

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISERE DE L'ENSEIGNENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbès

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

## Thèse

**Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD**

**Discipline : Biologie**

**Option : Biologie de la cellule normale et pathologique**

## THÈME

**INTERET DU DOSAGE DE L'HER-2 EN CANCEROLOGIE  
(CAS DES CANCERS : DE L'ESTOMAC, DE L'OVAIRE ET DE LA VESSIE)**

Présentée par : **M<sup>elle</sup> Nawel AGHER**

Le : 17/05/2016

Devant le jury composé de :

**Présidente : MOULESSEHOUL.S**

Professeur UDL Sidi Bel Abbès

**Examineur : LARBAOUI.B**

Professeur Université. Oran

**Examineur : SLIMANI.M**

Professeur Université. Saida

**Examineur : HARIR.N**

MCA UDL Sidi Bel Abbès

**Directeur de thèse : TOU.A**

Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Année académique : 2015-2016

## **Remerciement**

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à mon directeur de thèse, Pr. TOU Abdenacer, pour ses efforts et qui malgré ses nombreuses occupations et charges, a su toujours me guider, me soutenir et mon orienter avec un grand esprit scientifique, pour ses critiques constructives, ses précieux conseils, je serai toujours reconnaissante.*

*Je remercie vivement Pr. MOULESSEHOUL Soraya, qui m'a fait apprendre les initiations de la science et l'amour de la recherche scientifique durant tout mon parcours, et d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Je tiens à remercier vivement Pr. LARBAOUI Blaha, pour son esprit, sa grande générosité scientifiques, pour sa lecture attentive et ses remarques, malgré ses nombreuses occupations et charges. Votre participation à ce jury est un honneur pour moi.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Dr HARIR Nouria, pour ses précieux conseils, ses orientations, son esprit scientifique et pour sa participation à ce jury.*

*Je remercie vivement Pr SLIMANI Miloud, d'avoir accepté avec gentillesse de juger cette thèse.*

*Mes sincères remerciements au personnel du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) du CHUSBA, service d'oncologie médicale et au personnel de la maternité SBA, particulièrement au Pr F. ABOUBAKER pour son aide précieuse en ouvrant grand les portes de son service.*

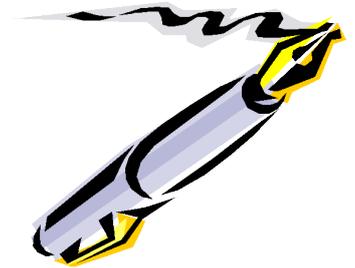
*Je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.*

*À mes très chers parents*

*À mon adorable sœur*

*À mes frères*

*À tous(tes) mes amis (es)*



## ***Résumé***

En dépit d'une réduction du taux de mortalité dans le monde entier, le cancer présente toujours un des problèmes majeurs de santé publique et une des causes les plus fréquents de décès. Dans le cancer primitif ou l'arrangement métastatique l'objectif du traitement est de contrôler les symptômes, d'améliorer la qualité de vie et de prolonger la survie, mais certains protocoles thérapeutiques courants ont limité l'efficacité par leurs profils défavorables de toxicité. Ces observations suggèrent le besoin de nouvelles approches thérapeutiques qui sont basées sur la thérapie ciblée.

Plusieurs études ont prouvé que la régulation des voies de signalisation de famille épidermique de récepteur de facteur de croissance joue un rôle central dans la différenciation de cellules, la prolifération, et la survie ce qui a soutenu le développement des stratégies antitumorales contre ces cibles. Une des cibles innovatrices les plus considérables est HER2 (*Humain epidermal receptor 2*).

Des grandes études jusqu'ici étudiant la signification pronostique de l'expression HER2 dans les cancers en l'explorant comme marqueur pronostique (comme le HER-2 gastrique métastatique positif). La protéine de HER2/neu, une protéine du 185kDa (p185) codée par un gène situé sur le chromosome 17q21, est un récepteur de tyrosine kinase (TK).

L'objectif de notre travail consiste à étudier le profil anatomo-clinique d'un ensemble de cancer : cancer de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie et d'étudier la surexpression et l'amplification du gène HER2 dans ces cancers par le biais des techniques d'immunohistochimie (IHC) et d'autres techniques de biologie moléculaire : Hybridation In Situ par Fluorescence (FISH).

**Mots Clés :** Cancer de l'estomac, cancer de l'ovaire, cancer de la vessie, HER2, IHC, FISH.

## ***Abstract***

Despite a reduction of mortality in the world, cancer still present a major problem Public Health and one of the most frequent causes deaths. In the primary cancer or metastatic setting the goal of treatment is to control symptoms, improve quality of life and prolong survival, but some current treatment protocols have limited the effectiveness of their unfavorable toxicity profiles. These observations suggest the need for new therapeutic approaches that are based on the targeted therapy e.

Several studies have shown that the regulation of signaling pathways family of epidermal growth factor receptor plays a central role in cell differentiation, proliferation, survival and supported the development of antitumor strategies against these targets. One of the most significant innovative targets HER2 (Human epidermal receptor 2).

There are far larger studies examining the prognostic significance of HER2 expression in cancers in exploring as a prognostic marker (such as gastric metastatic HER-2 positive). HER2 a protein of 185 kDa (p185) encoded by a gene located on chromosome 17q21, is a receptor tyrosine kinase (TK).

The objective of our work is to study the clinicopathological profile of a set of cancer: cancer of the stomach, ovary and bladder and study overexpression and HER2 gene amplification in these cancers through immunohistochemistry and other molecular biology techniques: by Fluorescence in Situ Hybridization (FISH).

**Keywords:** Stomach cancer, ovarian cancer, bladder cancer, HER2, immunohistochemistry, FISH.

## ملخص

على الرغم من انخفاض وفيات في العالم، السرطان لا يزال يمثل مشكلة رئيسية للصحة العامة وأحد الأسباب الأكثر شيوعاً في حالة وفاة. الهدف من علاج السرطان سواء الأولي أو النقيلي هو السيطرة على الأعراض، وتحسين نوعية الحياة وإطالة البقاء على قيد الحياة، ولكن بعض بروتوكولات العلاج الحالية حدثت من فعالية الملامح السمية غير المواتية لهم. وتشير هذه الملاحظات على ضرورة إتباع نهج علاجية جديدة تركز على العلاج المستهدف.

وقد أظهرت العديد من الدراسات أن تنظيم المستقبلات الغشائية لعوامل النمو تلعب دوراً مركزياً في تمايز الخلايا، والانتشار والبقاء ودعم تطوير استراتيجيات ضد السرطان. واحد أهم هذه المستقبلات: HER2

أكبر الدراسات أثبتت تعبير العديد من أنواع السرطانات مثل سرطان المعدة المنتشر HER-2 إيجابي. بروتين محفز HER2، وهو بروتين من 185 كيلو دالتون (P185) المشفرة بواسطة الجينات الموجودة على الكروموزوم 17q21، هو من مستقبلات التيروسين كيناز. (TK)

الهدف من عملنا هو دراسة الملف التشخيصي الإكلينيكي لمجموعة من السرطانات: سرطان المعدة والمبيض والمثانة ودراسة التضخيم الجيني في هذه السرطان (overexpression) لHER2 من خلال تقنيات مناعية الأنسجة و البيولوجيا الجزيئية الأخرى بواسطة الإسفار في الموقع التهجين. (FISH)

**الكلمات الرئيسية:** سرطان المعدة، وسرطان المبيض، سرطان المثانة، HER2، تقنيات مناعية الأنسجة. FISH

## Liste des figures

Figure 1: La famille des récepteurs HER .....	3
Figure 2: Structure de la protéine p185 codée par HER2.....	4
Figure 3: Les voies de signalisation causées par HER .....	7
Figure 4: Les voies d'inhibition des HER .....	8
Figure 5: Essai "pivotale" de Phase III dans le cancer du sein métastatique. ....	9
Figure 6: NeoALTTO schéma de l'étude. ....	11
Figure 7: Les taux d'efficacité de l'étude NeoALTTO.....	12
Figure 8: NeoSPHERE schéma de l'étude (N=417). ....	12
Figure 9: Les taux d'efficacité de l'étude NeoSPHERE.....	13
Figure 10: Partie abdominale de l'estomac (Vue antérieure).....	19
Figure 11: Vascularisation artérielle de l'estomac. ....	20
Figure 12: Vascularisation veineuse de l'estomac .....	21
Figure 13: Numérotation des différents sites ganglionnaires selon la Japanese Research Society for Gastric Cancer.....	22
Figure 14: Coupe histologique de l'estomac .....	24
Figure 15: Vue transversale de la muqueuse gastrique, avec ses glandes gastriques et les types de cellules qui la composent .....	26
Figure 16: Appareil génital féminin (Vue postérieur).....	32
Figure 17: Coupe histologique de l'ovaire (coupe frontale).....	35
Figure 18: Viscère masculins et féminins sur des coupes médianes du bassin.....	44
Figure 19: Coupe histologique de la vessie .....	47
Figure 20: Recrutement annuel des cancers gastriques .....	63
Figure 21: Répartition selon le sexe des cancers gastriques (N=168). ....	64
Figure 22: Répartition de l'âge selon le sexe des cancers gastriques (N=168).....	64
Figure 23: Répartition des cancers gastriques selon le type histopathologique (N=168). ....	65
Figure 24: Répartition des cancers gastriques selon le degré de différenciation. ....	66
Figure 25: Répartition des cancers gastriques selon le stade (N=68). ....	66
Figure 26: La répartition du taux d'envahissement des ganglions par rapport aux ganglions recrutés pour le curage plus de 15 ganglions. ....	67
Figure 27: La répartition du taux d'envahissement des ganglions par rapport aux ganglions recrutés pour le curage inférieur à 15 ganglions.....	68
Figure 28: la surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=08).....	70
Figure 29: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=08). ....	71
Figure 30: Recrutement annuel des carcinomes ovariens .....	72
Figure 31: La répartition des carcinomes ovariens selon l'âge .....	73
Figure 32: La répartition des carcinomes ovariens selon le type histopathologique .....	74
Figure 33: La répartition des cancers de l'ovaire selon le grade (N=46). ....	75
Figure 34: La répartition des carcinomes ovariens selon extension anatomo-clinique (N=23).....	76
Figure 35: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le type histopathologique (N=19) .....	78
Figure 36: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le grade. ....	79

Figure 37: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le stade anatomo-clinique .....	79
Figure 38: Recrutement annuel de cancer de la vessie (N=146).....	80
Figure 39: La répartition des carcinomes de la vessie selon le sexe (N=146). .....	81
Figure 40: La répartition des carcinomes de la vessie selon l'âge (N=146).....	81
Figure 41: La répartition des cancers de la vessie selon le type histopathologique .....	82
Figure 42: La répartition des carcinomes de la vessie selon le grade .....	82
Figure 43: La répartition des carcinomes de la vessie selon le stade anatomo-clinique (N=20). .....	83
Figure 44: Immunomarquage de la protéine HER2 dans le cancer de la vessie (N=26). .....	86
Figure 45: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=18).....	87
Figure 46: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=18).....	88

## ***Liste des planches***

Planche 1: : Immunomarquage d'un adénocarcinome gastrique avec AC- Anti HER2/neu (+3) (x20).	<b>69</b>
Planche 2: : Confirmation d'Amplification du gène HER2/neu (MF) par FISH d'une ICH (2+).....	<b>69</b>
Planche 3: Immunomarquage d'un carcinome ovarien séreux avec AC- Anti HER2 (x20).....	<b>77</b>
Planche 4: Marquage membranaire (MO) AC- Anti HER2 fort, intense dans plus de10% des cellules tumorales Score (+3) (x100) d'un Carcinome Transitionnel de la vessie. ....	<b>85</b>
Planche 5: Confirmation d'Amplification du gène HER2/neu (MF) par FISH d'une ICH (2+).....	<b>85</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1: Exemples de molécules ciblant les récepteurs ErbB .....	8
Tableau 2: Les résultats de l'étude "pivotale" .....	10
Tableau 3: Études sur le trastuzumab en adjuvant .....	10
Tableau 4: Données récentes de la littérature concernant la surexpression de HER2. ....	17
Tableau 5: Classification en stades des tumeurs gastriques malignes.....	29
Tableau 6: Les types histopathologiques des tumeurs épithéliales.....	38
Tableau 7: Les sites histopathologiques primitif prédictifs des métastases ovariennes .....	40
Tableau 8: la Classification TNM des cancers ovariens [57,68].....	41
Tableau 9: Correspondance entre stade anatomo-clinique FIGO et la classification TNM .....	42
Tableau 10: Les principales classifications du cancer de la vessie. ....	48
Tableau 11: Classification TNM de la vessie [57, 71, 72]. ....	51
Tableau 12: Correspondance entre stade anatomo-clinique et la classification TNM .....	53
Tableau 13: Répartition des cancers gastriques selon le degré de différenciation. ....	65
Tableau 14: La surexpression HER2/neu dans le cancer d'estomac. ....	70
Tableau 15: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=08).....	70
Tableau 16: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=08).....	71
Tableau 17: La répartition des cancers de l'ovaire selon le grade (N=46). ....	74
Tableau 18: La répartition des carcinomes ovariens selon le stade anatomo-clinique (N=23). ....	75
Tableau 19: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le type histopathologique (N=19). ....	76
Tableau 20: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le grade .....	78
Tableau 21: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le stade anatomo- clinique. ....	79
Tableau 22: la répartition des carcinomes de la vessie selon le grade .....	82
Tableau 23: La répartition des carcinomes de la vessie selon le stade anatomo-clinique (N=20). ....	83
Tableau 24: Immunomarquage de la protéine HER2 dans le cancer de la vessie.....	84
Tableau 25: le contrôle par la FISH des cas de score (+1) et de score (+2) (N=11) .....	86
Tableau 26: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=18).....	87
Tableau 27: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=18).....	88
Tableau 28: Incidence annuelle, en comparant avec nos résultats .....	88
Tableau 29: Sexe, en comparant avec nos résultats .....	89
Tableau 30: Age, en comparant avec nos résultats .....	89
Tableau 31: Type histopathologique, en comparant avec nos résultats .....	90
Tableau 32: Stade, en comparant avec nos résultats .....	91
Tableau 33: La surexpression de HER2 dans le cancer de l'estomac, en comparant avec nos résultats. .....	92
Tableau 34: Age, en comparant avec nos résultats .....	92
Tableau 35: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes). ....	93
Tableau 36: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes séreux). ....	93
Tableau 37: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes mucineux).....	93

Tableau 38: Grade, en comparant avec nos résultats .....	94
Tableau 39: Stade, en comparant avec nos résultats .....	94
Tableau 40: La surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire, en comparant avec nos résultats .	94
Tableau 41: Relation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire et le grade, en comparant avec nos résultats .....	95
Tableau 42: Relation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire et le stade anatomo-clinique, en comparant avec nos résultats.....	95
Tableau 43: incidence, en comparant avec nos résultats .....	96
Tableau 44: Sexe, en comparant avec nos résultats .....	96
Tableau 45: Age, en comparant avec nos résultats .....	97
Tableau 46: Type histopathologique (le carcinome urothélial), en comparant avec nos résultats.....	97
Tableau 47: type histopathologique (carcinome épidermoïde), en comparant avec nos résultats .....	97
Tableau 48: Grade, en comparant avec nos résultats.....	98
Tableau 49: Stade, en comparant avec nos résultats .....	98
Tableau 50: la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie, en comparant avec nos résultats.	98
Tableau 51: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le grade, en comparant avec nos résultats .....	99
Tableau 52: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le stade anatomo-clinique, en comparant avec nos résultats.....	99
Tableau 53: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le grade, en comparant avec nos résultats .....	99

## *Liste des abréviations*

<b>Ac</b>	Anticorps
<b>AcM</b>	Anticorps monoclonaux
<b>AFIP</b>	Armed Forces of Pathology
<b>Ag</b>	Antigènes
<b>AMM</b>	Autorisation de la mise sur le marché
<b>AR</b>	Amphiréguline
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>BTC</b>	Bétacelluline
<b>CBPNPC</b>	Carcinome bronchopulmonaire non à petite cellules
<b>CISH</b>	Hybridation In Situ par chromogène
<b>CT</b>	Chimiothérapie
<b>EGF</b>	Epidermal Growth Factor
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>FISH</b>	Hybridation In Situ par Fluorescence
<b>FSH</b>	Follicle -stimulating hormone
<b>GIST</b>	Tumeurs gastro-intestinales
<b>HB-EGF</b>	Heparin Binding EGF-like growth factor
<b>HER2</b>	Humain epidermal receptor 2
<b>IHC</b>	Immunohistochimie
<b>ISUP</b>	International Society of Urology Pathology
<b>JOG</b>	Jonction œsogastrique
<b>JRSGC</b>	Japanese Research Society for Gastric Cancer
<b>LH</b>	Hormone lutéinisante
<b>MALT</b>	Mucosa-associated lymphoid tissue
<b>MAPk</b>	Mitogen-activated protein kinase
<b>NIE</b>	Néoplasie intra-épithéliale
<b>NRG</b>	Neurégulines 1 et 2
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>OS</b>	Survie globale
<b>P85</b>	Protéine 85
<b>PCR</b>	Réponse pathologique complète
<b>PDGFRA</b>	Platelet derived growth factor polypeptide
<b>PI 3-kinase</b>	Phosphoinositide 3-kinase
<b>RCP</b>	Recommandations pour la pratique clinique
<b>R-EGF</b>	Récepteur de l'Epidermal Growth Factor
<b>RTK</b>	Récepteurs transmembranaires de type tyrosine kinase
<b>SBR</b>	Scarff boom richardson
<b>SNE</b>	Système nerveux entérique
<b>TGF<math>\alpha</math></b>	Transforming Growth Factor $\alpha$
<b>TKI</b>	Inhibiteurs de tyrosine kinase
<b>TTP</b>	Temps jusqu'à progression
<b>v-erbB</b>	Virus de l'érythroblastose aviaire

## *Table des matières*

Remerciement

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des planches

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction..... 1

### Revue bibliographique

#### Chapitre I: L'oncogène HER2 et ciblage thérapeutique

I.1 La famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance .....	2
I.2 Membres de la famille et homologies.....	2
I.3 Ligands des récepteurs HER .....	2
I.4 L'oncogène HER2.....	3
I.4.1 Différentes dénominations.....	3
I.4.2 Structure de la protéine p185 codée par HER2.....	4
I.4.3 Signalisation.....	5
I.5 Ciblage thérapeutique de HER .....	5
I.5.1 Inhibition HER.....	5
I.5.2 Trastuzumab.....	8
I.6 Expression tissulaire de HER2.....	14
I.6.1 Le sein.....	14
I.6.2 Carcinomes gastriques .....	15
I.6.3 Autres organes (implications thérapeutiques).....	15

#### Chapitre II: Rappel anatomo-histo-pathologique de l'estomac

II.1 L'anatomie fonctionnelle de l'estomac.....	18
II.1.1 Configuration externe, situation et structure .....	18
II.1.2 Vascularisation .....	19
II.2 Histologie.....	23
II.3 Les classifications histopathologiques.....	26
II.3.1 Adénomes et néoplasie intra-épithéliale .....	26
II.3.2 Carcinomes.....	27
II.4 Classification des carcinomes de l'estomac .....	28
II.4.1 Classification TNM (Taille, nombre de ganglion, métastases) .....	28
II.4.2 Stades anatomo-clinique.....	29
II.4.3 Tumeurs mésoenchymateuses.....	29

#### Chapitre III: Rappel anatomo-histo-pathologique de l'ovaire

III.1 Anatomie des ovaires .....	31
III.1.1 Configuration externe et dimensions.....	31
III.1.2 Situation et rapports .....	31
III.1.3 Moyens de fixation .....	32

III.1.4 Vaisseaux et nerfs.....	32
III.1.5 Les ligaments larges .....	33
III.1.6 Les feuillets du péritoine .....	34
III.2 Histologie.....	34
III.2.1 La structure histologique.....	34
III.2.2 Variations en fonction de l'âge, de la période du cycle menstruel et de la gestation .....	35
III.3 Physiologie.....	37
III.4 Classification histopathologique .....	38
III.4.1 Tumeurs épithéliales .....	38
III.4.2 Les métastases ovariennes.....	40
III.4.3 Grade des adénocarcinomes séreux .....	41
III.4.4 La classification TNM et le stade anatomo-clinique.....	41

#### **Chapitre IV: Rappel anatomo-histo-pathologique de la vessie**

IV.1 L'anatomie de la vessie .....	43
IV.1.1 Configuration externe et situation.....	43
IV.1.2 Structure.....	44
IV.1.3 Musculation de la vessie .....	45
IV.1.4 Irrigation artérielle de la vessie.....	46
IV.1.5 Histologie .....	46
IV.2 Les classifications histopathologiques des tumeurs de la vessie.....	48
IV.2.1 Néoplasie urothéliale de faible potentiel de malignité .....	49
IV.2.2 Carcinome papillaire de bas grade.....	49
IV.2.3 Carcinome papillaire de haut grade.....	49
IV.2.4 Variantes histologiques des tumeurs urothéliales et autres tumeurs épithéliales ou non de la vessie .....	50
IV.2.5 Classification TNM 2009 (UICC) et stade anatomo-clinique .....	51

#### Etude expérimentale

#### **Chapitre V: Matériel et méthodes**

V.1 Étude épidémiologique .....	56
V.1.1 Cancer de l'estomac.....	56
V.1.2 Cancer de l'ovaire.....	57
V.1.3 Cancer de la vessie .....	57
V.2 Étude expérimentale.....	57
V.2.1 Le choix des échantillons (critères d'inclusion pour la population d'immunomarquage HER2- /neu).....	57
V.2.2 Étude immunohistochimique.....	58
V.2.3 Techniques de biologie moléculaire in situ : L'Hybridation In Situ Fluorescente (FISH).....	60

#### **Chapitre VI: Résultats et discussion**

VI.1 Résultats.....	63
VI.1.1 Cancer de l'estomac.....	63
VI.1.2 Cancer de l'ovaire.....	71
VI.1.3 Le cancer de la vessie .....	80
VI.2 Discussion.....	88
VI.2.1 Cancer gastrique .....	88

VI.2.2 Cancer de l'ovaire.....	92
VI.2.3 Cancer de la vessie.....	96
<b>Conclusion .....</b>	<b>102</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>103</b>
<b>Présentation des travaux.....</b>	<b>112</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>116</b>

## **Introduction**

La cancérogenèse est un processus à étapes multiples qui conduit à la transformation progressive de cellules normales en cellules malignes. Les modifications génétiques associées à cette transformation maligne sont souvent des mutations qui produisent une augmentation des fonctions des gènes dits **proto-oncogènes** ou **oncogènes** [1].

Le produit de l'oncogène HER2 (*Humain epidermal receptor 2*) localisé sur le chromosome 17 est une protéine transmembranaire de la famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance située dans la membrane de nombreuses cellules. L'expression du HER2 est retrouvée dans pratiquement tous les tissus humains avec des valeurs extrêmement variables [2]. Le cancer du sein, présente une surexpression significative de l'oncorécepteur HER2 dans 20 à 30% des cas [3].

Les thérapies ciblées contre HER2 ont aujourd'hui une place incontournable dans l'arsenal thérapeutique en cancérologie qu'il s'agisse d'inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) ou d'anticorps monoclonaux (AcM). Cela s'explique par le rôle crucial joué par ces récepteurs dans la prolifération cellulaire et l'accroissement de la masse tumorale et leurs interventions dans la carcinogénèse de différents cancers [4].

Dans notre travail, nous étudions la surexpression et l'amplification de HER2 dans une variété de cancers : les cancers de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie par le biais des techniques d'immunohistochimies et techniques de biologie moléculaire (Hybridation In Situ par Fluorescence « FISH »). Nous étudions également le profil anatomo-clinique des cancers de ces localisations au niveau du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) du Centre Hospitalo-Universitaire de Sidi Bel Abbés.

# Revue bibliographique

# Chapitre I: L'oncogène HER2 et ciblage thérapeutique

## **I.1 La famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance**

Les facteurs de croissance et leurs récepteurs sont classés en fonctions du mécanisme de l'activation de ces récepteurs : la classe principale est les récepteurs transmembranaires de type tyrosine kinase (RTK), en raison, en particulier, de leur rôle crucial dans la croissance et le développement, comme la division cellulaire, la survie, l'angiogenèse, l'adhésion, la différenciation, la migration et l'invasion [5]. Une altération du signal à leur niveau peut ainsi déstabiliser ces processus et contribuer à la transformation maligne [5,6].

## **I.2 Membres de la famille et homologies**

La famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance, ou famille des récepteurs ErbB (HER pour Human Epidermal Growth Factor Receptor) comprend quatre récepteurs à activité tyrosine kinase, sont ErbB1(R-EGF ou HER1), ErbB2 (HER2/neu), ErbB3 (HER3) et ErbB 4 (HER4) (fig.1) [7]. Ils présentent des homologies de séquences importantes [8], en particulier au niveau du domaine à activité tyrosine kinase. Pour HER3 cependant, plusieurs acides aminés indispensables à cette activité sont substitués et sa kinase est déficiente. Les plus grandes divergences de séquence entre les quatre récepteurs concernent leurs extrémités C terminales, les signaux transmis seront donc différents d'un récepteur à l'autre.

## **I.3 Ligands des récepteurs HER**

Très schématiquement, les ligands des récepteurs de type I des facteurs de croissance peuvent être classés en quatre groupes en fonction de leurs spécificités [9]. Le premier groupe est constitué de l'EGF (Epidermal Growth Factor) du TGF $\alpha$  (Transforming Growth Factor  $\alpha$ ) et de l'AR (amphiréguline), ligands spécifiques de R-EGF. La BTC (bétacelluline), l'HB-EGF (Heparin Binding EGF-like growth factor) et l'épiréguline, qui sont des ligands communs à R-EGF et HER4, forment le second groupe. Les NRG-1 et NRG-2 (neurégulines 1 et 2) constituent le troisième groupe, elles se fixent sur HER3 et HER4. Enfin, le dernier groupe

---

rassemble les NRG-3 et NRG-4 (neurégulines 3 et 4), ligands de HER4. A l'heure actuelle, aucun ligand capable de se lier spécifiquement à HER2 n'a été isolé (fig.1) [5].

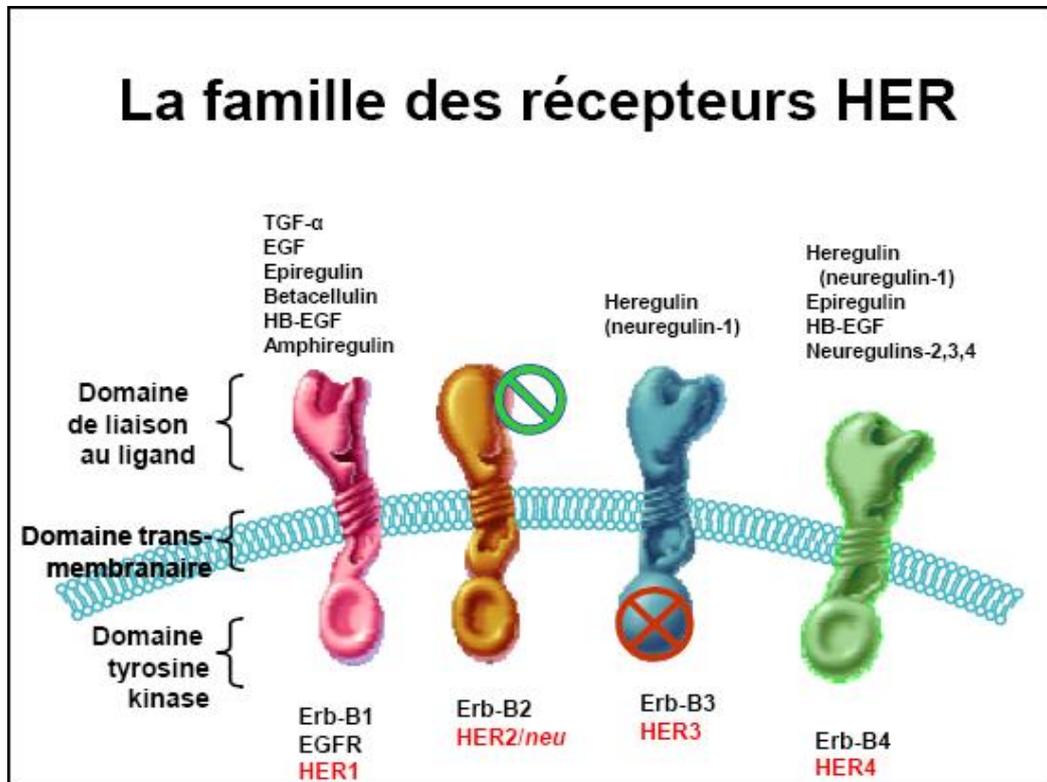


Figure 1: La famille des récepteurs HER [5].

## I.4 L'oncogène HER2

Le produit de l'oncogène HER2 est une protéine transmembranaire de la famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance. Cette caractéristique lui confère un statut particulier au sein de cette famille.

### I.4.1 Différentes dénominations

En 1985, plusieurs équipes ont isolé indépendamment le même oncogène. Elles l'ont appelé simultanément HER2 (pour Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) [10] et c-erbB2 [11, 12] à cause de ses similitudes avec le gène du récepteur de l'Epidermal Growth Factor (R-EGF) et avec l'oncogène v-erbB du virus de l'érythroblastose aviaire. HER 2 est aussi l'homologue humain du gène NEU, isolé de cellules de neuroglioblastomes induits chez le rat par l'érythyl-nitroso-urée. Localisé sur le bras long du chromosome 17 (17 q 21.1) [10], HER2 code pour un

récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, la p185. C'est un des quatre membres de la famille des récepteurs de type I des facteurs de croissance, ou famille des récepteurs ErbB.

#### I.4.2 Structure de la protéine p185 codée par HER2

Cette protéine, constituée de 1 255 acides aminés présentent domaines distincts. Le domaine extracellulaire se compose lui-même de quatre régions. Les deux zones particulièrement riches en cystéines, ou sous- domaines II et IV, contribuent à l'agencement spatial de la protéine. Les sous- domaines I et III correspondent aux sites de fixation du ligand. C'est aussi niveau du domaine extracellulaire que se situent les sites de glycosylation de la protéine.

Le domaine transmembranaire, très hydrophobe, permet l'ancrage du récepteur dans la membrane plasmique. Le domaine intracellulaire comprend le domaine à activité tyrosine kinase où se trouve le site de fixation de l'ATP indispensable à l'activité catalytique, et un domaine C terminal où sont groupés des sites d'autophosphorylation (des résidus tyrosine) participant à la signalisation intracellulaire [13] (fig.2).

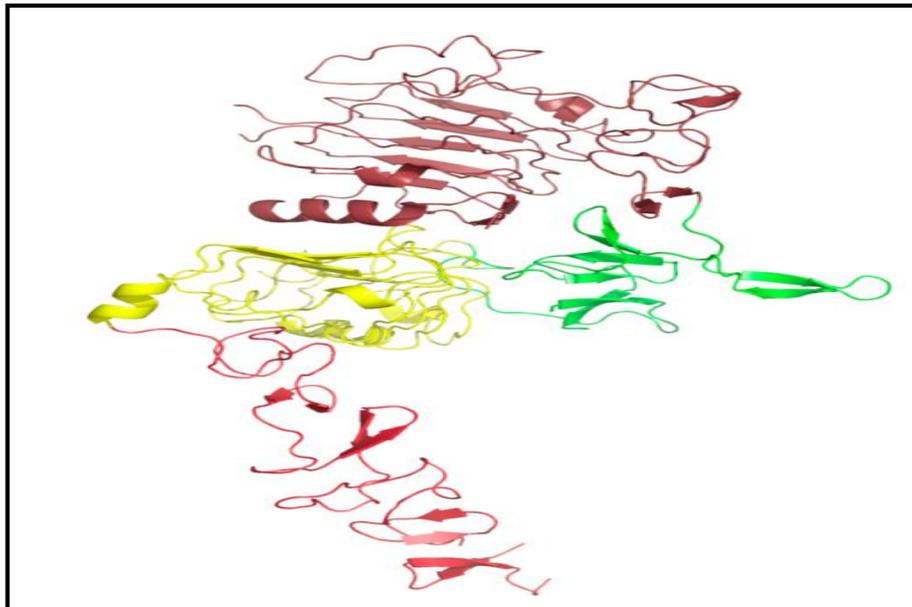


Figure 2: Structure de la protéine p185 codée par HER2 [13].

### **I.4.3 Signalisation**

Quand un des ligands se fixe sur son récepteur, il provoque sa dimérisation. Les dimères induits par la fixation d'un ligand sont constitués de deux récepteurs identiques (homodimères) ou différents (hétérodimères). Deux des dix combinaisons possibles présentent une particularité. Les homodimères de HER3 ne sont pas fonctionnels puisque leur kinase est déficiente. Les homodimères de HER2 ne sont induits par aucun ligand. L'absence de ligand spécifique de HER2 n'est pourtant pas un obstacle à son activation : elle est provoquée par les ligands de R-EGF, HER3 et HER4, via la formation d'hétérodimères. En fait, HER2 est un corécepteur commun à tous ces ligands qui possèdent un site de basse affinité pour HER2 en plus du site de haute affinité pour leur(s) récepteur (s) spécifique (s) [14] et cette propriété est accrue par la surexpression de HER2 [15].

Après dimérisation, le récepteur activé et phosphorylé, diverses molécules adaptatrices (Shc, Grb2, P85, etc) ou dotées d'activité enzymatique (Src, PLC-gamma) sont recrutées. Elles vont ensuite activer diverses voies de signalisation, entre autres, la voie MAP kinase (mitogen-activated protein kinase) par la cascade Ras-Raf-Merk,Erk, ou la voie de la PI3-kinase, ce qui aboutit à l'activation de différents facteurs de transcription (fig. 3) [16].

## **I.5 Ciblage thérapeutique de HER**

### **I.5.1 Inhibition HER**

Les altérations oncogéniques de l'interaction facteur de croissance-récepteur et leurs voies de signalisation sont nombreuses qui peuvent se manifester par un découlement des signaux mitotiques très puissants [17], aboutissant à des conséquences cliniques néfaste. Elles constituent actuellement autant de cibles potentielles pour une approche thérapeutique [5].

Toutes les stratégies qui visent à cibler HER2 se base sur soit :

- La répression de sa transcription par thérapie génique,

- L'inhibition spécifique de son activité tyrosine kinase par des petites molécules qui empêche la phosphorylation et l'activation des voies de signalisation descendantes,
- Son blocage par des anticorps monoclonaux, orientés sur le récepteur empêchant la fixation des ligands [18].

Nous ne pouvons pas négliger l'implication d'autres paramètres dont on ne peut exclure les trois autres récepteurs de la famille compte tenu des interactions privilégiées qui existent entre HER2 et R-EGF, HER3, HER4.

En 1998, la société Genentech développe le premier traitement anti-cancereux ciblant le blocage de l'action de l'oncorécepteur HER2, un anticorps monoclonal humanisé à visée thérapeutique, trastuzumab (Herceptin<sup>®</sup>) qui a obtenu l'AMM (autorisation de la mise sur le marché) et qui a été approuvé la Food and Drug Administration (FDA) constitue un traitement adapté aux patientes dont la tumeur surexprime HER2 [19, 20]. Le pertuzumab (Omnitarg<sup>®</sup>) est un anticorps monoclonal dirigé contre HER2, connu sous le nom de 2C4 (fig.4) [21].

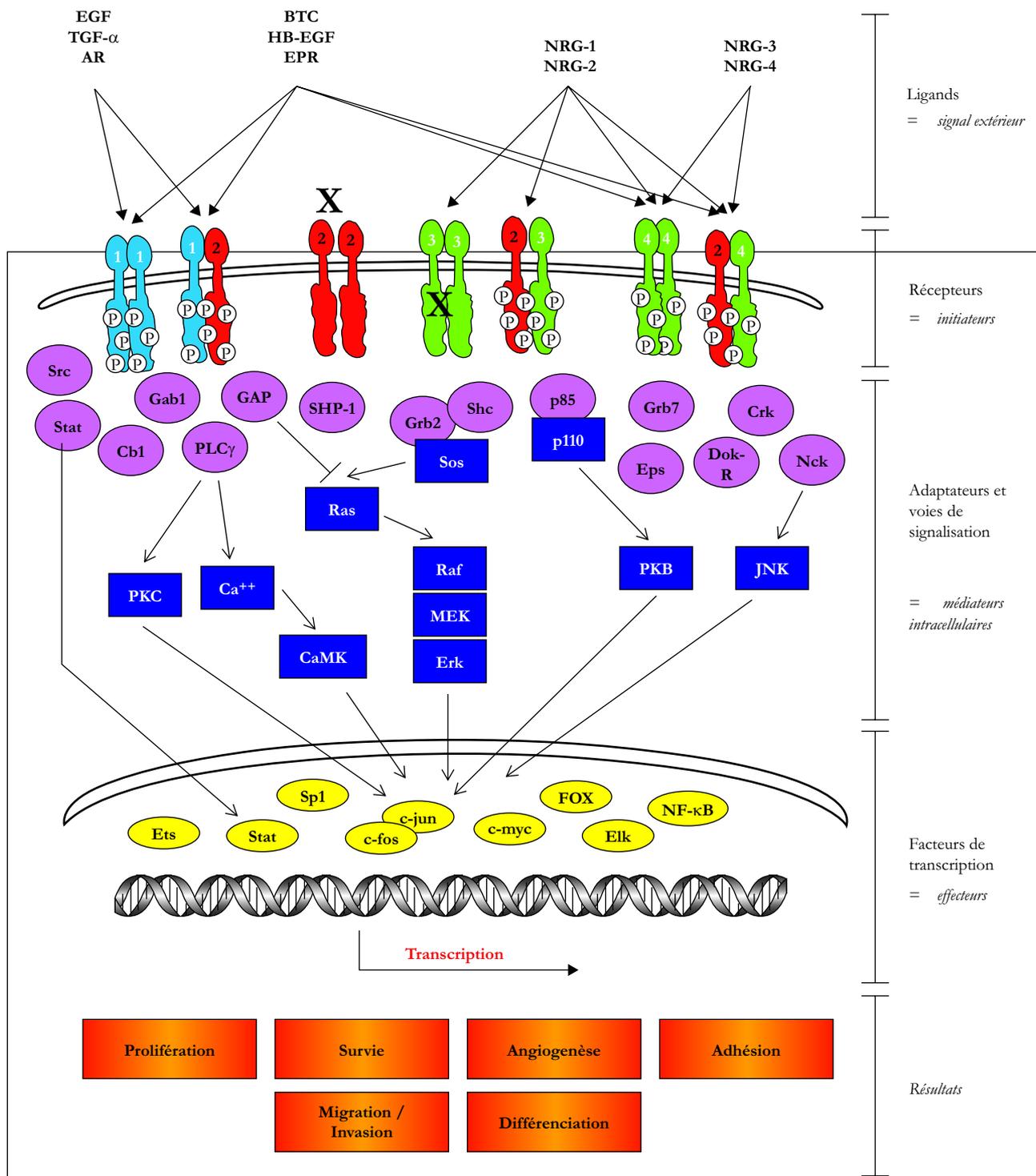


Figure 3: Les voies de signalisation causées par HER [16].

La Représentation schématique de la redistribution de l'information au sein du réseau de signalisation des ligands « EGF » et de leurs récepteurs. Les ligands de la famille « EGF » se lient avec plus ou moins de sélectivité aux récepteurs (numérotés de 1 à 4 ; en vert, orange et bleu clair), entraînant la formation de différents dimères. ErbB2 ne possède pas de ligand, et ErbB3 est dépourvu d'activité kinase. Une fois les récepteurs activés et phosphorylés, diverses molécules adaptatrices (Shc, Grb2, p85...) ou dotées d'activité enzymatique (Src, Plc-gamma) sont recrutées (en violet). Elles vont ensuite activer diverses voies de signalisation (entre autres la voie MAP kinase représentée ici par la cascade Ras-Raf-MEK-Erk, où la voie de la PI3-kinase avec la p110 et PKB ; en bleu foncé), ce qui aboutit à l'activation de différents facteurs de transcription (en jaune). Le type et le degré d'activation des voies enclenchées, et donc le résultat final, dépendent à la fois des ligands et des dimères de récepteurs impliqués [16].

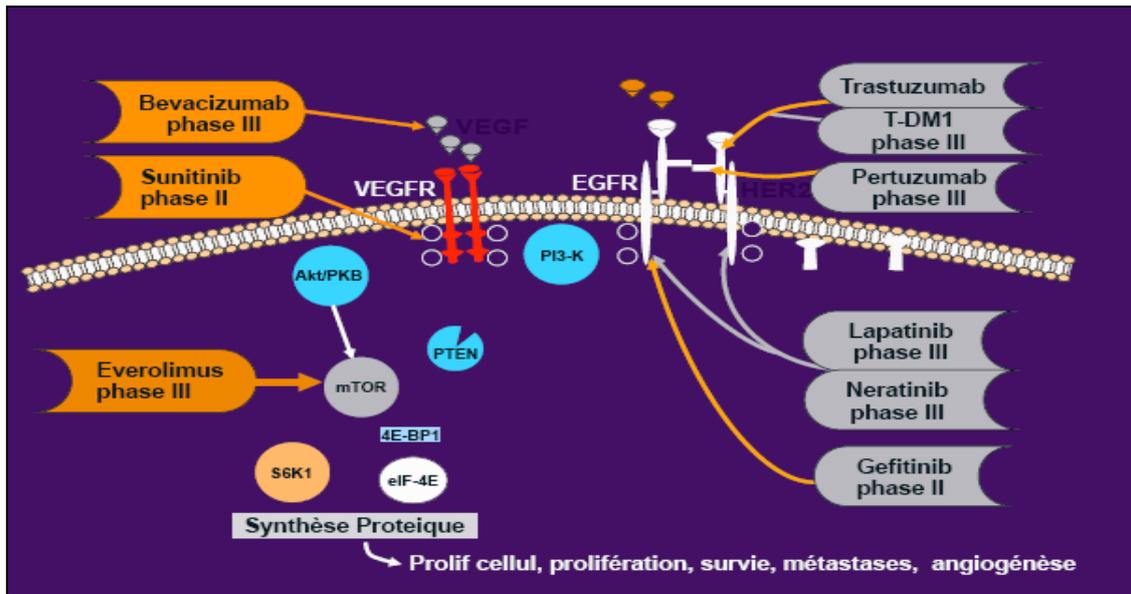


Figure 4: Les voies d'inhibition des HER [21].

Plusieurs molécules sous forme des anticorps humanisés ou des petites molécules ; ont été découvertes en se bloquant les diverses cascades moléculaires des voies de signalisations des ErbB (*cf.* tableau 1) [17, 19, 20, 21].

Tableau 1: Exemples de molécules ciblant les récepteurs ErbB

Molécules	Cible
Trastuzumab (Herceptin <sup>®</sup> )	ErbB2
Pertuzumab (omnitarg <sup>®</sup> )	ErbB2
Cetuximab (Erbix <sup>®</sup> )	EGFR
Matuzumab (EMD7200)	EGFR
Panimumumab (ABX-EGR)	EGFR
Gefitinib (Iressa <sup>®</sup> )	EGFR (inhibition de l'activité tyrosine kinase)
Erlotinib (774, Tarceva)	EGFR (inhibition de l'activité tyrosine kinase)
Lapatinib (GW 2016)	EGFR+ ErbB2 (inhibition de l'activité tyrosine kinase)

### I.5.2 Trastuzumab

Il est admis que le trastuzumab doit être proposé uniquement quand la tumeur surexprime HER2, c'est-à-dire HER2-3+ en immunohistochimie (HIC) surexpression de la protéine ou bien positive en Hybridation in situ par fluorescence ou chromogène (FISH/CISH) amplification

du gène, selon les recommandations pour la pratique clinique (RCP), Saint-Paul-de-Vence 2007. La fixation de l'anticorps monoclonal humanisé trastuzumab :

- Inhibe la voie de signalisation HER2 dans les tumeurs HER2-positives.
- Prévient l'activation de HER2 en bloquant le clivage de son domaine extracellulaire.
- Active la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

Il s'agit donc d'une thérapie ciblée et l'évaluation de son efficacité que ce soit en situation métastatique [20], adjuvante [22] ou néoadjuvante [23], thérapie ciblée/ chimiothérapie/ hormonothérapie ou associations, a fait l'objet de plusieurs essais thérapeutiques.

