جـــامـــعة دمـــــشق

كـلية الطـب البشـــري

قسم التشـريح المـرضي

دراسة نسبة تعبيرية مورثة "HER2/Neu" نسيجياً بواسطة التلوينات المناعية في سرطانات المعدة المستأصلة وعلاقتها مع النمط النسيجي للورم، وموقع الورم البدئي في المعدة والدرجة النسيجية ومرحلة الورم

بحث علمي أعدّ لنيل شهادة الدراسات العليا التخصّصيّة في التشريح المرضي

بإشراف

الأستاذة الدكتورة

لينا الحفار

برئاسة

الأستاذ الدكتور

وليد الصالح

إعداد

د.ميس أبو عون

2014

مخطط البحث

القسم الأول: الدراسة النظرية

مقدمة تشريحية-نسيجية

سرطان المعدة

لمحة عن عملية التسرطن وتطور الورم

التصنيف النسيجي لسرطان المعدة

الصفات الكيميائية المناعية النسيجية- والمجهرالالكتروني

الدرجة النسيجية

نظام TNM لوضع المرحلة الجراحية لسرطانات المعدة

انذار سرطان المعدة

لمحة عن بيولوجيا الجين HER2

تعبيرية المورثة HER2 في سرطانات المعدة الغدية

تعبيرية HER2-neu وعلاقتها مع المتغيرات الباثولوجية للورم

نظام قياس تعبيرية المورثة HER2-neu في سرطان المعدة

القسم الثاني: الدراسة العملية

ملخص الدراسة

هدف الدراسة

أهمية الدراسة

طريقة الدراسة

طريقة إجراء التلوينات المناعية

نتائج الدراسة

مناقشة النتائج ومقارنتها بالدراسات العالمية

الخلاصة

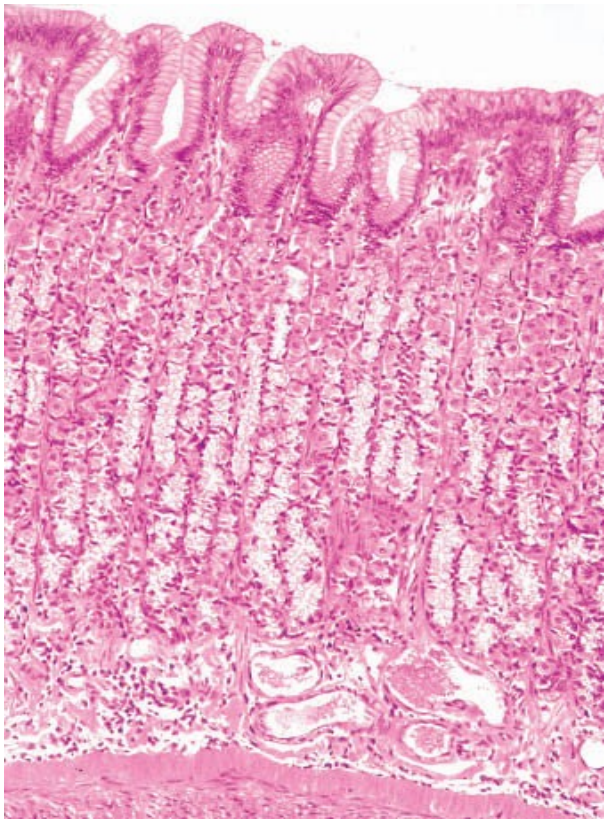
التوصيات

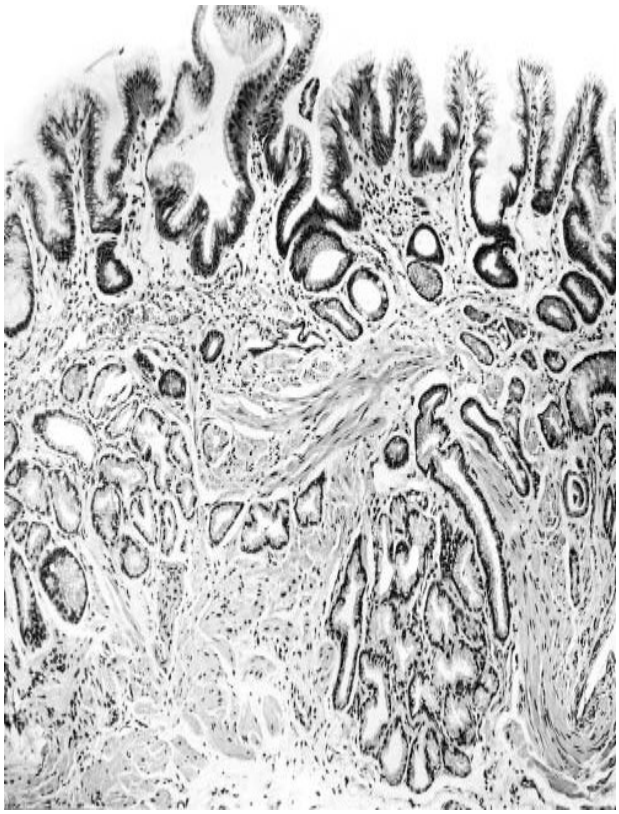
المراجع

القسم الأول
الدراسة النظرية

مقدمة تشريحية - نسيجية

المعدة هي عبارة عن كيس قابل للتمدد بحجم متغاير، تتواجد على بعد بضع سنتيمترات أسفل الحجاب الحاجز. تقسم المعدة إلى خمس مناطق حسب المتعارف عليه. الفؤاد هو منطقة غير محددة تماماً تتصل بالوصل المريئي المعدي. القاع هو الجزء العلوي من المعدة المتوضع فوق الوصل المريئي المعدي. الجسم هو الجزء الرئيسي من المعدة تحت القاع. الغار هو الجزء البعيد المفصول عن الجسم بالثلمة الزاوية. أخيرا، البواب وهو قناة ضيقة من 1 إلى 2 سم تمتد من الغار وتصل المعدة بالاثني عشر.





تشكل المخاطية المعدية عادة انثناءات خشنة (rugae)، والتي تكون بارزة أكثر في القاع والجسم وأقل بروزا في الغار. على المستوى النسيجي، تختلف المخاطية المعدية بحسب المناطق المختلفة ولكن يمكن تقسيمها عموماً إلى نمط قاعي (Fundic) و نمط غاري (Antral). تشاهد المخاطية ذات النمط القاعي في القاع والجسم وتتكون من غدد قاعية (حمضية) مكدسة بشدة وتشغل حوالي 80% من سماكة المخاطية.

يتألف الجزء السطحي (20%) من الخلايا النقيرية (faveolar) وهي خلايا طويلة و أسطوانية وتنتج حمض معتدل. تحتوي الغدد القاعية على خلايا مفرزة للحمض (خلايا جدارية parietal) وخلايا مفرزة للخمائر zymogenic (خلايا أساسية chief) والتي تتلون بالهيماتوكسيلين ايوزين باللون الزهري والأزرق، بالترتيب.

تشاهد المخاطية ذات النمط الغاري في الغار، البواب، والفؤاد، حيث تكون الغدد الأعمق أقل تكدساً ومفرزة للحمض، وتكون فيها نسبة الغدد المخاطية إلى الطبقة النقيرية فوقها هي تقريباً 1:1.

تحتوي الصفيحة الخاصة في المعدة فقط على عدد ضئيل من الخلايا اللمفاوية، البلازمية، الايوزينيات، والخلايا البدينة. تشابه الطبقة تحت المخاطية، العضلية بالخاصة، والمصلية نسيجياً تلك الموجودة في الأمعاء.[1]

سرطان المعدة Gastric Cancer

مقدمة

يحتل سرطان المعدة المرتبة الثانية من حيث الشيوع من بين السرطانات في العالم. سجلت 800000 حالة جديدة و 650000 حالة وفاة سنوياً، رغم الانحدار الثابت في الحدوث خلال الخمسين سنة الماضية[1].

السرطانة الغدية هي الخباثة الأشيع في المعدة، وتشكل أكثر من 90% من سرطانات المعدة. تشابه الأعراض الباكرة تلك المرافقة لالتهاب المعدة المزمن، وتتضمن عسر الهضم وعسر البلع والغثيان. نتيجة لذلك، غالباً ما تكشف هذه الأورام في مراحل متقدمة، حيث تكون الاعراض المتأخرة كنقص الوزن ونقص الشهية وتبدلات العادات المعوية وفقر الدم والنزف موجهة نحو تقييم تشخيصي أعمق.

الوبائيات Epidemiology

انتشار سرطان المعدة يختلف بشكل واضح جغرافيا. في اليابان، شيلي، كوستا ريكا وشرق أوروبا تزيد نسبة الحدوث ب 20 ضعفعن أميركا الشمالية، وشمال أوروبا ، وافريقيا والجنوب الشرقي لاسيا. يمكن ان تكون البرامج التنظيرية المسحية الشاملة ناجحة في المناطق ذات الحدوث العالي، مثل اليابان، حيث تكون 35% من الحالات المكتشفة الجديدة هي في مرحلة السرطان الباكر، و في مرحلة الورم المحدود في المخاطية وتحت المخاطية.

لسوء الحظ، هذه البرامج المسحية الشاملة لا تكون فعالة من حيث التكلفة في المناطق ذات الحدوث المنخفض، مثل اميركا الشمالية وشمال أوروبا، حيث تكون أقل من 20% من الحالات المكتشفة هي في المرحلة الباكرة[2].

في الولايات المتحدة، هبطت معدلات سرطان المعدة لأكثر من 85% خلال القرن العشرين [3]. السرطانة الغدية في المعدة كانت السبب الأشيع للوفاة بسبب السرطان في الولايات المتحدة في عام 1930 وما زالت

سببا للوفاة بسبب السرطان حول العالم ، لكنها حاليا تشكل اقل من 2.5% من اسباب الوفاة السرطانية في الولايات المتحدة.

حالات هبوط مماثلة كانت قد سجلت في عدة بلدان غربية اخرى، مما يقترح مسؤولية العوامل البيئية والحمية.[3] بشكل متوافق مع هذا الاستنتاج ، أظهرت الدراسات على الأشخاص المهاجرين من مناطق ذات حدوث عالي الى مناطق ذات حدوث منخفض أن معدلات حدوث سرطان المعدة في الجيل الثاني من المهاجرين مماثلة لتلك الموجودة في مناطق اقامتهم الجديدة.

إن السبب وراء الهبوط الاجمالي في حدوث سرطان المعدة غير معروف. هناك سبب واحد يمكن أن يفسر ذلك وهو تناقص استهلاك المواد المسرطنة الغذائية ، مثل مركبات النتروز والبنزوبيرين، وذلك بسبب نقص استخدام الملح والدخان لحفظ الطعام، والانتشار الواسع للأطعمة المجمدة. بشكل معاكس، إن تناول الخضراوات الورقية الخضراء والحمضيات التي تحتوي على مضادات أكسدة مثل فيتامين C ،فيتامين E والبيتا كاروتين والتي تتوافق مع معدل خطورة منخفض لسرطان المعدة ، هو أمر ازداد نتيجة تحسن وسائل نقل الاطعمة.

يعتبرسرطان المعدة أكثر شيوعا في المجتمعات ذات المستوى الاقتصادي والاجتماعي المتدني وعند المرضى الذين يبدون ضموراَ معدياًمتعدد البؤر وحؤولاً معوياً

لا يزيد داء القرحة الهضمية (PUD) بحد ذاته من خطورة حدوث سرطان المعدة ، ولكن المرضى الذين يخضعون لاستئصال معدة جزئي بسبب ال قرحة الهضمية يكون لديهم ارتفاع طفيف في معدل الخطورة لحدوث السرطان في جزء المعدة المتبقي بعد الاستئصال كنتيجة لنقص الهيدروكلورية ، القلس الصفراوي، والتهاب المعدة المزمن[2].

على الرغم من الهبوط الحاصل في معدل حدوث سرطان المعدة، الا أن حدوث سرطان فؤاد المعدة هو في ارتفاع. والذي له علاقة بمري باريت على الأرجح وقد يعكس الزيادة في حدوث داء القلس المعدي المريئي المزمن والبدانة.[4] بشكل منسجم مع هذه الفرضية الامراضية الشائعة، فان الكارسينوما الغدية في المري الانتهائي والكارسينوما الغدية في فؤاد المعدة متشابهتان في المظهر الشكلي، السلوك السريري، والاستجابة العلاجية.[5][6][7]

الصفات العامة – وعوامل الاختطار

ترتبط امراضية سرطان المعدة بالعوامل البيئي ة[8].فقد لوحظ انخفاض حدوثه في بعض البلدان، مثل الولايات المتحدة وبريطانيا، [9][10][11][12] ولكنه بقي مرتفعا في أخرى، مثل اليابان، تشيلي، وايطاليا. [13] بكل الاحوال، هناك أدلة متزايدة على أن التأهب الجيني يلعب دوراً مهماً على الأقل عند نسبة معينة من المرضى، كما هو مقترح من خلال واقع أن الاصابات العائلية بهذا المرض تشاهد في حوالي 10% من الحالات .[14][15]

أغلب المرضى هم في الخمسين من العمر [16]، لكن تم تسجيل حالات لمرضى شباب وحتى أطفال.[17][18][19][20] تشتق كل كارسينومات المعدة عملياً من الخلايا القاعدية أو المولدة في النقيرات، [21] وفي أغلب الحالات على خلفية من التهاب معدة ضموري مع حؤول معوي وتكون مسبوقة بمراحل متعددة من سوء التنسج (*dysplasia*) والكارسينوما المحصورة ضمن البشرة (CIS) والكارسينوما السطحية. [22][23] يمكن أن تنشأ بعض الحالات على نسيج بنكرياسي هاجر أو على الكيسات البشروية تحت المخاطية في جدار المعدة،[24] ولكن يعتبر هذا حدثًا استثنائياً.

يترافق سرطان المعدة مع نقص في الهيدروكلورية في حوالي 85% الى 90% من الحالات، كما يظهر أن نقص الهيدروكلورية يؤهب لسرطان المعدة خلال عدة سنوات. يقترح أن المستوى العالي لعامل الباهاء PH داخل المعدة، يحرض على نمو البكتيريا والتي بدورها تحول النترات الغذائية الى نتريت وبعد ذلك يتم تحويل الأمينات الغذائية بوجود هذا النتريت، الى مكونات النتروزو_ن المسرطنة[25].

من الشائع ترافق التهاب المعدة الضموري مع الكارسينوما، ولكن السببيات الامراضية التي تربط بين الاثنين والاختطار النسبي للتحول للخباثة في الحالة السابقة يبقى موضع جدل[26][23][27][28][29].

يمكن أن ينطبق نفس هذا الكلام على مرضى فقر الدم الوبيل؛ حيث أن معدل تطور الكارسينوما،على الرغم من أنه يزداد احصائيا، الا أنه لا يعتبر مرتفعاً كفاية لتطبيق مراقبة دورية عند المرضى اللاعرضيين[30].

مؤخراً، تم ربط الملويات البوابية كعامل امراضي سببي في سرطان المعدة من خلال دورها في احداث التهاب المعدة المزمن[31][32].

كان قد اقترح أن الورم الموصوف وبائيا وبالصفات التسلسلية المرافقة المذكورة أعلاه يمثل نمط اً معيناً واحداً من كارسينوما المعدة، النمط الأكثر شيوعا؛ وهو يشير الى **النمط المعوي** من الكارسينوما الغدية حسب تصنيف لورين[33]. النمط الآخر، الذي يوصف **بالنمط المنتشر**، لا يبدي تلك المرافقات ويميل لأن يكون أقل ارتباطاً بالتأثير البيئي[34].

لذلك، يبدو أن المناطق ذات معدل الحدوث المرتفع يغلب فيها النمط المعوي من الكارسينوما؛ وعلاوة على ذلك، عندما تبدي جمهرة ما انحداراً في حدوث سرطان المعدة، فان هذا الهبوط يكون بشكل مبدئي على حساب ذلك النمط المجهري[35][16][26][36].

العوامل الأخرى التي يعتقد أنها تدخل في امراضية سرطان المعدة هي بوليبات المعدة، داء مينيتيرييه، القرحة المعدية، والنهاية القاصية للمعدة المتبقية بعد الاستئصال. لقد سجلت حالات من سرطان المعدة عند مرضى شباب تالية للتشعيع والعلاج الكيماوي لأورام اخرى. في بعض الأحيان، تشاهد الكارسينوما الغدية المعدية مترافقة مع الكارسينوما الشائكة في المري[37].

الامراضية Pathogenesis

على الرغم من أن القسم الأعظم من سرطانات المعدة هي ليست وراثية، الا ان الطفرات المكتشفة في الحالات العائلية من سرطان المعدة كانت قد قدمت رؤية مهمة في آلية التسرطن في الحالات الافرادية.

تترافق طفرات الجيل الجرثومي في **CDH1** ، والتي ترمز لبروتين (E-cadherin) **الكادرينE**، والذي بدوره يسهم في الالتصاق بين الخلايا الظهارية، مع حالات سرطان المعدة العائلية والتي تكون عادة من النمط المنتشر.تتواجد طفرات CDH1 في حوالي 50% من حالات سرطان المعدة الافرادية ذات النمط المنتشر، بينما تبدي تعبيرية الكادرين انخفاضا شديدا في الباقي، عادة من خلال مثيلة methylation محرض الCDH1.

الى هذه النقطة يظهر أن فقدان وظيفة الكادرينE هو الخطوة الاساسية في تطور سرطان المعدة المنتشر. مع ملاحظة ان طفرات ال CDH1 أيضا شائعة في الحالات الافرادية والعائلية من الكارسينوما الفصيصية في الثدي، والتي تميل أيضا لأن ترتشح كخلايا مفردة، والمرضى الذين لديهم طفرات في BRCA2 يبدون معدل خطورة أعلى لتطوير سرطان معدة منتشر.

بالمقارنة مع سرطان المعدة المنتشر، هناك معدل خطورة مرتفع للاصابة بسرطان المعدة من النمط المعوي عند المرضى المصابين بداء البوليبات الغدية العائلي، وبشكل خاص في اليابان. مما يدل ضمنياً على التأثر بين الخلفية الوراثية للثوي والعوامل البيئية، حيث أن معدل خطورة الاصابة بسرطان المعدة يرتفع بشكل أقل وضوحاً عند المرضى المصابين بداء البوليبات الغدية العائلي المقيمين في مناطق هي ذات معدل حدوث منخفض لسرطان المعدة.ان الطفرات في البيتا كاتينين، والذي هو بروتين يرتبط بكل من الكادرين E وداء السلائل الغدية الكولوني الورمي، بالاضافة الى عدم استقرار في متوالية الـ DNA وزيادة المثيلة في العديد من الجينات متضمنة TGFβRII, BAX, IGFRII, and p16/INK4a توصف جميعها أيضا في سرطان المعدة الافرادي من النمط المعوي.

ان الانماط الجينية المتفاوتة من الجينات السابقة للالتهاب وجينات الاستجابة المناعية، متضمنة تلك المرمزة لكل من IL-1β, TNF, IL-10, IL-8, and Toll-like receptor 4 (TLR4) ، تترافق جميعها مع ارتفاع في معدل خطورة سرطان المعدة وذلك عند تشاركها مع الالتهاب بالملويات البوابية، وتتواجد طفرات ال **P53**

في القسم الاعظم من حالات سرطان المعدة الافرادي بكلا النمطين النسيجيين. لذلك، وعلى الرغم من ان التتالي النوعي للأحداث ليس معروفا بعد، الا أنه من الواضح ان الالتهاب المزمن يحرض التطور الورمي.

الموقع التشريحي ANATOMIC DISTRIBUTION:

سرطان الفؤاد

لوحظ وجود تبدل وبائي مهم في كل من موقع وتواتر حدوث سرطان المعدة على مدى العقود القليلة السابقة, متمثلة بزيادة في حدوث السرطانة الغدية في منطقة الفؤاد [1]. السبب في هذا التبدل الظاهر في الموقع التشريحي لسرطان المعدة هو مثار للجدل. حيث أنه لايوجد اتفاق موحد في العالم حول التعريف التشريحي لموقع فؤاد المعدة، ومن غير الواضح فيما اذا كانت الحالات المشخصة سابقا كسرطان فؤاد المعدة هي في الحقيقة سرطان مري انتهائي يمتد ليصيب فؤاد المعدة.

مؤخراً، أقرت الجمعية العالمية لسرطان المعدة نظام تصنيف جديد لأورام المعدة. في هذا التصنيف، ينشأ النمط الأول من الأورام من المري الانتهائي، والنمط الثاني من فؤاد المعدة، أما النمط الثالث فهي الاورام التي تنشأ من مخاطية المعدة وحشي الفؤاد. لسوء الحظ، لم يشر نظام التصنيف هذا الى صفات كل نمط من هذه الاورام الناشئة من هذه المواقع التشريحية. من المثير للاهتمام، أن هذه الزيادة في سرطان فؤاد المعدة والتي لوحظت في العقود القليلة الماضية أظهرت توزعا جغرافيا محصورا. مثلا، الدراسات من اسكندنافيا واليابان كانت قد عجزت عن تسجيل هذه النزعة للزيادة.

اقترح بعض الباحثين ان الاستخدام الواسع للتنظير، وتحسن وسائل التشخيص، هو المسؤول عن التغير الظاهر في توزع سرطان المعدة خلال عدة عقود ماضية .

