

**UNIVERSITE DE NANTES**

---

**FACULTE DE MEDECINE**

---

Année 2012

N° 14

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

Anatomie et Cytologie Pathologiques

par

**Claire LECOINTRE**

née le 23 Juin 1982 à Paris XV

---

Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> Mars 2012

---

**LA SUREXPRESSON DE P53 EST UN FACTEUR PREDICTIF  
DE PROGRESSION DE LA DYSPLASIE DE BAS GRADE  
DANS L'ENDOBRYCHYCESOPHAGE**

---

Président : Monsieur le Professeur Christian LABOISSE

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Jean-François MOSNIER

# SOMMAIRE

<b>GENERALITES .....</b>	<b>6</b>
<b>1. L'endobrachyœsophage.....</b>	<b>7</b>
1.1. Définition de l'endobrachyœsophage.....	7
1.2. Le reflux gastro-œsophagien et la naissance de l'endobrachyœsophage .....	8
1.3. Les moyens de diagnostic de l'endobrachyœsophage.....	10
1.3.1. Les moyens de diagnostic endoscopique .....	10
1.3.2. Les moyens de diagnostic histologique .....	11
1.4. Les problèmes rencontrés pour porter le diagnostic d'endobrachyœsophage.....	17
1.4.1. La localisation de la jonction œsogastrique .....	17
1.4.2. Le diagnostic différentiel entre l'endobrachyœsophage ultra-court et la cardite...	20
1.4.3. De Norman Barrett à nos jours : des critères diagnostiques sans cesse débattus...	22
1.4.4. La cellule caliciforme au cœur d'un débat.....	24
<b>2. L'évolution vers le cancer .....</b>	<b>29</b>
2.1. Epidémiologie .....	29
2.2. La subordination de la progression néoplasique aux anomalies moléculaires.....	30
2.3. Les aspects morphologiques de la progression néoplasique .....	33
2.3.1. La séquence métaplasie – dysplasie – cancer et ses classifications.....	33
2.3.2. Les difficultés diagnostiques rencontrées par le pathologiste.....	35
2.3.3. Le manque de reproductibilité du diagnostic de dysplasie .....	38
2.3.4. Les nouveautés.....	40
<b>3. Les moyens de dépistage des patients à risque de transformation néoplasique.....</b>	<b>44</b>
3.1. Les protocoles de surveillance endoscopique .....	44
3.2. La dysplasie : l'unique marqueur de dépistage fiable des patients à risque de cancer	46
3.2.1. La dysplasie de haut grade.....	46
3.2.2. La dysplasie de bas grade .....	47
3.3. Intérêt des biomarqueurs .....	48
<b>4. p53 dans la carcinogenèse .....</b>	<b>49</b>

4.1. Rôle et fonctionnement de p53 dans la cellule normale.....	49
4.1.1. La fonction de suppression de tumeur .....	49
4.1.2. Structures du gène et de la protéine .....	49
4.1.3. Mécanismes de régulation de p53.....	50
4.1.4. Fonctionnement de la protéine p53 sauvage dans une cellule normale .....	51
4.2. L'inactivation de p53 .....	53
4.2.1. Le rôle de l'inactivation de p53 dans la carcinogenèse .....	53
4.2.2. Les mécanismes d'inactivation de p53 .....	54
4.3. Les techniques d'investigation de p53 .....	57
4.3.1. Les anomalies génétiques de <i>TP53</i> .....	57
4.3.2. La surexpression de p53 en immunohistochimie.....	58
4.4. La surexpression de p53 et les mutations de <i>TP53</i> dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage.....	59
4.4.1. Prévalence.....	59
4.4.2. Epidémiologie moléculaire .....	60
4.4.3. Chronologie .....	60
4.4.4. Prédiction de progression vers le cancer.....	61
<b>BUTS DE L'ETUDE .....</b>	<b>63</b>
<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>64</b>
<b>1. Patients et prélèvements .....</b>	<b>65</b>
<b>2. Etude histologique.....</b>	<b>65</b>
<b>3. Immunohistochimie de p53, MUC2 et MUC5AC .....</b>	<b>66</b>
<b>4. Analyse moléculaire du gène <i>TP53</i> .....</b>	<b>67</b>
4.1. Extraction de l'ADN .....	67
4.2. Réaction en chaîne par polymérase et séquençage de l'ADN.....	67
<b>5. Analyse statistique .....</b>	<b>68</b>

<b>RESULTATS .....</b>	<b>69</b>
<b>1. Données cliniques, endoscopiques et thérapeutiques .....</b>	<b>70</b>
<b>2. Etude histologique .....</b>	<b>71</b>
<b>3. Expression de MUC2 et MUC5AC en immunohistochimie .....</b>	<b>71</b>
<b>4. Surexpression de p53 en immunohistochimie.....</b>	<b>73</b>
<b>5. Mutations du gène <i>TP53</i> .....</b>	<b>75</b>
5.1. Description des mutations de <i>TP53</i> .....	75
5.2. Fréquence des mutations .....	77
<b>6. Concordance entre la surexpression de p53 et les mutations de <i>TP53</i>.....</b>	<b>78</b>
<b>7. Corrélation entre le phénotype de la dysplasie de bas grade et les anomalies de p53 .</b>	<b>79</b>
<b>8. Etude de la valeur prédictive de la surexpression de p53 et des mutations du gène <i>TP53</i>.....</b>	<b>79</b>
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>86</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>93</b>
<b>INDEX DES TABLEAUX ET DES FIGURES.....</b>	<b>109</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>111</b>
Classification pTNM des carcinomes de l'œsophage .....	111