### I.5.2.1 Application du trastuzumab dans le cancer du sein

Les premières études ont testé le trastuzumab en monothérapie ou en combinaison avec la chimiothérapie chez des patientes atteintes d'un cancer du **sein métastatique** avec HER2+, notamment l'étude menée par Slamon *et al* en 2001 (fig.5) avec des taux de réponse significatifs [20] (*cf.* tableau 2).

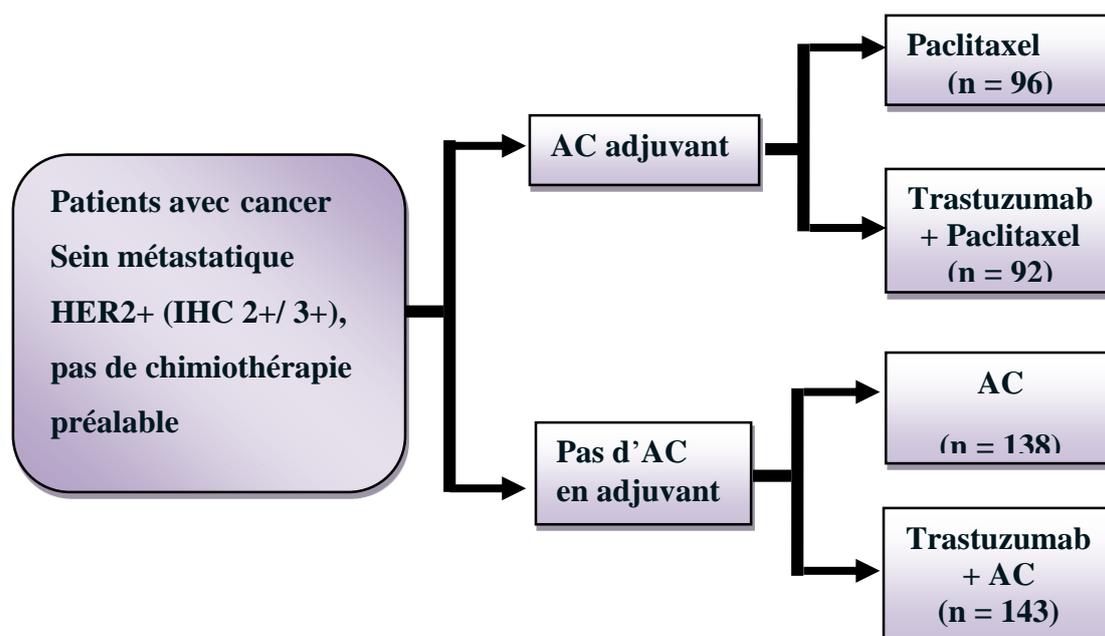


Figure 5: Essai “pivotale” de Phase III dans le cancer du sein métastatique [20].

Tableau 2: Les résultats de l'étude "pivotale".

Traitement	Taux de Réponses Objectives, %	Median TTPMois,	Median OS (Mois)
Chimiothérapie	32	4.6	20.3
Chimiothérapie + Trastuzumab	50	7.4	25.1

Cinq autres études ont comparé une chimiothérapie, anthracycline/taxane, avec ou sans trastuzumab, en **situation adjuvante**. Une analyse commune de deux études nord-américaines (NSABP B-31 et NCCTG N –9831) aux protocoles similaires a trouvé aussi bien un allongement significatif de la survie sans signes de progression de la maladie (85% vs. 67%) qu'un avantage significatif de la survie globale (91%vs. 87%) dans le groupe trastuzumab [22]. Ces résultats ont été confirmés par l'étude HERA, réalisée principalement dans des centres européens [24] (cf. tableau 3).

Tableau 3: Études sur le trastuzumab en adjuvant.

Etude	Régime de traitement	Nombre de patients	Follow-up moyen	Survie sans progression	Survie globale
NSABP B-31 + NCCTG N – 9831	CT seule	1679	24 mois	67%	87%
	CT + trastuzumab	1672		85%	91%
HERA	CT seule	1698	24 mois	74%	90%
	CT trastuzumab	1703		81%	92%

Plusieurs études multicentriques **néoadjuvantes** récentes et en cours abordent les avantages et la toxicité l'association d'agent unique ou double ciblant le récepteur épidermique humain du facteur de croissance 2 (HER2) avec la chimiothérapie.

L'étude du protocole thérapeutique du cancer du sein en situation néo-adjuvant, était l'Object de plusieurs essais européens, à savoir NeoALTTO (BIG/EGF 106903), une étude de phase III, randomisée, ouverte, multicentrique, comparant l'efficacité du lapatinib, trastuzumab et la combinaison lapatinib et trastuzumab avec une chimiothérapie par paclitaxel dans le cancer du sein primaire HER2/ErbB2 surexpression et / ou amplifié(fig. 6) [25].

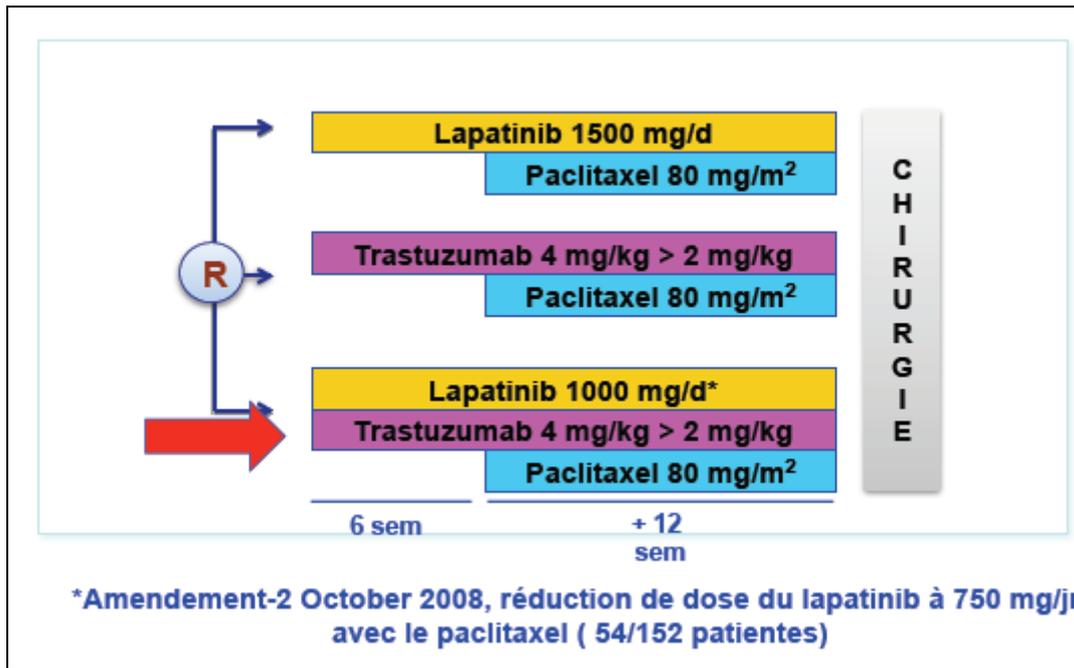


Figure 6: NeoALTTO schéma de l'étude [25].

Au total, 450 patientes ont été randomisées. Les taux de l'efficacité de chaque régime thérapeutique, estimé par la réponse pathologique complète (PCR) de l'étude NeoALTTOa montré un taux de l'ordre 20% à 30% avec une monothérapie ciblant de HER2 (lapatinib ou trastuzumab) plus paclitaxel, et un taux de l'ordre 50% avec une bithérapie ciblant HER2 (combinaison lapatinib et trastuzumab) plus paclitaxel. Les différences ne sont pas statistiquement significatives entre lapatinib, paclitaxel et trastuzumab, paclitaxel ( $p=0.34$ ). En revanche la différence est statistiquement significative entre trastuzumab, paclitaxel et la combinaison (lapatinib et trastuzumab) plus paclitaxel ( $p=0.0001$ ) (fig.7). La triple association validant le double blocage d'HER2 (deux anticorps monoclonaux) [25].

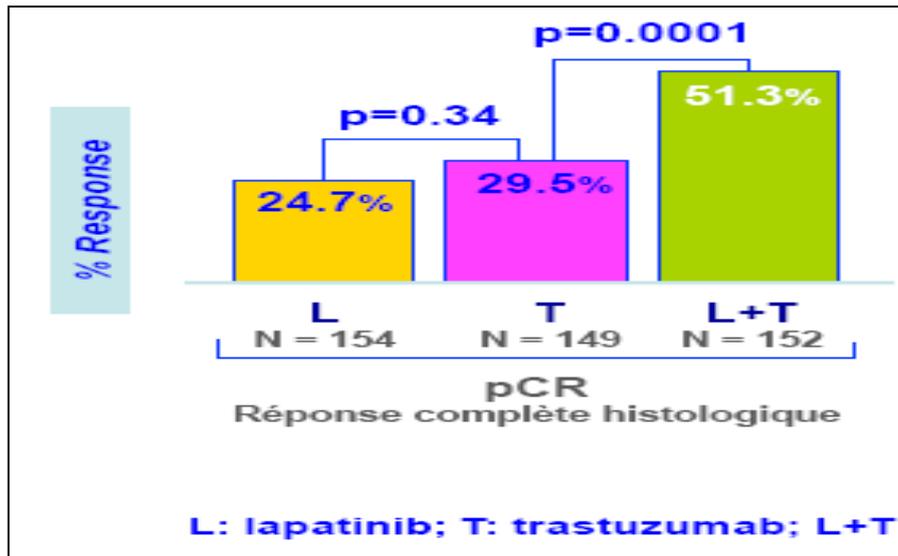


Figure 7: Les taux d'efficacité de l'étude NeoALTTO [25].

L'étude néoadjuvante de pertuzumab et d'Herceptin (NeoSPHERE), multicentrique, randomisée de phase II, visant à évaluer quatre traitements avant chirurgie sur 417 patientes atteintes d'un cancer du sein, localement avancé ou inflammatoire, HER2 positif (fig. 8). Les traitements étaient délivrés en 4 cycles à 21 jours d'intervalle [26].

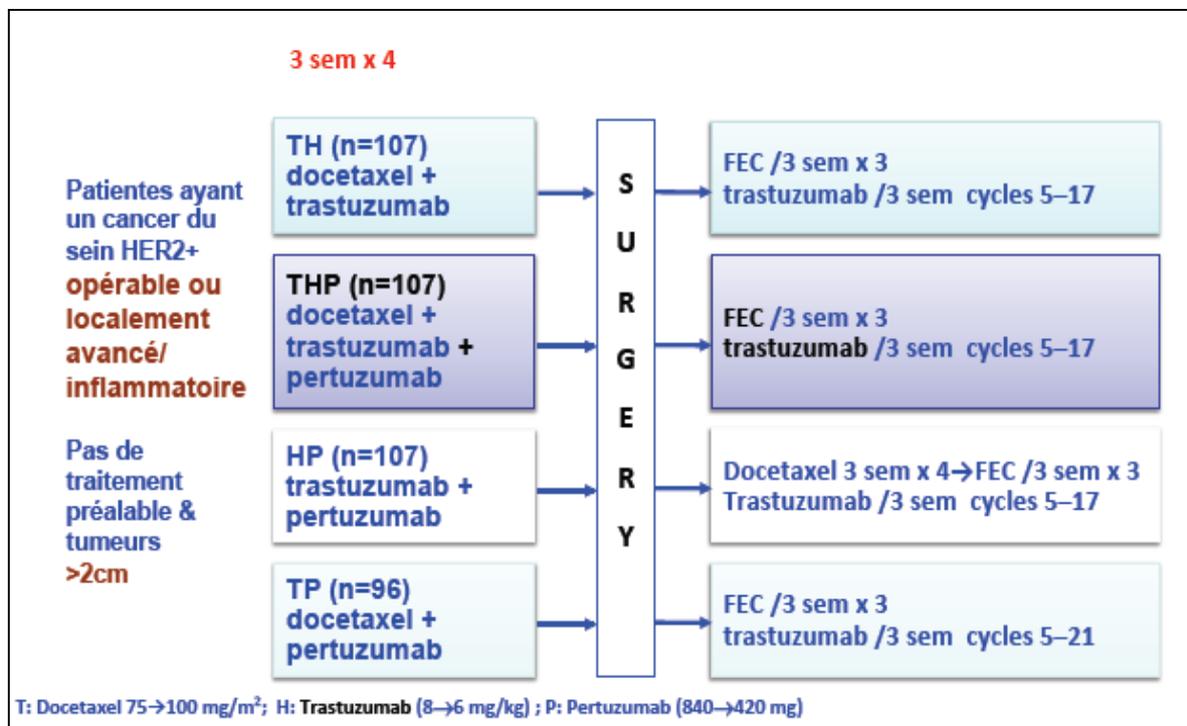


Figure 8: NeoSPHERE schéma de l'étude (N=417) [26].

Les résultats en termes de réponse pathologique complète (PCR) en intention de traiter sont de l'ordre 20% à 30% avec une monothérapie ciblant de HER2 (pertuzumab ou trastuzumab), et

un taux de l'ordre 46% avec une biothérapie ciblant HER2 (combinaison pertuzumab et trastuzumab) (fig.9). Les conclusions de cette étude sont que le taux de PCR est significativement supérieur avec le double blocage trastuzumab-pertuzumab, que la tolérance est excellente et qu'un certain nombre de tumeurs peuvent être éradiquée sans chimiothérapie [26].

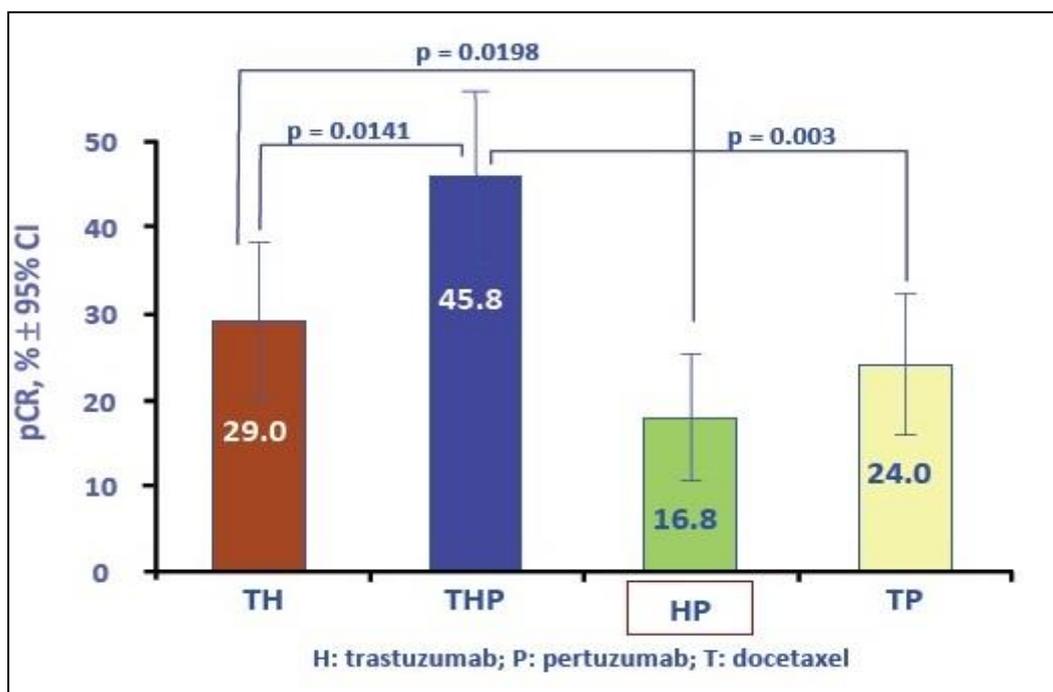


Figure 9: Les taux d'efficacité de l'étude NeoSPHERE [26].

### I.5.2.2 Application du trastuzumab dans le cancer de l'estomac

Une étude internationale ToGA, randomisée, multicentrique de phase III, qui a fait preuve de l'efficacité du trastuzumab dans le cancer de l'estomac. Cinq cent quatre-vingt-quatre patients (sur 3800 patients testés) ayant un cancer gastrique ou un cancer de la jonction gastro-oesophagienne HER2 positif à un stade avancé (récurrent, métastatique ou inopérable) ont été inclus dans cette étude.

Les patients ont été répartis au hasard pour recevoir un des deux traitements suivants :

- 5-FU (800 mg/m<sup>2</sup>/j en pc J1-5) ou capécitabine (1000 mg/m<sup>2</sup> 2xj, J1-14) + cisplatine (80 mg/m<sup>2</sup>) 3 x par semaine, pendant 6 cycles (n = 290)
- 5-FU (800 mg/m<sup>2</sup>/j en pc J1-5) ou capécitabine (1000 mg/m<sup>2</sup> 2xj, J1-14) + cisplatine (80 mg/m<sup>2</sup>) 3 x par semaine, pendant 6 cycles, pendant 6 cycles + trastuzumab (8 mg/kg dose de charge suivie de 6 mg/kg) 3 x par semaine. Administration jusqu'à la progression de la maladie (n = 294).

L'objectif principal de l'étude consistait à étudier et à comparer l'efficacité globale du groupe traité par chimiothérapie + trastuzumab à celle du groupe recevant la chimiothérapie seule.

L'étude ToGA a montré la supériorité de l'association trastuzumab à la chimiothérapie en ce qui concerne la survie globale : 13,8 vs 11,1 mois dans les cancers gastriques ou les cancers de la JOG à un stade avancé HER2+ [27].

## **I.6 Expression tissulaire de HER2**

La famille HER a été remarquablement conservée lors de l'évolution. L'expression des différents récepteurs de cette famille est retrouvée dans pratiquement tous les tissus humains [2]. La surexpression de HER2 a été évaluée dans de nombreux types tissulaires, avec des valeurs extrêmement variables et souvent discordantes selon les méthodes utilisées. Nous reprendrons ici des données récentes de la recherche de l'expression ou de l'amplification de HER2 dans différents type tissulaires humains.

### **I.6.1 Le sein**

Dans le tissu mammaire normal et hyperplasique (y compris les hyperplasies atypiques), l'expression de HER2 est basale, en moyenne, il est surexprimé dans plus 50% des carcinomes canaux in situ, dans 15 à 25% des carcinomes canaux infiltrants [20, 28, 29], dans plus 60% des carcinomes inflammatoires et dans de 90% des maladies de Paget du mamelon [30]. Pour les carcinomes canaux infiltrants, la surexpression de HER2 est associée à un

---

phénotype particulier : haut grade, nombreuses mitoses, nécroses, infiltrat lymphoïde, altération de P53, absence de réceptivité hormonale (progestérone), négative de BCL2 [31, 32]. On retrouve aussi une association avec des formes graves de la maladie comme par exemple des métastases précoces. Cette surexpression est retrouvée le plus souvent dans de grandes cellules, très atypiques (carcinomes canaux infiltrants de grade SBR III). Par contre, classiquement les tumeurs lobulaires « classique » ne présentent pas de surexpression de HER2 [29, 33].

## **I.6.2 Carcinomes gastriques**

Les niveaux d'expression sont suffisamment significatifs pour justifier la mise en place d'essais cliniques évaluant l'efficacité des thérapeutiques ciblées dans cette localisation [34] qui représentent 20% des cas selon les résultats définitifs de l'étude ToGA [27].

## **I.6.3 Autres organes (implications thérapeutiques)**

Les données de la littérature sont hétérogènes, voire contradictoires [30,35]. Ceci vient en grande partie de l'hétérogénéité des populations étudiées et des techniques utilisées. Le tableau (cf. tableau 4) rapporte une synthèse des données récentes de la littérature concernant la surexpression de HER2.

### **I.6.3.1 Carcinomes urothéliaux**

Dans les cancers de la vessie, la surexpression de HER2 est présente dans 30-40% des cas dans la plupart des études de la littérature et est corrélée à un grade et un stade plus élevé. Une étude toute récente montre une corrélation étroite entre une expression de HER2 dans la tumeur vésicale (81%) et ses métastases (67%). Plusieurs études sont en cours afin d'évaluer l'efficacité du trastuzumabe dans ce type de tumeur [36].

### **I.6.3.2 Tumeurs épithéliales de l'ovaire**

Le niveau de surexpression de HER2 compris entre 14 et 20% dans les études les plus récentes, justifie la mise en place d'essais ciblant HER2 dans cette localisation [37].

### **I.6.3.3 Carcinomes bronchopulmonaires**

Les données de la littérature sont en faveur d'un niveau d'expression plus bas de HER2 dans les carcinomes bronchopulmonaires non à petites cellules décrit. En particulier des taux de surexpression forte (3+) sont bas, de l'ordre de 8 à 3 % et les taux d'amplification sont de l'ordre 3 %. Une surexpression de HER2 est observée surtout dans les adénocarcinomes plus que des carcinomes malpighiens ou à grandes cellules. La plupart des études évaluant les thérapeutiques ciblant HER2 sont peu concluantes et cette cible semble à ce jour moins pertinent qu'initialement prévu [38].

### **I.6.3.4 Carcinomes colorectaux, prostatiques**

Les données de la littérature montrent des taux plus faibles d'expression de HER2 dans les carcinomes colorectaux [39] et prostatiques [40]. Une étude récente montre ainsi, pour les carcinomes colorectaux, des taux d'amplification de l'ordre de 2,4% et de surexpression de l'ordre de 3,6% [39]. Ces tissus ne sont plus considérés comme des cibles thérapeutiques prioritaires pour les thérapeutiques.

### **I.6.3.5 Autres types tumoraux**

De même, les mélanomes, les carcinomes hépatocellulaires, les carcinomes à cellules rénales, les carcinomes malpighiens (œsophage, col utérin) et les sarcomes en général [41] ne sont pas des indications *a priori* d'un ciblage de HER2. Cependant, une population récente de Nuciforo et *al.*, rapporte une surexpression de HER2 dans les sarcomes synoviaux et son association à un meilleur pronostic [42]. Ces résultats demandent à être confirmés sur de plus grandes séries de patients porteurs de sarcomes. Ce ciblage est à évaluer dans des pathologies rares comme les

tumeurs de Wilms (néphroblastome) ou le taux de surexpression de HER2 est très élevé (51% selon des données de Genentech) [30] (*cf.* tableau 4).

Tableau 4: Données récentes de la littérature concernant la surexpression de HER2.

	Pourcentages de la littérature [30]	Données GENENTECH (%)	Koeppen et al 2001 [35] (IHC 2+ et 3+) (%)
<b>Urothélial</b>	27-63	44	13
<b>Ovarien</b>	18-43	14	-
<b>CBPNPC</b>	13-55	14	28* (ADK)
<b>Colorectal</b>	33-85	11	17
<b>Pancréas</b>	31-80	26	1
<b>Endomètre</b>	10-52	14	-
<b>Tête et cou</b>	16-50	10	0
<b>Rénal</b>	22-36	11	0
<b>Œsophage</b>	10-26	6	-
<b>Estomac</b>	21-64	8	11**
<b>Prostate</b>	5-46	3	8
<b>Tumeur de Wilms</b>	-	51	-
<b>Mélanome</b>	-	0	0
<b>Hépatocarcinome</b>	-	-	0

*CBPNPC : carcinome bronchopulmonaire non à petite cellules, ADK : adénocarcinomes.*

\* : dont une minorité de cas 3+ (1/29 cas).

\*\* : dont une majorité de cas 3+.

## Chapitre II: Rappel anatomo-histopathologique de l'estomac

## II.1 L'anatomie fonctionnelle de l'estomac

### II.1.1 Configuration externe, situation et structure

L'estomac est le segment dilaté du tube digestif entre l'œsophage et le duodénum. Il est localisé au sein de l'étage sus-mésocolique au niveau de l'hypochondre gauche et de l'épigastre.

- L'estomac peut être divisé en 2 parties :
  - La portion verticale : formée par la grosse tubérosité et le corps de l'estomac,
  - La portion horizontale : constituant l'antra, région évacuatrice de l'estomac.
  - La jonction entre les deux portions forme la petite tubérosité [39, 40, 43].
- L'estomac comprend quatre grandes régions :
  - **Le cardia** entoure l'orifice supérieur, situé au niveau de l'abouchement de l'œsophage. L'estomac se recourbe ensuite vers le haut.
  - **Le Fundus** : la partie qui se situe à gauche et au-dessus du cardia.
  - **Le corps de l'estomac** : au-dessous de ce dernier se trouve la partie centrale et la plus volumineuse de l'organe,
  - **Le pylore** : la région étroite au bas, qui fait la jonction avec le duodénum par le sphincter pylorique (fig. 10) [44, 45, 46].

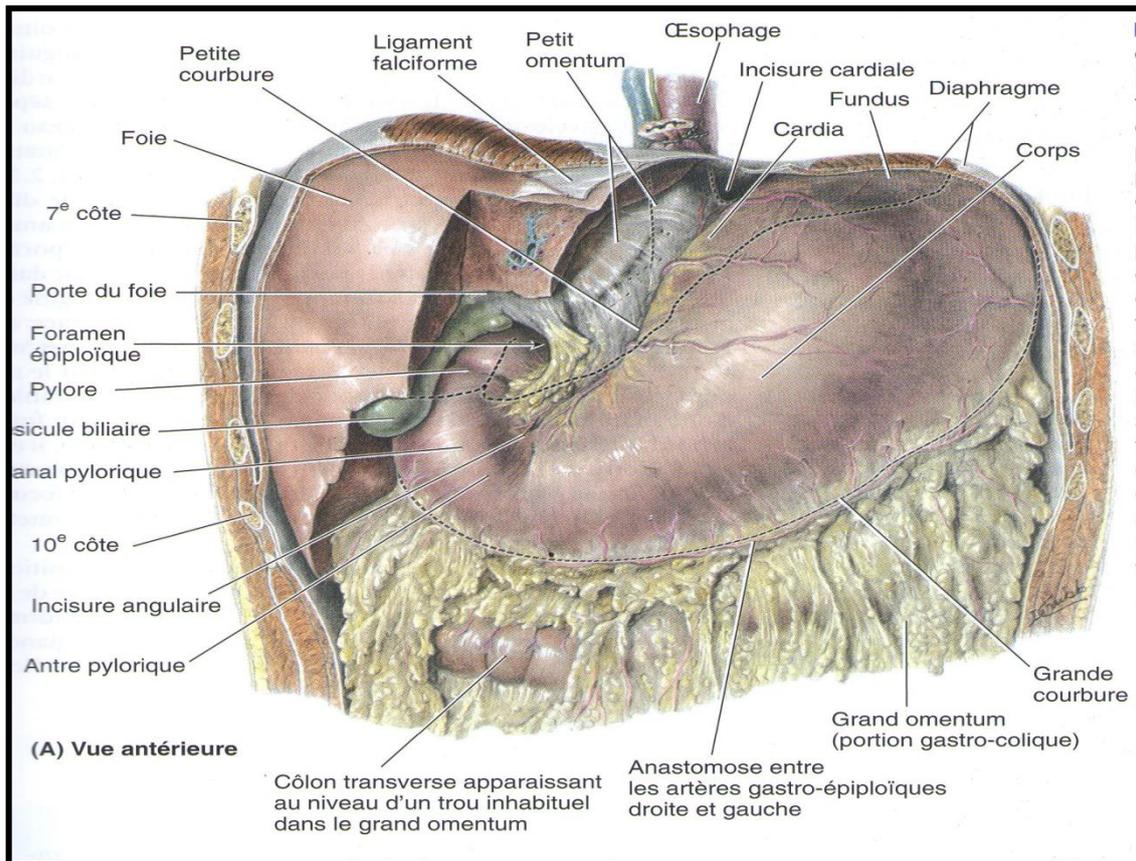


Figure 10: Partie abdominale de l'estomac (Vue antérieure) [47].

## II.1.2 Vascularisation

### II.1.2.1 Vascularisation artérielle

Les artères gastriques sont toutes issues du tronc cœliaque. Elles se regroupent en :

- Cercle artériel de la petite courbure (issu de la coronaire stomachique qui est l'artère principale de l'estomac et de la pylorique).
- Cercle artériel de la grande courbure (issu des artères gastro-épiploïques droite et gauche).

La vascularisation gastrique est renforcée par les vaisseaux courts issus de l'artère polaire supérieure de la rate (branche de l'artère splénique) (fig.11) [45, 46, 47].

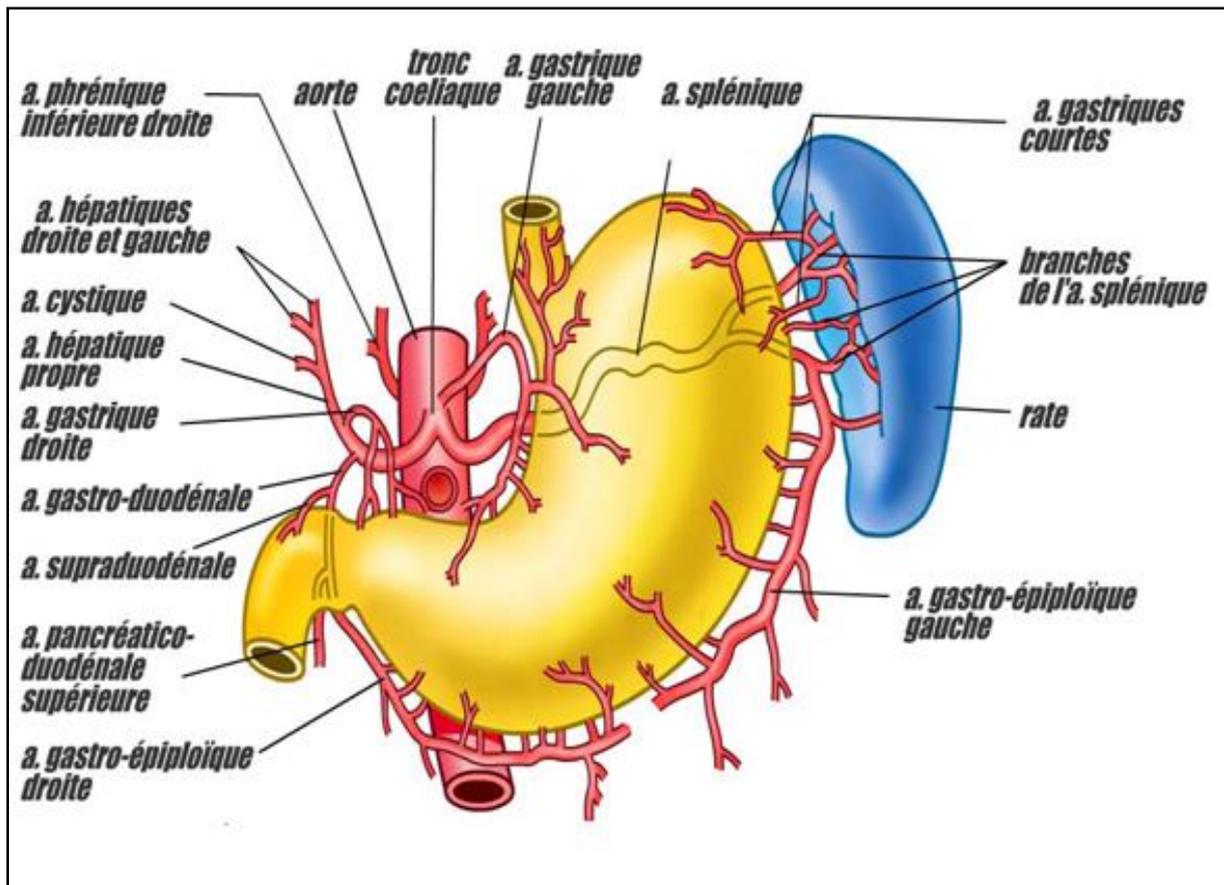


Figure 11: Vascularisation artérielle de l'estomac [47].

### II.1.2.2 Vascularisation veineuse

Les veines gastriques sont satellites des artères gastriques. Les veines gastriques gauches (veine coronaire stomacique) et droite (veine pylorique) se jettent dans la veine porte ; les veines gastriques courtes et gastro-épiploïques gauche sont des affluents de la veine splénique ; celle-ci rejoint la veine porte. Une veine prépylorique remonte sur le pylore pour déboucher dans la veine gastrique droite (veine pylorique) (fig.12) [45, 46, 47].

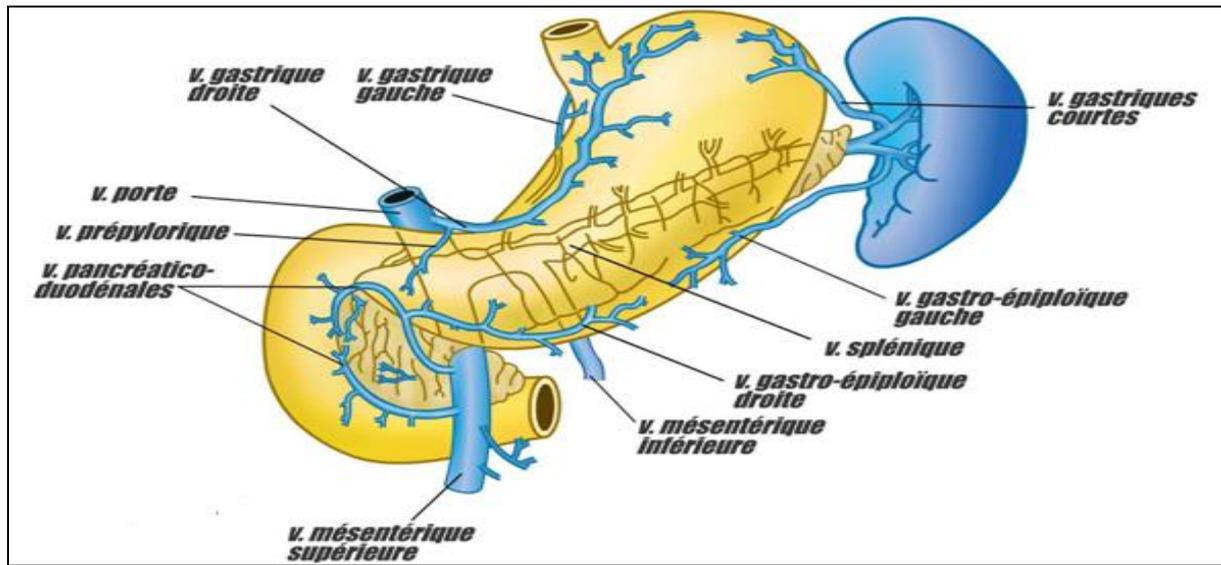


Figure 12: Vascularisation veineuse de l'estomac [47].

### II.1.2.3 Drainage lymphatique

Trois territoires sont décrits concernant le drainage lymphatique de l'estomac :

- Le territoire de la chaîne ganglionnaire coronaire stomachique,
- Le territoire de la chaîne ganglionnaire splénique,
- Le territoire de la chaîne ganglionnaire hépatique. [45, 46, 47, 48, 49].

La Japanese Research Society for Gastric Cancer (JRSGC) a défini en 1981 les règles générales de la chirurgie du cancer gastrique en donnant à chaque groupe ganglionnaire ; formant ces 3 territoires ganglionnaires ; une numérotation individuelle [48].

Ils sont au nombre de 16, et sont respectivement :

- ✓ **Groupe 1** : Le groupe cardiaque postérieur,
- ✓ **Groupe 2** : Le groupe cardio tubérositaire gauche,
- ✓ **Groupe 3** : Le groupe ganglionnaire de la petite courbure,
- ✓ **Groupe 4** : Ganglions de la grande courbure,
- ✓ **Groupe 5** : Groupe de l'artère gastro-duodénale et rétropylorique,
- ✓ **Groupe 6** : Groupe sous pylorique et de l'artère gastro-épiploïque droite,
- ✓ **Groupe 7** : Groupe ganglionnaire de la faux de la coronaire stomachique,

- ✓ **Groupe 8 et 9** : Groupe de l'artère hépatique,
- ✓ **Groupe 10 et 11** : Groupe ganglionnaire de la chaîne splénique,
- ✓ **Groupe 12** : Groupe duodéno-pancréatique,
- ✓ **Groupe 13** : Groupe ganglionnaire de la face postérieure de la tête du pancréas,
- ✓ **Groupe 14** : Ganglions du pédicule mésentérique supérieur,
- ✓ **Groupe 15** : Ganglions para-colique transverse,
- ✓ **Groupe 16** : Ganglions para-aortiques [50] (fig. 13).

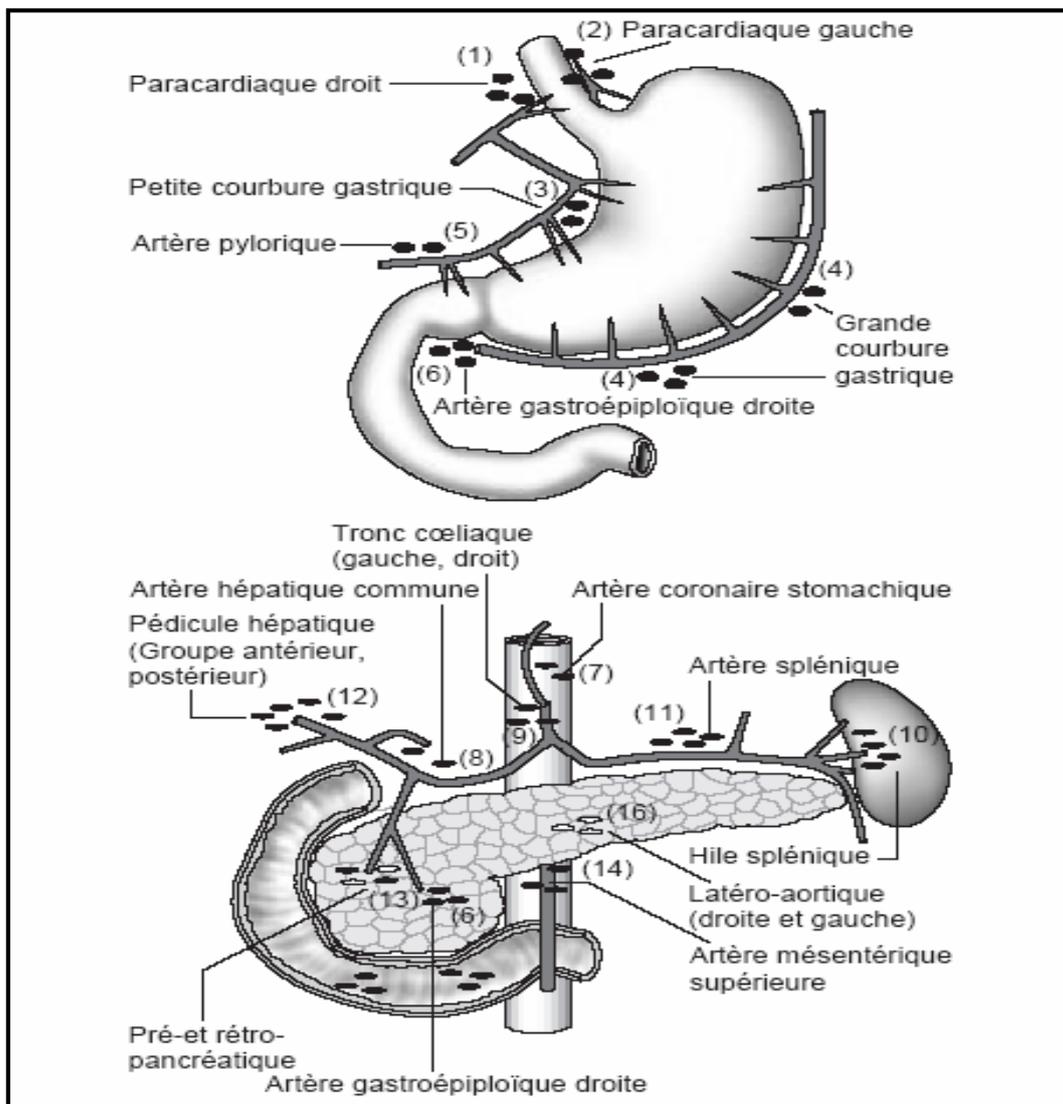


Figure 13: Numérotation des différents sites ganglionnaires selon la Japanese Research Society for Gastric Cancer [48].

Ces groupes sont répartis en trois régions qui permettent de définir 4 niveaux de dissection ganglionnaire et qui sont appelés D1, D2, D3, D4. Grossièrement, le niveau de dissection D1

emporte les Groupes ganglionnaires de 1 jusqu'à 6 ; le niveau de dissection D2 emporte les Groupes ganglionnaires de 7 jusqu'à 11 ; le niveau de dissection D3 emporte les Groupes ganglionnaires de 12 jusqu'à 14 et le niveau de dissection D4 emporte les Groupes ganglionnaires de 15 et 16 [48, 49,50].

## II.2 Histologie

L'estomac comme chaque partie du tube digestif possède quatre tuniques ou couches dont la nature et l'épaisseur varient suivant les besoins physiologiques des régions. Ces couches sont : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse ou adventice [51].

- **La muqueuse** : Le tube digestif est tapissé d'une muqueuse qui formée de trois couches : un épithélium simple prismatique non ciliés en contact direct avec le continue du tube digestif ; une couche sous-jacente de tissu conjonctif aréolaire appelée **chorion** ; et une couche mince de tissu musculaire lisse, la **muscularis mucosae**. Les contractions de la muscularis mucosae créent des replis dans la muqueuse, ce qui augmente la surface digestion et l'absorption. La muqueuse contient également, sur toute sa longueur, du *tissu lymphoïde associé aux muqueuses* (MALT, mucosa-associated lymphoid tissue), dont les cellules s'attaquent aux agents pathogènes qui tentent de s'introduire dans l'organisme en traversant la paroi du tube digestif.
- **La sous-muqueuse** est composée d'un tissu conjonctif aréolaire qui fixe la muqueuse à la musculuse. Cette dernière possède trois couches de tissu musculaire lisse, plutôt que deux : une couche longitudinale externe, une couche circulaire moyenne et couche oblique interne. Elle compte de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques qui reçoivent les molécules d'aliments absorbée. Elle contient aussi les réseaux de neurones qui font partie du **système nerveux entérique** (SNE), ou « cerveau de l'intestin ». Les

neurones du SNE contenus dans la sous-muqueuse régissent les sécrétions produites par les organes du tube digestif.

- **La musculuse** comme son nom indique, est épaisse couche de muscles.
- **La séreuse** est la couche superficielle qui entoure les organes du tube digestif situé sous le diaphragme. Elle se compose de tissu conjonctif aréolaire et d'épithélium simple pavimenteux, et sécrète un liquide aqueux, le *liquide péritonéal*, qui permet au tube digestif de glisser facilement sur les autres organes, elle est faite partie du péritoine viscéral (fig. 14) [51, 52].