هناك عدة اختلافات معروفة جيداً بين سرطانات الفؤاد وتلك الناشئة من القسم القاصي للمعدة. المرضى المصابون بسرطان الفؤاد يبدون نسبة عالية لاصابة الذكور الى الاناث، والبيض هم أكثر عرضةً للاصابة من الافارقة الامريكيين.

هناك أيضا عدة تشابهات بين الكارسينوما الغدية في الفؤاد وفي المري، وذلك مثل التشابه في عوامل الخطورة، العمر والتوزع، و أنماط الاشكال المورفولوجية. ومن ناحية ثانية، على عكس سرطان المري، لا تعتبر البدانة، أوارتفاع معدل كتلة الجسم، أوالتدخين، أوالكحول من عوامل الخطورة لسرطان الفؤاد. بشكل مماثل، فان الترافق بين سرطان الفؤاد وبين مري باريت و داء القلس المعدي المريئي هو أيضاً خاضع للنقاش.

تظهر بعض الدراسات أهمية ترافق سرطان الفؤاد مع العمر المتقدم للمريض، أوالانتان بالملويات البوابية، أوالحؤول المعوي في مكان آخر من المعدة. بينما تظهر دراسات أخرى، ترافق سرطان الفؤاد مع الداء القلسي. يقترح البعض أن كلا السببين يلعب دوراً في امراضية سرطان الفؤاد.

على الرغم من أن تواجد الحؤول المعوي في المخاطية المجاورة لكارسينوما الفؤاد فيما يصل الى 70% من الحالات، الا أن الدراسات الاستباقية على المرضى الذين يبدون حؤولا معويا لم تستطع تحديد الخطر الحقيقي في التحول نحو الخباثة عند هؤلاء المرضى. بعض الدراسات تظهر أن تطور الحؤول المعوي نحو خلل التنسج هو أبطأ، وأقل حدوثا مما هو عليه في مري باريت. بصورة عامة، فان وجود الحؤول المعوي في فؤاد المعدة لا يشكل مشعرا مطلقا للمراقبة التنظيرية الدورية[1].

لمحة عن عملية التسرطن وتطور الورم

إن المظاهر النسيجية للسرطانات والآفات قبيل السرطانية المفترضة هي التظاهرات الخارجية لتغيرات جينية و فوق جينية (Epigenetic) تقود عملية التسرطن. يفترض أحد نماذج التسرطن بأن الخلية الطبيعية يجب أن تمتلك عدة قدرات جديدة حتى تصبح خبيثة. يمكن الوصول إلى كل منها عبر تغيير في فعالية واحدة من عدة مورثات تنظم التفاعلات الخلوية[38].

التغيرات الأساسية السبعة هي التالية:

- الاكتفاء الذاتي في إشارات تحريض النمو: تمتلك الأورام القدرة على التكاثر دون محرض خارجي، عادة عبر تفعيل جين ورمي Oncogene.
- عدم الحساسية لإشارات تثبيط النمو: لا تستجيب الأورام عادة للجزيئات المثبطة للتكاثر مثل (TGF-β) و (CDKIs).
- الهروب من الاستماتة (Apoptosis): تقاوم الأورام موت الخلية المبرمج كنتيجة لتثبيط p53 أو لتفعيل الجينات المثبطة للاستماتة Anti-apoptotic genes.
- إمكانية التضاعف غير المحدودة: لخلايا الورم قدرة تكاثرية غير محدودة، متجنبةً التشيخ الخلوي والتحطم الإنقسامي.
- تولد أوعية مستمر: تحتاج خلايا الورم –كالخلايا الطبيعية- لكي تنمو إلى تشكيل مصدر وعائي لتأمين المغذيات و الأوكسيجين و إزالة الفضلات. لذلك تحرض الأورام تولد الأوعية.
- إمكانية الغزو و الانتقال: تسبب النقائل معظم الوفيات الناتجة عن السرطان و تعتمد على عمليات داخلية في الخلية أو تنشأ من إشارات من البيئة النسيجية.
- عيوب في إصلاح الدنا DNA: يمكن أن تفشل الأورام في إصلاح خلل الدنا الناتج عن الجينات الورمية أو من التكاثر الخلوي الغير منتظم مما يقود إلى عدم استقرار جينومي و طفرات في طليعة الجينة الورمية أو الجينات المثبطة للورم.

التصنيف النسيجي لسرطان المعدة

Histologic Classification of Gastric Tumors WHO-2010:

Adenocarcinoma

- Papillary adenocarcinoma
- Tubular adenocarcinoma
- Mucinous adenocarcinoma
- Poorly cohesive carcinomas,
- including diffuse and signet-ring
- cell carcinoma and other
- variants
- Mixed carcinoma

Adenosquamous carcinoma

Carcinoma with lymphoid stroma
(medullary carcinoma)

Hepatoid adenocarcinoma

Squamous cell carcinoma

Undifferentiated carcinoma

Neuroendocrine carcinoma

- Large cell neuroendocrine carcinoma
- Small cell neuroendocrine carcinoma
- Mixed adenoneuroendocrine carcinoma

لا يميز هذا التصنيف بين نمطي الكارسينوما المعدية المعوي والمنتشر – خلافا للتصنيف السابق سنة 2000- إلا انه يتضمن signet-ring Carcinoma ضمن فئة الكارسينوما قليلة التماسك. ولذلك، يمكن استخدام تصنيف لورين بالترافق مع تصنيف WHO حسب توصيات College Of American Pathologists 2013، وهذا ما اعتمدناه في دراستنا هذه.

Classifications of gastric carcinoma (macroscopic)

Bormann, 1926

Type I (polypoid)

Type II (fungating)

Type III (ulcerated)

Type IV (infiltrative)

Stout (Atlas of Tumor Pathology), 1953

Fungating

Penetrating

Spreading

Superficial spreading

Linitis plastica

No special type

Lauren, 1965

Intestinal

Diffuse

Ming, 1977

Expanding

Infiltrative

Japanese Society for Gastric Cancer, 1981

Papillary

Tubular

Poorly differentiated

Mutinous

Signet ring

هناك تنوع واسع في المظهر العياني لكارسينوما المعدة. تتواجد عدة مراحل متوسطة بين كلا الطرفين، واللذين يتمثلان بالورم النابت والذي ينمو بشكل رئيسي نحو اللمعة والورم المسطح، المتقرح، والذي ينموعميقاً عبرجدار المعدة[39].

اعتمد بورمان [22] في تصنيفه العياني لسرطان المعدة الى أربعة أنماط على النسب التقريبية للمكونات خارجية التنبت وداخلية التنبت. الكارسينومات الواقعة في منطقة القاع تبدو عند اجراء الجراحة أكثر ميلا

لغزو الطبقة تحت المخاطية وماتحتها من تلك الواقعة في منطقة البواب. اعتمادا على الكميات النسبية من المخاط المفرز وما ينتج عنه من نمو لنسيج ليفي ارتكاسي، تظهر الأورام مظهرا عيانيا لحميا، ليفيا، أو جيلاتينياً بالنسبة للموقع، أي منطقة من المعدة يمكن أن تصاب؛ الجدار الأمامي والخلفي، الانحناء الصغير، والانحناء الكبير(مرتبة حسب شيوع حدوثها). [40] تتواجد الاورام المتعددة في حوالي 6% من الحالات[41][42].

تزداد عادة ثخانة المخاطية السليمة المجاورة للورم، الأمر الذي ينتج عنه سلبية كاذبة في الخزعات التنظيرية، ويعزى عادة الى افراز الورم لعامل النمو البشروي[43].

مجهرياً، كل كارسينومات المعدة تقريباً هي من نمط الكارسينوما الغدية وهي تتألف من واحد أو أكثر من الأنماط الخلوية الأربعة الرئيسية: نقيرية، مخاطية ببسينية، اسطوانية معوية، وخلايا غوبلت. [31] وكما هو مبين حالياً، وجود نوعين رئيسيين، **وهما المعوي (53%) والمنتشر (33%) حسب لورين [44]**؛ ما تبقى هو متغاير المنشأ في مكوناته.[45]

النمط المعوي من الكارسينومات الغدية Intestinal Type

يعتقد أنها تنش أ من بشرة حؤولية، وتدعم هذه الفرضية بالدراسات النسيجية المناعية والمجهر الالكتروني.[46] تتفاوت درجات تمايزها بشكل واسع وتتناسب عكسا مع حجم الورم. [47] في الأورام ذات التمايز الأفضل، معظم الخلايا هي أسطوانية ومفرزة للمخاط. وفي هذه الحالة، فان الورم يكون جيد التمايز بشكل كبير بحيث أنه يمكن أن يقلد حؤولاً معوياً من النمط التام.[48] الأنواع قليلة التمايز تكون بنيتها صلبة غالبا.[49][50] بصورة استثنائية، خلايا الورم الجيد التمايز قد تكون مهدبة. [51] تتفاوت كمية المخاط المفرز بشكل كبير؛ وعندما تكون واضحة، فانها تترافق عادة مع تكلسات. في بعض الأحيان، نلاحظ وجود استحالة عظمية سواء في الورم البدئي أو في النقائل. يمكن أن يبرهن على وجود الخلايا الغدية الصماوية المبعثرة من خلال التلوينات النسيجية المناعية أو الفضة. ومع أن وجود خلايا بانيت سهلة التحديد هو أقل شيوعا الا انه أيضا مذكور وموثق بشكل جيد.[52] وبصورة استثنائية، قد تمثل هذه الخلايا العنصر الغالب في الورم. أحيانا، قد ترتشح لحمة الورم بشكل كبير بالعدلات أو الناسجات.[53]

النمط المنتشر من الكارسينوما الغدية Diffuse Type

تتمثل أفضل ما يمكن بالنمط الورمي المعروف كلاسيكيا بالتهاب نسيج المعدة المصلب أو تصلب المعدة ومؤخراً وصف بالكارسينوما الغدية نمط فص الخاتم.

تظهر معدل عالي متباين من حالات سرطان المعدة التي تصيب الشباب.[17][54] ويميل حدوثها بشكل نسبي لأن يكون في القمة في الولايات المتحدة. [55] تبدأ التبدلات العيانية عادة في منطقة ماقبل البواب. يتطور عادة انسداد بوابي، كما أن جدار المعدة يصبح ثخين ا وسميكا. تظهر مقاطع الجدار تليف واضح تحت المخاطية، مع أو بدون تقرح المخاطية. الطبقة العضلية تبدو متضخمة ومقسمة بوجود خطوط رفيعة، متوازية، رمادية اللون، طولانية مما يعطيها مظهر يشبه المشط. تتمادى هذه الخطوط مع بؤر من تسمك تحت المخاطية.

مجهريا، يشاهد الارتشاح المنتشر للخلايا الخبيثة، مترافقا مع تليف غزير والتهاب. غالبا، الاصابة في كامل الجدار. على الرغم من حدوث كارسينوما فص الخاتم من النمط داخل المخاطية. [56] في العديد من حالات هذا النمط تكون المخاطية أقل تأثرا من الطبقات العميقة. التشكلات الغدية نادرة، وأغلب خلايا الورم تتواجد بشكل مفرد. معظم المخاط المفرز داخل هيولي، وينتج عنه مظهر فص الخاتم النموذجي. يمكن ان تتواجد بحيرات من المخاط خارج الخلوي، ولكن عند وجود خلايا فص الخاتم بشكل واضح فان الورم يجب أن يصنف ككارسينوما فص الخاتم أكثر منه كارسينوما مخاطية أو مخاطينية.

هناك القليل من الأورام الخبيثة في جسم الانسان تبدو أكثر عرضة لأن تفوَت بالفحص المجهري من هذا النمط من سرطان المعدة. خلال السنوات، رأينا عينات من جدار المعدة، العقد البلغمية، الثرب، المساريقا، بريتوان الحوض، والمبيض والتي تم تشخيصها مبدئيا بشكل خاطئ على أنها حدثية سليمة وذلك بسبب عدم وضوح الخلايا الورمية والدرجات الواضحة من الالتهاب والارتكاس الليفي. يمكن للورم أيضا ان يشابه اللمفوما الخبيثة وذلك بسبب نموه الارتشاحي المنتشر والشكل المدور للخلايا ولنواها.

الأنماط المجهرية الأخرى:

الأورام ذات التمايز الغدي الصماوي:

يمكن أن يشاهد في نطاق واسع من أورام المعدة، والتي تختلف بشكل واسع فيما بينها في كل من الشكل المورفولوجي والصفات السلوكية للورم. [65] على الرغم من حدوث التداخل والخلط، الا أن معظم أورام المعدة ذات التمايز الغدي الصماوي يمكن أن تصنف في واحدة من المجموعات التالية:

1_ **الأورام الغدية الصماوية جيدة التمايز**.

2_ **كارسينوئيد لانموذجي وكارسينوما غدية صماوية كبيرة الخلايا** .[66][67] أ ورام تبدي تمايز اً غدياً صماوياً واضح اً من حيث الشكل المورفولوجي والصفات المناعية النسيجية، ولكنها بشكل مساوي تقريبا تبدي أيضا صفات لانموذجية واضحة (غزو واضح، نخر، فعالية انقسامية).

3_ **كارسينوما صغيرة الخلايا**

4_من ناحية أخرى فان **الكارسينوما الغدية** النموذجية سواء النمط المنتشر أو المعوي (وخاصة المعوي)، تحتوي على خلايا أليفة للفضة او تبدي صفات شكلية أخرى خاصة بالخلايا الغدية الصماوية.[68]

الكارسينوما الشائكة الغدية والكارسينوما شائكة الخلايا

تشكل أقل من 1% من أورام المعدة.[69] فقط الحالات المحاطة بشكل كامل من كل الجوانب بمخاطية معدية هي التي يمكن قبولها، وخاصة لتشخيص الكارسينوما شائكة الخلايا النقية. وتلك التي تشتمل على اصابة القسم السفلي من المري يجب أن تعتبر كارسينوما بدئية في المري مع امتداد للمعدة. يحدد سلوك كارسينومات المعدية الغدية الشائكة بشكل كبير من خلال درجة التمايز الغدي الموجود ضمنها، والذي يتفاوت بشكل واسع.[70]

الكارسينوما المخاطية (المخاطينية، الجيلاتينية، الغروانية)

توصف بوجود تشكلات غدية واضحة وافراز مخاطي غزير، تقريبا بكامله خارج خلوي. المخاط المفرز من هذا الورم هو O-acylated متمايز بشكل مخاط لعابي والذي يبدي تفاعل مناعي ايجابي مع MUC2 . انذار هذا الورم هو أفضل من كارسينوما نمط فص الخاتم، ولكنه لا يختلف بشكل خاص في انذاره عن الكارسينوما الغدية الاعتيادية، فيما عدا ربما الأورام التي تتألف بكاملها من النمط الهخاطيني.[71]

الكارسينوما الغدية الشبيهة بالكبد

كارسينوما (الخلية المنتبجة)_ الغدة الجدارية

كارسينوما غدد قاع المعدة

الكارسينوما الشبيهة بالنسيج الظهاري اللمفاوي

الكارسينوما ساركومائية الشكل (ساركوكارسينوما)

الكارسينوما (الغدية) مع صفات عصوية (عضلية)

كاسينوما معدية مع خلايا عرطلة نمط كاسرات العظم

كارسينوما الخلية العنيبية

كارسينوما غدية رائقة الخلايا (غنية بالغليكوجين)

كارسينوما حليمية- صغيرة الحليمات

الصفات الكيميائية النسيجية المناعية_ والمجهر الالكتروني

Histochemical, immunohistochemical, and electron microscopic features

تفرز أغلب كارسينومات المعدة الغدية (وخاصة تلك ذات النمط المعوي) المواد المخاطية الحامضية، والتي يسهل تحديدها بواسطة ملون ماير كارمن مخاطي، أزرق الألسيان أو مواد الحديد الغرواني وتمتلك صفات مشابهة لتلك التي يمتلكها المخاط المعوي. المخاط المفرز من الكارسينوما_ ذات النمط المنتشر والذي يتواجد ضمن هيولى خلية فص الخاتم هو اما حامضي أو معتدل، والأخير يكون هو الأغلب في بعض الحالات.[57]

في مستوى التلوينات المناعية النسيجية، الأنماط الرئيسية من المخاط تبدي تعبيرية ل MUC1- للنمط المعوي، MUC5AC للنمط المنتشر، MUC2 للنمط المخاطي، و MUC5B من اجل الأنماط غير المصنفة.[58][59] كما أن هناك علاقة م ثيرة للاهتمام بين نمط المخاط وبين موقع الورم، حيث يبدو ان MUC5A هو المسيطر في كارسينومات الغار بينما MUC2 يتواجد بالكمية الأكبر في كارسينوما الفؤاد.

تبدي خلايا الكارسينوما الغدية للمعدة ايجابية للكيراتين CK، المستضد الغشائي الظهار ي EMA وCEA بشكل أساسي. يتواجد الكيراتين عادة بالنمط الظهاري البسيط (وزن جزيئي منخفض)، ولكن سجل أيضا تواجد للنمط المشاهد في الظهارة الشائكة الطبيعية (مثل CK13 و16). تتفاوت تعبيرية CK7/CK20 في كارسينوما المعدة بشكل كبير؛ بالمطلق، حوالي 70% من الحالات ايجابية +CK7 و20% منها هي.+CK20.[60]

في بعض الحالات (خاصة النمط المنتشر) هناك مشاركة في تعبيرية الكيراتين والفايمنتين.[61] الواسمات التي تدل على التمايز المعدي بالخاصة تتضمن البروتياز المعدي مثل الببسينوجين 1،الببسينوجين 2، والكيموسين.[62][63]

الايجابية لكل من MI (مستضد مخاطي) والكاتيبسين D and E (أنزيم الاسبارتيك) تشاهد في معظم الحالات كتعبير على التمايز باتجاه الخلايا النقيرية.[64]

الدرجة النسيجية لسرطان المعدة:

اعتماداً على College of American Pathologists (CAP) 2013

وهو أيضا ما اعتمدنا عليه في تحديد الدرجة النسيجية للأورام المدروسة خلال دراستنا العملية.

_غير مطبق

_الدرجةx: غير قابل للتقييم

_الدرجة1: جيدة التمايز

_الدرجة2: متوسطة التمايز

_الدرجة3: سيئة التمايز

_الدرجة4: غير متمايزة

_أخرى (مخصصة):_____

بالنسبة للكارسينوما الغدية،

يقترح أن تعتمد الدرجة النسيجية على مدى التمايز الغدي الموجود، كما هو مبين:

الدرجة X : غير قابل للتقييم

الدرجة 1: جيدة التمايز (أكثر من 95% من الورم يتألف من غدد)

الدرجة 2: متوسطة التمايز(50% الى 95% من الورم يتألف من غدد)

الدرجة3: سيئة التمايز(49% أو أقل من الورم يتألف من غدد)

الكارسينوما الغدية الأنبوبية لا تصنف بشكل نظامي حسب الدرجات ولكنها تعتبر منخفضة الدرجة ويمكن أن توافق الدرجة 1.

كارسينوما فص الخاتم تعتبر مرتفعة الدرجة وتصنف كدرجة 3.

الكارسينوما صغيرة الخلايا والكارسينوما غير المتمايزة تصنف كدرجة 4.

بالنسبة لكارسينوما الخلية الشائكة (نادرة)،

يقترح نظام الدرجات النسيجية التالي:

الدرجةX: غير قابل للتقييم

الدرجة1 : جيدة التمايز

الدرجة 2: متوسطة التمايز

الدرجة3 : سيئة التمايز

ملاحظة : الأورام غير المتمايزة لا يمكن تصنيفها بشكل خاص ككارسينوما غدية أو كارسينوما شائكة. عوضا عن ذلك، تصنف على أنها كارسينومات غير متمايزة من خلال تصنيف WHO وتعتبر درجة 4 .

على الرغم من أن الدرجة تبدي تأثيراً ضعيفاًعلى معدل حياة المرضى الذين خضعوا لاستئصال ورم تام، الا أنها ذات تأثير هام على امكانية الاستئصال الحر للحواف، حيث أن الأورام ذات الدرجات العالية تبدو أقل قابلية للاستئصال.

من ناحية ثانية، دعت الحاجة الى نظام تصنيفي جديد يجمع بين محتوى المخاط داخل الخلوي و التمايز الأنبوبي يرتبط بشكل مهم بمعدل الحياة.

