5) des cas (Figure 32).

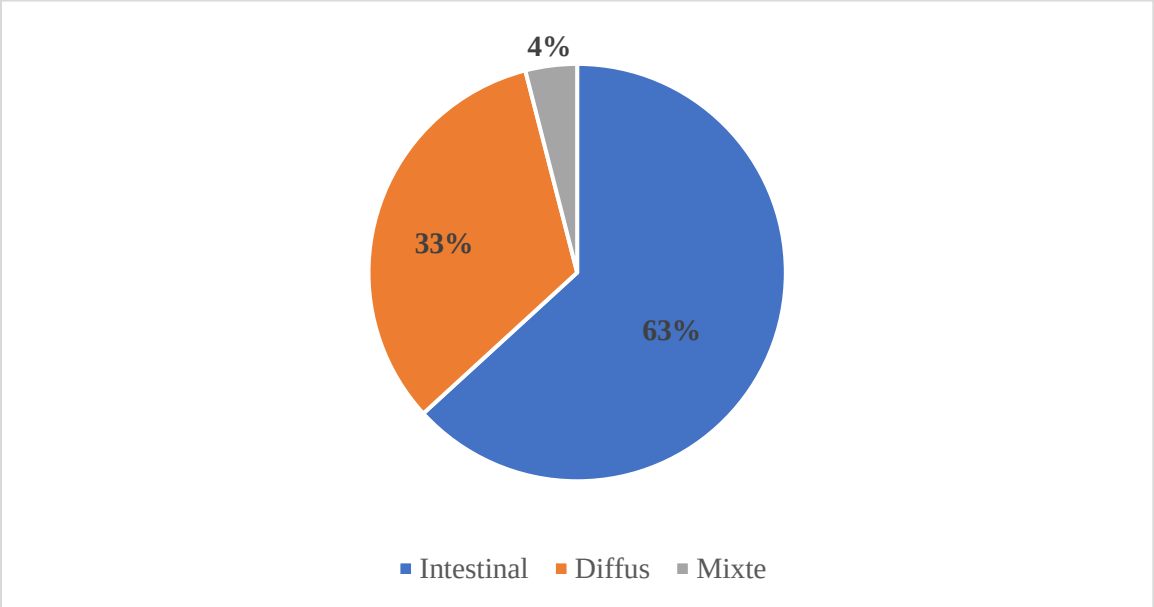


Figure 32 : Répartition des adénocarcinomes gastriques selon la classification de Lauren

II- Etude immunohistochimique

1- Etude de l'expression de la protéine p53 (n=125)

L'étude de l'expression de la protéine p53 a été réalisée par immunohistochimie. L'absence de marquage ou un marquage nucléaire diffus (≥ 80% des cellules tumorales marquées) de forte intensité sont interprétées comme une expression aberrante de la protéine p53 (Figure 33), comme ça été décrit précédemment dans plusieurs études (Setia et al. 2016 ; Sun et al. 2019). Les résultats sont résumés dans le tableau 15 ci-dessous :

Tableau 15: Fréquence de l'expression de la protéine p53

Expression	Nombre de cas	Fréquence
Aberrante (négatif ou ≥ 80%)	64	51.2%
Normale	61	48.8%

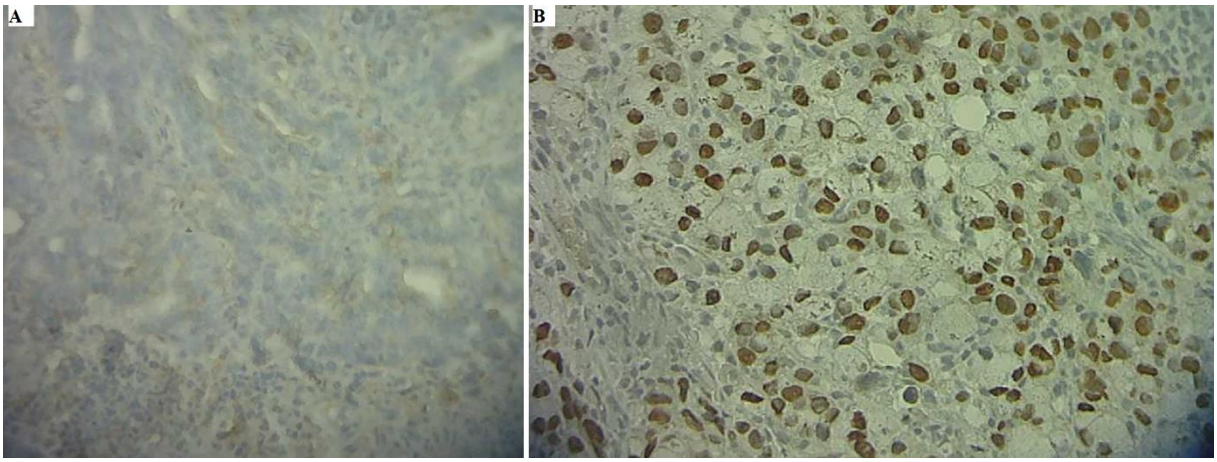


Figure 33 : Immunomarquage de la protéine p53. ***(A)*** *absence d'expression de la p53 ;* ***(B)*** *marquage nucléaire de la p53 (Gx400)*

2- Etude de l'expression de la protéine E-cadhérine (n=125)

Les tumeurs montrant une perte d'expression ou une expression cytoplasmique sont interprétées comme présentant une expression aberrante de la protéine E-cadhérine, comme décrit précédemment dans d'autres études (Setia et al. 2016 ; Y. Sun et al. 2019). Le tableau 16 ci-dessous résume les résultats obtenus de l'étude immunohistochimique de la protéine E-cadhérine obtenus dans notre série. L'expression aberrante de la E-cadhérine était plus fréquente dans les adénocarcinomes gastriques de type diffus/mixte (p=0,001).

Tableau 16 : Fréquence de l'expression de la E-cadhérine dans cette étude

Expression de la E-cadhérine	Nombre de cas	Fréquence
Aberrante	38	30.4%
Normale	87	69.6%

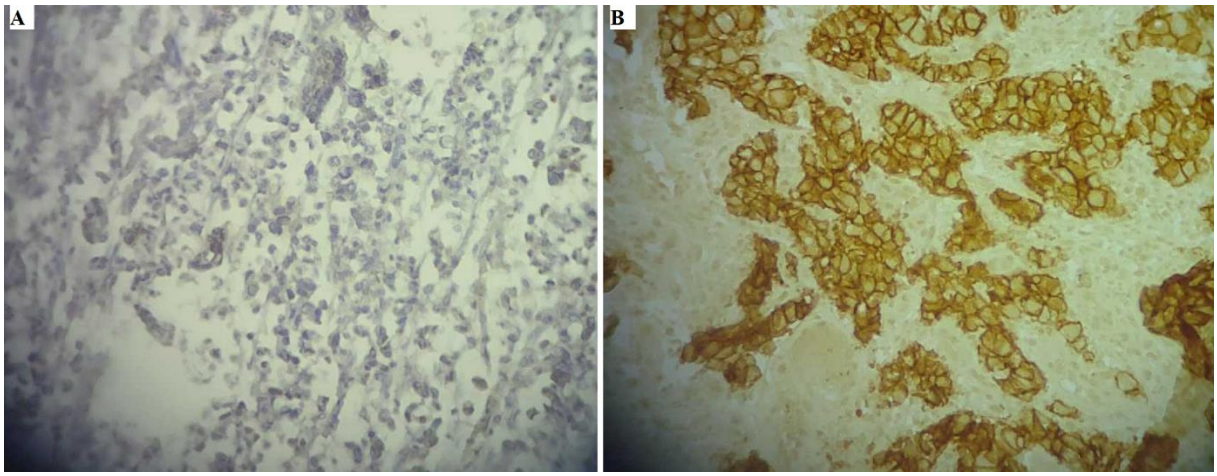


Figure 34 : Immunomarquage de la E-cadhérine. ***(A) :*** *cas de perte d'expression de la E-cadhérine ;* ***(B) :*** *cas d'expression membranaire de la E-cadhérine. (Gx400).*

3- Etude de l'expression de l'antigène Ki67 (n=125)

L'antigène Ki67 est un marqueur de prolifération cellulaire. Son expression augmente tout au long de la division cellulaire pour atteindre un pic en phase S. L'estimation du taux de prolifération des cellules tumorales est actuellement l'un des paramètres pronostiques les plus importants. La détermination de l'index Ki67 a été réalisée par immunohistochimie en comptant le pourcentage de cellules tumorales dont le noyau est marqué par l'anticorps Ki67.

Les résultats de l'étude immunohistochimique de l'antigène Ki67 sont représentés dans le tableau 17, où nous remarquons que la majorité (60.8%) des tumeurs analysées étaient caractérisées par un indice de prolifération cellulaire Ki67 élevé (>10%) (Figure 35).

Tableau 17: Statut de l'indice de prolifération cellulaire Ki-67 dans les adénocarcinomes gastriques

% des cellules marquées	Nombre de cas	Fréquence
< 10%	49	39.2 %
≥10%	76	60.8 %
Total	125	100 %

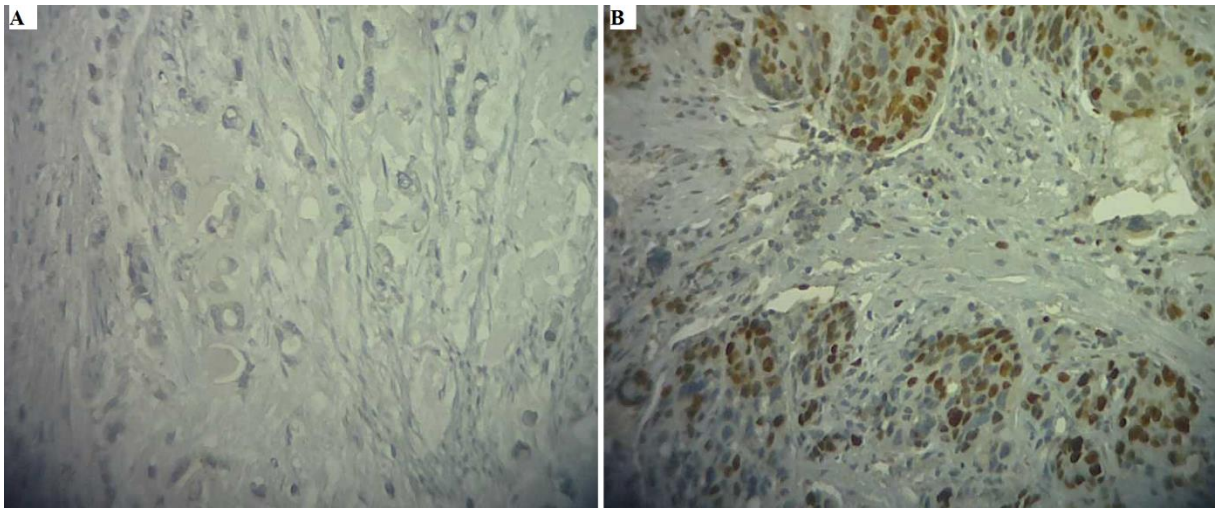


Figure 35 : Immunomarquage de l'antigène Ki-67. ***(A)*** *un cas négatif ;* ***(B)*** *un cas montrant un marquage nucléaire du Ki67. (Gx400).*

4- Etude de l'expression du ligand PD-L1 (n=38)

La collaboration menée avec le centre de recherche en oncologie moléculaire du « Barretos Cancer Hospital, Barretos, Sao Paulo, Brazil » nous a permis de réaliser l'analyse d'expression du ligand PD-L1. Cependant, cette étude n'a été faite que sur 38 cas puisqu'on s'est retrouvé avec un épuisement du matériel biologique pour plusieurs blocs. Différentes techniques histologiques, immunohistochimiques et moléculaires ont précédé la recherche de PD-L1.

Sur ces 38 cas analysés, 6 (15.8%) montraient un marquage membranaire du ligand PD-L1 (Figure 36). Par ailleurs, aucun facteur clinicopathologique n'était significativement associé à l'expression du ligand PD-L1.

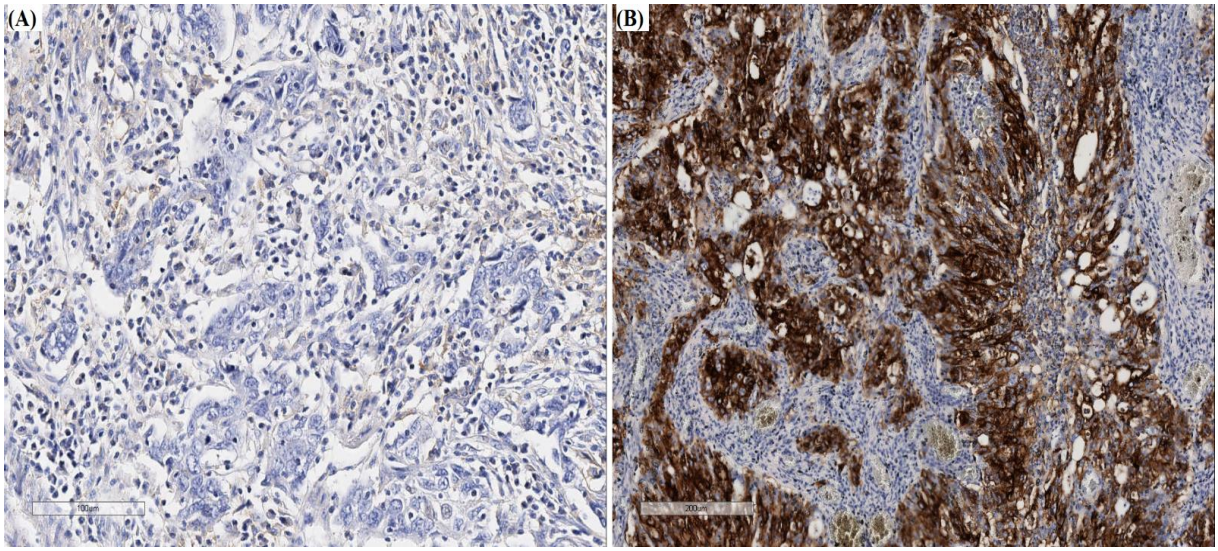


Figure 36 : Marquage du ligand PD-L1. (A) Absence d'expression du ligand PD-L1, (B) un cas présentant une expression positive du ligand PD-L1. (Gx400).

5- Détection de l'infection par le virus d'Epstein-Barr « EBV » (n=97)

La présence du génome viral a été mise en évidence par hybridation in situ des ARN EBER dans 6 sur 97 cas analysés (6.2 %) (Figure 37). En outre, aucune association significative n'a pu être établie entre l'infection par EBV et les différents paramètres clinicopathologiques étudiés.

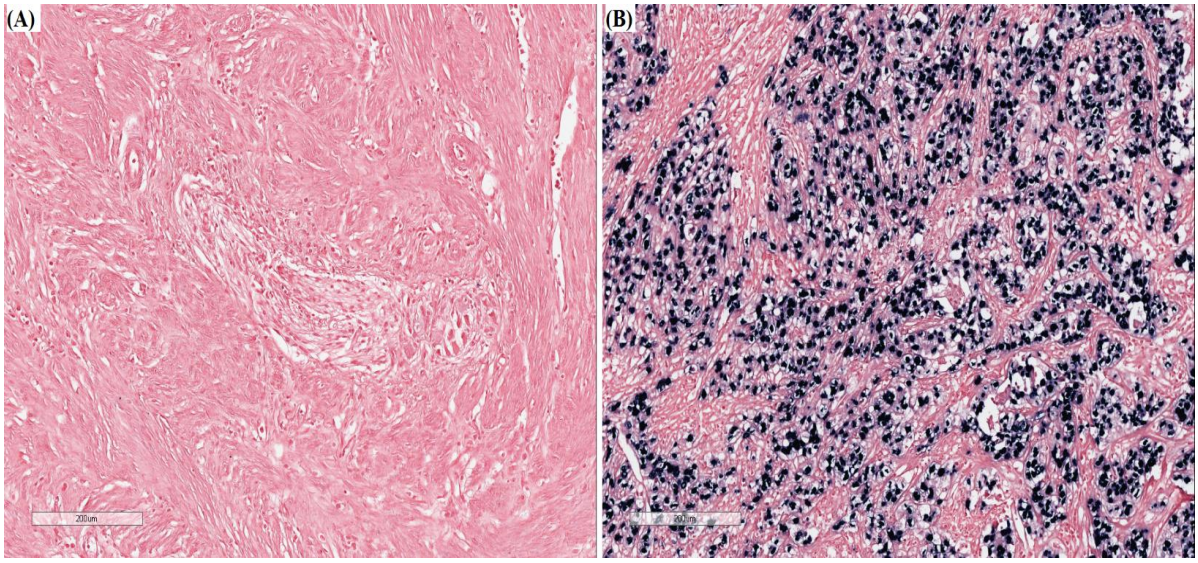


Figure 37 : Résultat de l'hybridation in situ EBER. (A) un cas négatif à l'infection par EBV, (B) un cas positif à l'infection par EBV. (Gx400).

6- **Analyse de l'expression de la protéine HER2 (n=125)**

La recherche de la surexpression du récepteur HER2 par immunohistochimie (IHC) a montré que 92 cas (73.6%) étaient de score 0 ; 16 cas (12.8%) de score 1 ; 10 cas (8%) de score 2 et 7 cas (5.6%) de score 3 (Figure 38).

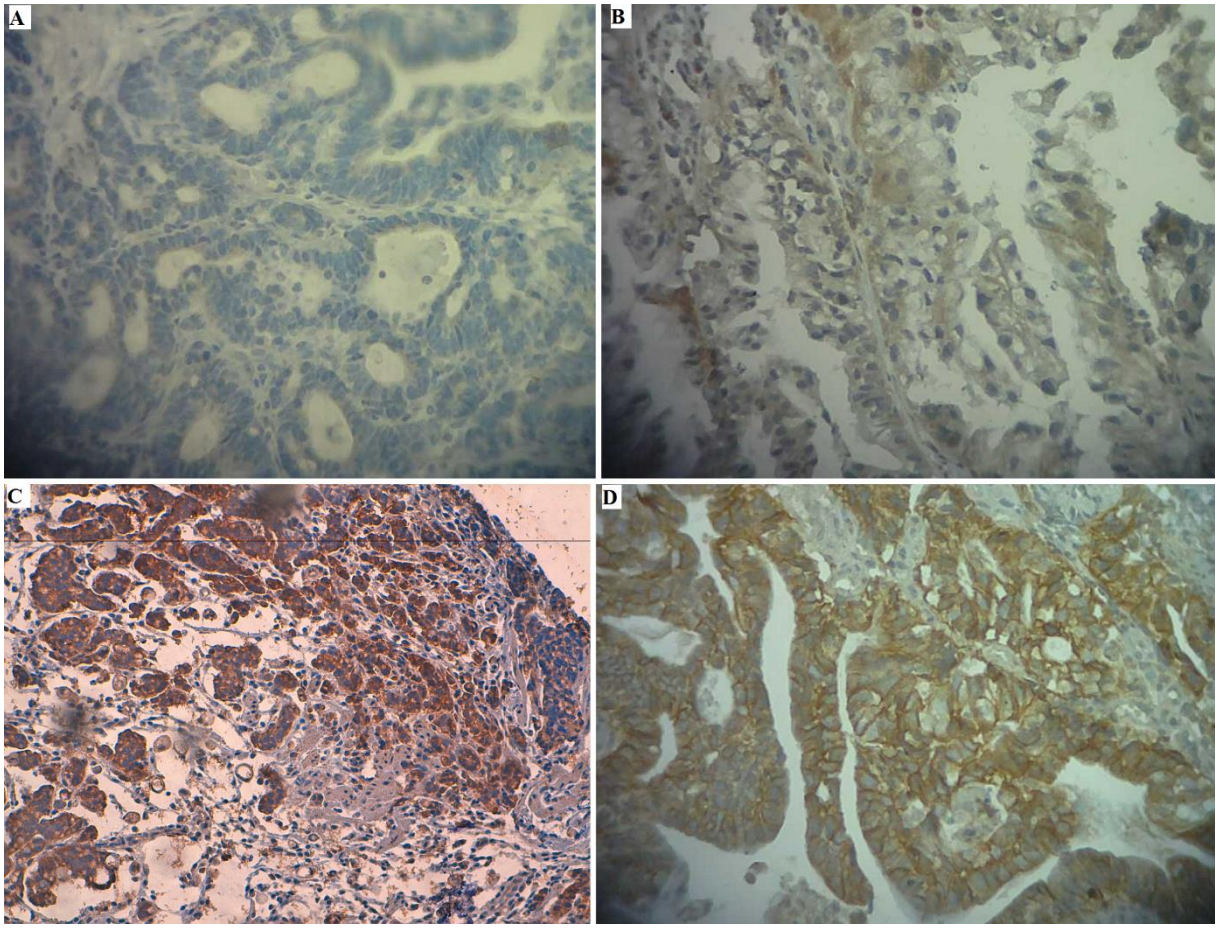


Figure 38 : Immunomarquage membranaire de la protéine HER2. (A) Score 0, (B) Score 1+, (C) Score 2+ et (D) Score 3+. (Gx400).

III- Cytogénétique moléculaire

1- Mise en évidence de l'amplification du gène *HER2* par hybridation in situ fluorescente « FISH »

La détection de l'amplification du gène *HER2* par FISH a été réalisée uniquement sur les cas de score 2 en immunohistochimie. La figure 39 montre une amplification du gène HER2 marquée par la présence de nombreux signaux rouges correspondant au gène HER2. Le signal vert correspond au centromère du chromosome 17 (CEP17). Sur dix cas analysés par FISH, cinq ont été amplifiés. Ainsi, les tumeurs HER2-positives représentent 9.6% (n=12) des cas dans notre série.

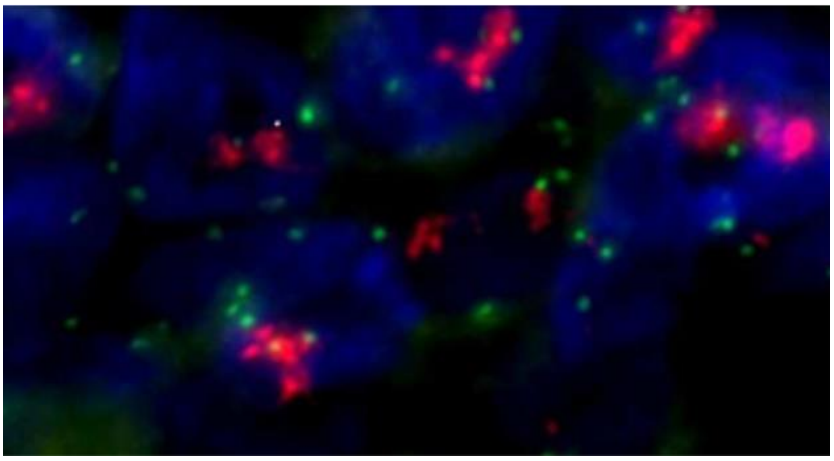


Figure 39 : Résultat de la technique FISH : Amplification du gène HER2. Les signaux verts témoins (CEP17), signaux rouges indiquent le nombre de copies du gène HER2.

Par ailleurs, aucune association significative entre le statut HER2 et les différents facteurs clinicopathologiques (âge, sexe, localisation de la tumeur, différenciation tumorale, statut tabagique, ATCD de gastrectomie, ATCD d'ulcère gastrique et classification de Lauren) n'a été observée.

IV- Etude de l'instabilité microsatellite et gènes cibles du point de vue moléculaire (n=97)

1- Détermination du phénotype MSI

L'extraction d'ADN pour l'analyse moléculaire a été réalisée sur 125 cas, toutefois, 28 cas ont été exclus à cause de la faible quantité d'ADN. Parmi les 97 tumeurs gastriques évaluées, 13 (13.4%) présentaient un phénotype MSI-H, 7 (7.2%) présentaient un phénotype MSI-L et 77 (79.4%) présentaient un phénotype MSS (Figure 40). Les tumeurs gastriques MSI-H étaient associées à des caractéristiques clinicopathologiques spécifiques : un âge avancé (p = 0,004), la localisation distale de la tumeur (p <0,001) et un sous-type histologique intestinal (p <0,001).