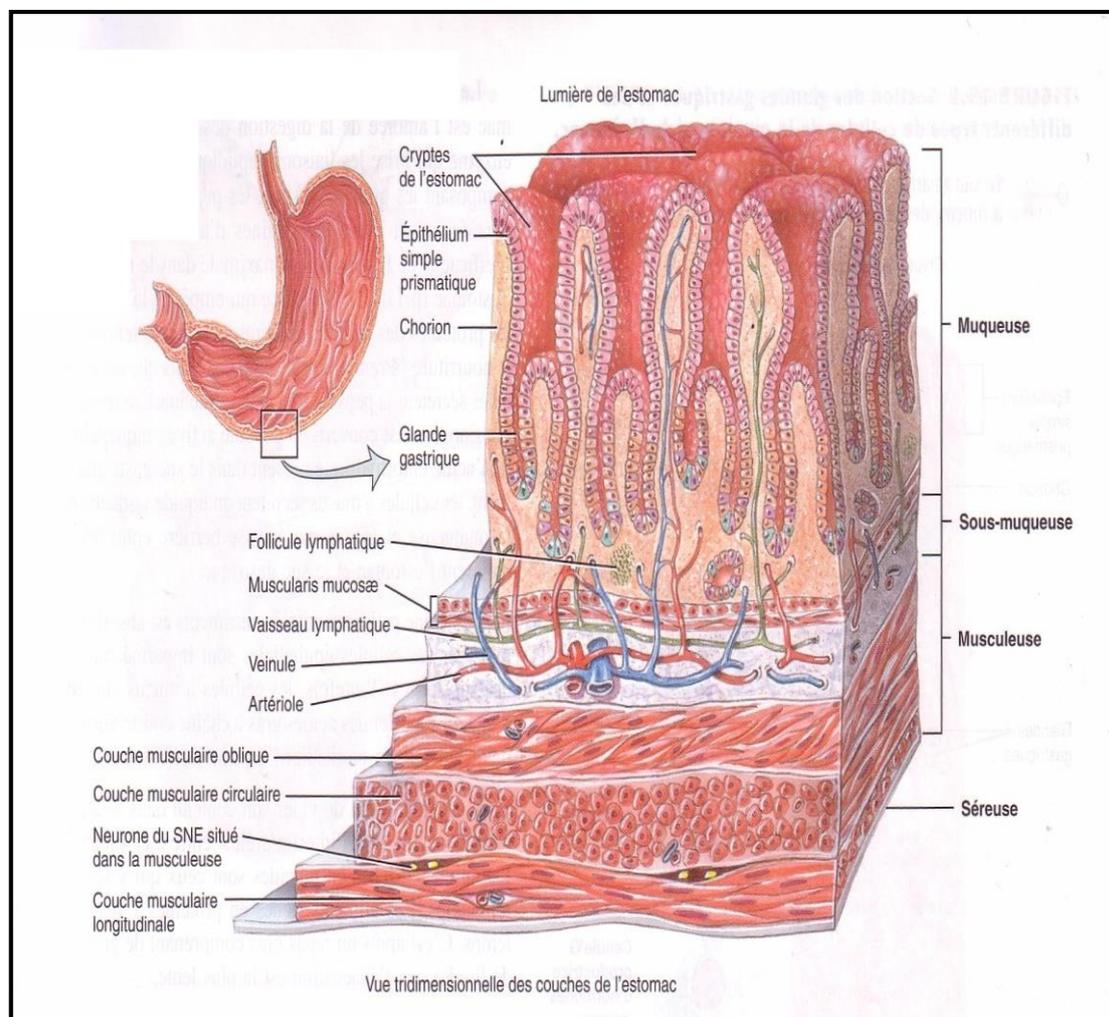


Figure 14: Coupe histologique de l'estomac [52].

Quand l'estomac est vide, la muqueuse forme des grands plis, appelés **plis gastriques**. La surface de la muqueuse est une couche de cellules épithéliales simples prismatiques non ciliées

appelées **cellules à mucus superficielles**. Les cellules épithéliales s'efforcent vers intérieur et forment des colonnes de cellules sécrétrices appelées **glandes gastriques** qui débouchent sur un grand nombre de dépressions étroites, **les cryptes de l'estomac**. Les sécrétions des glandes gastriques se déversent dans chacune des cryptes, puis dans la lumière de l'estomac.

Les glandes gastriques contiennent trois types de cellules exocrines :

- **Les cellules à mucus de collet et cellules à mucus superficielles** sécrètent de mucus
- **Les cellules principales** sécrètent des enzymes digestives inactives les pepsinogène.
- **Les cellules pariétales** produisent de l'acide chlorhydrique, qui tue de nombreux microorganisme présent dans les aliments et aide à convertir le pepsinogène en son forme actif, pepsine et sécrètent également les facteurs intrinsèques, qui sont nécessaire à l'absorption de la vitamine B12. Ensemble, les sécrétions des cellules à mucus, des cellules principales et les cellules pariétales forment le **suc gastrique**. Les cellules G, soit les cellules endocrines des glandes gastriques, sécrètent la gastrine dans la circulation sanguine, cette hormone influe sur plusieurs aspects de l'activité gastrique (fig.15) [51, 52].

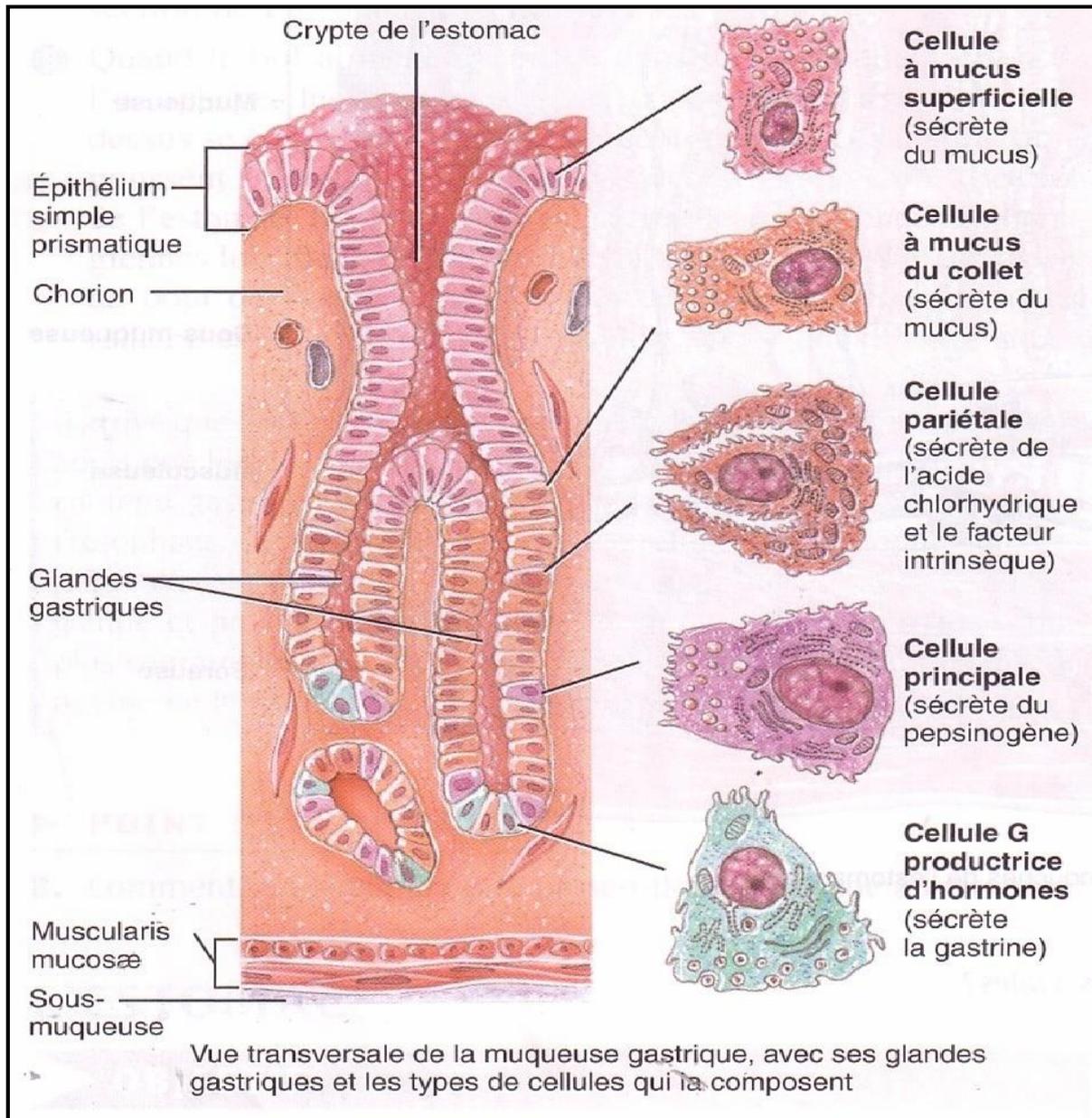


Figure 15: Vue transversale de la muqueuse gastrique, avec ses glandes gastriques et les types de cellules qui la composent [52].

## II.3 Les classifications histopathologiques

### II.3.1 Adénomes et néoplasie intra-épithéliale

Les adénomes ont un risque de transformation maligne plus élevé selon leur taille (50% si tumeur >2cm) et leur type histologique (risque accru pour les adénomes plans).

Fréquemment, les adénocarcinomes se développent à partir de lésions de gastrique chronique atrophique avec métaplasie intestinale. En absence d'adénocarcinome adjacent, il est utile de

préciser si ces lésions s'accompagnent de néoplasie intra-épithéliale (ou dysplasie) qu'il faut alors grader selon la classification de Vienne (qui s'applique à tout l'appareil gastro-intestinal) :

- Indemne de NIE (néoplasie intra-épithéliale).
- Indéterminé pour une NIE (en cas de lésions régénératives liées à des érosions/ulcérations).
- Avec NIE de bas grade.
- Avec NIE de haut grade :
  - Adénome/dysplasie de haut grade.
  - Adénocarcinomes in situ (intra-épithélial) non invasif.
  - Adénocarcinomes in situ (intra-épithélial) doute sur l'invasion du chorion
- Adénocarcinome invasif :
  - Invasion du chorion ou de la musculaire muqueuse.
  - Invasion de la sous-muqueuse ou plus [53, 54, 55, 56, 57] .

### II.3.2 Carcinomes

Selon la classification histologique de l'OMS nous distinguons :

- Adénocarcinome papillaire (tumeur exophytique, bien différenciée)
  - Adénocarcinome tubuleux (bien, modérément ou peu différencié)
  - Adénocarcinome mucineux (colloïde muqueux) (>50% de composante mucineuse)
  - Adénocarcinome à cellules indépendantes (>50% de cellules indépendantes)
  - Carcinome adénosquameux
  - Carcinome épidermoïde
  - Carcinome à petites cellules
  - Carcinome indifférencié
-

Les adénocarcinomes de type intestinal sont bien ou modérément différenciés et sont associés à des lésions de métaplasie intestinale. Les adénocarcinomes de type diffus sont plus infiltrats, peu différenciés, faits de cellules peu cohésives et associés à un stroma desmoplasique. Ces formes sont principalement représentées par les carcinomes à cellules indépendantes de la classification de l'OMS et ne sont généralement pas associées à une gastrite chronique atrophique avec métaplasie intestinale [53, 54, 55, 56, 57].

## **II.4 Classification des carcinomes de l'estomac**

### **II.4.1 Classification TNM (Taille, nombre de ganglion, métastases)**

- pTis : Carcinome in situ
- pT1 : Tumeur infiltrant le chorion de la muqueuse (T1a), la musculaire muqueuse (T1a) ou la sous-muqueuse (T1b)
- pT2 : Tumeur infiltrant la musculuse
- pT3 Tumeur infiltrant la sous-séreuse sans atteinte du péritoine viscéral ou des structures adjacentes
- pT4 : Tumeur infiltrant le péritoine viscéral (T4a) ou les structures adjacentes (T4b)
- pN0 : Absence de métastase ganglionnaire
- pN1 : 1 à 2 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques
- pN2 : 3 à 6 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques
- pN3 : 7 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques (3a si 7 à 15 ; 3b si 16 et plus)
- pM0 : Absence de métastase à distance
- pM1 : métastase à distance

Les sites mésentérique, para-aortique, rétro-pancréatique sont considérés dans la catégorie des métastases à distance [58].

## II.4.2 Stades anatomo-clinique

Afin de déterminer le stade anatomo-clinique du cancer de l'estomac et son extension, ce système prend en considération la taille de la tumeur, sa dissémination locale vers les ganglions lymphatique ainsi que sa dissémination à distance (cf. tableau 5) [57, 58].

Tableau 5: Classification en stades des tumeurs gastriques malignes

Stade	Taille(T)	Nombre de ganglions(N)	Métastases (M)
<b>Stade 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Stade IA</b>	T1	N0	M0
<b>Stade IB</b>	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>Stade IIA</b>	T1	N2	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Stade IIB</b>	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0	M0
<b>Stade IIIA</b>	T2	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N1	M0
<b>Stade IIIB</b>	T3	N3	M0
	T4a	N2	M0
	T4b	N0 ou N1	M0
<b>Stade IIIC</b>	T4a	N3	M0
	T4b	N2 ou N3	M0
<b>Stade IV</b>	Tout T	Tout N	M1

Le pronostic des adénocarcinomes de l'estomac est très variable en fonction de leur extension pariétale et métastatique. Les formes précoces ont un bon pronostic avec une survie à 10 ans de 70 à 90%. La présence d'embolies carcinomateuses endo-vasculaires est associée à un mauvais pronostic [53, 54, 55, 56, 57].

## II.4.3 Tumeurs mésoenchymateuses

La grande majorité des tumeurs mésoenchymateuses malignes du tube digestif sont des tumeurs gastro-intestinales (GIST).

Ce sont des tumeurs issues de cellules interstitielles de Cajal, associées à une mutation du gène Kit, ou plus rarement du gène PDGFRA. Les GIST sont localisées dans l'estomac dans 50-60% des cas, l'intestin grêle (20-30%), le colon-rectum (10%), l'œsophage (5%) et le reste de la cavité abdominale (5%). Histologiquement, les GIST sont principalement de type fusocellulaire, parfois épithélioïde et associées à des structures fibrillaires hyalines appelées fibres skeinoïde. Environ 80% des GIST de l'estomac sont peu agressives (Tumeurs à très faible ou faible risque) [59].

- Tumeurs musculaires : léiomyome et léiomyosarcome
- Tumeur glomique
- Schwannome
- Lipome
- Tumeur à cellules granuleuses
- Sarcome de Kaposi [53, 54, 55, 56, 57].

# Chapitre III: Rappel anatomo-histopathologique de l'ovaire

### **III.1 Anatomie des ovaires**

#### **III.1.1 Configuration externe et dimensions**

L'ovaire possède une forme ovoïde un peu aplatie de dehors en dedans.

L'aspect de l'ovaire change au cours de l'évolution de l'individu. Sa surface est lisse jusqu'à la puberté. Elle devient ensuite de plus en plus irrégulière, car elle se couvre de saillies formées par les follicules de De Graaf en voie d'évolution et de cicatrices consécutives à la rupture de ces follicules. Après la ménopause, les ovaires diminuent considérablement de volume, les saillies folliculaires disparaissent, les cicatrices s'atténuent et la surface de l'organe tend à redevenir lisse et régulière.

La consistance de l'ovaire est ferme. Sa couleur est blanche rosée chez le vivant, blanc grisâtre sur le cadavre [60].

#### **III.1.2 Situation et rapports**

Au nombre de deux, l'un, droit, l'autre, gauche, les ovaires sont presque entièrement libres et nus dans la cavité péritonéale pelvienne. Seuls leurs bords antérieurs et leurs extrémités sont reliés d'une part au ligament large par un court méso, d'autre part à la trompe et à l'utérus par des ligaments recouverts de péritoine. Il s'ensuit que, dans tout le reste de leurs étendus, les ovaires entrent en rapport avec les organes voisins par l'intermédiaire de la cavité péritonéale (fig. 16) [60].

Les ovaires sont situés dans la cavité pelvienne dans la fosse ovarique (fossa ovarù) généralement appelée « fossette de Krause (1851) ou de Claudius 1865 ».

Les ovaires se situent dans la partie postéro-supérieure de la paroi pelvienne latérale, dans la bifurcation des vaisseaux iliaques externes.

Ainsi, l'ovaire repose dans la cavité péritonéale limitée en arrière par les vaisseaux iliaques internes et les vaisseaux hypogastriques et l'uretère, en haut par les nerfs obturateurs et la veine iliaque externe.

L'excavation péritonéale pelvienne est divisée par un repli musculo-séreux en un compartiment antérieur vésical et un postérieur rectal. Ce repli, contenant l'utérus dans son dédoublement, constitue les ligaments larges [45, 47].

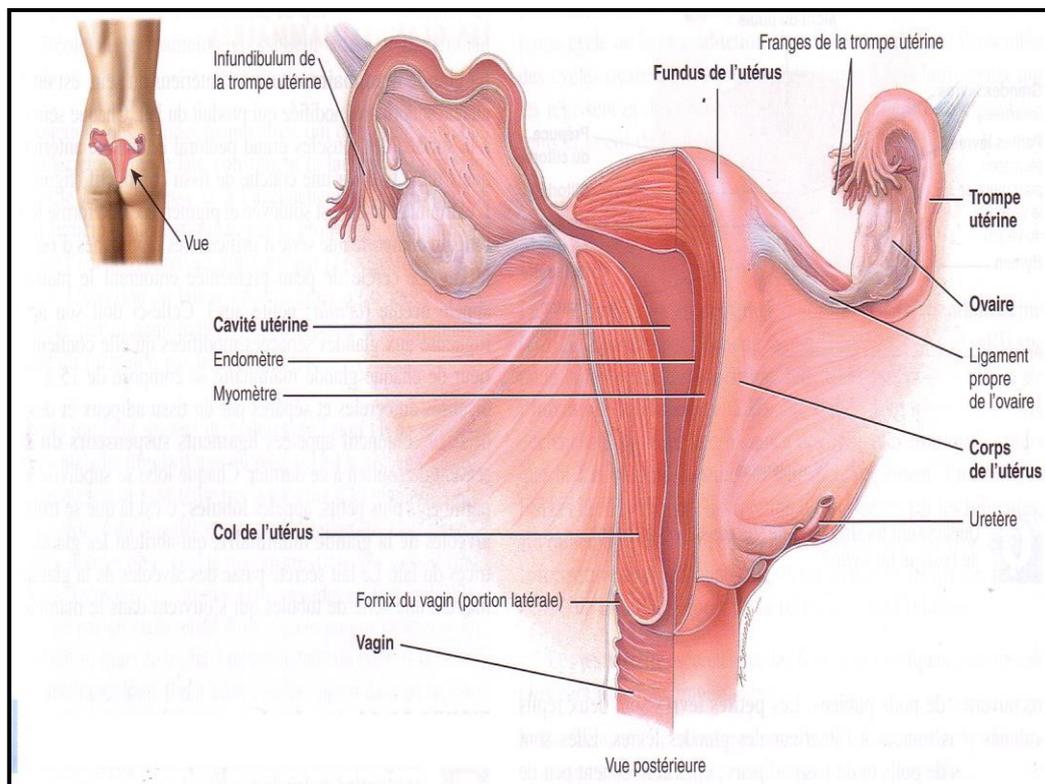


Figure 16: Appareil génital féminin (Vue postérieure) [60].

### III.1.3 Moyens de fixité

L'ovaire est matineuse dans sa position par le mésovarium et par les ligaments lomo – ovaïrien – tubo – (Infundibulo – ovaïrien ) et utéro – ovaïrien.

### III.1.4 Vaisseaux et nerfs

- Les artères : Les artères de l'ovaire proviennent de l'arcade formée par l'anastomose des artères ovariennes et utérines.

- Les Veines : Forment dans le hile et le mésovarium un plexus très développé. Les rameaux qui en partent vont aux veines ovariennes et utérines.
- Les Lymphatiques : Les collecteurs montent le long des vaisseaux utéro- ovariens jusqu'aux ganglions abdomino-aortiques où ils se terminent.

À droite, les lymphatiques aboutissent à des ganglions précaves et latéro-caves.

À gauche, les lymphatiques se rendent aux ganglions latéro-aortiques et préaortiques, au-dessous et à partir du pédicule rénal gauche.

Les troncs lymphatiques de l'ovaire s'anastomosent avec ceux de la trompe et de l'utérus.

Le premier échelon ganglionnaire des lymphatique des ovaires est constitué par les ganglions latéro-aortiques et accessoirement par un élément de la chaîne moyenne des ganglions iliaques externe.

- Les nerfs : Proviennent du plexus inter-mésentérique par le plexus ovarien qui accompagne l'artère ovarienne [46, 47,60].

### **III.1.5 Les ligaments larges**

Le péritoine des faces et du fond de l'utérus s'étend de chaque côté, Jusqu'à la paroi latérale de la cavité pelvienne. Il forme ainsi de part et d'autre de l'utérus un repli transversal, le ligament large, qui, de chaque côté, relie l'utérus à la paroi. La base du ligament large, où cheminent à travers un tissu cellulaire dense et résistant, l'uretère, des vaisseaux sanguins, des lymphatiques, et des nerfs, constitue le paramètre des chirurgiens.

En avant, le péritoine se replie et remonte, à hauteur de l'isthme utérin, pour former les parties latérales du cul-de-sac vecio-utérin.

En arrière, le feuillet postérieur du ligament large descend beaucoup plus bas pour participer à la formation du clu-de-sac de Douglas [46, 47, 60].

### III.1.6 Les feuillets du péritoine

Le péritoine est une séreuse composée de deux feuillets :

- Le péritoine pariétal : appliqué sur les parois de cavités abdominales et pelviennes,
- Le péritoine viscéral : constitué par le revêtement séreux des organes abdomino-pelviens, est indissociable des organes qu'il recouvre, cependant au niveau de l'ovaire, les épithéliums du péritoine et de l'ovaire s'interrompent brusquement au niveau d'une ligne qui répond au hile de la glande (ligne de Farre-Waldeyer). L'ovaire est donc libre non recouvert de péritoine, dans la cavité péritonéale pélvi-abdominal.

Les anses grêles mobiles et le colon sigmoïde recouvert du péritoine viscéral sont en contact direct à la surface des ovaires [46, 47, 60].

## III.2 Histologie

### III.2.1 La structure histologique

Chaque ovaire est revêtu par un épithélium pavimenteux ou cubique simple (dit épithélium germinatif) qui, au niveau du hile de l'ovaire est en continuité avec le mésothorium du repli péritonéal formant le mésovarium.

L'ovaire comprend deux zones :

- La zone corticale : épaisse, située à la périphérie comportant des follicules ovariens, entre lesquels se trouve un tissu conjonctif particulier (ou stroma ovarien)
- La zone médullaire : située au centre de l'ovaire, comporte : un tissu conjonctif lâche, en continuité d'une part avec celui du mésovarium au niveau du hile et d'autre part

stroma ovarien, et dans et dans lequel se trouvent des nerfs, des vaisseaux sanguins et des vaisseaux lymphatiques (fig. 17) [52, 60].

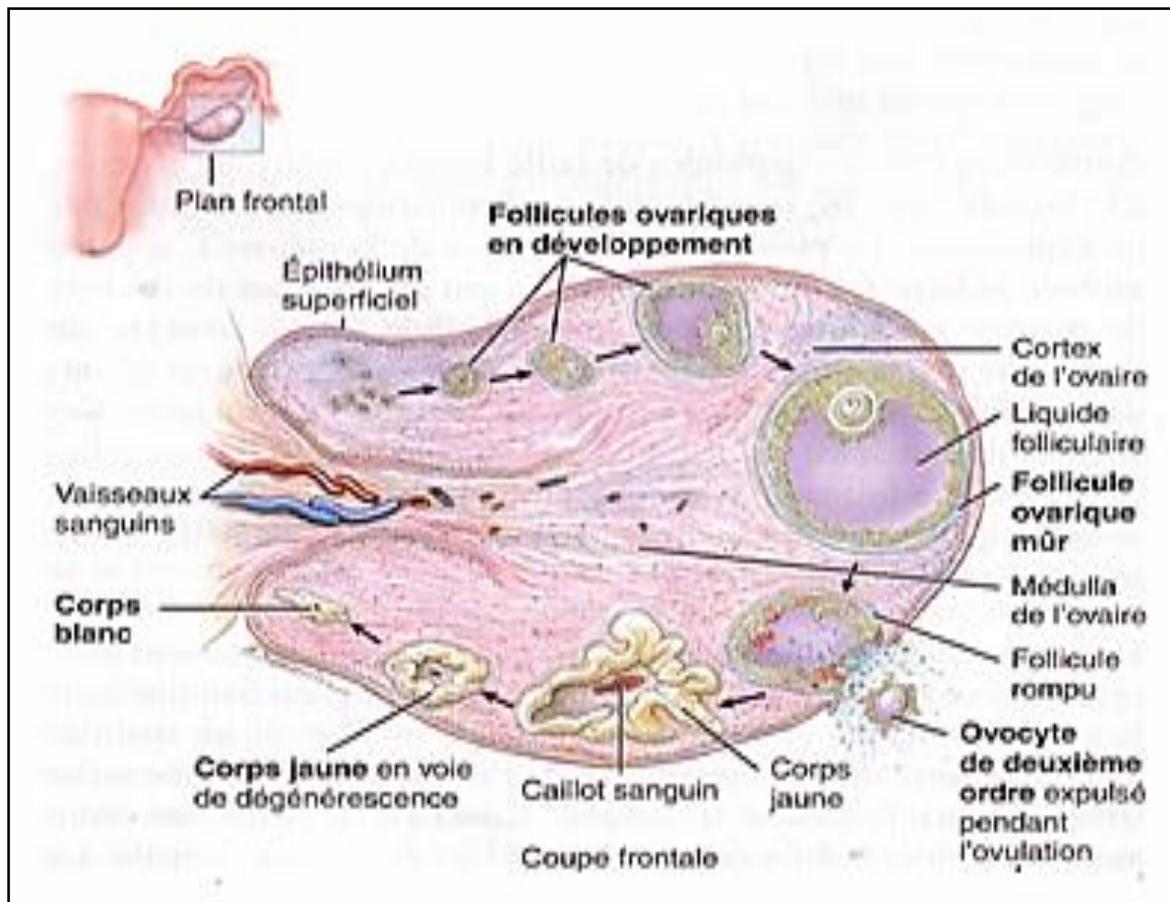


Figure 17: Coupe histologique de l'ovaire (coupe frontale) [60].

### III.2.2 Variations en fonction de l'âge, de la période du cycle menstruel et de la gestation

#### III.2.2.1 De la fin de la vie intra-utérine à la puberté

L'ovaire garde une structure inchangée, il n'existe que des follicules primordiaux (environ 400 000).

Le follicule primordial comporte un ovocyte I en début de prophase de la première division (méiose), qui est entouré par une couche unique de 3 à 4 cellules folliculaires aplaties (dérivés probablement de l'épithélium germinatif ovarien. Le follicule primordial mesure environ 25micron de diamètre [46, 47,60].

### III.2.2.2 De la puberté à la ménopause

Les follicules primordiaux subissent lors de la première moitié du cycle de nombreuses modifications pour leur croissance et leur maturation :

- L'ovocyte I : augmente de volume, et s'entoure d'une couche fibrillaire dite 'zone pellucide'.
- Les cellules folliculaires se multiplient et forment plusieurs couches (une dizaine) autour de l'ovocyte I.
- La granulosa, lorsqu'elle atteint une certaine épaisseur, se développe en son sein de petits espaces remplis de liquide folliculaire ; ceux-ci deviennent coalescents et forment une cavité en forme de croissant (ou antrum). Au fur et à mesure que l'antrum s'agrandit par accumulation de liquide folliculaire, l'ovocyte devient excentrique et la granulosa finit par former une mince couche cellulaire (membrane granulosa) tapissant la volumineuse cavité sphérique de l'antrum et entourant (= corona radiata) l'ovocyte au niveau d'un épaissement connu sous le nom de Cumulus Oophorus (ou=Cumulus Proligère). Les cellules de la granulosa restent séparées de la thèque interne par une épaisse membrane basale.
- Le stroma ovarien entourant le follicule s'organise en : une thèque interne riche en cellules d'aspect épithélioïde et en capillaires sanguins, et une thèque externe, fibreuse, contenant des vaisseaux sanguins donnant les capillaires de la thèque interne.
- L'ovulation survient approximativement au 14<sup>ème</sup> jour de cycle, elle n'intéresse qu'un seul follicule De Graaf.

Au cours de la deuxième moitié du cycle, (approximativement du 14<sup>ème</sup> au 28<sup>ème</sup> jour), l'ovocyte (devenu ovocyte II) débute immédiatement sa deuxième division (équationnelle) qui reste bloquée en métaphase. Le reste du follicule se transforme en corps jaune : la paroi, faite

---

de cellules folliculaires de la granulosa et de ces cellules de la thèque interne, se plisse. Les cellules de la granulosa prolifèrent et grossissent, se transformant en grandes cellules lutéiniques (=cellules paralutéiniques). Des travées de tissu conjonctif fibreux partent de la thèque externe et déterminent des cloisons conjonctivo-vasculaires qui contribuent à l'organisation fibreuse du caillot sanguin central.

Si l'ovocyte est fécondé, le corps jaune persistera pendant les 6 premières mois de la grossesse et ensuite dégénérera en laissant une petite cicatrice fibreuse = corpus albicans.

Si l'ovocyte n'est pas fécondé, le corps jaune ne restera fonctionnel que pendant les 14 jours de la deuxième moitié du cycle et se transformera alors en corpus albicans [46, 47, 60].

### III.2.2.3 Après ménopause

Les ovaires ne contiennent plus aucun follicule d'aucune sorte. Seuls peuvent persister, au sein d'un tissu fibreux, quelques corpus albicans [46, 47, 60].

## III.3 Physiologie

L'ovaire possède deux fonctions

- La formation des gamètes femelles,
- La sécrétion endocrine des hormones femelles (stéroïdes) :
  - Les cellules de la thèque interne des follicules et les cellules interstitielles sécrètent des **œstrogènes**.
  - Les grandes cellules lutéiniques (dérivées des cellules de la granulosa) du corps jaune sécrètent de la **progestérone**.

La régulation des fonctions ovariennes dans le système hypothalamo-adénohypophysaire se fait de la façon suivante : le F.S.H. stimule la croissance folliculaire et la sécrétion d'œstrogène. La

L.H. déclenche l'ovulation et la formation du corps ainsi que sa sécrétion de progestérone [60, 61].

### III.4 Classification histopathologique

La pathologie tumorale ovarienne rassemble un nombre important de lésions très hétérogènes sur le plan clinique, macroscopique, histopathologique et pronostic.

#### III.4.1 Tumeurs épithéliales

Nous résumons les grandes catégories tumorales ovariennes dans le tableau suivant selon le type histopathologique (*cf.* tableau 6) [57,62, 63, 64, 65, 66].

Tableau 6: Les types histopathologiques des tumeurs épithéliales.

Type Histologique	Macroscopique	Histologie
<b>Tumeur séreuse maligne : Adénocarcinome papillaires séreux</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bilaréale dans 2/3 des cas</li> <li>-Tumeur mi-solide mi-kystique</li> <li>-Parfois secteurs papillaires</li> <li>-Parfois foyers hémorragiques et/ou de nécrose</li> </ul>	50% des tumeurs épithéliales malignes de l'ovaire. Coexistence de territoires papillaire (parfois peu abondant mais essentiel à rechercher) et de territoires solides(en fonction de la différenciation). Cellules tumorales présentent des atypies marquées et des mitoses souvent très nombreuses. Tumeur infiltrant et détruisant les structures normales.
<b>Tumeur mucineuse maligne : Adénocarcinomes mucineux</b>	Description analogue autres tumeurs mucineuses avec en outre des secteurs solides	5 à 10% des tumeurs mucineuses. Deux formes sont décrites : -La forme infiltrante typique se caractérise par une invasion du stroma par des glandes, des amas ou des cellules isolées. Stroma fibro-inflammatoire, desmoplastique. Mauvais pronostic.

		-La forme expansive (de diagnostic parfois difficile) avec un front d'invasion fait de glandes nombreuses, tassées, confluentes avec stroma très grêle. Très bon pronostic.
<b>Tumeur endométrioïde maligne :</b> <i>Adénocarcinome endométrioïde</i>	-Unilatérale -Tumeur solide, friable souvent ponctuée de micro-kystes	Forme classique tubulo-glandulaire ou tubulo-papillaire avec cellules cylindriques de type endométrial, métaplasie malpighienne fréquente, mucosécrétante, sécrétoire, ciliée et fusiforme.
<b>Tumeur mixité mullérienne maligne</b>	-Volumineuse -Parfois bilatérale -Kystique et solide -Nécrose, hémorragie	Elles sont Très rares. Coexistence de plages carcinomateuses et de plages sarcomateuses (hétérologues dans 60% des cas) c'est <b>carcinosarcome</b> (l'adénosarcome est exceptionnel)
<b>Tumeur maligne à cellules claires :</b> <i>Adénocarcinome à cellules claires</i>	-Unilatérale -lésion solide, jaunâtre avec secteurs kystiques -Variantes : tumeur développe dans un kyste endométriosique	-Architecture papillaire - Architecture tubulo-kystique - Architecture solide - Cellules claires (polygonales, limites nettes, cytoplasme clair, nucléole prominent). -Cellules en clou de tapissier (noyau atypique, projeté au pole apical). -Cellules en bague chaton (rares). <b>Diagnostic différentiel :</b> métastases d'une tumeur rénale.
<b>Tumeur à cellules transitionnelles maligne :</b> <i>Tumeur de Brenner maligne</i>	Se distingue des précédents par le caractère solide prédominant et la présence de nécrose.	Très rare. Tumeur de Brenner maligne : Aspect de carcinome infiltrant de type urothélial (penser au diagnostic différentiel avec métastase) associé à un contingent de tumeur de Brenner bénigne ou à la limite de la malignité.

<i>Carcinome à cellules transitionnelles (non Brenner)</i>		<b>Carcinome à cellules transitionnelles (non Brenner)</b> : se distingue du précédent par l'absence de contingent bénin ou à malignité intermédiaire. Le pronostic est défavorable pour cette tumeur.
<b>Carcinome indifférenciés</b>		Ils sont Très rares, le plus souvent de couche séreuse ou endoméioïde. Très mauvais pronostic

### III.4.2 Les métastases ovariennes

Les métastases ovariennes représentent 10% des cancers ovariens, d'un site primitif plus fréquent : sein, colon, endomètre et estomac et d'autres localisations primitives qui peuvent être rencontrées : mélanomes, col utérin, rein, pancréas, avec infiltration bilatérale (des deux ovaires) dans 70% des cas avec un aspect multinodulaire (*cf.* tableau 7) [57,62, 63, 64, 65, 66].

Tableau 7: Les sites histopathologiques primitif prédictifs des métastases ovariennes

<b>Site primitif</b>	<b>Description</b>
<b>Colon/rectum</b>	Pose des problèmes de diagnostic différentiel avec une tumeur mucineuse ovarienne primitives.  Secteurs solides et nécrose plus abondants.
<b>Estomac</b>	La plupart des métastases ovariennes d'origine gastrique sont de type en bague à chaton (tumeurs de Krukenberg)
<b>Sein</b>	Préférentiellement les carcinomes lobulaires infiltrants

**Remarque** : seules rentrent dans la catégorie des adénocarcinomes papillaires séreux les lésions invasives variées. Les lésions micro-invasives sont à assimiler aux tumeurs Border Line. Le risque de transformation maligne des tumeurs séreuses Border Line est très faible (1%).

### III.4.3 Grade des adénocarcinomes séreux

Les adénocarcinomes séreux de l'ovaire peuvent être grader selon l'OMS avec le même principe que celui de l'endomètre ou bien avec l'utilisation du garding de la méthode de Silverberg [57,67] qui se base sur :

- Architecture majoritaire : Glandulaire (1), papillaire (2), solide (3).
- Atypies nucléaires : Faible (1), modérées (2), marquées (3).
- Mitoses : < 10 mitoses dans 10 champs microscopiques (1), entre 10 et 25 mitoses dans 10 champs microscopiques (2), >25 mitoses dans 10 champs microscopiques (3)

Nous faisons la somme selon la structure morphologique et cytologique :

- *Grade I* : 3-4 ou 5.
- *Grade II* : 6 ou 7.
- *Grade III* : 8 ou 9 [57,67].

### III.4.4 La classification TNM et le stade anatomo-clinique

Tableau 8: la Classification TNM des cancers ovariens [57,68]

<b>T1/ Pt1</b>	<p><b>Limité aux ovaires</b></p> <p>a-un ovaire</p> <p>b-deux ovaires</p> <p>c-un ou deux ovaires avec rupture capsulaire ou extension en surface ou ascite positive</p>
<b>T3/pT2</b>	<p><b>Extension pelvienne</b></p> <p>a-utérus et/ou trompes</p> <p>b-autres organes pelviens</p> <p>c-a et/ou b avec ascite positive</p>

<b>T3/pT3</b>	<b>Extension</b>
	a-métastase péritonéales microscopiques
	b-métastase péritonéales microscopiques < 2 cm c- métastase péritonéales microscopiques ≥ 2 cm et ou adénopathie régionale
<b>N1/pN1</b>	Adénopathie régionale Hypogastrique, iliaque, para-aortique, inguinale

Tableau 9: Correspondance entre stade anatomo-clinique FIGO et la classification TNM

<b>Stade 1 A</b>	T1 a	N0	
<b>Stade 1 B</b>	T1 b	N0	
<b>Stade 1 C</b>	T1 c	N0	
<b>Stade 2 A</b>	T2 a	N0	
<b>Stade 2 B</b>	T2 b	N0	
<b>Stade 2 C</b>	T2 c	N0	
<b>Stade 3 A</b>	T3 a	N0	
<b>Stade 3 B</b>	T3 b	N0	
<b>Stade 3 C</b>	T3 c	N0	
	T1, T2, T3	N1	
<b>Stade 4</b>	T1, T2, T3	N0, N1	M1

# Chapitre IV: Rappel anatomo-histopathologique de la vessie

## IV.1 L'anatomie de la vessie

### IV.1.1 Configuration externe et situation

La vessie urinaire est un viscère creux doté d'une puissance musculature. Caractérisée par son aptitude se laisser distendre. Elle accumule l'urine dont elle est un réservoir temporaire. La taille, la forme, la position et les rapports de la vessie urinaire varient en fonction de son contenu et de l'état des viscères adjacents.

Lorsque la vessie urinaire de l'adulte est vide, elle se trouve dans le petit bassin, en arrière et légèrement au-dessus des os pubiens dont elle est séparée par un espace virtuel, l'espace rétropubien (de Retzuis). Elle se trouve en majeure partie en dessous du péritoine et repose antérieurement sur les os pubiens et la symphyse pubienne et postérieurement sur le plancher pelvien. La vessie urinaire est relativement libre au sien du tissu adipeux sous-cutané extra-péritonéal, sauf au niveau de son col qui est solidement maintenu en place par les ligaments latéraux de la vessie et les arcades tendineuses du fascia pelvien (lames sacro-pubiennes) – et surtout par ses constituants antérieurs représentés chez l'homme par les ligaments pubo-prostatiques et chez la femme par les ligaments pubo-vésicaux (figure 17 A et B) [45, 46, 47,69].

- Chez le nourrisson et l'enfant, la vessie urinaire se trouve dans l'abdomen, même lorsqu'elle est vide. Elle se place dans le grand bassin vers l'âge de 6 ans et ne s'intègre complètement au petit bassin qu'après la puberté.
- Chez l'adulte, la vessie vide se trouve quasi complètement dans le petit bassin. Le niveau de sa face supérieure correspondant au bord supérieur de la symphyse pubienne. Lorsqu'elle se remplit, la vessie remonte dans le tissu adipeux extrapéritonéal de la paroi abdominale antérieure et pénètre dans le grand bassin.

Chez certains individus, une vessie complètement remplie peut atteindre le niveau de l'ombilic.

---

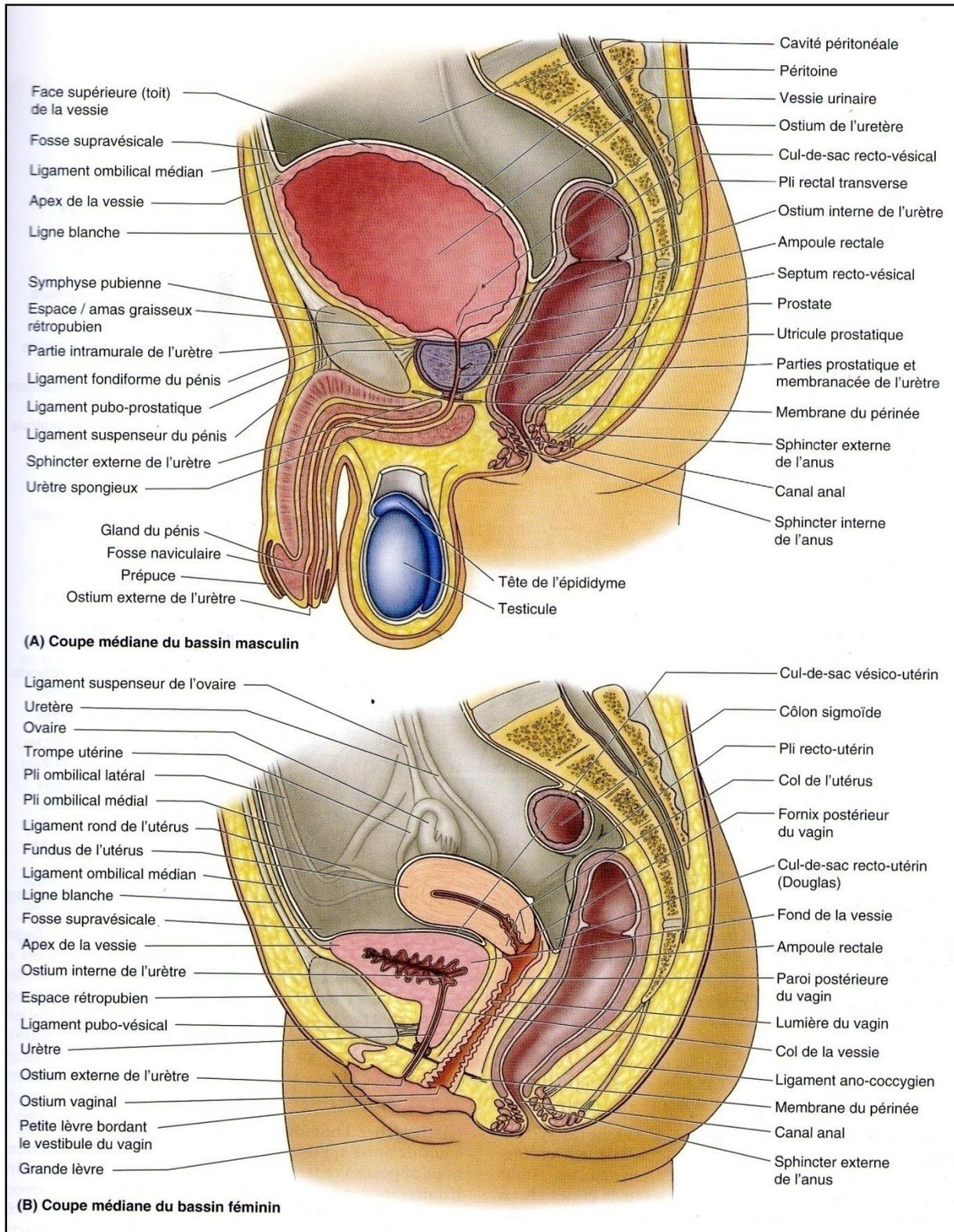


Figure 18: Viscère masculins et féminins sur des coupes médianes du bassin [47].

### IV.1.2 Structure

À la fin de la miction, la vessie d'un adulte normal ne contient pratiquement plus d'urine. Lorsqu'elle est vide, sa forme se rapproche de celle d'un tétraèdre, on lui reconnaît un apex, un

corps, un fond et un col. Les quatre faces de la vessie (supérieure, inféro-latérales et postérieure) sont le plus apparentes sur une vessie vide et contractée extraite d'un cadavre ; sa forme ressemble alors à celle d'un bateau.

L'apex (extrémité antérieure) de la vessie vide est dirigé vers le bord supérieur de la symphyse pubienne.

Le fond de la vessie ou la base se trouve à l'opposé de l'apex et est représenté par sa face postérieure quelque peu convexe.

- Chez l'homme, le fond de la vessie est séparé du rectum, au milieu par le seul fascia (septum) recto -vésical et latéralement par les glandes séminales et les ampoules des conduits déférents.
- Chez la femme, le fond de la vessie est rapport direct avec la partie supérieure de la paroi antérieure du vagin.