نظام TNM لوضع المرحلة الجراحية لسرطانات المعدة

College of American Pathologists (CAP) 2013

The TNM staging system for gastric carcinoma of the American Joint Committee on Cancer **(AJCC)** and the International Union Against Cancer **(UICC)** is recommended and shown below.1

___ m (multiple primary tumors)

___ r (recurrent)

___ y (post-treatment)

Primary Tumor (pT)

___ pTX: Cannot be assessed

___ pT0: No evidence of primary tumor

___ pTis: Carcinoma in situ

___ pT1: Tumor invades lamina propria, muscularis mucosae, or submucosa

___ pT1a: Tumor invades lamina propria or muscularis mucosae

___ pT1b: Tumor invades submucosa

___ pT2: Tumor invades muscularis propria

___ pT3: Tumor invades subserosal connective tissue, without involvement of v peritoneum or adjacent structures

___ pT4: Tumor involves serosa (visceral peritoneum) or adjacent structures

___ pT4a: Tumor invades serosa (visceral peritoneum)

___ pT4b: Tumor invades adjacent structures

Regional Lymph Nodes (pN)

___ pNX: Cannot be assessed

___ pN0: No regional lymph node metastasis

___ pN1: Metastasis in 1 to 2 perigastric lymph nodes

___ pN2: Metastasis in 3 to 6 perigastric lymph nodes

___ pN3: Metastasis in 7 or more perigastric lymph nodes

___ pN3a: Metastasis in 7 to 15 perigastric lymph nodes

___ pN3b: Metastasis in 16 or more perigastric lymph nodes

Specify: Number examined: ___

Number involved: ___

Distant Metastasis (pM)

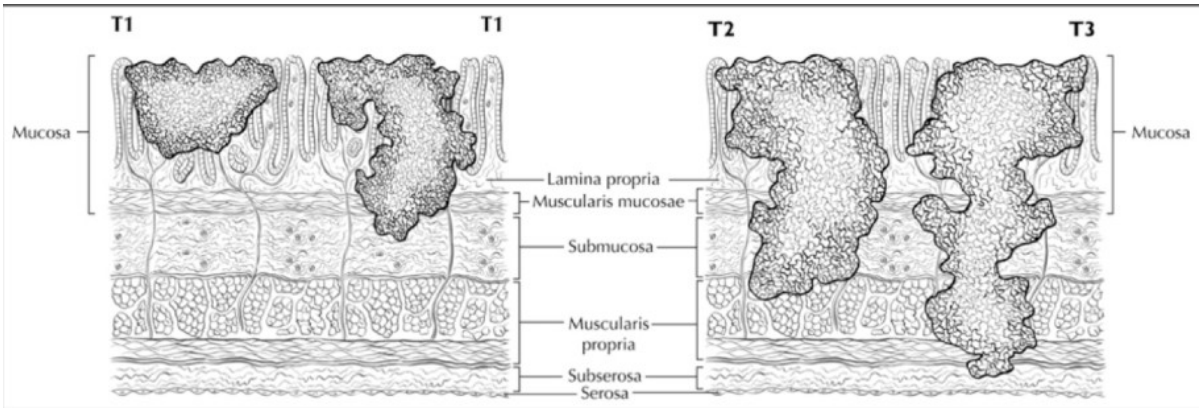
___ Not applicable

___ pM1: Distant metastasis

*Specify site(s), if known: _____

توسعت المجموعة T1 اعتمادا على الاختلافات الملاحظة في تواتر نقائل العقد اللمفاوية.

قد يمتد الورم ليخترق الطبقة العضلية مع امتداد الى الاربطة المعدي الكبدي أو المعدي الكولوني أو الى الثرب الصغير بدون انثقاب الأوعية البريتوانية المغطية لهذه البنى. في هذه الحالة، يصنف الورم T3. أما اذا وجد انثقاب بالأوعية البريتوانية المغطية للأربطة المعدية أو الثرب، فان الورم عندها يصنف على أنه T4.



Stage Groupings

Stage 0 Tis N0 M0

Stage IA T1 N0 M0

Stage 1B T2 N0 M0

T1 N1 M0

Stage IIA T3 N0 M0

T2 N1 M0

T1 N2 M0

Stage IIB T4a N0 M0

T3 N1 M0

T2 N2 M0

Stage IIIA T4a N1 M0

T3 N2 M0

T2 N3 M0

Stage IIIB T4b N0 or N1 M0

T4a N2 M0

T3 N3 M0

Stage IIIC T4b N2 or N3 M0

T4a N3 M0

Stage IV Any T Any N M1

انذار سرطان المعدة Prognosis

بشكل مخيب للأم ال فان انذار كارسينوما المعدة يبقى سي ئا. يتراوح معدل الحياة الاجمالي لخمس سنوات لكل المرضى بين 4% و 13% . يعتبر معدل الحياة فعلياً أفضل في بلدان مثل اليابان وبريطانيا. في دراسة تشمل 100000 حالة في اليابان، فوكوكا، معدل الحياة لخمس سنوات كان 46% للحالات المتقدمة و 89% للحالات الباكرة. التفسيرات الممكنة لهذه الصور الملفتة للنظر تتضمن الشيوع الكبير للكارسينوما السطحية، تكثيف الفحص النسيجي الدقيق للخزعات، الاستئصال الواسع للعقد اللمفاوية، والفروقات داخلية المنشأ في بنية هذه الأورام[72].

كما وجد أن انذار سرطان المعدة يتعلق بعدة عوامل أخرى[73][74][75]:

1_عمر المريض: لكارسينوما المعدة عند الشباب انذار مروع، ويعود ذلك الى التأخير في التشخيص والى شيوع حالات النمط المنتشر عند هذه الفئة.

2_مرحلة الورم

3_موقع الورم في المعدة

4_حواف الورم

5_حجم الورم

6_الدرجة والنمط المجهري

7_الارتكاس الالتهابي

8_غزو حول الأعصاب

9_الحواف الجراحية

10_اصابة العقد اللمفية الموضعية

11_نمط الجراحة

12_الصيغة الصبغيةللDNA والتكاثر الخلوي

13_**بروتين c-ERBB-2** وجد أن فرط تعبيرية هذا البروتين في سرطان المعدة تشكل مؤشراً مستقلا على الانذار السيء. بأي حال فان مثل هذه الحالات قد تستجيب بشكل افضل لمشاركة العلاج الكيماوي مع العلاج الهدفي (trastuzumab). [76][77][78]

14_بروتين P53

15_كاتيبسين (أنزيم حال للخلايا)

16_تعبيرية $p27^{Kip1}$

17_تعبيرية .Fhit

18_المستضد T

19_تعبيرية فيروس ابشتاين بار

لمحةعن بيولوجيا الجين HER2 (HER2 Biology)

HER2 هو فرد من عائلة **HER** لمستقبلات عوامل النمو البشروية ، والتي تتضمن :

HER1 (also known as the EGFR), **HER2** (p185, HER2/neu, ErbB-2), **HER3** (also termed ErbB-3), and**HER4** (also termed ErbB-4)

وهي تدخل جميعها في عملية تنظيم النمو الخلوي، التكاثرو البقاء. يقع جين **HER2** على الصبغي **17** ويعبر عنه بشكل اساسي في أنماط مختلفة من الظهارات الطبيعية.

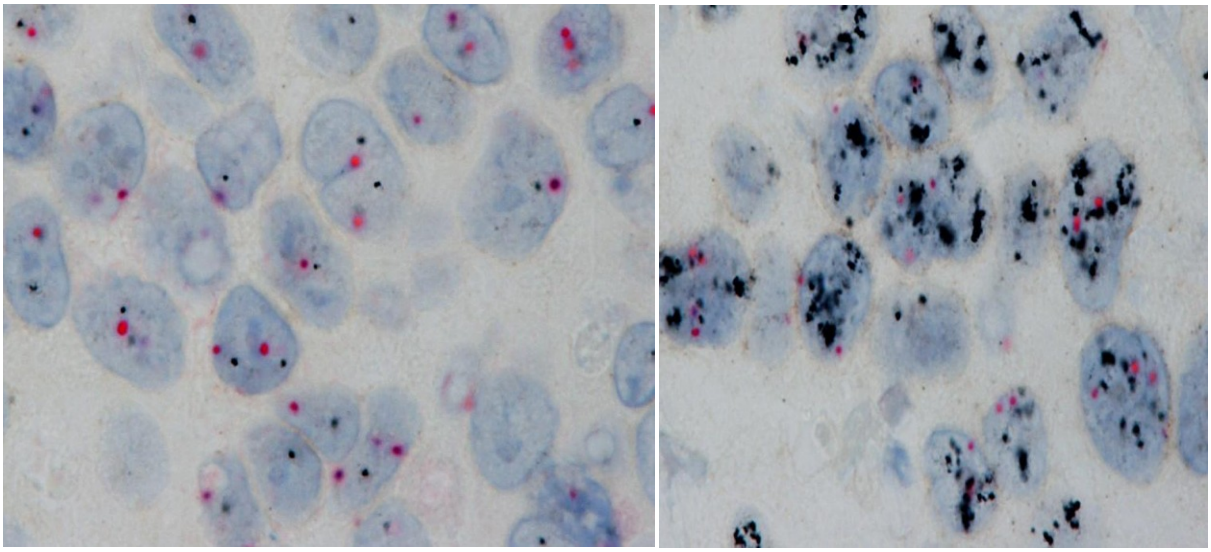
يترجم هذا الجين الى بروتين مستقبل عامل النمو البشروي الغشائي 185-Kd، والذي ينقل اشارات تنظيم النمو الخلوي الطبيعي، التطور والبقاءِ

يؤدي الترابط بين أعضاء عائلة مستقبلات HER وبين العديد من الجزيئات الملتحمة عالية الألفة الى مستقبل مماثل الى تفعيل نقل الاشار ة داخل الخلوي من خلال **مستقبلات التيروزين كيناز** . فرط تعبيرية بروتين HER2 يؤدي الى زيادة احتمالية تفعيل هذه السبل من الاشارات.[79]

في جزء يمثل 15-20% من سرطانات الثدي ذات المراحل الباكرة، يلاحظ تبدل جيني يشتمل على موقع جين HER2 يؤدي الى تضخيم في هذا الجين في 2 الى 20 ثنية بالترتيب وبشكل مرتبط بعدد نسخ الصبغي 17.ان تضخيم اشارة جين HER2 يعتبر حدثا مبكرا في تطور الورم لهذا الجزء من سرطانات الثدي وتحفيز هذا الجين والتعبيرية البروتينية له، ينتج عنها زيادة واضحة في عدد الجزيئات البروتينية لمستقبلات HER2 على سطح كل خلية ورمية. [79] بالاضافة لسرطان الثدي، يلعب HER2 دورا كجين ورمي في الكارسينومات، وقد سجلت حالات لفرط تعبيرية و /أو تضخيم اشارة جين HER2 في كارسينومات **الكولون، المثانة، المبيض، بطانة الرحم، الرئة، الرأس والعنق، المري والمعدة.**

ان شلال نقل الاشارات الناتج يحفز النمو الخلوي، الهجرة، يعزز السبل المسؤولة عن البقاء الخلوي ويحرض تكون الأوعية، مسهماً في عدوانية السلوك السريري لهذه الأورام التي تحمل هذه التبدلات الجينية الجزيئية.[80]

بشكل مشابه لـ HER2 فان بقية أعضاء هذه العائلة من المستقبلات تساهم ايضا في تطور السرطان.
HER1 المعروف أيضا ب EGFR، له دور في سرطانات الرئة، الكولون وسرطانات الرأس والعنق.



المورثة HER2 على القسيم المركزي من الصبغي 17بطريقة FISH.

تعبيرية المورثة Her2-neu في سرطانات المعدة الغدية

HER2 Expression

أشارت الدراسات الحديثة الى دور HER2 في تطور عدة أنماط من السرطان عند الانسان. حيث تم تحديد وجود فرط تعبيرية و\او تضخيم في جين HER2 في حوالي 10-34% من سرطانات الثدي الغازية وعلاقتها مع السيرالسريري، والانذار السيء.وكما ذكرنا تم رصد فرط تعبيرية جين HER2 و/ أو تضخيم اشارته في كارسينومات الكولون، المثانة، المبيض، بطانة الرحم، الرئة،عنق الرحم، الرأس والعنق، المري، والمعدة.

سجلت عدة دراسات حديثة فرط تعبيرية HER2 في حوالي **20-30%** من المرضى الذين يعانون من كارسينوما غدية في المعدة والمري؛ بأي حال، تبقى الأهمية السريرية لهذا الموضوع موضع دراسة لتكون محددة بشكل أكثر وضوحا. حيث أن معظم حالات سرطان المعدة تشخص عندما يكون الورم في مراحل متقدمة وغير قابل للاستئصال الجراحي. يكون العلاج الكيماوي الجهازي لهؤلاء المرضى هو الخيار الأساسي في التدبير ويبقى معدل حياة المرضى الذين يعانون من سرطانات المعدة المتقدمة ويعالجون بالعلاج الكيماوي الملطف هو معدل منخفض. مما دعا الحاجة الملحة الى علاجات جديدة.

Trastuzumab(Herceptin) هو ضد وحيد النسيلة يستهدف بشكل نوعي بروتين HER2 بالارتباط المباشر مع النطاق خارج الخلوي للمستقبل. يحسن Trastuzumab معدل الحياة عند مرضى سرطانات الثدي ايجابية HER2 سواء البدئية أو النقائل.[79] لذلك فان فعالية هذا الدواء في سرطانات الثدي دعت الى استقصاء فعاليته ضد الورم عند مرضى السرطان مع ايجابية HER2 ، ومن ضمنهم مرضى **الكارسينوما الغدية في المعدة**.

يظهر HER2 في بعض الدراسات كعامل انذاري مهم في سرطان المعدة، لكن الأدب الطبي متضارب حول هذه النقطة، ولا تظهر كل الدراسات علاقة واضحة بين فرط تعبيرية HER2 وبين الانذار السيء.

لكن بشكل عام، ترتبط فرط تعبيرية HER2 مع انذار أسوأ في الكارسينوما الغدية للمري. حيث وجدت دراسات مختلفة أنها تترافق مع زيادة عمق الغزو، اصابة العقد اللمفية والنقائل البعيدة ومعدل البقاء السيء.[81]

تعبيرية المورثة HER2_neu وعلاقتها مع المتغيرات الباثولوجية

HER2 expression and correlation with pathologic variables

تعبيرية المورثة HER2 وعلاقتها مع النمط النسيجي للورم:

HER2 expression and histologic type

تم تسجيل علاقة قوية بين تعبيرية HER2 وبين النمط النسيجي المعوي حسب لورين من قبل عدة باحثين ولأول مرة في عام 1990[82]. وقد أثبتت صحة هذه العلاقة في الدرسات الأكثر حداثة.

Table 2. HER2 expression and clinicohistologic characteristics

Author	*n*	Histologic type				Localization			Method
		Intestinal (%)	Diffuse (%)	Mixed/unknown (%)	*P*	GEJ (%)	Gastric (%)	*P*	
Tanner et al. [39]	231	21.5	2	5	0.005	24	12	–	CISH
Gravalos et al. [28]	166	16	7	14	0.27	25	9.5	0.01	IHC, FISH
Lordick et al. [31]	1527	34	6	20	–	32	18	–	IHC, FISH

GEJ, gastroesophageal junction; CISH, chromogenic in situ hybridization; IHC, immunohistochemistry.

ان الرقم الدقيق متفاوت، ولكن وجد أن كارسينوما المعدة الدانية ذات النمط المعوي تملك سيطرة أعلى لايجابية HER2 من كارسينوما المعدة القاصية ذات النمط المنتشر.

ان الأسباب في انتقائية فرط تعبيرية HER2 للنمط المعوي من كارسينوما المعدة هي معقدة ومن الضروري أن نبحث فيها عميقاً. ان ترافق هذا الجين مع أنماط ورمية خاصة يشير الى أن هذه الصفات المحددة (مثل ترافق فرط تعبيرية HER2 مع النمط المعوي) يمكن أن يعبر عنها بشكل تفضيلي مجتمعة مع بعضها. بكل الأحوال، بما أن ليس كل أورام المعدة ذات النمط المعوي تبدي فرط تعبيرية HER2، لذلك لا يمكن اعتباره العامل المتهم الوحيد.[83]

في كارسينوما الثدي، تضخيم اشارة المورثة HER2 هو صفة شائعة للكارسينوما القنيوية الغازية وبالمقابل صفة غير شائعة في الكارسينوما اللبية.

في سرطان المعدة، يتناسب تضخيم أو تضاعف المورثة HER2 بشكل عكسي مع الطفرات في E-cadherin؛[82] ان طفرات المورثة E-cadherin هي نموذجية للكارسينوما المعدية من النمط المنتشر وكارسينوما الثدي اللبية الغازية، ولكنها نادرة في النمط المعوي من الكارسينوما المعدية والكارسينوما القنيوية الغازية للثدي.

تعبيرية المورثة HER2 وعلاقتها مع موقع الورم البدئي:

HER2 expression and primary tumor site

ان معدل ايجابية HER2 في كارسينوما المري ومع أنه متفاوت، الا أنه ربما بشكل خفيف أعلى منه في كارسينوما المعدة. سجلت ثلاث دراسات على الأقل أن تعبيرية HER2 هي أكثر شيوعا في سرطانات الوصل المعدي المريئي منها في سرطان المعدة. أثبتت هذه النتائج في عدد كبير من المرضى في دراسة ToGA ، والتي وجد فيها ايجابية HER2 في 32% و18% في سرطان الوصل المعدي المريئي والمعدة بالترتيب[82].

تعبيرية HER2 وعلاقتها مع تصنيف TNM

(تعبيرية HER2 كعامل انذاري)

HER2 expression and and correlation with TNM stage: HER2 expression as a prognostic factor

ان التصنيف المرحلي TNM هو العامل الانذاري الأكثر أهمية في سرطان المعدة. يعين هذا النظام التصنيفي المرحلة الورمية اعتماداً على عمق الغزو في جدار المعدة (T)، اصابة العقد اللمفية (N)، ووجود النقائل البعيدة (M). يتفاوت الانذار بشكل عام بين المرضى من نفس المرحلة. لذلك، دعت الحاجة الى

تحديد متغيرات تصنيفية جديدة بالاضافة الى تصنيف TNM والصفات الباثولوجية الكلاسيكية للورم من أجل تمييز أفضل للصفات البيولوجية لهذا الداء.

ان دور HER2 كعامل انذاري في سرطان المعدة هو مثار للجدل وذلك لأن بعض الدراسات البدئية فشلت في ايجاد علاقة مع الانذار.[83] بينما سجل باحثون اخرون من ناحية أخرى، وجود علاقة مباشرة بين فرط تعبيرية HER2 ومعدل الحياة السيء. في دراسة على 260 حالة سرطان معدة، وجد أن فرط تعبيرية HER2 كانت عامل مستقل وارتبطت مع حجم الورم، غزو المصلية، ونقائل العقد اللمفية. في دراسة أخرى راجعة على 108 حالة، ترافقت فرط تعبيرية HER2 مع انذار أسوأ في معدل الحياة لعشر سنوات.[83] في دراسة أخرى، تم رصد الانذار الأسوأ بشكل مهم في حالات سرطان المعدة الباكر التي تبدي فرط تعبيرية في المورثة HER2 عند 226 من المرضى. [83] أخيرا، اعتبر Nakajima et al[84] أنه في المراحل الباكرة للورم يشكل فرط تعبيرية HER2 العامل الثاني في الانذار السيء بعد حالة العقد.

في دراسة كورية [83]، تم تحديد وجود فرط تعبيرية وتضخيم اشارة ال مورثة HER2 بالقياس الكمي من خلال التلوين النسيجي المناعي، CISH، وFISH عند 182 مريض سرطان معدة ممن خضعوا للجراحة العلاجية[83]. أظهر 16% ايجابية تعبيرية بروتين HER2_neu من خلال التلوين المناعي النسيجي وحدد تضخيم اشارة ا لمورثة من خلال CISH ،و FISH عند سبعة من المرضى. أبدت السرطانات ذات النمط المعوي معدلا أعلى لتضخيم الاشارة الجينية لل مورثة HER2_neu مما أبدته السرطانات ذات النمط المنتشر .($P < 0.05$) . ترافقت الأورام التي أبدت تضخيم لاشارة المورثة HER2 مع انخفاض في معدل بقاء اجمالي (922 مقابل 3243 يوم) ومعدل البقاء لخمس سنوات (21% مقابل 63%). وجد ان كل من العمر، التصنيف المرحلي TNM، وتضخيم اشارة المورثة HER2 ترتبط بشكل مستقل مع معدل الحياة من خلال تحليلات متنوعة[83].

نظام قياس المورثة HER2-neu في سرطان المعدة

Her2-neu testing in gastric cancer

تقييم هوفمان ونظام وضع درجة (قياس) المورثة HER2 فى سرطان المعدة:

Summary of Hoffmann's Assessment and Validation of HER2 Scoring System in Gastric Cancer:

ان التقييم الدقيق لحالة المورثة HER2_neu في سرطان المعدة هو حاسم للتحقق من المرضى الذين سيستفيدون من علاج trastuzumab. يوجد خوارزمية فعَالة لتقييم حالة المورثة HER2 في الثدي، وفي وقت سابق لآخر ما نشره Hoffman et al.[85] ولكن لم يكن متوفرا بعد نظام فعَال لوضع درجة أو قياس المورثة HER2_neu في سرطان المعدة.

أجرت دراسة هوفمان Hoffman, et al على 168 عينة مستأصلة، تقريبا (ن=149) من المعدة (16 كانت من الوصل المعدي المريئي و3 كانت مريئية) كل من التلوين المناعي النسيجي (Dako HercepTest™) و kits (Dako HER2 FISH pharmDx™) FISH. عندما طبقت الصفات الخاصة بنظام سرطان الثدي، وجد ان 11 من الحالات التي تبدي ايجابية FISH ، كان التلوين المناعي فيها سلبيا او غير حاسما. بينما باقي الحالات 157 (93.5%) كانت متوافقة.
التحليل الاضافي لهذه الحالات 11 (+ FISH) تظهرثلاثة أسباب محتملة للنتائج المتضاربة. المجموعة الأولى (ن=3) وتتضمن الحالات ذات شدة فعالية مناعية في أقل من 10% من الخلايا، والتي اعتبرت سلبية (درجة=0) وذلك حسب صفات نظام HercepTest™ الخاص بالثدي . المجموعة الثانية (ن= 2) أبدت فعالية غشائية قاعدية جانبية متوسطة الشدة في أكثر من 10% من الخلايا. وبحسب النظام الخاص بسرطان الثدي فان الفعالية الغشائية غير الكاملة تعتبر سلبية (درجة= 0أو1).