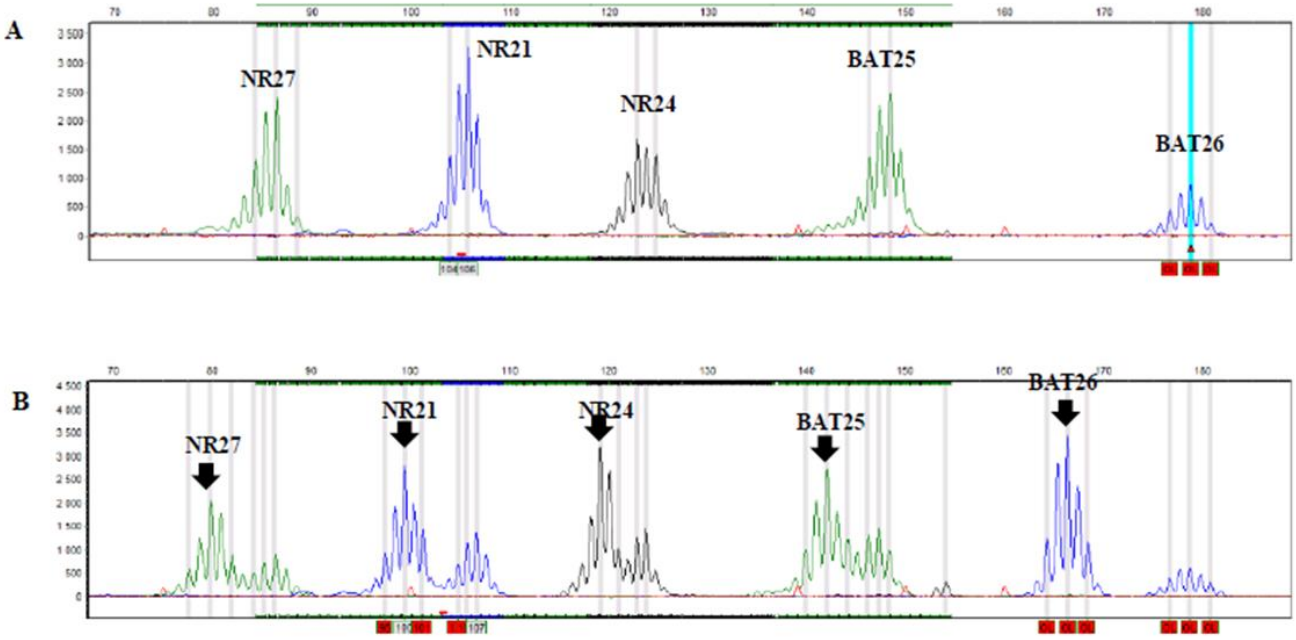


Figure 40 : Eléctrophérogramme montrant (A) un profil MSS et (B) un profil MSI-H

2- Etude du profil mutationnel des gènes cibles de l'instabilité microsatellite

La défaillance du système MMR entraine l'accumulation de mutations dans les gènes cibles de l'instabilité microsatellite qui se trouvent dans tout le génome. Nous avons étudié le profil mutationnel de 22 gènes cibles dans les cas MSI-H. Des mutations ont été détectées dans 50% des gènes cibles analysés (11/22 gènes). Les gènes les plus fréquemment mutés étaient *HSP110* (84,6%), *EGFR* (30,8%), *BRCA2* (23,1%), *MRE11* (23,1%) et *MSH3* (23,1%). Des mutations d'autres gènes, impliqués dans des voies cellulaires clés (*TGFβRII, TCF4, MBD4, XRCC2, TRBP2 et PTEN exon7*) ont été également détectées chez nos patients (Tableau 18).

Tableau 18 : Profil mutationnel des 22 gènes cibles analysés dans cette étude

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	Cas avec mutations
TCF4	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/13 (7.7%)
BAX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
TGFβRII	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	2/13 (15.4%)
PTEN ex7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/13 (7.7%)
PTEN ex8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
EGFR	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	4/13 (30.8%)
MSH3	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3/13 (23.1%)
MSH6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
ATM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	--	-	0/13
ATR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
BLM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
BRCA1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
BRCA2	+	-	+	-	-	nd	-	-	-	+	-	-	-	3/13 (23.1%)
DNAPKcs	nd	-	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
MBD4	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	2/13 (15.4%)
MRE11	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	3/13 (23.1%)
RAD50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
XRCC2	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1/13 (7.7%)
WISP3	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
XPO5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/13
TRBP2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/13 (7.7%)
HSP110	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	11/13 (84.6%)
Fréquence	5/22	1/22	7/22	1/22	1/22	1/22	6/22	1/22	1/22	2/22	4/22	1/22	1/22	

(+) : présence de la mutation, **(-) :** absence de la mutation, **(nd) :** non déterminé

V- Classification moléculaire du cancer gastrique

La classification des adénocarcinomes gastriques en groupes moléculaires est actuellement indispensable pour une meilleure prise en charge des patients qui se fait selon le profil génique ou protéique des tumeurs. C'est la raison pour laquelle, nous avons essayé dans un premier lieu de répartir les tumeurs en différents groupes moléculaires en se basant sur les trois classifications connues actuellement : classification moléculaire TCGA (*The Cancer Genome Atlas*), classification moléculaire ACRG (*Asian Cancer Research Group*) et la classification moléculaire « intégrée ».

Dans un deuxième lieu, nous avons complété l'étude par une analyse univariée pour mettre en évidence l'association entre les critères clinicopathologiques et les sous-groupes moléculaires, toutefois, les résultats n'étaient statistiquement significatifs que pour quelques paramètres vu le nombre faible des cas (n=97 cas).

1- Classification TCGA (*The Cancer Genome Atlas*)

Les auteurs Bass et ses collaborateurs ont analysé 295 adénocarcinomes gastriques et ils les ont classés en quatre sous-types moléculaires : les tumeurs infectées par le virus d'Epstein Barr « EBV », les tumeurs avec une instabilité des microsatellites « MSI », les tumeurs génomiquement stables « GS » et les tumeurs chromosomiquement instables « CIN » (Bass et al. 2014). Nous avons souhaité reproduire cette classification, pour cela nous avons utilisé un algorithme basé sur l'analyse d'un panel de trois marqueurs moléculaires : EBV, MSI et E-cadhérine (Figure 41). Le sous-type EBV a été identifié en premier sur la base de la positivité EBER-ISH. Ensuite, toutes les tumeurs MSI-H ont été classées dans le sous-type MSI. Les deux sous-types restants ont été distingués par immunomarquage de la protéine E-cadhérine. L'expression aberrante de la E-cadhérine permet le classement des tumeurs dans le sous-type GS ; alors que les tumeurs classées dans le sous-type CIN montrent une expression normale de la E-cadhérine (Ahn et al. 2017 ; Sun et al. 2019).

Les résultats de cette classification moléculaire montrent que 6.2% (n=6) étaient du sous-type EBV, 13.4% (n=13) étaient du sous-type MSI, 28.9% (n=28) étaient du sous-type GS et 51.5% (n=50) étaient du sous-type CIN.

L'analyse descriptive, portée sur les facteurs clinicopathologiques et les sous-types moléculaires TCGA (Tableau 19) montre que les tumeurs infectées par EBV étaient observées exclusivement chez les hommes, et 33% avaient des antécédents d'ulcère gastrique. Les tumeurs avec une instabilité des microsatellites (MSI) étaient retrouvées préférentiellement dans les formes distales du cancer gastrique (69%) et exprimaient fortement le PD-L1 par rapport aux tumeurs EBV, GS et CIN. Les tumeurs génomiquement stables (GS) étaient diagnostiquées plus fréquemment chez les patients jeunes (âge médian, 56 ans) et présentaient une histologie de type diffus dans 57% des cas. Une expression aberrante de la protéine p53 était plus fréquente (62%) dans les tumeurs chromosomiquement instables (CIN) par rapport aux autres tumeurs (33% dans les tumeurs MSI, 38% dans les tumeurs EBV et 39% dans les tumeurs GS). Par ailleurs, ces tumeurs (CIN) étaient de type histologique intestinal dans 80% des cas. Le marqueur HER2 était fortement exprimé dans 9.3% (9/97) de l'ensemble des tumeurs, dont 55.6% (5/9) des cas étaient retrouvés dans le sous-type moléculaire CIN.

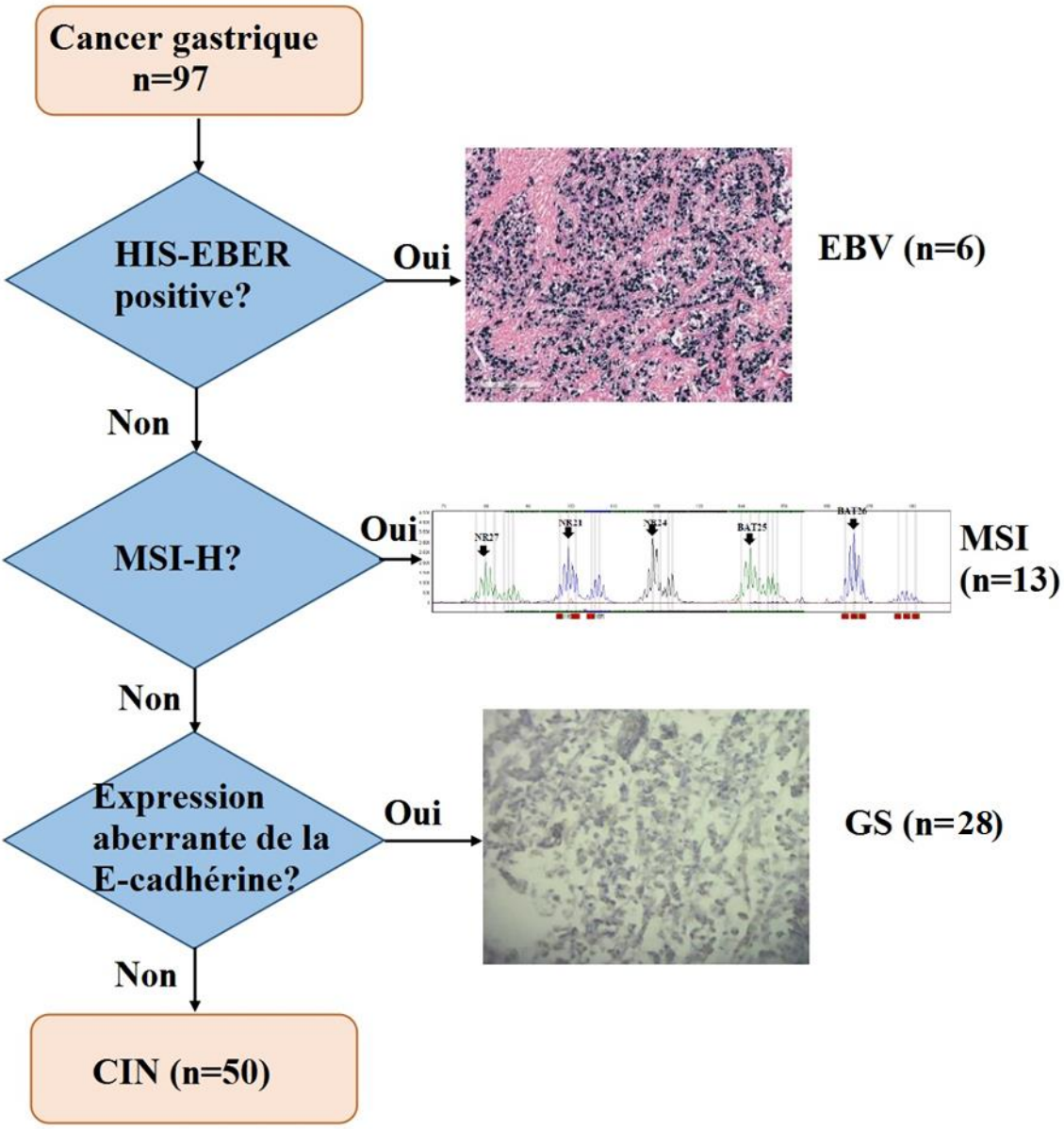


Figure 41: Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires TCGA

Tableau 19 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires TCGA

Variable	N (%)	EBV+ (n=6)	MSI (n=13)	GS (n=28)	CIN (n=50)	p-value
Sexe						0,094
- Homme	59 (60.8%)	6 (100)	7 (53.8)	16 (57.1)	30 (60)	
- Femme	38 (39.2%)	0 (0)	6 (46.2)	12 (42.9)	20 (40)	
Age moyen (min-max)	59 (28-85)	61 (46-77)	59 (36-85)	56 (28-76)	62 (39-82)	0,275
Age au diagnostic						0,424
- ≥50 ans	80 (82.5)	5 (83.3)	9 (69.2)	22 (78.6)	44 (88)	
- <50 ans	17 (17.5)	1 (16.7)	4 (30.8)	6 (21.4)	6 (12)	
ATCD de gastrectomie						0,374
- Oui	7 (7.2)	1 (16.7)	0 (0)	3 (10.7)	3 (6)	
- Non	90 (92.8)	5 (83.3)	13 (100)	25 (89.3)	47 (94)	
ATCD d'ulcère gastrique						0,025
- Oui	3 (3.1)	2 (33.3)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	
- Non	94 (96.9)	4 (66.7)	13 (100)	28 (100)	49 (98)	
Tabac						0,161
- Oui	25 (25.8)	3 (50)	1 (7.7)	6 (21.4)	15 (30)	
- Non	72 (74.2)	3 (50)	12 (92.3)	22 (78.6)	35 (70)	
Localisation de la tumeur						0,789
- Cardia	31 (31.9)	2 (33.3)	4 (30.8)	11 (39.3)	14 (28)	
- Non-cardia	66 (68.1)	4 (66.7)	9 (69.2)	17 (60.7)	36 (72)	
Degré de différenciation						0,081
- Bien/moyen	62 (63.9)	2 (33.3)	7 (53.8)	15 (53.6)	38 (76)	
- Peu/indifférencié	35 (36.1)	4 (66.7)	6 (46.2)	13 (46.4)	12 (24)	
Classification de Lauren						0,001
- Intestinal	65 (67.1)	3 (50)	11 (84.6)	11 (39.3)	40 (80)	
- Diffus/mixte	32 (32.9)	3 (50)	2 (15.4)	17 (60.7)	10 (20)	
Statut HER2						0,906
- Positif	9 (9.3)	1 (16.7)	1 (7.7)	2 (7.1)	5 (10)	
- Négatif	88 (90.7)	5 (83.3)	12 (92.3)	26 (92.9)	45 (90)	
Expression de la p53						0,134
- Aberrante	49 (50.5)	2 (33.3)	5 (38.5)	11 (39.3)	31 (62)	
- Normale	48 (49.5)	4 (66.7)	8 (61.5)	17 (60.7)	19 (38)	
Immunomarquage PD-L1	n=38	n=3	n=6	n=10	n=19	0,177
- Positif	6 (15.8)	1 (33.3)	3 (50)	0 (0)	2 (10.5)	
- Négatif	32 (84.2)	2 (66.7)	3 (50)	10 (100)	17 (89.5)	

Les résultats de l'analyse univariée ont permis de mettre en évidence une association statistiquement significative entre la présence d'antécédent d'ulcère gastrique et les sous-groupes moléculaires TCGA avec une fréquence élevée dans les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV » (p=0,025). Par ailleurs, nous remarquons que les tumeurs génomiquement stables « GS » étaient significativement associées à l'histologie de type diffus/mixte de la classification de Lauren (p=0,001).

2- Classification ACRG (*Asian Cancer Research Group*)

Une deuxième classification différente de la classification TCGA a été établie par Cristescu et les auteurs ont classé le cancer gastrique en quatre sous-types en mettant en évidence d'autres biomarqueurs moléculaires: les tumeurs présentant une instabilité microsatellite « MSI », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active « MSS/p53+ », et les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive « MSS/p53-» (Cristescu et al. 2015).

Nous avons souhaité reproduire cette classification en utilisant un algorithme basé sur l'analyse d'un panel de trois marqueurs moléculaires : « MSI, E-cadhérine et p53 » (Figure 42). Nous avons d'abord identifié et isolé les tumeurs montrant une instabilité microsatellitaire « MSI ». L'immunomarquage de la protéine E-cadhérine dans les tumeurs à stabilité microsatellite (MSS) permet d'identifier les tumeurs MSS/EMT caractérisées par une expression aberrante de la E-cadhérine. Par la suite, l'expression de la protéine p53 est nécessaire pour différencier les tumeurs MSS/p53- (expression aberrante de la p53) et les tumeurs MSS/p53+ (expression normale de la p53).

Les résultats d'immunomarquage et de biologie moléculaire montrent que les tumeurs MSI constituaient 13.4% des cas (n = 13) ; les tumeurs MSS/EMT représentaient 29.9% des cas (n = 29) ; les tumeurs MSS/p53- comptaient 34% des cas (n = 33) et les tumeurs MSS/p53+ représentaient 22.7% des cas (n = 22).

L'analyse descriptive des facteurs clinicopathologiques et les sous-groupes moléculaires ACRG (Tableau 20) montre que les tumeurs MSS/EMT étaient plus fréquentes chez les patients jeunes (âge moyen, 55 ans) et présentaient une histologie de type diffus dans 58.6%. Les antécédents de gastrectomie étaient rapportés uniquement dans les sous-types MSS/EMT (13.8%) et MSS/p53+ (13.6%). Par ailleurs, la présence d'une infection par EBV était limitée aux tumeurs MSS (3.4% dans les tumeurs MSS/EMT, 6.1% dans les tumeurs MSS/p53- et 13.6% dans les tumeurs MSS/p53 +). La surexpression du récepteur HER2 a été observée dans différents sous-types tumorales avec des pourcentages différents. En effet, 13.6% (3/22) des tumeurs MSS/p53+ sont HER2+, 9.1% (3/33) des tumeurs MSS/p53- sont HER2+, 7.7% (1/13) des tumeurs MSI sont HER2+ et 6.9% (2/29) des tumeurs MSS/EMT sont HER2+. L'expression du ligand PD-L1 était observée plus fréquemment dans les tumeurs MSI (50%).

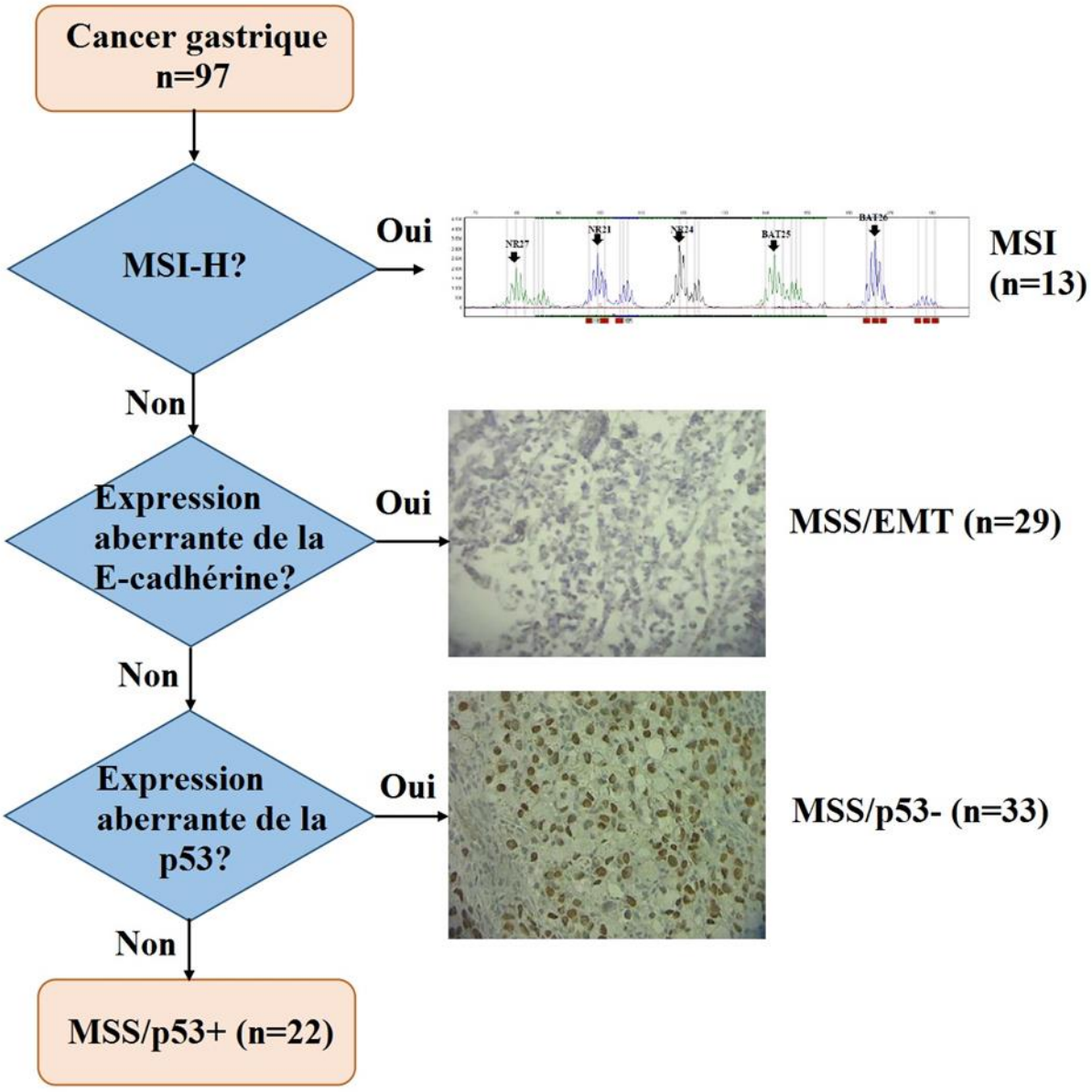


Figure 42 : Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires ACRG

Tableau 20 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires ACRG

Variable	N (%)	MSI (n=13)	MSS/EMT (n=29)	MSS/p53- (n=33)	MSS/p53+ (n=22)	p-value
Sexe						0,917
- Homme	59 (60.8%)	7 (53.8)	17 (58.6)	21 (63.6)	14 (63.6)	
- Femme	38 (39.2%)	6 (46.2)	12 (41.4)	12 (36.4)	8 (36.4)	
Age moyen (min-max)	59 (28-85)	59 (36-85)	55 (28-76)	60 (39-80)	64 (39-82)	0,101
Age au diagnostic						0,245
- ≥50 ans	80 (82.5)	9 (69.2)	22 (75.9)	29 (87.9)	20 (90.9)	
- <50 ans	17 (17.5)	4 (30.8)	7 (24.1)	4 (12.1)	2 (9.1)	
ATCD de gastrectomie						0,023
- Oui	7 (7.2)	0 (0)	4 (13.8)	0 (0)	3 (13.6)	
- Non	90 (92.8)	13 (100)	25 (86.2)	33 (100)	19 (86.4)	
ATCD d'ulcère gastrique						0,222
- Oui	3 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (3)	2 (9.1)	
- Non	94 (96.9)	13 (100)	29 (100)	32 (97)	20 (90.9)	
Tabac						0,207
- Oui	25 (25.8)	1 (7.7)	6 (20.7)	11 (33.3)	7 (31.8)	
- Non	72 (74.2)	12 (92.3)	23 (79.3)	22 (66.7)	15 (68.2)	
Localisation de la tumeur						0,156
- Cardia	31 (31.9)	4 (30.8)	11 (37.9)	13 (39.4)	3 (13.6)	
- Non-cardia	66 (68.1)	9 (69.2)	18 (62.1)	20 (60.6)	19 (86.4)	
Degré de différenciation						0,079
- Bien/moyen	62 (63.9)	7 (53.8)	16 (55.2)	27 (81.8)	12 (54.5)	
- Peu/indifférencié	35 (36.1)	6 (46.2)	13 (44.8)	6 (18.2)	10 (45.5)	
Classification de Lauren						0,003
- Intestinal	65 (67.1)	11 (84.6)	12 (41.4)	27 (81.8)	15 (68.2)	
- Diffus/mixte	32 (32.9)	2 (15.4)	17 (58.6)	6 (18.2)	7 (31.8)	
Statut HER2						0,874
- Positit	9 (9.3)	1 (7.7)	2 (6.9)	3 (9.1)	3 (13.6)	
- Négatif	88 (90.7)	12 (92.3)	27 (93.1)	30 (90.9)	19 (86.4)	
EBV						0,296
- Positif	6 (6.2)	0 (0)	1 (3.4)	2 (6.1)	3 (13.6)	
- Négatif	91 (93.8)	13 (100)	28 (96.6)	31 (93.9)	19 (86.4)	
Immunomarquage PD-L1	n=38	n=6	n=11	n=11	n=10	0,41
- Positif	6 (15.8)	3 (50)	1 (9.1)	1 (9.1)	1 (10)	
- Négatif	32 (84.2)	3 (50)	10 (90.9)	10 (90.9)	9 (90)	

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la présence d'antécédent de gastrectomie et les sous-groupes moléculaires ACRG avec une fréquence élevée dans les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT » (p=0,023). En outre, nous observons que les tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI » étaient significativement associées à l'histologie de type intestinal de la classification de Lauren (p=0,003).

3- Classification intégrée

A côté des deux classifications moléculaires TCGA et ACRG, un autre système de classification qui intègre à la fois les sous-types moléculaires TCGA et ACRG, appelé classification moléculaire intégrée, a été proposé par Yeqi Sun et al. en 2019 (Sun et al. 2019). Dans le même contexte, nous avons essayé de reproduire cette classification en utilisant un algorithme basé sur l'analyse d'un panel de quatre marqueurs moléculaires : « EBV, MSI, E-cadhérine et p53 » (Figure 43), comme ça été suggéré par d'autres études (Ahn et al. 2017 ; Sun et al. 2019).

Les tumeurs gastriques sont ainsi reparties en cinq sous-types moléculaires : Les tumeurs positives à l'infection par EBV (6.2%), les tumeurs montrant une instabilité microsatellitaire « MSI » (13.6%), les tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine (28.8%), les tumeurs présentant une expression aberrante de la p53 (31.9%) et les tumeurs présentant une expression normale de la p53 (19.5%).

Les résultats d'expression des biomarqueurs montrent que dans le sous-type moléculaire EBV, 33% des patients avaient des antécédents d'ulcère gastrique, 66% des patients avaient des tumeurs peu différenciées ou indifférenciées et 100% des patients étaient des hommes. Par ailleurs, les tumeurs MSI étaient caractérisées par une forte expression de PD-L1 (50%) et la prédominance des formes intestinales de la classification de Lauren (84.6%).

Les tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine étaient diagnostiquées à un âge précoce et étaient caractérisées par la prédominance des formes diffuses/mixtes de la classification de Lauren (60.7%), ainsi que l'absence d'expression du ligand PD-L1. Les tumeurs présentant une expression aberrante de la p53 étaient bien ou moyennement différenciées dans 83.9% des cas et étaient associées au tabagisme dans 32.3% des cas. Les tumeurs présentant une expression normale de la p53 étaient plus fréquentes chez les patients âgés (âge moyen, 65 ans) et les formes intestinales de la classification de Lauren (73.7%) (Tableau 21).