Le corps de la vessie est la partie principale du viscère comprise entre l'apex et le fond et les faces inféro-latérales de la vessie urinaire se rencontrent au niveau du col de la vessie.

Le lit de la vessie est représenté par les structures qui entrent directement à son contact. De chaque côté, le pubis et le fascia tapissant la partie supérieure de l'obturateur interne et de l'élévateur de l'anus sont au contact des faces inféro-latérales de la vessie. Seule sa face supérieure est recouverte par le péritoine [46, 47,70].

### **IV.1.3 Musculation de la vessie**

La paroi de la vessie est principalement constituée par le muscle detrusor. Au niveau du col de la vessie masculine, les fibres musculaires forment le sphincter urétral interne involontaire. Ce sphincter se contracte pendant l'éjaculation pour empêcher une éjaculation rétrograde (reflux

éjaculation) de sperme dans la vessie. Quelques fibres orientées radialement contribuent à l'ouverture de l'ostium interne de l'urètre.

Chez l'homme, les fibres musculaires du col vésical entrent en continuité avec le tissu fibromusculaire de la prostate ; chez la femme, une continuité analogue s'établit avec les fibres musculaires de l'urètre. Les deux ostiums urétériques et l'ostium interne de l'urètre se situent aux trois angles du trigone vésical (triangle de Lieutaud). Les ostiums urétériques sont entourées par des boucles de fibres musculaires du detrusor ; elles se resserrent lorsque la vessie se contracte et contribuent ainsi à empêcher le reflux d'urine dans les uretères. L'uvule de la vessie est un petit relief à la surface du trigone ; elle est habituellement plus saillante chez l'homme âgé en raison de l'hypertrophie du lobe postérieur de la prostate [46, 47, 70].

#### **IV.1.4 Irrigation artérielle de la vessie**

Les artères principales de la vessie sont des branches des artères iliaques internes. Les artères vésicales supérieures irriguent la portion antéro-supérieure de la vessie.

- Chez l'homme, le fond et le col de la vessie sont irrigués par les artères vésicales inférieures.
- Chez la femme, celles-ci sont remplacées par les artères vaginales qui abandonnent de petites branches à la partie postéro-inférieure de la vessie.

D'autres petites branches vésicales sont fournies par les artères obturatrices et glutéales inférieures [46, 57, 70].

#### **IV.1.5 Histologie**

La vessie a en coupe, un aspect semblable à celui de l'urètre. L'épithélium de transition est plus épais, constitué de 6 à 8 couches de cellules dans la vessie vide, et seulement 2 à 3 couches dans la vessie distendue. Les cellules de surface présentent, en microscopie électronique, dans leur

---

cytoplasme apical, une collection de vésicules aplaties, limitées par une membrane trilaminaire asymétrique identique à la membrane plasmique de surface, Celle-ci pourraient représenter une réserve de membrane plasmique pouvant être mobilisée rapidement pour l'expansion de la surface cellulaire pendant la distension vésicale. Quelques petites glandes, à cellules muqueuses claires à canaux simples ou ramifiés, existent dans le chorion, particulièrement ou au voisinage des orifices des uretères et de l'urètre. Le chorion est épais avec une couche externe lâche, quelquefois appelé sous-muqueuse, permettant à la muqueuse de se plisser dans la vessie rétractée. La musculuse a une épaisseur modérée et est constituée de trois couches, la couche circulaire moyenne étant la plus importante ; elle est particulièrement développée autour de l'orifice interne de l'urètre où elle constitue un sphincter, et à un moindre degré autour des orifices urétéraux. L'adventice est formé de tissu fibreux élastique ; le péritoine ne recouvre que la surface supérieure de la vessie, à laquelle il s'attache de façon lâche.

Le canal excréteur terminal reliant la vessie à l'extérieur est l'urètre. Celui de l'homme diffère d'une façon marquée de celui de la femme (fig. 18) [51, 52].

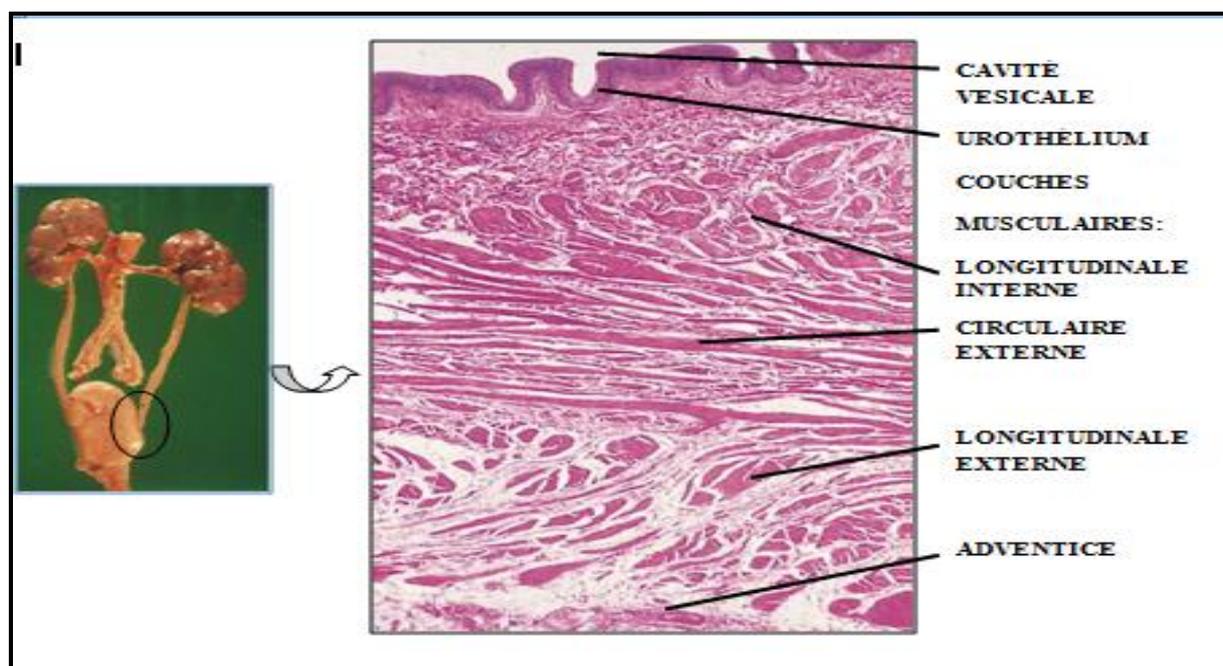


Figure 19: Coupe histologique de la vessie [52].

## IV.2 Les classifications histopathologiques des tumeurs de la vessie

Pendant de longues années, la classification OMS 1973 de Mostofi individualisant 3 groupes (Grade 1 à 3) a été référence. De nouvelles classifications ont été proposées à la fin des années 1990 (OMS/ISUP (International Society of Urology Pathology) 1998 OMS et 1999). La classification OMS 1999 correspondait à un mixte entre les 2 précédentes classifications OMS 1973 et OMS/ISUP 1998. D'où une certaine confusion et un manque de reproductibilité.

En 2004, l'OMS et l'AFIP (Armed Forces of Pathology) ont publié la même classification. (cf. tableau 10).

Tableau 10: Les principales classifications du cancer de la vessie.

OMS 1973	OMS/ISUP 1998	OMS 1999	OMS 2004
Papillome	Papillome	Papillome Néoplasie papillaire de faible potentiel de malignité	Papillome
Carcinome grade I	Néoplasie papillaire de faible potentiel de malignité	Néoplasie papillaire de faible potentiel de malignité  Carcinome grade I	Néoplasie urothéliale de faible potentiel de malignité  Carcinome papillaire de bas grade
Carcinome grade 2	Carcinome de bas grade de malignité	Carcinome grade 1  Carcinome grade 2	Carcinome papillaire de bas grade  Carcinome papillaire de haut grade

Carcinome garde 3	Carcinome de haut garde de malignité	Carcinome garde 3	Carcinome papillaire de haut grade
-------------------	--------------------------------------	-------------------	------------------------------------

Il faut distinguer les tumeurs invasives (à partir de p T1) des tumeurs non invasives. Les carcinomes invasifs sont soit de bas garde (certains p T1), soit de haut garde (majorité des p T1 et toutes les tumeurs p T2).

Le garde est surtout important pour les tumeurs urothéliales papillaires non invasives (p Ta). Il se fait sur le secteur de garde le plus élevé [57, 71, 72, 73, 74].

#### **IV.2.1 Néoplasie urothéliale de faible potentiel de malignité**

Tumeur papillaire dont l'architecture et la polarité cellulaire sont régulières. Epaisseur augmentée de l'urothélium (plus de 6 couches cellulaires) associée à une augmentation discrète de la taille des noyaux. Les mitoses sont rares et souvent en situation basale.

#### **IV.2.2 Carcinome papillaire de bas grade**

Tumeur papillaire présentant une discrète désorganisation architecturale avec atypies cytologiques plus franches au sein de l'urothélium. Les mitoses peuvent être observées dans les différentes couches de l'urothélium.

#### **IV.2.3 Carcinome papillaire de haut grade**

Tumeur papillaire présentant une perte de maturation en surface. Atypies cytologiques marquées et nombreuses mitoses. Observées dans les différentes couches de l'urothélium [57, 71, 72, 73, 74].

---

## IV.2.4 Variantes histologiques des tumeurs urothéliales et autres tumeurs épithéliales ou non de la vessie

### IV.2.4.1 Tumeurs épithéliales

- **Tumeurs urothéliales** (plus de 90 % des tumeurs vésicales et des voies excrétrices urinaires)

**NB** : Ne plus utiliser le terme de cellules transitionnelles.

- **Carcinome urothélial infiltrant**
    - Avec différenciation malpighienne
    - Avec différenciation glandulaire
    - En nids (nested variant)
    - Microkystique
    - Micro papillaire
    - « Lymphoépithélioma- like »
    - Plasmosytoïde
    - Sarcomatoïde
    - Avec cellules géantes
    - Indifférencié
  - **Néoplasies urothéliales non invasives**
    - Carcinome urothélial in situ
    - Néoplasie de faible potentiel de malignité
    - Carcinome urothélial papillaire de bas grade de malignité
    - Carcinome urothélial papillaire de haut grade de malignité
    - Papillome urothélial
    - Papillome urothélial inversé
- **Carcinomes malpighien épidermoïde (5%)**

Ne poser le diagnostic de carcinome épidermoïde que si plus de 95% de la tumeur est épidermoïde.

- **Adénome vilieux**
- **Adénocarcinome (<2%)**
  - On distingue des adénocarcinomes primitifs de la vessie et les adénocarcinomes de l'ouraque.
  - Peut-être de type colique (intestinal), à cellules indépendantes mucineux (colloïde).
  - Développement le plus souvent à partir de foyers de métaplasie intestinale ou de lésions de cystite glandulaire.
- **Tumeurs neuroendocrines de la vessie (0.5%)**
- **Métastases ou extension d'une tumeur de voisinage**

#### IV.2.4.2 Tumeurs non épithéliales

- Léiomyosarcome
- Rhabdomyosarcome (siège préférentiel chez les enfants)
- Lymphome [57, 75, 76].

#### IV.2.5 Classification TNM 2009 (UICC) et stade anatomo-clinique

Tableau 11: Classification TNM de la vessie [57, 71, 72].

	<b>Tx</b>	Tumeur primitive ne pouvant être classée
	<b>T0</b>	Absence de tumeur primitive
	<b>Ta</b>	Tumeur papillaire non invasive

<b>Taille de la tumeur</b>	<b>Tis</b>	Carcinome in situ (plan, respectant la membrane basale)
	<b>T1</b>	Tumeur envahissant le chorion
	<b>T2</b>	Tumeur envahissant la musculature
		T2a : Tumeur envahissant le muscle superficiel (1/2 interne)
		T2b : Tumeur envahissant le muscle profond
	<b>T3</b>	Tumeur envahissant le tissu périvésical
		T3a : envahissant microscopique
		T3b : envahissant macroscopique
	<b>T4</b>	Envahissement d'un organe périvésical ou de la paroi
		T4a : prostate, utérus ou vagin
T4b : paroi pelvienne ou abdominale		
<b>Nombre de ganglion</b>	<b>Nx</b>	Ganglion régionaux non évaluables
	<b>N0</b>	Absence de métastases ganglionnaires régionale
	Atteinte des ganglions hypogastriques, obturateurs, iliaques externes ou pré-sacrés	
	<b>N1</b>	Un seul ganglion atteint
	<b>N2</b>	Plusieurs ganglions atteints
	Atteintes des ganglions de l'iliaque commune	

	<b>N3</b>	Un ou plusieurs ganglions
<b>Métastases</b>	<b>Mx</b>	Métastases à distances non évaluables
	<b>M0</b>	Absence de métastases à distances
	<b>M1</b>	Présence de métastases à distance

Tableau 12: Correspondance entre stade anatomo-clinique et la classification TNM

<b>Stade 0a</b>	T a	N0	M0
<b>Stade 0is</b>	Tis	N0	M0
<b>Stade I</b>	T1	N0	M0
<b>Stade II</b>	T2	N0	M0
<b>Stade III</b>	T3	N0	M0
<b>Stade IV</b>	T4	N0	M0
	T1, T2, T3, T4	N1, N2, N3	M0, M1

Etude expérimentale

# Chapitre V: Matériel et méthodes

Nous avons réalisé ce travail sous plusieurs angles :

- Étude épidémiologique pour mettre en évidence l'ampleur du cancer de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie dans la région.
- Présentation des bases anatomo-histo-pathologiques utilisées pour le choix de notre population.
- Présentation des méthodes et des protocoles expérimentaux utilisés pour atteindre les objectifs attendus.

## **V.1 Étude épidémiologique**

Nous avons étudié les facteurs suivants :

- L'incidence annuelle
- L'âge
- Sexe
- Provenance
- Type histopathologique,
- Classification histopathologique
- Garde histopathologique
- Stade anatomo-clinique

Ces paramètres ont été traités par Microsoft Office Excel 2010.

### **V.1.1 Cancer de l'estomac**

Il s'agit d'une étude allant de janvier 2002 jusqu'à Janvier 2012, portant sur 168 cas de cancer gastrique, colligés au niveau du service de pathologie (anatomie et de cytologie pathologiques) du Centre-Hôpital- Universitaire de Sidi Bel Abbès.

### **V.1.2 Cancer de l'ovaire**

Il s'agit d'une étude allant de janvier 1996 jusqu'à juin 2013, portant sur 57 cas de carcinome ovarien primitif colligés au niveau du service de pathologie (anatomie et de cytologie pathologiques) du Centre-Hôpitalo- Universitaire de Sidi Bel Abbes. Les tumeurs Border Line n'ont pas été prises en considération.

### **V.1.3 Cancer de la vessie**

Il s'agit d'une étude allant de janvier 1996 jusqu'à décembre 2012, portant sur 162 cas de cancer de la vessie colligés au niveau du service de pathologie (anatomie et de cytologie pathologiques) du Centre-Hôpitalo- Universitaire de Sidi Bel Abbes.

## **V.2 Étude expérimentale**

### **V.2.1 Le choix des échantillons (critères d'inclusion pour la population d'immunomarquage HER2-/neu)**

Nous nous sommes intéressés aux cancers de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie, vu que leur diagnostic s'effectue beaucoup plus à un stade tardif en relation avec leur siège anatomique profond et la confusion de leur tableau clinique avec d'autres pathologies.

Nous avons évalué la surexpression et/ ou l'amplification dans 41 cas de cancer gastrique, 57 cas de cancer ovarien et 26 cas de cancer de la vessie. Les prélèvements, pièces chirurgicales et/ou biopsies, reçues au niveau du service de pathologie (anatomie et de cytologie pathologiques) du CHUSBA, provenaient de différentes localités.

Nous nous somme intéressé, dans notre étude, pour l'estomac à l'adénocarcinome primitif métastatique ou localement infiltré ; pour l'ovaire, aux carcinomes (tumeur épithéliales malignes) primitifs métastatiques ou localement infiltrés et pour la vessie, au carcinome urothélial métastatique ou localement infiltré.

---

Nous avons inclus tous les stades anatomo-clinique de diagnostic, ainsi que tous les grades histopathologiques.

Nous avons inclus tout âge.

Nous nous sommes aidés par la cytopathologie péritonéales afin de compléter la classification FIGO pour l'ovaire.

L'étude histopathologique a été réalisée sur des coupes effectuées sur des prélèvements inclus en paraffine (blocs de paraffine) et colorées par des techniques habituelles (Coloration Hématoxyline-Eosine) (Annexe 01).

L'étude immunohistochimique et l'étude de biologie moléculaire in situ, l'Hybridation In Situ Fluorescente (FISH), ont été réalisées sur des coupes histopathologiques effectuées sur des prélèvements inclus en paraffine (blocs de paraffine).

### **V.2.2 Étude immunohistochimique**

La méthode d'immunohistochimie est considérée comme la première étape pour l'évaluation du statut HER2 (réalisable en routine pour le cancer du sein), elle est peu coûteuse et facile à réaliser.

Elle consiste à mettre en évidence divers antigènes (Ag) cellulaires ou extracellulaires grâce à des anticorps (Ac) spécifiquement dirigés contre eux, par une réaction enzymatique, dans des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine. Nous avons recherché un Ag membranaire HER-2 /neu pour :

- ☞ Intérêt pronostique : mise en évidence une protéine impliquée dans la prolifération cellulaire, ou de produits d'oncogènes.
- ☞ Intérêt thérapeutique : afin de déterminer son statut au niveau du cancer de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie, subir la thérapie ciblée contre cette protéine.

---

L'étude immunohistochimique de la surexpression de HER-2/neu a été réalisée en utilisant l'automate BenchMark XT (VENTANA<sup>®</sup>) (Annexe 04). Nous avons lancé ce qu'on appelle un cycle qui contient 30 lames (cas) dans chaque manipulation, c'est le même principe que la technique manuelle mais les différentes étapes sont assurées par un ensemble d'unités liés à un logiciel NexES (annexe 05), qui se démarre après :

- ☞ L'enregistrement de tous les produits nécessaires (produits pour démarrage de l'appareil et autres pour le démarrage du cycle et nous avons utilisé l'anticorps Hercep Test<sup>™</sup> (DAKO<sup>®</sup>),
- ☞ À partir des blocs en paraffine des lésions cancéreuses choisis, nous avons effectué des coupes fines de 2 à 3  $\mu\text{m}$  (à l'aide d'un microtome) sur des lames gélatinisées,
- ☞ Le numéro des prélèvements a été enregistré dans des codes-barres spéciaux pour l'appareil
- ☞ Sur le logiciel nous avons précisé le protocole qui nous intéresse, l'Ac-anti- HER-2/neu
- ☞ Après 2 heures 30 minutes nous avons recueillie nos lames d'immunomarquage.
- ☞ Un montage des lames a été réalisé par la colle du verre EUKIT.
- ☞ La lecture a été effectuée par un microscope optique

La coloration produite par la réaction s'interprète de façon semi-quantitative par un scoring de 0 à +3, comme suit :

- **IHC négative (0)** : Pas de marquage ou marquage <10% des cellules tumorales.
- **IHC négative (1+)** : Marquage membranaire faible à peine perceptible, dans >10% des cellules tumorales.
- **IHC équivoque (2+)** : Marquage membranaire d'intensité faible à moyenne, marquage complet ou marquage basolatéral dans  $\geq 10\%$  des cellules tumorales, doit être confirmé par une FISH.

- **IHC positive (3+)** : Marquage membranaire moyen à fort, complet ou / basolateral dans > 30% des cellules tumorales.

Dans le cas du cancer de l'ovaire et de la vessie, nous avons utilisé le même principe partant de l'aide que c'est un organe sécrétoire d'une architecture majoritaire glandulaire comme l'estomac et l'immunomarquage avec Ac anti-HER2/neu été basolateral dans la plupart des cas.

### **V.2.3 Techniques de biologie moléculaire in situ : L'Hybridation In Situ Fluorescente (FISH)**

Mise en évidence sur des coupes tissulaires (des blocs de paraffine), de séquences d'ADN grâce à des sondes d'acides nucléiques complémentaires et couplées à un fluorochrome (sondes fluorescentes).

Elle permet d'identifier dans chaque cellule la présence et le nombre de copies d'un segment chromosomique d'HER-2/neu en utilisant des fluorochromes d'apprécier une éventuelle co-localisation et donc monter l'amplification du gène HER-2/neu qui résulte d'une mutation au niveau du chromosome 17q21 qui code pour la protéine transmembranaire (p185) dotée d'une activité tyrosine kinase (Annexe 05).

La FISH est une méthode plus quantitative (comptage des spots lumineux) que l'IHC.

Nous avons utilisé le Kit de DAKO avec une sonde marquée par un fluorophore à spectre orange marquant le locus du gène HER2/neu.

Cette technique est un outil de diagnostic efficace et plus sensible que d'autres techniques (celle utilisant des techniques chromogéniques comme la **CISH**), nous l'avons réalisée la FISH selon le protocole suivant pour les cas de score 2+ en immunohistochimie concernant les cancers gastriques et score 1+ et 2+ pour les cancers ovariens et les cancers de la vessie.

---

Principe de la lecture est de visualiser des sondes hybridées, représentées par des points fluorescents dans le noyau des cellules.

- Nous avons s'aidé de la lame HE et IHC pour le repérage sur un microscope classique des zones d'intérêt comme la zone du d'immunomarquage des cellules tumorales en IHC
- Nous avons sélectionné une zone de tumeur infiltrant au faible grossissement (x20 – x25) pour repérer les noyaux de cellules infiltrés bien individualisés (non superposés)
- Nous avons compté à l'objectif (x100) dans les noyaux (8) les signaux HER-2, (amas, de signaux = clusters d'amplification) car nous avons utilisé qu'une sonde complémentaire au brin HER2/neu.
- Nous avons analysé **au moins 20 noyaux dans 2 zones invasives de la coupe** (40 noyaux) [77, 78,79] :
  - Nombre moyen de copies de HER-2/neu < 4 : **Négatif** : Absence d'amplification.
  - Nombre moyen de copies de HER-2/neu entre 4 à 6 : **Faible** amplification.
  - Nombre moyen de copies de HER-2/neu > 6 : **Positif** : Amplification.

La lecture a été effectuée dans l'obscurité, **15 minutes** pour une lame, par **2 personnes ensemble** (nous et un médecin pathologiste) [80] :

- Pour les 20 premiers noyaux, la première personne compte pendant que la deuxième personne note le nombre HER2 par noyau,
- Pour les 20 noyaux suivants on inverse, la personne qui comptait note et la personne qui notait compte (cela nous a permis de gagner du temps et celui qui compte ne perd pas ses repères car il ne note pas).

**V.3 Analyses statistiques**

les données sur les caractéristiques générale obtenues, ainsi que les données anatomo-histo-pathologiques, ont été saisies à l'aide de Microsoft Office Excel 2010.

Les analyses ont été établies par le logiciel IBM SPSS v23. Les outils appliqués

comprennent:

La comparaison des moyennes été réalisée à l'aide de l'analyse de la variance, et du test à posteriori de Tukey, si significatif et par le test du  $\chi^2$  pour les pourcentages (%).

Le niveau de significativité est de 0,05.

## Chapitre VI: Résultats et discussion

## VI.1 Résultats

Notre travail concernant la surexpression et/ou HER2/neu au niveau des cancers de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie, nous a permis d'avoir les résultats suivants :

### VI.1.1 Cancer de l'estomac

#### VI.1.1.1 Étude épidémiologique

Au cours de notre période d'étude (2002 jusqu'à 2012), nous avons recensé 168 cancers. Le diagnostic a été fait sur 100 biopsies endoscopiques (60%) et 68 pièces chirurgicales (40%).

##### VI.1.1.1.a Recrutement annuel

Durant cette période, de 10ans, le recrutement des cancers gastriques était variable d'année en année. Nous remarquons une augmentation de la fréquence à partir 2006 et un pic en 2010, puis une régression du taux des cancers gastriques diagnostiqués au niveau du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) du CHUSBA, avec une incidence annuelle de 15.2 cas. (fig20).

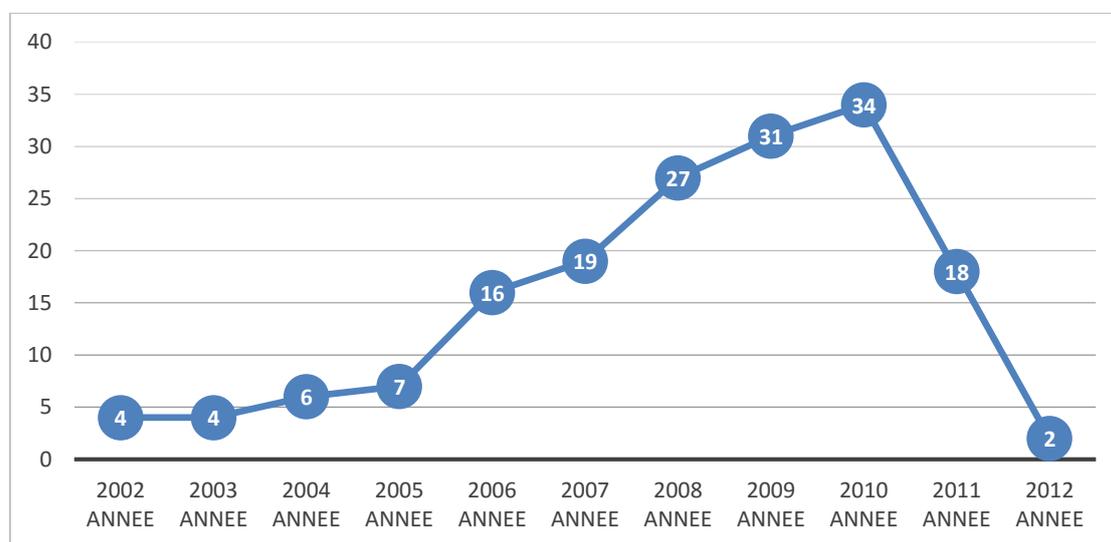


Figure 20: Recrutement annuel des cancers gastriques

##### VI.1.1.1.b Le sexe

La répartition selon le sexe nous a montré une prédominance masculine avec 58% (98 cas) ; le sexe féminin représente 42% (70 cas) (fig 21).

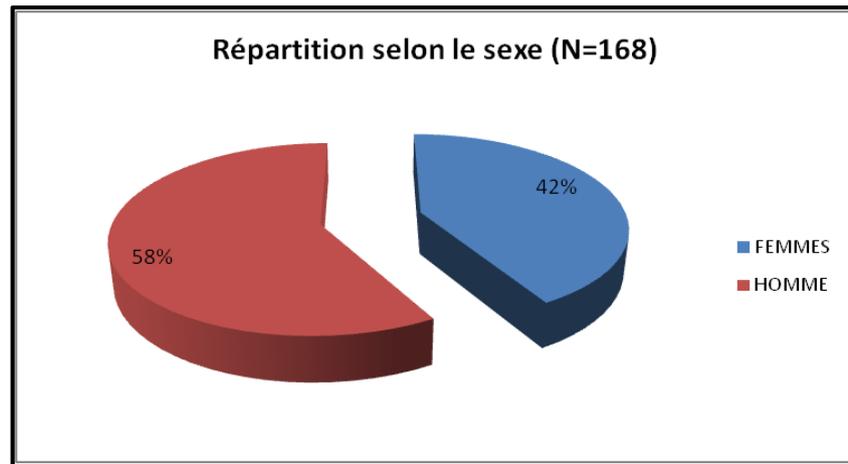


Figure 21: Répartition selon le sexe des cancers gastriques (N=168).

#### VI.1.1.1.c L'âge

Le cancer gastrique a été diagnostiqué dans notre série à partir de 17ans jusqu'à 95 ans. Le pic de fréquence se retrouve entre 59 ans et 78 ans chez les hommes et entre 69 ans et 78 ans chez les femmes (fig22).

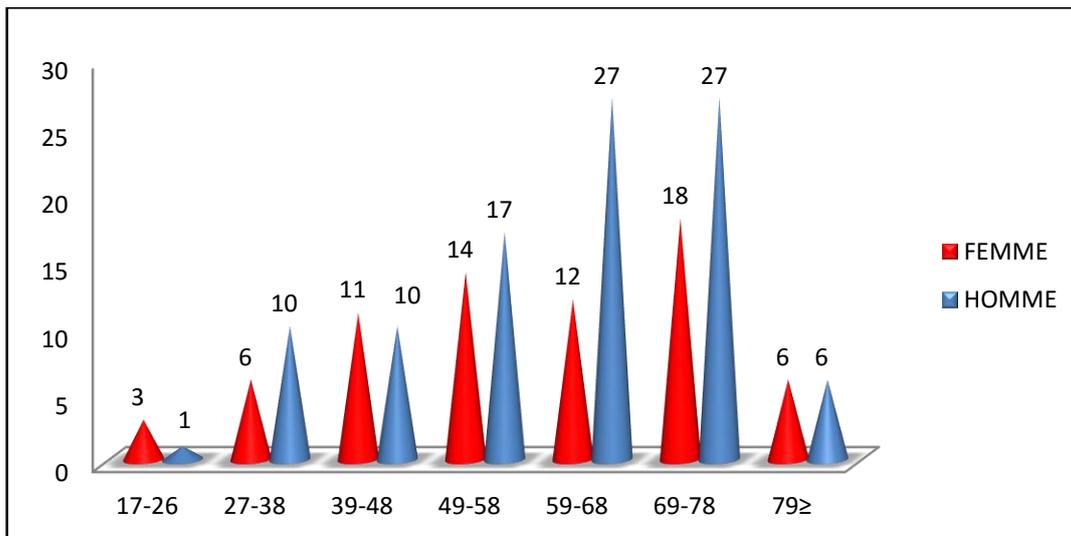


Figure 22: Répartition de l'âge selon le sexe des cancers gastriques (N=168).

#### VI.1.1.1.d Le type histopathologique

L'adénocarcinome (n=113 cas, 67%) est le type histopathologique prédominant ; il est suivi par le carcinome à cellules indépendantes (n=38 cas, 23%), le carcinome colloïde (n=14 cas, 08%) et les tumeurs stromales (n=03 cas, 02%) (fig23).

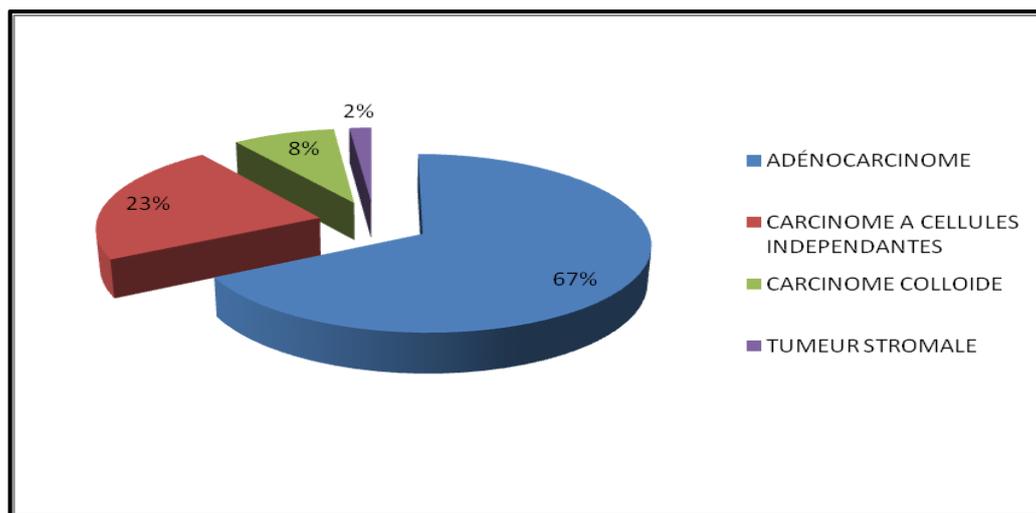


Figure 23: Répartition des cancers gastriques selon le type histopathologique (N=168).

#### VI.1.1.1.e Le degré de différenciation

Les cancers gastriques (les adénocarcinomes et les carcinomes à cellules indépendantes), de notre série présentent une prédominance de l'aspect peu différenciés (24 cas, 40%), suivi par l'aspect bien différencié (17 cas, 28%), l'aspect moyennement différencié (n= 16, 27%) puis l'aspect indifférencié (n=3, 05%) (cf. tableau 13) (fig24).

Concernant le carcinome colloïde muqueux et les tumeurs stromales, ne sont pas concerné par le degré de différenciation.

Tableau 13: Répartition des cancers gastriques selon le degré de différenciation.

Différenciation	Nombre	Pourcentage (%)
Bien	17	28
Moyennement	16	27
Peu	24	40
Indifférencie	3	05
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>100</b>

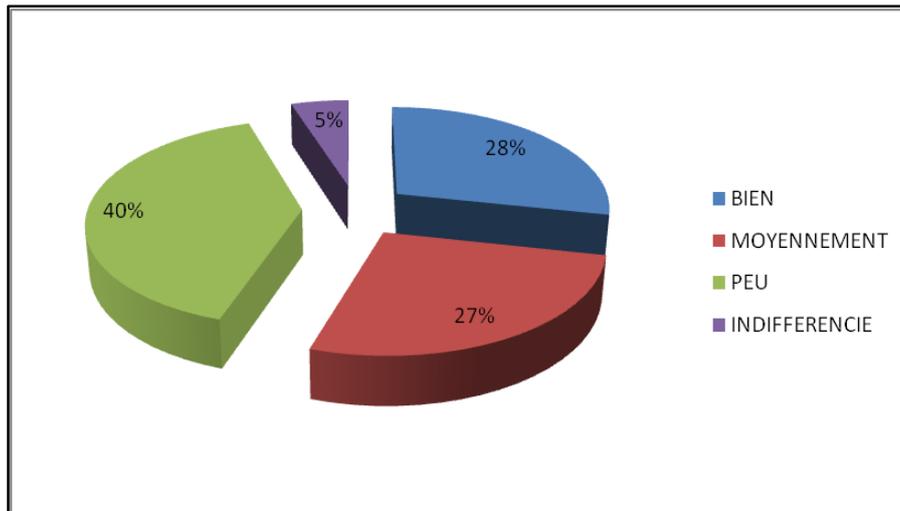


Figure 24: Répartition des cancers gastriques selon le degré de différenciation.

#### VI.1.1.1.f Le stade anatomo-clinique

Le stade anatomo-clinique de diagnostic des cancers gastriques, dans notre série, correspond à un stade tardif (39%) dont 33% pour le stade III et 6% pour le stade IV (fig25).

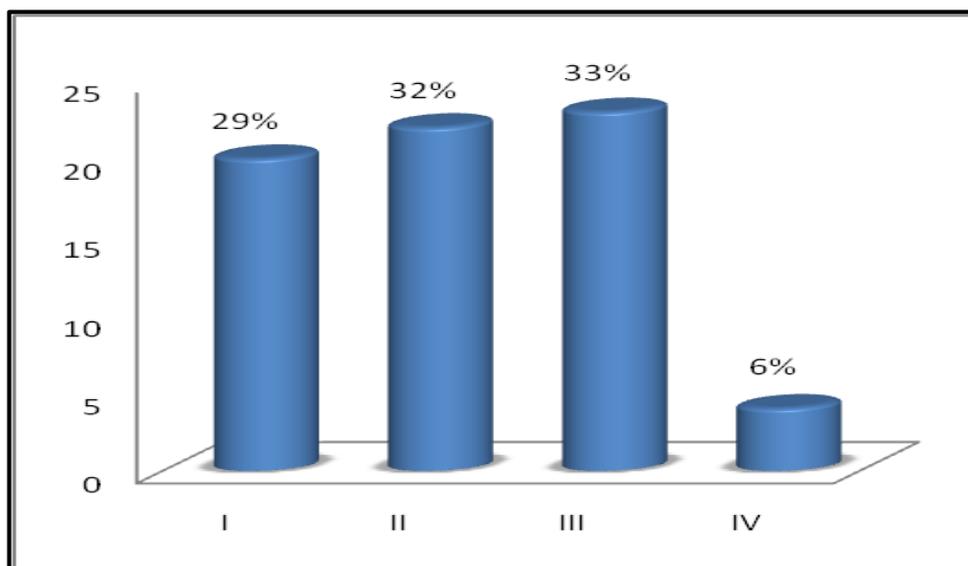


Figure 25: Répartition des cancers gastriques selon le stade (N=68).

#### VI.1.1.1.g Le curage ganglionnaire

L'étude du curage ganglionnaire des 68 pièces opératoires, nous a révélé 17 cas (25%) où le nombre de ganglions lymphatiques n'a pas été évalué. Parmi les 51 cas (75%) de curage ganglionnaire dont le nombre de ganglions lymphatiques a été évalué, il y a 46 cas qui comportaient un curage inférieur à 15 ganglions lymphatiques et seulement 5 cas de curage dont le nombre de ganglions lymphatiques était supérieur à 15.

Le curage ganglionnaire lymphatique, dans notre série, était toujours positif (au moins un ganglion envahit) quand le curage ganglionnaire comportait plus de 15 ganglions (fig26), cependant, quand le nombre de ganglion était inférieur à 15 ganglions, l'infiltration était variable et pouvait être absente (fig27).

Dans notre série, le taux d'infiltration des ganglions était de 80% dans 13 cas sur 35 cas de curage infiltré.

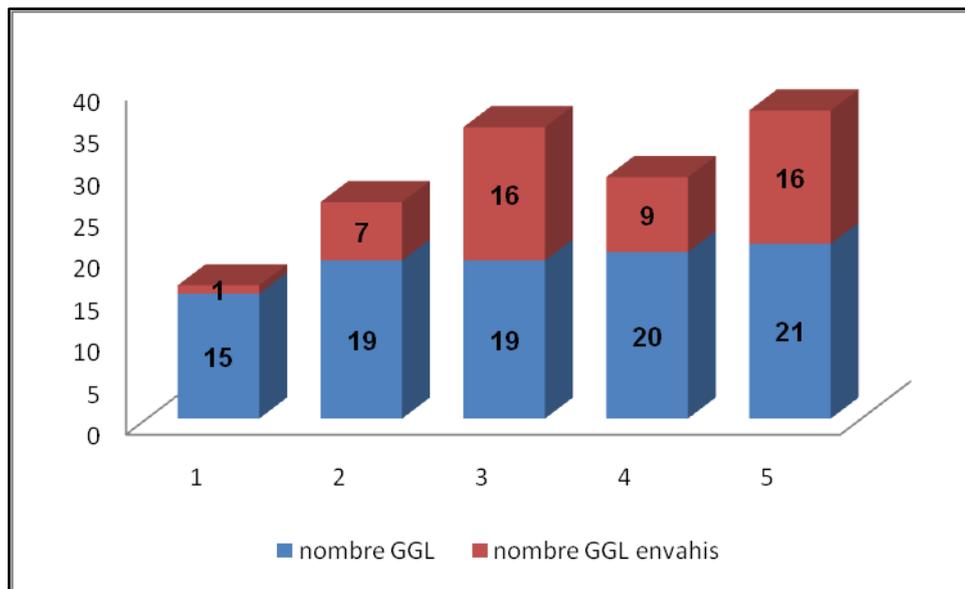


Figure 26: La répartition du taux d'envahissement des ganglions par rapport aux ganglions recrutés pour le curage plus de 15 ganglions.

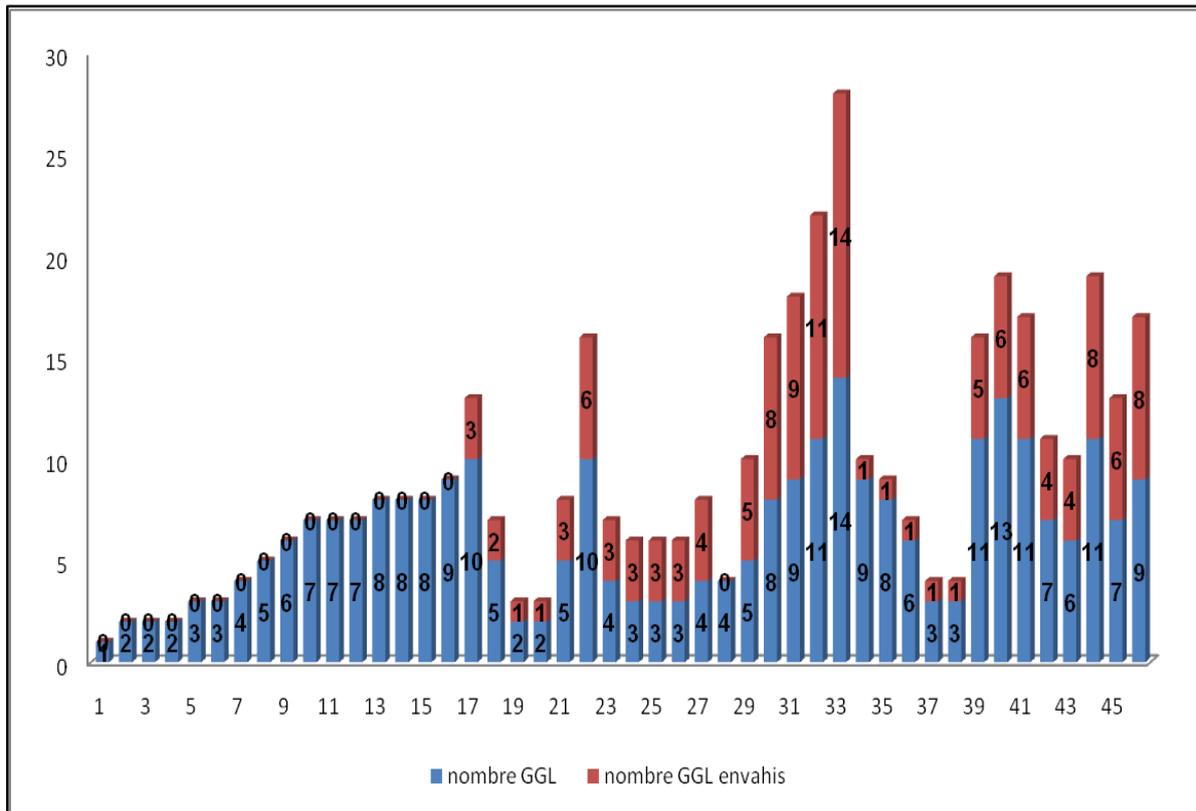
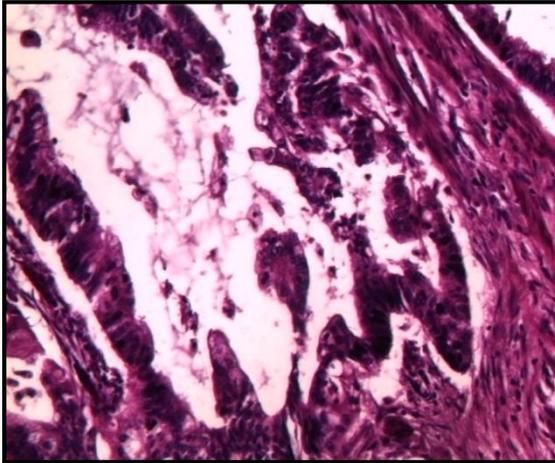


Figure 27: La répartition du taux d’envahissement des ganglions par rapport aux ganglions recrutés pour le curage inférieur à 15 ganglions.

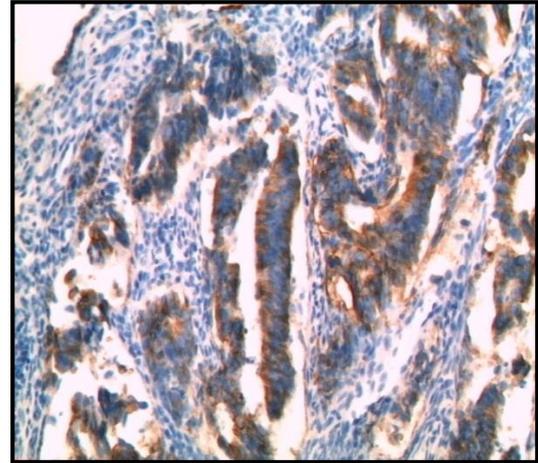
### VI.1.1.2 Étude expérimentale

L’étude immunohistochimique dans cancer l’estomac, de notre série, nous a permis d’identifier l’expression de la protéine HER2 de score(3+) dans six (06) cas (14%) (Planche 1.A.B), de score (2+) dans deux (02) cas (5%) (Planche 2.A), de score (1+) dans quatre (04) cas (10%), et de score (0+) dans vingt-neuf (29) cas (71%).