بكل الأحوال، فان من الحالات السبع ذات الفعالية الغشائية متوسطة الشدة غير الكاملة، أبدت حالتان ايجابية FISH . المجموعة الثالثة (ن=5) والتي تتضمن عينات أبدت فعالية غشائية كاملة متوسطة الشدة، صنفت

على أنها درجة=+ 2 حسب النظام HercepTest™. ومن الحالات ال 14 التي أبدت فعالية غشائية كاملة متوسطة الشدة، أبدت 5 منها ايجابية FISH . بأخذ هذه النتائج بعين الاعتبار تم وضع جدول متفق عليه للتوصيات المقترحة من أجل نظام قياس المورثة HER2_neu خاص بسرطان المعدة، كما يظهر في الجدول 1.[85]

الجدول 1. جدول توصيات متفق عليه من اجل تقييم حالة HER2 في سرطان المعدة من الدراسة الموثقة لهوفمان.[85] الحالات ذات النتائج غيرالحاسمة بالتلوين المناعي النسيجي يجب أن يجرى لها تحليل FISH.

البنية	الدرجة أو التصنيف
-لايوجد فعالية، او فعالية غشائية في أقل من 10% من الخلايا	0_ سلبية
-فعالية ضعيفة بالكاد ملموسة على أكثر من 10% من الخلايا الخلايا ايجابية في جزء من الغشاء فقط	+1_ سلبية
-فعالية خفيفة الى متوسطة غشائية كاملة أو قاعدية وحشية على اكثر من 10% من الخلايا	+2_غير حاسم
-فعالية متوسطة الى شديدة غشائية كاملة أو قاعدية وحشية على اكثر من 10% من الخلايا	+3_ ايجابي
-عينات خزعات مع نسائل متماسكة تبدي +FISHأو +IHC3 بغض النظر عن نسبة الخلايا (حتى لو كانت أقل من 10%)	+3_ايجابي

الدراسة التجريبية ToGA[86] في سرطان المعدة:

ToGA Trial

قدمت النتائج من الاختبار السريري التجريبي والذي تضمن علاج ا مشتركا لسرطانات المعدة المتقدمة والتي تبدي فرط تعبيرية المورثة HER2_neu يتألف من علاج بمضادات HER2 مع العلاج الكيماوي، قدمت هذه النتائج خيارا علاجيا جهازيا واسعا ومتقدما لهذا المرض المميت. 20% فقط من المرضى الذين خضعوا للفحوصات ومن ثم اختيروا فيما بعد ليتسجلوا في هذه الدراسة كانوا قد أظهروا ايجابية للمورثة HER2 عندما طبق كل من التلوين المناعي النسيجي وFISH للتقييم.

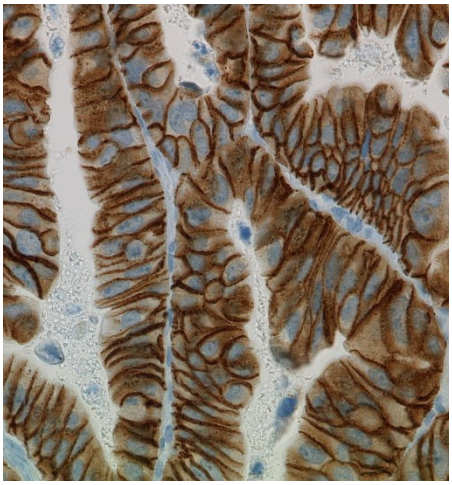
بحثت دراسة ToGA[86] في سرطانات المعدة المتقدمة ايجابية (HER2) في المشاركة العلاجية بين trastuzumab وبين cisplatin/capecitabine أو (FU) مقارنة بالعلاج الكيماوي ب cisplatin/capecitabine لوحده وذلك على مجموعات مرضى متعددة الجنسيات وعشوائية محددة في الطور التجريبي السريري . في أورام المعدة ايجابية HER2، ترافقت اضافة trastuzumab الى العلاج الكيماوي بتحسن مهم في معدل البقاء الاجمالي مقارنة مع العلاج الكيماوي لوحده (13.8 شهر[trastuzumab+cis/capecitabine] مقابل 11.1 شهر [cis/capecitabine لوحده]، (p=0.0002) .

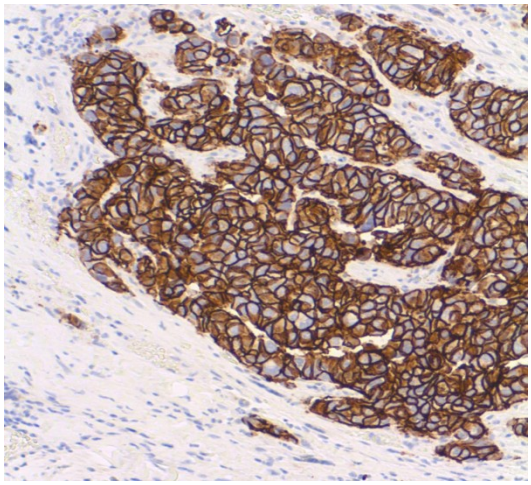
كانت هذه الدراسة مَعلما مهما والأولى التي أظهرت مستوى حياة أفضل مع العلاج الهدفي في التجارب الاستباقية المختارة عشوائيا وأثبتت وجود خيار علاجي جديد للمرضى الذين يعانون من نقائل سرطان معدة ايجابي HER2[86].

خوارزمية قياس أو تحديد درجة HER2-neu الموصى بها فى سرطان المعدة والوصل المعدي المريئي اعتمادا على نتائج دراسة ToGA:[86][87]

Recommended HER2 testing algorithm in gastric and GE junction cancer based upon ToGA results:[86][87]

سرطان ثدي سرطان معدة





Score 3+

تعديل الصفات الخاصة بنظام قياس أو تحديد درجة HER2 بالتلوين المناعي النسيجي في سرطان الثدي من أجل سرطان المعدة . النتيجة: مخطط مماثل مع تعريفات جديدة:[87]

- التلوين المناعي الغشائي الكلي (بشكل الخاتم) لم يعد صفة شرطية في سرطان المعدة.
- النسبة الحدية من الخلايا تستخدم فقط في العينات الاستئصالية وليس للخزعات.

درجة شدة التلوين	نموذج التلوين في العينات الاستئصالية	نموذج التلوين في الخزعات
0	لايوجد فعالية،اوفعالية غشائية في < 10% من الخلايا الورمية.	لايوجد فعالية,او فعالية غشائية في اي خلية ورمية.
1+	فعالية ضعيفة بالكاد ملموسة غشائية<10% من الخلايا الورمية،الخلية تتلون في جزء من من الغشاء فقط.	فعاليةضعيفة بالكادملموسةغشائية بغض النظرعن نسبة الخلاياالملونة
2+	فعالية خفيفة الى متوسطة<10% من الخلايا غشائية قاعدية او جانبية قاعدية.	فعالية خفيفة الى متوسطة قاعدية او قاعدية جانبية بغض النظر عن نسبة الخلايا المتلونة.
3+	فعالية شديدة غشائية كاملة او قاعدية او قاعدية جانبية على> 10% من الخلايا الورمية.	نسائل خلايا ورمية مع فعالية شديدة غشائية كاملة او قاعدية او قاعدية جانبية بغض النظر عن نسبة الخلايا الورمية المتلونة.

قياس HER2 في سرطان المعدة مختلف عنه في سرطان الثدي:[87]

- ترافق التعبيرية الهؤرية ل HER2 والتضخيم الجيني للمورثة في 33% من سرطانات المعدة.
  ّ]~1% في سرطان الثدي [
- التلوين الغشائي لمستقبل HER2 عادة غير كامل في سرطان المعدة.
  [= سلبي في سرطان الثدي]

- ايجابية FISH 7.5% عندما يكون التلوين المناعي النسيجي IHC 0/+1 ولكن مع استجابة ضعيفة للعلاج الهدفي بواسطة Herceptin في هذه المجموعة [< 5% في سرطان الثدي]
- علاقة وثيقة بين مستوى التعبيرية البروتينية وبين درجة التضخيم الجيني.
- ارتباط قوي مع الموقع....ومع نمط الورم:

_كارسينوما الوصل المعدي المريئي:33.6%

_كارسينوما المعدة: 19.9%

_النمط المعوي: 33.4%

_النمط المنتشر: 5.5%

_النمط المختلط: 19.6%

الارشادات المتبعة في قياس او تحديد درجة فرط تعبيرية Her2/neu

في سرطان المعدة Guidelines for scorings:[85][86][87][88]

- ✓ يتم وضع درجة HER2-neu للعينات من المرضى المصابين **بالسرطانة الغدية** للمعدة والوصل المريئي المعدي فقط. في حال وجود حؤول معوي مع سرطانة غدية معدية في نفس العينة توضع الدرجة لمكونة السرطانة المعدية فقط.
- ✓ بالنسبة للعينات الجراحية الحد الأدنى من عدد الخلايا الورمية ايجابية التلوين هو **10%** على الأقل من خلايا الورم, أما بالنسبة للخزعات فالحد الأدنى هو تجمع من **خمس خلايا** على الأقل تبدي تلوينا غشائيا ايجابيا.
- ✓ نحتاج بشكل عام لفحص عدد اضافي من العينات النسيجية الورمية لسرطان المعدة لتقييم حالة HER2-neu مقارنة بسرطان الثدي, وذلك لان توزع الخلايا ايجابية HER2 متفاوت ضمن النسيج الورمي في سرطان المعدة.
- ✓ التلوين الغشائي غير الكامل (قاعدي جانبي-جانبي) شائع في المعدة ويعود السبب الى التشكلات الغدية. التلوين القاعدي الجانبي يعطي شكل U, بينما يعطي التلوين الجانبي شكل I I.
- ✓ يستثنى من التقييم كل من

_ الحؤول المعوي _ التغيرات التنكسية

_ التلوين الغشائي: - قاعدي فقط - لمعي(القمي) فقط - سيتوبلاسمي - نووي - حبيبي

_ التأثيرات الصنعية: - السحق -الانكماش -التلوين الطرفي

Surgical Specimens

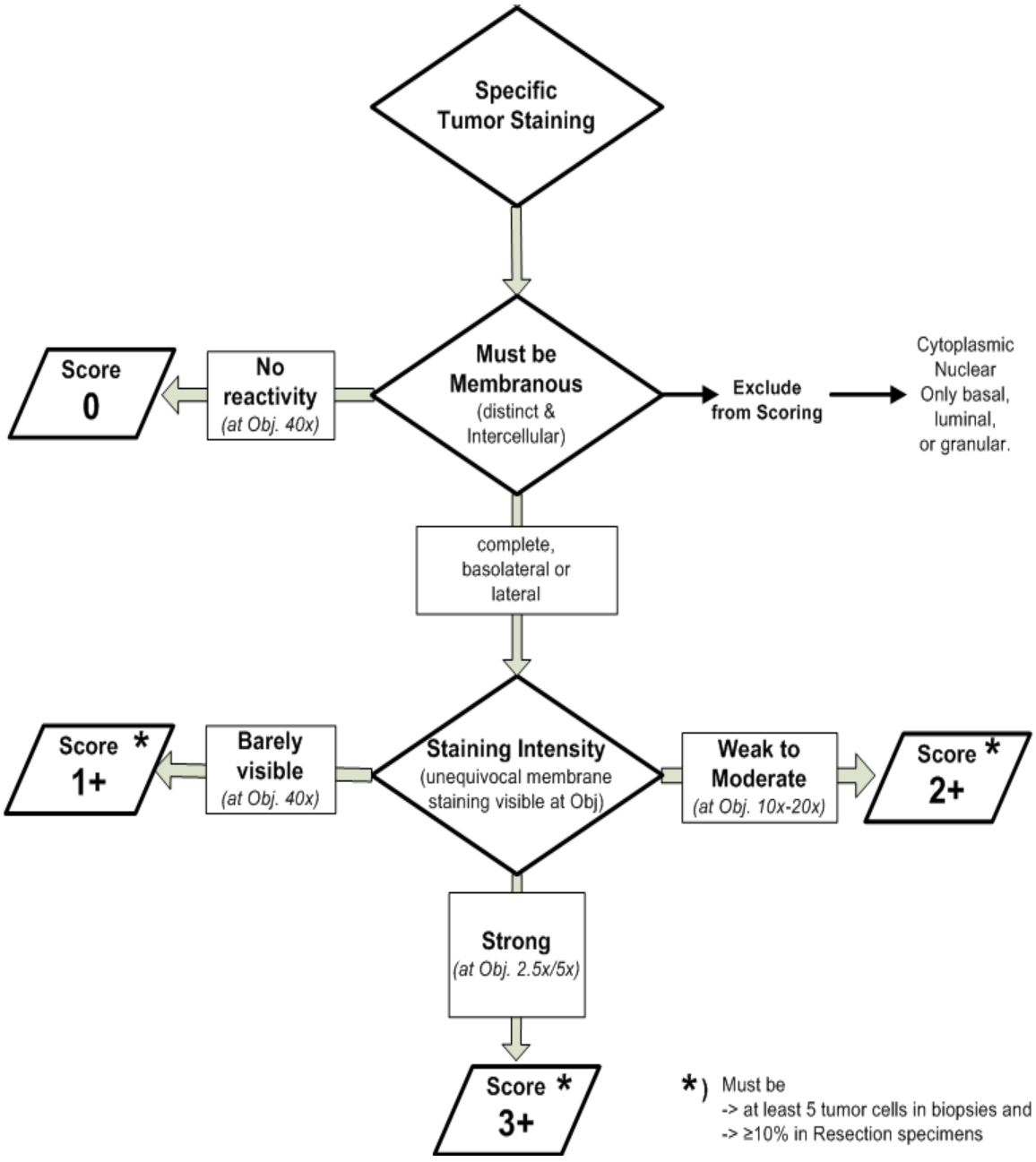
Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
0	Negative	No reactivity or membranous reactivity in < 10% of tumor cell
1+	Negative	Faint/barely perceptible membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells. Cells are reactive only in part of their membrane
2+	Equivocal	Weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells
3+	Positive	Strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity in ≥ 10% of tumor cells

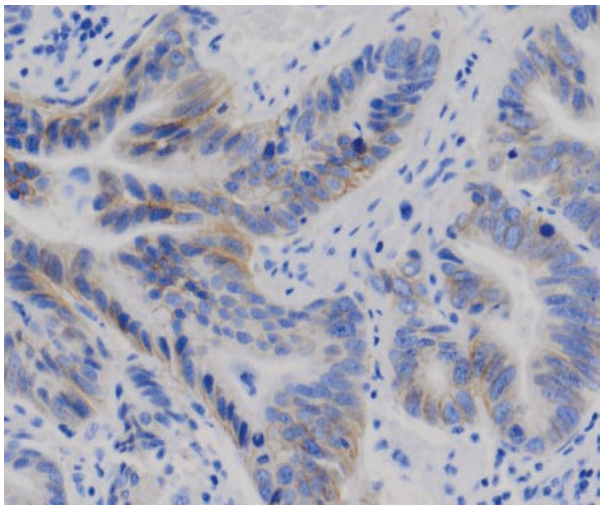
Guidelines based on Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopath 2008; 52:797–805.

Biopsy Specimens

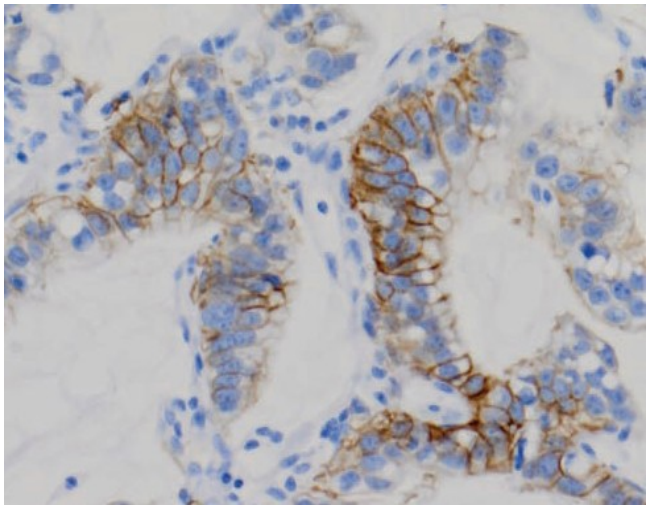
Score to Report	HER2 Protein Overexpression Assessment	Staining Pattern
0	Negative	No reactivity or no membranous reactivity in any tumor cell
1+	Negative	Tumor cell cluster with a faint/barely perceptible membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained
2+	Equivocal	Tumor cell cluster with a weak to moderate complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained
3+	Positive	Tumor cell cluster with a strong complete, basolateral or lateral membranous reactivity irrespective of percentage of tumor cells stained

Guidelines based on Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopath 2008; 52:797–805.

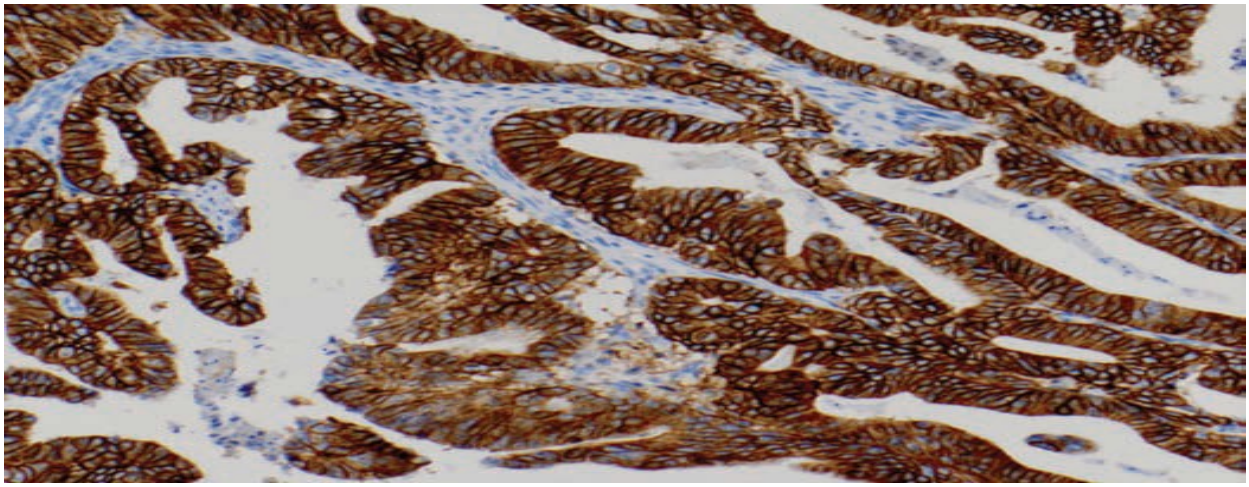

Specific Tumor Staining
Must be Membranous (distinct & Intercellular)
No reactivity (at Obj. 40x)
Score 0
Exclude from Scoring
Cytoplasmic
Nuclear
Only basal, luminal, or granular.
complete, basolateral or lateral
Staining Intensity (unequivocal membrane staining visible at Obj)
Barely visible (at Obj. 40x)
Score * 1+
Weak to Moderate (at Obj. 10x-20x)
Score * 2+
Strong (at Obj. 2.5x/5x)
Score * 3+
*) Must be
-> at least 5 tumor cells in biopsies and
-> ≥10% in Resection specimens



تلوين غشائي ضعيف غير كامل IHC=1



تلوين غشائي متوسط جانبي قاعدي IHC=2



تلوين غشائي قوي في معظم الخلايا IHC=3

القسم الثاني

الدراسة العملية

ملخص الدراسة

خلفية البحث وأهميته

يشكل سرطان المعدة السبب الثاني للوفيات بالسرطان في العالم، وفي الشرق الأوسط يشخص معظم المرضى في مراحل متقدمة من الورم، حيث أن العلاج الكيماوي الجهازي هو الخيار الأساسي مع نسبة بقيا منخفضة ومستوى حياة متدني، مما دعا الحاجة لوجود استراتيجيات علاجية جديدة وبالأخص التوجه نحو العلاجات الهدفية.

أهمية البحث

برهنت الدراسات البحثية والسريرية وجود عدة أدلة على دور الخلل الجزيئي المتمثل بتضاعف المورثة HER2/neu أو فرط تعبيريتها لدى مرضى سرطان المعدة، وارتباط هذا الخلل بإنذار الورم وصفاته الباثولوجية والسريرية.

فيما يخص الصفات الباثولوجية للورم لوحظ في الدراسات معدل عالي لتعبيرية HER2/neu في السرطانات ذات النمط المعوي أكثر من سرطانات ذات النمط المنتشر

أما بالنسبة لدرجة تمايز الأورام فتظهر بعض الدراسات معدل عالي لتعبيرية HER2/neu في السرطانات جيدة التمايز، بينما على العكس في دراسات أخرى تترافق تعبيرية HER2/neu مع الأورام قليلة التمايز.

بالنسبة لموقع الورم البدئي تظهر الدراسات ترافق تعبيرية HER2/neu مع الأورام التي تقع في منطقة الوصل المعدي المريئي أكثر من الأورام التي تقع في المعدة.