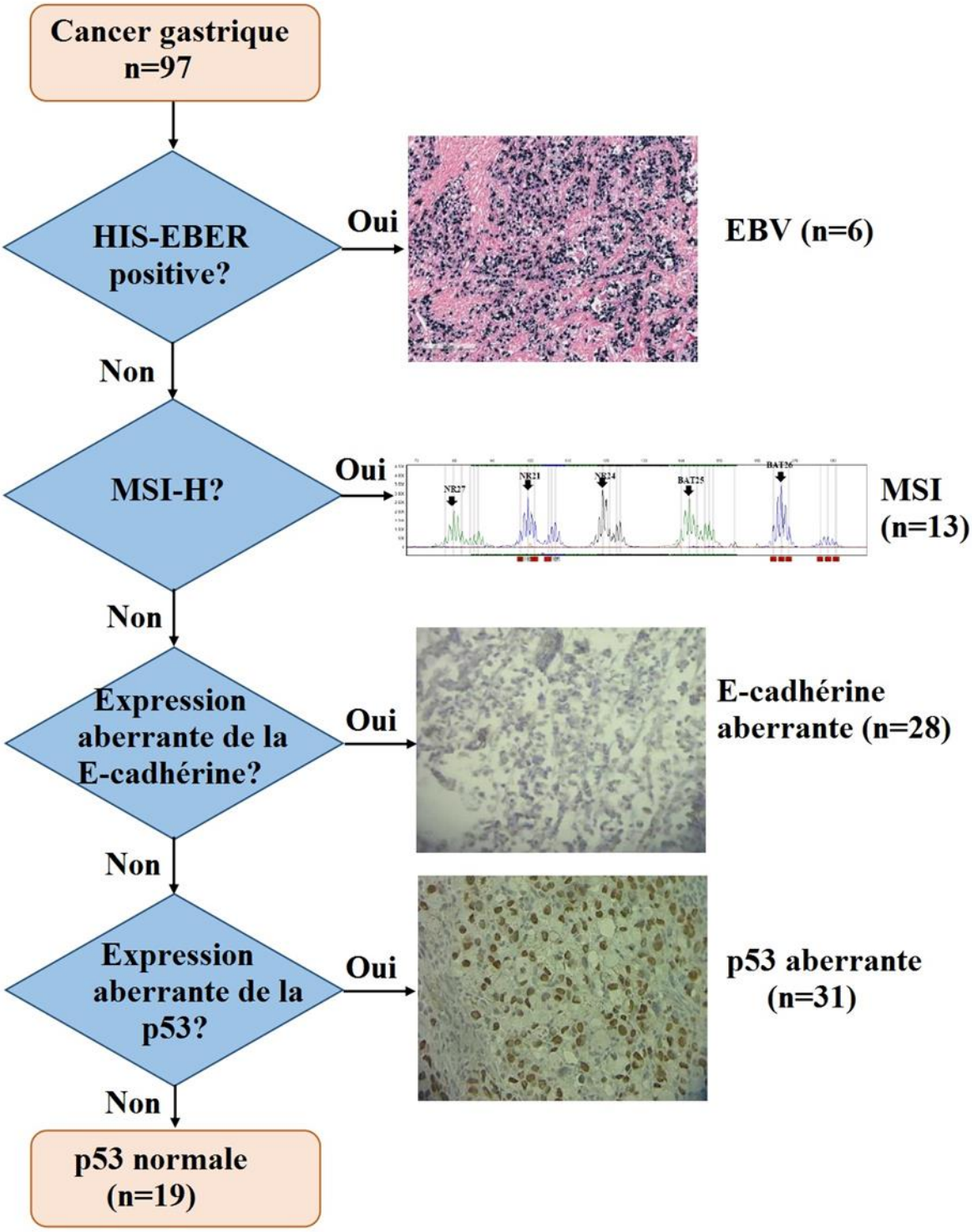


Figure 43: Algorithme de classification des tumeurs en groupes moléculaires de la classification intégrée

Tableau 21 : Les caractères clinicopathologiques des patients en fonction des groupes moléculaires de la classification intégrée

Variable	N (%)	EBV (n=6)	MSI (n=13)	E-cadhérine aberrante (n=28)	p53 aberrante (n=31)	p53 normale (n=19)	p-value
Sexe							0,168
- Homme	59 (60.8%)	6 (100)	7 (53.8)	16 (57.1)	19 (61.3)	11 (57.9)	
- Femme	38 (39.2%)	0 (0)	6 (46.2)	12 (42.9)	12 (38.7)	8 (42.1)	
Age moyen (min-max)	59 (28-85)	61 (46-77)	59 (36-85)	56 (28-76)	60 (39-80)	65 (39-82)	0,218
Age au diagnostic							0,581
- ≥50 ans	80 (82.5)	5 (83.3)	9 (69.2)	22 (78.6)	27 (87.1)	17 (89.5)	
- <50 ans	17 (17.5)	1 (16.7)	4 (30.8)	6 (21.4)	4 (12.9)	2 (10.5)	
ATCD de gastrectomie							0,055
- Oui	7 (7.2)	1 (16.7)	0 (0)	3 (10.7)	0 (0)	3 (15.8)	
- Non	90 (92.8)	5 (83.3)	13 (100)	25 (89.3)	31 (100)	16 (84.2)	
ATCD d'ulcère gastrique							0,023
- Oui	3 (3.1)	2 (33.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5.3)	
- Non	94 (96.9)	4 (66.7)	13 (100)	28 (0)	31 (100)	18 (94.7)	
Tabac							0,252
- Oui	25 (25.8)	3 (50)	1 (7.7)	6 (21.4)	10 (32.3)	5 (26.3)	
- Non	72 (74.2)	3 (50)	12 (92.3)	22 (78.6)	21 (67.7)	14 (73.7)	
Localisation de la tumeur							0,186
- Cardia	31 (31.9)	2 (33.3)	4 (30.8)	11 (39.3)	12 (38.7)	2 (10.5)	
- Non-cardia	66 (68.1)	4 (66.7)	9 (69.2)	17 (60.7)	19 (61.3)	17 (89.5)	
Degré de différenciation							0,051
- Bien/moyen	62 (63.9)	2 (33.3)	7 (53.8)	15 (53.6)	26 (83.9)	12 (63.2)	
- Peu/indifférencié	35 (36.1)	4 (66.7)	6 (46.2)	13 (46.4)	5 (16.1)	7 (36.8)	
Classification de Lauren							0,002
- Intestinal	65 (67.1)	3 (50)	11 (84.6)	11 (39.3)	26 (83.9)	14 (73.7)	
- Diffus/mixte	32 (32.9)	3 (50)	2 (15.4)	17 (60.7)	5 (16.1)	5 (26.3)	
Statut HER2							0,789
- Positif	9 (9.3)	1 (16.7)	1 (7.7)	2 (7.1)	2 (6.5)	3 (15.8)	
- Négatif	88 (90.7)	5 (83.3)	12 (92.3)	26 (92.9)	29 (93.5)	16 (84.2)	
Immunimarquage PD-L1	n=38	n=3	n=6	n=10	n=11	n=8	0,324
- Positif	6 (15.8)	1 (33.3)	3 (50)	0 (0)	1 (9.1)	1 (12.5)	
- Négatif	32 (84.2)	2 (66.7)	3 (50)	10 (100)	10 (90.9)	7 (87.5)	

L'analyse univariée a permis de mettre en évidence une association statistiquement significative entre les sous-groupes moléculaires et la présence d'antécédent d'ulcère gastrique avec une fréquence élevée dans les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EVB » (p=0,023). En outre, une association significative était également retrouvée entre la classification histologique de Lauren et les sous-groupes moléculaires avec la prédominance des formes diffuses/mixtes dans les tumeurs montrant une expression aberrante de la protéine E-cadhérine (p=0,002).

VI- Analyse de la survie globale

Pour évaluer le pronostic des patients atteints d'adénocarcinome gastrique et également pour voir l'impact des altérations génétiques sur l'évolution de la maladie, il est nécessaire d'analyser la survie globale des malades de la série étudiée. Le suivi des patients était réalisé sur une durée moyenne de 15.3 mois avec des extrêmes allant de 0 à 78 mois. Notre population d'étude a été caractérisée par une survie globale médiane de 11 mois avec un taux de survie globale à 3 ans de 12.8% et un taux de survie globale à 5 ans de 5.6%.

1- Analyse de la survie globale des patients en fonction des différents biomarqueurs moléculaires étudiés

1.1- Survie globale des patients en fonction du statut HER2 (n=125)

Dans cette étude, nous avons essayé de chercher une possible association entre le statut HER2 et la survie globale. La figure 44 montre que les patients dont les tumeurs expriment positivement le HER2 gagnent en survie globale. En effet, la survie globale à 3ans passe de 28% (HER2-) à 47% (HER2+), toutefois cette différence n'était pas statistiquement significative (p>0,05).

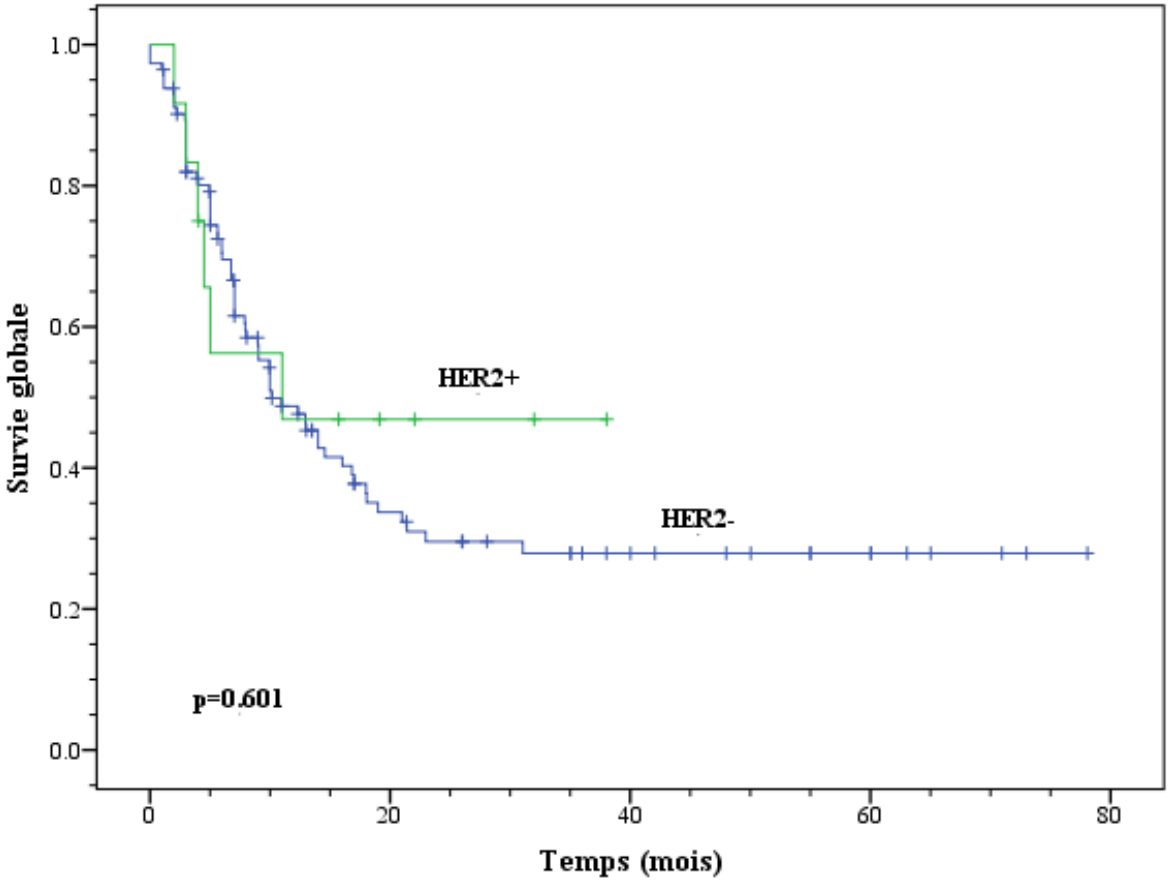


Figure 44 : Courbes de survie globale en fonction du statut HER2

1.2- Survie globale des patients en fonction l'expression de la protéine p53 (n=125)

L'analyse de la survie globale en fonction de l'expression immunohistochimique de la protéine p53 a montré une légère différence de survie entre les deux groupes de patients. En effet, la survie globale à 3 ans passe de 29% pour les patients dont les tumeurs présentent une expression aberrante de la protéine p53 à 31% pour ceux dont les tumeurs présentent une expression normale de la p53 (Figure 45). Cependant, la différence observée n'est pas statistiquement significative (p>0,05).

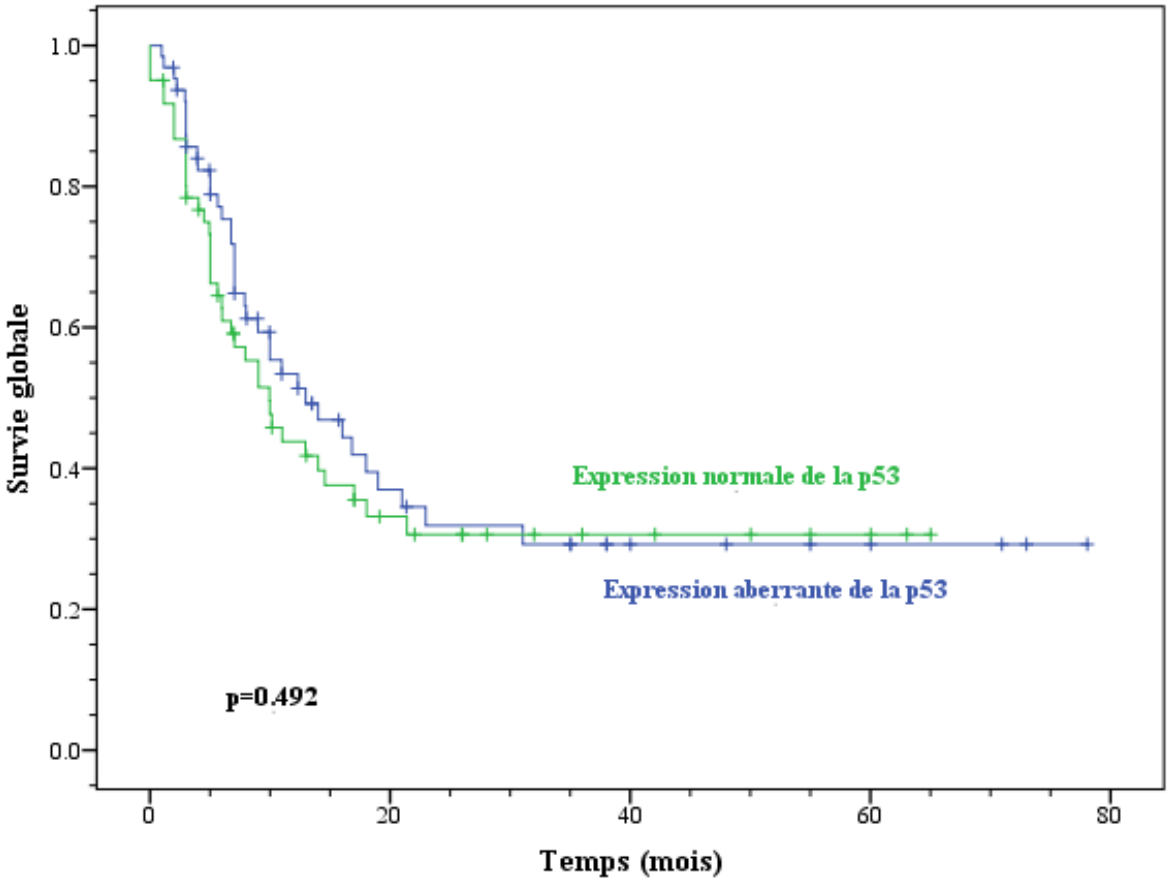


Figure 45 : Survie globale en fonction de l'expression de la protéine p53

1.3- Survie globale des patients en fonction de l'expression de la protéine E-cadhérine (n=125)

L'étude de l'association entre l'expression immunohistochimique de la protéine E-cadhérine et la survie globale, montre significativement que les patients dont les tumeurs présentent une expression normale de la E-cadhérine avaient une meilleure survie à 3 ans que ceux dont les tumeurs présentent une expression aberrante de la E-cadhérine (38% vs 14%, p=0,018) (Figure 46).

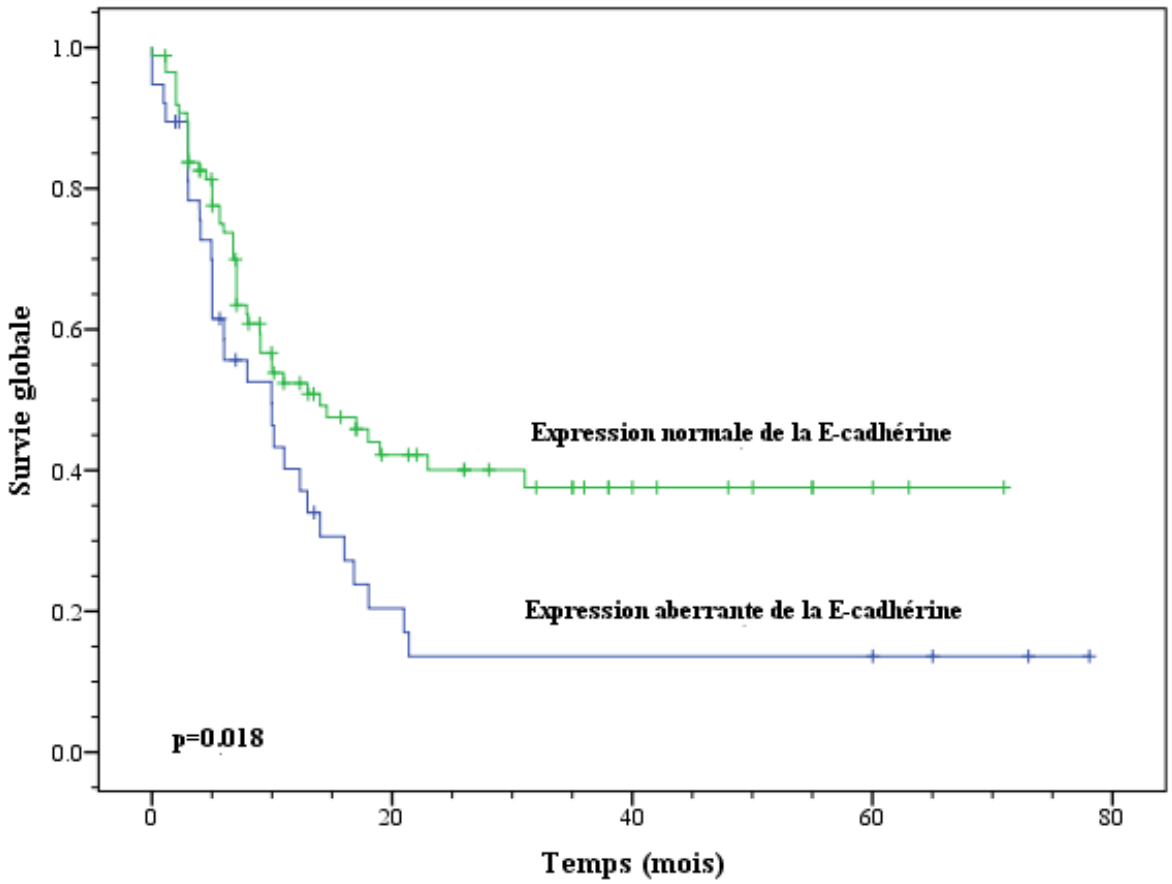


Figure 46 : Courbes de survie globale en fonction de l'expression de la protéine E-cadhérine

1.4- Survie globale des patients en fonction de l'expression de la protéine Ki67 (n=125)

Nous avons noté une meilleure survie des patients présentant un faible indice de prolifération cellulaire (Ki67 < 10%). En effet ; la survie globale à 3 ans est de 24% pour les tumeurs à prolifération cellulaire rapide alors qu'elle atteint 40% pour les tumeurs à faible prolifération (Figure 47). Toutefois, cette différence n'était pas statistiquement significative (p>0,05).

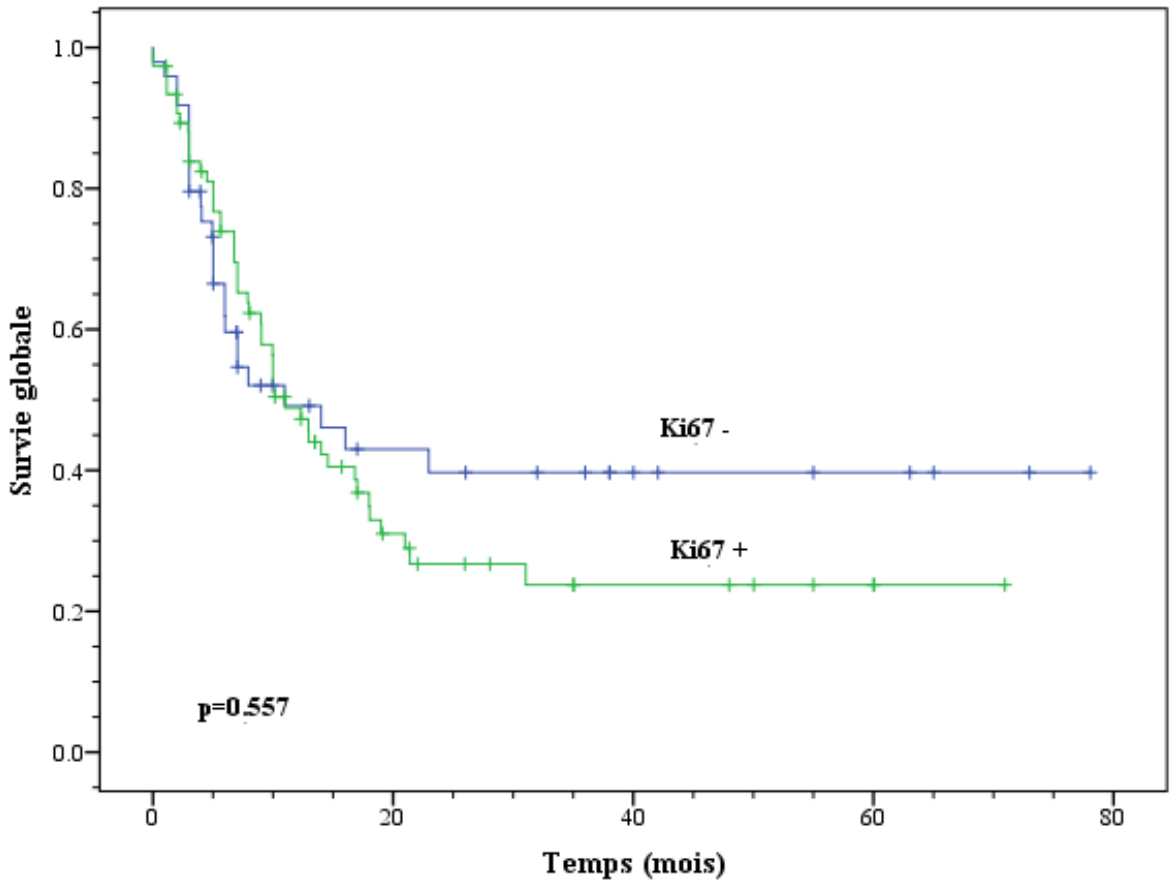


Figure 47 : Courbes de survie globale en fonction de l'expression de la protéine Ki-67

1.5- Survie globale des patients en fonction du statut EBV (n=97)

Concernant les tumeurs infectées par l'EBV, on note une nette réduction de survie globale pour ces dernières. En effet, la survie globale à 3 ans est de 0% pour les patients dont les tumeurs sont EBV+ ; alors qu'elle est de 34% pour ceux dont les tumeurs sont EBV- (Figure 48).

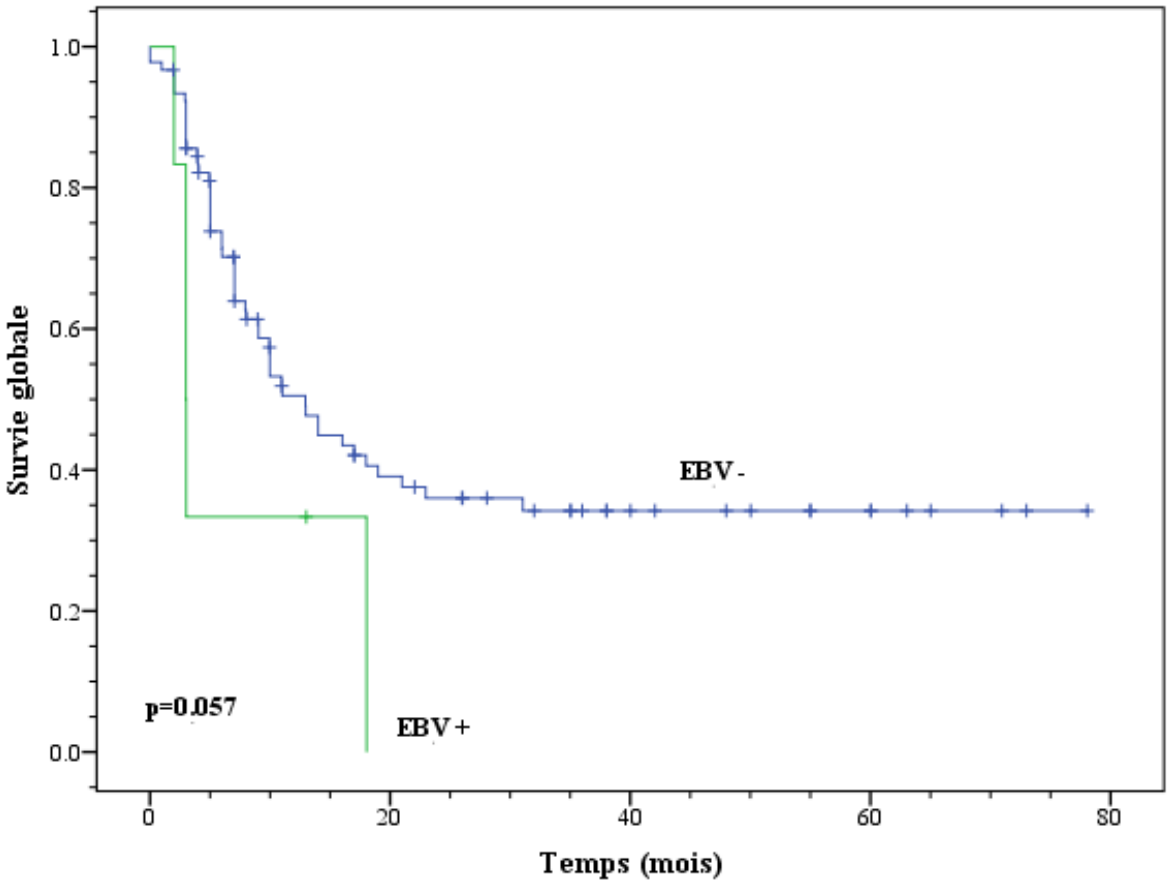


Figure 48 : Courbes de survie globale selon le statut EBV

1.6- Survie globale des patients en fonction du phénotype MSI (n=97)

L'analyse de la survie en fonction du phénotype MSI a montré que le phénotype MSI-H était corrélé à une meilleure survie globale. En effet, les courbes de la figure 49 montrent une amélioration de la survie globale à 3 ans pour les patients ayant des adénocarcinomes gastriques MSI-H comparé à ceux ayant des tumeurs gastriques MSI-L/MSS (77% vs 23%, p=0,002).