Le contrôle par la FISH des deux (02) cas de score (2+) a montré une amplification du gène HER2/ neu, (Planche 2. B) (cf. tableau14)

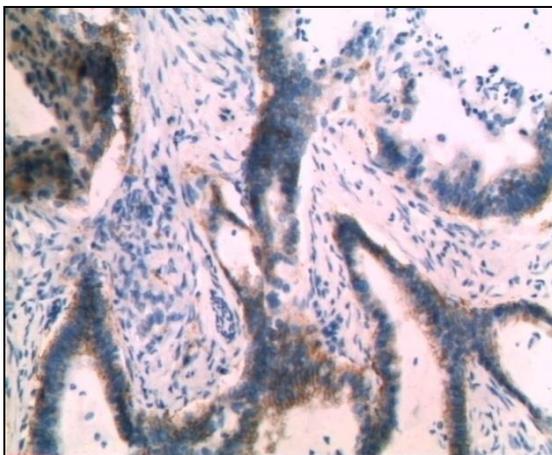


**A) Coupe histopathologique (MO)**  
Adénocarcinome moyennement différencié.  
(H.E)(x20).

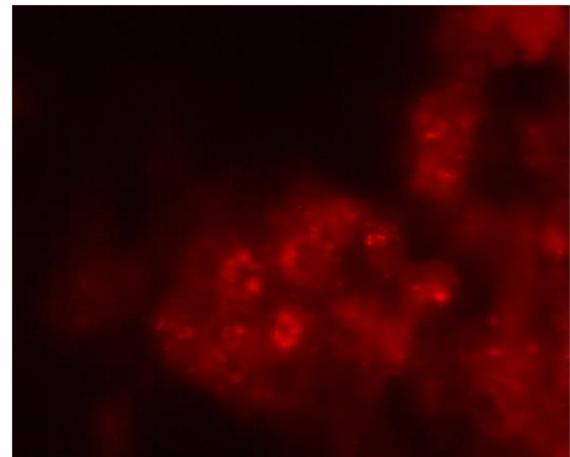


**B) Marquage membranaire(MO)AC-Anti HER2/neu fort, basolateral dans les cellules tumorales Score (+3) (x20).**

Planche 1 : Immunomarquage d'un adénocarcinome gastrique avec AC- Anti HER2/neu (+3) (x20).



**A) Marquage membranaire(MO) AC- Anti HER2/neu d'intensité moyenne, basolatéral dans les cellules tumorales Score (+ 2) (x20)**



**B) Amplification du gène HER2/neu (MF) par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH)**

Planche 2: Confirmation d'Amplification du gène HER2/neu (MF) par FISH d'une ICH (2+)

Tableau 14: La surexpression HER2/neu dans le cancer d'estomac.

Score HER2	Nombre (41 cas)	Fréquence (%)
Score 0	29	71%
Score 1	04	10%
Score 2	02	5%
Score 3	06	14%

Dans notre série, la surexpression de la protéine HER2 et l'amplification de son gène (08 cas) est observée dans les hauts grades dans 75% (06 cas sur 08 cas) et dans les bas grades dans 25% (02 cas sur 08 cas) (*cf.* tableau15) (fig28).

Tableau 15: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=08).

Grade	HER2 score (+3)	%
Haut grade	6	75
Bas grade	2	25
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

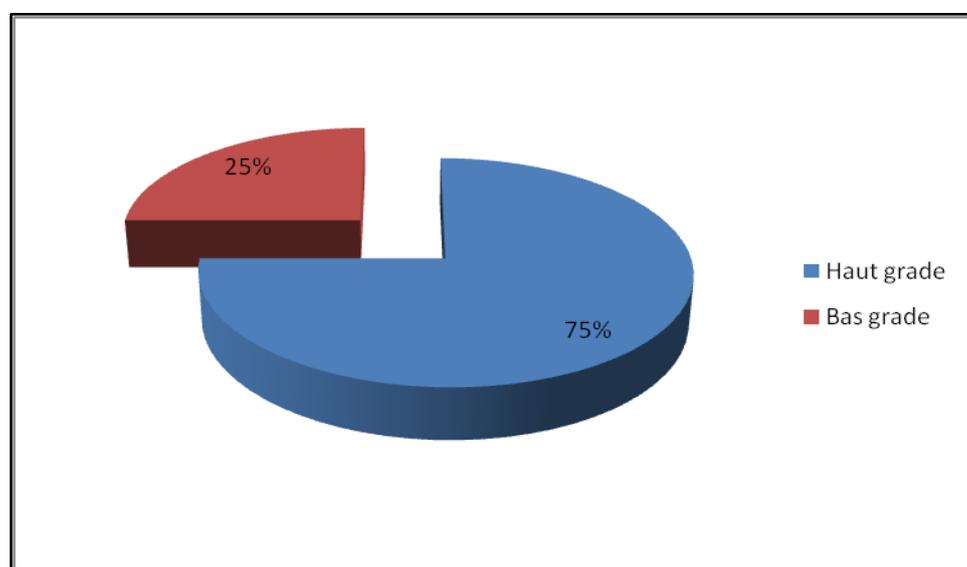


Figure 28: la surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=08)

Dans notre série, la surexpression de HER2 et l'amplification de son gène est observée dans 62% (05 sur 08 cas) des stades anatomo-cliniques tardifs et dans 38 % des stades anatomo-cliniques précoces (03 sur 08 cas) (*cf.* tableau16) (fig29).

Tableau 16: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=08).

Stade	Effectif	Pourcentage (%)
Stade tardif (Stade II, III, IV)	5	62
Stade précoce (Stade I)	3	38
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

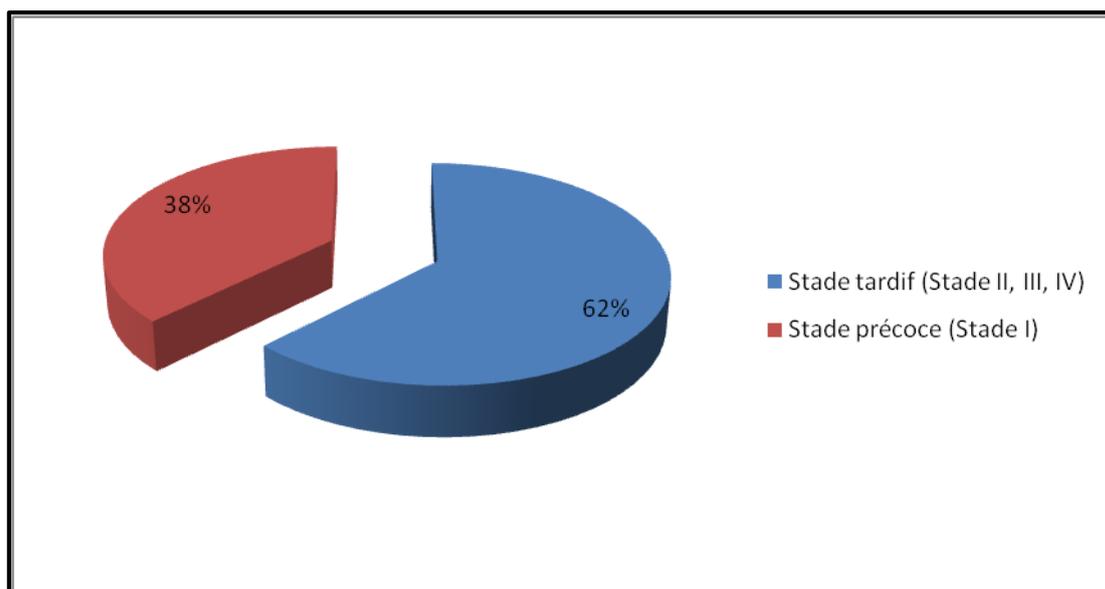


Figure 29: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=08).

## VI.1.2 Cancer de l'ovaire

### VI.1.2.1 Étude épidémiologique

Au cours de notre période d'étude (1996 jusqu'à 2012), nous avons recensé 46 carcinomes ovariens primitifs. Le diagnostic a été fait sur 3 biopsies (07%) et 43 pièces chirurgicales (93%).

Les tumeurs « Border Line » n'ont pas été inclus dans notre étude.

#### VI.1.2.1.a Recrutement annuel des carcinomes ovariens

Durant cette période, le recrutement des carcinomes ovariens diagnostiqués au niveau du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) du CHUSBA, était

approximativement le même d'une année à l'autre (fig30). Nous remarquons un pic en 2005, avec une incidence annuelle de 2.8 cas.

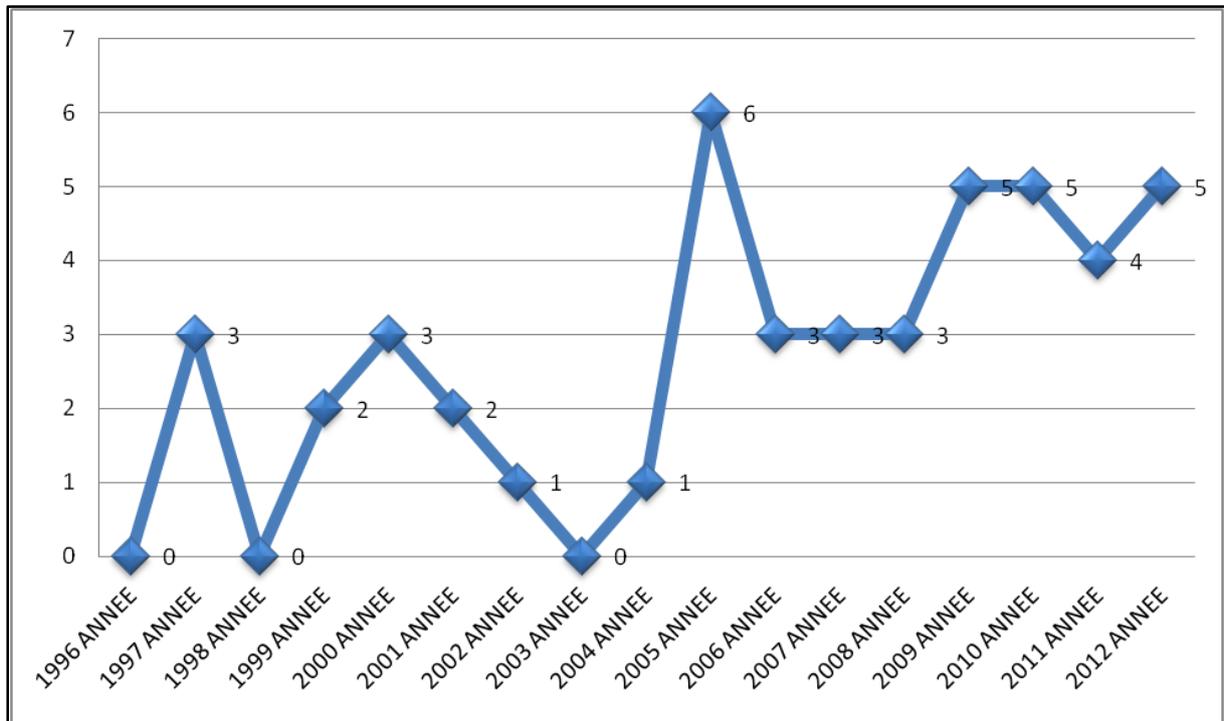


Figure 30: Recrutement annuel des carcinomes ovariens

#### VI.1.2.1.b L'âge

Le cancer de l'ovaire a été diagnostiqué dans notre série à partir de 13 ans jusqu'à 81 ans. Le pic de fréquence se retrouve entre 40 ans et 49 ans (fig31).

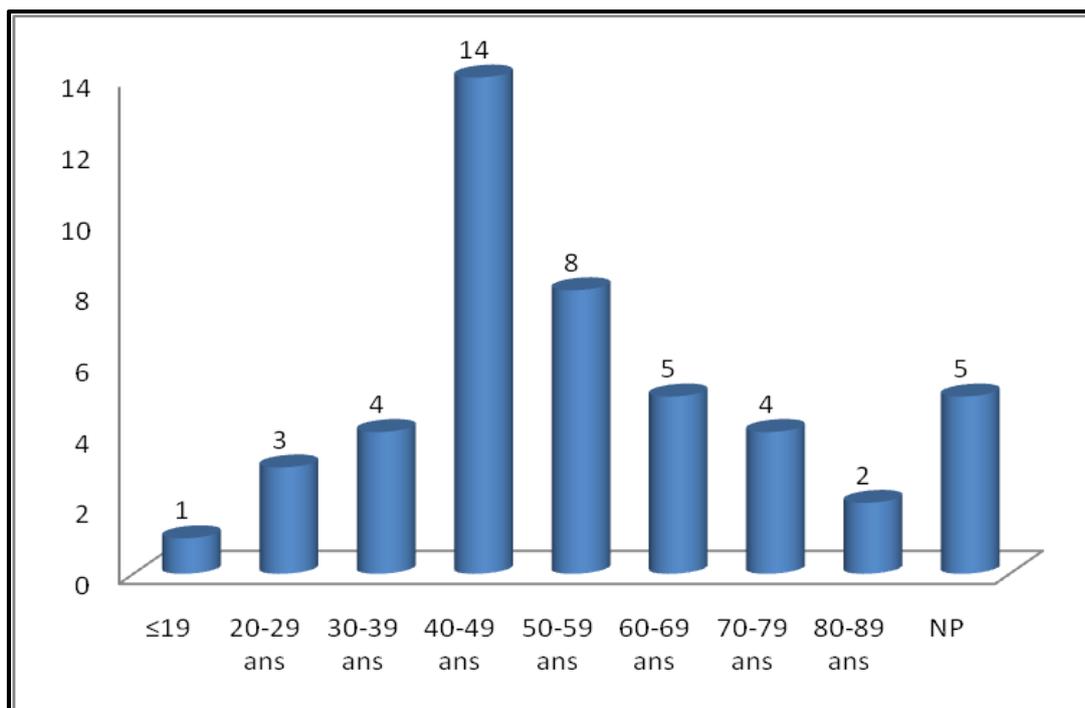


Figure 31: La répartition des carcinomes ovariens selon l'âge

#### VI.1.2.1.c Le type histopathologique

Les tumeurs malignes épithéliales (carcinomes) ovariennes représentent 75% du nombre totale des cancers de l'ovaire.

Parmi les tumeurs malignes épithéliales de l'ovaire, le carcinome séreux prédomine avec un taux de 70% (32 cas), suivi par le carcinome mucineux avec un taux de 30% (14 cas) (fig32).

Les autres types histopathologiques des tumeurs malignes épithéliales de l'ovaire n'ont pas été retrouvés dans notre série.

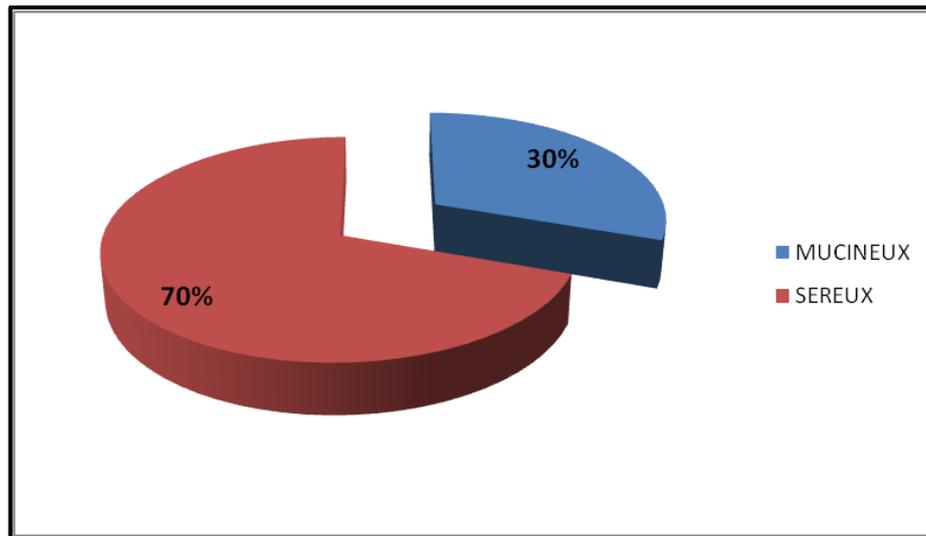


Figure 32: La répartition des carcinomes ovariens selon le type histopathologique

#### VI.1.2.1.d Le grade

Les carcinomes de l'ovaire de notre série présentent une prédominance du grade II (44%), suivi par le grade I (39%), le grade III (15%) puis le grade IV (02%) (cf. tableau 17) (fig33).

Tableau 17: La répartition des cancers de l'ovaire selon le grade (N=46).

GRADE	Effectif	Pourcentage%	
Grade I	18	39	
Grade II	20	44	61
Grade III	7	15	
Grade IV	1	2	
Total	46	100	

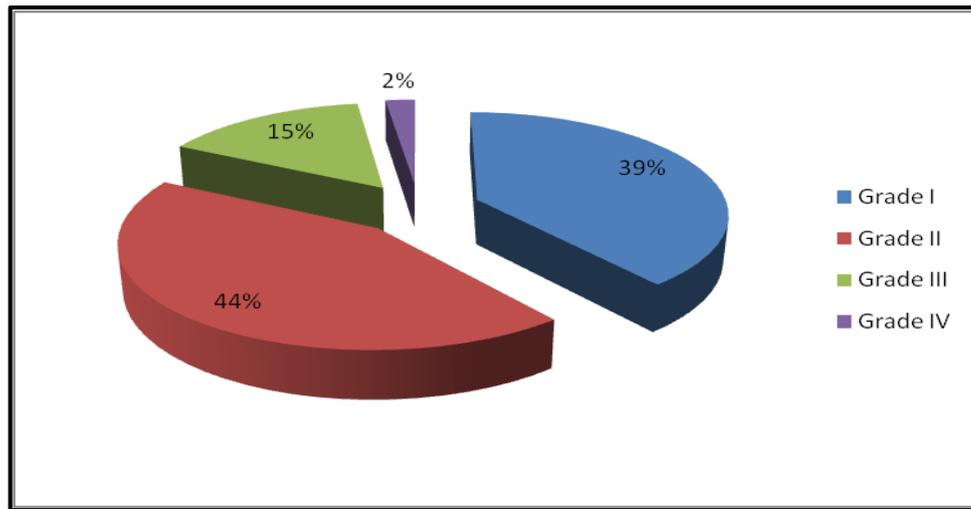


Figure 33: La répartition des cancers de l'ovaire selon le grade (N=46).

#### VI.1.2.1.e Le stade anatomo-clinique

Le diagnostic des 23 carcinomes ovariens de notre série a été fait à un stade anatomo-clinique, tardif, extra-ovarien (II+III+IV) dans 65% (15 cas) (cf. tableau 18) (fig34).

Le stade anatomo-clinique des autres (23 cas) carcinomes ovariens n'a pas été précisé par manque de renseignement au niveau du dossier médical des patientes et vue que le suivi oncologique était effectué en dehors du CHUSBA.

Tableau 18: La répartition des carcinomes ovariens selon le stade anatomo-clinique (N=23).

Stade	Nombre	Fréquence (%)
STADE I	8	35
STADE II	8	35
STADE III	4	17
STADE IV	3	13
Total	23	100

**65**

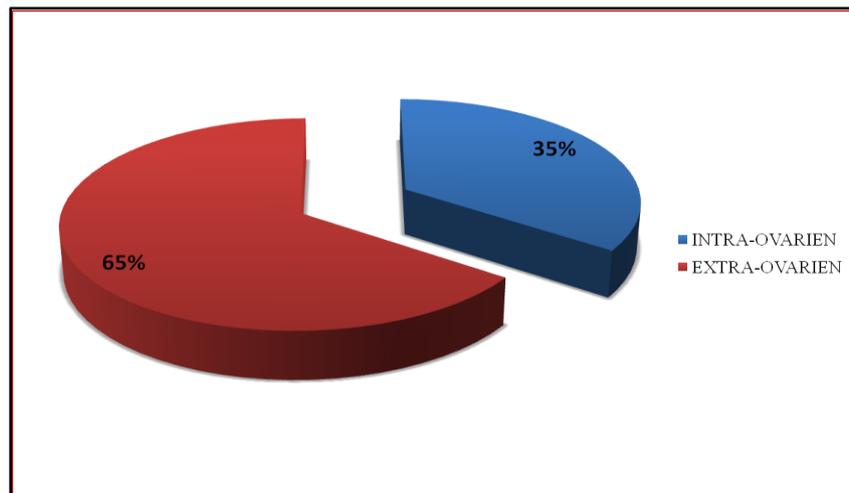


Figure 34: La répartition des carcinomes ovariens selon extension anatomo-clinique (N=23).

### VI.1.2.2 Étude expérimentale

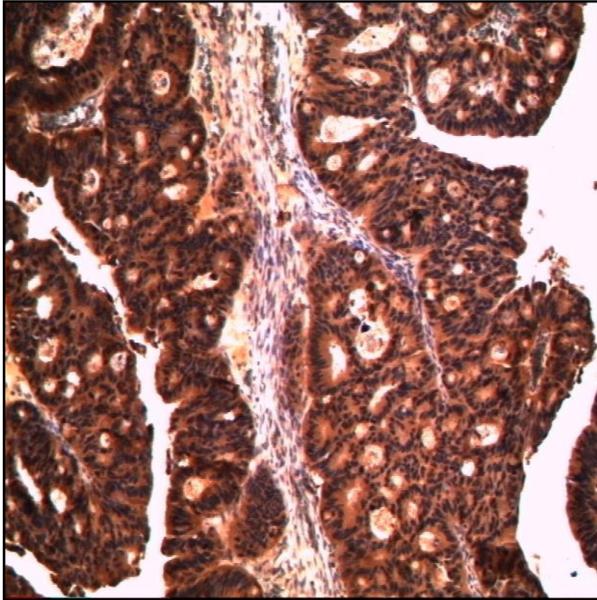
La surexpression HER2 a été étudiée sur 57 cas de carcinomes ovariens dont 46 cas appartenant à notre série et 14 cas appartenant aux archives du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) CHUSBA.

La protéine HER2 était surexprimée dans 34% (19 sur 57) des cas.

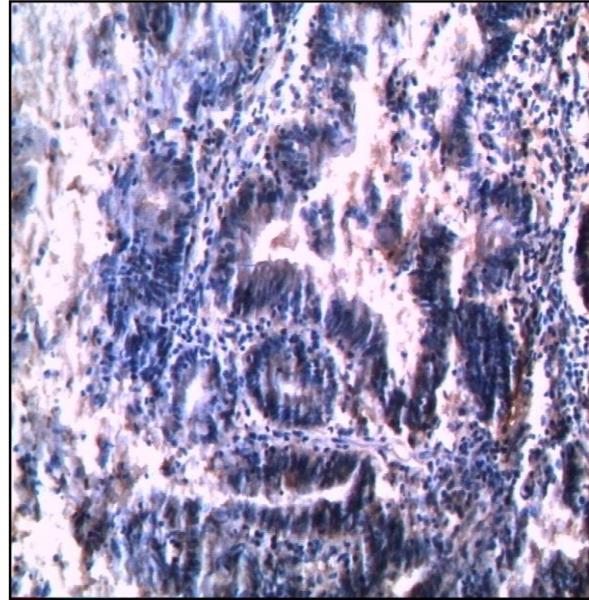
Dans notre série, la surexpression de HER2 des carcinomes ovariens est observée, beaucoup plus, dans les carcinomes séreux (58% ,11 cas sur 19 cas) que dans les carcinomes mucineux (42%, 08 cas sur 19 cas) (Planche 3.A) (cf. tableau 19) (fig35).

Tableau 19: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le type histopathologique (N=19).

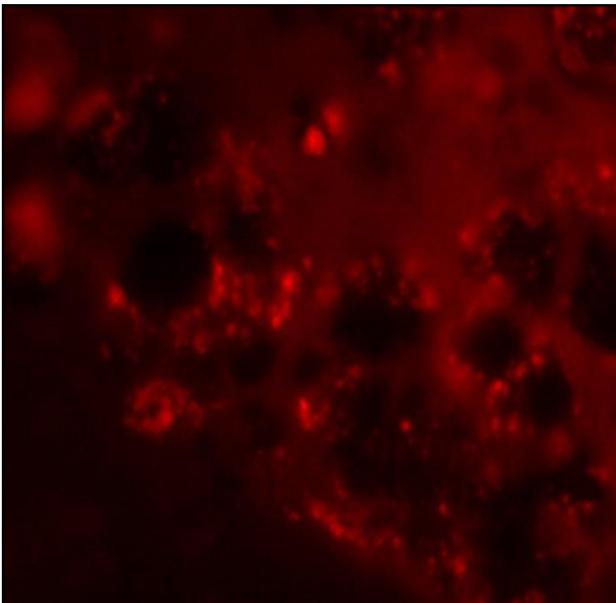
Type histopathologique	HER2 (+3)	%
Carcinome séreux	11	58
Carcinome mucineux	8	42
Total	19	100



**A)** Marquage membranaire(MO) AC-Anti HER2/neu fort, intense dans plus de10% des cellules tumorales Score (+3) (x20).



**B)** Marquage membranaire(MO) AC-Anti HER2/neu faible à peine perceptible dans plus de10% des cellules tumorales Score (+1) (x20).



**C)** Amplification du gène HER2/neu (MF) par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH)

Planche 3: Immunomarquage d'un carcinome ovarien séreux avec AC- Anti HER2 (x20)

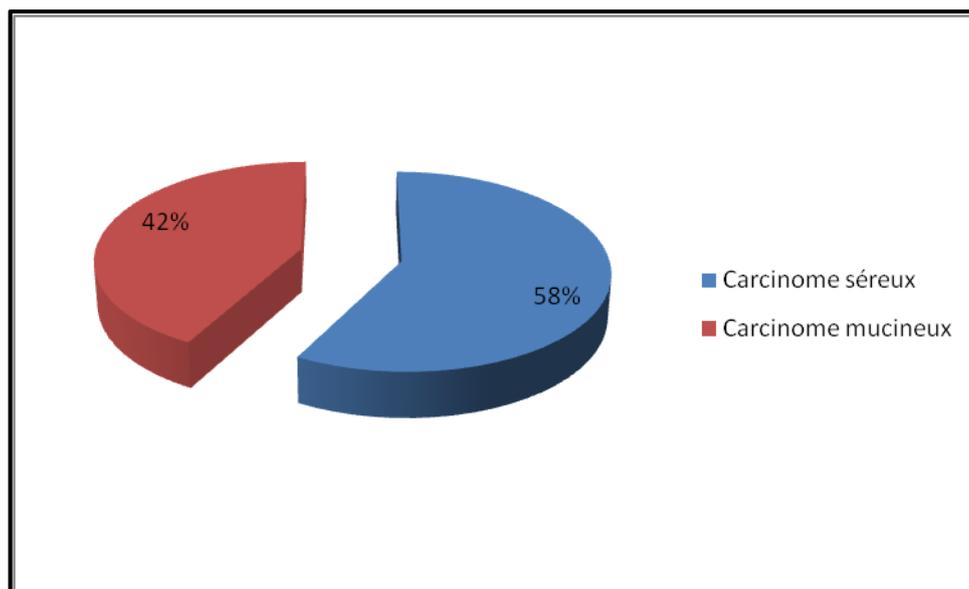


Figure 35: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le type histopathologique (N=19)

Le contrôle par la FISH des cas de score (+1) et score (+2) n'a montré aucune amplification du gène HER2/ neu (Planche 3.B).

Le contrôle par la FISH des cas de score (+ 3) a montré une amplification du gène HER2/neu, confirmant la surexpression de la protéine HER2 dans ces cas (Planche 3.C).

Dans notre série, la surexpression de la protéine HER2, précisément le score (+3), est observée dans les hauts grades (*cf.* tableau 20) (fig36)et les stades anatomo-cliniques, tardifs, extra-ovariens (*cf.* tableau 21) (fig37).

Tableau 20: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le grade

Grade	HER2 score (+3)	Pourcentage (%)	
Grade I	7	37	
Grade II	7	37	<b>63(Haut grade)</b>
Grade III	5	26	
Total	19	100	

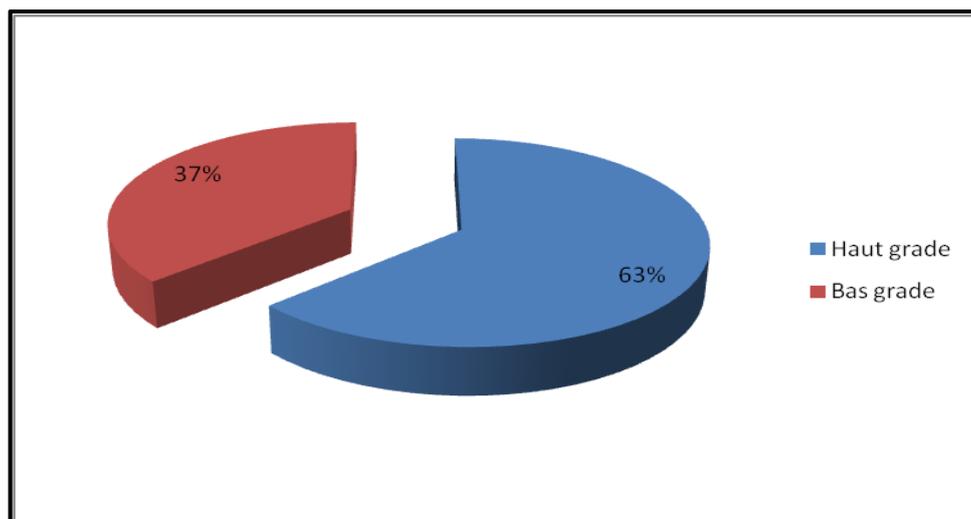


Figure 36: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le grade.

Tableau 21: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le stade anatomo-clinique.

Stade	HER2 score (+3)	Pourcentage (%)	
Stade I	7	37	
Stade II	5	26	<b>63(stade tardif)</b>
Stade III	4	21	
Stade IV	3	16	
<b>Total</b>	19	<b>100</b>	

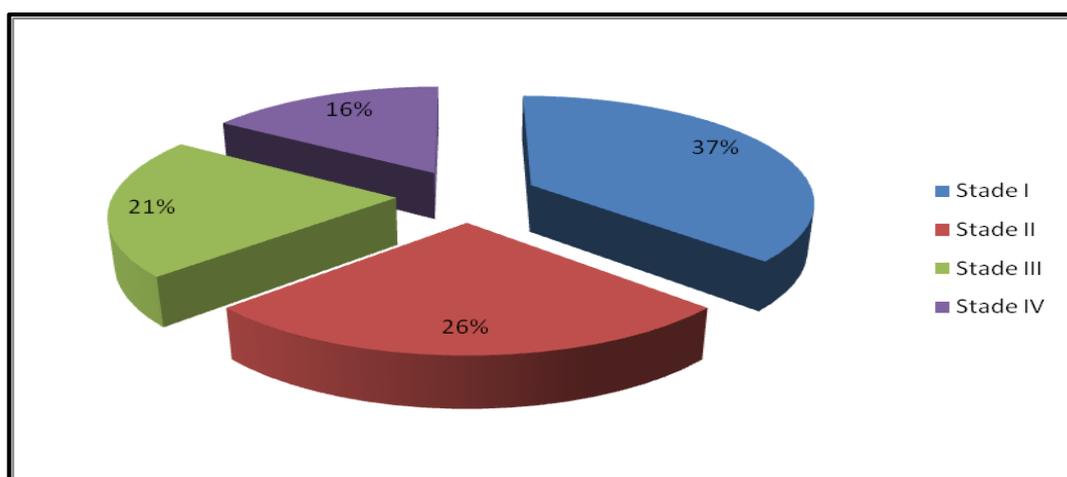


Figure 37: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) en corrélation avec le stade anatomo-clinique

### VI.1.3 Le cancer de la vessie

#### VI.1.3.1 Étude épidémiologique

Durant la période d'étude (1996 jusqu'à 2012), nous avons recensé 162 cas de cancer de la vessie, au niveau du service de pathologie (anatomie et cytologie pathologiques) CHUSBA, avec une incidence annuelle 8.5 cas. Le diagnostic a été fait sur 29 biopsies (20%) et 117 pièces chirurgicales (80%).

##### VI.1.3.1.a Recrutement annuel

Durant cette période, le recrutement du cancer de la vessie était approximativement le même d'une année à l'autre, avec une augmentation de la fréquence à partir 2008 et un pic en 2009 avec 39 cas (fig38).

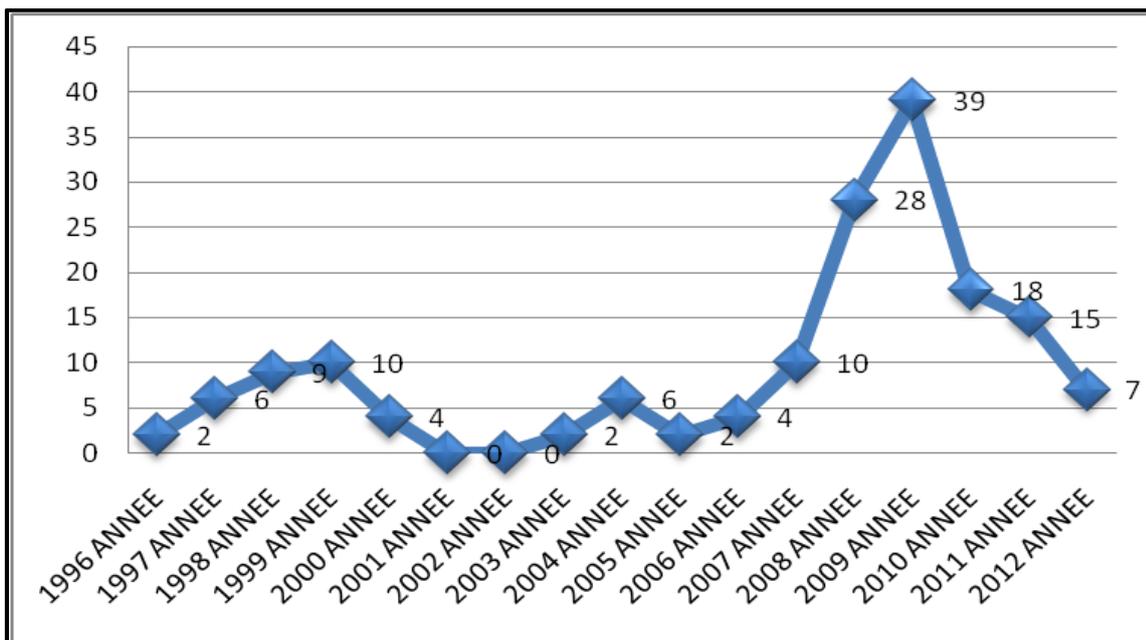


Figure 38: Recrutement annuel de cancer de la vessie (N=146).

##### VI.1.3.1.b Le sexe

La répartition selon le sexe nous a montré une prédominance masculine avec 88% (129 cas) ; le sexe féminin représente 12% (17 cas) (fig39).

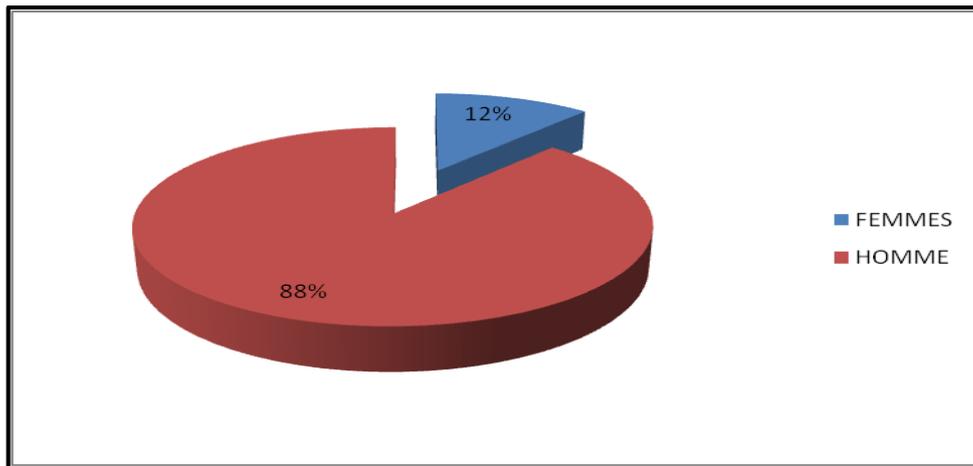


Figure 39: La répartition des carcinomes de la vessie selon le sexe (N=146).

#### VI.1.3.1.c L'âge

La distribution de notre série, selon des tranches d'âge de 10 ans, nous a montré un pic de fréquence entre 70 ans et 79 ans (fig40).

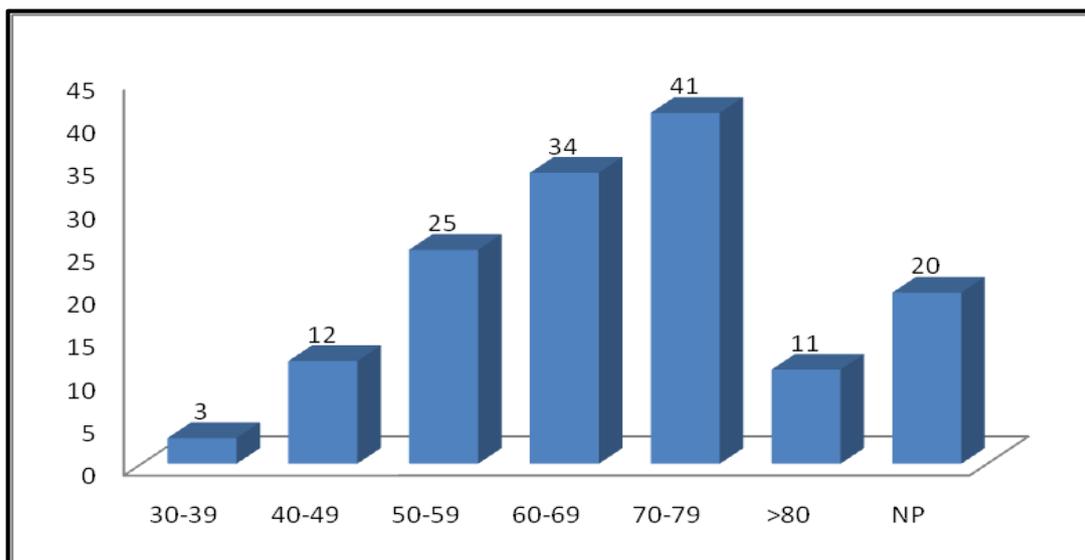


Figure 40: La répartition des carcinomes de la vessie selon l'âge (N=146).

#### VI.1.3.1.d Le type histopathologique

Les carcinomes urothéliaux papillaire de haut grade de malignité (57%) est le type histopathologique prédominant, il est suivi par les carcinomes urothéliaux papillaire de bas grade de malignité (39%) et les carcinomes épidermoïdes (4%) (fig41).

Les autres types histopathologiques n'ont pas été retrouvés dans notre série.

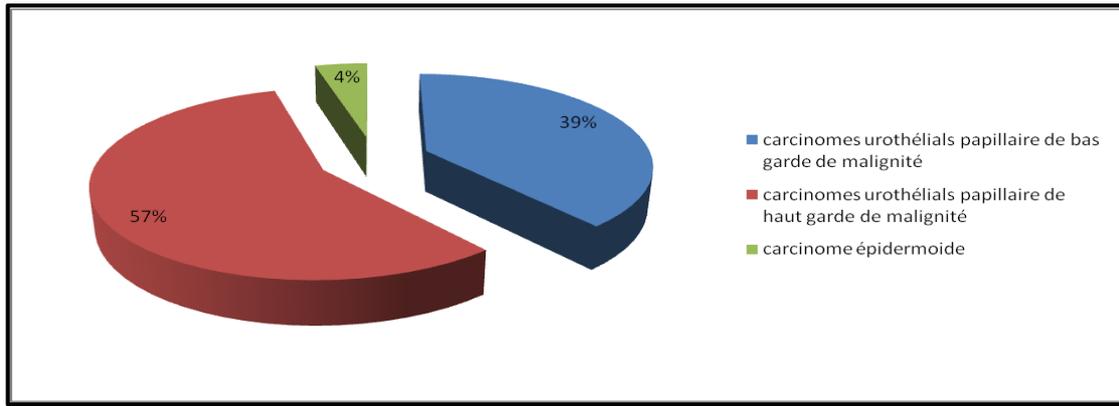


Figure 41: La répartition des cancers de la vessie selon le type histopathologique

**VI.1.3.1.e Le grade**

La majorité des carcinomes de la vessie de notre série sont de haut grade (II+III) (75%). Le grade I représente (25%) (cf. tableau 22) (fig42).

Tableau 22: la répartition des carcinomes de la vessie selon le grade

GRADE	NBR	Pourcentage%	
Grade I	36	25	
Grade II	70	48	75
Grade III	40	27	
<b>Total</b>	146	100	

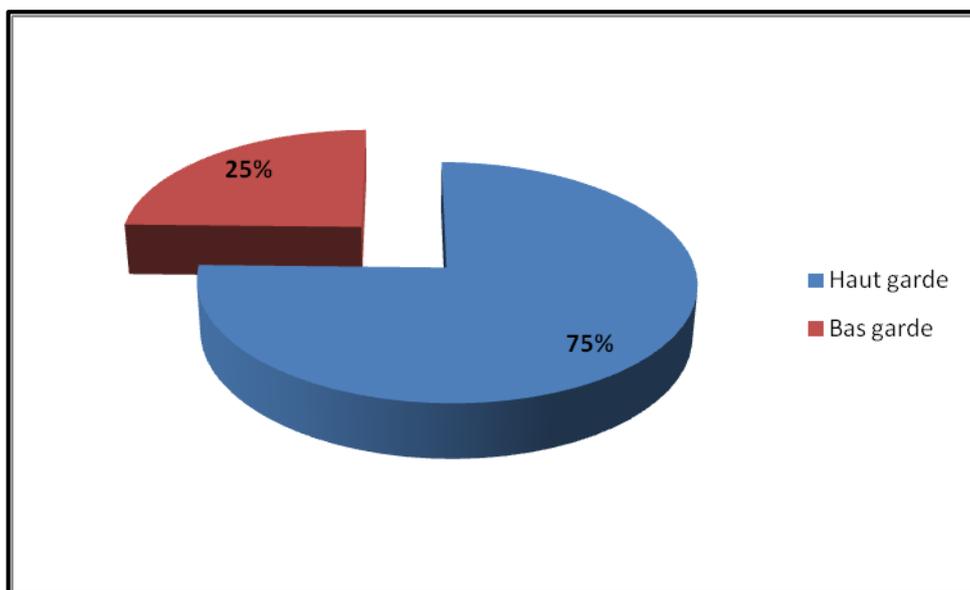


Figure 42: La répartition des carcinomes de la vessie selon le grade

### VI.1.3.1.f Le stade anatomo-clinique

Le diagnostic des carcinomes de la vessie, dans notre série, a été fait à un stade anatomo-clinique tardif (II+III) dans 90% (18 cas)(cf. tableau 23) (fig43).

Le stade anatomo-clinique n'a pas été précisé dans 31% des cas, par manque de renseignement clinique, vu que les malades étaient traités au paravent en dehors du CHUSBA.

Tableau 23: La répartition des carcinomes de la vessie selon le stade anatomo-clinique (N=20).