وهذا ما دفعنا لاجراء دراسة تبين نسبة تعبيرية مورثة HER2/neu في سرطانات المعدة المستأصلة في مستشفى الأسد الجامعي خلال فترة محددة ودراسة علاقة هذه التعبيرية مع الصفات الورمية باثولوجياً وسريرياً.

أظهرت الدراسات نجاعة العلاج الهدفي بالمضاد الورمي الموجه ضد HER2/neu وخاصة الأضداد وحيدة النسيلة الموجهة ضد البروتين (Herceptin) لدى مرضى سرطان المعدة، مما قد يجعل من دراستنا المقترحة خطوة أولى في مجال تأسيس وتطوير امكانية استخدام العلاج الهدفي الموجه في مستشفياتنا.

أهداف البحث

1 -تحديد نسبة تعبيرية HER2/neu في سرطانات المعدة المشمولة بالدراسة لدى مرضى مستشفى الأسد الجامعي ومقارنتها مع نتائج الدراسات العالمية.

2 - تقييم العلاقة بين هذه المورثة وبين الصفات الباثولوجية والسريرية للأورام التي تبدي فرط تعبيرية لها، والمقارنة أيضا مع النتائج العالمية.

3 - وضع تصنيف لسرطانات المعدة يعتمد على حالة (إيجابية أو سلبية) تعبيرية مورثة HER2/neu يمكن الرجوع إليه في حال توفر امكانية العلاج الهدفي الموجه.

طريقة الدراسة

قمنا بدراسة استعادية (retrospective) لحالات المرضى المشخص لديهم كارسينوما غدية معدية، وذلك في مستشفى الأسد الجامعي في مدينة دمشق، وذلك بين عامي 2012-2013.

تم الحصول على **50 حالة** مشخصة كارسينوماغدية معدية للدراسة. تم استبعاد عدة حالات بسبب عدم كفايتها بعد إجراء التلوينات المناعية عليها، كما تم استبعاد الحالات التي أبدت شاهداً سلبياً أو خللاً في التلوين لأسباب متعلقة بطريقة حفظ العينة كما هو مبين في مراحل إجراء الدراسة, وبقي العدد النهائي للحالات 42 حالة.

شملت مراحل الدراسة ما يلي:

1. الرجوع إلى أرشيف قسم التشريح المرضي بين عامي 2012-2013 في مستشفى الأسد الجامعي، وذلك لدراسة التقارير النهائية، والمقاطع النسيجية الملونة بتلوين الهيماتوكسلين إيوزين، والحصول على البلوكات الشمعية الخاصة بها لاستكمال الدراسة, متضمنة عينات استئصالية وخزعات.
2. مراجعة المقاطع الملونة بـ H&E و انتقاء المقاطع التي احتوت على كارسينوما غدية .
3. تطبيق التلوينات المناعية على جميع الحالات، وقد أجريت هذه المرحلة في قسم التشريح المرضي، كلية الطب البشري.
4. دراسة الحالات الملونة بالهيماتوكسيلين إيوزين ووضع النمط النسيجي والدرجة النسيجية وتحديد المرحلة للعينات الجراحية.
5. دراسة محضرات التلوينات المناعية وتقييمها وتصوير المناسب منها.

6. تمت أرشفة كل الحالات والنتائج الكترونياً باستخدام برنامج Microsoft Access 2010، حيث ساعدنا البرنامج في وضع الجداول والمخططات وتحليل نتائج الدراسة

طريقة إجراء التلوينات المناعية

على الرغم من تواجد طرائق عديدة لتطبيق الدراسة المناعية إلا أنه قد تم اللجوء إلى الطريقة المعتمدة في مخبر التشريح المرضي في كلية الطب البشري – جامعة دمشق وهي الطريقة الأولى التي طبقت في المشافي الجامعية والمعتمدة على تعليمات الشركة المنتجة للأضداد DAKO:

- جميع العينات مثبتة بالفورمول، ومدمجة بالشمع.
- تم إجراء مقاطع بسماكة 5 ميكرون ومدها على بللورات مطلية بالجيلاتين.
- حُضنت البللورات بدرجة حرارة 60 لمدة 24 ساعة، ثم تم نزع الشمع بغسلها بالكزيلول، وإعادة إماهتها، ووضعها في كحولات متدرجة (95%-100%).
- تم وضعها في محلول Target Retrieval ، وغليها في المايكرويف لمدة 10 دقائق مع تفقدها كل 5 دقائق، وتعويض المحلول المتبخر بالماء المقطر.
- تُركت المحضرات لتبرد في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق، ثم وُضعت في محلول Wash buffer لمدة 20 دقائق.
- تم استخدام طريقة Avidin-Biotin-Peroxidase Complex كما يلي:

1. إضافة الضد الممدد بدرجة مناسبة، وحضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقائق ثم غسلها بمحلول Wash buffer 5 دقائق.
2. إضافة Link و Streptavidin (بحسب الـ Kit المستعمل)، وحضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقائق ثم غسلها بمحلول Wash buffer مدة 5 دقائق.

3. إضافة الكروموجين الممدد، وحضنها لمدة 10 دقائق في درجة حرارة الغرفة، ثم غسلها بالماء مباشرةً لايقاف التلوين المناعي.
4. تلوّن بعدها بالهيماتوكسيلين مدة1 دقيقة، وتغسل بالماء الجاري، ثم يُسحب الماء منها بواسطة الكحولات المتدرجة، وتوضع في الكزيلول، ثم تُستّر.

يحضر محلول الكروموجين بإضافة 100ميكرون من الكروموجين المركز إلى 5 مل من محلول DAB، ومن ثم تمزج جيداً.

الواسمات المناعية النسيجية الكيميائية المستخدمة

الواسم المناعي	باهاء محلول Target Retrieval	الـ KIT المستعمل
HER2/neu	9	Dako HER2™ EN VISION

نتائج الدراسة

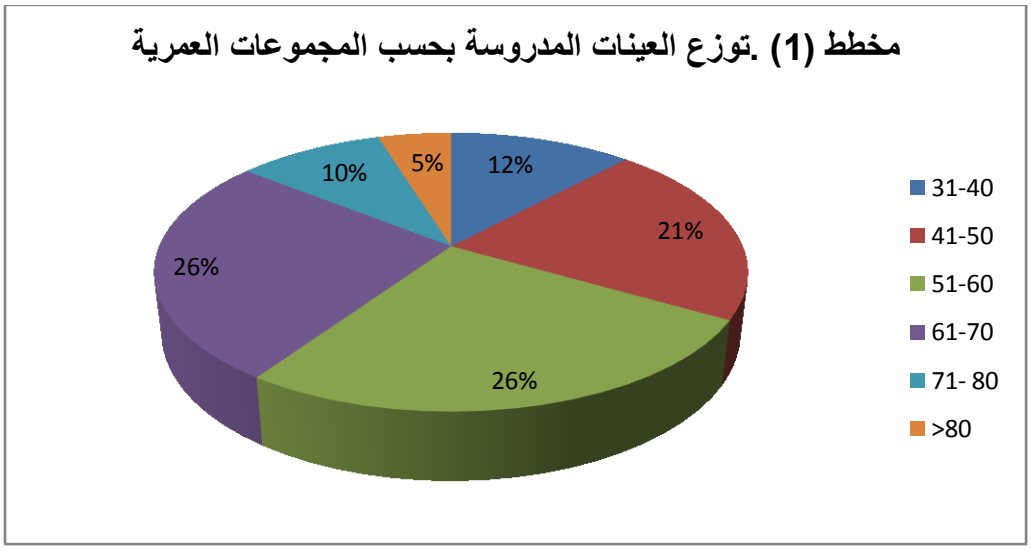
توزع الحالات حسب المجموعات العمرية

امتدت أعمار المرضى في الحالات المدروسة بين 31 سنة و 82 سنة، حيث كان العمر الوسطي **55.7** سنة.

يبين الجدول (2-1) والمخطط (1) توزع الحالات المدروسة بحسب المجموعات العمرية :

المجموعة العمرية	العدد	النسبة
40-31	5	%12
50-41	9	%21
60-51	11	%26
70-61	11	%26
80 -71	4	%10
80<	2	%5
المجموع	42	%100

مخطط (1) .توزع العينات المدروسة بحسب المجموعات العمرية

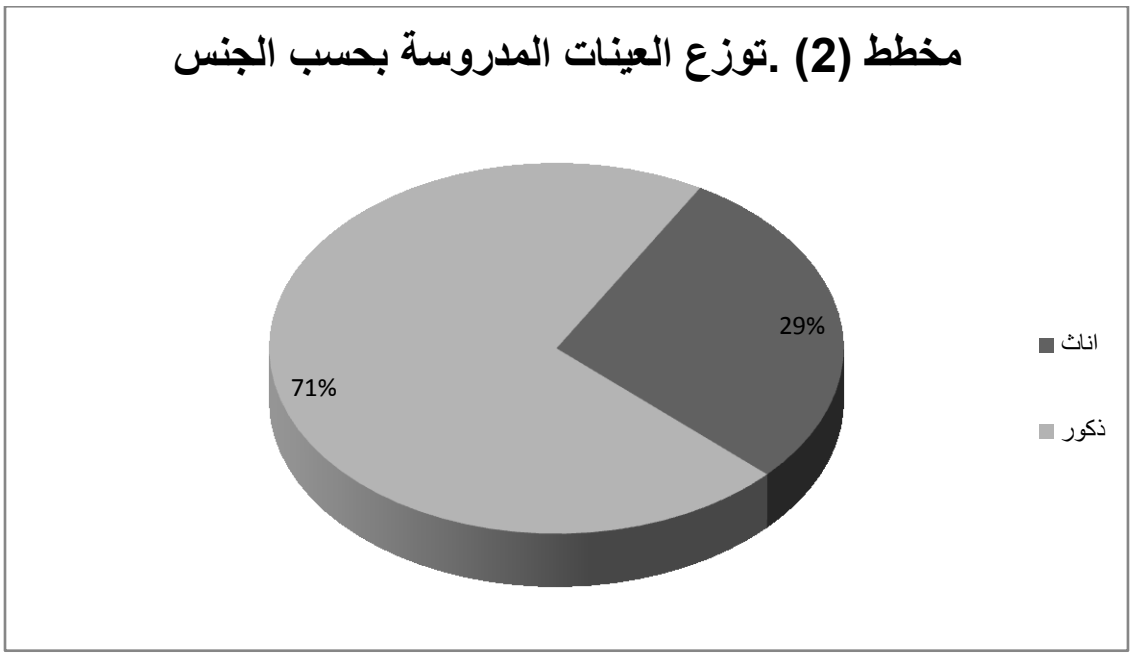


نلاحظ من الجدول (2-1) والمخطط (1) أن ما يزيد عن نصف الحالات كانت في أعمار أكبر من 50 سنة، حيث كانت المجموع ات العمرية الأكبر هي بين 51-60 وبين 61-70 سنة وشكلت 26%، 26% من الحالات على التوالي، مع ملاحظة أن المجموعات التي ضمت أعماراً تقل عن 50 سنة وصلت نسبتها إلى 33% (ثلث) من الحالات.

توزع الحالات حسب الجنس

توزعت الحالات المدروسة بحسب جنس المرضى بين 12 حالة عند الاناث و 30 حالة عند الذكور. يبين الجدول (2-2) والمخطط (1) توزع الحالات المدروسة بحسب الجنس :

الجنس	العدد	النسبة
اناث	12	%29
ذكور	30	%71
المجموع	42	%100



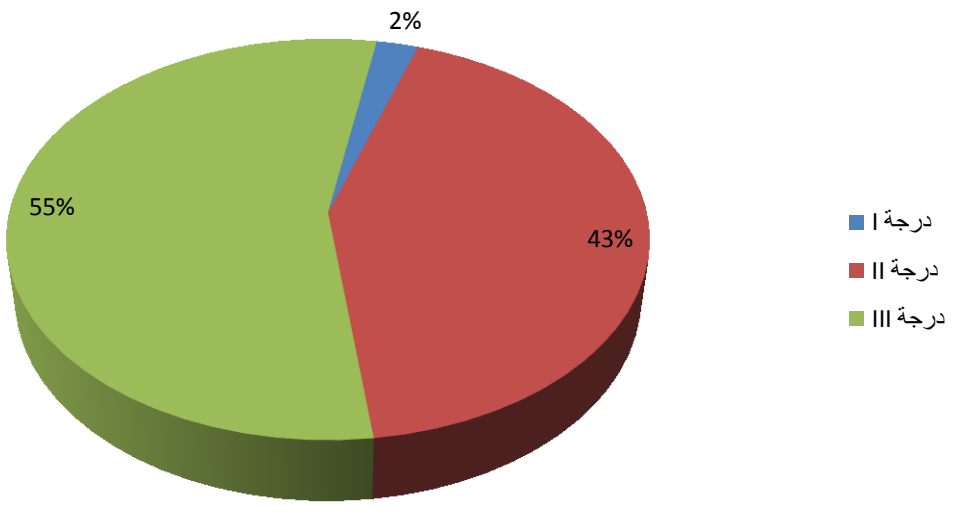
كما نلاحظ من الجدول (2-2) والمخطط (2) أن أكثر من ثلثي المرضى هم من الذكور وهو ما يعطي ارجحية حدوث سرطانة المعدة ذكور : اناث بـ 2.5 : 1.

توزع الحالات بحسب الدرجة النسيجية للورم

تم اعتماد نظام وضع الدرجة لسرطانات المعدة المنشورة في بروتوكولات College Of American Pathologists 2013 لتحديد الدرجة النسيجية للورم والذي يعتمد على دراسة العينات تحت المجهر الضوئي ووضع الدرجة النسيجية اعتماداً على نسبة التمايز الغدي/الأنبوبي بشكل أساسي . والمذكور في الدراسة النظرية (صفحة 25). كانت النتائج كم هو موضح في الجدول (2-3) والمخطط (3)

الدرجة النسيجية	عدد العينات	النسبة المئوية
درجة I	1	%2
درجة II	18	%43
درجة III	23	%55
المجموع	42	%100

المخطط (3). توزع الحالات بحسب الدرجة النسيجية للورم

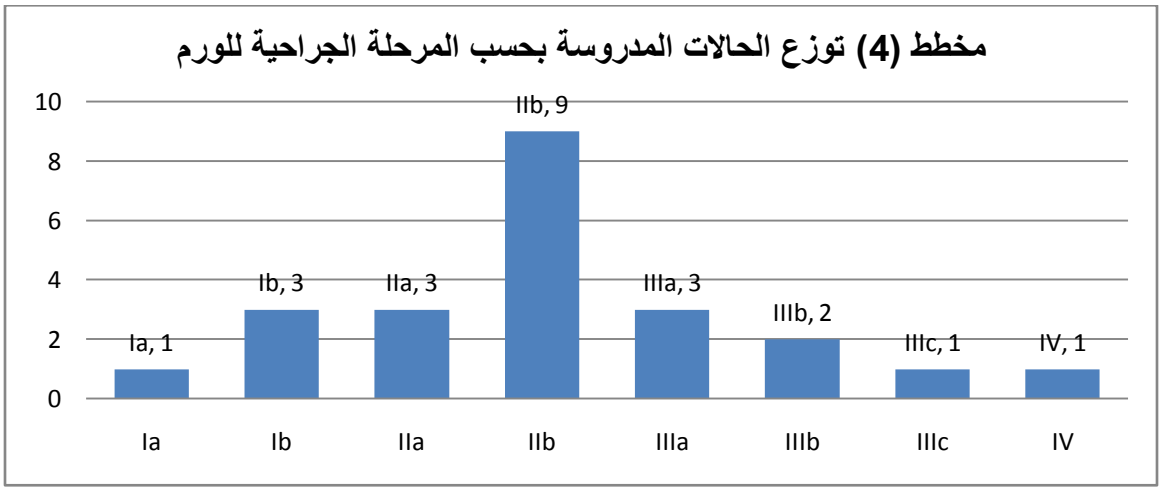


كما نلاحظ فإن أكثر من نصف الحالات (55%) أبدت سرطانات عالية الدرجة من الدرجة الثالثة، بينما أبدت حالة واحدة فقط سرطانة منخفضة الدرجة.

توزع الحالات بحسب المرحلة النسيجية للورم

تم الرجوع إلى أرشيف المرضى والدراسات التصويرية المرافقة لوضع المرحلة الجراحية للورم اعتمدنا فيه على أبعاد الورم والنقائل إلى العقد والنقائل البعيدة بحسب ما هو موصى به من قبل بروتوكول CAP 2013 **the American Joint Committee on Cancer (AJCC) and the International Union Against Cancer (UICC)** والمذكورأيضا في الدراسة النظرية في (الصفحة 27).وكانت النتائج كم هو موضح في الجدول (4-2) والمخطط (4)

المرحلة	عدد العينات	النسبة المئوية
Ia	1	%5
Ib	3	%13
IIa	3	%13
IIb	9	39%
IIIa	3	13%
IIIb	2	9%
IIIc	1	4%
IV	1	4%
المجموع	24	%100



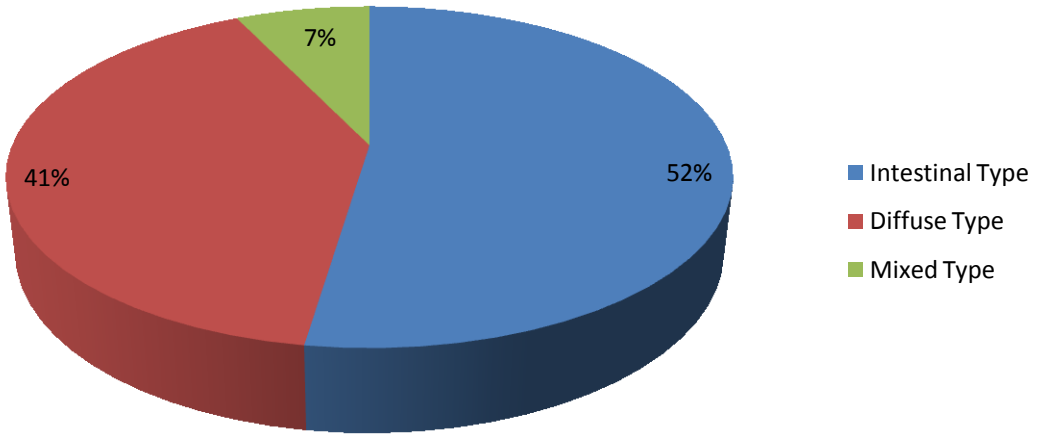
نلاحظ أن النسبة الأكبرمن الحالات كانت من المرحلة الثانية (65%) بينما النسبة الأقل كانت للمراحل المتقدمة (المرحلة الرابعة), حيث أبدت حالة واحدة فقط نقائل ورمية بعيدة.

توزع الحالات بحسب التصنيف النسيجي للورم

تم اعتماد المعايير المورفولوجية المجهرية لتحديد النمط النسيجي للأورام المدروسة وذلك بناءً على تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO،وتصنيف Lauren[44]،كما ذكرنا ضمن الدراسة النظرية (صفحة 18 – صفحة 20). وكانت النتائج الموضحة في الجدول (2-5) والمخطط (5)

النمط النسيجي	العدد	النسبة المئوية
Intestinal Type	22	%52
Diffuse Type	17	%41
Mixed Type	3	%7
المجموع	42	%100

المخطط (5). توزع الحالات بحسب التصنيف النسيجي للورم



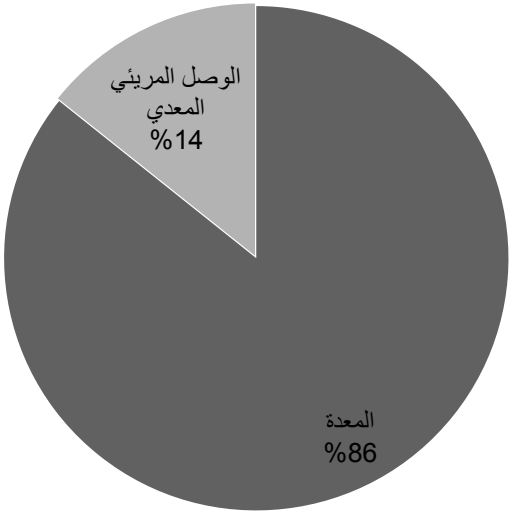
كما نلاحظ من الجدول (2-5) والمخطط (5) أن أكثر من نصف الحالات بقليل هي من النمط المعوي Intestinal، بينما شكل النمط المنتشر أكثر من ثلث الحالات (41%).

توزع الحالات بحسب الموقع البدئي للورم

تم الرجوع إلى أرشيف المرضى لتحديد الموقع البدئي للأورام المدروسة ، وكانت النتائج كما هو مبين بالجدول (2-6) والمخطط (6).