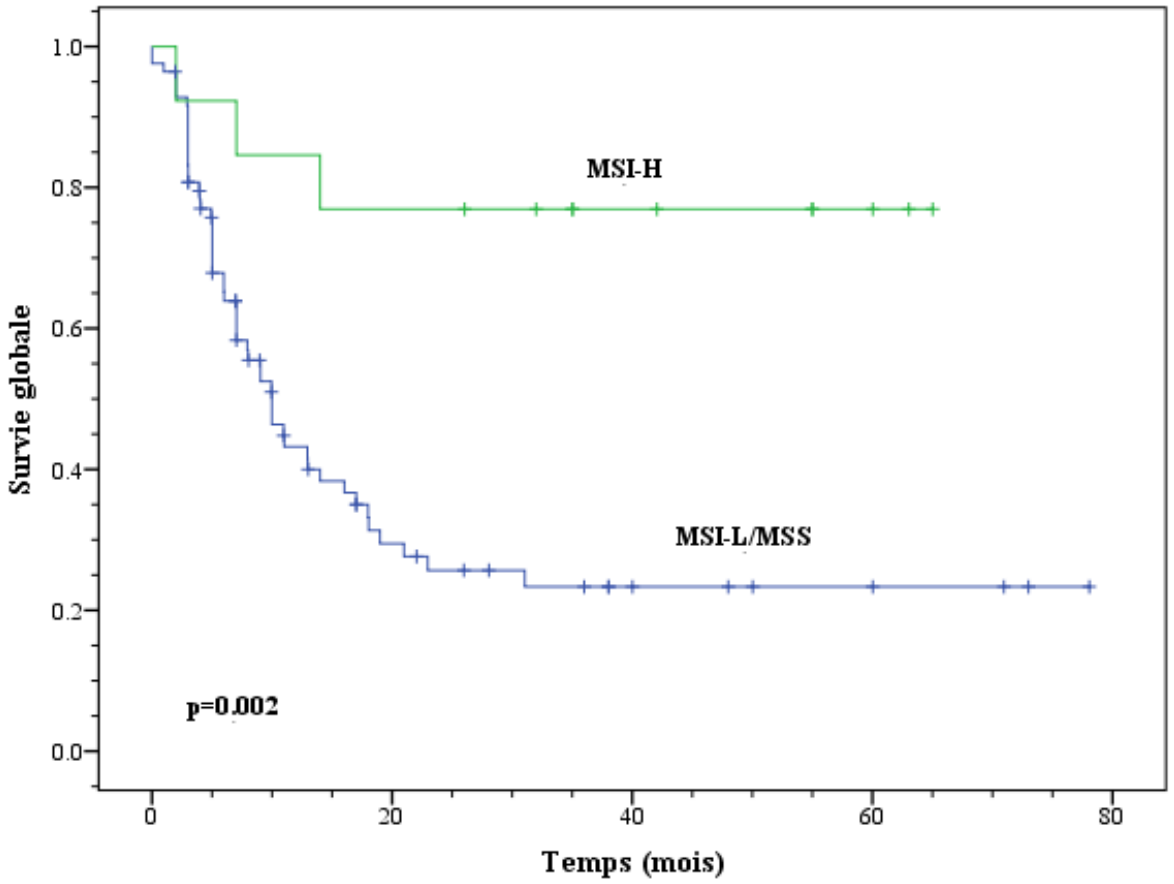


Figure 49 : Courbes de survie globale selon le phénotype MSI

2- Analyse de la survie globale des patients en fonction des différents groupes moléculaires

2.1- Survie globale en fonction des sous-types moléculaires TCGA

La classification moléculaire TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) établie en 2014, a permis de subdiviser les adénocarcinomes gastriques en quatre sous-types moléculaires : les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV », les tumeurs avec une instabilité des microsatellites « MSI », les tumeurs génomiquement stables « GS » et les tumeurs chromosomiquement instables « CIN » (Bass et al. 2014). Malheureusement, ce projet TCGA n'a pas évalué les différences de survie entre les sous-groupes moléculaires identifiés.

Dans cette étude, nous avons essayé de reproduire la classification TCGA tout en évaluant son impact sur le pronostic des patients. La figure 50 montre les courbes de survie de Kaplan-Meier en fonction des sous-groupes moléculaires, on remarque que les tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI » étaient de meilleur pronostic, tandis que les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV » étaient de mauvais. Par ailleurs, les tumeurs chromosomiquement instables « CIN » et les tumeurs génomiquement stables « GS » étaient de pronostic intermédiaire (test du log-rank, p<0,001).

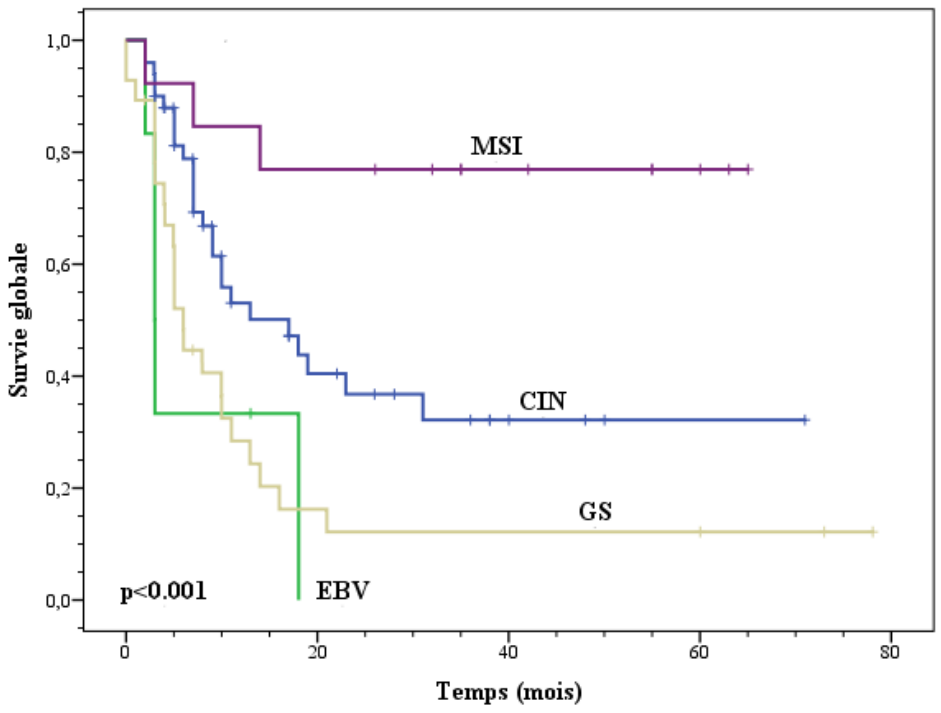


Figure 50 : Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires TCGA

2.2- Survie globale en fonction des groupes moléculaires ACRG

La classification moléculaire proposée par l'ACRG (*Asian Cancer Research Group*) permet de répartir les adénocarcinomes gastriques en quatre sous-types : les tumeurs présentant une instabilité microsatellite « MSI », les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse «MSS/EMT», les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active «MSS/p53+» et les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive «MSS/p53» (Cristescu et al. 2015).

L'analyse de la corrélation entre les sous-types moléculaires ACRG et la survie globale des patients montre que les tumeurs montrant instabilité microsatellite « MSI » étaient encore de meilleur pronostic. Les sous-types moléculaires MSS/p53+ et MSS/p53- étaient de pronostic intermédiaire. En outre, les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT » étaient de mauvais pronostic (p= 0.001) (Figure 51).

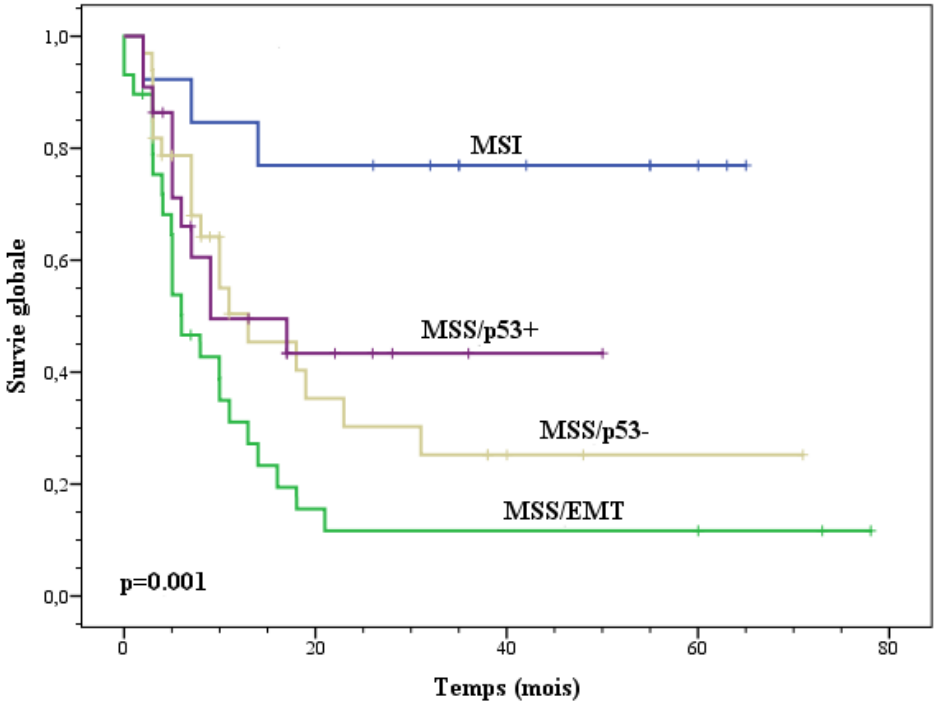


Figure 51 : Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires ACRG

2.3- Survie globale en fonction des groupes moléculaires de la classification intégrée

Une autre classification du cancer gastrique qui intègre à la fois les sous-types moléculaires TCGA et ACRG, appelé classification moléculaire intégrée, a été proposé en 2019 par Yeqi Sun et ses collaborateurs (Sun et al. 2019). Cette classification permet de distinguer cinq sous-types moléculaires du cancer gastrique : les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV », les tumeurs montrant une instabilité microsatellitaire « MSI », les tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine, les tumeurs présentant une expression aberrante de la p53 et les tumeurs présentant une expression normale de la p53.

L'analyse de la survie montre également les différences de survie entre les sous-groupes moléculaires de la classification intégrée. En effet, une meilleure survie globale était observée dans les tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI ». En revanche, les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV » avaient une faible survie globale. En outre, les tumeurs présentant une expression normale de la p53, les tumeurs présentant une expression aberrante de la p53 et les tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine avaient une survie globale intermédiaire (Figure 52).

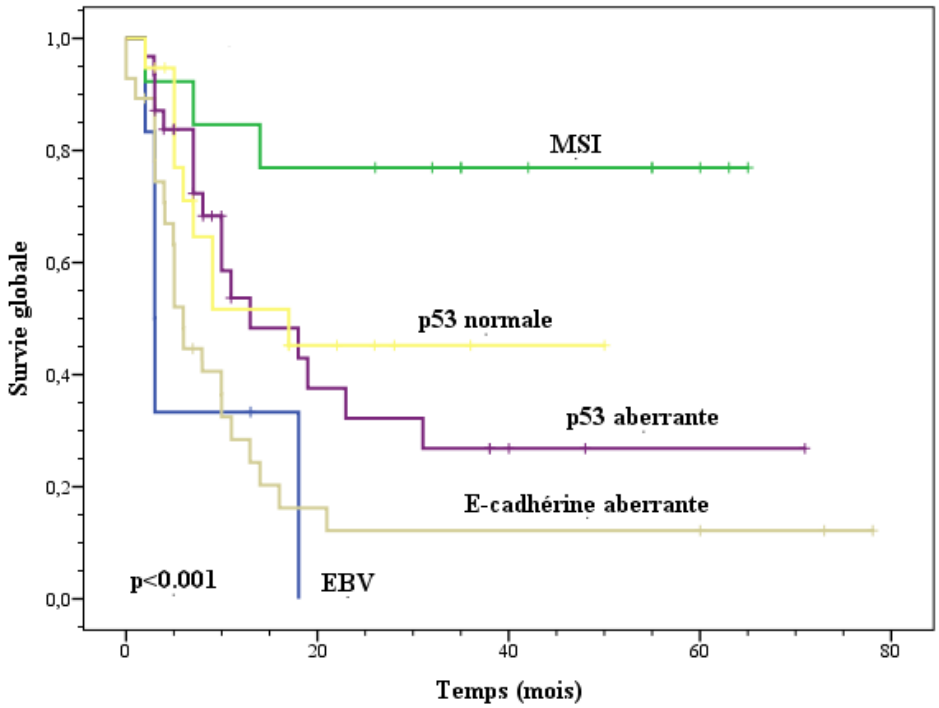


Figure 52 : Courbes de survie globale en fonction des groupes moléculaires de la classification intégrée

Discussion

Le cancer gastrique constitue un problème de santé publique majeur par sa fréquence et sa gravité. Selon les dernières estimations de Globocan 2020 (Sung et al. 2021), 1 089 103 nouveaux cas sont diagnostiqués en 2020 dans le monde. Il est le cinquième cancer dans le monde après les cancers du sein, du poumon, colorectaux et de la prostate (Sung et al. 2021) et il représente la quatrième cause de décès par cancer dans le monde (avec 768 793 décès en 2020, soit 7.7%) (Sung et al. 2021). Concernant l'incidence de ce type de cancer, elle est élevée en Asie de l'Est (Japon, Chine), en Amérique du Sud, en Europe de l'Est et du Sud (Bray et al. 2018). Par contre, l'incidence est plutôt faible dans les pays d'Afrique avec une incidence brute estimée à 4.1 pour 100 000 habitants au Maroc (Benider et al. 2016).

En termes d'épidémiologie, il faut distinguer le cancer gastrique distal, dont l'incidence est en diminution depuis la fin du 20ème siècle dans toutes les régions du monde, du cancer gastrique proximal (ou du cardia ou de la jonction oesogastrique) dont l'incidence est stable ou en légère augmentation selon les pays depuis les années 1970 (Hansen et al. 1997 ; Aparicio et al. 2004 ; Lamarque 2008 ; Glaoui et al. 2009). La diminution de l'incidence du cancer gastrique distal est due à l'amélioration des conditions de vie et d'hygiène responsable de la réduction de l'infection à Helicobacter Pylori ; alors que l'augmentation de l'incidence des cancers proximaux est due essentiellement à l'obésité, le reflux gastro-oesophagien et l'oesophagite de Barret (Kocher et al. 2001 ; Crew and Neugut 2006).

Le cancer gastrique touche plus les hommes que les femmes tant en Afrique qu'ailleurs dans le monde (Rawla and Barsouk 2019 ; Lou et al. 2020 ; Dore et al. 2020), cela a été également confirmé dans notre étude où la prédominance masculine a été mise en évidence avec 77 hommes (62%) et 48 femmes (38%), correspondant à un sex-ratio de 1.6. Le résultat rapporté dans notre série est légèrement inférieur à celui observé dans d'autres séries marocaines (Elmajjaoui et al. 2014 ; Fadlouallah et al. 2015). En effet, dans une étude rétrospective observationnelle incluant 170 patients atteints d'adénocarcinome gastrique diagnostiqués et colligés au CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2001 et Janvier 2011, les auteurs rapportent une prédominance masculine avec un sex-ratio de 2.5 (Mellouki et al. 2014). Pour expliquer cette prédominance masculine, Sipponem et al. (2002) ont suggéré que les hormones féminines auraient un rôle protecteur (Sipponen and Correa 2002).

Le cancer gastrique survient rarement avant l'âge de 40 ans, l'incidence augmente régulièrement au-delà de cet âge pour atteindre un pic entre la 6ème et la 7ème décennie (Mellouki et al. 2014). Ce résultat est concordant avec notre étude où nous remarquons une augmentation de l'incidence en fonction de l'âge avec un pic dans la tranche d'âge [60-69ans]. L'âge moyen de nos patients était de 58.7 ans (24-90 ans), une valeur proche à celle rapportée dans plusieurs séries africaines, au Maroc (58 ans) (Mellouki et al. 2014), au Mali (56.26 ans) (Daouda et al. 2020), en Tunisie (59.12 ans) (Elghali et al. 2018), au Cameroun (53.4 ans) (Bang et al. 2020) et au Sénégal (54.29 ans) (Moustapha Dieng et al. 2017).

Le cancer gastrique est une pathologie multifactorielle dont la survenue implique une interaction de plusieurs facteurs environnementaux et génétiques. Parmi les facteurs environnementaux, il y a les facteurs alimentaires qui jouent un rôle important dans la cancérogenèse gastrique. Ainsi la consommation excessive de sel et l'exposition aux nitrosamines augmentent le risque de ce cancer (Jakszyn and González 2006 ; Peleteiro et al. 2011 ; D'Elia, Galletti, and Strazzullo 2014). À l'inverse, un régime riche en fruits et légumes est associé à une diminution du risque de cancer gastrique grâce á la présence des antioxydants, de la vitamine C et du bêtacarotène (Gunathilake et al. 2020 ; Morrison et al. 2020).

La consommation de tabac a été classée comme carcinogène avérée au niveau gastrique par l'agence internationale de recherche sur le cancer (IARC). Plusieurs études cas-témoins et de cohortes ont montré une association entre le tabagisme et la survenue du cancer gastrique (Nomura et al. 2012 ; Praud et al. 2018). Le risque de développer un cancer gastrique est proportionnel à la quantité de cigarettes fumées par jour (Praud et al. 2018) et cela est accentué lors d'une infection par Helicobacter Pylori (Wang et al. 2011 ; Butt et al. 2019). Le tabagisme était le premier facteur de risque dans notre étude et était retrouvé dans 27.2% des cas, une valeur proche de celle rapportée dans une autre étude marocaine réalisée à l'institut national d'oncologie (30.5%) (Elmajjaoui et al. 2014).

Le rôle de la consommation d'alcool dans la survenue du cancer gastrique n'est pas encore clairement établi, néanmoins, chez les sujets tabagiques, la combinaison de ces deux facteurs (tabac et l'alcool) semble accroitre le risque de ce cancer (Sjödahl et al. 2007).

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'infection par Helicobacter pylori augmentait le risque de survenue du cancer gastrique, ce risque est 3 à 6 fois plus élevé chez les patients infectés par Helicobacter pylori que chez les patients non infectés (Conteduca et al. 2013). En 1994, l'Agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) a classé Helicobacter pylori parmi les carcinogènes de classe I, c'est-à-dire jouant un rôle carcinogène certain chez l'homme (Humans 1994).

Certaines maladies de l'estomac, comme la maladie de Ménétrier, les polypes adénomateux et la maladie de Biermer peuvent entrainer des lésions chroniques de l'estomac favorisant ainsi la survenue du cancer gastrique. Le risque de cancer est évalué entre 1 et 2 % dans le cas de la maladie de Biermer (Kokkola et al. 1998). Par ailleurs, des antécédents médicaux d'ulcère gastrique, de chirurgie gastrique (gastrectomie partielle), le reflux gastro-œsophagien et l'obésité augmentent également le risque de développement du cancer gastrique (Turati et al. 2013 ; Abdi et al. 2019). Les résultats de cette étude montrent que 3.2% et 6.4% des patients présentent respectivement des antécédents d'ulcère gastrique et de gastrectomie partielle.

Le cancer gastrique évolue de façon silencieuse, la majorité des patients ne présentent aucun symptôme clinique pendant une longue période. Les symptômes cliniques peuvent être retrouvés aux stades avancés mais ils sont souvent peu spécifiques, ce qui explique le diagnostic tardif de ce type de cancer, souvent à un stade métastatique pour lequel la prise en charge est plus difficile. Les épigastralgies, l'amaigrissement et les vomissements étaient les symptômes les plus fréquemment retrouvés au diagnostic initial de nos patients, cela confirme les études précédentes (Mellouki et al. 2014 ; Elmajjaoui et al. 2014 ; Fadlouallah et al. 2015). D'autres signes cliniques retrouvés dans les adénocarcinomes gastriques sont la dysphagie caractéristique des cancers du cardia ou de la jonction œsogastrique et les vomissements qui surviennent particulièrement lorsque la tumeur envahit le pylore. Par ailleurs, un saignement extériorisé par une hématémèse ou un méléna est souvent retrouvé chez les patients atteints du cancer gastrique. Une anémie par carence martiale témoignant d'un saignement occulte est également fréquente. La présence d'une masse abdominale palpable indique généralement une extension régionale (Fadlouallah et al. 2015).

Sur le plan endoscopique, la prédominance des adénocarcinomes gastriques d'aspect ulcéro-végétant a été rapportée par plusieurs séries africaines avec une fréquence variant entre 54 et 75% (Mellouki et al. 2014 ; Fadlouallah et al. 2015 ;Traore et al.2019 ; Daouda et al. 2020), c'est concordant avec notre étude où l'aspect ulcéro-végétant était retrouvé dans 68% des cas.

Malgré l'amélioration des modalités thérapeutiques, le cancer gastrique reste de mauvais pronostic. Dans notre série, le taux de survie globale à cinq ans était de 5.6 %, pourcentage très proche de celui retrouvé dans une autre étude menée par l'équipe des gastroentérologues du CHU Hassan II de Fès. L'étude incluait 265 patients et la survie globale à 5 ans était de 6% (Lahmidani et al. 2019).

La survenue du cancer gastrique est due à une accumulation d'anomalies génétiques et moléculaires conduisant au dérèglement de diverses sortes de gènes impliqués dans le contrôle de la division cellulaire.

L'amplification et la surexpression du gène HER2 (*Human Epidermal growth factor Receptor 2*) dans le cancer gastrique ont été décrites pour la première fois en 1986 et ont depuis été confirmées par de nombreuses études (Fukushige et al. 1986 ; Sakai et al. 1986). Cependant le pourcentage de l'expression du HER2 dans les adénocarcinomes gastriques varie d'une étude à une autre, il est estimé entre 7 et 34% (Rüschoff et al. 2012). Cette grande variabilité des résultats est probablement due à plusieurs facteurs, notamment la taille de l'échantillon, l'absence de standardisation aussi bien dans les modalités techniques que dans l'interprétation des résultats (Jørgensen 2010 ; Rüschoff et al. 2010).

Dans la série étudiée, l'interprétation de l'expression protéique ou amplification génique a été basée sur le système de score de Hofmann qui est considéré comme le système d'interprétation le plus approprié dans le cancer gastrique (Hofmann et al. 2008). Ainsi, nous avons détecté la surexpression du récepteur HER2 chez 12/125 patients (soit 9.6%).

Plusieurs études ont montré que les tumeurs gastriques ayant un statut HER2 positif étaient de mauvais pronostic (Jørgensen and Hersom 2012 ; Lei et al. 2017). Toutefois, la détermination du statut HER2 permet de prédire la réponse à une thérapie ciblée par trastuzumab, qui est un anticorps monoclonal humanisé conçu pour cibler et bloquer la fonction du récepteur HER2 en se liant directement à son domaine extracellulaire.

L'essai randomisé de phase III ToGA (*Trastuzumab for Gastric Cancer*) évaluant le trastuzumab associé à une chimiothérapie par cisplatine et 5-FU versus la chimiothérapie seule, dans les cancers gastriques localement avancés ou métastatiques, a montré que la survie globale était significativement améliorée dans le bras trastuzumab plus chimiothérapie comparée au bras chimiothérapie seule (13,8 vs 11,1 mois ; HR 0.74 ; IC 95 % : 0.60-0.91 ; p=0,0046) (Bang et al. 2010). Suite à ce résultat favorable à la thérapie ciblée, le trastuzumab a eu l'AMM comme traitement de première ligne chez les patients atteints d'un adénocarcinome gastrique ou de la jonction œsogastrique métastatique surexprimant le récepteur HER2. La détermination du statut HER2 devient donc un prérequis indispensable pour la sélection des patients éligibles à la thérapie ciblée (Hofmann et al. 2008). Le statut HER2 est déterminé par immunohistochimie qui est considérée comme le gold standard pour l'évaluation de ce biomarqueur, seuls les cas équivoques (score 2+) nécessitent une confirmation par FISH (Hofmann et al. 2008).

Bien que le phénotype MSI soit largement décrit dans différentes études marocaines portées sur les cancers colorectaux, aucune étude sur le même phénotype n'a été menée jusqu'à présent dans les tumeurs gastriques de la population marocaine. C'est l'une des raisons qui nous a poussé à déterminer le phénotype MSI et à distinguer entre les tumeurs MSI-H et MSI-L/MSS. En effet, les résultats de biologie moléculaire ont montré la présence de 13.4% (13/97) des tumeurs qui sont MSI-H, confirmant ainsi les résultats d'une méta-analyse précédente, qui a rapporté que l'incidence des tumeurs gastriques MSI-H varie de 8% à 37% (ZHU et al. 2015).