STADE	Nbr	
STADE I (stade précoce)	2	
STADE II	16	<b>18 cas de stade tardif</b>
STADE III	2	
STADE IV	0	
NP	6	
<b>Total</b>	<b>26</b>	

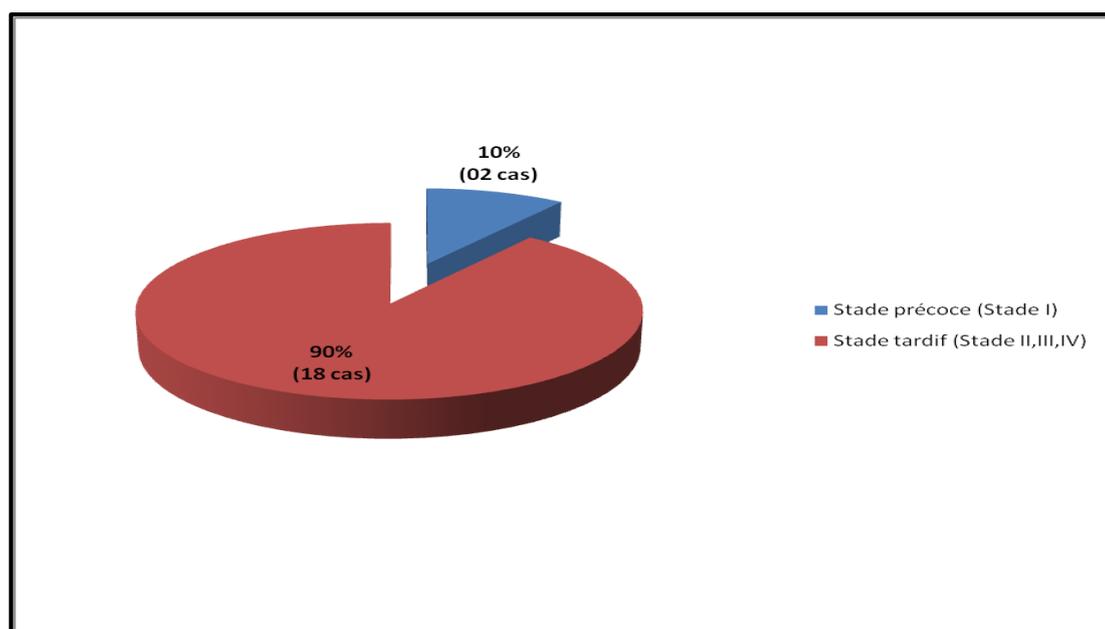


Figure 43: La répartition des carcinomes de la vessie selon le stade anatomo-clinique (N=20).

### VI.1.3.2 Étude expérimentale

Le taux global de la surexpression de la protéine HER2 (score +3) dans les carcinomes de la vessie représente 42% (11 sur 26) cas (cf. tableau 24) (Planche 4).

Tableau 24: Immunomarquage de la protéine HER2 dans le cancer de la vessie

<b>Score</b>	<b>Nbr</b>	<b>%</b>
Score 0	4	16
Score 1	4	15
Score 2	7	27
Score 3	11	42
Total	26	100

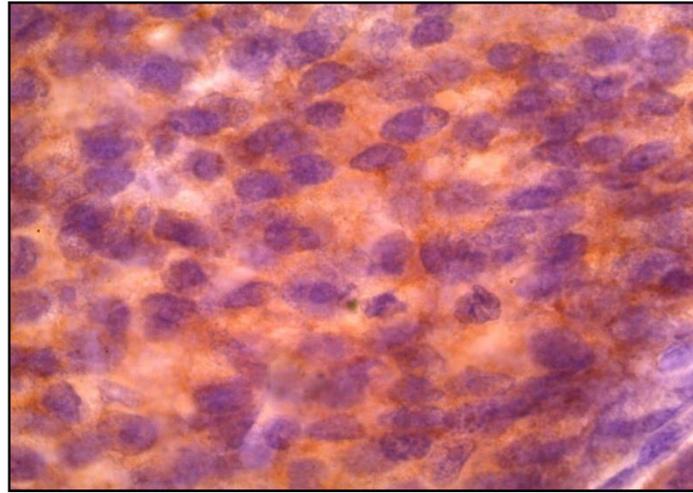
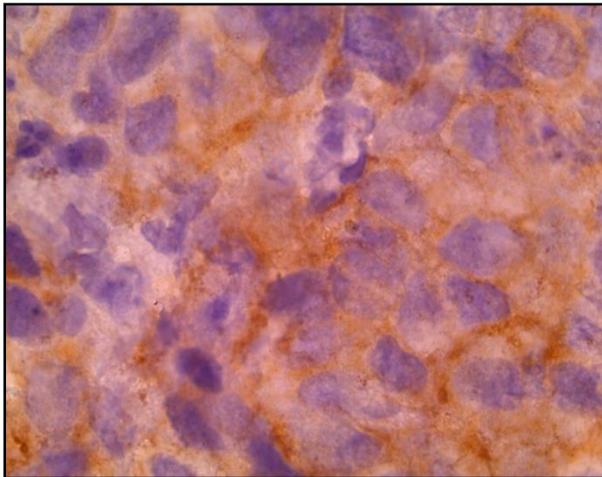
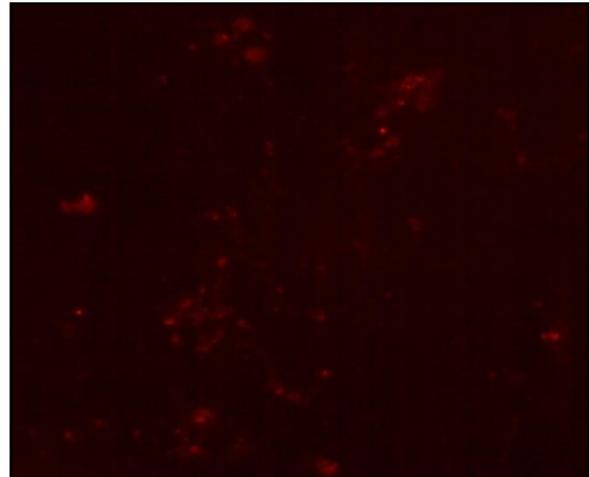


Planche 4: Marquage membranaire (MO) AC- Anti HER2 fort, intense dans plus de 10% des cellules tumorales Score (+3) (x100) d'un Carcinome Transitionnel de la vessie.



**A)** Marquage membranaire (MO) AC- Anti HER2 d'intensité moyenne, basolatéral dans les cellules tumorales Score (+ 2) (x100)



**B)** Amplification du gène HER2/neu (MF) par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH)

Planche 5: Confirmation d'Amplification du gène HER2/neu (MF) par FISH d'une ICH (2+).

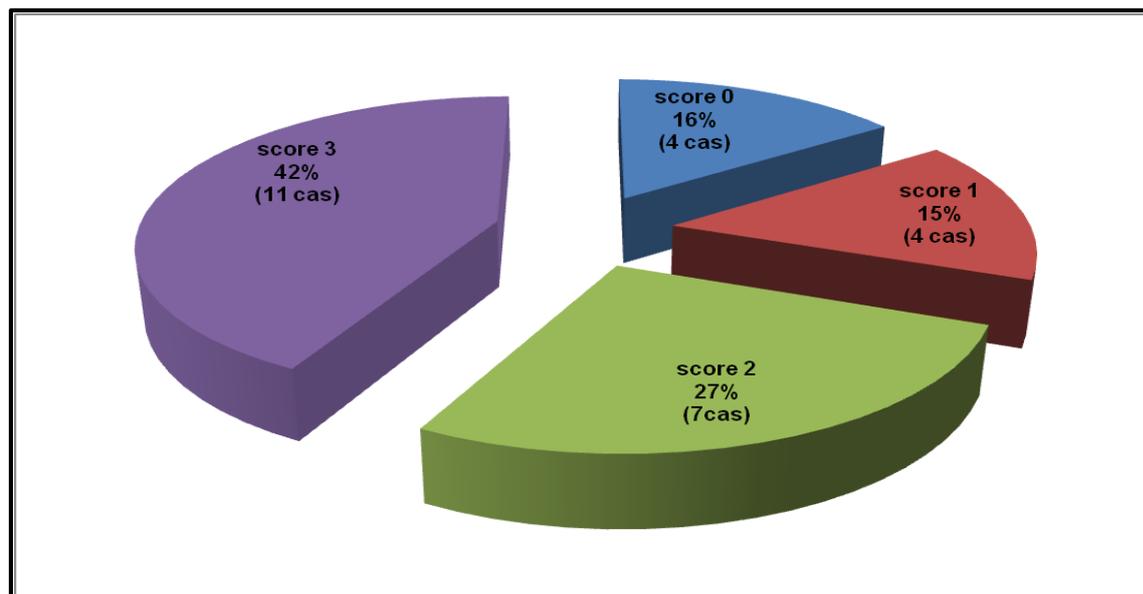


Figure 44: Immunomarquage de la protéine HER2 dans le cancer de la vessie (N=26).

Parmi les 04 cas de score +1, le contrôle par la FISH, nous a montré une amplification du gène HER2/neu dans 03 cas .Parmi les 07 cas de score +2, le contrôle par la FISH, nous a montré une amplification du gène HER2/neu dans 04 cas (Planche 5.A.B).Nous notons une auto-fluorescence dans 04 cas, ceci est en relation avec une mauvaise fixation (*cf.* tableau 25).

En somme, nous avons 18 carcinomes urothéliaux, qui présentent une surexpression de la protéine HER2 dont 11 cas ayant un score (+3), 03 cas d'amplification du gène HER2/ neu parmi les 04 cas de score +1 et 04 cas d'amplification du gène HER2/neu parmi les 07 cas de score +2.

Tableau 25: le contrôle par la FISH des cas de score (+1) et de score (+2) (N=11)

<b>La surexpression de la protéine HER2</b>	<b>Nbr</b>	<b>%</b>
Score (+3)	11	61
Score (+1) avec amplification	03	17
Score (+2) avec amplification	04	22
Total	18	100

Dans notre série, la surexpression de HER2 et l'amplification de son gène est observée que dans les carcinomes urothéliaux.

Dans notre série, la surexpression de HER2 et l'amplification de son gène des 18 carcinomes urothéliaux est observée, beaucoup plus, dans les hauts grades (72% ,13 cas sur 18 cas) que dans les bas grades (28%, 05 cas sur 18 cas) (*cf.* tableau 26) (fig45).

Tableau 26: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=18).

Grade	HER2 score (+3)	%
Haut grade	13	72
Bas grade	5	28
<b>Total</b>	18	100

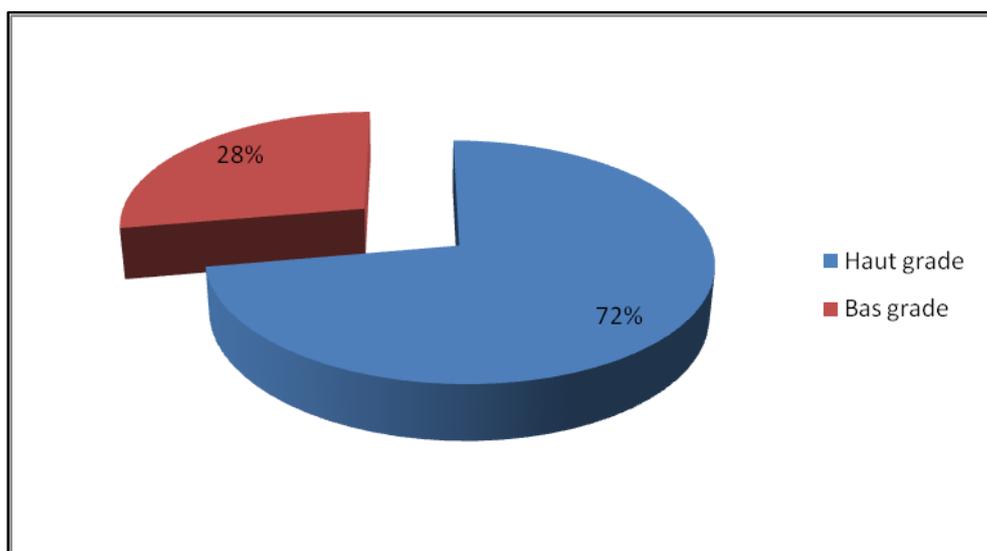


Figure 45: La surexpression de la protéine HER2 score (+3) et l'amplification du gène HER2/neu en corrélation avec le grade (N=18).

Dans notre série, la surexpression de HER2 et l'amplification de son gène des 18 carcinomes urothéliaux prédominent dans les stades anatomo-cliniques tardifs (61%, 11 sur 18 cas) par rapport aux stades anatomo-cliniques précoces (39 %, 7 sur 18 cas) (*cf.* tableau 27) (*cf.* fig 46).

Tableau 27: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=18).

Stade	NBR	%
Stade tardif (stade II, stade III, stade IV)	11	61
Stade précoce (stade I)	7	39
<b>Total</b>	<b>18</b>	<b>100</b>

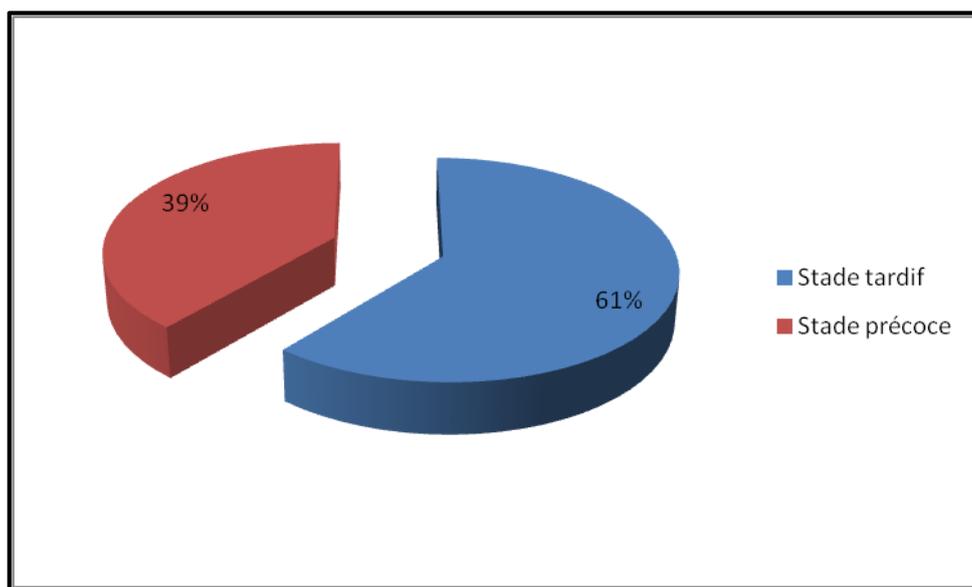


Figure 46: La surexpression de la protéine HER2 de score (+3) et l'amplification du gène HER/neu en corrélation avec le stade anatomo-clinique (N=18)

## VI.2 Discussion

### VI.2.1 Cancer gastrique

L'incidence annuelle des cancers gastriques (15.2 cas) au niveau du service de pathologie du CHU SBA, est similaire à celle présentée par Koffiet *al*, Mineur et *al* [81, 82] ainsi qu'à celle présentée par le registre du cancer de Sétif [83], cependant, elle est inférieure à celle présentée par la série de Amegbor et *al.* [84] ; ceci pourrait être en relation avec l'importance de l'échantillon présenté (n= 742) (*cf.* tableau 28).

Tableau 28: Incidence annuelle, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Incidence annuelle

<b>Notre étude</b>	SBA	2002-2012	168	15.2
<b>Amegbor <i>et al</i>, 2008. [84]</b>	TOGO	1989-2005	742	42
<b>Hamdi <i>et al</i>, 2010. [83]</b>	SETIF	1986-2005		15.2
<b>Koffi <i>et al</i>, 2011. [81]</b>	Yopougon	1991-2007	81	15.3
<b>Mineur <i>et al</i>, 2011. [82]</b>	France			15.6

La prédominance masculine est observée, aussi bien, dans notre série que dans les séries de la littérature [81, 83, 84, 85, 86, 87,88]. Ceci pourrait être en relation avec la consommation tabagique plus élevée chez les hommes, selon les mêmes auteurs [81, 83, 84, 85, 86, 87,88] (cf. tableau 29).

Tableau 29: Sexe, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Prédominance
<b>Notre étude</b>	SBA	2002-2012	168	Masculine
<b>Amegbor <i>et al</i>, 2008. [84]</b>	TOGO	1989-2005	742	Masculine
<b>Hamidi <i>et al</i>, 2010. [83]</b>	SETIF	1986-2005		Masculine
<b>Koffi <i>et al</i>, 2011. [81]</b>	Yopougon	1991-2007	81	Masculine
<b>Mineur <i>et al</i>, 2011. [82]</b>	France			Masculine

Dans notre étude, le cancer gastrique est diagnostiqué au-delà de l'âge de 50 ans, comme la plupart des études menées en Afrique [84, 85, 86] ainsi que le registre du cancer de Sétif [83]. Par contre, en Occident, il apparaît chez des patients, beaucoup plus âgés, au-delà de 70 ans [81, 82, 87, 88, 89]. (cf. tableau 30).

Tableau 30: Age, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Age (moyen)
<b>Notre étude</b>	SBA	2002-2012	168	59
<b>Amegbor <i>et al</i>, 2008. [84]</b>	TOGO	1989-2005	742	52

<b>Hamdi et al, 2010. [83]</b>	SETIF	1986-2005		60
<b>Koffi et al, 2011. [81]</b>	Yopougon	1991-2007	81	55
<b>Mineur et al, 2011. [82]</b>	France			70

L'histopathologie nous montre, dans notre série, une prédominance des adénocarcinomes (67%). Dans la littérature, l'adénocarcinome occupe également une place prépondérante avec un taux (70%) approximativement similaire dans la série de Ito *et al* [90], et un taux (86%, 88%) moyennement plus élevé dans les séries, respectivement, de Amegboret *al* [84] et Peghini *et al* [91] (*cf.* tableau 31).

Tableau 31: Type histopathologique, en comparant avec nos résultats

Type histopathologique	Adénocarcinome			
	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Fréquence (%)
<b>Notre étude</b>	SBA	2002-2012	168	67
<b>Amegbor et al, 2008. [84]</b>	TOGO	1989-2005	742	86
<b>Ito et al, 2004. [90]</b>	France			70
<b>Peghini et al, 1997. [91]</b>	Madagascar			88

Tous les cancers gastriques de notre série (35%) présentent un haut grade, la littérature consultée évoque une prédominance du haut grade sans citer de chiffres. [90, 91, 92].

Le stade anatomo-clinique de diagnostic des cancers gastriques, dans notre série, correspond à un stade tardif (39%) dont 33% pour le stade III et 6% pour le stade IV (*cf.* tableau 32). Si nous prenons en considération l'infiltration ganglions, retrouvé dans la définition du stade II, le taux du stade tardif pourrait être beaucoup plus important à savoir 71% (*cf.* tableau 32).

La littérature montre que le diagnostic du cancer de l'estomac se fait à un stade tardif [81, 90, 91, 92].

Cependant, le stade IV qui se présente, dans notre série, avec un taux de 6%, ce qui est contradictoire avec les taux présentés dans la littérature, 81% en Afrique [81] et 30% en occident [90, 92], pourrait être expliqué par une sous-estimation du stade anatomo-clinique de diagnostic.

Tableau 32: Stade, en comparant avec nos résultats

Notre étude	Pourcentage (%)		
Stade I	29		
Stade II	32	<b>71</b>	
Stade III	33		
Stade IV	06		
		<b>39</b>	

Le curage ganglionnaire, dans notre série, était toujours positif (au moins un ganglion envahit) quand le curage ganglionnaire comportait plus de 15 ganglions, cependant, quand le nombre de ganglion était inférieur à 15 ganglions, l'infiltration était variable et pouvant être absente.

Le curage ganglionnaire théorique recommandé par UICC [93] à savoir un minimum de 15 ganglions par curage n'est pas respecté dans les cancers gastriques de notre série (74%) ; la littérature présente un taux (84%) aussi élevé que le nôtre [94, 95].

Ceci serait peut-être en relation avec la réception de prélèvements fixés au formol ou le liquide de Bouin dans un pot d'envoi de dimension réduite par rapport au volume du prélèvement du curage.

Dans notre série, le taux d'infiltration des ganglions était de 80% dans 13 cas sur 35 cas de curage infiltré. La littérature insiste sur l'importance du taux d'infiltration par rapport au nombre de ganglions par curage car l'allongement de la survie par le curage de plus de 25 ganglions par rapport au curage d'un minimum de 15 ganglions n'est pas démontré.

Le curage minimum doit être D1 c'est-à-dire comporter l'exérèse des ganglions périgastriques. Le contrôle qualité du curage par l'anatomopathologiste est supposé positif si un minimum de 15 ganglions sont analysés dans un curage annoncé D1 et 25 ganglions dans un curage annoncé D2 [92, 95, 96].

Le taux d'expression de HER2 dans notre série de cancer gastrique (19%), est significatif ; ceci se rapproche avec les taux retrouvés dans la littérature qui varient entre 15% à 20%, [27, 97, 98, 99, 100]. Cependant la taille des échantillons est variable avec un nombre élevé dans la série de Bang et al (n=3807) [99] (cf. tableau 33).

Tableau 33: La surexpression de HER2 dans le cancer de l'estomac, en comparant avec nos résultats.

	Taille de l'échantillon	Fréquence de la surexpression HER2 (%)
<b>Notre étude</b>	41	19
<b>Gravalos et al, 2008. [97]</b>	166	20
<b>Hofmann et al, 2008. [98]</b>	447	15-20
<b>Bang et al, 2009. [92]</b>	3807	21
<b>Van Cutsem et al, 2009. [27]</b>	294	22
<b>Grabsh et al, 2010. [100]</b>	924	22

### VI.2.2 Cancer de l'ovaire

L'incidence annuelle des cancers ovariens (2.8 cas) au niveau du service de pathologie du CHU SBA, est avoisinante au taux présenté par UICC en Afrique (3.6 cas) et au taux présenté en Algérie (3.5 cas) selon GLOBOCON en 2008. Par contre en occident, l'incidence est plus importante (15.1 cas) [101].

Dans notre étude, le cancer de l'ovaire est diagnostiqué chez la femme jeune (45 ans). Par contre, en Occident (USA), il apparait chez des patientes, beaucoup plus âgées, au-delà de 60 ans [62, 63, 101, 102]. (cf. tableau 34).

Tableau 34: Age, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Taille de l'échantillon	Age (moyen)
<b>Notre étude</b>	SBA	46	45
<b>Fleming et al, 2009. [64]</b>	USA	/	63
<b>Kurman et al, 2010. [65]</b>	USA	/	63
<b>Jemal et al, 2007. [103]</b>	USA	/	62
<b>Feng et al, 2008. [104]</b>	USA	100	61

L'histopathologie nous montre, dans notre série, une prédominance des tumeurs malignes épithéliales ovariennes (carcinomes) (75%). Dans la littérature, Fleming *et al* [62], Jemal *et al*

[101], les carcinomes occupent également une place prépondérante avec un taux (70%). (cf. tableau 35).

Le taux des carcinomes séreux dans notre série (70%) des carcinomes, ce qui est voisin des taux retrouvés dans la littérature [62, 101, 102]. (cf. tableau 36)

Le taux des carcinomes mucineux dans notre série (30%) qui occupe le second plan après les carcinomes séreux est beaucoup plus élevé par rapport au taux des carcinomes mucineux cités dans la littérature (15%, 10%, 5%). [63, 64, 101]. (cf. tableau 37).

Tableau 35: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes).

Études	Type histopathologique	Pourcentage (%)
Notre étude	Carcinomes	75
Fleming <i>et al</i> , 2009 [62]		70
Jemal <i>et al</i> , 2007. [101]		70

Tableau 36: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes séreux).

Études	Type histopathologique	Pourcentage (%)
Notre étude	Séreux	70
Fleming <i>et al</i> , 2009 [62]		70
Jemal <i>et al</i> , 2007. [101]		60
Feng <i>et al</i> , 2008. [102]		73

Tableau 37: Répartition des types histopathologiques (les carcinomes mucineux).

Études	Type histopathologique	Pourcentage (%)
Notre étude	Mucineux	30
Kurman <i>et al</i> , 2010 [63]		15
Robboy <i>et al</i> , 2009. [64]		10
Feng <i>et al</i> , 2008. [102]		5

La majorité des carcinomes de notre série sont de hauts grade (II+III+IV) (61%). Ce qui est similaire à la littérature, avec un taux (60%) dans la série de Jemal *et al* [103], et un taux (91%) dans la série de Meden *et al* [103] et celle de Kacinski *et al* [104] (cf. tableau 36).

Tableau 38: Grade, en comparant avec nos résultats

	Grade	Taille de l'échantillon	Pourcentage (%)
Notre étude	<b>I</b>	46	39
Meden et al, 1997. [103]		275	09
Kacinski et al, 1992. [104]		72	09
Notre étude	<b>II+III+IV</b>	46	61
Jemal et al, 2007. [101]			60
Meden et al, 1997. [103]		275	91
Kacinski et al, 1992. [104]		72	91 (Grade II+III)

Le diagnostic des carcinomes ovariens dans notre série se fait à un stade extra-ovarien (II+III+IV) dans (65%), ce qui se rapproche des taux retrouvés dans la littérature par contre la littérature évoque un taux [102, 103, 104]. (cf. tableau 37). cependant nous notons une différence entre la taille des échantillons entre notre série et celle de la littérature.

Tableau 39: Stade, en comparant avec nos résultats

Stade	Notre étude (n=117)	Feng et al, 2008. [102] (n=100)	Meden et al, 1997. [103] (n=275)	Kacinski et al, 1992. [104] (n=72)
<b>Stade I</b>	35%	19%	11%	11%
<b>Stade II+III+IV</b>	65%	81%	89%	89%

Dans notre série, le taux d'expression est suffisamment significatif dans le cancer de l'ovaire (34%). La littérature nous montre un taux d'expression variable d'une étude à l'autre allons de 12% à 52,5% [102,103, 105, 106,107, 108] ; cette variabilité serait en relation avec la taille des échantillons qui est aussi très variable et selon la méthode utilisée. (cf. tableau 38).

Tableau 40: La surexpression de HER2 dans le cancer de l'ovaire, en comparant avec nos résultats

	Taille de l'échantillon	Fréquence de la surexpression HER2 (%)
Notre étude	57	34
Hogdall et al, 2003. [108]	181	52.5

<b>Hellstrom <i>et al</i>,2001. [106]</b>	20	25 (stade III et IV)
<b>Berchuck <i>et al</i>, 1997. [105]</b>	73	32
<b>Meden <i>et al</i>, 1997. [103]</b>	275	19
<b>Wu <i>et al</i>, 2004. [107]</b>	48	12 (stade I et II)
<b>Feng <i>et al</i>, 2008. [102]</b>	51	23.5

La surexpression de HER-2 est observée dans les hauts grades et stades anatomo-clinique tardifs, ceci est similaire à la littérature [102, 103,105, 106,107, 108] (*cf.* tableau 39.A. B).

Tableau 41: Relation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire et le grade, en comparant avec nos résultats

Grade	Surexpression HER2		
	Notre étude (n=46)	Meden et al, 1997. [103] (n=275)	Kacinski et al, 1992. [104] (n=72)
<b>Grade I</b>	34	9	50
<b>Grade II</b>	24	20	50
<b>Grade III</b>	42	18	39

Tableau 42: Relation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire et le stade anatomo-clinique, en comparant avec nos résultats

Stade	Surexpression HER2		
	Notre étude (n=117)	Meden et al, 1997. [103] (n=275)	Kacinski et al, 1992. [104] (n=72)
<b>Stade I</b>	37%	15%	13%
<b>Stade II+III+IV</b>	88%	61%	38%

La surexpression de HER-2 est observée plus dans les carcinomes séreux, que les carcinomes mucineux, ceci est similaire à la littérature consultée [102, 104, 105, 106,107, 108] et contrairement au Meden *et al* [101]. (*cf.* tableau 39.C).

**Tableau 39.C :** la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de l’ovaire et le type histopathologique, en comparant avec nos résultats

Type histopathologique	Surexpression HER2		
	Notre étude (n= 46)	Meden et al, 1997. [103] (n=275)	Kacinski et al, 1992. [104] (n=72)

<b>Mucineux</b>	42	23	24
<b>Séreux</b>	58	17	44

### VI.2.3 Cancer de la vessie

L'incidence annuelle des cancers de la vessie (8.5) dans notre série est similaire à celle présentée par le registre du cancer de Sétif [109], cependant, elle est nettement inférieure par rapport aux incidences présentées par la série de Pointreau *et al* (73cas) [110] et la série de Ouegnin *et al* (27 cas) [111] (*cf.* tableau 40).

Tableau 43: incidence, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Incidence annuelle
<b>Notre étude</b>	SBA	1996-2012	117	8.5
<b>Hamdi <i>et al</i>, 2010[109]</b>	Sétif	1986-2005	/	8.4
<b>Pointreau <i>et al</i>, 2010. [110]</b>		/	/	73
<b>Ouegnin <i>et al</i>, 1986. [111]</b>		/	/	27

La prédominance masculine est observée, aussi bien, dans notre série que dans les séries de la littérature [109, 110, 111, 112] (*cf.* tableau 41).

Tableau 44: Sexe, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Prédominance
<b>Notre étude</b>	SBA	1996-2012	117	Masculine
<b>Hamdi <i>et al</i>, 2010. [109]</b>	Sétif	1986-2005	/	Masculine
<b>Pointreau <i>et al</i>, 2010. [110]</b>		/	/	Masculine
<b>Ouegnin <i>et al</i>, 1986. [111]</b>	Côte d'Ivoire	/	/	Masculine
<b>Siegel <i>et al</i>, 2012. [112]</b>	/	/	/	Masculine

Dans notre série, le cancer de la vessie est diagnostiqué au-delà de l'âge de 50 ans, comme la plupart des études menées en Afrique [111, 113] ainsi que le registre du cancer de Sétif [109]. Par contre, en Occident, il apparaît chez des patients, beaucoup plus âgés, au-delà de 60 ans [112, 114]. (*cf.* tableau 42).

Tableau 45: Age, en comparant avec nos résultats

	Lieu	Période d'étude	Taille de l'échantillon	Age (moyen)
<b>Notre étude</b>	SBA	1996-2012	117	55
<b>Hamdi <i>et al</i>, 2010. [109]</b>	Sétif	1986-2005	/	55
<b>Ouegnin <i>et al</i>, 1986. [111]</b>	Côte d'Ivoire	/	/	53
<b>D'horpock <i>et al</i>, 2012. [113]</b>	côte d'ivoire	/	142	52

L'histopathologie montre, dans notre série, une prédominance des carcinomes urothéliaux (57%), ce qui est voisin aux taux retrouvés dans la littérature [75, 76, 115,116]. (*cf.* tableau 43. A).

Les carcinomes épidermoïdes, qui viennent en deuxième position, présentent, dans notre série, un taux (4%) similaire au taux anglaise présenté par Chalasani *et al* [75]. Par contre, les études africaines, Égyptiennes [117] et Ivoirienne [116] présentent un taux beaucoup plus élevé respectivement (70%, 62%); ceci serait en relation avec l'infection à *Schistosoma haematobium* (bilharzial), qui est connu depuis des décennies comme étant fortement associé au cancer épidermoïde de la vessie. [118, 117, 119,120]. (*cf.* tableau 43. B).

Tableau 46: Type histopathologique (le carcinome urothélial), en comparant avec nos résultats

	Type histopathologique	Fréquence (%)
<b>Notre étude</b>	Carcinome urothéliales	57
<b>Benoît <i>et al</i>, 1992 [115]</b>		58
<b>Rantomalala <i>et al</i>, 1992 [116]</b>		57
<b>Chalasani <i>et al</i>, 2009 [75]</b>		47
<b>Wasco <i>et al</i>, 2007 [76]</b>		61

Tableau 47: type histopathologique (carcinome épidermoïde), en comparant avec nos résultats

	Type histopathologique	Fréquence (%)
<b>Notre étude</b>	Epidermoïde	04
<b>Chalasani <i>et al</i>, 2009 [75]</b>		05
<b>Dangou <i>et al</i>, 1996. [118]</b>		62
<b>El Bolkainy <i>et al</i>, 1992. [117]</b>		70

La majorité des carcinomes de notre série sont de haut grade (II+III) (75%), ce qui est similaire au taux (79%) retrouvé dans la littérature [121]. (cf. tableau 44).

Tableau 48: Grade, en comparant avec nos résultats

Grade	Notre étude (n=117)	Eissa et al, 2005 (n=53). [121]
Grade I	25%	21%
Grade II	75%	79%
Grade III		
Total	100%	100%

Le stade anatomo-clinique de diagnostic des carcinomes de la vessie, dans notre série, présente un taux plus élevé du haut stade (II+III) (90%). Ce qui est avoisinant à la littérature [121, 112] (cf. tableau 45).

Tableau 49: Stade, en comparant avec nos résultats

Stade	Notre étude (n=117)	Eissa et al, 2005. [121] (n=53)	Siegel et al, 2012. [112]
stade I	10%	25%	30%
stade II	90%		
stade III		75%	70%
stade IV			
Total	100%	100%	100%

Le taux global de la surexpression de la protéine HER2, dans le carcinome de la vessie, représente un taux de 42%, ce qui se rapproche de ceux retrouvés dans la littérature [122, 123] (cf. tableau 46).

Tableau 50: la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie, en comparant avec nos résultats

	Taille de l'échantillon	Fréquence de la surexpression HER2 (%)
Notre étude	26	42
Langner et al, 2005. [122]	53	53
Janane et al, 2011. [123]	84	52.4

La surexpression de HER-2 est observée dans les grades et les stades tardifs, ceci est similaire à la littérature [122, 123]. (cf. tableau 47.A.B).

Tableau 51: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le grade, en comparant avec nos résultats

Grade	Surexpression HER2	
	Notre étude (n=117)	Eissa <i>et al</i> , 2005. [121] (n=53)
Haut grade	72%	49%
Bas grade	28%	41%

Tableau 52: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le stade anatomo-clinique, en comparant avec nos résultats

Stade	Surexpression HER2	
	Notre étude (n=117)	Eissa <i>et al</i> , 2005. [121] (n=53)
Stade tardif	61%	27%
Stade précoce	39%	23%

La surexpression de HER-2 est observée que dans les carcinomes urothéliaux, ceci est similaire à la littérature [122, 123]. (*cf.* tableau 47.C).

Tableau 53: la corrélation entre la surexpression de HER2 dans le cancer de la vessie et le grade, en comparant avec nos résultats

Type histopathologique	Surexpression HER2	
	Notre étude (n=46)	Eissa <i>et al</i> , 2005. [121] (n=53)
Carcinome urothéliales	100%	26%
Epidermoïde	0%	23%

Devant l'âge jeune, le grade histopathologique agressif, le stade anatomo-clinique tardif du cancer de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie, au moment du diagnostic, constaté ci-dessus, devant l'efficacité de la thérapeutique ciblée trastuzumab (anticorps monoclonal humanisé anti-HER2 (Herceptin®) prouvé dans le cancer du sein [30, 31, 33] et le cancer de l'estomac [34, 124, 125], devant nos résultats de la surexpression du HER-2, observée dans les cancers de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie de nos séries et devant le profil défavorable des protocoles standards, ne serait-il pas souhaitable de soumettre ces patients à la même thérapie ciblée (trastuzumab)?

Pour cela nous proposons la réalisation d'une étude d'essai clinique qui nous permettrait de juger le bien fondé de notre proposition.

## ***Conclusion***

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressées au profil anatomo-clinique, à la surexpression et à l'amplification de HER2 dans les cancers : de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie.

L'étude anatomo-clinique nous a permis de confirmer que les cancers de l'estomac, de l'ovaire et de la vessie sont diagnostiqués à un stade anatomo-clinique tardif avec un aspect histopathologique agressif de grading élevé et chez des patients d'un âge jeune.

L'étude de la surexpression et de l'amplification de HER2, par le biais des techniques d'immunohistochimie et de la FISH dans ces localisations, nous a permis de constater que les taux de la surexpression de HER2 dans notre série de cancer gastrique (19%), de cancer de l'ovaire (34%) et de cancer de la vessie (42%) sont significatifs.

Selon notre étude, la surexpression et l'amplification de HER2 est observée dans les hauts grades histopathologiques et les stades anatomo-cliniques tardifs.

Au moment actuel, la thérapie ciblée (par l'utilisation du trastuzumab) contre des récepteurs épidermiques de facteur de croissance (HER2) qui améliorerait la prise en charge des cancers précisément métastatiques ou localement avancé en augmentant la survie sans progression et la survie globale des patientes présentant un cancer du sein avancé, avec HER2 score +3 ou HER2 score 2+ avec FISH amplifié, ne serait-elle pas bénéfique pour les patients présentant un cancer de l'estomac, de l'ovaire ou de la vessie devant les taux significatifs de surexpression de HER2 dans ces localisations.

**Références bibliographiques**

- [1]. Jacqueline E, Eric C, Sophie C, Françoise M. (transduction du signal) Biochimie génétique Biochimie moléculaire. Médecine. Pharmacie. Deug SVI., 2001, 167-175.
- [2]. Salomon DS, Brandt R, Ciardello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995; 19: 183-232.
- [3]. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131(1):18–43.
- [4]. Brian Leyland-Jones. Trastuzumab: hopes and realities. *Lancet Oncology* 2002; 3: 137-144.
- [5]. Hubert P. Les facteurs de croissance de la famille de l'EGF et leurs récepteurs. *Bulletin du cancer* 2007 ; 94 (7) : 137-45.
- [6]. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001. 2: 127-37.
- [7]. Gullick WJ, Srinivasan R. The type I growth factor receptor family : new ligands and receptors and their role in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998; 52: 43-53.
- [8]. Earp HS, Dawson TL, Li X, Yu H. Heterodimerization and functional interaction between EGF receptor family members : a new signaling paradigm with implications for breast cancer research. *Breast Cancer Res Treat* 1995; 35: 115-32.
- [9]. Olayioye MA, Neve R, Heidi AL, Hynes NE. The ErbB signaling network : receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000; 19: 3159-67.
- [10]. Coussens L, Yng-Feng TL, Chen YCLE, *et al.* Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-9.
- [11]. Semba K, Kamata N, Toyoshima K, Yamamoto T. A v-erbB related proto-onco-gène, c-erbB2, is distinct from the c-erbB1/ epidermal growth factor-receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma. *Prot Natl Acad Sci Etats-Unis* 1985; 82:6497-501.
- [12]. King CR, Kraus MH, Aaronson SA. Amplification of a novel v-erbB related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 1985; 229: 974-6.
- [13]. Zabrecky JR, Lam T, McKenzie SJ, Carney W. The extracellular domain of p185/neu is released from the surface of human breast carcinoma cells SK-BR-3. *J Biol Chem* 1991; 266:1716-20.

- [14]. Tzahar E, Waterman H, Chen H, *et al.* A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Bio* 1996; 16: 5276-87.
- [15]. Harari D, Yarden Y. Molecular mechanism underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogène* 2000; 19: 6102-14.
- [16]. Olayioye MA, Neve R, Heidi AL, Hynes NE. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J* 2000; 19: 3159-67.
- [17] Campone M, Frenel JS, André F, *et al.* Échappement tumoral aux inhibiteurs de HER2 : théorie de la sédimentation. *Bulletin du Cancer* 2012 ; 6 (99) : 665-72.
- [18]. Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Annals Oncol* 2001; 12: S3-S8.
- [19]. Guiu S, Coudert B, Favier L, *et al.* Thérapeutique dans le cancer du sein métastatique HER2-positif : présent et le futur. *Bulletin du cancer* 2010; 97 (3) : 365-83.
- [20]. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* Use of chemotherapy plus o monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *The New England journal of medicine* 2001; 344: 783-92.
- [21]. Bled E, Bourit E, Cornet E, Horakova P. Signalisation cellulaire, université Bordeaux. *Cell Biologie* 2007.
- [22]. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, *et al.* Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *The New England journal of medicine* 2005; 353: 1659-72.
- [23]. Coudert BP, Arnould L, Moreau L, *et al.* Pre-operative systemic (neo-adjuvant) therapy with trastuzumab and docetaxel for HER2-overexpressing stage II or III breast cancer: results of a multicenter phase II trial. *Ann Oncol* 2006; 17: 409-14.
- [24]. Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, *et al.* 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007; 369(9555):29–36.
- [25]. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, *et al.* NeoALTTO équipe d'étude. Lapatinib and Trastuzumab in breast cancer HER2-positif (NeoALTTO): une, ouverte, multicentrique, de phase III randomisée. *Lancet Onco* 2012; 379 (9816) :633-40.
- [26]. Gianni L, T Pienkowski, Im YH, *et al.* L'efficacité des pertuzumab et le trastuzumab en néoadjuvante chez les femmes avec cancer du sein localement avancé, inflammatoire HER2 positif (NeoSPHERE): Un essai multicentrique randomisé, ouvert, la phase II. *Lancet Oncol* 2012 ; 13:25-32.
- [27]. Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, Shen L, *et al.* Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human

- epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* 2009; 27:18s, (suppl; abstr LBA4509).
- [28]. Simon R, Nociti A, Hubscher T, Bucher C, Thorhorst J, *et al.* patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93 (15):1141-6.
- [29]. Di Leo A, Dowsett M, Horten B, Penault-Liorca F. Current Status of HER-2 Testing. *Oncology* 2002; 63(suppl. 1):25-32.
- [30]. Menard S, Casalini P, Campiglio M, Pupa S, Agresti R, Tagliabue E. HER2 overexpression in various tumor types, focussing on its relationship to the development of invasive breast cancer. *Ann Oncol* 2001; 12 (suppl.1): S15-9.
- [31]. Menard S, Balsari A, Casalini P, Tagliabue E, Campiglio M, *et al.* HER-2-positive breast carcinomas as a particular subset with peculiar clinical behaviors. *Clin Cancer Res* 2002; 8(2):520-5.
- [32]. Penault-Lorca F, Cayre Z, Bouchet Mishellany F, Amar S, *et al.* Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int J Oncol* 2003; (22) 6:1319-25.
- [33]. Lakhani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, *et al.* The pathology of familial breast cancer : predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor ; HER-2, and P53 in patients with mutations in BRCA2 and BRCA1. *J Clin Oncol* 2002; 20 (9) :2310-8.
- [34]. Takehana T, Kunitomo K, Kono K, Kitahara F, Lizuka H, *et al.* A status of c-erbB-2 in gastric adenocarcinoma: a comparative study of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and enzymz-linkzd immune-sorbent assay. *Int J Cancer* 2002;98 (6):833-7.
- [35]. Koeppen Hk, Wright BD, Burt AD, Quirke P, McNicol AM, *et al.* Overexpression of HER2/neu in solid tumours: an immunohistochemical survey. *Histopathology* 2001;38 (2):96-104.
- [36]. Wester K, Sjostrom A, de la torre M, Carisson J, Malmstrom PU. HER2- a possible target for therapy of metastatic urinary bladder carcinoma. *Acta Oncol* 2002; 41 (3):282-8.
- [37]. Berek JS, Schultes BC, Nicodemus CF. Biologic and immunologic therapies for ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21 (suppl 10.): 168-7.
- [38]. Zinner RG, Kim J, Herbst RS. Non-smal cell lung cancer clinical trials with trastuzumab: their foundation and preliminary results. *Lung Cancer* 2002; 37 (1): 17-27.
- [39]. Nathanson DR, Culliford AT, Shia J, Chen B, D'Alessio M, *et al.* HER2/neu expression and gene amplification in colon cancer. *Int Cancer* 2003; 105 (6): 796-802.
- [40]. Jorda M, Morales A, Ghorab Z, Fernandez G, Nadji M, *et al.* Her2 expression in prostatic cancer: a comparison with mammary carcinoma. *J Urol* 2002; 168 (4 Pt I): 1412-4.
-

- [41]. Thomas DG, Giordano TJ, Sanders D, Biermann JS, Baker L. Absence of HER2/neu gene expression in osteosarcoma and skeletal Ewing's sarcoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8 (3): 788-93.
- [42]. Nuciforo PG, Pellegrini C, Fasani R, Maggioni M, Coggi G, Parafiorit S. Molecular and immunohistochemical analysis of HER2/neu oncogene in sarcoma. *Hum Pathol* 2003; 34 (7): 639-45.
- [43]. Severn CB. A morphological study of the development of the human liver. *Am J Anat* 1971, 131:133.
- [44]. Torfs C, Curry C, Roeper P. Gastroschisis. *J Pediatr* 1990, 116:1.
- [45]. Stevens A, Lowe J. Anatomie pathologie générale et spéciale. Boeck, Paris 1997 : 218-241.
- [46]. Sherwood L. Physiologie humaine. Boeck, Paris 2006: 225.
- [47]. Dalley M. Anatomie médicale : aspects fondamentaux et applications cliniques 2<sup>e</sup> éd. Boeck, Paris 2007: 395-396.
- [48]. Japanese Research Society for Gastric Cancer. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. *Jpn. J. Surg.*, 1981; 11: 127-39.
- [49]. Csendes A, et al. A prospective randomized study comparing D2 total gastrectomy versus D2 total gastrectomy plus splenectomy in 187 patients with gastric carcinoma. *Surgery* 2002; 131:401-07.
- [50]. Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M et al. Surgical treatment of gastric cancer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11 (5):439-49.
- [51]. Leeson TS, Lesson CR. Histologie 2<sup>e</sup> éd. Masson, Paris 1980 : 408.
- [52]. Validire P, Validire-charpy P. Atlas d'histologie traduction 5<sup>e</sup> éd. Boeck, Paris 2008: 142-144.
- [53]. Hamilton SR, Aaltonen LA. WHO histological classification of gastric tumours. In: S. R. Hamilton and L.A. Aaltonen (eds), *World Health Organization Classification of Tumours of the Digestive System*. Lyon, France: IARC Press, 2000.
- [54]. Greene FL, et al. *AJCC cancer staging Manual*, 6th Edition. New York, NY: Springer Verlag, 2003.
- [55]. Schlemper RJ, et al. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut* 2000; 47: 251-5.
- [56]. Rubib BP. Gastrointestinal stromal tumors : an update. *Histopathology* 2006 ; 48 : 83-96.