الموقع البدئي	العدد	النسبة المئوية
المعدة	36	%86
الوصل المريئي المعدي	6	%14
المجموع	42	%100

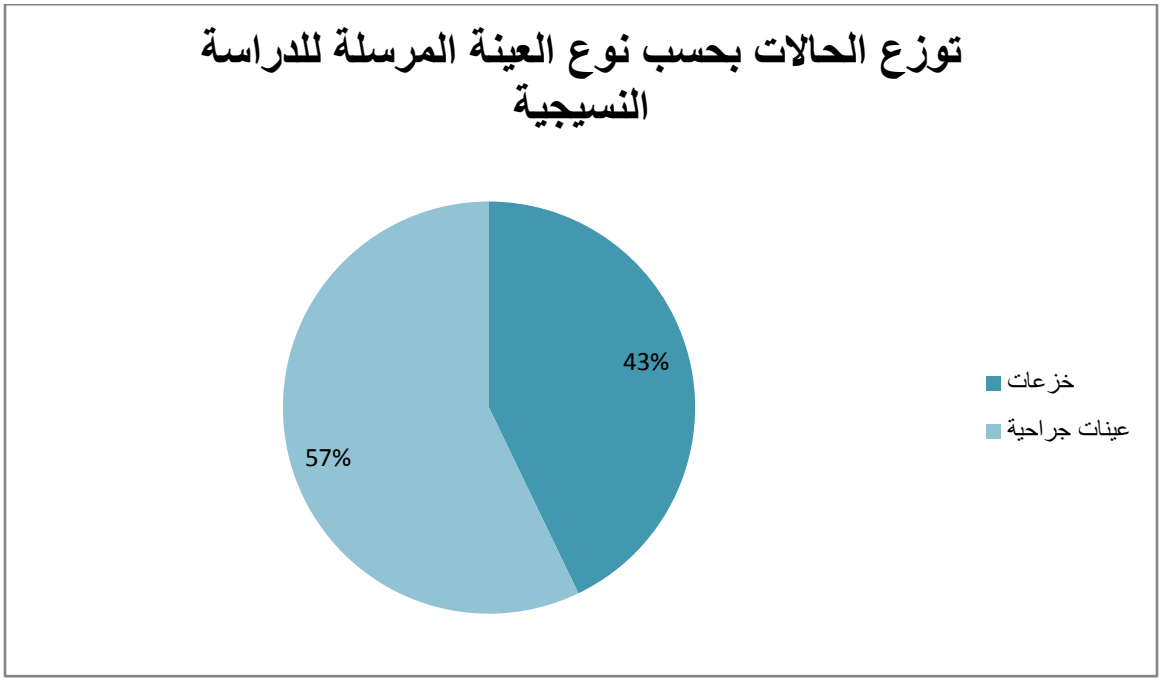
المخطط (6). توزع الحالات بحسب الموقع البدئي للورم



توزع الحالات بحسب نوع العينة المرسلة للدراسة النسيجية

تم الرجوع إلى أرشيف المرضى وتقارير التشريح المرضي لتحديد نوع العينة المرسلة للدراسة النسيجية التشخيصية، وهو ما كان له دور في طريقة تحديد درجة مستقبل Her2/neu كما بيّنا سابقاً في الدراسة النظرية (صفحة 42). كانت النتائج كما هو مبين بالجدول (2-7) والمخطط (7).

نوع العينة	العدد	النسبة المئوية
خزعات	18	%43
عينات جراحية	24	%57
المجموع	42	%100

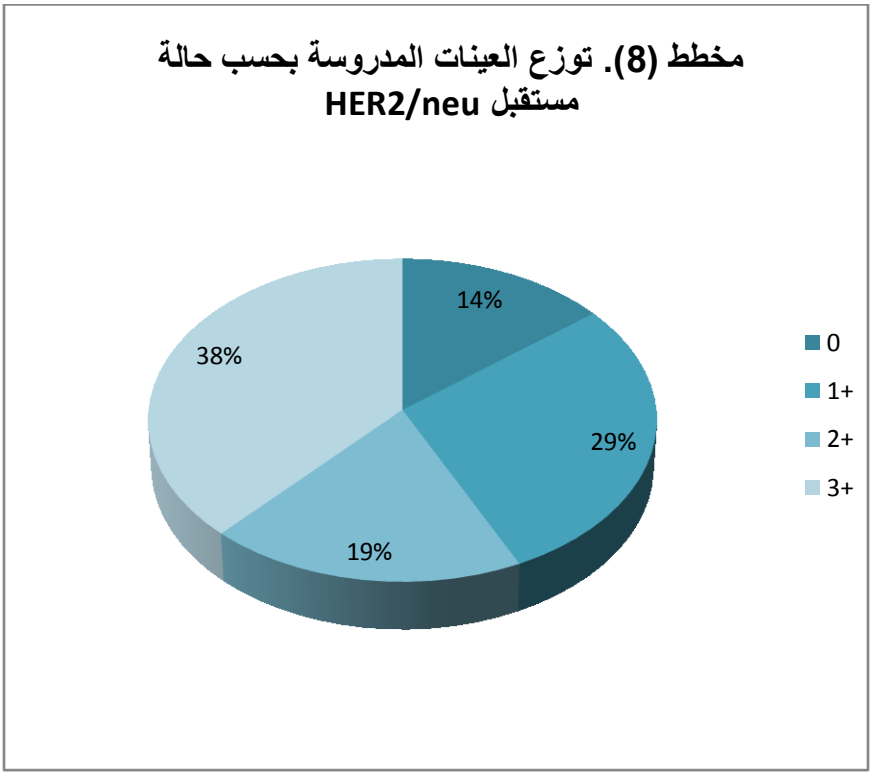


توزع العينات بحسب حالة مستقبل HER2/neu بالتلوينات المناعية

تمت دراسة حالة مستقبل HER2/neu باستخدام التلوينات المناعية، وتقدير درجة فرط التعبيرية بحسب الجدول المذكور في (الصفحة 40)من الدراسة النظرية والمعتمد على دراسة هوفمان [85]، والخوارزمية المعدَلة [87][88]عن دراسة TOGA [86] والمذكورة في الدراسة النظرية في(الصفحة 42-43- 44-45).

وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-8) والمخطط (8).

حالة HER2/neu	0	1+	2+	3+	المجموع
العدد	6	12	8	16	42
النسبة المئوية	%14	%29	%19	%38	%100

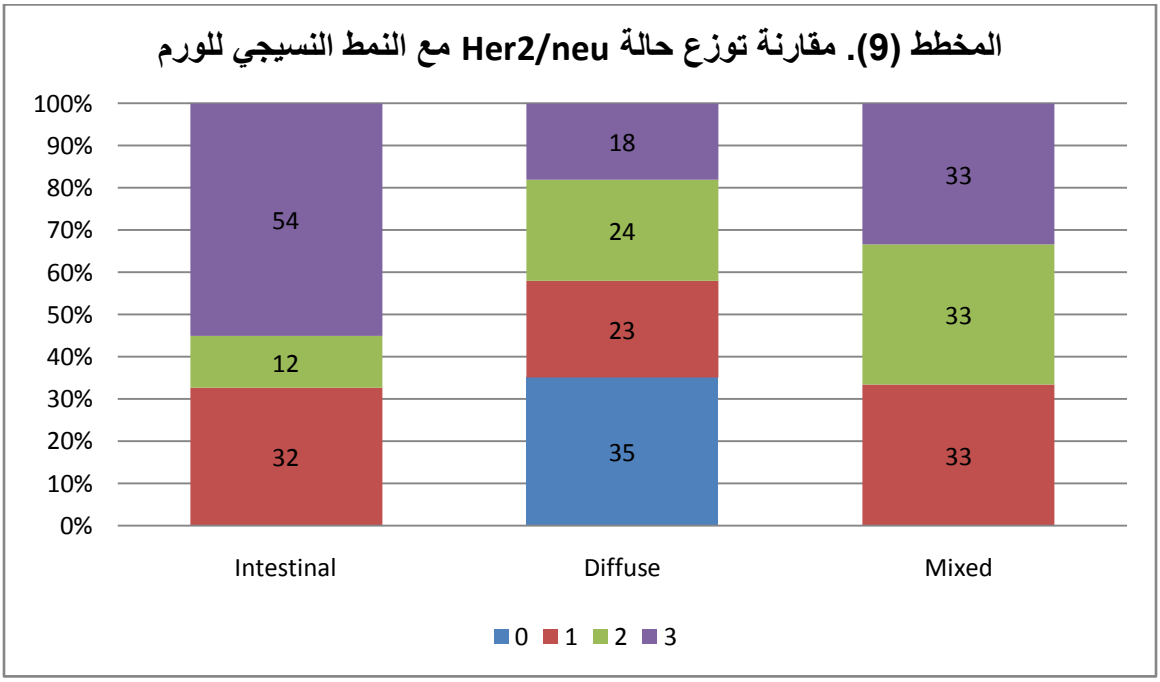


كما نلاحظ من المنائج المبينة في الجدول (2-8) والمخطط (8) فإن نسبة ايجابية المستقبل Her2/neu بالتلوينات المناعية هي (38%) بينما كانت نسبة السلبية (33%) من الحالات. فيما تبقى نسبة (19%) من الحالات (وهي ذات الدرجة + 2) في حاجة إلى اختبارات دراسة تضاعف المورثة لتحديد ايجابيتها أو سلبيتها.

مقارنة توزع حالة Her2/neu مع النمط النسيجي للورم

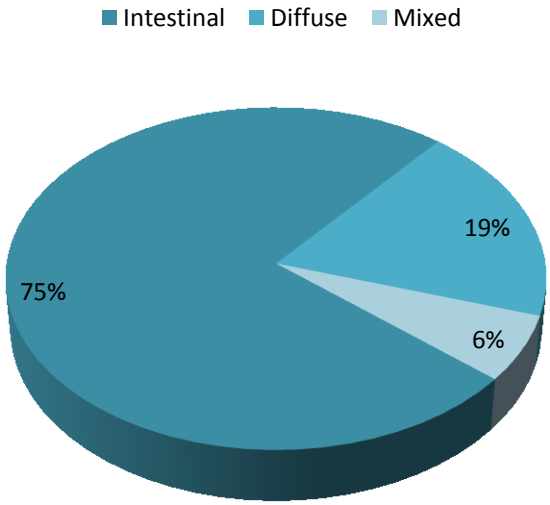
قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب الدرج ة درجة Her2/neu بالنسبة لكل نمط نسيجي ، وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-9) والمخطط (9)

النمط النسيجي	0	1 +	2+	3+	المجموع
Intestinal		(%32) 7	(%12) 3	(%54) 12	22
Diffuse	(%35) 6	(%23) 4	(%24) 4	(%18) 3	17
Mixed		(%34) 1	(%33) 1	(%33) 1	3



نلاحظ ان اعلى نسبة إيجابية لـ Her2/neu كانت في الأورام ذات النمط المعوي Intestinal حيث كانت نسبة الايجابية 54% من مجموع الأورام ذات النمط المعوي، بحيث شكلت السرطانات ذات النمط المعوي (75%) من مجموع الأورام إيجابية Her2/neu كما هو مبين في المخطط (10).

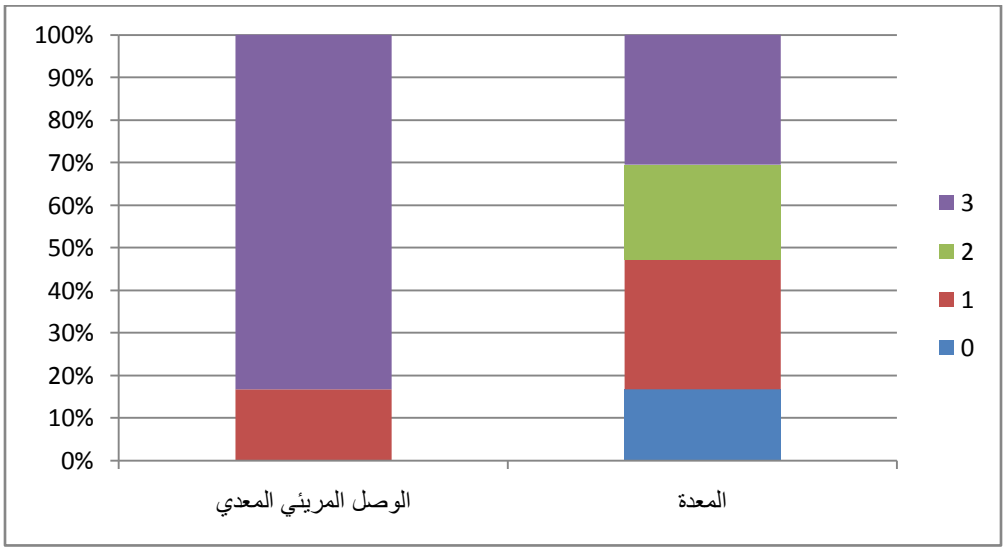
المخطط (10). مقارنة توزع النمط النسيجي للورم بالنسبة للحالات إيجابية Her2/neu



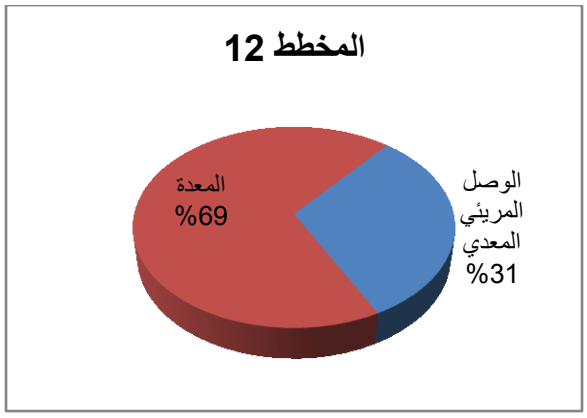
مقارنة توزع حالة Her2/neu مع الموقع البدئي للورم

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب الدرجة Her2/neu بالنسبة للموقع البدئي للورم ، وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-10) والمخطط (11)

الموقع البدئي	0	1 +	2+	3+	المجموع
الوصل المريئي المعدي	لايوجد	1 (%17)	لايوجد	5 (%83)	6
المعدة	6 (%17)	11 (%31)	8 (%21)	11 (%31)	36



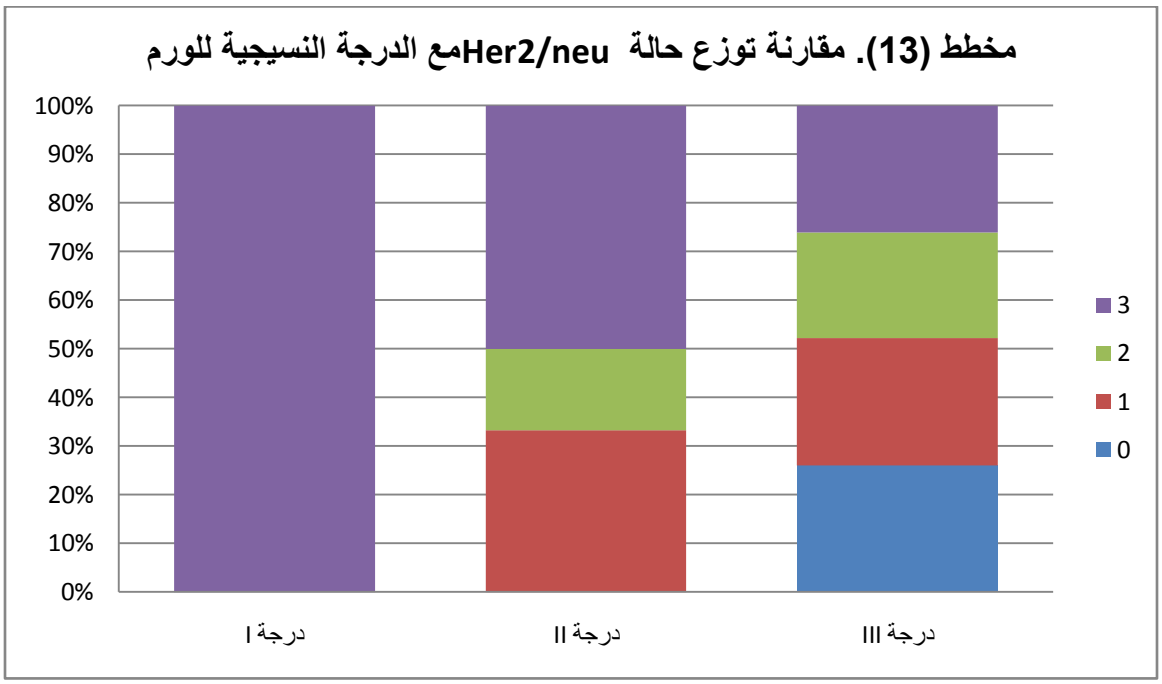
نلاحظ أن معظم السرطانات الناشئة على حساب الوصل المريئي المعدي كانت إيجابية الـ Her2/neu (83%). وقد شكلت السرطانات الناشئة من الوصل المريئي المعدي (31%) من الحالات إيجابية Her2/neu. المخطط (12).



مقارنة توزع حالة Her2/neu مع الدرجة النسيجية للورم

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب الدرجة درجة Her2/neu بالنسبة للدرجة النسيجية للورم، وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-11) والمخطط (13)

الدرجة النسيجية	0	1 +	2+	3+	المجموع
درجة I	لايوجد	لايوجد	لايوجد	1 (100%)	1
درجة II	لايوجد	6	3	9 (50%)	18
درجة III	6	6	5	6 (26%)	23

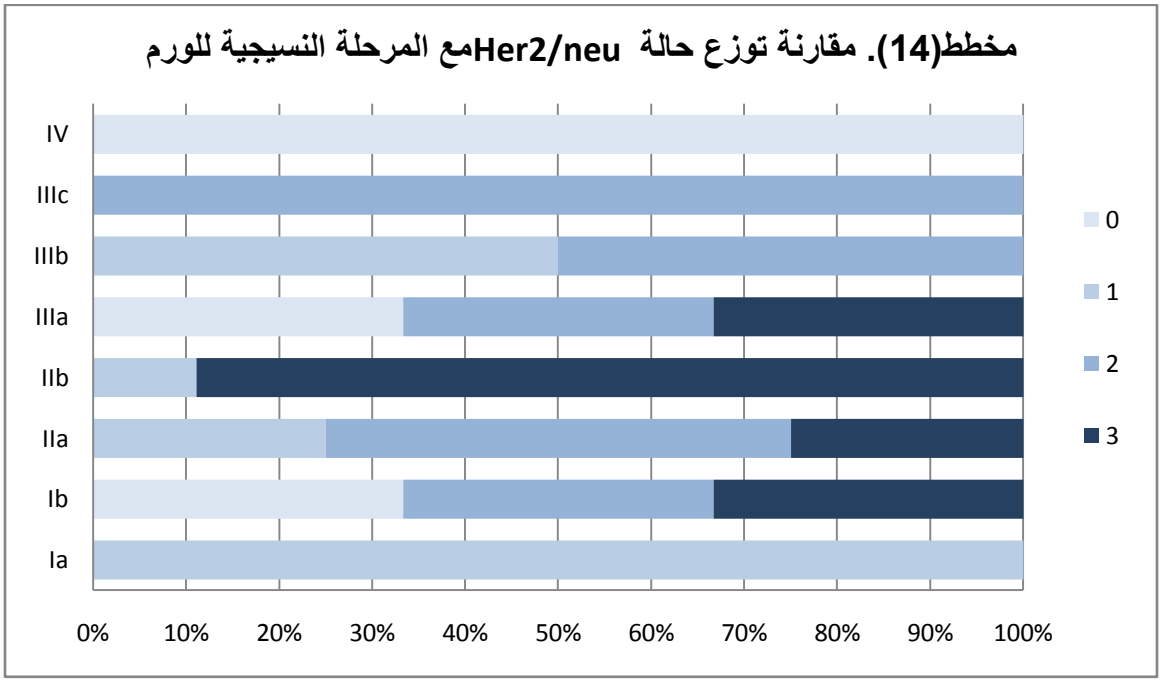


نلاحظ أن درجة إيجابية Her2/neu تتناسب عكساً مع الدرجة النسيجية للورم، حيث تكون النسبة الأكبر من إيجابية Her2/Neu في الدرجات الأولى والثانية بينما تنخفض نسبة الإيجابية في السرطانت ذات الدرجات النسيجية العالية (26%) من الحالات.

مقارنة توزع حالة Her2/neu مع المرحلة النسيجية للورم

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب درجة إيجابية Her2/neu بالنسبة للمرحلة الجراحية للورم، وكانت النتائج كما هو مبين في الجدول (2-12) والمخطط (14)

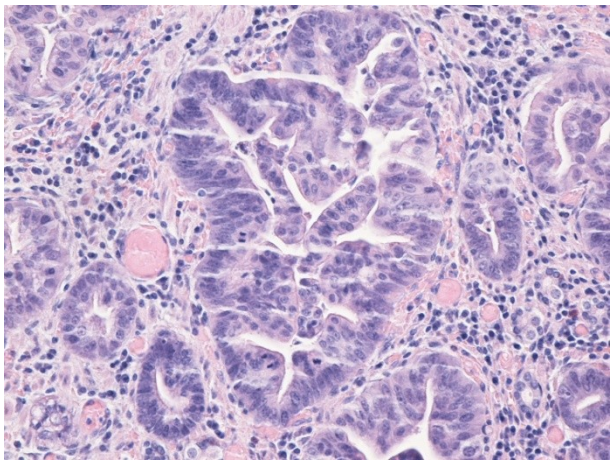
المرحلة	0	1 +	2+	3+	المجموع
Ia	لايوجد	1	لايوجد	لايوجد	1
Ib	1	لايوجد	1	1	3
IIa	لايوجد	1	2	1	4
IIb	لايوجد	1	لايوجد	8	9
IIIa	1	لايوجد	1	1	3
IIIb	لايوجد	1	1	لايوجد	2
IIIc	لايوجد	لايوجد	1	لايوجد	1
IV	1	لايوجد	لايوجد	لايوجد	1



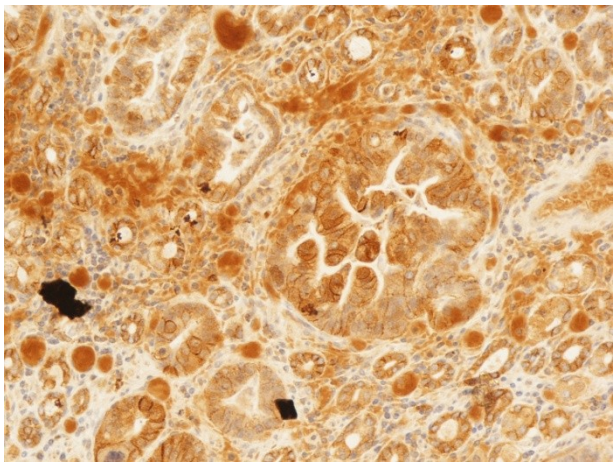
نلاحظ من الجدول (2-12) والمخطط (14) أن نسبة إيجابية Her2 الأعلى كانت في الأورام ذات المرحلة (II) بينما لم تشتمل المراحل المتقدمة (III و IV) على أي حالة ايجابية (IHC=3), انما فقط حالتين تبديان (IHC=2) اي بحاجة الى استكمال الدراسة باختبارات تضاعف المورثة.