En accord avec les données de la littérature, les cancers gastriques MSI-H étaient fréquemment observés pour le type intestinal, majoritairement localisés dans la région distale et survenaient chez les patients à un âge plus avancé (Mathiak et al. 2017 ; Zhang et al. 2018).

Plusieurs études ont été réalisées pour évaluer l'impact du phénotype MSI sur la survie des patients atteints d'un cancer gastrique et ont montré des résultats controverses. Certaines études ont rapporté que les tumeurs gastriques MSI-H présentaient une meilleure survie par rapport aux tumeurs gastriques MSI-L/MSS (Polom et al. 2018 ; Cai et al. 2020), tandis que d'autres études n'ont trouvé aucune association entre le phénotype MSI et la survie des patients (Kim et al. 2019 ; Dai et al. 2020). Une étude méta-analyse multinationale menée récemment en 2019 et incluant 1556 patients atteints du cancer gastrique, a montré que la survie sans progression et la survie globale étaient significativement améliorées pour les patients dont la tumeur est MSI-H que pour ceux dont la tumeur est MSI-L/MSS (Pietrantonio et al. 2019).

Les résultats de notre étude qui montrent que la forte instabilité microsatellite (MSI-H) était associée à une amélioration de la survie globale à 3ans (77% vs 23%, p=0,002) sont en accord avec cette étude multinationale.

Concernant le phénotype MSI et sa valeur prédictive en termes de réponse à la chimiothérapie adjuvante à base de 5-FU (5-FluoroUracile), là aussi les données de la littérature sont controverses. Une étude réalisée par An et ses collaborateurs (An et al. 2012), sur 1990 patients atteints de cancer gastrique, a montré qu'après un traitement par chimiothérapie à base de 5-FU, la survie sans récidive était meilleure chez les patients avec une tumeur MSI-L/MSS comparée aux patients avec une tumeur MSI-H. Ainsi le phénotype MSI-H serait un facteur de résistance au 5-FU. Par ailleurs, une méta-analyse récente incluant 1174 tumeurs gastriques (84 MSI-H et 1090 MSI-L/MSS), a montré qu'il n'y avait aucune association entre le phénotype MSI et la survie des patients suite à leur traitement par chimiothérapie à base de 5-FU (Zhao et al. 2019).

La défaillance du système de réparation des mésappariements (système MMR) n'est pas en soi un événement transformant. Le processus oncogénique est plutôt dû à l'accumulation de mutations au niveau des séquences répétées des gènes dits « cibles » (Collura et al. 2019). Ainsi, nous avons souhaité évaluer le profil mutationnel de 22 gènes cibles. Les résultats de l'étude révèlent la présence des mutations dans les gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire et dans l'apoptose (*HSP110, EGFR, TGFβRII, TCF4 et PTEN exon 7*), le maintien de l'intégrité génomique (*MSH3, BRCA2, MRE11, MBD4 et XRCC*) et la biogenèse des microARN (*TRBP2*). Les différentes mutations détectées ont été également rapportées dans une étude précédente, à l'exception des gènes *BAX, hMSH6, RAD50 et BLM* (Falchetti et al. 2008).

En ce qui concerne le gène *BRCA2*, nous avons trouvé des mutations dans 23% des cas, contrairement à ce qui a été rapporté par Falchetti et ses collaborateurs qui n'ont rapporté aucune mutation du gène *BRCA2* dans leur étude (Falchetti et al. 2008). En outre, aucune association significative n'a été retrouvée entre les mutations des gènes cibles et la survie des patients dans notre série. En raison du faible échantillonnage (97 tumeurs), le nombre des tumeurs à phénotype MSI-H dans notre étude est minime (13 cas), cela nous ne permet pas d'exclure l'association entre les mutations des gènes cibles et la survie des patients atteints du cancer gastrique.

Les protéines chaperonnes HSP (*Heat Shock Protein*) assistent d'autres protéines en cours de synthèse dans leur maturation, en empêchant la formation d'agrégats via les domaines hydrophobes présents sur leur surface lors de leur repliement tridimensionnel ou en favorisant leur catabolisme lorsqu' elles sont endommagées (Collura et al. 2019). Ces protéines chaperonnes dont HSP110 sont exprimées dans diverses conditions de stress (thermique, stress oxydant, agressions chimiques, irradiations, ..) et jouent un rôle oncogénique en permettant aux cellules tumorales de s'adapter à différentes conditions de stress comme lors du développement tumoral et pendant la phase de traitement par chimiothérapie (facteur de chimiorésistance) (Collura et al. 2014).

Des mutations du gène *HSP110 (T17)* ont été fréquemment observées dans les cancers colorectaux MSI-H (Dorard et al. 2011). Deux études récentes ont suggéré d'inclure l'analyse du profil mutationnel du gène *HSP110 (T17)* comme test complémentaire aux côtés du pentaplex standard pour l'évaluation du phénotype MSI dans le cancer colorectal (Buhard et al. 2016 ; Berardinelli et al. 2018). Dans notre étude, les mutations du gène *HSP110 (T17)* étaient les plus fréquents (84.6% des cas), suggérant son potentiel pour améliorer la détermination du phénotype MSI également dans le cancer gastrique.

Le cancer gastrique est une pathologie complexe et hétérogène. Les progrès de la biologie moléculaire ont permis une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la carcinogénèse gastrique et ont permis l'identification des cibles thérapeutiques potentielles. Deux études récentes (TCGA et ACRG) ont permis de classer les tumeurs gastriques en différents groupes selon leur profil moléculaire (Bass et al. 2014 ; Cristescu et al. 2015).

L'étude TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) a classé le cancer gastrique en quatre groupes moléculaires : les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV », les tumeurs montrant une instabilité des microsatellites « MSI », les tumeurs génomiquement stables « GS » et les tumeurs chromosomiquement instables « CIN » (Bass et al. 2014).

L'étude ACRG (*Asian Cancer Research Group*) a également identifié quatre groupes moléculaires du cancer gastrique : les tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI », les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse « MSS/EMT », les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 active « MSS/p53+ », et les tumeurs montrant une stabilité des microsatellites avec la protéine p53 inactive « MSS/p53-» (Cristescu et al. 2015).

Par ailleurs, une autre classification qui intègre à la fois les groupes moléculaires TCGA et ACRG dite « classification moléculaire intégrée » a été proposée (Sun et al. 2019). Cette dernière permet de répartir le cancer gastrique en cinq groupes moléculaires : les tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr « EBV », les tumeurs montrant une instabilité des microsatellites « MSI », les tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine, les tumeurs présentant une expression aberrante de la protéine p53 et les tumeurs présentant une expression normale de la protéine p53 (Sun et al.2019).

La répartition des tumeurs gastriques en groupes moléculaires permet de mieux appréhender leur hétérogénéité moléculaire et pourra fournir en pratique clinique des données utiles pour une meilleure prise en charge des patients selon le profil génique ou protéique des tumeurs. Dans cette étude, nous avons répartit 97 adénocarcinomes gastriques en groupes moléculaires en se basant sur les classifications citées ci-dessus.

Il est à noter que le groupe moléculaire des tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI » a été identifié dans les trois classifications (TCGA, ACRG et classification intégrée). Ces tumeurs représentaient 13.4% de notre population, une fréquence concordante avec celle rapportée dans la littérature (8.2 – 37%) (ZHU et al. 2015).

Les tumeurs appartenant au groupe moléculaire MSI avaient une meilleure survie globale, des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres études (Cristescu et al. 2015 ; Ahn et al. 2017 ; Yoon et al. 2019). Les tumeurs montrant une instabilité microsatellite « MSI » présentent un infiltrat lymphocytaire T important, par rapport à ce qui est rencontré dans les tumeurs présentant une stabilité des microsatellites « MSS ». En effet, les insertions/délétions générées du fait du statut MSI au niveau des séquences microsatellites créent un décalage du cadre de lecture (mutation frameshift) sur les transcrits des gènes cibles. Il en résulte des protéines tronquées qui sont reconnues par le système immunitaire du patient (Fridman et al. 2012). L'une des mécanismes utilisés par les cellules tumorales pour échapper à la réponse immunitaire est l'expression du ligand PD-L1. En effet, les tumeurs MSI+ sont caractérisées par une forte expression de PD-1 et PD-L1, qui jouent un rôle primordial dans l'inhibition de la réponse immune (Rosa et al. 2018 ; Morihiro et al. 2019 ; Xiaoqiao Liu et al. 2020).

L'interaction du récepteur PD-1 (situé sur les lymphocytes T) avec son ligand PD-L1 (exprimé par les cellules tumorales) entraine un épuisement des lymphocytes T activés (*T cell exhaustion*), ce qui favorise leur apoptose permettant ainsi aux cellules tumorales de se développer après échappement à la surveillance du système immunitaire (Figueroa-Protti et al. 2019).

Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (immune checkpoint inhibitors) sont des anticorps monoclonaux capables de se lier avec PD1 ou PD-L1 pour bloquer leur interaction, ce qui permet de restaurer la fonction du système immunitaire et de reconnaitre puis détruire les cellules tumorales. Les résultats positifs d'une étude clinique de phase 2 (Le et al. 2015), actualisés en 2017 (Le et al. 2017) ont ouvert la voie à l'utilisation de ces inhibiteurs de points de contrôle immunitaire dans le cancer gastrique. En effet, la FDA (Food and Drug Administration) a donné son approbation pour l'utilisation du pembrolizumab (anti-PD1) pour le traitement de tumeurs solides non résécables ou métastatiques présentant une déficience de la réparation des mésappariements « MSI-H » qui ont progressé après un traitement préalable (Marcus et al. 2019). Ainsi, la détermination du phénotype MSI est devenue incontournable dans les tumeurs solides y compris les tumeurs gastriques pour sélectionner les patients éligibles à l'immunothérapie.

Le groupe moléculaire des tumeurs infectées par le virus d'Epstein-Barr (EBV) a été identifié et rapporté aussi bien dans la classification moléculaire TCGA et la classification intégrée. Le nombre de tumeurs gastriques infectées par l'EBV varie largement dans le monde, allant de 0 à 23.6% avec une fréquence moyenne d'environ 10% (Lima et al. 2012 ; Naseem et al. 2018). Une étude marocaine réalisée sur 287 patients a rapporté que 28% des cancers gastriques étaient associés à l'EBV (Alaoui Boukhris et al. 2018). La révélation de l'infection par EBV a été réalisée par la technique PCR qui détecte aussi bien l'EBV dans les cellules tumorales que dans les lymphocytes du microenvironnement tumoral, donnant ainsi des faux positifs (Lima et al. 2012). Cependant, la mise en évidence de la présence du génome viral dans notre étude a été réalisée par hybridation in situ des ARN EBERs (*Epstein–Barr virus-encoded small RNAs*) qui est la méthode de référence pour une détection précise de l'infection à EBV (Hamilton-Dutoit and Pallessen 1994). Ainsi, les taux retrouvés sont discordants (28% vs 6%).

Par ailleurs, les tumeurs EBV-positives ont été retrouvées exclusivement chez les hommes, un résultat qui concorde avec plusieurs études publiées rapportant une prédominance masculine associée à ces tumeurs (Nogueira et al. 2017 ; Ramos et al. 2019).

Contrairement à d'autres études qui ont rapporté le bon pronostic des tumeurs EBV-positives (Constanza Camargo et al. 2014 ; Xuechao Liu et al. 2015), dans notre série ces tumeurs sont plutôt associées à un mauvais pronostic. Cette discordance est probablement due au faible échantillonnage (97 patients).

Les classifications moléculaires TCGA et ACRG ont mis en évidence un groupe moléculaire distinctif caractérisé par une perte d'adhésion cellulaire et un faible taux de mutations, appelé GS (groupe des tumeurs génomiquement stables) et MSS/EMT (groupe des tumeurs présentant une stabilité des microsatellites et qui expriment les marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse) respectivement (Bass et al. 2014 ; Cristescu et al. 2015). Comme on pouvait s'y attendre, les groupes moléculaires GS et MSS/EMT partageaient des similitudes avec le groupe des tumeurs présentant une expression aberrante de la protéine E-cadhérine de la classification intégrée. En effet, ces trois groupes moléculaires (GS, MSS/EMT et groupe des tumeurs présentant une expression aberrante de la E-cadhérine) étaient diagnostiqués chez les patients jeunes, ils étaient caractérisés par la prédominance des cancers gastriques de type diffus et étaient de mauvais pronostic. Ces résultats confirment les données de la littérature (Bass et al. 2014 ; Cristescu et al. 2015 ; Setia et al. 2016 ; Yoon et al. 2019 ; Wang et al. 2020).

Parmi les groupes moléculaires de la classification TCGA, le groupe des tumeurs chromosomiquement instables (CIN) était le plus représenté dans notre série avec 51.5% des cas. Conformément aux résultats de plusieurs études (Bass et al. 2014) (Yoon et al. 2019), ce groupe moléculaire était caractérisé par une expression aberrante de la protéine p53 et la prédominance des formes intestinales du cancer gastrique, ce qui correspond au groupe moléculaire MSS/p53- de la classification ACRG et au groupe des tumeurs présentant une expression aberrante de la p53 de la classification intégrée. Par ailleurs, la majorité des tumeurs HER2-positives étaient classées dans ce groupe CIN et par conséquent, un sous-ensemble de ces patients pourrait être éligible au traitement par trastuzumab (Bang et al. 2010).

Conclusions et perspectives

Le cancer gastrique est et demeure un problème de santé publique par sa fréquence et sa gravité bien que son incidence soit en diminution. Son diagnostic est souvent tardif en raison d'une longue phase asymptomatique ou de l'existence de symptômes peu spécifiques. La chirurgie d'exérèse associée à un curage ganglionnaire reste la seule modalité thérapeutique à visée curative.

Malgré les progrès dans le diagnostic et le traitement, le pronostic des patients atteints d'un cancer gastrique reste péjoratif, particulièrement pour les patients ayant un cancer gastrique métastatique dont le taux de survie à 5 ans ne dépasse pas les 15%. Ainsi, des améliorations dans la prise en charge du cancer gastrique s'imposent, et donc la proposition des moléculaires pour la thérapie ciblée ou l'immunothérapie est d'une nécessité absolue.

Des avancées en biologie moléculaire, essentiellement les technologies à haut débit ont permis une meilleure compréhension des mécanismes d'oncogenèse gastrique et de mieux appréhender l´hétérogénéité moléculaire des tumeurs gastriques. Des études de profilage moléculaire ont permis le dénombrement de 4 groupes moléculaires du cancer gastrique : EBV, MSI, GS et CIN pour la classification TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) et MSI, MSS/EMT, MSS/p53- et MSS/p53+ pour la classification ACRG (*Asian Cancer Research Group*).

Ces deux classifications moléculaires du cancer gastrique sont nécessaires pour la sélection des patients éligibles aux thérapies ciblées. En outre, l'identification des biomarqueurs liés à l'immunité a ouvert la voie à l'immunothérapie pour une meilleure prise en charge de ce cancer. Ainsi, l'introduction des éléments de la classification moléculaire prend de plus en plus de l'ampleur dans la pratique clinique et est actuellement la base de prescription de la thérapie ciblée (trastuzumab) et de l'immunothérapie (pembrolizumab).

C'est dans cette optique que notre étude a été menée afin de classer, pour la première fois au Maroc, les adénocarcinomes gastriques en différents groupes moléculaires, tout en évaluant l'impact de certaines altérations sur le pronostic et la survie des patients. Cette étude constitue une ébauche de la caractérisation moléculaire du cancer gastrique au Maroc qui a permis de définir l'état des lieux dans notre population. À travers cette étude, nous avons proposé des algorithmes simples permettant de classer les cancers gastriques en groupes moléculaires en utilisant des techniques disponibles dans la pratique de routine.

Nos résultats sont concordants avec les données de la littérature et ont montré que ces classifications simplifiées peuvent être utilisées non seulement pour la classification moléculaire, mais aussi pour prédire le pronostic des patients atteints d'un cancer gastrique.

Toutefois, il faut reconnaitre que cette étude a des limites dont l'effectif relativement faible de notre population. En effet, 166 patients atteints d'adénocarcinome gastrique sont recrutés au service de gastroentérologie du CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2014 et Décembre 2018. 41 patients ont été exclus de l'étude à cause de l'absence du bloc tissulaire ne laissant que 125 patients. Par ailleurs sur les 125 cas inclus dans cette étude, on a rencontré un problème d'insuffisance de la quantité d'ADN pour assurer l'étude moléculaire (n=28 cas). Ces derniers étaient ensuite exclus de la classification moléculaire, rendant compliqués les analyses statistiques et l'extrapolation des résultats à la population générale.

Il serait donc souhaitable de faire différents prélèvements tissulaires pour éviter l'épuisement des blocs et assurer l'étude moléculaire des tumeurs qui est actuellement importante dans la prise en charge des patients. Il serait aussi intéressant de confirmer nos résultats moléculaires avec des études de cohortes plus larges en surmontant les difficultés citées ci-dessus.

Nous proposons également de faire une caractérisation moléculaire plus stricte en évaluant l'expression d'autres gènes (*EGFR, KRAS, JAK2, PTEN, PI3KCA, CDH1, TP53, CDKN2A*.…) par la nouvelle technologie de séquençage à haut débit NGS (*Next generation sequencing*) qui est en cours d'installation dans la FMPF.

Par ailleurs, il serait judicieux de :

- Instaurer un programme national de dépistage pour permettre un diagnostic et une prise en charge précoces de ce cancer pour améliorer le taux de survie
- Mettre en place de la prise en charge matérielle et morale des patients pour faire un suivi approprié des malades et ainsi éviter les perdues de vues
- Discuter la prise en charge de chaque patient en réunion de concertation pluridisciplinaire impliquant les gastro-entérologues, les oncologues, les chirurgiens digestifs, les radiologues, les anatomopathologistes et les biologistes moléculaires pour la prise de décision collégiale.

Enfin, une prise en charge adéquate avec un traitement personnalisé et un suivi approprié des patients ne pourrait être que bénéfique et économique pour le système de santé marocain.

Références bibliographiques

Abd Elhameed, Amal Helmy, AM Abo-Elenein, WS Ibrahim, GM El-kassas, and MA Noweir. 2018. “Study of P53 Gene Mutations as a New Early Diagnostic Markers of Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients.” *Madridge Journal of Oncogenesis* 2 (1): 21–29. https://doi.org/10.18689/mjo-1000104.

Abdi, Esmat, Saeid Latifi-Navid, Saber Zahri, Abbas Yazdanbod, and Farhad Pourfarzi. 2019. “Risk Factors Predisposing to Cardia Gastric Adenocarcinoma: Insights and New Perspectives.” *Cancer Medicine* 8 (13): 6114–26. https://doi.org/10.1002/cam4.2497.

Aguiar Junior, Pedro Nazareth, Ricardo Artigiani Neto, and Nora Manoukian Forones. 2016. “HER2 Expression as a Prognostic Factor in Metastatic Gastric Cancer.” *Arquivos de Gastroenterologia* 53 (2): 62–67. https://doi.org/10.1590/S0004-28032016000200003.

Ahn, Hyo Jun, and Dong Soo Lee. 2015. “Helicobacter Pylori in Gastric Carcinogenesis.” *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 7 (12): 455–65. https://doi.org/10.4251/wjgo.v7.i12.455.

Ahn, Sangjeong, So Jeong Lee, Yonugkeum Kim, Ahrong Kim, Nari Shin, Kyung Un Choi, Chang Hun Lee, et al. 2017. “High-Throughput Protein and MRNA Expression-Based Classification of Gastric Cancers Can Identify Clinically Distinct Subtypes, Concordant with Recent Molecular Classifications.” *American Journal of Surgical Pathology* 41 (1): 106–15. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000756.

Akyala, Adamu Ishaku, Auke P. Verhaar, and Maikel P. Peppelenbosch. 2018. “Immune Checkpoint Inhibition in Gastric Cancer: A Systematic Review.” *Journal of Cellular Immunotherapy* 4 (2): 49–55. https://doi.org/10.1016/j.jocit.2018.05.001.

Al-Batran, Salah-Eddin, Nils Homann, Harald Schmalenberg, Hans-Georg Kopp, Georg Martin Haag, Kim Barbara Luley, Wolff H. Schmiegel, et al. 2017. “Perioperative Chemotherapy with Docetaxel, Oxaliplatin, and Fluorouracil/Leucovorin (FLOT) versus Epirubicin, Cisplatin, and Fluorouracil or Capecitabine (ECF/ECX) for Resectable Gastric or Gastroesophageal Junction (GEJ) Adenocarcinoma (FLOT4-AIO): A Multicenter, Randomized Phase 3 Trial.” *Journal of Clinical Oncology* 35 (15_suppl): 4004–4004. https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.4004.

Alaoui Boukhris, S., M. El Khadir, D.A. Benajah, K. El Rhazi, S.A. Ibrahimi, M. El Abkari, L. Chbani, C. Nejjari, M. Mahmoud, and B. Bennani. 2018. “Infection à l’Epstein-Barr

Virus et Cancer Gastrique : Quelle Association ?" *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique* 66 (May): S166–67. https://doi.org/10.1016/j.respe.2018.03.122.

An, Ji Yeong, Hyunki Kim, Jae Ho Cheong, Woo Jin Hyung, Hoguen Kim, and Sung Hoon Noh. 2012. "Microsatellite Instability in Sporadic Gastric Cancer: Its Prognostic Role and Guidance for 5-FU Based Chemotherapy after R0 Resection." *International Journal of Cancer* 131 (2): 505–11. https://doi.org/10.1002/ijc.26399.

Anbiaee, Robab, Khosrow Mojir Sheibani, Peyman Torbati, and Hanieh Jaam. 2013. "Abnormal Expression of E-Cadherin in Gastric Adenocarcinoma and Its Correlation with Tumor Histopathology and Helicobacter Pylori Infection." *Iranian Red Crescent Medical Journal* 15 (3). https://doi.org/10.5812/ircmj.4032.

Aparicio, T., M. Yacoub, P. Karila-Cohen, and E. René. 2004. "Adénocarcinome Gastrique: Notions Fondamentales, Diagnostic et Traitement." *EMC - Chirurgie*. Elsevier Masson SAS. https://doi.org/10.1016/j.emcchi.2003.10.003.

Arana, Mercedes E, and Thomas A Kunkel. 2010. "Mutator Phenotypes Due to DNA Replication Infidelity." *Seminars in Cancer Biology* 20 (5): 304–11. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2010.10.003.

Bae, Yoon Sung, Hoguen Kim, Sung Hoon Noh, and Hyunki Kim. 2015. "Usefulness of Immunohistochemistry for Microsatellite Instability Screening in Gastric Cancer." *Gut and Liver* 9 (5): 629–35. https://doi.org/10.5009/gnl15133.

Balakrishnan, Maya, Rollin George, Ashish Sharma, and David Y. Graham. 2017. "Changing Trends in Stomach Cancer Throughout the World." *Current Gastroenterology Reports*. Current Medicine Group LLC 1. https://doi.org/10.1007/s11894-017-0575-8.

Bang, Guy Aristide, Eric Patrick Savom, Blondel Nana Oumarou, Cynthia Karelle Mboupda Ngamy, Georges Bwelle Moto, Yannick Mahamat Ekani Boukar, Pierre René Binyom, Arthur Essomba, and Maurice Aurélien Sosso. 2020. "Clinical Epidemiology and Mortality Risk Factors of Gastric Cancer in a Sub-Saharan African Setting: A Retrospective Analysis of 120 Cases in Yaoundé (Cameroon)." *Pan African Medical Journal* 37: 1–14. https://doi.org/10.11604/pamj.2020.37.104.25422.

Bang, Yung Jue, Eric Van Cutsem, Andrea Feyereislova, Hyun C. Chung, Lin Shen, Akira Sawaki, Florian Lordick, et al. 2010. “Trastuzumab in Combination with Chemotherapy versus Chemotherapy Alone for Treatment of HER2-Positive Advanced Gastric or Gastro-Oesophageal Junction Cancer (ToGA): A Phase 3, Open-Label, Randomised Controlled Trial.” *The Lancet* 376 (9742): 687–97. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61121-X.

Banyard, Jacqueline, and Diane R. Bielenberg. 2015. “The Role of EMT and MET in Cancer Dissemination.” *Connective Tissue Research*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.3109/03008207.2015.1060970.

Bass, Adam J., Vesteinn Thorsson, Ilya Shmulevich, Sheila M. Reynolds, Michael Miller, Brady Bernard, Toshinori Hinoue, et al. 2014. “Comprehensive Molecular Characterization of Gastric Adenocarcinoma.” *Nature* 513 (7517): 202–9. https://doi.org/10.1038/nature13480.

Benider Abdellatif, Bendahhou Karima, Soukaina Afghar, Btissam Charrat,Ibrahim Khalil Ahmadaye, Machkak Saida and Ouboutrast Amal. 2016. « Registre des cancers de la Région du Grand Casablanca pour la période 2008 – 2012 ». Fondation Lalla Salma-Prévention et traitement des cancers.

Berardinelli, Gustavo Noriz, Cristovam Scapulatempo-Neto, Ronílson Durães, Marco Antônio de Oliveira, Denise Guimarães, and Rui Manuel Reis. 2018. “Advantage of HSP110 (T17) Marker Inclusion for Microsatellite Instability (MSI) Detection in Colorectal Cancer Patients.” *Oncotarget* 9 (47): 28691–701. https://doi.org/10.18632/oncotarget.25611.

Bitler, Benjamin G., Katherine M. Aird, Azat Garipov, Hua Li, Michael Amatangelo, Andrew V. Kossenkov, David C. Schultz, et al. 2015. “Synthetic Lethality by Targeting EZH2 Methyltransferase Activity in ARID1A-Mutated Cancers.” *Nature Medicine* 21 (3): 231–38. https://doi.org/10.1038/nm.3799.