- [57]. Camilo A, Thomas P. *Mémento de pathologie* 3<sup>e</sup> éd. Vernazobres-Grego, Paris 2010, 76-82.
- [58]. Edge S, Byrd D, Compton C, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*, 7<sup>th</sup> ed. New York: Springer; 2010.
- [59]. Rejchrt S, Tycovaver A, Bures J. Tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). *Acta Andosopica* 2005 ; 35 (2) : 195 – 203.
- [60]. Martun L, Forest M. *Anatomie et de physiologie humaine*. Boeck ; Paris 2009 ; 555-557.
- [61]. Cramer DW. Factors affecting the association of oral contraceptives and ovarian cancer. *N Engl J Med* 1982, 307: 1047-1051.
- [62]. Fleming GF, Ronnett BM, Seidman J. Epithelial ovarian cancer. In : Barakat RR, Markman M, Randall ME, eds. *Principles and practice of gynecologic oncology*, 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams et Wilkins; 2009: 763-836.
- [63]. Kurman RJ (ed). *Blaustein's pathology of the female genital tract*. Springer 6<sup>th</sup> ed 2010.
- [64]. Robboy SJ, Anderson MC, Russel P. *pathology of the female reproductive tract*. Churchill Livingstone (London) 2<sup>th</sup> ed.2008.
- [65]. Scully RE, Young RH, Clement PB. *Tumors of the ovary*. Atlas of tumor pathology. AFIP third serie. Fascicule 23, (Washington) 1998.
- [66]. Tavassoli FA, Devilee P. *Tumours of the breast and female genital organs WHO classification of tumours*. IARC press (Lyon, France) 2003.
- [67]. Silverberg SG, Kurman RJ. *Tumors of the uterine corpus and gestational trophoblastic disesse*. Atlas of tumor pathology. AFPI third series. Fascicule 3, (Washington) 1992.
- [68]. Clarke-Pearson DL. Clinical partice. Screening for ovarian cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 170-177.
- [69]. Debré B, Saighi D, Peyromanre M. *Urologie (connaissances et pratiques)*. Masson, Paris 2004; 128.
- [70]. Murphy WM, Grignon DJ, Perlman EJ. *Tumours of the kidney, Bladder and related urinary structures*. AFIP Altas of tumor Pathology. 4<sup>th</sup> series. Washington (DC): American Registry of Pathology, 2004.
- [71]. Buch C, Hawes D, Johansson S, Cote R. Pathologic assessment of bladder cancer and pitfalls in staging. In : Droller MJ, ed. *Bladder Cancer, Current Diagnosis and Treatment*. Totowa (NJ): Humana Press, 2001: 149-182.
- [72]. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, Mostofi FK. *The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of*

urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 1435-1448.

[73]. Busch C, Algaba F. The WHO/ISUP 1998 and WHO 1999 systems for malignancy grading of bladder cancer. Scientific foundation and translation to one another and previous systems. *Virchows Arch* 2002; 441: 105-108.

[74]. Miyamoto H, Miller JS, Fajardo DA, Lee TK, *et al.* Non-invasive papillary urothelial neoplasms: the 2004 WHO/ISUP classification system. *Pathol Int* 2010; 60: 1-8.

[75]. Chalasani V, Chin JL, Izawa JI. Histologic variants of urothelial bladder cancer and nonurothelial histology in bladder cancer. *Can Urol Assoc J* 2009; 3: S193-198.

[76]. Wasco MJ, Daignault S, Zhang Y, *et al.* Urothelial carcinoma with divergent histologic differentiation (mixed histologic features) predicts the presence of locally advanced bladder cancer when detected at transurethral resection. *Urology* 2007; 70: 69-74.

[77]. Cancer du sein. Thérapies ciblées : détermination des cibles pour une application clinique. RPC Saint Paul de Vence 2007.

[78]. Wolff AC, Hammond EH, Schwartz JN, *et al.* American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:18-43.

[79]. Couturier J. Technique de la FISH. In : Pratique de la FISH pour la détermination du gène HER-2 dans le cancer du sein. St-Genis Pouilly : Ed : Potentiel d'Action 2008 ; p16-35.

[80]. Gosselin C, Dagenais P. Techniques diagnostiques. In : Performances diagnostiques des techniques de détermination du statut HER-2 dans le cancer du sein. Québec : Ed : EATIMS 2008 ; 4(3) : 3-12.

[81]. Koffi G, Yapo P., Soro K., Lebeau R., Coulibaly A, *et al.* Le traitement chirurgical des cancers de l'estomac en milieu tropical. *Carcinol Clin Afrique* 2011; 10 (1) : 34 - 37.

[82]. Mineur L, Jaegle E, Pointreau Y, Denis F. Cancer de l'estomac. *Cancer/Radiothérapie* 2010 ; 14 (suppl.1) :S84-S93.

[83]. Hamdi CH, Zaidi Z, Abdellouche D *et al.* Registre du cancer de Sétif (Algérie) : incidence, tendance et survie 1986-2005. *Journal Africain* 2010.

[84]. Amegbor K, Napo-Koura GA, Songne-Gnamkoulambab B, Redahc D, Tekou A. Epidemiological and pathological aspects of gastrointestinal tumors in Togo. *Gastroenterol Clin Biol* 2008; 32: 430-4.

[85]. Edward L. Gastrointestinal disease in Robbins SL, Contran RS. *Pathologic basis of disease* Texas Elsevier 2004, 778-809.

[86]. Sawadogo A, Ilboudo PD, Durand G, Peghini M, Branquet D, Sawadogo AB. Epidémiologie des cancers du tube digestif au Burkina Faso : apport de 8000 endoscopies

effectuées au Centre Hospitalier National Sanou-Souri (CHNSS) de Bobo-Dioulasso. *Med Afr Noire* 2000 ; 47 : 342-5.

[87]. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. *Cancer Statistics, 2010. CA Cancer J Clin* 2010.

[88]. Jemal A, Siegel R, *et al.* *Cancer Statistics, 2009. CA Cancer J Clin* 2009; 59:225-249.

[89]. Terry M, Gaudet MM, Gammon MD. The epidemiology of gastric cancer. *Sem Radiat Oncol* 2002; 12: 111-27.

[90]. Ito H, Clancy TE, Osteen RT, *et al.* Adenocarcinoma of gastric cancer cardia: what is the optimal surgical approach?. *J Am Coll Surg* 2004; 199:880-886.

[91]. Peghini M, Rajaonarison P, Pecarrere JL, Razafindramboa H, Richard J, Morin D. Epidémiologie des cancers du tube digestif à Madagascar : apport de 14000 endoscopies effectuées au Centre Hospitalier de Soavinandriana à Antananarivo. *Med Afr Noire* 1997 ; 44 : 518-21.

[92]. Schwarz RE, Smith DD. Clinical impact of lymphadenectomy extent in resectable gastric cancer of advanced stage. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 317-328.

[93]. Maruyama K, Sasako M, Kinoshita T, Sano T, Katai H, Hada M *et al.* Should systematic lymph node dissection be recommended for gastric cancer?. *Eur. J. Cancer*, 1998; 34: 1480-1489.

[94]. Bunt AM, Hermans J, Boon MC *et al.* Evaluation of the extent of lymphadenectomy in a randomized trial of western-versus Japanese surgery in gastric cancer. *J Clin Oncol* 1994; 12: 417-22.

[95]. McCulloch P, Eidi Niita M, Kazi H, Gama-Rodrigues JJ *et al.* Gastrectomy with extended lymphadenectomy for primary treatment of gastric cancer. *Br J Surg* 2005; 92: 5-13.

[96]. Bonenkamp JJ, Hermans J, Sasako M, van de Velde CJ and the Dutch Gastric cancer group. Extended lymph node dissection for gastric cancer. *N Engl J Med* 1999; 340: 908-14.

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

[98]. Hofmann M, Stoss O, Shi D, *et al.* Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008;52:797–805.

[99]. Bang Y, Chung H, Sawaki A, Xu J, Shen L, Lipatov O, *et al.* HER2-positivity rates in advanced gastric cancer (GC): Results from a large international phase III trial. *Journal of Clinical Oncology, 2008 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition);* 26 (Suppl. 20): 4526.

[100]. Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol.* 2010;32(1-2):57-65.

- [101]. Jemal A, Siegel R, *et al.* Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:43-66.
- [102]. Feng Q, Deftereos G, Hawes SE, Stern JE, *et al.* DNA hypermethylation, Her-2/neu overexpression and p53 mutations in ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology* 2008; 11: 320–329.
- [103]. Meden H, Kuhn W. Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) in ovarian cancer: a new prognostic factor. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 1997;71 :173 179.
- [104]. Kacinski BM, Mayr AG, King BL, *et al.* NEU protein overexpression in benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms. *Gynecologic Oncology* 1992 ; 44 : 245-253.
- [105]. Berchuck A, Carney M. Human ovarian cancer of the surface epithelium. *Biochemical Pharmacology* 1997; 54 (5): 541-544.
- [106]. Hellström I, Goodman G, Pullman J, Yang Y, Hellström KE. Overexpression of HER-2 in ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 2001 Mar 15;61(6):2420-3.
- [107]. Wu Y, Soslow RA, Marshall DS, Leitao M, Chen B. Her-2/neu expression and amplification in early stage ovarian surface epithelial neoplasms. *Gynecologic Oncology* (2004); 95 : 570–575.
- [108]. Hogdall EV, Christensen L, Kjaer SK, Blaakaer J, *et al.* Distribution of HER-2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: from the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. *Cancer* 2003; 98 (1):66-73.
- [109]. Hamidi CH, Zaidi Z, Abdellouche D *et al.* Registre du cancer de Sétif (Algérie) : incidence, tendance et survie 1986-2005. *Journal Africain* 2010.
- [110]. Pointreau Y, Klotz S, Denis F, Durdux C. Cancer de la Vessie. *Cancer/Radiothérapie* 2010 ; 14 (Suppl. 1) :S189–S197.
- [111]. Ouegnin A, Manzan K, Kata KJ, Honde M, Leonetti P, Perodeau H *et al.* Les cancers de la vessie en Côte d'Ivoire. *Rev Med Cote d'Ivoire* 1986; 75: 143-8.
- [112]. Siegel R, Naishadham D, Jamel A. Cancer Statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62:10-29.
- [113]. D'horpock Af, Kouli Bb S, Kouyate M. *et al.* Les cancers de la vessie en côte d'ivoire : Aspects histo épidémiologiques de 142 cas diagnostiques dans les laboratoires d'anatomie pathologique des CHU d'Abidjan. *Carcinol Clin Afrique* 2012 ; 11(1-2) : 33-36.
- [114]. Irani J. Epidémiologie du cancer de la vessie. *Prog Urol* 2003 ; 13 : 1207-34.
- [115]. Benoît G. Tumeurs de la vessie : Anatomie pathologique, étiologie, diagnostic et évolution. *Rev Prat (Paris)* 1992; 42 (14) :1835-41.

- [116]. Rantomalala HYH, Rakototiana AF, Rakoto-Ratsimba HN, Rambel H, Razafimanjato N, Kapisy JF. Les cancers de la vessie vus au CHU de Joseph Ravoahangy Andrianavalona. *Rev Trop Chir* 2007;1 : 74-6.
- [117]. El Bolkainy MN, Ghoneim MA, Mansour MA. Carcinoma of the bilharzial bladder in Egypt: clinical and pathological features. *Br J Urol Clin North Am* 1992; 19:421-8.
- [118]. Dangou JM, Mendes V, Boye IA, Woto-Gaye G, Ndiaye PD. Le cancer vésical au Sénégal, expérience du laboratoire d'Anatomie Pathologique CHU de Dakar (Sénégal). *Med Afr Noire* 1996 ; 43(6):363-65.
- [119]. Fergusson AR. Associated bilharziasis and primary malignant disease of the urinary bladder with observation on a series of 40 cases. *J Pathol Bact* 1991; 16:76.
- [120]. El-Bolkainy MN, Moktar NM, Ghoneim MA, Hussein MH. The impact of shistosomiasis on the pathology of bladder carcinoma. *Cancer* 1981; 48:2643-8.
- [121]. Eissaa S, Alia HS, Al Tonsib AH, Zaglolo A, *et al.* HER2/neu expression in bladder cancer: relationship to cell cycle kinetics. *Clinical Biochemistry* 2005; 38:142– 148.
- [122]. Langner C, Gross C, Rehak P, Ratschek M, *et al.* Her2 protein overexpression and gene Amplification in upper urinary tract transitional Cell carcinoma: systematic analysis applying Tissue microarray technique. *J. Urology* (2005); **65** (1): 176-180.
- [123]. Janane A, Hajji F, Ismail TO, Elondo JC, *et al.* Evaluation of HER2 protein overexpression in non-muscle invasive bladder cancer with emphasis on tumour grade and recurrence. *Actas Urológicas Españolas*. 2011; 35 (4):189–194.
- [124]. Vita FD, Giuliani F, Silvestris N, Catalano G, Ciardiello F, Orditura M. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in gastric cancer: a new therapeutic target. *Cancer Treatment Reviews* 2010; 36S3: S11–S15.
- [125]. Barok M, Tanner M, Köninki K, Isola J. Trastuzumab-DM1 is highly effective in preclinical models of HER2-positive gastric cancer. *Cancer Letters* 2011; 306:171–179.

# Présentation des travaux

*Original Research Article*

**EXPRESSION AND AMPLIFICATION OF HUMAN  
EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 2 (HER-2/neu)  
IN OVARIAN EPITHELIAL NEOPLASMS, STUDY IN  
ALGERIA**

N. AGHER, A. TOU, B. LARBAOU, F. ABOUBAKAR AND S. MOULESSEHOUL

*Agher et al.; JODAGH, 7(1): 65-70, 2016*



## EXPRESSION AND AMPLIFICATION OF HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 2 (HER-2/neu) IN OVARIAN EPITHELIAL NEOPLASMS, STUDY IN ALGERIA

N. AGHER<sup>1,2,3\*</sup>, A. TOU<sup>1,2</sup>, B. LARBAOUI<sup>2,4</sup>, F. ABOUBAKAR<sup>5</sup>  
AND S. MOULESSEHOUL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Pathology, Hospital University Center - of Sidi Bel Abbes, 22000, Algeria.

<sup>2</sup>Laboratoire de Cancer et Environnement, Djilali Liabès University, Sidi Bel Abbes, 22000, Algeria.

<sup>3</sup>Laboratoire Bio-Toxicologie, Djilali Liabès University, Sidi Bel Abbes, 22000, Algeria.

<sup>4</sup>Department of Oncology, Hospital University Center - of Sidi Bel Abbes, 22000, Algeria.

<sup>5</sup>Department of Obstetrics and Gynecology of Sidi Bel Abbes, 22000, Algeria.

### AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was carried out in collaboration between all authors. Author AT designed the study, produced the initial draft. Author NA wrote the protocol and interpreted the data, anchored the field study, gathered the initial data and performed preliminary data analysis. Authors BL, FA and SM managed the literature searches.

All authors read and approved the final manuscript.

*Received: 23<sup>rd</sup> November 2015*

*Accepted: 18<sup>th</sup> January 2016*

*Published: 5<sup>th</sup> February 2016*

*Original Research Article*

### ABSTRACT

**Background:** Ovarian carcinoma has a poor prognosis in advanced stages and a poor response to conventional chemotherapy. We here investigated HER2 amplification and overexpression in ovarian neoplasms using both immunohistochemical (IHC) and fluorescence in situ hybridization (FISH) techniques.

**Materials and Methods:** Immunohistochemistry was performed in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue from 60 patients with 13 biopsies and 47 surgical specimens of only the epithelial ovarian cancer including early stage tumors and both carcinomas without borderline tumors diagnosed in the Pathology Department, Sidi Bel Abbes, Algeria. HercepTest (DAKO) and PathVysion Her-2/neu probe kit (VysisInc) were used for IHC and FISH.

**Results:** HER2 overexpression / amplification were observed more in serous carcinomas in 47%, and in 32% of mucinous carcinomas of the ovary, with a higher stage and high-grade at diagnosis. The overall rate of HER-2 overexpression and amplification was 37%.

**Conclusions:** Our results suggest that trastuzumab therapy would be a possibility for patients with ovarian carcinoma when the tumor has HER2 overexpression and/or amplification.

**Keywords:** Ovarian cancer; Her-2/neu; immunohistochemistry; fluorescence *in situ* hybridization.

### 1. INTRODUCTION

Ovarian cancer is the leading cause of death in gynecological cancers and is the fifth female cancer [1]. Surgical resection is standard, while

chemotherapy is offered to patients with high-grade tumors or those that are stage IC or higher [1,2]. Currently, increased attention has been turned to biological markers, such as growth factors.

\*Corresponding author: Email: [nawel.agher@yahoo.fr](mailto:nawel.agher@yahoo.fr);

HER-2 (also known as c-erb-B2) is a proto-oncogene. It is a component of a family of growth factor receptors that includes epidermal growth factor (EGFR, HER-1/c-erb-B1), HER-3 (c-erb-B3), and HER-4 (c-erb-B4), HER-2. It plays a role in cell differentiation and proliferation [3]. A variety of human neoplasm showed an amplification and/or overexpression of the HER-2, including carcinomas of the breast, stomach, salivary gland, skin, and ovary [4,5-12].

HER-2 is a prognostic factor and a target for direct pharmacotherapy, such as the anti-HER-2/neu monoclonal antibody trastuzumab (Herceptin®).

The aim of the study was to determine the protein overexpression and gene amplification of HER-2 in epithelial ovarian cancer without Borderline ovarian tumours and its association with histological type, clinical stage and histological grade.

## 2. MATERIALS AND METHODS

An experimental study was performed on 60 ovarian carcinomas for whom we had available tissue to study with 13 biopsies and 47 surgical specimens for all stages. The diagnoses, all of which conformed to the 2003 World Health Organization (WHO) criteria, were confirmed on review by a dedicated gynecologic pathologist. FIGO and Silverberg were used to classify all the tumours in the clinical stage and histologic grade.

Fragments from paraffin-embedded specimens were made when necessary to confirm the histological type and histologic grade.

HER-2 oncogene expression was detected using IHC and FISH from paraffin blocks.

The 2007 American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists (ASCO-CAP) guideline recommendations for immunohistochemistry and of the Dako Hercep-Test recommendations [13,14] as well as Tueffred et al. [15]. They showed that the decision algorithm usually used in breast cancer (immunohistochemistry as a screening test, with equivocal results confirmed by FISH) is appropriate in ovarian cancer. Therefore, "positive" is defined as strong, complete, homogenous membrane staining in >30% of tumour cells; "equivocal" is defined as either strong, complete, homogeneous membrane staining in <30% or weak, moderate heterogeneous complete membrane staining in >10% of tumour cells, and "negative" is defined as no staining (score 0 points), or weak, incomplete membrane staining (score 1+ points) in any percentage of cells was adopted.

IHC was performed using HercepTest kit, and the results were interpreted as negative (0, no membrane staining in <10% of tumour cells) or equivocal (scoring 1+, 2+, Faint / barely perceptible or Weak to moderate complete membrane staining detected in >10% of tumour cells, respectively) and positive / overexpressed (3+, Moderate to strong complete or basolateral membrane staining in >10% of tumour cells).

PathVysion Her-2/neu probe kit was used for the FISH analysis for score (1+, 2+) cases. In brief, the sections were baked overnight at 56°C, deparaffinized in CitriSolv, dehydrated in 100% ethanol, and air-dried. Slides were then subjected to protease digestion for 45–60 min, denatured, and hybridized with prewarmed probes (Her2/neu) overnight. They were then washed with posthybridization wash buffer at 72°C and counterstained with DAPI, mounted, and stored in darkness before signal enumeration. Cases were scored as amplified ratio of HER2 to CEP17 of >2.0 or average HER2 gene copy number > 6 signals/nucleus.

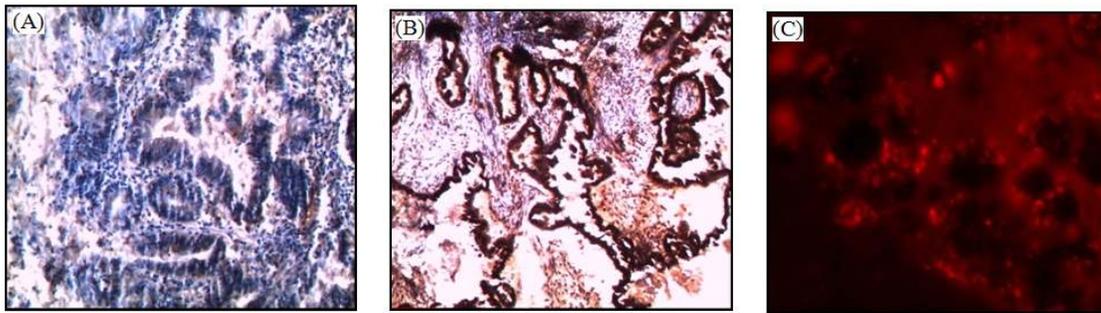
Statistical analysis was performed using statistical analysis software (IBM, SPSS, 22, 2013), ANOVA were adopted to compare groups ages, Fisher exact test was also used to determine dependence between Membrane staining for HER2 and other parameters,  $p < 0.05$  was regarded as significant.

## 3. RESULTS

The mean age at diagnosis was 50 years (range 16–81 years).

We identified 60 patients that included only the ovarian carcinomas without borderline tumours. Analysis of serous carcinomas showed overexpression and amplification of HER 2/neu in 14 of 42 cases, while the remaining 28 cases did not show any amplification using FISH, including cases scored +1 and +2. Six cases were high-grade with three patients were stage IV, two cases were stage III and the other case was stage II, three cases were grade II with two patients was stage II and the other case was stage I and five cases were grade I with stage I at diagnosis.

Analysis of primary mucinous carcinomas showed overexpression and amplification of HER 2/neu in 8 of 18 cases, while the remaining 10 cases did not show any amplification using FISH, including cases scored +1 and +2. Two cases were grade I with one case was stage I and the other was stage III, four cases were grade II with three patients were stage I and one case was stage II. Two cases were high-grade with one patient was stage II and the last was stage I at diagnosis. Table 1 summarized results.



**Fig. 1.** Serous carcinoma showing (A) Her-2/neu expression (IHC) 1+ staining, (B) Her-2/neu expression (IHC) 3+ staining, (C) Amplification Her-2/neu gene (FISH)

**Table 1.** Immunohistochemical on the intensity of membrane staining for HER2 for a total of 60 specimens invasive adenocarcinomas (18 mucinous and 42 serous)

Parameters	Groups	Membrane staining for HER2									
		Negative			Weak			Strong			P
		N	%	Mean SD	N	%	Mean SD	N	%	Mean SD	
Age		27	45.00	50.44 15.13	11	18.33	53.09 21.46	22	36.67	51.36 12.47	0.893
Histological subtype	Mucinous	19	44.19		10	23.26		14	32.56		0.272
	Serous	8	47.06		1	5.88		8	47.06		
Grade	I	8	50.00		5	31.25		3	18.75		0.325
	II	12	41.38		5	17.24		12	41.38		
	III	7	46.67		1	6.67		7	46.67		
Clinical stage	I	14	50.00		5	17.86		9	32.14		0.581
	II	8	53.33		3	20.00		4	26.67		
	III	4	40.00		1	10.00		5	50.00		
	IV	1	14.29		2	28.57		4	57.14		

*N: Effective; %: Percentage; p: Significance; SD: Standard deviation; HER2*

The overall rate of HER-2 overexpression and amplification was 37% of total sample. There was no statistically significant difference given the age ( $p=0.893$ ). Although, membrane staining for HER2 was not dependent on histological Subtypes ( $p=0.272$ ), grade ( $p=0.325$ ) and clinical stage ( $p=0.581$ ), highest percentages were shown in patients having high-grade (46.67%), advance stage (57.14%) and serous histologic Subtype (47.06%).

#### 4. DISCUSSION

Ovarian cancer is the main cause of death in gynecological cancers [1]; its diagnosis is often made very late with a relatively advanced stage [16]. The majority of ovarian cancer is of epithelial origin, about 90% [17,18]. Epithelial ovarian carcinoma is the most lethal gynecological cancer worldwide [19], with a weak survival at 5 years [20].

Surgical resection is standard, while chemotherapy is offered to patients with high-grade tumours or those

that are stage IC or higher [2,21]. Biological markers have increased attention, such as growth factors, oncogenes, and tumor suppressor genes.

HER-2 gene is located on chromosome 17q21 and encodes a transmembrane protein (p185) with tyrosine kinase activity [9,21,22]. HER-2 occupies an important place in the development of new anti-tumour therapies, which aims at inhibiting the various stages of the transduction of the signals of differentiation, proliferation, invasion or survival cellular [23,24].

HER2 has been reported to be overexpressed or amplified in a variety of human tumours [25-29]. Hence, it has been extensively studied as the target for the cancer therapy.

The clinical significance of HER2 status in many tumour types is not yet clear except for breast (20–30%) [30,31], gastric, or gastroesophageal junction (5-25%) [9,32] cancer patients.

Adjuvant therapy using a monoclonal antibody against HER2 protein (Trastuzumab) is effectively alone and in combination with conventional cytotoxic chemotherapy in patients whose breast carcinomas have amplification of HER2 [31,26,33,34]. However, the significance of HER2 overexpression and amplification in the initiation and progression of ovarian carcinoma is less well understood [35], there are relatively few data about HER2 amplification and overexpression in ovarian carcinomas. The best known large multicentric study, A GINECO Phase II Study, showed that HER2 gene status was evaluated in a large, multicentric series of 320 patients with advanced ovarian cancer. It included 243 patients enrolled in a multicenter prospective clinical trial of paclitaxel/carboplatin-based chemotherapy. HER2 overexpression/amplification is low (6.4%) in patients with advanced ovarian cancer [15,36].

The number of cases studied is small, and the clinical significance of Her2/neu status is still debatable.

In our study, the overall rate of HER-2 overexpression and amplification was 37% (22 of 60) cases in ovarian cancer, using immunohistochemistry completed with FISH [30]. These results were similar to those reported by other groups [7] and unlike the other, Berchuck and al, in a study of 73 patients with ovarian carcinoma, described a rate of 32% [6]. The Danish "MALOVA" ovarian cancer study reported much higher rates 49%-50% [37]. Interestingly, they also included the 1+ positive in the overexpression group. There have been only some studies in the literature that report Her-2/neu amplification status in ovarian tumour using FISH [11,38], a rate of 87% was found by Haldane et al. [39].

HER2 gene amplification and protein overexpression were reported 25% by Ferrandina and al [40], 44% by Kacinski and al [41] serous carcinomas. In our study, HER2 expression was described in 47% of serous carcinomas. The variation in the rate of HER2 gene amplification and expression could be explained by several reasons including different detection methods used (immunohistochemistry, fluorescent in situ hybridization and chromogenic in situ hybridization), several types of biological material (blocs of tumours, tissue microarray), different immunohistochemical techniques (CB-11, HercepTest or non-commercial antibody), different staining protocols and subjective interpretation of stained samples. All these factors make difficult the comparison of HER2 status across research studies [15].

Her-2/neu amplification was reported in high grade and stage, which was similar to literature [40-42].

The results presented in this paper showed that the overall rate of HER-2 protein overexpression was 37% in ovarian carcinomas.

It is possible that trastuzumab (Herceptin) could be valuable in treating specific subsets of ovarian cancers known to have Her-2 amplification and / or overexpression.

## 5. CONCLUSIONS

The overall rate of Her-2/neu amplification / overexpression in our study was 37%, higher rates were noted in serous carcinomas, using IHC completed by FISH.

Our results were encouraging; it was possible that trastuzumab (Herceptin) could be valuable in treating ovarian cancer.

This study was of great hopes for the patients having ovarian epithelial cancer, to increase survival, to improve quality and the index of life, it will be completed in the future by clinical trial.

## CONSENT

It is not applicable.

## ETHICAL APPROVAL

It is not applicable.

## COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

## REFERENCES

1. Scully RE, Young RH, Clement PB. Tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube and broad ligament. Atlas of Tumor Pathology AFIP Press; 1998.
2. Piette F, Spano JP, Chaibi P, et al. Oncogériatrie: une évidence épidémiologique. *Presse Med.* 2010;39:208–215.
3. Kim JW, Kim HP, Im SA, et al. The growth inhibitory effect of lapatinib, a dual inhibitor of EGFR and HER2 tyrosine kinase, in gastric cancer cell lines. *Cancer Letters.* 2008;272: 296–306.
4. Hynes NE, Stern DF. The biology of erbB- 2/ neu/HER-2 and its role in cancer. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1198:165-84.

5. Donahue RS, Kramer J, Fischer CA, et al. Oncogene expression *in vivo* by ovarian adenocarcinomas and mixed-Mullelian tumors. *Yule J Biof Med.* 1989;62:379-3.
6. Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 1990;50:4087-4091.
7. Wu Y, Soslow RA, Marshall DS, et al. Her-2/neu expression and amplification in early stage ovarian surface epithelial neoplasms. *Gynecologic Oncology.* 2004;95:570–575.
8. Slamon DJ, Clark G hf, Wong SG, et al. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235:177-182.
9. Fukushige S, Matsubara K, Yoshida al. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol.* 1986;6:955-958.
10. Maguire HC, Jaworsky C, Cohen JA, et al. Distribution of neu (c-erbB-2) protein in human skin. *J Invest Dennaol.* 1989;92: 786-790.
11. Okines AFC, Cunningham D. Trastuzumab in gastric cancer. *European Journal of Cancer.* 2010;46:1949–1959.
12. Power DG, Kelsen DP, Shah MA. Advanced gastric cancer – slow but steady progress. *Cancer Treatment Reviews.* 2010;36:384–392.
13. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al. American society of clinical oncology / college of American pathologists guideline recommendations guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25: 118-45.
14. Lin WL, Kuo WH, Chen FL, et al. Identification of the coexisting HER2 gene amplification and novel mutations in the HER2 protein-overexpressed mucinous epithelial ovarian cancer. *Ann Surg Oncol.* 2011;18: 2388-94.
15. Tuefferd M, Couturier J, Penault-Llorca F, et al. HER2 status in ovarian carcinomas: A multicenter GINECO study of 320 patients. *PLoS One.* 2007;2:1138.
16. Chéreau E, Ballester M, Lesieur B, et al. Complications de la chirurgie radicale des cancers de l’ovaire de stade avancé. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.* 2011;39: 21–27.
17. Berek JS, Crum C, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 2012;119(S2):118–129.
18. Ng JS, Low JJH, Ilancheran A. Epithelial ovarian cancer. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology.* 2012;26: 337–345.
19. Guppy AE, Nathan PD, Rustin GJS. Epithelial ovarian cancer: A review of current management. *Clinical Oncology.* 2005;17: 399–411.
20. Murdoch WJ, McDonnel AC. Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and carcinogenesis. *Reproduction.* 2002;123: 743–50.
21. Stuart GC. First-line treatment regimens and the role of consolidation therapy in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2003; 90(3 Pt. 2):S8–15.
22. Slamon DJ, Clark GM. Amplification of c-erbB-2 and aggressive human breast tumors. *Science.* 1988;240:1795–8.
23. Aaronson SA. Growth factors and cancer. *Science.* 1991;254:1146–1153.
24. Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2/neu: a review. *Semin Oncol.* 1999;26:51–9.
25. Ziaian B, Saberi A, Ghayyoumi MA, et al. Association of high LDH and low glucose levels in pleural space with HER2 expression in non-small cell lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15:1617-20.
26. Tai CJ, Pan CK, Chen CS, et al. Adjuvant trastuzumab for 6 months is effective in patients with HER2-positive stage II or III breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013; 14:1981-4.
27. Pazhoomand R, Keyhani E, Banan M, et al. Detection of HER2 status in breast cancer: comparison of current methods with MLPA and real-time RT-PCR. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:7621-8.
28. Panagiotou I, Georgiannos SN, Tsiambas E, et al. Impact of HER2 and PTEN simultaneous deregulation in non-small cell lung carcinoma: correlation with biological behavior. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13:6311-8.
29. Whitfield BG, Jolijn G, Virginia B, et al. HER2 over-expressing high grade endometrial cancer expresses high levels of p95HER2 variant. *Gynecologic Oncology.* 2015;137:160–166.
30. Kaptain S, Tan LK, Chen B. Her-2/neu and breast cancer. *Diagn Mol Pathol.* 2001;10: 139– 52.
31. Duman BB, Afsar CU, Gunaldi M, et al. Retrospective analysis of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer in Turkish patients. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13: 4119-23.

32. Wang S, Zheng G, Chen L, et al. Effect of HER-2/neu over-expression on prognosis in gastric cancer: A meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12:1417-23.
33. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2005;353:673-84.
34. Shak S. Overview of the trastuzumab (Herceptin). Anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. Herceptin Multinational Investigator Study Group. *Semin Oncol*. 1999;26:71-7.
35. Werooha SJ, Oberg AL, Ziegler KL, et al. Phase II trial of lapatinib and topotecan (LapTop). In patients with platinum-refractory/resistant ovarian and primary peritoneal carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2011;122:116-20.
36. Isabelle RC, Jean Paul G, Djelila A, et al. HER2 overexpression / amplification and trastuzumab treatment in advanced ovarian cancer: A GINECO phase II study. *Clinical Ovarian Cancer*. 2008;1:54-59.
37. Hogdall EV, Christensen L, Kjaer SK, et al. Distribution of HER-2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: From the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. *Cancer*. 2003;98:66-73.
38. Lassus H, Leminen A, Vayrynen A, et al. ERBB2 amplification is superior to protein expression status in predicting patient outcome in serous ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2004;92:31-9.
39. Haldane JS, Hird V, Hughes CM, et al. C-erbB-2 oncogene expression in ovarian cancer. *H Pathol*. 1990;162:231-237.
40. Ferrandina G, Ranelletti FO, Lauriola L, et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2), epidermal growth factor receptor (EGFR), and Her-2/neu expression in ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2002;85(2):305-10.
41. Kacinski BM, Mayer AGF, King Bonnie L, et al. Neu protein overexpression in benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms. *Gynecologic Oncology*. 1992;44:245-253.
42. Meden H, Marx DRV, Kron M, et al. Overexpression of the oncogene c-erbB-2 in primary ovarian cancer. Evaluation of the prognostic value in a Cox proportional hazards multiple regression. *Int J Gynecol Pathol*. 1994; 13:45-53.

*Article Original*

**Récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain  
(Her2) dans le cancer de la vessie.**

Agher N, Tou A, Moulessehoul S

*Le Fascicule de la Santé n° 20 : 15-16– Septembre 2015*

## Récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) dans le cancer de la vessie

Agher N<sup>1,2,4</sup>, Tou A<sup>1,2,3</sup>, Moulessehou S<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Université Djilali Liabès, Sidi Bel Abbès, 22000, Algérie.

<sup>2</sup>Service d'anatomo-cyto-pathologiques, Centre hospitalo-universitaire - Sidi Bel Abbès, 22000, Algérie.

<sup>3</sup>Laboratoire de cancer et environnement, Université Djilali Liabès - Sidi Bel Abbès, Algérie.

<sup>4</sup>Laboratoire de biotoxicologie, Université Djilali Liabès - Sidi Bel Abbès, Algérie.

Déclaration de conflit d'intérêt

Aucun conflit d'intérêt n'est à signaler dans le cadre de ce travail.

© 2015 - Le Fascicule de la Santé - Tous droits réservés.

### RÉSUMÉ

**Objectif :** Le Her2/neu, oncoprotéine appartenant à la famille des récepteurs ErbB, est connu pour contribuer à des mécanismes physiologiques de la prolifération cellulaire par activité intrinsèque de la tyrosine-kinase. Sa surexpression a été retrouvée dans plusieurs tissus humains, ce qui le rend une cible dans la recherche clinique. Dans notre étude, nous avons analysé la surexpression et/ou l'amplification du gène Her-2 dans le cancer urothélial.

**Matériel et méthodes :** Nous avons réalisé notre étude sur 26 cas de cancer épithélial de la vessie, colligés dans notre service de pathologie recensés entre 1996 et 2012. La surexpression du gène HER2 a été évaluée par la technique d'immunohistochimie (IHC) et contrôlée par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) quand cela c'était nécessaire.

**Résultats :** La surexpression du gène HER2 a été évaluée dans 26 cas de cancer urothélial. Le score 3+ a été observé dans 11 cas (42%), le score 2+ dans 7 cas (27%), le score 1+ dans 4 cas (15%), et le score 0+ dans 4 cas (16%). Le contrôle par la FISH des 11 cas de score 2+ et de score 1+ a montré une amplification du chromosome 17q dans 7 sur 11 cas. Des corrélations entre la surexpression et/ou l'amplification du gène HER2 et le grade histopathologique et le stade anatomo-clinique de ce cancer.

**Conclusion :** La thérapie ciblée améliorerait la prise en charge des cancers épithéliaux de la vessie, d'où l'intérêt de développer l'évaluation de l'expression des récepteurs épidermiques de facteur de croissance spécialement HER2.

**Mots clés :** Cancer de la vessie, HER2, immunohistochimie, FISH.

### INTRODUCTION

Le pronostic du cancer de la vessie reste encore mauvais à cause de son diagnostic tardif. Malgré la multitude des protocoles thérapeutiques, peu de patients survivent au delà de 2 années [1,2], avec une mauvaise qualité de vie. Ceci suggère le besoin de nouvelles approches thérapeutiques [3,4].

L'objectif de notre travail consiste à étudier l'apport de la surexpression et/ou de l'amplification du gène HER2 dans le cancer de la vessie, qui serait à la base d'une nouvelle piste pour la thérapie ciblée.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons colligé 26 cas de cancer épithélial de la vessie. L'étude a été effectuée dans notre service de pathologie sur des prélèvements (lames et blocs de paraffine) réalisés sur des pièces d'exérèse chirurgicale. Nous avons réexaminé les lames et des recoupes des blocs de paraffine ont été faites quand cela était nécessaire. La surexpression du gène HER2 a été évaluée par la technique d'immunohistochimie (IHC) et contrôlée par hybridation in situ par fluorescence (FISH) pour les cas de score 2+ et score 1+.

### RÉSULTATS

L'âge moyen des patients était de 66 ans (39 ans à 83 ans). Le taux global de la surexpression de HER2 score 3+ était retrouvé dans 11 cas (42%) parmi les 26 cas de cancer épithélial de la vessie (figure 1) avec 7 cas (27%) de score 2+, le score 1+ dans 4 cas (15%) et le score 0+ dans 4 cas (16%). Le contrôle par la FISH des 11 cas de score 2+ et de score 1+ a montré une amplification du chromosome 17q dans 7 cas (figure 2 A et B) (tableau I).

Nous avons évalué le stade T de la classification anatomo-clinique et le grade histopathologique selon les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [5,6,7]. Parmi les 26 cas, le stade pT1 était présent dans 16 cas (61%), le stade pT2 dans 9 cas (39%) et le stade pT3 dans 1 cas (04%). La répartition selon le grade histopathologique a montré 7 cas (27%) de bas grade et 19 cas (73%) de haut grade histopathologique. L'immunomarquage était intense dans le stade anatomo-clinique tardif : 5 cas (32%) parmi 16 pT1 versus 6 cas (60%) parmi 10 pT2-T3 et dans le haut grade histopathologique : 2 cas (29%) parmi 7 bas grades versus 9 cas (47%) parmi 19 hauts grades.

## DISCUSSION

L'activation et la surexpression des oncogènes cellulaires jouent un rôle majeur dans le développement des cancers humains. Le HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor) encore appelé ErbB2, HER/neu, ou C-erbB2, est un membre important de la famille des oncogènes, localisé sur le chromosome 17q et code la protéine trans-membranaire HER2 qui est un récepteur de facteur de croissance ayant une activité tyrosine kinase ou (RTK). La protéine HER2 occupe également une place importante dans le développement de nouvelles classes thérapeutiques anti-tumorales qui ne sont ni cytotoxiques, ni anti-hormonales, mais qui ciblent les voies associées à l'activation des RTK et visent donc à inhiber les différentes étapes de la transduction des signaux de différenciation, de prolifération, d'invasion ou de survie cellulaires [8,9,10]. L'amplification du gène HER2 conduit à la surexpression du récepteur transmembranaire HER2.

La surexpression étant la présence anormalement élevée de la protéine HER2 à la surface des cellules tumorales. L'amplification et la surexpression du gène HER2 définissent un statut HER2 positif [11]. La surexpression HER2 a été retrouvée dans plusieurs tissus humains, elle est présente dans 15 à 25% des carcinomes canaux infiltrants du sein [4,12,13], dans plus 60% des carcinomes inflammatoires et dans 90% des maladies de Paget du mamelon [14], et le trastuzumab (anticorps monoclonal humanisé anti-HER2) qui est une thérapie ciblée qui a prouvé son efficacité selon les études internationales [14, 15, 16].



Fig. 1 : Marquage membranaire (MO) AC-Anti HER2 fort, intense dans plus de 10% des cellules tumorales Score (+3) (x100) d'un carcinome transitionnel de la vessie.

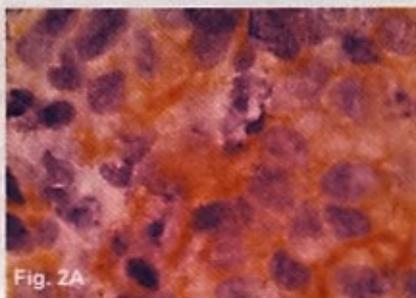


Fig. 2 : Confirmation d'amplification du gène HER2/neu (MF) par FISH d'une ICH (2+).  
Fig. 2A : Marquage membranaire(MO)AC-Anti HER2 d'intensité moyenne, basolatéral dans les cellules tumorales Score (+2) (x100)  
Fig. 2B : Amplification du gène HER2/neu (MF) par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH)



Tableau 1. La surexpression et/ou l'amplification du gène HER2 dans le cancer de la vessie.