أمثلة من الحالات المدروسة

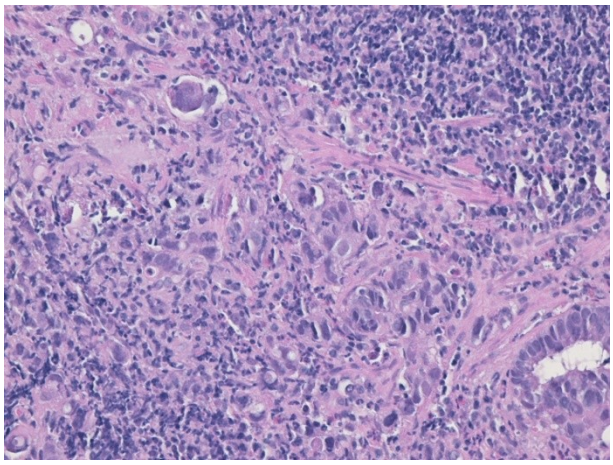
النمط : Intestinal



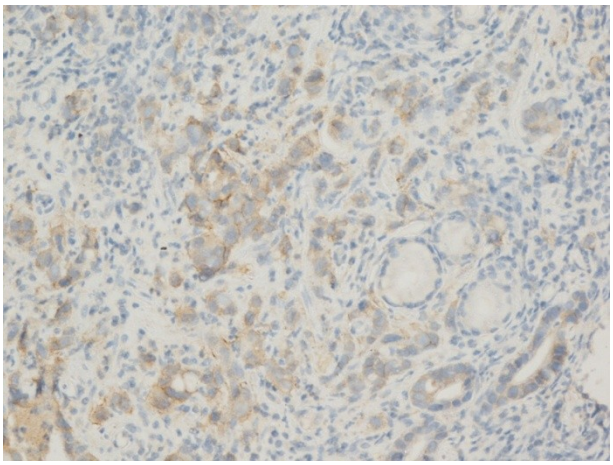
Her2-neu score: +3



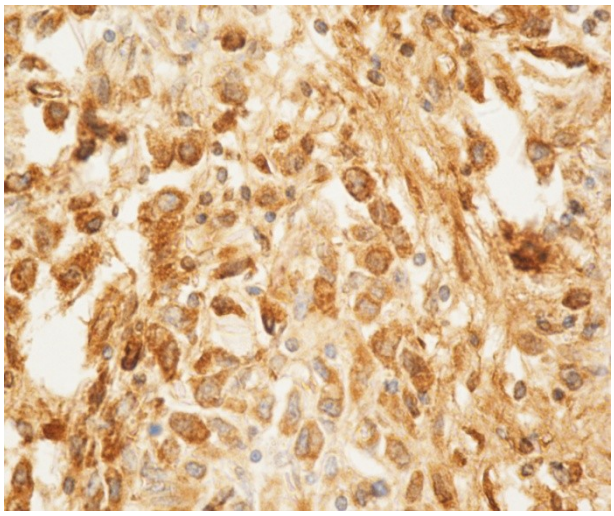
النمط : Intestinal



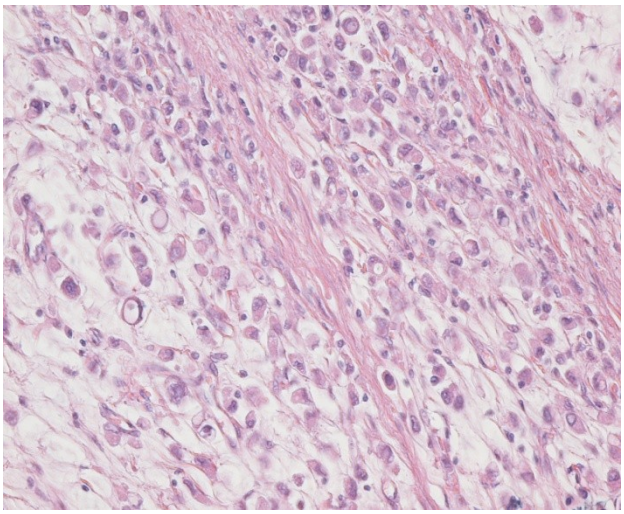
Her2-neu score: +1



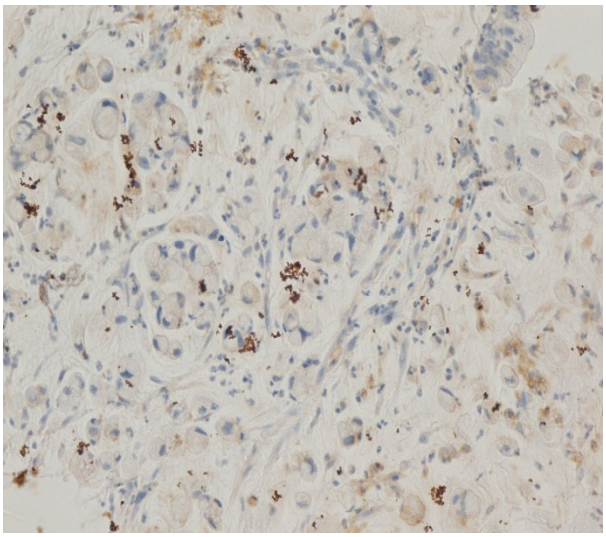
Her2-neu score: +3



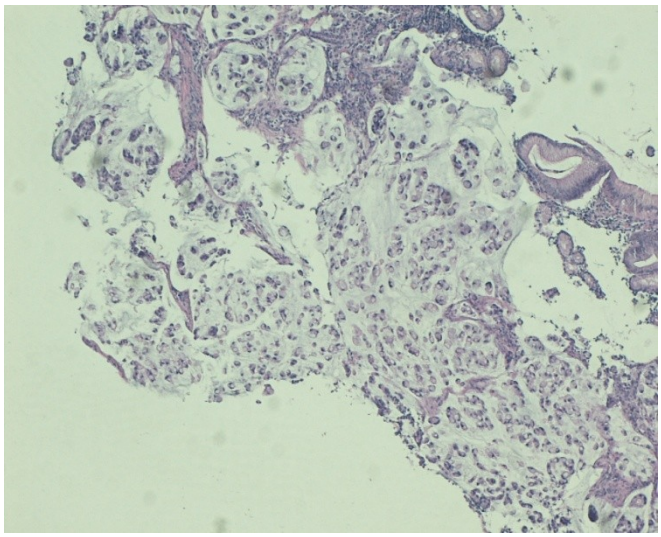
النمط : Diffuse



Her2-neu score: 0



النمط : Diffuse



مناقشة النتائج ومقارنتها بالدراسات العالمية

التوزع العمري والجنس

قمنا بإجراء مقارنة بين التوزع العمري في دراستنا ودراسة H.R. Raziee وزملائه[89] الايرانية.

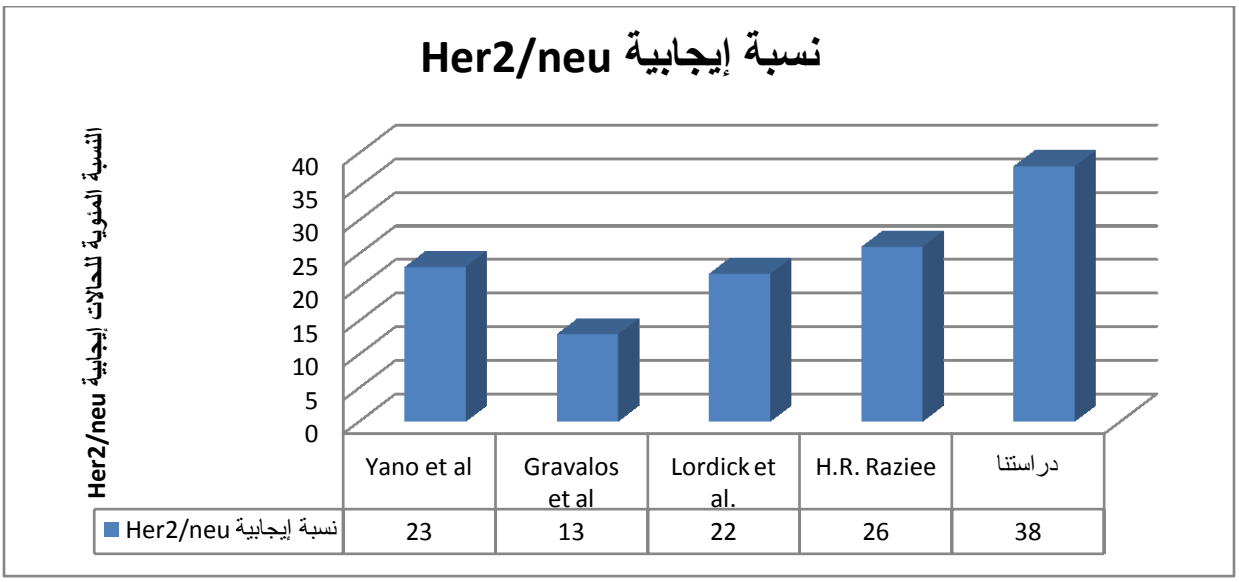
إن العمر الوسطي في دراستنا (55.7 سنة) هو أقل من العمر الوسطي عند المرضى في الدراسة المذكورة (63.3 سنة).

بالنسبة لتوزع الجنس فقد كانت في دراستنا نسبة ذكور: إناث هي 2.5 : 1 وهي أقل بقليل من الدراسة الايرانية وهي 2.8: 1 .

مقارنة درجة فرط تعبيرية Her2/neu

تمت مقارنة نسبة إيجابية الـ Her2/neu في سرطانات المعدة مع الدراسات التالية: Yano et al[91]. اليابانية، Gravalos et al[88] الأوروبية، Lordick et al.[90] التي تمت على مرضى من أوروبا وآسية وأميركا اللاتينية، ودراسة H.R. Raziee الايرانية.

الدراسة	نسبة إيجابية Her2/neu
Yano et al	23
Gravalos et al	13
.Lordick et al	22
H.R. Raziee	26
دراستنا	38

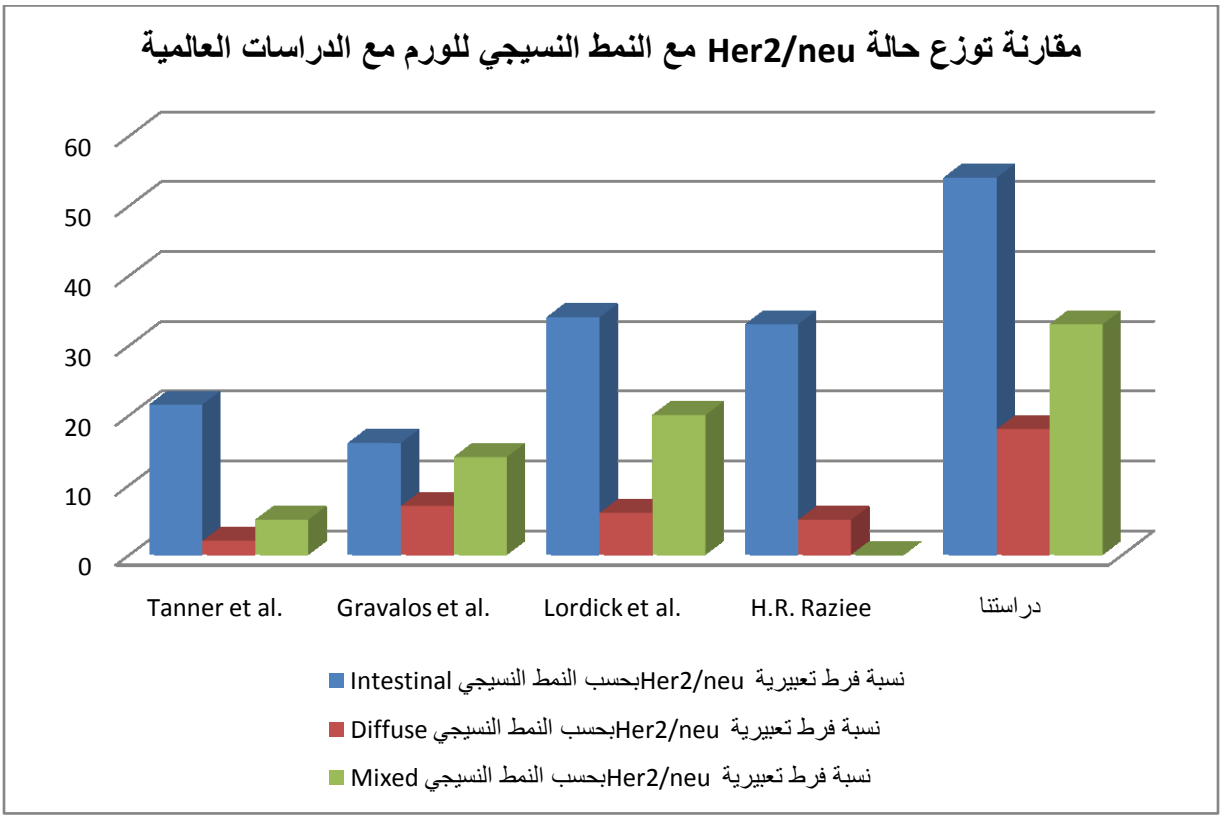


كما نلاحظ فان دراستنا فيها النسبة الأعلى من فرط تعبيرية Her2/neu.بحيث كانت الدراسة الايرانية المذكورة تبدي نتائج هي الأقرب لنتائج دراستنا وقد يكون ذلك عائدا لكونها مماثلة لدراستنا من حيث الاكتفاء بدراسة فرط تعبيرية المورثة من خلال التلوينات المناعية فقط وعدم استكمالها بدراسة تضاعف المورثة. قد يعزى الاختلاف في النتيجة في دراستنا الى صغر حجم العينة المدروسة (50 حالة), بالاضافة الى امكانية اختلاف المواد المستخدمة في اجراء التلوينات.

مقارنة توزع حالة Her2/neu مع النمط النسيجي للورم مع الدراسات العالمية

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب الدرج ة درجة Her2/neu بالنسبة لكل نمط نسيجي ومقارنتها مع الدراسات التالية : Tanner et al. ، Gravalos et al. ، Lordick et al. ودراسة H.R. Raziee وهو ما يبينه الجدول التالي:

الدراسة	نسبة فرط تعبيرية Her2/neu بحسب النمط النسيجي		
	Intestinal	Diffuse	Mixed
Tanner et al.	21.5	2	5
Gravalos et al.	16	7	14
Lordick et al.	34	6	20
H.R. Raziee	33	5	0
دراستنا	54	18	33

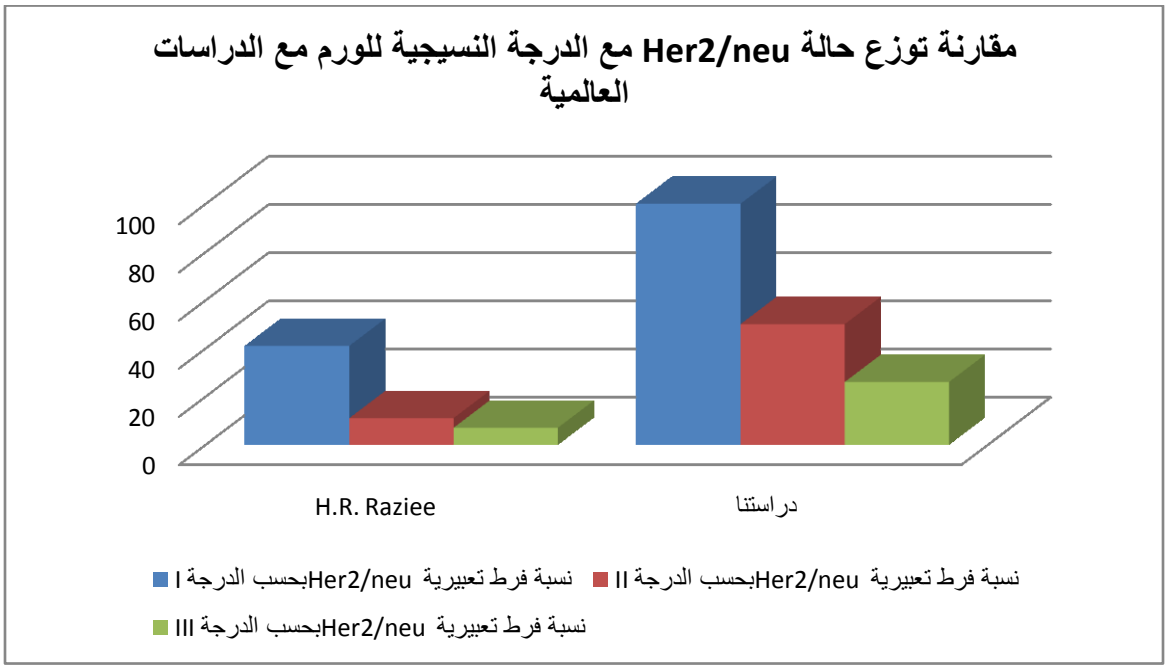


نلاحظ أنه على الرغم من أن دراستنا أبدت نسبة عالية من ايجابية HER2 بشكل عام كما ذكرنا, وهي النسبة الأعلى بين الدراسات المقارنة, الا أن ارتباط هذه النسبة العالية من الايجابية مع الأورام ذات النمط المعوي (54% نسبة الايجابية في هذه الأورام) هو مماثل للدراسات المقارنة حيث تظهر جميعها أن النسبة الأعلى من الأورام ايجابية HER2 هي من النمط المعوي كما هو واضح بالمخطط.

مقارنة توزع حالة Her2/neu مع الدرجة النسيجية للورم مع الدراسات العالمية

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب درجة Her2/neu بالنسبة لكل نمط نسيجي ومقارنتها مع دراسة H.R. Raziee وهو ما يبينه الجدول التالي:

الدراسة	نسبة فرط تعبيرية Her2/neu بحسب الدرجة		
	I	II	III
H.R. Raziee	41	11	7
دراستنا	100	50	26

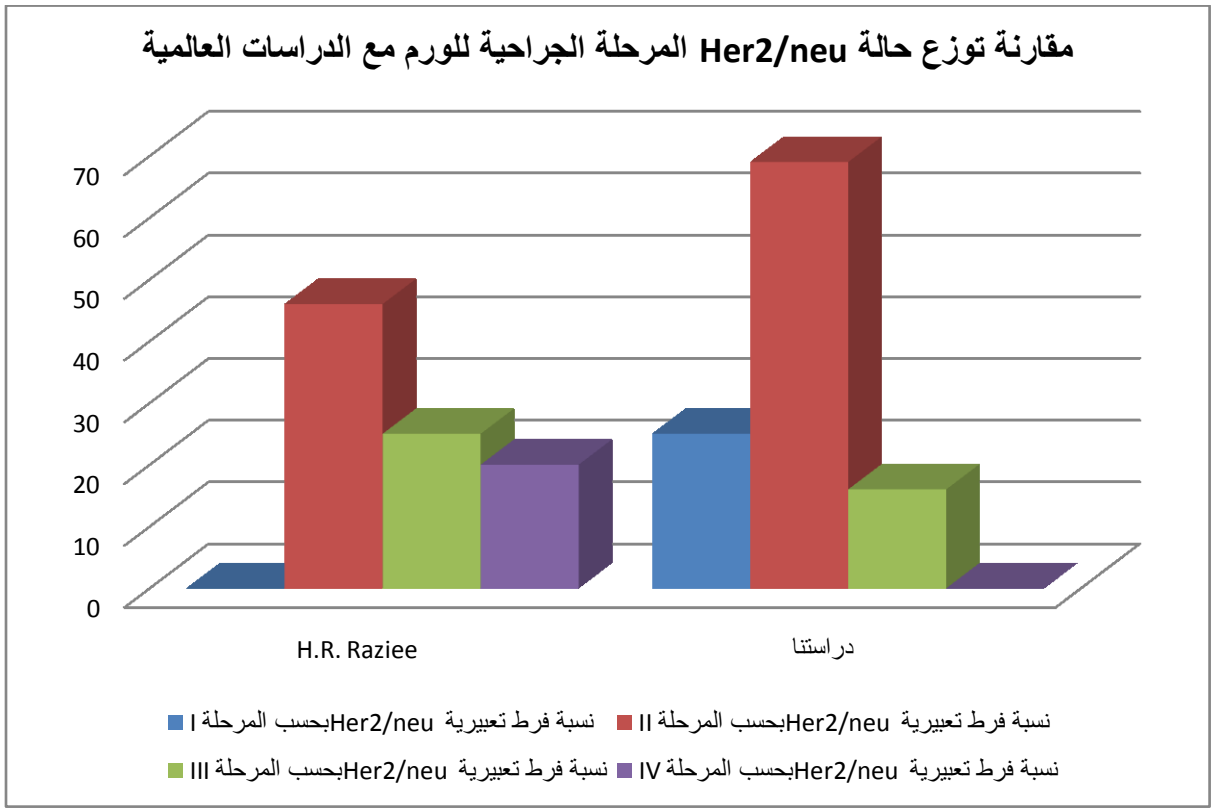


تتوافق نتائج دراستنا مع الدراسة الايرانية, بحيث تبدي الدراستان تناسب عكسي بين درجة ايجابية HER2 وبين الدرجة النسيجية للورم, النسبة الأعلى للايجابية كانت للحالات ذات الدرجة الأولى.