Blair, Vanessa R., Maybelle McLeod, Fátima Carneiro, Daniel G. Coit, Johanna L. D’Addario, Jolanda M. van Dieren, Kirsty L. Harris, et al. 2020. “Hereditary Diffuse Gastric Cancer: Updated Clinical Practice Guidelines.” *The Lancet Oncology*. Lancet Publishing Group. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30219-9.

Bonenkamp, J.J., J. Hermans, M. Sasako, K. Welvaart, I. Songun, S. Meyer, J.T.M. Plukker, et al. 1999. “Extended Lymph-Node Dissection for Gastric Cancer.” *New England Journal of Medicine* 340 (12): 908–14. https://doi.org/10.1056/nejm199903253401202.

Bosman, F. T., F. Carneiro, R. H. Hruban, and N. D. Theise. 2010. “WHO Classification of Tumours of the Digestive System.” *WHO Classification of Tumours of the Digestive System.*, no. Ed. 4.

Brar, Gagandeep, and Manish A. Shah. 2019. “The Role of Pembrolizumab in the Treatment of PD-L1 Expressing Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma.” *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. SAGE Publications Ltd. https://doi.org/10.1177/1756284819869767.

Bray, Freddie, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, and Ahmedin Jemal. 2018. “Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 68 (6): 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492.

Buhard, Olivier, Francesca Cattaneo, Fu Wong Yick, Fan Yim So, Eitan Friedman, Jean François Flejou, Alex Duval, and Richard Hamelin. 2006. “Multipopulation Analysis of Polymorphisms in Five Mononucleotide Repeats Used to Determine the Microsatellite Instability Status of Human Tumors.” *Journal of Clinical Oncology* 24 (2): 241–51. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.7227.

Buhard, Olivier, Anaïs Lagrange, Agathe Guilloux, Chrystelle Colas, Mouna Chouchène, Kristell Wanherdrick, Florence Coulet, et al. 2016. “HSP110 T17 Simplifies and Improves the Microsatellite Instability Testing in Patients with Colorectal Cancer.” *Journal of Medical Genetics* 53 (6): 377–84. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103518.

Burke, A P, T S Yen, K M Shekitka, and L H Sobin. 1990. “Lymphoepithelial Carcinoma of the Stomach with Epstein-Barr Virus Demonstrated by Polymerase Chain Reaction.” *Modern Pathology : An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 3 (3): 377–80. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2163534.

Butt, Julia, Matthew G. Varga, Tianyi Wang, Shoichiro Tsugane, Taichi Shimazu, Wei Zheng, Christian C. Abnet, et al. 2019. “Smoking, Helicobacter Pylori Serology, and Gastric Cancer Risk in Prospective Studies from China, Japan, and Korea.” *Cancer Prevention Research*. American Association for Cancer Research Inc. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-19-0238.

Cai, J., D. Wei, C. F. Gao, C. S. Zhang, H. Zhang, and T. Zhao. 2012. “A Prospective Randomized Study Comparing Open versus Laparoscopy-Assisted D2 Radical Gastrectomy in Advanced Gastric Cancer.” *Digestive Surgery*. Dig Surg. https://doi.org/10.1159/000330782.

Cai, Lei, Yeqi Sun, Kezhou Wang, Wenbin Guan, Juanqing Yue, Junlei Li, Ruifen Wang, and Lifeng Wang. 2020. “The Better Survival of MSI Subtype Is Associated With the Oxidative Stress Related Pathways in Gastric Cancer.” *Frontiers in Oncology* 10 (July): 1269. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01269.

Camargo, M. C., Robertino Mera, Pelayo Correa, Richard M Peek, Elizabeth T H Fontham, Karen J Goodman, M Blanca Piazuelo, Liviu Sicinschi, Jovanny Zabaleta, and Barbara G Schneider. 2006. “Interleukin-1 and Interleukin-1 Receptor Antagonist Gene Polymorphisms and Gastric Cancer: A Meta-Analysis.” *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 15 (9): 1674–87. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0189.

Carneiro, Patrícia, Maria Sofia Fernandes, Joana Figueiredo, Joana Caldeira, Joana Carvalho, Hugo Pinheiro, Marina Leite, et al. 2012. “E-Cadherin Dysfunction in Gastric Cancer - Cellular Consequences, Clinical Applications and Open Questions.” In *FEBS Letters*, 586:2981–89. FEBS Lett. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.07.045.

Carrasco-Garcia, Estefania, Mikel García-Puga, Sara Arevalo, and Ander Matheu. 2018. “Towards Precision Medicine: Linking Genetic and Cellular Heterogeneity in Gastric Cancer.” *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. SAGE Publications Inc. https://doi.org/10.1177/1758835918794628.

Carrizo, Mariano. 2017. “Loss of E-Cadherin Expression and Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) as Key Steps in Tumor Progression.” *Journal of Cancer Prevention & Current Research* 7 (3). https://doi.org/10.15406/jcpcr.2017.07.00235.

Casak, Sandra J., Ibilola Fashoyin-Aje, Steven J. Lemery, Lillian Zhang, Runyan Jin, Hongshan Li, Liang Zhao, et al. 2015. “FDA Approval Summary: Ramucirumab for Gastric Cancer.” *Clinical Cancer Research* 21 (15): 3372–76. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0600.

Chbani, Laila, Imane Hafid, Mohamed Berraho, Chakib Nejjari, and Afaf Amarti. 2012. “Digestive Cancers in Morocco: Fez-Boulemane Region.” *Pan Africa Medical Journal-ISSN*. Vol. 13. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3542780/pdf/PAMJ-13-46.pdf.

Chen, Jiandong. 2016. “The Cell-Cycle Arrest and Apoptotic Functions of P53 in Tumor Initiation and Progression.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6 (3). https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026104.

Chen, Li Tzong, Taroh Satoh, Min Hee Ryu, Yee Chao, Ken Kato, Hyun Cheol Chung, Jen Shi Chen, et al. 2020. “A Phase 3 Study of Nivolumab in Previously Treated Advanced Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer (ATTRACTION-2): 2-Year Update Data.” *Gastric Cancer* 23 (3): 510–19. https://doi.org/10.1007/s10120-019-01034-7.

Choi, Moon Han, Su Jin Hong, Jae Pil Han, Jeong Yeop Song, Dae Yong Kim, Sung Woo Seo, J. S. Ha, Yun Nah Lee, Bong Min Ko, and Moon Sung Lee. 2013. “[Therapeutic Outcomes of Endoscopic Submucosal Dissection in Undifferentiated-Type Early Gastric Cancer].” *The Korean Journal of Gastroenterology = Taehan Sohwagi Hakhoe Chi* 61 (4): 196–202. https://doi.org/10.4166/kjg.2013.61.4.196.

Collura, Ada, Anaïs Lagrange, Magali Svrcek, Laetitia Marisa, Olivier Buhard, Agathe Guilloux, Kristell Wanherdrick, et al. 2014. “Patients with Colorectal Tumors with Microsatellite Instability and Large Deletions in HSP110 T 17 Have Improved Response to 5-Fluorouracil-Based Chemotherapy.” *Gastroenterology* 146 (2). https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.10.054.

Collura, Ada, Jérémie H. Lefevre, Magali Svrcek, David Tougeron, Aziz Zaanan, and Alex Duval. 2019. “Instabilité Des Microsatellites et Cancer.” *Médecine/Sciences* 35 (6–7): 535–43. https://doi.org/10.1051/medsci/2019093.

Colquhoun, A., M. Arnold, J. Ferlay, K. J. Goodman, D. Forman, and I. Soerjomataram. 2015. “Global Patterns of Cardia and Non-Cardia Gastric Cancer Incidence in 2012.” *Gut* 64 (12): 1881–88. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308915.

Constanza Camargo, M., Woo Ho Kim, Anna Maria Chiaravalli, Kyoung Mee Kim, Alejandro H. Corvalan, Keitaro Matsuo, Jun Yu, et al. 2014. “Improved Survival of Gastric Cancer with Tumour Epstein-Barr Virus Positivity: An International Pooled Analysis.” *Gut* 63 (2): 236–43. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-304531.

Conteduca, Vincenza, Domenico Sansonno, Gianfranco Lauletta, Sabino Russi, Giuseppe Ingravallo, and Franco Dammacco. 2013. “H. Pylori Infection and Gastric Cancer: State of the Art (Review).” *International Journal of Oncology*. Spandidos Publications. https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1701.

Corley, Douglas A., Ai Kubo, and Wei Zhao. 2008. “Abdominal Obesity and the Risk of Esophageal and Gastric Cardia Carcinomas.” *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 17 (2): 352–58. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0748.

Correa, Pelayo. 1992. “Human Gastric Carcinogenesis: A Multistep and Multifactorial Process—First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention.” *Cancer Research* 52 (24).

Crawford, Dorothy H. 2001. “Biology and Disease Associations of Epstein-Barr Virus.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Royal Society. https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0783.

Crew, Katherine D., and Alfred I. Neugut. 2006. “Epidemiology of Gastric Cancer.” *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co. https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i3.354.

Cristescu, Razvan, Jeeyun Lee, Michael Nebozhyn, Kyoung Mee Kim, Jason C. Ting, Swee Seong Wong, Jiangang Liu, et al. 2015. “Molecular Analysis of Gastric Cancer Identifies Subtypes Associated with Distinct Clinical Outcomes.” *Nature Medicine* 21 (5): 449–56. https://doi.org/10.1038/nm.3850.

Cunningham, David, William H. Allum, Sally P. Stenning, Jeremy N. Thompson, Cornelis J.H. Van de Velde, Marianne Nicolson, J. Howard Scarffe, et al. 2006. “Perioperative Chemotherapy versus Surgery Alone for Resectable Gastroesophageal Cancer.” *New England Journal of Medicine* 355 (1): 11–20. https://doi.org/10.1056/NEJMoa055531.

Cuschieri, A., S. Weeden, J. Fielding, J. Bancewicz, J. Craven, V. Joypaul, M. Sydes, and P. Fayers. 1999. “Patient Survival after D1 and D2 Resections for Gastric Cancer: Long-Term Results of the MRC Randomized Surgical Trial.” *British Journal of Cancer* 79 (9–10): 1522–30. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690243.

Cuylen, Sara, Claudia Blaukopf, Antonio Z. Politi, Thomas Muller-Reichert, Beate Neumann, Ina Poser, Jan Ellenberg, Anthony A. Hyman, and Daniel W. Gerlich. 2016. “Ki-67 Acts as a Biological Surfactant to Disperse Mitotic Chromosomes.” *Nature* 535 (7611): 308–12. https://doi.org/10.1038/nature18610.

D’Elia, Lanfranco, Ferruccio Galletti, and Pasquale Strazzullo. 2014. “Dietary Salt Intake and Risk of Gastric Cancer.” *Cancer Treatment and Research* 159: 83–95. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38007-5_6.

D’Elia, Lanfranco, Giovanni Rossi, Renato Ippolito, Francesco P. Cappuccio, and Pasquale Strazzullo. 2012. “Habitual Salt Intake and Risk of Gastric Cancer: A Meta-Analysis of Prospective Studies.” *Clinical Nutrition* 31 (4): 489–98. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2012.01.003.

Dai, Dongfang, Xiaohui Zhao, Xiaoqin Li, Yongqian Shu, Bo Shen, Xiaofeng Chen, Deyu Chen, and Deqiang Wang. 2020. “Association Between the Microsatellite Instability Status and the Efficacy of Postoperative Adjuvant Chemoradiotherapy in Patients With Gastric Cancer.” *Frontiers in Oncology* 9 (January). https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01452.

Daouda TANGARA, « Cancer de l’estomac : aspects diagnostiques et thérapeutiques dans le service de chirurgie « A » de 2010 à 2018 », Thèse de doctorat en médecine N°212, sous la direction de Zimogo Zié SANOGO, Faculté de Médecine et d’Odontostomatologie - UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO, 2020, 142 p.

Dicken, Bryan J., David L. Bigam, Carol Cass, John R. Mackey, Anil A. Joy, and Stewart M. Hamilton. 2005. “Gastric Adenocarcinoma: Review and Considerations for Future Directions.” *Annals of Surgery*. Ann Surg. https://doi.org/10.1097/01.sla.0000149300.28588.23.

Dikken, J. L., J. W. Van Sandick, W. H. Allum, J. Johansson, L. S. Jensen, H. Putter, V. H. Coupland, M. W.J.M. Wouters, V. E.P. Lemmens, and C. J.H. Van De Velde. 2013. “Differences in Outcomes of Oesophageal and Gastric Cancer Surgery across Europe.” *British Journal of Surgery* 100 (1): 83–94. https://doi.org/10.1002/bjs.8966.

Dorard, Coralie, Aurélie De Thonel, Ada Collura, Laetitia Marisa, Magali Svrcek, Anaïs Lagrange, Gaetan Jego, et al. 2011. “Expression of a Mutant HSP110 Sensitizes Colorectal Cancer Cells to Chemotherapy and Improves Disease Prognosis.” *Nature Medicine* 17 (10): 1283–89. https://doi.org/10.1038/nm.2457.

Dore, Maria Pina, Alessandra Manca, Maria Carolina Alfonso Pensamiento, Alessandro Palmerio Delitala, Giuseppe Fanciulli, Andrea Fausto Piana, and Giovanni Mario Pes. 2020. “Male Predominance of Gastric Cancer among Patients with Hypothyroidism from a Defined Geographic Area.” *Journal of Clinical Medicine* 9 (1): 135. https://doi.org/10.3390/jcm9010135.

El-Omar, Emad M., Mary Carrington, Wong-Ho Chow, Kenneth E. L. McColl, Jay H. Bream, Howard A. Young, Jesus Herrera, et al. 2000. “Interleukin-1 Polymorphisms Associated with Increased Risk of Gastric Cancer.” *Nature* 404 (6776): 398–402. https://doi.org/10.1038/35006081.

El-Omar, Emad M., Charles S. Rabkin, Marilie D. Gammon, Thomas L. Vaughan, Harvey A. Risch, Janet B. Schoenberg, Janet L. Stanford, et al. 2003. “Increased Risk of Noncardia Gastric Cancer Associated with Proinflammatory Cytokine Gene Polymorphisms.” *Gastroenterology* 124 (5): 1193–1201. https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)00157-4.

Elghali, Mohamed Amine, Amine Gouader, Rym Bouriga, Mohamed Mahjoub, Mohamed Salah Jarrar, Sonia Ziadi, Moncef Mokni, Fahmi Hamila, and Rached Ltaeif. 2018. “Gastric Adenocarcinomas in Central Tunisia: Evolution Specificities through Two Decades and Relation with <B><I>Helicobacter Pylori</I></B>” *Oncology* 95 (2): 121–28.

https://doi.org/10.1159/000488488.

Elmajjaoui, Sanna, Nabil Ismaili, Hanane Zaidi, Hanane Elkacemi, Khalid Hassouni, Taib Kebdani, and Noureddine Benjaafar. 2014. “Epidemiological, Clinical, Pathological, and Therapeutic Aspects of Gastric Cancer in Morocco.” *Clinical Cancer Investigation Journal* 3 (1): 3–3. https://go.gale.com/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=22781668&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA357710859&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext.

EPSTEIN, M A, B G ACHONG, and Y M BARR. 1964. “VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT’S LYMPHOMA.” *Lancet (London, England)* 1 (7335): 702–3. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14107961.

Fadlouallah, M., H. Krami, I. Errabih, N. Benzzoubeir, L. Ouazzani, and H. Ouazzani. 2015. “Gastric Cancer: Epidemiological Aspects in Morocco.” *Journal Africain Du Cancer* 7 (1): 8–15. https://doi.org/10.1007/s12558-014-0322-4.

Falchetti, Mario, Calogero Saieva, Ramona Lupi, Giovanna Masala, Piera Rizzolo, Ines Zanna, Ketty Ceccarelli, et al. 2008. “Gastric Cancer with High-Level Microsatellite Instability: Target Gene Mutations, Clinicopathologic Features, and Long-Term Survival.” *Human Pathology* 39 (6): 925–32. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2007.10.024.

Fang, Xuexian, Jiayu Wei, Xuyan He, Peng An, Hao Wang, Li Jiang, Dandan Shao, et al. 2015. “Landscape of Dietary Factors Associated with Risk of Gastric Cancer: A Systematic Review and Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies.” *European Journal of Cancer* 51 (18): 2820–32. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.09.010.

Fashoyin-Aje, Lola, Martha Donoghue, Huanyu Chen, Kun He, Janaki Veeraraghavan, Kirsten B. Goldberg, Patricia Keegan, Amy E. McKee, and Richard Pazdur. 2019. “FDA Approval Summary: Pembrolizumab for Recurrent Locally Advanced or Metastatic Gastric or Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma Expressing PD-L1.” *The Oncologist* 24 (1): 103–9. https://doi.org/10.1634/theoncologist.2018-0221.

Figueroa-Protti, Lucía, Rebeca Soto-Molinari, Melany Calderón-Osorno, Javier Mora, and Warner Alpízar-Alpízar. 2019. “Gastric Cancer in the Era of Immune Checkpoint Blockade.” *Journal of Oncology*. Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2019/1079710.

Figura, Natale. 2016. “Helicobacter Pylori Infection and Gastric Carcinoma: Not All the Strains and Patients Are Alike .” *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 8 (1): 40. https://doi.org/10.4251/wjgo.v8.i1.40.

Francis Canon. 2021. « Physiologie des systèmes intégrés, les principes et fonctions- Spécificités histologiques de l'estomac ». https://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/grain6b2.html Accessed on May 27th, 2021.

Frederick L, Greene, David L. Page, Irvin D. Fleming, April G. Fritz, Charles M. Balch, Daniel G. Haller and Monica Morrow. 2002. “AJCC Cancer Staging Manual”. Springer New York. eBook ISBN 978-1-4757-3656-4, éd 6, 421p. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3656-4.

Fridman, Wolf Herman, Franck Pagès, Catherine Sauts-Fridman, and Jrôme Galon. 2012. “The Immune Contexture in Human Tumours: Impact on Clinical Outcome.” *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/nrc3245.

Fujimoto-Ouchi, Kaori, Fumiko Sekiguchi, Hideyuki Yasuno, Yoichiro Moriya, Kazushige Mori, and Yutaka Tanaka. 2007. “Antitumor Activity of Trastuzumab in Combination with Chemotherapy in Human Gastric Cancer Xenograft Models.” *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 59 (6): 795–805. https://doi.org/10.1007/s00280-006-0337-z.

Fukushige, S, K Matsubara, M Yoshida, M Sasaki, T Suzuki, K Semba, K Toyoshima, and T Yamamoto. 1986. “Localization of a Novel V-ErbB-Related Gene, c-ErbB-2, on Human Chromosome 17 and Its Amplification in a Gastric Cancer Cell Line.” *Molecular and Cellular Biology* 6 (3): 955–58. https://doi.org/10.1128/mcb.6.3.955.

Gaddy, Jennifer A., Jana N. Radin, John T. Loh, Feng Zhang, M. Kay Washington, Richard M. Peek, Holly M. Scott Algood, and Timothy L. Cover. 2013. “High Dietary Salt Intake Exacerbates Helicobacter Pylori-Induced Gastric Carcinogenesis.” *Infection and Immunity* 81 (6): 2258–67. https://doi.org/10.1128/IAI.01271-12.

Gerdes, Johannes, Ulrich Schwab, Hilmar Lemke, and Harald Stein. 1983. “Production of a Mouse Monoclonal Antibody Reactive with a Human Nuclear Antigen Associated with Cell Proliferation.” *International Journal of Cancer* 31 (1): 13–20. https://doi.org/10.1002/ijc.2910310104.

Glaoui, M., S. Naciri, S. Ghanem, M. Mesmoudi, A. Belkouchi, and H. Errihani. 2009. “Le Profil Épidémiologique de l’adénocarcinome Du Cardia. Expérience de La Clinique Chirurgicale « A » Sur 15 Années.” *Revue d’Épidémiologie et de Santé Publique* 57 (May): S28. https://doi.org/10.1016/j.respe.2009.02.097.

Gonzalez, Carlos A., Leila Lujan-Barroso, H. Bas. Bueno-de-Mesquita, Mazda Jenab, Eric J. Duell, Antonio Agudo, Anne Tjønneland, et al. 2012. “Fruit and Vegetable Intake and the Risk of Gastric Adenocarcinoma: A Reanalysis of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) Study after a Longer Follow-Up.” *International Journal of Cancer* 131 (12): 2910–19. https://doi.org/10.1002/ijc.27565.

Gonzalez RS. Staging-carcinoma. 2021. PathologyOutlines.com website. https://www.pathologyoutlines.com/topic/stomachstagingcarcinomas.html. Accessed May 27th, 2021.

Gunathilake, Madhawa, Jeonghee Lee, Il Ju Choi, Young Il Kim, and Jeongseon Kim. 2020. “Identification of Dietary Pattern Networks Associated with Gastric Cancer Using Gaussian Graphical Models: A Case-Control Study.” *Cancers* 12 (4). https://doi.org/10.3390/cancers12041044.

Gutierrez, Carolina, and Rachel Schiff. 2011. “HER2: Biology, Detection, and Clinical Implications.” *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 135 (1): 55–62. https://doi.org/10.5858/2010-0454-rar.1.

HAMILTON-DUTOIT, S. J., and G. PALLESEN. 1994. “Detection of Epstein–Barr Virus Small RNAs in Routine Paraffin Sections Using Non-isotopic RNA/RNA in Situ Hybridization.” *Histopathology* 25 (2): 101–11. https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1994.tb01565.x.

Han, Yanyan, Dandan Liu, and Lianhong Li. 2020. “PD-1/PD-L1 Pathway: Current Researches in Cancer.” *American Journal of Cancer Research* 10 (3): 727–42. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32266087.

Hansen, Svein, Johan N. Wiig, Karl E. Giercksky, and Steinar Tretli. 1997. “Esophageal and Gastric Carcinoma in Norway 1958-1992: Incidence Time Trend Variability According to Morphological Subtypes and Organ Subsites.” *International Journal of Cancer* 71 (3): 340–44. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970502)71:3<340::AID-IJC5>3.0.CO;2-Y.

He, Bang-Shun, Yu-Qin Pan, Yong-Fei Xu, Chan Zhu, Li-Li Qu, and Shu-Kui Wang. 2011. “Polymorphisms in Interleukin-1B (IL-1B) and Interleukin 1 Receptor Antagonist (IL-1RN) Genes Associate with Gastric Cancer Risk in the Chinese Population.” *Digestive Diseases and Sciences* 56 (7): 2017–23. https://doi.org/10.1007/s10620-010-1557-y.

Hermanek, P., and L. H. Sobin. 1987. “Introduction.” In *TNM Classification of Malignant Tumours*, 1–12. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-82982-6_1.

Hofmann, M., O. Stoss, D. Shi, R. Büttner, M. Van De Vijver, W. Kim, A. Ochiai, J. Rüschoff, and T. Henkel. 2008a. “Assessment of a HER2 Scoring System for Gastric Cancer: Results from a Validation Study.” *Histopathology* 52 (7): 797–805. https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2008.03028.x.

Holcombe, C. 1992. “Helicobacter Pylori: The African Enigma.” *Gut* 33 (4): 429–31. https://doi.org/10.1136/gut.33.4.429.

Hong, Jun-Bo, Wei Zuo, An-Jiang Wang, and Nong-Hua Lu. 2016. “Helicobacter Pylori Infection Synergistic with IL-1β Gene Polymorphisms Potentially Contributes to the Carcinogenesis of Gastric Cancer.” *International Journal of Medical Sciences* 13 (4): 298–303. https://doi.org/10.7150/ijms.14239.

Howard, Sara, Tom Deroo, Yasuyuki Fujita, and Nobue Itasaki. 2011. “A Positive Role of Cadherin in Wnt/β-Catenin Signalling during Epithelial-Mesenchymal Transition.” Edited by Carl-Philipp Heisenberg. *PLoS ONE* 6 (8): e23899. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023899.

Hsieh, Peggy, and Kazuhiko Yamane. 2008. “DNA Mismatch Repair: Molecular Mechanism, Cancer, and Ageing.” *Mechanisms of Ageing and Development* 129 (7–8): 391–407. https://doi.org/10.1016/j.mad.2008.02.012.

Hu, Bing, Nassim El Hajj, Scott Sittler, Nancy Lammert, Robert Barnes, and Aurelia Meloni-Ehrig. 2012. “Gastric Cancer: Classification, Histology and Application of Molecular Pathology.” *Journal of Gastrointestinal Oncology*. Pioneer Bioscience Publishing. https://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2012.021.

Huang, Robert J., Alyssa Y. Choi, Camtu D. Truong, Matthew M. Yeh, and Joo Ha Hwang. 2019. “Diagnosis and Management of Gastric Intestinal Metaplasia: Current Status and Future Directions.” *Gut and Liver*. Editorial Office of Gut and Liver. https://doi.org/10.5009/gnl19181.

Hudler, Petra. 2012. “Genetic Aspects of Gastric Cancer Instability.” *TheScientificWorldJournal* 2012: 761909. https://doi.org/10.1100/2012/761909.

Humans, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to. 1994. “Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter Pylori. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June 1994.” In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*, 61:1–241. International Agency for Research on Cancer. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK487782/.

Hutt-Fletcher, Lindsey M. 2017. “The Long and Complicated Relationship between Epstein-Barr Virus and Epithelial Cells.” *Journal of Virology* 91 (1). https://doi.org/10.1128/jvi.01677-16.

Imai, Yushi, Tetsuhiro Chiba, Takayuki Kondo, Hiroaki Kanzaki, Kengo Kanayama, Junjie Ao, Ryuta Kojima, et al. 2020. “Interferon-γ Induced PD-L1 Expression and Soluble PD-L1 Production in Gastric Cancer.” *Oncology Letters* 20 (3): 2161–68. https://doi.org/10.3892/ol.2020.11757.