Surexpression et/ou amplification du gène HER2	Nombre (cas)	%
Score 3+	11	61
Score 1+ avec amplification	03/04	17
Score 2+ avec amplification	04/07	22
Total	18	100

Aussi, 5-25% de cancers gastriques présentent une surexpression du HER2, en particulier dans la maladie avancée [17,18,19]. Dans notre étude le taux global de la surexpression de la protéine HER2 dans le carcinome de la vessie est de 42%, ce qui se rapproche des taux retrouvés dans la littérature [20,21,22,23], et cette surexpression de HER-2 est observée dans les grades et les stades tardifs, ce qui est similaire aussi à la littérature [20,21].

## CONCLUSION

Le grade histopathologique agressif, le stade anatomo-clinique tardif du cancer de la vessie au moment du diagnostique, l'efficacité de la thérapie ciblée trastuzumab prouvée dans le cancer du sein et le cancer de l'estomac, la surexpression du HER2 observée dans le cancer de la vessie et le profil défavorable des protocoles standards, sont des arguments qui plaident pour lancer des essais cliniques dans le cancer de vessie.

## Références bibliographiques

- Wasco MJ, Daignault S, Zhang Y, et al. Urothelial carcinoma with divergent histologic differentiation (mixed histologic features) predicts the presence of locally advanced bladder cancer when detected at transurethral resection. *Urology* 2007; 70: 69-74.
- Chalasan V, Chin JL, Izawa JI. Histologic variants of urothelial bladder cancer and nonurothelial histology in bladder cancer. *Can Urol Assoc J* 2009; 3: S193-198.
- Gulu S, Coudert B, Favier L, et al. Thérapeutique dans le cancer du sein métastatique HER2-positif : présent et le futur. *Bulletin du cancer* 2010; 97 (3) : 365-83.
- Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *The New England journal of medicine* 2001; 344: 783-92.
- Camilo A, Thomas P. *Mémento de pathologie 3<sup>e</sup> éd.* Vernazobres-Gregg, Paris 2010, 76-82.
- Buch C, Hawes D, Johansson S, Cote R. Pathologic assessment of bladder cancer and pitfalls in staging. In: Droller MJ, ed. *Bladder Cancer, Current Diagnosis and Treatment*. Totowa (NJ): Humana Press, 2001: 149-182.
- Epstein JI, Aron MB, Reuter VR, Mostofi FK. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Bladder Consensus Conference Committee. Am J Surg Pathol* 1998; 22: 1435-1448.
- Zabrecky JR, Lam T, McKenzie SJ, Carney W. The extracellular domain of p185/neu is released from the surface of human breast carcinoma cells SK-BR-3. *J Biol Chem* 1991; 266:1716-20.
- Tzahar E, Waterman H, Chen H, et al. A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Bio* 1996; 16: 5276-87.
- Hazaf D, Yarden Y. Molecular mechanism underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene* 2000; 19: 6102-14.
- Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995; 19: 183-232.
- Simon R, Nocli A, Hubscher T, Bucher C, Thorhorst J, et al. Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93 (15):1141-6.
- Di Leo A, Dowsett M, Horten B, Penault-Llorca F. Current Status of HER-2 Testing. *Oncology* 2002; 63(suppl. 1):25-32.
- Menard S, Casalini P, Campiglio M, Pupa S, Agresti R, Tagliabue E. HER2 overexpression in various tumor types, focusing on its relationship to the development of invasive breast cancer. *Ann Oncol* 2001; 12 (suppl.1): S15-9.
- Menard S, Balceri A, Casalini P, Tagliabue E, Campiglio M, et al. HER-2-positive breast carcinomas as a particular subset with peculiar clinical behaviors. *Clin Cancer Res* 2002; 8(2):520-5.
- Lakshani SR, Van De Vijver MJ, Jacquemier J, Anderson TJ, et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and P53 in patients with mutations in BRCA2 and BRCA1. *J Clin Oncol* 2002; 20 (9) :2310-8.
- Takehana T, Kunitomo K, Kono K, Kitahara F, Lizuka H, et al. A status of c-erbB-2 in gastric adenocarcinoma: a comparative study of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and enzym-linked immunosorbent assay. *Int J Cancer* 2002;98 (6):833-7.
- Vita FD, Giuliani F, Silvestris N, Catalano G, Ciardiello F, Orditura M. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in gastric cancer: a new therapeutic target. *Cancer Treatment Reviews* 2010; 36(5): S11-S15.
- Barok M, Tanner M, Könikki K, Isola J. Trastuzumab-DM1 is highly effective in preclinical models of HER2-positive gastric cancer. *Cancer Letters* 2011; 306:171-179.
- Langner C, Gross C, Rehak P, Ratschek M, et al. Her2 protein overexpression and gene amplification in upper urinary tract transitional cell carcinoma: systematic analysis applying Tissue microarray technique. *J Urology* (2005); 65 (1): 176-180.
- Janane A, Hajji F, Ismail TO, Elondo JC, et al. Evaluation of HER2 protein overexpression in non-muscle invasive bladder cancer with emphasis on tumour grade and recurrence. *Actas Urológicas Españolas*. 2011;35(4):189-194.
- Wülfing C1, Von Struensee D, Blier S, Bögemann M, Hertle L, Eilze E. [Expression of Her2/neu in locally advanced bladder cancer: implication for a molecular targeted therapy]. *Aktuelle Urol.* 2005 Sep;36(5):423-9.
- Hussain M.H., MacVicar G.R., Petrylak D.P., Dunn R.L., Velezampayan U., Lara P.N., et al. Trastuzumab, paclitaxel, carboplatin, and gemcitabine in advanced human epidermal growth factor receptor-2/neu-positive urothelial carcinoma: results of a multicenter phase II National Cancer Institute trial. *J Clin Oncol* 2007;25:2218-24.

*Article Original*

**Récepteur épidermique humain 2 de facteur de croissance  
(Her2) dans le cancer ovarien. Expression et amplification**

Agher N, Tou A, Lebid M, Bentouati A, Larbaoui B, Aboubakar F, Moulessehoui S

*Le Fascicule de la Santé n° 19 : 39-41– Avril 2015*

# Récepteur épidermique humaine 2 de facteur de croissance (Her2) dans le cancer ovarien. Expression et amplification

Agher N.<sup>1,4,5</sup>, Tou A.<sup>1,4,5</sup>, Lebid M.<sup>1,4,5</sup>, Bentouati A.<sup>2,4,5</sup>, Larbaoui B.<sup>2,4,5</sup>, Aboubakar F.<sup>3,4,5</sup>, Moulessehou S.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Service d'Anatomo-Cyto-Pathologiques, Centre hospitalo-universitaire de Sidi Bel Abbès, 22000, Algérie.

<sup>2</sup>Service d'Oncologie Médicale, Centre hospitalo-universitaire de Sidi Bel-Abbès, 22000, Algérie.

<sup>3</sup>Service de Gynécologie Obstétrique, Centre hospitalo-universitaire de Sidi Bel -Abbès, 22000, Algérie.

<sup>4</sup>Université Djilali-Liabès, Sidi Bel-Abbeès, 22000, Algérie. <sup>5</sup>Laboratoire du Cancer et Environnement, Université Djilali-Liabès, Sidi Bel-Abbès, Algérie.

## Corresponding author:

Nawel AGHER.

E-mail : nawel.agher@yahoo.fr

## Déclaration de conflit d'intérêt

Aucun conflit d'intérêt n'est à signaler dans le cadre de ce travail.

© 2015 - Le Fascicule de la Santé - Tous droits réservés.

## RÉSUMÉ

**Objectif :** Le Her2 est un récepteur membranaire qui a une activité tyrosine kinase codé par le gène Her-2/neu. La surexpression et/ou l'amplification de Her-2 a été observée dans diverses tumeurs humaines, y compris le cancer de l'ovaire. L'objectif de notre travail consiste à étudier la surexpression et l'amplification de HER2 dans le cancer épithélial de l'ovaire.

**Matériel et méthodes :** Notre échantillon comporte 57 cas de cancer épithélial de l'ovaire étudiés sur 13 biopsies et 44 pièces opératoires, colligés au niveau du laboratoire d'anatomie cytopathologie du Centre-hôpitalo-universitaire de Sidi Bel-Abbès (Algérie). Nous avons étudié la surexpression et l'amplification de Her2 par les biais des techniques immuno-histochimiques, Hercep Test™ (DAKO®), complété par la technique de l'hybridation in situ par fluorescence (FISH), PathVysion Her-2 probe kit (DAKO®).

**Résultats :** La surexpression Her2 a été étudiée sur 57 cas de carcinomes ovarien, dont 46 cas appartenant à notre série et 11 cas appartenant aux archives du service d'anatomopathologie et de cytopathologie du CHU de Sidi Bel-Abbès. La protéine Her2 était surexprimée dans 34% (19 sur 57) des cas. Dans notre série, la surexpression de Her2 des carcinomes ovariens est observée beaucoup plus dans les carcinomes séreux 58% (11 cas sur 19 cas), que dans les carcinomes mucineux 42% (8 cas sur 19 cas). Des corrélations avec le grade histopathologique et le stade anatomo-clinique ont été effectuées.

**Conclusion :** Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature, les patientes atteintes de cancer épithélial de l'ovaire peuvent bénéficier d'une thérapie ciblée anti-Her-2/neu, trastuzumab (Herceptin®), pour améliorer la qualité de vie et augmenter la survie.

**Mots clés :** Cancer de l'ovaire, Her-2/neu, immunohistochimie, FISH.

## Human epidermal growth factor receptor 2 (Her-2) in epithelial ovarian cancer (expression and amplification).

## ABSTRACT

**Objective :** The Her-2 protein or her2 is a membrane receptor with tyrosine kinase activity encoded by Her-2/neu gene. Overexpression and/or amplification of Her2/neu has been observed in many human cancers, including ovarian cancer. In our study, the expression of Her-2 protein is determined in the epithelial ovarian cancer.

**Patients and methods:** The studied population consisted of 57 patients with 13 biopsies and 44 surgical specimens of only the epithelial ovarian cancer. Tissue specimens were neutral formaldehyde-fixed and paraffin-embedded. Standard histochemical and immunohistochemical (IHC) staining were used for diagnosis completed with Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) when was necessary. Expression of Her-2/neu protein was determined by immunohistochemical (IHC) staining with, Hercep Test™ (DAKO®) and FISH PathVysion Her-2 probe kit (DAKO®).

**Results:** Analysis of serous carcinomas showed that overexpression and amplification of Her 2/neu in (58%, 11 of 19) cases. Analysis of primary mucinous carcinomas showed that overexpression and amplification of her 2/neu in (42%, 08 of 19) cases. The overall rate of Her-2 overexpression and amplification was 34% (19 of 57) cases. Correlation with grade and stage were performed.

**Conclusions:** These results are satisfactory and encourage us to apply in the therapy and possibility to treat the patients with trastuzumab (Herceptin®) for the patients within ovarian cancer.

**Key words:** ovarian cancer, HER-2/neu, immunohistochemistry, FISH.

## INTRODUCTION

Le cancer de l'ovaire est le cinquième cancer féminin et constitue la principale cause de décès par les cancers gynécologiques [1]. La résection chirurgicale est standard, tandis que la chimiothérapie est réservée aux patientes atteintes de tumeurs de haut grade ou celles qui sont au stade IC ou plus [1,2]. Ce qui suggère de nouvelles approches thérapeutiques basées sur les marqueurs biologiques, tels que les facteurs de croissance. Le Her-2 est un proto-oncogène appartenant à la famille des récepteurs de facteurs de croissance, qui joue un rôle dans la différenciation et la prolifération cellulaire [3]. L'amplification et/ou la surexpression de Her-2 a été montrée dans une variété de tumeurs humaines, y compris les carcinomes du sein, de l'estomac, des glandes salivaires, de la peau et des ovaires [4, 5-12]. L'objectif de notre travail consiste à étudier, par le biais des techniques immuno-histochimiques et l'hybridation in situ par fluorescence (FISH), la surexpression du gène Her-2 dans le cancer épithélial de l'ovaire sans les tumeurs borderline ovariennes et en corrélation avec le type histologique, le stade anatomo-clinique et le grade histologique.

## MATERIEL ET METHODES

Nous avons réalisé notre étude sur 57 cas de cancer ovariens, avec 13 biopsies et 44 pièces chirurgicales fixés en formol à 10%, colligés dans notre service de pathologie entre 1996 et 2012.

Les classifications FIGO et Silverberg ont été utilisées pour le stade anatomo-clinique et le grade histopathologique.

La surexpression du gène Her2 a été évaluée par la technique d'immunohistochimie (IHC) en utilisant le Hercept test TM (DAKO®), et contrôlée par l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) pour les cas de score (1+) et le score (2+) en utilisant le kit PathVysion Her-2 de sonde (DAKO®).

## RESULTATS

L'âge moyen des patients était de 50 ans (16-81 ans).

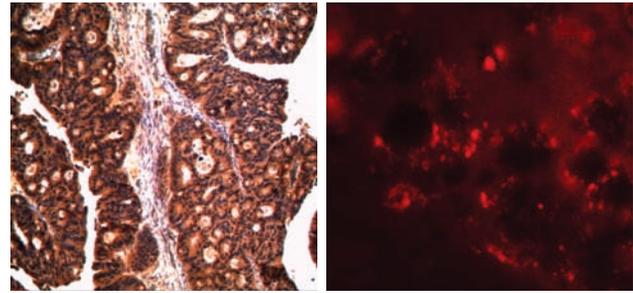
Nous avons travaillé sur 57 cas comportant uniquement les carcinomes épithéliaux de l'ovaire sans tumeurs borderline.

Dans notre série, la surexpression de Her2 des carcinomes ovariens est observée beaucoup plus dans les carcinomes séreux 58 % (11 cas sur 19 cas) (Figure 1) que dans les carcinomes mucineux 42 % (8 cas sur 19 cas).

Dans notre série, la surexpression de la protéine Her2, précisément le score (+3), est observée dans les hauts grades et les stades anatomo-cliniques tardifs extra-ovariens (voire tableau 1). La protéine Her2 était surexprimée dans 34 % (19 sur 57) des cas. Aucune corrélation avec l'âge et le sexe n'a été observée.

## DISCUSSION

Le cancer de l'ovaire est le cinquième cancer féminin et constitue la principale cause de décès par les cancers gynécologiques [1]. Il est diagnostiqué souvent très tardivement avec un stade relativement avancé [13]. La plupart des cancers de l'ovaire sont d'origine épithéliale dans environ 90% des cas [14,15]. Le car-



**Figure 1.** Carcinome séreux montre A) marquage membranaire complet, fort et intense dans plus de 10 % (IHC), B) Amplification du gène Her-2/neu (FISH) (signal rouge).

**Tableau 1. Corrélation entre la surexpression de Her2 et le type histo-pathologique, grade et le stade anatomo-clinique des 57 cas de carcinomes ovariens (18 mucineux et 39 séreux).**

Type histo-pathologique, Grade et stade	Marquage membranaire HER2		
	Négative	Moyen	Fort
<b>Mucineux</b>			
Grade I	1	0	2
Grade II	7	1	4
Grade III	0	1	2
<b>Total</b>	8	2	8
<b>Stade (FIGO)</b>			
I (A, B, C)	2	1	4
II (A, B, C)	1	0	2
III (A, B, C)	3	0	1
IV	2	1	1
<b>Total</b>	8	2	8
<b>Séreux</b>			
Grade I	4	4	5
Grade II	10	4	3
Grade III	5	1	3
<b>Total</b>	19	9	11
<b>Stade (FIGO)</b>			
I (A, B, C)	8	6	6
II (A, B, C)	7	3	3
III (A, B, C)	3	0	0
IV	1	0	2
<b>Total</b>	19	9	11

cinome épithélial de l'ovaire est le cancer gynécologique le plus mortel dans le monde [16], avec une faible survie à 5 ans qui est estimée à 35 % tous stades confondus [17].

La résection chirurgicale est standard, tandis que la chimiothérapie est réservée aux patientes atteintes de tumeurs de haut grade ou celles qui sont de stade IC ou plus [2,18]. Ceci suggère le développement de nouvelles approches thérapeutiques qui se basent sur les marqueurs biologiques tels que les facteurs de croissance. Le gène Her-2 est situé sur le chromosome 17q21, code pour une protéine transmembranaire (p185) à activité tyrosine kinase [9,18,19] et il occupe une place importante dans le développe-

ment de nouvelles thérapeutiques anti-tumorale, vise ainsi à inhiber les différentes étapes de la transduction des signaux de différenciation, de la prolifération, et de l'invasion ou de la survie cellulaire [20,21]. Sa surexpression a été rapportée dans de nombreux cancers humains, dans 20 à 30% des cancers du sein [22], et dans 5 à 25% des cancers gastriques [9]. Cependant, il y a relativement peu de données sur l'amplification et la surexpression du Her-2 dans les cancers de l'ovaire.

Dans notre série, le taux d'expression est suffisamment significatif dans le cancer de l'ovaire (34%) à l'aide de l'immunohistochimie complétée par FISH [22]. La littérature nous montre un taux d'expression variable d'une étude à l'autre allant de 12% à 52,5% [6, 7, 11, 23, 24, 25, 26, 29, 30] ; cette variabilité serait en relation avec la taille des échantillons qui est aussi très variable et selon la méthode utilisée. (Voire Tableau 2).

La surexpression de Her-2 est observée dans les hauts grades et stades anatomo-clinique tardifs du cancer de l'ovaire, ceci est similaire à la littérature [6, 7, 23, 26, 27, 28, 29, 30].

La surexpression de Her-2 est observée plus dans les carcinomes séreux, que les carcinomes mucineux, ceci est similaire à la littérature [6, 7, 23, 28, 29, 30] et contrairement au Meden et al [26].

**Tableau 2. La surexpression de Her2 dans le cancer de l'ovaire en comparaisant avec nos résultats**

	Taille de l'échantillon	Fréquence de la surexpression HER2 (%)
<b>Notre étude</b>	<b>57</b>	<b>34</b>
Hogdall et al, 2003. [23]	181	52.5
Hellstrom et al, 2001. [29]	20	25 (stade III et IV)
Berchuck et al, 1997. [6]	73	32
Meden et al, 1997. [26]	275	19
Wu et al, 2004. [7]	48	12 (stade I et II)
Feng et al, 2008. [30]	51	23.5

## CONCLUSIONS

La thérapie ciblée améliorerait la prise en charge des cancers épithéliales de l'ovaire, d'où l'intérêt de développer l'évaluation de l'expression des récepteurs épidermiques de facteur de croissance comme le trastuzumab (Herceptin®), afin d'augmenter la survie et la qualité de vie.

## Références bibliographiques

- [1] Scully RE, Young RH, Clement PB (1998) Tumors of the ovary, mal developed gonads, fallopian tube and broad ligament. Atlas of tumor pathology AFIP Press
- Piette F, Spano JP, Chaibi P, et al. (2010) Oncogériatrie : une évidence épidémiologique. Presse Med 39: 208–215
- Kim JW, Kim HP, Im SA et al. (2008) The growth inhibitory effect of lapatinib, a dual inhibitor of EGFR and HER2 tyrosine kinase, in gastric cancer cell lines. Cancer Letters 272: 296–306
- Hynes NE, Stern DF (1994) The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer. Biochim Biophys Acta 1198: 165–84
- Donahue R S, Kramer J, Fischer C A et al. (1989) Oncogene expression in vivo by ovarian adenocarcinomas and mixed-Mullerian tumors. Yule J Biof Med 62: 379–3
- Berchuck A, Kamel A, Whitaker R et al. (1990) Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. Cancer Res 50: 4087–4091
- Wu Y, Soslow RA, Marshall D S et al. (2004) Her-2/neu expression and amplification in early stage ovarian surface epithelial neoplasms. Gynecologic Oncology 95: 570–575
- Slamon D J, Clark G hf, Wong S G et al. (1987) Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 235: 177–182
- Fukushige S, Matsubara K, Yoshida al. (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. Mol Cell Biol 6: 955–958
- Maguire H C, Jaworsky C, Cohen JA et al. (1989) Distribution of neu (c-erbB-2) protein in human skin. J Invest Dermatol 92: 786–790
- Okines A F C, Cunningham D (2010) Trastuzumab in gastric cancer. European journal of cancer 46: 1949–1959
- Power D G, Kelsen D P, Shah M A (2010) Advanced gastric cancer – Slow but steady progress. Cancer Treatment Reviews 36: 384–392
- Chéreau E, Ballester M, Lesieur B et al. (2011) Complications de la chirurgie radicale des cancers de l'ovaire de stade avancé. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 39: 21–27
- Berek J S, Crum C, Friedlander M (2012) Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. International Journal of Gynecology & Obstetrics 119 S2: 118–129
- Ng J S, Low J J H, Ilancheran A (2012) Epithelial ovarian cancer. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 26: 337–345
- Guppy AE, Nathan P D, Rustin G J S (2005) Epithelial Ovarian Cancer: A Review of Current Management. Clinical Oncology 17: 399–411
- Murdoch WJ, McDonnell AC (2002) Roles of the ovarian surface epithelium in ovulation and carcinogenesis. Reproduction 123:743–50
- Stuart GC (2003) First-line treatment regimens and the role of consolidation therapy in advanced ovarian cancer. Gynecol Oncol 90 (3 Pt. 2): S8–15
- Slamon DJ, Clark GM (1988) Amplification of c-erbB-2 and aggressive human breast tumors. Science 240: 1795–8
- Aaronson S A (1991) Growth factors and cancer, Science 254: 1146–1153
- Hung MC, Lau YK (1999) Basic science of HER-2/neu: a review. Semin Oncol 26:51–9
- Kaptain S, Tan LK, Chen B (2001) Her-2/neu and breast cancer. Diagn Mol Pathol 10: 139– 52
- Hogdall EV, Christensen L, Kjaer SK et al.(2003) Distribution of HER-2 overexpression in ovarian carcinoma tissue and its prognostic value in patients with ovarian carcinoma: from the Danish MALOVA Ovarian Cancer Study. Cancer 98: 66–73
- Lassus H, Leminen A, Vayrynen A et al. (2004) ERBB2 amplification is superior to protein expression status in predicting patient outcome in serous ovarian carcinoma. Gynecol Oncol 92: 31–9
- Haldane JS, Hird V, Hughes CM et al. (1990) C-erbB-2 oncogene expression in ovarian cancer. H Pathol 162: 231–237
- Meden H, Marx D R V, Kron M et al. (1994) Overexpression of the oncogene c-erbB-2 in primary ovarian cancer. Evaluation of the prognostic value in a Cox proportional hazards multiple regression. Int J Gynecol Pathol 13: 45–53
- Ferrandina G, Ranelletti FO, Lauriola L et al. (2002) Cyclooxygenase-2 (COX-2), epidermal growth factor receptor (EGFR), and Her-2/neu expression in ovarian cancer. Gynecol Oncol 85(2): 305–10
- Kacinski B M, Mayer A G F, King Bonnie L et al. (1992) Neu protein overexpression in benign, borderline, and malignant ovarian neoplasms. Gynecologic Oncology 44: 245–253
- Hellström I, Goodman G, Pullman J, Yang Y, Hellström KE. Overexpression of HER-2 in ovarian carcinomas. Cancer Res. 2001 Mar 15; 61(6):2420-3.
- Feng Q, Deftereos G, Hawes SE, Stern JE, et al. DNA hypermethylation, Her-2/neu overexpression and p53 mutations in ovarian carcinoma. Gynecologic Oncology 2008; 11: 320–329.

*Article Original*

**Cancers de l'estomac au Sidi Bel Abbes : 168 cas**

**Stomach cancers in Sidi Bel Abbes : 168 cases**

Agher N, Tou A, Benamar H, Moulessehou S

*Carcinol Clin Afrique 2012 ; 11(1-2) : 17-18*

# Cancers de l'estomac au Sidi Bel Abbes : 168 cas

## Stomach cancers in Sidi Bel Abbes : 168 cases

Agher N\*, Tou A\*, Benamar H\*, Moulessehoul S\*\*

\*Service d'Anatomo-Cyto-Pathologiques Centre Hospitalo-Universitaire

\*\*Université Djilali Liabes, Faculté des Sciences  
Sidi Bel Abbes, Algérie (nawel.agher@yahoo.fr)

### RÉSUMÉ

Notre objectif a été d'effectuer une revue descriptive et histopathologique des cancers de l'estomac dans la Wilaya de Sidi Bel Abbes, afin d'en apprécier l'ampleur dans la région.

Nous avons ainsi réalisé une étude hospitalière, de janvier 2002 à janvier 2012, basée sur les données du Laboratoire d'Anatomie pathologique.

Au cours de la période d'études, nous avons enregistré 885 pathologies gastro-intestinales, analysées microscopiquement par 100 biopsies et 68 pièces opératoires, ayant concerné tant les hommes que les femmes. L'âge moyen était de 68,5 ans, avec deux pics dans les deux sexes. Le type histologique dominant a été l'adénocarcinome et nous avons enregistré la forme particulière de tumeur stromale.

**Mots clés :** cancer, estomac, Sidi Bel Abbes

### SUMMARY

Our objective was to make a descriptive and pathological review of gastric cancers in the wilaya of Sidi Bel Abbes and to appreciate the burden of this disease in the area.

We had conducted an hospital study, since January 2002 to January 2012, based on data collected in the pathological laboratory.

During this period, we had registred 885 gastric cancers among 885 gastro-intestinal pathologies. These 168 gastric

cancers were analysed by biopsies (100 cases) and surgical specimens (68 cases). It was about 58 % of men and 42 % of women, the average age was 68.5 years and there was two peak in the two sexes. The predominant histological type was the adenocarcinoma and we had also a particular type named gastrointestinal stromal tumor (GIST).

**Key words :** cancer, stomach, Sidi Bel Abbes

### INTRODUCTION

Les progrès enregistrés dans l'utilisation de la fibroscopie eso-gastrique ont permis de mettre en évidence la place des cancers gastriques en pathologie digestive (1). A partir des données obtenues en Anatomo-pathologie, nous avons jugé important d'étudier le poids des cancers gastriques dans la wilaya de Sidi Bel Abbes en Algérie.

### MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'étude que nous avons réalisée, a été descriptive, rétrospective au Laboratoire d'Anatomie et cytologie pathologiques du CHU de Sidi Bel Abbes en Algérie. Elle avait été menée de janvier 2002 à janvier 2012. Les analyses microscopiques avaient été effectuées sur fragment de biopsie per endoscopique et sur pièces opératoires en provenance des Services de Gastroentérologie, de Chirurgie et des urgences ; fixés dans le formol à 10 %.

Les prélèvements ainsi obtenus étaient confectionnés en bloc de paraffine et colorés selon la technique conventionnelle. Pour certaines lames, une deuxième lecture était programmée à la réception de renseignements cliniques complémentaires.

### RÉSULTATS

Durant la période d'étude, 885 cas de pathologies gastro-intestinales ont été reçus dans le Laboratoire, 168 (18,9 %) étaient de localisation gastrique et de nature maligne. Le matériel reçu au laboratoire était composé de 100 (60 %) prélèvements biopsiques endoscopiques et 68 (40 %) pièces opératoires. Ces prélèvements avaient concerné 98 hommes (58 %) et 70 femmes (42 %) avec un rythme annuel de 4 à 34 prélèvements.

La gamme d'âges était large de 17 à 95 ans et deux pics entre 59-78 ans pour les hommes et 69-78 pour les femmes. Les types histologiques rencontrés ont été rassemblés dans le tableau II

**TABLEAU I**  
répartition des patients selon les tranches d'âges et le sexe

Tranches d'âges en ans	Hommes	Femmes	Total	%
17 - 26	1	3	4	2,4
27 - 38	10	6	16	8,5
39 - 48	10	11	21	12,5
49 - 58	17	14	31	18,5
59 - 68	27	12	39	23,2
69 - 78	27	18	45	26,8
79 et plus	6	6	12	7,1
<b>TOTAL</b>	<b>98</b>	<b>70</b>	<b>168</b>	<b>100</b>



## DISCUSSION

La faible proportion des cancers bronchiques primitifs en milieu hospitalier africain a été confirmée par d'autres auteurs africains, M'Bra en Côte d'Ivoire (4) et Diallo au Mali (5). En effet dans tous les cas, cette pathologie ne représente que moins de 10 %, sauf en milieu chirurgical très spécialisé.

La nécessité d'une longue durée de consommation, la classique donnée sociale de prédominance masculine dans la consommation tabagique, vont expliquer les chiffres similaires rencontrés tant en Afrique (4,5) qu'en Occident (6) pour le sexe et l'âge moyen. Le décalage remarqué par rapport à l'âge plus élevé en France (6) semble bien attribuable à une espérance de vie supérieure.

Il sied important de noter que le niveau moyen de consommation tabagique dans notre série est presque deux fois plus élevé que dans les autres pays africains (4,5).

Cliniquement nos données rejoignent les différentes publications tant occidentales qu'africaines (2,4,6) pour

relever la place de l'altération de l'état général et des signes fonctionnels respiratoires.

Trois difficultés essentielles à souligner :

- Le délai diagnostique long, double de celui observé par Blanchon en France (6), l'explication étant les ruptures fréquentes des consommables au Laboratoire et le petit nombre de pathologistes
- Le coût de la chimiothérapie, hors de portée pour la majorité de la population, réduit sensiblement son utilisation
- Les interruptions fréquentes du Service de Radiothérapie, obligeant à l'évacuation sanitaire à l'étranger pour les malades indiqués et qui en ont les moyens financiers

Une lutte organisée contre le tabac, une planification sérieuse de formation des praticiens de prise en charge de ces cancers et d'équipements appropriés des établissements concernés sont autant d'actions qui aboutiraient à l'amélioration de la situation.

## RÉFÉRENCES

1-Thiberville L, Paris C

Epidémiologie et facteurs de risque des cancers bronchiques primitifs  
EMC-Pneumologie 2003 ; (6-002-G-05)

2-Pages ON, Bouillet T et Morère JF

cancer bronchique non à petites cellules in Morère JF, Mornex F, Soulières D Thérapeutique du cancer  
Paris Springer 2011, 219-22

3-Mountain CF

Revisions in the international system for staging lung cancer  
Chest 1997; 111: 1710-7

4-M'Bra K, Daix A, Touré M et al

Aspects épidémiologiques et anatomo-cliniques des cancers broncho-pulmonaires au CHU de Treichville  
Med Afr Noire 2005 ; 52 : 661-4

5-Diallo S, Kaptué Y, Sissoko F et al

Problématique du cancer bronchique dans le Service de Pneumologie de l'Hôpital Point G, Bamako, Mali  
Mali Médical 2006 ; 21 : 4-7

6-Blanchon F, Grivaux M, Collon T et al

Epidémiologie du cancer bronchique primitif pris en charge dans les centres hospitaliers généraux français  
Rev Mal Respir 2002 ; 19 : 727-34

# Annexes

## ANNEXE 01

### I. Les techniques histologiques usuelles (standard)

La qualité des prélèvements conditionne la qualité de l'étude anatomopathologique, en s'assurant de la bonne réalisation des techniques histologiques des prélèvements.

#### I. 1. Enregistrement

Les prélèvements sont acheminés au service de pathologie (anatomie et de cytologie pathologiques) du CHUSBA et accompagnés d'une fiche de renseignements remplie par le médecin prescripteur, qui doit mentionner :

- ☞ L'identité du patient : nom, prénom, sexe, profession.
- ☞ La date (jour et heure).
- ☞ Le siège anatomo-clinique
- ☞ La nature du prélèvement (biopsie ou pièce chirurgicales).
- ☞ Les hypothèses diagnostiques.
- ☞ L'aspect macroscopique ou endoscopique des lésions (un compte-rendu opératoire peut être utilement joint) ; éventuellement l'aspect d'imagerie.
- ☞ Les antécédents pathologiques du patient, en particulier, dans la mesure du possible, les antécédents d'exams anatomopathologiques effectués dans un autre laboratoire. La nature des traitements éventuellement administrés au malade.
- ☞ le nom et coordonnées du médecin prescripteur et du préleveur et des autres médecins correspondants.

Le prélèvement est codifié par un numéro d'identification qui sera retranscrit sur les blocs et les lames.

---

## **I. 2. Fixation des prélèvements**

Le prélèvement doit être rapidement conditionné (pour éviter les phénomènes de putréfaction) soit par fixation, soit par congélation.

Dans le cas de nos échantillons, il s'agit d'une fixation permettant la conservation de la morphologie des tissus et des cellules en assurant l'immobilisation des constituants cellulaires ou tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, en utilisant le liquide fixateur le plus utilisé pour l'examen en microscopie photonique est le formaldéhyde « formol » tamponné à 10% dans un volume de fixateur suffisant (au moins 10 fois le volume de la pièce), dans un récipient assez grand pour ne pas déformer le prélèvement pendant 4 à 6 h pour les biopsies, 24 h au moins pour les pièces opératoires.

## **I. 3. Étude macroscopique (description et mise en cassettes)**

L'examen macroscopique a une importance capitale pour l'examen histologique et le diagnostic. Il permet de sélectionner les territoires à prélever pour l'étude microscopique (zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse) en se basant sur la science descriptive à l'œil nu.

La description de nos pièces opératoires (les gastrectomies et les annexectomies ou hystérectomie totale...) doit porter sur les éléments suivants :

- ☞ Longueur et circonférences (ou diamètres) de la pièce ;
  - ☞ Aspect externe général (dilatation, rétrécissement, conglomérat d'anses, adhérences de segments d'organes voisins, etc.) ;
  - ☞ Aspect de la paroi : épaisseur, anomalies (hypertrophie, amincissement, dilatation, diverticules, etc.) ;
-

- ☞ Aspect de la muqueuse : conservation ou perte des plis, oedème, hémorragie, ulcération (nombre, dimensions et situation : pré ou antimésentérique, distance par rapport aux bords de résection chirurgicale); dans nos échantillons tumorales, insisté sur l'aspect macroscopique
- ☞ Présence des ulcéro-végétants, taille, extension par rapport à la circonférence, profondeur d'invasion (mésentère, séreuse), perforation, infiltration de structures adjacentes (structure pelviennes, etc), infiltration tumorale ;
- ☞ Ganglions : leur situation en cas de tumeur doit être relevée avec exactitude et leur nombre doit aussi être précisé étant donné que celui-ci est requis dans la classification (plus spécialement dans le cas de nos carcinomes gastriques).

Après la précision de l'aspect macroscopique, on pratiquera des coupes et elles sont mises en cassettes.

Les biopsies (des biopsies gastriques, ovariennes et au niveau de la vessie) sont comptées et déposés dans un filtre pour empêcher leurs pertes, puis sont mises en cassettes en totalité.

Après le choix des coupes destinées à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires ou reprise de macroscopie.

#### **I.4. Inclusion** (déshydratation et imprégnation)

Après l'étape d'examen macroscopique, les tissus contenus dans les cassettes sont déshydratés par le passage dans un automate d'inclusion, dans une série de solvants organiques, qui assure :

---

○ **Déshydratation**

La déshydratation est nécessaire pour faire sortir l'eau présente dans les tissus, elle se fait par immersion de nos échantillons dans des bains successifs d'alcool à différents degrés par ordre croissant 75°, 95°, 100° suivi par trois bains d'acétone résidu et trois bains de xylène.

○ **Imprégnation**

Se fait par immersion de nos échantillons dans deux bains de paraffine fondue à 65°C pendant deux heures afin de préparer le tissu à la coupe.

**I. 5. L'enrobage**

Grâce à un appareil (EG) 1160, groupe thermoélectrique, qui a pour but à inclure le tissu imprégné dans un bloc de paraffine, nous avons pu avoir une forme rigide prête à la coupe.

**I. 6. Réalisation des coupes**

À l'aide d'un microtome rotatif de type RM 2235, nous avons réalisé des coupes de 3 à 5 µm d'épaisseur. Cette épaisseur permet aux rayons lumineux du microscope de traverser le prélèvement et d'éviter les superpositions cellulaires. La coupe est déposée et collée sur une lame en verre, De multiples coupes peuvent être faites pour les autres techniques complémentaires.

**I. 7. Coloration**

Pour que les colorants (des solutions aqueuses) pénètrent à l'intérieur du tissu et pour mieux reconnaître et visualiser les différents éléments tissulaires, nous avons procédé à un déparaffinage en mettant les lames dans une étuve à 250°C ensuite placer dans un portoir émergé dans un bain de xylène pendant 2 min ou par le toluène, puis les lames sont colorées

---

grâce à un automate par le passage dans des bains successifs. La coloration associe un colorant basique nucléaire (Hématoxyline) et un colorant acide cytoplasmique (Éosine).

### **I. 8. Montage**

Les lames colorées **doivent** être protégées pour rendre possible leur examen microscopique et leur conservation sans aucune altération, par une colle de verre EUKITT. Puis nous avons laissé les lames séchées soit à l'air libre ou dans une étuve pour quelque minute.

### **I. 9. Lecture microscopique**

La lecture dans cette étape de techniques a été faite par un microscope optique de type LEICA DM 1000 multiple têtes de grossissement, en commençant par le faible grossissement (X10), puis aux (X20) et (X40).

---

## ANNEXE 02

Bains d'immersion	Durée d'immersion	
Formol	1 heure	<b>FIXATION</b>
Alcool 75%	2 heures	<b>DESHYDRATATION</b>
Alcool 95%	1 heure	
Alcool 100%	1 heure	
Acétone résidu or évaporation <=0.001%	1 heure	
Acétone résidu or évaporation <=0.001%	1 heure	
Acétone résidu or évaporation <=0.001%	1 heure	
Xylène	1 heure	
Xylene	1 heure	
Xylene	1 heure	
Paraffine	2 heures	<b>IMPREGNATION</b>
Paraffine	2 heures	

---

**ANNEXE 03****Les bains de la coloration standard**

<b>Temps</b>	<b>Produit</b>	<b>Nombre du bain</b>
<b>2min</b>	Toluène or xylème	<b>1</b>
<b>2 min</b>	Alcool 100°	<b>2</b>
<b>2 min</b>	Alcool 95°	<b>3</b>
<b>2 min</b>	Alcool 75°	<b>4</b>
<b>10 seconds</b>	Eau	<b>5</b>
<b>5 min</b>	Hématoxyline Harris	<b>6</b>
<b>10 seconds</b>	Eau	<b>7</b>
<b>8 seconds</b>	Acide Hydrochlorique	<b>8</b>
<b>10 seconds</b>	Carbonate lithium	<b>9</b>
<b>10 seconds</b>	Eau	<b>10</b>
<b>1 min</b>	Alcool 95°	<b>11</b>
<b>10 seconds</b>	Eosine	<b>12</b>
<b>2 min</b>	Alcool 100°	<b>13</b>
<b>2 min</b>	Alcool 100°	<b>14</b>
<b>2 min</b>	Xylène or toluène	<b>15</b>

---

---

## ANNEXE 04

### BenchMark XT (VENTANA®)

L'appareil BenchMark® XT automatise l'immunomarquage des tissus, comporte quatre (04) composants principaux qui constituent un système :

- L'ordinateur et son logiciel.
- Le sous-ensemble de coloration (immunomarquage).
- Le sous-ensemble Automated Fluidics Subassembly (AFS – sous-ensemble Fluidics automatisé)
  - ☞ Le compresseur d'air situé dans l'AFS est contrôlé par le sous-ensemble de coloration.
  - ☞ Le compresseur d'air situé dans l'AFS alimente le sous-ensemble de coloration en air sous pression et en consommables via des tubulures en plastique (le sous-ensemble de coloration ne fonctionne pas sans air et consommables)
- Le sous-ensemble des récipients à déchets. (il s'agit de deux récipients de grande taille qui recueillent les déchets liquides lors de la coloration).

Le sous-ensemble BenchMark® XT de coloration concentre toutes les opérations de traitements des lames. Il comporte :

- ☞ Un carrousel de réactifs
  - ☞ Des moteurs
  - ☞ Des buses (nozzles)
  - ☞ Des tubulures
  - ☞ Des thermoPads distincts
  - ☞ Des valves
  - ☞ Un mécanisme de distribution
  - ☞ Un micro-ordinateur
  - ☞ Un lecteur de codes-barres
  - ☞ D'autres composants (récipients...)
-

---

**ANNEXE 05****Techniques de biologie moléculaire in situ : L'Hybridation In Situ Fluorescente (FISH)*****Préparation des lames***

- ☞ Nous avons coupé les blocs des lésions inclus en paraffine à : 3 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur (En dessous de 3  $\mu\text{m}$ , risque majeur de sur-digestion des noyaux et au-dessous de 5  $\mu\text{m}$ , risque important de superposition des noyaux).
- ☞ Étalement sur lames gélatinisées.
- ☞ Séchage des lames : 4 à 5 heures à 56°C ou 1 nuit à 37°C.
- ☞ Déparaffinage et réhydratation par 2 lavages au Xylène (5 à 10 minutes) ,2 bains d'alcool 96°C et 2 bains d'alcool 70°C pendant 2 minutes pour chacun.
- ☞ Puis nous avons mis nos lames dans un bain de solution de lavage(eau distillée ou tampon spécifique, nous avons utilisé Wash Buffer dilué à 1/20 H<sub>2</sub>O).

***Pré-traitement de la lame à la chaleur***

- ☞ Nous avons procédé à un prétraitement par une solution spéciale puis un préchauffage à 95°C au bain marie pendant 10 minutes à 98°C.
- ☞ Laisser refroidir à température ambiante pendant 15 minutes.
- ☞ Laver dans 2 bains de solution de lavage(eau distillée ou tampon spécifique, nous avons utilisé Wash Buffer dilué à 1/20 H<sub>2</sub>O) pendant 3 minutes.

***Digestion des tissus (Etape très délicate)***

- ☞ La pepsine est appliquée sous forme de gouttes pour recouvrir la coupe.
  - ☞ Faire l'étape de la digestion à température ambiante (37°C) pendant une durée conseillée de la sonde (6 minutes et 30 secondes).
-

- ☞ Finaliser cette étape avec un bain de lavage (eau distillée ou tampon spécifique, nous avons utilisé Wash Buffer dilué à 1/20 H<sub>2</sub>O) pendant 3 minutes.

### ***Déshydratation puis séchage de la lame***

- ☞ 3 bains d'alcool de 70°C, 85°C et 96°C successifs pendant 2 minutes pour chacun.
- ☞ Séchez les lames puis nous les avons mis dans la chambre humide dans l'obscurité.

### ***Dépôt de la sonde***

- ☞ A l'aide d'une micropipette, nous avons déposé la sonde (Probe flc3 HER2 probe) au centre de la lame puis nous avons mis lamelle en évitant la formation de bulles par le dépôt d'une colle du kit (converslip sealat) (Le volume de sondes peut être adapté à la grosseur du prélèvement).

### ***Dénaturation / Hybridation***

- ☞ Nous avons mis nos lames dans un thermobrite(annexe 06).
- ☞ Mettez-les dans la chambre humide puis dans l'étuve à 45°C pendant une nuit.

### ***Lavages post-hybridation***

Ils permettent d'éliminer l'excès de sondes (non spécifiquement fixés) après d'enlever délicatement les lamelles

- ☞ Porter la solution de lavage stringent à la température 65°C au bain-marie pendant 10 minutes (préparation de solution de lavage stringent Wash Buffer dilué à 1/20 avec 570 ml de l'eau distillée et 3ml de stringent Wash Buffer).
  - ☞ Deux bails de lavages stringent pendant 3 minutes pour chacun.
  - ☞ Puis nous avons déshydraté les tissus par 3 bains d'alcool de 70°C, 85°C et 96°C successifs pendant 2 minutes pour chacun.
-

- ☞ Laisser sécher à l'obscurité pendant 30 minutes.

### ***Montage***

- ☞ Appliquer 10 à 20  $\mu\text{L}$  de solution DAPI sur les lamelles
  - ☞ Stockage à l'obscurité au congélateur  $-20^{\circ}\text{C}$
  - ☞ En fin nous avons passé à la lecture au microscope à fluorescence .....avant 7 jours qui suivent.
-