مقارنة توزع حالة Her2/neu مع المرحلة الجراحية للورم مع الدراسات العالمية

قمنا بإجراء مقارنة توزع الحالات المدروسة بحسب درجة Her2/neu بالنسبة لكل نمط نسيجي ومقارنتها مع دراسة H.R. Raziee وهو ما يبينه الجدول التالي:

الدراسة	نسبة فرط تعبيرية Her2/neu بحسب المرحلة			
	I	II	III	IV
H.R. Raziee	0	46	25	20
دراستنا	25	69	16	0



يلاحظ من المقارنة السابقة أن كل من دراستنا والدراسة الايرانية تبديان النسبة الأعلى من الايجابية في الأورام من المرحلة الثانية, ولكن وبشكل متناقض نلاحظ أن الدراسة الايرانية تبدي نسبة ايجابية 20% في المرحلة الرابعة, بينما هذه النسبة هي 0% في دراستنا, وبالمقابل فان دراستنا تبدي نسبة ايجابية 25% في المرحلة الأولى وتقابل 0% في الدراسة الايرانية.

الخلاصة

وجدنا في دراستنا نسبة عالية لايجابية تعبيرية المورثة HER2-neu في سرطانات المعدة الغدية تصل الى (38%) من مجموع الحالات المدروسة وهي عموما نسبة أعلى من الدراسات العالمية المنشورة.

بالاضافة ايضا الى وجود نسبة مهمة من الحالات تصل الى(19%) أبدت درجة قياس HER2-neu (IHC=2) وهي الحالات غير المحسومة.

هذا كله يؤدي الى استنتاج أهمية دراسة حالة المورثة HER2-neu في كارسينومات المعدة بشكل أدق و أعمق والحاجة الى استكمال الدراسة بفحوصات تضاعف المورثة أو تضخيم الاشارة الجينية كخطوة أولى في بحث جدوى تطبيق العلاج الهدفي بالضد (Herceptin) على مرضانا.

وجدنا أيضا ان نسبة ايجابية HER2-neu ترتبط بشكل وثيق مع الأورام ذات النمط المعوي.

مع عدم اغفال ان نسبة الايجابية للأورام من النمط المنتشر وصلت الى (18%) وهي نسبة عالية مقارنة بالدراسات العالمية وهو ايضا الأمر الذي يستدعي استكمال الدراسة وتأكيد هذه النتائج من خلال فحوصات تضاعف المورثة, وبخاصة أن هذا النمط من الورم عادة متقدم الدرجة وانذاره سيء.

ارتبطت نسبة الايجابية بموقع الورم البدئي حيث كانت أعلى في الأورام الناشئة من منطقة الوصل المريئي المعدي مقارنة بتلك الناشئة من المعدة, وهو الأمر الذي يطابق نتائج الدراسات العالمية.

بالنسبة للدرجة النسيجية فان نسبة الايجابية كانت أعلى في الأورام ذات الدرجات المنخفضة (الأفضل تمايزاً) وهو أيضا ما يماثل نتائج الدراسات العالمية.

وأخيرا بالنسبة لمرحلة الورم, نلاحظ أن النسبة الأعلى من ايجابية HER2-neu كانت في الأورام من المرحلة الثانية, مع نسبة ايجابية قليلة في المرحلة الأولى, وانعدام هذه الايجابية في المرحلة الرابعة. نستنتج عدم وجود علاقة ذات مغزى بين درجة الايجابية ومرحلة الورم.

التوصيات

نوصي من خلال دراستنا بما يلي:

- إجراء التلوين المناعي لتحديد وجود فرط تعبيرية HER2-neu على كل حالات كارسينوما المعدة الغدية وبالأخص ذات النمط المعوي، وبخاصة أنه اصبح يعتمد كتلوين مناعي الزامي في بعض دول الجوار كما في سرطان الثدي.

- إجراء فحوصات كشف تضاعف المورثة Her2 ومقارنتها مع دراسات التلوين المناعي للوصول إلى دقة أكبر في الدراسة وخاصة للحالات التي تظهر نتيجة غير حاسمة (IHC=2).

كتوصيات عامة :

- اجراء دراسات أوسع وأكثر شمولية لحالة HER2-neu في سرطانات المعدة الغدية مع محاولة طرح امكانية تطبيق العلاج الهدفي في مشافينا على الحالات الايجابية ودراسة نجاعة هذا العلاج.
- تأسيس وهيكلة أرشيف منظم ومؤتمت للمستشفيات الجامعية، وذلك لربط كافة الأقسام الطبية السريرية والتشخيصية بهدف الحصول على المعلومات السريرية الخاصة بكل مريض عند الحاجة.

المراجع

1. SURGICAL PATHOLOGY OF THE GI TRACT, LIVER, PANCREAS, AND BILIARY TRACT, 2009, ISBN: 978-14160-4059-0.

2. ROBBINS BASIC PATHOLOGY 978-1-4377-1781-5 International Edition: 978-0-8089-2432-6

3. Wingo PA, et al: Long-term trends in cancer mortality in the United States, 1930–1998. *Cancer* 2003; 97:3133.

4. Devesa SS, et al: Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998; 83:2049.

5. El-Serag HB, et al: Epidemiological differences between adenocarcinoma of the oesophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia in the USA. *Gut* 2002; 50:368.

6. Hundahl SA, et al: The National Cancer Data Base report on poor survival of U.S. gastric carcinoma patients treated with gastrectomy. *Cancer* 2000; 88:921.

7. Hansen S, et al: Two distinct aetiologies of cardia cancer; evidence from premorbid serological markers of gastric atrophy and Helicobacter pylori status. *Gut* 2007; 56:918.

8. Neugut AI, Hayek M, Howe G: Epidemiology of gastric cancer. *Semin Oncol* 1996; 23:281-291.

9. Correa P: The epidemiology of gastric cancer. *World J Surg* 1991; 15:228-234.

10. Devesa SS, Blot WJ, Fraumeni Jr JF: Changing patterns in the incidence of esophageal and gastric carcinoma in the United States. *Cancer* 1998; 83:2049-2053.

12. Fuchs CS, Mayer RJ: Gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1995; 333:32-41.

13. Noguchi Y, Yoshikawa T, Tsuburava A, Motohashi H, Karpeh MS, Brennan ME . Is gastric carcinoma different between Japanand the United States? Cancer 2000, 89 : 2237-2246
14. Keller G: Hereditary aspects of gastric cancer. *Pathologica* 2002; 94:229-233.

15. Oliveira C, Seruca R, Carneiro F: Genetics, pathology, and clinics of familial gastric cancer. *Int J Surg Pathol* 2006; 14:21-33.

16. Correa P. Clinical implications of recent developments in gastric carcinoma pathology and epidemiology . Semin Oncol 1985, 12 :

17. Grabiec J, Owen DA: Carcinoma of the stomach in young persons. *Cancer* 1985; 56:388-396.

18. Siegel SM, Hays DM, Romansky S, Issacs H: Carcinoma of the stomach in childhood. *Cancer* 1976; 38:1781-1784

19. Theuer CP, Kurosaki T, Taylor TH, Anton-Culver H: Unique features of gastric carcinomas in the young: a population-based analysis. *Cancer* 1998; 83:25-33.

20. Tso PL, Bringaze III WL, Dauterive AH, Correa P, Cohn Jr I: Gastric carcinoma in the young. *Cancer* 1987; 59:1362-1365.

21. Taki K, Kuwabara N: Studies of histogenesis of the gastric carcinoma using minute cancers. *Pathol Res Pract* 1981; 172:176-190.

22. Bronner MP: Gastric cancer and intestinal metaplasia. *Hum Pathol* 1999; 30:733.

23. Hill MJ: Etiology of gastric carcinoma. *Clin Oncol* 1984; 3:237-249.

24. Iwanaga T, Koyama H, Takahashi Y, Taniguchi H, Wada A: Diffuse submucosal cysts and carcinoma of the stomach. *Cancer* 1975; 36:606-614

25. Hall CN, Darkin D, Brimblecombe R, Cook AJ, Kirkham JS, Northfield TC: Evaluation of the nitrosamine hypothesis of gastric carcinogenesis in precancerous conditions. *Gut* 1986; 27:491-498.

26. Correa P: Human gastric carcinogenesis. A multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992; 15:6735-6740.

27. Murayama Y, Kikuchi M, Enjoji M, Morita N, Haraguchi Y: Changes in gastric mucosa that antedate gastric carcinoma. *Cancer* 1990; 66:2017-2026.

28. Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamäki T, Siurala M: Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis. Statistical calcualtions of cross-sectional data. *Int J Cancer* 1985; 35:173-177.

29. Sipponen P, Kekki M, Siurala M: Atrophic chronic gastritis and intestinal metaplasia in gastric carcinoma. Comparison with a representative population sample. *Cancer* 1983; 52:1062-1068.

30. Schafer LW, Larson DE, Melton III LJ, Higgins JA, Zinsmeister AR: Risk of development of gastric carcinoma in patients with pernicious anemia. A population-based study in Rochester, Minnesota. *Mayo Clin Proc* 1985; 60:444-448

31. Correa P: Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. *Am J Surg Pathol* 1995; 19:S37-S43.

32. Koshida Y, Koizumi W, Sasabe M, Katoh Y, Okayasu I: Association of Helicobacter pylori-dependent gastritis with gastric carcinomas in young Japanese patients: histopathological comparison of diffuse and intestinal type cancer cases. *Histopathology* 2000; 37:124-130.

33. Lauren P: The two histological main types of gastric carcinoma. Diffuse and so-called intestinal type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64:31-49.

34. Solcia E, Fiocca R, Luinetti O, Villani L, Padovan L, Calistri D, Ranzani GN, Chaiaravalli A, Capella C: Intestinal and diffuse gastric cancers arise in a different background of Helicobacter pylori gastritis through different gene involvement. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:S8-S22.

35. Antonioli DA: Precursors of gastric carcinoma. A critical review with a brief description of early (curable) gastric cancer. *Hum Pathol* 1994; 25:994-1005.

36. Lauren PA, Nevalainen TJ: Epidemiology of intestinal and diffuse types of gastric carcinoma. A time-trend study in Finland with comparison between studies from high- and low-risk areas. *Cancer* 1993; 71:2926-2933.

37. Souquet JC, Berger F, Bonvoisin S, Partensky C, Boulez J, Descos F, Lambert R: Esophageal squamous cell carcinoma associated with gastric adenocarcinoma. *Cancer* 1989; 63:786-790.

38. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57

39. Stout AP: *Tumors of the stomach*. section VI, fascicle 21*Atlas of tumor pathology*, Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1953.

40. Yamagiwa H, Yoshimura H, Tomiyama H, Onishi T, Matsuzaki O: Clinicopathological study of gastric cancers in the greater curvature. *Acta Pathol Jpn* 1984; 34:519-527.

41. Esaki Y, Hirokawa K, Yamashiro M: Multiple gastric cancers in the aged with special reference to intramucosal cancers. *Cancer* 1987; 59:560-565.

42.Kosaka T, Miwa K, Yonemura Y, Urade M, Ishida T, Takegawa S, Kamata T, Ooyama S, Maeda K, Sugiyama K, Fujimura T, Hasegawa H, Yamaguchi A, Miyazaki I: A clinicopathologic study on multiple gastric cancers with special reference to distal gastrectomy. *Cancer* 1990; 65:2602-2605

43. Lee EY, Wang TC, Clouse RE, DeSchryver-Kecskemeti K: Mucosal thickening adjacent to gastric malignancy. Association with epidermal growth factor. *Mod Pathol* 1989; 2:397.

44. Iwanaga T, Koyama H, Takahashi Y, Taniguchi H, Wada A: Diffuse submucosal cysts and carcinoma of the stomach. *Cancer* 1975; 36:606-614

45. Fenoglio-Preiser CM, Noffsinger AE, Belli J, Stemmermann GM: Pathologic and phenotypic features of gastric cancer. *Semin Oncol* 1996; 23:292-306.

46. Ming SC, Goldman H, Freiman DG: Intestinal metaplasia and histogenesis of carcinoma in human stomachs. Light and electron microscopic study. *Cancer* 1967; 20:1418-1429.

47. Ikeda Y, Mori M, Kamakura T, Haraguchi Y, Saku M, Sugimachi K: Increased incidence of undifferentiated type of gastric cancer with tumor progression in 912 patients with early gastric cancer and 1245 with advanced gastric cancer. *Cancer* 1994; 73:2459-2463

48. Endoh Y, Tamura G, Motoyama T, Ajioka Y, Watanabe H: Well-differentiated adenocarcinoma mimicking complete-type intestinal metaplasia in the stomach. *Hum Pathol* 1999; 30:826-832

49. Kaibara N, Kimura O, Nishidoi H, Makino M, Kawasumi H, Koga S: High incidence of liver metastasis in gastric cancer with medullary growth pattern. *J Surg Oncol* 1985; 28:195-198.

50. Murayama H, Imai T, Kikuchi J: Solid carcinomas of the stomach. A combined histochemical, light and electron microscopy study. *Cancer* 1983; 51:1673-1681.

51. Chan WY, Hui PK, Leung KM, Robertson CS, Chung SC: Gastric adenocarcinoma with ciliated tumor cells. *Hum Pathol* 1993; 24:1107-1113

52. Fujiyoshi Y, Eimoto T: Chromogranin A expression correlates with tumour cell type and prognosis in signet ring cell carcinoma of the stomach. *Histopathology* 2008; 52:305-313.

53. Rice AJ, Griffiths AP, Martin IG, Dixon MF: Gastric carcinoma with prominent neutrophil infiltration. *Histopathology* 2000; 37:289-290.

54. Maehara Y, Sakaguchi Y, Moriguchi S, Orita H, Korenaga D, Kohnoe S, Sugimachi K: Signet ring cell carcinoma of the stomach. *Cancer* 1992; 69:1645-1650.

55. Antonioli DA, Goldman H: Changes in the location and type of gastric adenocarcinoma. *Cancer* 1982; 50:775-781.

56. Yamashina M: A variant of early gastric carcinoma. Histologic and histochemical studies of early signet ring cell carcinomas discovered beneath preserved surface epithelium. *Cancer* 1986; 58:1333-1339

57. Cook HC: Neutral mucin content of gastric carcinomas as a diagnostic aid in the identification of secondary deposits. *Histopathology* 1982; 6:591-599.

58. Gurbuz Y, Kahlke V, Kloppel G: How do gastric carcinoma classification systems relate to mucin expression patterns? An immunohistochemical analysis in a series of advanced gastric carcinomas. *Virchows Arch* 2002; 440:505-511

59. Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH: MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. *Cancer* 2001; 92:1427-1434.

60. . Park SY, Kim HS, Hong EK, Kim WH: Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary carcinomas of the stomach and colorectum and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary. *Hum Pathol* 2002; 33:1078-1085.

61. Utsunomiya T, Yao T, Masuda K, Tsuneyoshi M: Vimentin-positive adenocarcinomas of the stomach: co-expression of vimentin and cytokeratin. *Histopathology* 1996; 29:507-516.

62. Fiocca R, Cornaggia M, Villani L, Capella C, Solcia E, Samloff IM: Expression of pepsinogen II in gastric cancer. Its relationship to local invasion and lymph node metastases. *Cancer* 1988; 61:956-962.

63. Tatematsu M, Ichinose M, Miki K, Hasegawa R, Kato T, Ito N: Gastric and intestinal phenotypic expression of human stomach cancers as revealed by pepsinogen immunohistochemistry and mucin histochemistry. *Acta Pathol Jpn* 1990; 40:494-504.

64. Fiocca R, Villani L, Tenti P, Cornaggia M, Finzi G, Riva C, Capella C, Bara J. Samloff IM, Solcia E: The foveolar cell component of gastric cancer. *Hum Pathol* 1990; 21:260-270.

65. Blumenfeld W, Chandhoke DK, Sagerman P, Turi GK: Neuroendocrine differentiation in gastric adenocarcinomas: an immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1996; 120:478-481.

66. Jiang SX, Mikami T, Umezawa A, Saegusa M, Kameya T, Okayasu I: Gastric large cell neuroendocrine carcinomas: a distinct clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol* 2006; 30:945-953.

67. Matsui K, Jin XM, Kitagawa M, Miwa A: Clinicopathologic features of neuroendocrine carcinomas of the stomach: appraisal of small cell and large cell variants. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122:1010-1017.

68. Bonar SF, Sweeney EC: The prevalence, prognostic significance and hormonal content of endocrine cells in gastric cancer. *Histopathology* 1986; 10:53-63.

69. Callery CD, Sanders MM, Pratt S, Turnbull AD: Squamous cell carcinoma of the stomach. A study of four patients with comments on histogenesis. *J Surg Oncol* 1985; 29:166-172.

70. Mori M, Iwashita A, Enjoji M: Adenosquamous carcinoma of the stomach. A clinicopathologic analysis of 28 cases. *Cancer* 1986; 57:333-339..

71. Adachi Y, Mori M, Kido A, Shimono R, Maehara Y, Sugimachi K: A clinico-pathologic study of mucinous gastric carcinoma. *Cancer* 1992; 15:866-871.

72. Lumpkin WM, Crow Jr RL, Hernandez CM, Cohn Jr I: Carcinoma of stomach. Review of 1,035 cases. *Ann Surg* 1964; 159:919-931.

73.Nakamura K, Ueyama T, Yao T, Xuan ZX, Ambe K, Adachi Y, Yakeishi Y, Matsukuma A, Enjoji M: Pathology and prognosis of gastric carcinoma. Findings in 10,000 patients who underwent primary gastrectomy. *Cancer* 1992; 70:1030-1037

74. Chiaravalli AM, Klersy C, Tava F, Manca R, Fiocca R, Capella C, Solcia E: Lower- and higher-grade subtypes of diffuse gastric cancer. *Hum Pathol* 2009; 40:1591-1599.

75.Sgambato A, Migaldi M, Leocata P, Ventura L, Criscuolo M, DiGiacomo C, Capelli G, Cittadini A, De Gaetani C: Loss of p27 KIP1 expression is a strong independent prognostic factor of reduced survival in N0 gastric carcinomas. *Cancer* 2000; 89:2247-2257.

76. Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM: c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 2000; 18:2201-2209.

77. Pinto-de-Sousa J, David L, Almeida R, Leitao D, Preto JR, Seixas M, Pimenta A: c-erb B-2 expression is associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Int J Surg Pathol* 2002; 10:247-256.

78.Hofmann M, Stoss O, Shi D, Buttner R, vVijver M, Kim W, Ochiai A, Ruschoff J, Henkel T: Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52:797-805.

79. Ross JS. Breast cancer biomarkers and HER2 testing after 10 years of anti-HER2 therapy. Drug News Perspect 2009; 22:93-106.

80. Hicks DG, Kulkarni S. HER2+ breast cancer: review of biologic relevance and optimal use of diagnostic tools. Am J Clin Pathol 2008; 129:263-273.

81. Ross JS and McKenna BJ. The HER2/neu oncogene in tumors of thegastrointestinal tract. Cancer Invest 2001; 19:554-568.

82. Lin JT, Wu MS, Shun CT et al. Occurrence of microsatellite instability in gastric carcinoma is associated with enhanced expression of erbB-2 oncoprotein. Cancer Res 1995; 55: 1428–1430.

83. Park DI, Yun JW, Park JH et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. Dig Dis Sci 2006; 51: 1371–1379.

84. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erbB-2 in human gastric carcinomas. Cancer 1999; 85: 1894–1902.

85. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Büttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Rüschoff J, Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopathology 2008; 52:797-805. Epub 2008 Apr 18.

86. Van Cutsem E, Kang K, Chung H, Shen L, Sawaki A, Lordick F, 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). In:Annual proceedings. Orlando, FL, USA: American Society of Clinical Oncology; May 29-June 2, 2009 [abstract #LBA 4509].

87. Iris Nagelmeier.Her2-neu testing in gastric cancer.

88. C. Gravalos & A. Jimeno HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target: Annals of Oncology 19: 1523–1529, 2008

89. H.R. Raziee et al.: HER-2/neu Expression in Resectable Gastric Cancer and its Relationship with Histopathologic Subtype, Grade, and Stage

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

91. Yano T, Ochiai A, Doi T et al. Expression of HER2 in gastric cancer: comparison between protein expression and gene amplification using a new commercial kit.J Clin Oncol 2004; 22: 14S (Abstr 4053