Inoue, Tomomi, Liqing Wu, Jeremy Stuart, and Carl G. Maki. 2005. “Control of P53 Nuclear Accumulation in Stressed Cells.” *FEBS Letters* 579 (22): 4978–84. https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.08.006.

Iqbal, Nida, and Naveed Iqbal. 2014. “Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications.” *Molecular Biology International* 2014 (September): 1–9. https://doi.org/10.1155/2014/852748.

Jakszyn, Paula, and Carlos Alberto González. 2006. “Nitrosamine and Related Food Intake and Gastric and Oesophageal Cancer Risk: A Systematic Review of the Epidemiological Evidence.” *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co. https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i27.4296.

Jamel, Sara, Sheraz R. Markar, George Malietzis, Amish Acharya, Thanos Athanasiou, and George B. Hanna. 2018. “Prognostic Significance of Peritoneal Lavage Cytology in Staging Gastric Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis.” *Gastric Cancer*. Springer Tokyo. https://doi.org/10.1007/s10120-017-0749-y.

Japanese Gastric Cancer Association. 2017. “Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4)”. Gastric Cancer: Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association 20(1): 1–19. https://doi.org/10.1007/s10120-016-0622-4.

Jemal, Ahmedin, Freddie Bray, Melissa M. Center, Jacques Ferlay, Elizabeth Ward, and David Forman. 2011. “Global Cancer Statistics.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 61 (2): 69–90. https://doi.org/10.3322/caac.20107.

John R. Saltzman, MD. 2019. “Eradication Reduces Risk for De Novo Gastric Cancer.” *NEJM Journal Watch* 2019 (May). https://doi.org/10.1056/NEJM-JW.NA49187.

Jørgensen, Jan Trøst. 2010. “Targeted HER2 Treatment in Advanced Gastric Cancer.” *Oncology*. Oncology. https://doi.org/10.1159/000288295.

Jørgensen, Jan Trøst, and Maria Hersom. 2012a. “HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature.” *Journal of Cancer* 3 (1): 137–44. https://doi.org/10.7150/jca.4090.

Ju, Xiaoli, Heng Zhang, Zidi Zhou, and Qiang Wang. 2020. “Regulation of PD-L1 Expression in Cancer and Clinical Implications in Immunotherapy.” *American Journal of Cancer Research* 10 (1): 1–11. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32064150.

Kamineni, Aruna, Michelle A. Williams, Stephen M. Schwartz, Linda S. Cook, and Noel S. Weiss. 1999. “The Incidence of Gastric Carcinoma in Asian Migrants to the United States and Their Descendants.” *Cancer Causes and Control* 10 (1): 77–83. https://doi.org/10.1023/A:1008849014992.

Kanaya, Seiichiro, Shusuke Haruta, Yuichiro Kawamura, Fumihiro Yoshimura, Kazuki Inaba, Yoshihiro Hiramatsu, Yoshinori Ishida, Keizo Taniguchi, Jun Isogaki, and Ichiro Uyama. 2011. “Laparoscopy Distinctive Technique for Suprapancreatic Lymph Node Dissection: Medial Approach for Laparoscopic Gastric Cancer Surgery.” *Surgical Endoscopy* 25 (12): 3928–29. https://doi.org/10.1007/s00464-011-1792-0.

Kang, Byung Woog, Dong Won Baek, Hyojeung Kang, Jong Gwang Kim, and Jin Ho Baek. 2019. “Novel Therapeutic Approaches for Epstein-Barr Virus Associated Gastric Cancer.” *Anticancer Research*. International Institute of Anticancer Research. https://doi.org/10.21873/anticanres.13555.

Kang, Yoon Koo, Narikazu Boku, Taroh Satoh, Min Hee Ryu, Yee Chao, Ken Kato, Hyun Cheol Chung, et al. 2017. “Nivolumab in Patients with Advanced Gastric or Gastro-Oesophageal Junction Cancer Refractory to, or Intolerant of, at Least Two Previous Chemotherapy Regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial.” *The Lancet* 390 (10111): 2461–71. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31827-5.

Kaur, Antarpreet, and Constantin A. Dasanu. 2011. “Targeting the HER2 Pathway for the Therapy of Lower Esophageal and Gastric Adenocarcinoma.” *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. Expert Opin Pharmacother. https://doi.org/10.1517/14656566.2011.605354.

Kelly, Ronan J., Jeeyun Lee, Yung Jue Bang, Khaldoun Almhanna, Mariela Blum-Murphy, Daniel V.T. Catenacci, Hyun Cheol Chung, et al. 2020. “Safety and Efficacy of Durvalumab and Tremelimumab Alone or in Combination in Patients with Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma.” *Clinical Cancer Research* 26 (4): 846–54. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2443.

Kim, Dong Gyu, Ji Yeong An, Hyunki Kim, Su Jin Shin, Seohee Choi, Won Jun Seo, Chul Kyu Roh, et al. 2019. “Clinical Implications of Microsatellite Instability in Early Gastric Cancer.” *Journal of Gastric Cancer* 19 (4): 427–37. https://doi.org/10.5230/jgc.2019.19.e38.

Kim, Seung Tae, Razvan Cristescu, Adam J. Bass, Kyoung Mee Kim, Justin I. Odegaard, Kyung Kim, Xiao Qiao Liu, et al. 2018. “Comprehensive Molecular Characterization of Clinical Responses to PD-1 Inhibition in Metastatic Gastric Cancer.” *Nature Medicine* 24 (9): 1449–58. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0101-z.

Kim, Yeerae, Jinju Park, Byung-Ho Nam, and Moran Ki. 2015. “Stomach Cancer Incidence Rates among Americans, Asian Americans and Native Asians from 1988 to 2011.” *Epidemiology and Health* 37 (February): e2015006. https://doi.org/10.4178/epih/e2015006.

Kitano, Seigo, Yasunori Iso, and Masaaki Moriyama. 1994. “Laparoscopy-Assisted Billroth I Gastrectomy.” *Surgical Laparoscopy and Endoscopy* 4 (2): 146–48. https://europepmc.org/article/med/8180768.

Ko, Gyung Hyuck, Se Il Go, Won Sup Lee, Jeong Hee Lee, Sang Ho Jeong, Young Joon Lee, Soon Chan Hong, Woo Song Ha, and Feng Yang. 2017. “Prognostic Impact of Ki-67 in Patients with Gastric Cancer-the Importance of Depth of Invasion and Histologic Differentiation.” *Medicine (United States)* 96 (25). https://doi.org/10.1097/MD.0000000000007181.

Kocher, H. M., K. Linklater, S. Patel, and J. P.M. Ellul. 2001. “Epidemiological Study of Oesophageal and Gastric Cancer in South-East England.” *British Journal of Surgery* 88 (9): 1249–57. https://doi.org/10.1046/j.0007-1323.2001.01847.x.

Kokkola, A., S. M. Sjöblom, R. Haapiainen, P. Sipponen, P. Puolakkainen, and H. Järvinen. 1998. “The Risk of Gastric Carcinoma and Carcinoid Tumours in Patients with Pernicious Anaemia. A Prospective Follow-up Study.” *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 33 (1): 88–92. https://doi.org/10.1080/00365529850166266.

Konishi, Hidetomo, Naoki Asano, Akira Imatani, Osamu Kimura, Yutaka Kondo, Xiaoyi Jin, Takeshi Kanno, et al. 2016. “Notch1 Directly Induced CD133 Expression in Human Diffuse Type Gastric Cancers.” *Oncotarget* 7 (35): 56598–607. https://doi.org/10.18632/oncotarget.10967.

Krohn, Darlene, and Agilent Technologies. 2019. “Interpretation Manual-Gastric or Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma PD-L1 IHC 22C3 PharmDx Is FDA-Approved for in Vitro Diagnostic Use.”

Kuipers, E. J. 1999. “Review Article: Exploring the Link between Helicobacter Pylori and Gastric Cancer.” In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement*, 13:3–11. Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.1999.00002.x.

Ladeiras-Lopes, Ricardo, Alexandre Kirchhofer Pereira, Amanda Nogueira, Tiago Pinheiro-Torres, Isabel Pinto, Ricardo Santos-Pereira, and Nuno Lunet. 2008. “Smoking and Gastric Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies.” *Cancer Causes & Control* 19 (7): 689–701. https://doi.org/10.1007/s10552-008-9132-y.

Lahmidani N, Miry S, Abid H, El Yousfi M, Benajah D, Ibrahimi A, El Abkari M and Najdi A. 2019. “Gastric Adenocarcinoma in a Moroccan Population: First Report on Survival Data”. Gulf J Oncolog 1(31):36-40.

Lamarque, Dominique. 2008. “Épidémiologie de l’adénocarcinome de l’estomac.” *Hepato-Gastro*. https://doi.org/10.1684/hpg.2008.0193.

Lane, D. P. 1992. “P53, Guardian of the Genome.” *Nature*. Nature. https://doi.org/10.1038/358015a0.

Larsen, Martin, Victor Appay, and Delphine Sauce. 2013. “Influence de PD-1 Sur La Synapse Immunologique.” *Medecine/Sciences* 29 (12): 1080–82. https://doi.org/10.1051/medsci/20132912006.

LAUREN, P. 1965. “THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. AN ATTEMPT AT A HISTO-CLINICAL CLASSIFICATION.” *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica* 64: 31–49. https://doi.org/10.1111/apm.1965.64.1.31.

Le, Dung T., Jennifer N. Durham, Kellie N. Smith, Hao Wang, Bjarne R. Bartlett, Laveet K. Aulakh, Steve Lu, et al. 2017. “Mismatch Repair Deficiency Predicts Response of Solid Tumors to PD-1 Blockade.” *Science* 357 (6349): 409–13. https://doi.org/10.1126/science.aan6733.

Le, Dung T., Jennifer N. Uram, Hao Wang, Bjarne R. Bartlett, Holly Kemberling, Aleksandra D. Eyring, Andrew D. Skora, et al. 2015. “PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency.” *New England Journal of Medicine* 372 (26): 2509–20. https://doi.org/10.1056/nejmoa1500596.

Lee, Yi Chia, Tony Hsiu Hsi Chen, Han Mo Chiu, Chia Tung Shun, Hung Chiang, Tzeng Ying Liu, Ming Shiang Wu, and Jaw Town Lin. 2013. “The Benefit of Mass Eradication of Helicobacter Pylori Infection: A Community-Based Study of Gastric Cancer Prevention.” *Gut* 62 (5): 676–82. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302240.

Lee, Yi Chia, Tsung Hsien Chiang, Chu Kuang Chou, Yu Kang Tu, Wei Chih Liao, Ming Shiang Wu, and David Y. Graham. 2016. “Association between Helicobacter Pylori Eradication and Gastric Cancer Incidence: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *Gastroenterology* 150 (5): 1113-1124.e5. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.01.028.

Lei, Yu ying, Jin yu Huang, Qiong rui Zhao, Nan Jiang, Hui mian Xu, Zhen ning Wang, Hai qing Li, Shi bo Zhang, and Zhe Sun. 2017. “The Clinicopathological Parameters and Prognostic Significance of HER2 Expression in Gastric Cancer Patients: A Meta-Analysis of Literature.” *World Journal of Surgical Oncology*. BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s12957-017-1132-5.

Leite, Marina, Giovanni Corso, Sónia Sousa, Fernanda Milanezi, Luís P. Afonso, Rui Henrique, José Manuel Soares, et al. 2011. “MSI Phenotype and MMR Alterations in Familial and Sporadic Gastric Cancer.” *International Journal of Cancer* 128 (7): 1606–13. https://doi.org/10.1002/ijc.25495.

Leung, Wai K, Irene O L Wong, Ka Shing Cheung, Kar Fu Yeung, Esther W Chan, Angel Y S Wong, Lijia Chen, Ian C K Wong, and David Y Graham. 2018. “Effects of Helicobacter Pylori Treatment on Incidence of Gastric Cancer in Older Individuals.” https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.03.028.

Li, Lian Tao, Guan Jiang, Qian Chen, and Jun Nian Zheng. 2015. “Predic Ki67 Is a Promising Molecular Target in the Diagnosis of Cancer (Review).” *Molecular Medicine Reports*. Spandidos Publications. https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2914.

Lima, Marcos Antonio Pereira de, Márcia Valéria Pitombeira Ferreira, Marcos Aurélio Pessoa Barros, Maria Inês de Moura Campos Pardini, Adriana Camargo Ferrasi, and Silvia Helena Barem Rabenhorst. 2012. “Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Carcinoma in Brazil: Comparison between in Situ Hybridization and Polymerase Chain Reaction Detection.” *Brazilian Journal of Microbiology* 43 (1): 393. https://doi.org/10.1590/S1517-838220120001000048.

Liu, Xiaoqiao, Min Gew Choi, Kyung Kim, Kyoung Mee Kim, Seung Tae Kim, Se Hoon Park, Razvan Cristescu, Senaka Peter, and Jeeyun Lee. 2020. “High PD-L1 Expression in Gastric Cancer (GC) Patients and Correlation with Molecular Features.” *Pathology Research and Practice* 216 (4): 152881. https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.152881.

Liu, Xin, and Kent Man Chu. 2014. “E-Cadherin and Gastric Cancer: Cause, Consequence, and Applications.” *BioMed Research International*. Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2014/637308.

Liu, Xuechao, Jianjun Liu, Haibo Qiu, Pengfei Kong, Shangxiang Chen, Wei Li, Youqing Zhan, et al. 2015. “Prognostic Significance of Epstein-Barr Virus Infection in Gastric Cancer: A Meta-Analysis.” *BMC Cancer* 15 (1): 782. https://doi.org/10.1186/s12885-015-1813-9.

Lou, Lixia, Linyan Wang, Yaoyi Zhang, Guofeng Chen, Lele Lin, Xiaoli Jin, Yi Huang, and Jian Chen. 2020. “Sex Difference in Incidence of Gastric Cancer: An International Comparative Study Based on the Global Burden of Disease Study 2017.” *BMJ Open* 10 (1): e033323. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-033323.

Lui, Felix H., Bertrand Tuan, Sara L. Swenson, and Robert J. Wong. 2014. “Ethnic Disparities in Gastric Cancer Incidence and Survival in the USA: An Updated Analysis of 1992–2009 SEER Data.” *Digestive Diseases and Sciences* 59 (12): 3027–34. https://doi.org/10.1007/s10620-014-3275-3.

Luo, Gaojian, Diyu Huang, Ran Tao, and Jianfeng Chen. 2016. “The Role of E-Cadherin - 160C/A Polymorphism in Breast Cancer.” *Open Life Sciences* 11 (1): 110–15. https://doi.org/10.1515/biol-2016-0015.

Luo, Guanying, Yunzhao Hu, Zhiqiao Zhang, Peng Wang, Zhaowen Luo, Jinxin Lin, Canchang Cheng, and You Yang. 2017. “Clinicopathologic Significance and Prognostic Value of Ki-67 Expression in Patients with Gastric Cancer: A Meta-Analysis.” *Oncotarget* 8 (30): 50273–83. https://doi.org/10.18632/oncotarget.17305.

Luo, Wenyi, Faysal Fedda, Patrick Lynch, and Dongfeng Tan. 2018. “CDH1 Gene and Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: Molecular and Histological Alterations and Implications for Diagnosis And Treatment.” *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01421.

Machado, José Carlos, Paul Pharoah, Sónia Sousa, Ralph Carvalho, Carla Oliveira, Céu Figueiredo, António Amorim, et al. 2001. “Interleukin 1B and Interleukin 1RN Polymorphisms Are Associated with Increased Risk of Gastric Carcinoma.” *Gastroenterology* 121 (4): 823–29. https://doi.org/10.1053/gast.2001.28000.

Magalhães, Helena, Mário Fontes-Sousa, and Manuela MacHado. 2018. “Immunotherapy in Advanced Gastric Cancer: An Overview of the Emerging Strategies.” *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. Hindawi Limited. https://doi.org/10.1155/2018/2732408.

Majewski, Ian J., Irma Kluijt, Annemieke Cats, Thomas S. Scerri, Daphne De Jong, Roelof J.C. Kluin, Samantha Hansford, et al. 2013. “An α-E-Catenin (CTNNA1) Mutation in Hereditary Diffuse Gastric Cancer.” *Journal of Pathology* 229 (4): 621–29. https://doi.org/10.1002/path.4152.

Marcus, Leigh, Steven J. Lemery, Patricia Keegan, and Richard Pazdur. 2019. “FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors.” *Clinical Cancer Research* 25 (13): 3753–58. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-4070.

Martín-Richard, M., A. Carmona-Bayonas, Ana B. Custodio, J. Gallego, P. Jiménez-Fonseca, J. J. Reina, P. Richart, F. Rivera, M. Alsina, and J. Sastre. 2020. “SEOM Clinical Guideline for the Diagnosis and Treatment of Gastric Cancer (GC) and Gastroesophageal Junction Adenocarcinoma (GEJA) (2019).” *Clinical and Translational Oncology* 22 (2): 236–44. https://doi.org/10.1007/s12094-019-02259-9.

Mathiak, Micaela, Viktoria S. Warneke, Hans Michael Behrens, Jochen Haag, Christine Böger, Sandra Krüger, and Christoph Röcken. 2017. “Clinicopathologic Characteristics of Microsatellite Instable Gastric Carcinomas Revisited: Urgent Need for Standardization.” *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. Lippincott Williams and Wilkins. https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000264.

Matsui, Yoko, Masafumi Inomata, Manabu Tojigamori, Kazuya Sonoda, Norio Shiraishi, and Seigo Kitano. 2005. “Suppression of Tumor Growth in Human Gastric Cancer with HER2 Overexpression by an Anti-HER2 Antibody in a Murine Model.” *International Journal of Oncology* 27 (3): 681–85. https://doi.org/10.3892/ijo.27.3.681.

Malorie Greene, « Étude des conséquences génomiques et fonctionnelles de l’instabilité des microsatellites dans le cancer colorectal », Thèse de doctorat en Génétique des cancers, sous la direction de Ada COLLURA, École doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique (ED394) - UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE, 2017, 189 p.

Mayne, Susan T., and Stephanie A. Navarro. 2002. “Diet, Obesity and Reflux in the Etiology of Adenocarcinomas of the Esophagus and Gastric Cardia in Humans.” In *Journal of Nutrition*. Vol. 132. American Institute of Nutrition. https://doi.org/10.1093/jn/132.11.3467s.

Mège, René Marc, and Noboru Ishiyama. 2017. “Integration of Cadherin Adhesion and Cytoskeleton at Adherens Junctions.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028738.

Mellouki, Ihsane, Nawal Laazar, Bahija Benyachou, Nouredine Aqodad, and Adil Ibrahimi. 2014. “Epidémiologie Du Cancer Gastrique: Expérience d’un Centre Hospitalier Marocain.” *Pan African Medical Journal* 17. https://doi.org/10.11604/pamj.2014.17.42.3342.

Mi, Emma Z., Ella Z. Mi, Massimiliano di Pietro, Maria O'Donovan, Richard H. Hardwick, Susan Richardson, Hisham Ziauddeen, et al. 2018. "Comparative Study of Endoscopic Surveillance in Hereditary Diffuse Gastric Cancer According to CDH1 Mutation Status." *Gastrointestinal Endoscopy* 87 (2): 408–18. https://doi.org/10.1016/j.gie.2017.06.028.

Miceli, Rosalba, Jiyeong An, Maria Di Bartolomeo, Federica Morano, Seung Tae Kim, Se Hoon Park, Min Gew Choi, et al. 2019. "Prognostic Impact of Microsatellite Instability in Asian Gastric Cancer Patients Enrolled in the ARTIST Trial." *Oncology (Switzerland)* 97 (1): 38–43. https://doi.org/10.1159/000499628.

Mimura, Kousaku, Jun Liang Teh, Hirokazu Okayama, Kensuke Shiraishi, Ley Fang Kua, Vivien Koh, Duane T. Smoot, et al. 2018. "PD-L1 Expression Is Mainly Regulated by Interferon Gamma Associated with JAK-STAT Pathway in Gastric Cancer." *Cancer Science* 109 (1): 43–53. https://doi.org/10.1111/cas.13424.

Moasser, M. M. 2007. "The Oncogene HER2: Its Signaling and Transforming Functions and Its Role in Human Cancer Pathogenesis." *Oncogene*. Oncogene. https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210477.

Mocellin, Simone, and Sandro Pasquali. 2015. "Diagnostic Accuracy of Endoscopic Ultrasonography (EUS) for the Preoperative Locoregional Staging of Primary Gastric Cancer." *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley and Sons Ltd. https://doi.org/10.1002/14651858.CD009944.pub2.

Moehler, Markus, Mikhail Dvorkin, Narikazu Boku, Mustafa Özgüroğlu, Min-Hee Ryu, Alina S. Muntean, Sara Lonardi, et al. 2021. "Phase III Trial of Avelumab Maintenance After First-Line Induction Chemotherapy Versus Continuation of Chemotherapy in Patients With Gastric Cancers: Results From JAVELIN Gastric 100." *Journal of Clinical Oncology* 39 (9): 966–77. https://doi.org/10.1200/jco.20.00892.

Moisan, Fabrizio, Enrique Norero, Milenko Slako, Julián Varas, Gonzalo Palominos, Fernando Crovari, Luis Ibañez, et al. 2012. "Completely Laparoscopic versus Open Gastrectomy for Early and Advanced Gastric Cancer: A Matched Cohort Study." *Surgical Endoscopy* 26 (3): 661–72. https://doi.org/10.1007/s00464-011-1933-5.

Morihiro, Toshiaki, Shinji Kuroda, Nobuhiko Kanaya, Yoshihiko Kakiuchi, Tetsushi Kubota, Katsuyuki Aoyama, Takehiro Tanaka, et al. 2019. “PD-L1 Expression Combined with Microsatellite Instability/CD8+ Tumor Infiltrating Lymphocytes as a Useful Prognostic Biomarker in Gastric Cancer.” *Scientific Reports* 9 (1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-41177-2.

Morrison, Maia E.W., Janine M. Joseph, Susan E. McCann, Li Tang, Hani M. Almohanna, and Kirsten B. Moysich. 2020. “Cruciferous Vegetable Consumption and Stomach Cancer: A Case-Control Study.” *Nutrition and Cancer* 72 (1): 52–61. https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1615100.

Moustapha Dieng, Mamadou, Sidy Ka, Doudou Diouf, Sofia Idrissi, Jaafar Thiam, Maimouna Mane, Pape Macoumba Gaye, and Ahmadou Dem. 2017. “Gastric Adenocarcinoma: Epidemiology, Diagnosis and Treatment at Joliot Curie Cancer Institute: About 136 Patients.” https://doi.org/10.4172/2576-1447.1000S2-008.

Mueller, Annett, Erika Bachmann, Monika Linnig, Katrin Khillimberger, Carl Christoph Schimanski, Peter R. Galle, and Markus Moehler. 2012. “Selective PI3K Inhibition by BKM120 and BEZ235 Alone or in Combination with Chemotherapy in Wild-Type and Mutated Human Gastrointestinal Cancer Cell Lines.” *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 69 (6): 1601–15. https://doi.org/10.1007/s00280-012-1869-z.

Murphy, Gwen, Ruth Pfeiffer, M. Constanza Camargo, and Charles S. Rabkin. 2009. “Meta-Analysis Shows That Prevalence of Epstein-Barr Virus-Positive Gastric Cancer Differs Based on Sex and Anatomic Location.” *Gastroenterology* 137 (3): 824–33. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.001.

Na, Tae Young, Leslayann Schecterson, Alisha M. Mendonsa, and Barry M. Gumbiner. 2020. “The Functional Activity of E-Cadherin Controls Tumor Cell Metastasis at Multiple Steps.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117 (11): 5931–37. https://doi.org/10.1073/pnas.1918167117.

Nanbo, Asuka, Kunihiro Kachi, Hironori Yoshiyama, and Yusuke Ohba. 2016. “Epstein–Barr Virus Exploits Host Endocytic Machinery for Cell-to-Cell Viral Transmission Rather than a Virological Synapse.” *Journal of General Virology* 97 (11): 2989–3006. https://doi.org/10.1099/jgv.0.000605.

Naseem, Madiha, Afsaneh Barzi, Christine Brezden-Masley, Alberto Puccini, Martin D. Berger, Ryuma Tokunaga, Francesca Battaglin, et al. 2018. “Outlooks on Epstein-Barr Virus Associated Gastric Cancer.” *Cancer Treatment Reviews*. W.B. Saunders Ltd. https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.03.006.

Nishikawa, Jun, Hisashi Iizasa, Hironori Yoshiyama, Kanami Shimokuri, Yuki Kobayashi, Sho Sasaki, Munetaka Nakamura, et al. 2018. “Clinical Importance of Epstein–Barr Virus-Associated Gastric Cancer.” *Cancers*. MDPI AG. https://doi.org/10.3390/cancers10060167.

Nogueira, Célia, Marta Mota, Rui Gradiz, Maria Augusta Cipriano, Francisco Caramelo, Hugo Cruz, Ana Alarcão, et al. 2017. “Prevalence and Characteristics of Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Carcinomas in Portugal.” *Infectious Agents and Cancer* 12 (1). https://doi.org/10.1186/s13027-017-0151-8.

Nomura, Abraham M.Y., Lynne R. Wilkens, Brian E. Henderson, Meira Epplein, and Laurence N. Kolonel. 2012. “The Association of Cigarette Smoking with Gastric Cancer: The Multiethnic Cohort Study.” *Cancer Causes and Control* 23 (1): 51–58. https://doi.org/10.1007/s10552-011-9854-0.

Ok, Chi Young, Ling Li, and Ken H. Young. 2015. “EBV-Driven B-Cell Lymphoproliferative Disorders: From Biology, Classification and Differential Diagnosis to Clinical Management.” *Experimental and Molecular Medicine*. Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/emm.2014.82.

Oliveira, Carla, Hugo Pinheiro, Joana Figueiredo, Raquel Seruca, and Fátima Carneiro. 2015. “Familial Gastric Cancer: Genetic Susceptibility, Pathology, and Implications for Management.” *The Lancet Oncology* 16 (2): e60–70. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71016-2.

Oliveira, J. Garcia, M. Cristina Duarte, and A. Elizabete Silva. 2012. “IL-1ra Anti-Inflammatory Cytokine Polymorphism Is Associated with Risk of Gastric Cancer and Chronic Gastritis in a Brazilian Population, but the TNF-β pro-Inflammatory Cytokine Is Not.” *Molecular Biology Reports* 39 (7): 7617–25. https://doi.org/10.1007/s11033-012-1596-x.

Olivier, Magali, Monica Hollstein, and Pierre Hainaut. 2010. “TP53 Mutations in Human Cancers: Origins, Consequences, and Clinical Use.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Cold Spring Harb Perspect Biol. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008.

Ostrand-Rosenberg, Suzanne, Lucas A. Horn, and Samuel T. Haile. 2014. “The Programmed Death-1 Immune-Suppressive Pathway: Barrier to Antitumor Immunity.” *The Journal of Immunology* 193 (8): 3835–41. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401572.

Ozaki, Toshinori, and Akira Nakagawara. 2011. “Role of P53 in Cell Death and Human Cancers.” *Cancers*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/cancers3010994.

Pardoll, Drew M. 2012. “The Blockade of Immune Checkpoints in Cancer Immunotherapy.” *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/nrc3239.

Parsonnet, Julie, Gary D. Friedman, Daniel P. Vandersteen, Yuan Chang, Joseph H. Vogelman, Norman Orentreich, and Richard K. Sibley. 1991. “ Helicobacter Pylori Infection and the Risk of Gastric Carcinoma .” *New England Journal of Medicine* 325 (16): 1127–31. https://doi.org/10.1056/nejm199110173251603.

Peleteiro, B, C Lopes, C Figueiredo, and N Lunet. 2011. “Salt Intake and Gastric Cancer Risk According to Helicobacter Pylori Infection, Smoking, Tumour Site and Histological Type.” *British Journal of Cancer* 104 (1): 198–207. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605993.

Penault-Llorca, F, B Bayol, and N Radosevic-Robin. 2017. “Prolifération et Cycle Cellulaire L’évaluation de Ki67 Dans Le Cancer Du Sein : Actualités” *Correspondances En Onco-Théranostic*.

Perri, Francesco, Salvatore Pisconti, and Giuseppina Della Vittoria Scarpati. 2016. “P53 Mutations and Cancer: A Tight Linkage.” *Annals of Translational Medicine* 4 (24). https://doi.org/10.21037/atm.2016.12.40.

Perrier, Alexandre, Joseph Gligorov, Guillaume Lefèvre, and Mathieu Boissan. 2018. “The Extracellular Domain of Her2 in Serum as a Biomarker of Breast Cancer.” *Laboratory Investigation*. Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/s41374-018-0033-8.

Pietrantonio, Filippo, Rosalba Miceli, Alessandra Raimondi, Young Woo Kim, Won Ki Kang, Ruth E. Langley, Yoon Young Choi, et al. 2019. “Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability as a Biomarker in Gastric Cancer.” *Journal of Clinical Oncology* 37 (35): 3392–3400. https://doi.org/10.1200/JCO.19.01124.

Pimentel-Nunes, Pedro, Mário Dinis-Ribeiro, Thierry Ponchon, Alessandro Repici, Michael Vieth, Antonella De Ceglie, Arnaldo Amato, et al. 2015. “Endoscopic Submucosal Dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline.” *Endoscopy* 47 (09): 829–54. https://doi.org/10.1055/s-0034-1392882.

Polom, K., L. Marano, D. Marrelli, R. De Luca, G. Roviello, V. Savelli, P. Tan, and F. Roviello. 2018. “Meta-Analysis of Microsatellite Instability in Relation to Clinicopathological Characteristics and Overall Survival in Gastric Cancer.” *British Journal of Surgery*. John Wiley and Sons Ltd. https://doi.org/10.1002/bjs.10663.

Post, Rachel S. van der, Carla Oliveira, Parry Guilford, and Fátima Carneiro. 2019. “Hereditary Gastric Cancer: What’s New? Update 2013–2018.” *Familial Cancer*. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/s10689-019-00127-7.

Post, Rachel S. van der, Ingrid P. Vogelaar, Fátima Carneiro, Parry Guilford, David Huntsman, Nicoline Hoogerbrugge, Carlos Caldas, et al. 2015. “Hereditary Diffuse Gastric Cancer: Updated Clinical Guidelines with an Emphasis on Germline CDH1 Mutation Carriers.” *Journal of Medical Genetics*. BMJ Publishing Group. https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103094.

Praud, Delphine, Matteo Rota, Claudio Pelucchi, Paola Bertuccio, Tiziana Rosso, Carlotta Galeone, Zuo-Feng Zhang, et al. 2018. “Cigarette Smoking and Gastric Cancer in the Stomach Cancer Pooling (StoP) Project.” *European Journal of Cancer Prevention* 27 (2): 124–33. https://doi.org/10.1097/CEJ.0000000000000290.

Rahmanzadeh, R., G. Hüttmann, J. Gerdes, and T. Scholzen. 2007. “Chromophore-Assisted Light Inactivation of PKi-67 Leads to Inhibition of Ribosomal RNA Synthesis.” *Cell Proliferation* 40 (3): 422–30. https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2007.00433.x.

Ramos, Marcus F. K. P., Marina A. Pereira, Larissa C. Amorim, Evandro S. Mello, Sheila F. Faraj, Ulysses Ribeiro, Paulo M. G. Hoff, Ivan Cecconello, and Tiago B. Castria. 2019. "Gastric Cancer Molecular Classification and Adjuvant Therapy: Is There a Different Benefit According to the Subtype?" *Journal of Surgical Oncology* 121 (5): jso.25792. https://doi.org/10.1002/jso.25792.

Rawla, Prashanth, and Adam Barsouk. 2019. "Epidemiology of Gastric Cancer: Global Trends, Risk Factors and Prevention." *Przeglad Gastroenterologiczny*. Termedia Publishing House Ltd. https://doi.org/10.5114/pg.2018.80001.

Riquelme, Ismael, Kathleen Saavedra, Jaime A. Espinoza, Helga Weber, Patricia García, Bruno Nervi, Marcelo Garrido, Alejandro H. Corvalán, Juan Carlos Roa, and Carolina Bizama. 2015. "Molecular Classification of Gastric Cancer: Towards a Pathwaydriven Targeted Therapy." *Oncotarget* 6 (28): 24750–79. https://doi.org/10.18632/oncotarget.4990.

Robertson, C. S., S. C.S. Chung, S. D.S. Woods, S. M. Griffin, S. A. Raimes, J. T.F. Lau, and A. K.C. Li. 1994. "A Prospective Randomized Trial Comparing R1 Subtotal Gastrectomy with R3 Total Gastrectomy for Antral Cancer." *Annals of Surgery* 220 (2): 176–82. https://doi.org/10.1097/00000658-199408000-00009.

Rodriquenz, Maria Grazia, Giandomenico Roviello, Alberto D'Angelo, Daniele Lavacchi, Franco Roviello, and Karol Polom. 2020. "MSI and EBV Positive Gastric Cancer's Subgroups and Their Link with Novel Immunotherapy." *Journal of Clinical Medicine* 9 (5): 1427. https://doi.org/10.3390/jcm9051427.

Rosa, Simona de, Nora Sahnane, Maria Grazia Tibiletti, Francesca Magnoli, Alessandro Vanoli, Fausto Sessa, and Anna Maria Chiaravalli. 2018. "EBV+ and MSI Gastric Cancers Harbor High PD-L1/PD-1 Expression and High CD8+ Intratumoral Lymphocytes." *Cancers* 10 (4): 102. https://doi.org/10.3390/cancers10040102.

Rüschoff, Josef, Wedad Hanna, Michael Bilous, Manfred Hofmann, Robert Y. Osamura, Frédérique Penault-Llorca, Marc Van De Vijver, and Giuseppe Viale. 2012. "HER2 Testing in Gastric Cancer: A Practical Approach." *Modern Pathology*. Mod Pathol. https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.198.

Sakai, K., S. Mori, T. Kawamoto, S. Taniguchi, O. Kobori, Y. Morioka, T. Kuroki, and K. Kano. 1986. “Expression of Epidermal Growth Factor Receptors on Normal Human Gastric Epithelia and Gastric Carcinomas.” *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 77 (5): 1047–52. https://doi.org/10.1093/jnci/77.5.1047.

Sanomura, Yoji, Shiro Oka, Shinji Tanaka, Ikue Noda, Makoto Higashiyama, Hiroki Imagawa, Takayoshi Shishido, et al. 2012. “Clinical Validity of Endoscopic Submucosal Dissection for Submucosal Invasive Gastric Cancer: A Single-Center Study.” *Gastric Cancer* 15 (1): 97–105. https://doi.org/10.1007/s10120-011-0076-7.

Santibáñez, Miguel, Estefanía Aguirre, Sofía Belda, Nuria Aragones, Jesús Saez, Juan Carlos Rodríguez, Antonio Galiana, et al. 2015. “Relationship between Tobacco, CagA and VacA I1 Virulence Factors and Bacterial Load in Patients Infected by Helicobacter Pylori.” Edited by Dipshikha Chakravortty. *PLOS ONE* 10 (3): e0120444. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120444.

Senior, K. 1998. “Maori Family Initiates Successful Search for Stomach Cancer Gene.” *Molecular Medicine Today* 4 (7): 276. https://doi.org/10.1016/S1357-4310(98)01284-2.

Seo, Sang Hyuk, Kwang Hee Kim, Sang Hoon Oh, Yunseon Choi, Ki Jung Ahn, Ji Young Lee, Sang Min Lee, Jisun Park, and Woo Gyeong Kim. 2019. “Ki-67 Labeling Index as a Prognostic Marker in Advanced Stomach Cancer.” *Annals of Surgical Treatment and Research* 96 (1): 27–33. https://doi.org/10.4174/astr.2019.96.1.27.

Setia, Namrata, Agoston T. Agoston, Hye S. Han, John T. Mullen, Dan G. Duda, Jeffrey W. Clark, Vikram Deshpande, et al. 2016. “A Protein and MRNA Expression-Based Classification of Gastric Cancer.” *Modern Pathology* 29 (7): 772–84. https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.55.

Shannon-Lowe, Claire, and Martin Rowe. 2011. “Epstein-Barr Virus Infection of Polarized Epithelial Cells via the Basolateral Surface by Memory B Cell-Mediated Transfer Infection.” *PLoS Pathogens* 7 (5): e1001338. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001338.

Shibata, D, and L M Weiss. 1992. “Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Adenocarcinoma.” *The American Journal of Pathology* 140 (4): 769–74. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1314023.

Shikata, K., Y. Doi, K. Yonemoto, H. Arima, T. Ninomiya, M. Kubo, Y. Tanizaki, T. Matsumoto, M. Iida, and Y. Kiyohara. 2008. “Population-Based Prospective Study of the Combined Influence of Cigarette Smoking and Helicobacter Pylori Infection on Gastric Cancer Incidence: The Hisayama Study.” *American Journal of Epidemiology* 168 (12): 1409–15. https://doi.org/10.1093/aje/kwn276.

Shinozaki-Ushiku, Aya, Akiko Kunita, and Masashi Fukayama. 2015. “Update on Epstein-Barr Virus and Gastric Cancer (Review).” *International Journal of Oncology*. Spandidos Publications. https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2856.

Sipponen, Pentti, and Pelayo Correa. 2002. “Delayed Rise in Incidence of Gastric Cancer in Females Results in Unique Sex Ratio (M/F) Pattern: Etiologic Hypothesis.” *Gastric Cancer* 5 (4): 213–19. https://doi.org/10.1007/s101200200037.

Sjödahl, Krister, Yunxia Lu, Tom L.L. Nilsen, Weimin Ye, Kristian Hveem, Lars Vatten, and Jesper Lagergren. 2007. “Smoking and Alcohol Drinking in Relation to Risk of Gastric Cancer: A Population-Based, Prospective Cohort Study.” *International Journal of Cancer* 120 (1): 128–32. https://doi.org/10.1002/ijc.22157.

Slamon, Dennis J., Gary M. Clark, Steven G. Wong, Wendy J. Levin, Axel Ullrich, and William L. McGuire. 1987. “Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER-2/Neu Oncogene.” *Science* 235 (4785): 182–91. https://doi.org/10.1126/science.3798106.

Smyth, E. C., M. Verheij, W. Allum, D. Cunningham, A. Cervantes, D. Arnold, and clinicalguidelines@esmo org on behalf of the ESMO Guidelines Committee. 2016. “Gastric Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up.” *Annals of Oncology* 27 (suppl 5): v38–49. https://doi.org/10.1093/annonc/mdw350.

Smyth, Elizabeth, Heiko Schöder, Vivian E. Strong, Marinela Capanu, David P. Kelsen, Daniel G. Coit, and Manish A. Shah. 2012. “A Prospective Evaluation of the Utility of 2-Deoxy-2-[18F] Fluoro- D -Glucose Positron Emission Tomography and Computed Tomography in Staging Locally Advanced Gastric Cancer.” *Cancer*. Cancer. https://doi.org/10.1002/cncr.27550.

Sobecki, Michal, Karim Mrouj, Jacques Colinge, François Gerbe, Philippe Jay, Liliana Krasinska, Vjekoslav Dulic, and Daniel Fisher. 2017. “Cell-Cycle Regulation Accounts for Variability in Ki-67 Expression Levels.” *Cancer Research* 77 (10): 2722–34. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0707.

Sobin, L. H., and I. D. Fleming. 1997. “TNM Classification of Malignant Tumors, Fifth Edition (1997).” *Cancer* 80 (9): 1803–4. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19971101)80:9<1803::AID-CNCR16>3.0.CO;2-9.

Solinas, Cinzia, Marco Aiello, Esdy Rozali, Matteo Lambertini, Karen Willard-Gallo, and Edoardo Migliori. 2020. “Programmed Cell Death-Ligand 2: A Neglected But Important Target in the Immune Response to Cancer?” *Translational Oncology*. Neoplasia Press, Inc. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100811.

Song, Ji Hyun, Young Sun Kim, Nam Ju Heo, Joo Hyun Lim, Sun Young Yang, Goh Eun Chung, and Joo Sung Kim. 2017. “High Salt Intake Is Associated with Atrophic Gastritis with Intestinal Metaplasia.” *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 26 (7): 1133–38. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-16-1024.

Steevens, Jessie, Leo J. Schouten, R. Alexandra Goldbohm, and Piet A. van den Brandt. 2011. “Vegetables and Fruits Consumption and Risk of Esophageal and Gastric Cancer Subtypes in the Netherlands Cohort Study.” *International Journal of Cancer* 129 (11): 2681–93. https://doi.org/10.1002/ijc.25928.

Sun, Xiaoming, and Paul D. Kaufman. 2018. “Ki-67: More than a Proliferation Marker.” *Chromosoma*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1007/s00412-018-0659-8.

Sun, Yeqi, Wenwei Yu, Wenbin Guan, Lei Cai, Meng Qiao, Leizhen Zheng, Ruiqi Jiang, Ruifen Wang, and Lifeng Wang. 2019. “Integrated Assessment of PD-L1 Expression and Molecular Classification Facilitates Therapy Selection and Prognosis Prediction in Gastric Cancer.” *Cancer Management and Research* 11: 6397–6410. https://doi.org/10.2147/CMAR.S206189.

Sung, Hyuna, Jacques Ferlay, Rebecca L. Siegel, Mathieu Laversanne, Isabelle Soerjomataram, Ahmedin Jemal, and Freddie Bray. 2021. “Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, February, caac.21660. https://doi.org/10.3322/caac.21660.

Suraweera, Nirosha, Alex Duval, Maryline Reperant, Christelle Vaury, Daniela Furlan, Karen Leroy, Raquel Seruca, Barry Iacopetta, and Richard Hamelin. 2002. “Evaluation of Tumor Microsatellite Instability Using Five Quasimonomorphic Mononucleotide Repeats and Pentaplex PCR.” *Gastroenterology* 123 (6): 1804–11. https://doi.org/10.1053/gast.2002.37070.

Tavakoli, Ahmad, Seyed Hamidreza Monavari, Farid Solaymani Mohammadi, Seyed Jalal Kiani, Saber Armat, and Mohammad Farahmand. 2020. “Association between Epstein-Barr Virus Infection and Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *BMC Cancer*. BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s12885-020-07013-x.

Taylor, Victoria M., Linda K. Ko, Joo Ha Hwang, Mo Kyung Sin, and John M. Inadomi. 2014. “Gastric Cancer in Asian American Populations: A Neglected Health Disparity.” *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.24.10565.

Thiery, Jean Paul, and Jonathan P. Sleeman. 2006. “Complex Networks Orchestrate Epithelial-Mesenchymal Transitions.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/nrm1835.

Torre, Lindsey A., Freddie Bray, Rebecca L. Siegel, Jacques Ferlay, Joannie Lortet-Tieulent, and Ahmedin Jemal. 2015. “Global Cancer Statistics, 2012.” *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 65 (2): 87–108. https://doi.org/10.3322/caac.21262.

TRAORE Check Ahmed, « Etude épidémiologique, clinique et anatomopathologique des cancers de l’estomac au CHU du Point G», Thèse de doctorat en médecine, sous la direction de Drissa TRAORE, Faculté de Médecine et d’Odontostomatologie - UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO, 2019, 99 p.

Tsai, Jeff H., and Jing Yang. 2013. “Epithelial-Mesenchymal Plasticity in Carcinoma Metastasis.” *Genes and Development*. Genes Dev. https://doi.org/10.1101/gad.225334.113.

Turati, F., I. Tramacere, C. La Vecchia, and E. Negri. 2013. “A Meta-Analysis of Body Mass Index and Esophageal and Gastric Cardia Adenocarcinoma.” *Annals of Oncology*. Elsevier. https://doi.org/10.1093/annonc/mds244.

Tutlewska, Katarzyna, Jan Lubinski, and Grzegorz Kurzawski. 2013. “Germline Deletions in the EPCAM Gene as a Cause of Lynch Syndrome - Literature Review.” *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. Hered Cancer Clin Pract. https://doi.org/10.1186/1897-4287-11-9.

Uemura, Naomi, Shiro Okamoto, Soichiro Yamamoto, Nobutoshi Matsumura, Shuji Yamaguchi, Michio Yamakido, Kiyomi Taniyama, Naomi Sasaki, and Ronald J. Schlemper. 2001. “*Helicobacter Pylori* Infection and the Development of Gastric Cancer.” *New England Journal of Medicine* 345 (11): 784–89. https://doi.org/10.1056/NEJMoa001999.

Umesawa, Mitsumasa, Hiroyasu Iso, Yoshihisa Fujino, Shogo Kikuchi, and Akiko Tamakoshi. 2016. “Salty Food Preference and Intake and Risk of Gastric Cancer: The JACC Study.” *Journal of Epidemiology* 26 (2): 92–97. https://doi.org/10.2188/jea.JE20150023.

Viana-Pereira, Marta, Inês Almeida, Sónia Sousa, Bethânia Mahler-Araújo, Raquel Seruca, José Pimentel, and Rui Manuel Reis. 2009. “Analysis of Microsatellite Instability in Medulloblastoma.” *Neuro-Oncology* 11 (5): 458–67. https://doi.org/10.1215/15228517-2008-115.

Wang, Xiao Qin, Paul D. Terry, and Hong Yan. 2009. “Review of Salt Consumption and Stomach Cancer Risk: Epidemiological and Biological Evidence.” *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co. https://doi.org/10.3748/wjg.15.2204.

Wang, Xiao Qin, Hong Yan, Paul D. Terry, Jian Sheng Wang, Li Cheng, Wen An Wu, and Sen Ke Hu. 2011. “Interactions between CagA and Smoking in Gastric Cancer.” *World Journal of Gastroenterology* 17 (28): 3330–34. https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i28.3330.

Wang, Yangyang, Chunchao Zhu, Wei Song, Jun Li, Gang Zhao, and Hui Cao. 2018. “PD-L1 Expression and CD8+ T Cell Infiltration Predict a Favorable Prognosis in Advanced Gastric Cancer.” *Journal of Immunology Research* 2018. https://doi.org/10.1155/2018/4180517.

Wong, Benjamin Chun-Yu, Shiu Kum Lam, Wai Man Wong, Jian Shun Chen, Ting Ting Zheng, Rui E. Feng, Kam Chuen Lai, et al. 2004. “Helicobacter Pylori Eradication to Prevent Gastric Cancer in a High-Risk Region of China.” *JAMA* 291 (2): 187. https://doi.org/10.1001/jama.291.2.187.

Xie, Tong, Yiqiang Liu, Zhening Zhang, Xiaotian Zhang, Jifang Gong, Changsong Qi, Jian Li, Lin Shen, and Zhi Peng. 2020. “Positive Status of Epstein-Barr Virus as a Biomarker for Gastric Cancer Immunotherapy: A Prospective Observational Study.” *Journal of Immunotherapy* 43 (4): 139–44. https://doi.org/10.1097/CJI.0000000000000316.

Yamamoto, Hiroyuki, Yasushi Adachi, Hiroaki Taniguchi, Hiroaki Kunimoto, Katsuhiko Nosho, Hiromu Suzuki, and Yasuhisa Shinomura. 2012. “Interrelationship between Micro Satellite Instability and Micro RNA in Gastrointestinal Cancer.” *World Journal of Gastroenterology* 18 (22): 2745–55. https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i22.2745.

Yamamoto, Hiroyuki, and Kohzoh Imai. 2015. “Microsatellite Instability: An Update.” *Archives of Toxicology*. Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/s00204-015-1474-0.

Yaprak, Gokhan. 2019. “Prognostic Factors for Survival in Patients with Gastric Cancer: Single Instution Experience.” *Northern Clinics of Istanbul* 7 (2): 146. https://doi.org/10.14744/nci.2019.73549.

Yoon, Ju Yoon, Keiyan Sy, Christine Brezden-Masley, and Catherine J. Streutker. 2019. “Histo- And Immunohistochemistry-Based Estimation of the TCGA and ACRG Molecular Subtypes for Gastric Carcinoma and Their Prognostic Significance: A Single-Institution Study.” *PLoS ONE* 14 (12). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224812.

Yuza, Kizuki, Masayuki Nagahashi, Satoshi Watanabe, Kazuaki Takabe, and Toshifumi Wakai. 2017. “Hypermutation and Microsatellite Instability in Gastrointestinal Cancers.” *Oncotarget*. Impact Journals LLC. https://doi.org/10.18632/oncotarget.22783.

Zaidi, Syed Faisal. 2016. “Helicobacter Pylori Associated Asian Enigma: Does Diet Deserve Distinction? .” *World Journal of Gastrointestinal Oncology* 8 (4): 341. https://doi.org/10.4251/wjgo.v8.i4.341.

Zawacka-Pankau, J., and G. Selivanova. 2015. “Pharmacological Reactivation of P53 as a Strategy to Treat Cancer.” *Journal of Internal Medicine* 277 (2): 248–59. https://doi.org/10.1111/joim.12336.

Zhang, Qiongyan, Lei Wang, Shujuan Ni, Cong Tan, Xu Cai, Dan Huang, and Weiqi Sheng. 2018. “Original Article Clinicopathological Features and Prognostic Value of Mismatch Repair Protein Deficiency in Gastric Cancer.” *Int J Clin Exp Pathol*. Vol. 11. www.ijcep.com/.

Zhao, Fuxing, Xinyue Yuan, Dengfeng Ren, Guoshuang Shen, Ziyi Wang, Fangchao Zheng, Raees Ahmad, Zhijun Ma, and Jiuda Zhao. 2019. “Predicting the Efficacy of 5-Fluorouracil-Based Adjuvant Chemotherapy in Gastric Cancer by Microsatellite Instability: A Meta-Analysis.” *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 38 (1): 21–28. https://doi.org/10.1615/JEnvironPatholToxicolOncol.2018026876.

Zhao, Pengfei, Li Li, Xiaoyue Jiang, and Qin Li. 2019. “Mismatch Repair Deficiency/Microsatellite Instability-High as a Predictor for Anti-PD-1/PD-L1 Immunotherapy Efficacy.” *Journal of Hematology and Oncology*. BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s13045-019-0738-1.

Zhao, Yanan, Jinglin Zhang, Alfred S.L. Cheng, Jun Yu, Ka Fai To, and Wei Kang. 2020. “Gastric Cancer: Genome Damaged by Bugs.” *Oncogene*. Springer Nature. https://doi.org/10.1038/s41388-020-1241-4.

Zhou, Xiangdong, and Yehenew M. Agazie. 2012. “The Signaling and Transformation Potency of the Overexpressed HER2 Protein Is Dependent on the Normally-Expressed EGFR.” *Cellular Signalling* 24 (1): 140–50. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.08.015.

ZHU, LIN, ZHI LI, YAN WANG, CHENLU ZHANG, YUNPENG LIU, and XIUJUAN QU. 2015. “Microsatellite Instability and Survival in Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *Molecular and Clinical Oncology* 3 (3): 699–705. https://doi.org/10.3892/mco.2015.506.

https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/504-morocco-fact-sheets.pdf. Accessed May 27th, 2021.

https://www.molecularcatalog.abbott/int/en/PathVysion-HER-2-DNA-Probe-Kit-II. Accessed May 27th, 2021.

https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-cardia-7994/ Accessed on May 27th, 2021.

http://www.personalizedmedonc.com/publications/faculty-perspectives/faculty-perspectives-rationale-for-pd-l1-expression-as-a-biomarker-in-immuno-oncology/as-a-biomarker-in-immuno-oncology/ Accessed on May 27th , 2021.

https://www.gnis-pedagogie.org/sujet/coeur-adn/ Accessed on May 27th, 2021.

http://gco.iarc.fr/today Accessed on May 27, 2021.

https://ascopost.com/News/58104 Accessed on May 27th, 2021.