## ABRÉVIATIONS

ADN / ARN : acide désoxyribonucléique / acide ribonucléique

ADK : adénocarcinome, ou néoplasie infiltrante (catégorie 5) dans la classification de Vienne

Bases nucléotidiques :

A : Adénine

C : Cytosine

G : Guanine

T : Thymine

CHU : centre hospitalier universitaire

DBG : dysplasie de bas grade, ou néoplasie non infiltrante de bas grade (catégorie 3) dans la classification de Vienne

DHG : dysplasie de haut grade, ou néoplasie non infiltrante de haut grade (catégorie 4) dans la classification de Vienne

EBO : endobranchyœsophage ou muqueuse de Barrett

FISH : hybridation *in situ* en fluorescence (pour *Fluorescence In Situ Hybridisation*)

HPS : coloration standard Hématoxyline – Phloxine– Safran

HPV : Human Papilloma Virus

IHC : immunohistochimie

JOG : jonction œsogastrique

LOH : perte d'hétérozygotie (pour *Loss Of Heterozygosity*)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : réaction en chaîne par polymérase (pour *Polymerase Chain Reaction*)

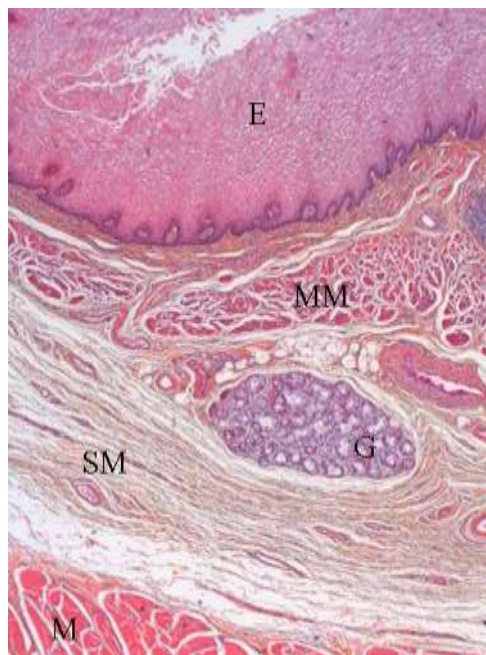
RGO : reflux gastro-œsophagien

## **GENERALITES**

# 1. L'endobrachyœsophage

## 1.1. Définition de l'endobrachyœsophage

L'endobrachyœsophage (EBO), encore appelé muqueuse de Barrett, est la condition dans laquelle l'épithélium malpighien du bas œsophage est remplacé par un épithélium glandulaire métaplasique, prédisposant au cancer. Il est considéré comme une lésion acquise, compliquant le reflux gastro-œsophagien chronique. L'endobrachyœsophage ne serait qu'une simple curiosité médicale s'il n'était associé à un risque accru d'adénocarcinome. La transformation maligne se fait selon la séquence métaplasie – dysplasie de sévérité croissante – cancer.



**Figure 1. Histologie normale de l'œsophage :** muqueuse malpighienne (E), musculaire muqueuse (MM), sous-muqueuse (SM) contenant des glandes sous-muqueuses (G), et musculature (M).

## 1.2. Le reflux gastro-œsophagien et la naissance de l'endobrachyœsophage

L'endobrachyœsophage était initialement considéré comme une condition congénitale. Allison et Johnstone furent les premiers en 1953 à soumettre l'hypothèse que l'épithélium cylindrique du bas œsophage serait une condition acquise, car elle semblait plus fréquente chez les sujets souffrant d'un reflux gastro-œsophagien chronique [1]. Rapidement, des travaux allèrent dans le sens de cette hypothèse [2], et dans les années 70 la relation entre l'endobrachyœsophage et le reflux fut clairement établie [3-5].

Le reflux gastro-œsophagien (RGO) correspond au passage d'une partie du contenu gastrique dans l'œsophage. En pratique clinique, il désigne une affection caractérisée par la présence de symptômes gênants et/ou de lésions œsophagiennes muqueuses. Les symptômes cardinaux du reflux sont le pyrosis, défini par des douleurs rétrosternales ascendantes, et les régurgitations acides. La lésion œsophagienne muqueuse principale est l'œsophagite peptique, qui peut se compliquer d'hémorragie, d'ulcère, de sténose peptique ou d'endobrachyœsophage [6]. L'agression de la muqueuse œsophagienne par les sécrétions gastriques acides joue un rôle pathogène majeur dans la survenue des complications du reflux gastro-œsophagien. Quand un reflux biliaire s'associe au reflux gastrique, il potentialise l'agressivité du reflux sur la muqueuse œsophagienne [7, 8].

La physiopathologie du reflux gastro-œsophagien est multifactorielle mais correspond, pour l'essentiel, à une défaillance de la barrière anatomique ou fonctionnelle située à la jonction œsogastrique, telle que l'hypotonie du sphincter inférieur de l'œsophage [7].

Le reflux gastro-œsophagien est une affection très fréquente. Une étude américaine a montré que 40% des adultes expérimentaient les symptômes de reflux au moins 1 fois par mois, et 20% au moins 1 fois par semaine [9].

L'endobrachyœsophage est une complication peu fréquente du reflux gastro-œsophagien chronique. Une série longitudinale a révélé que, chez les patients ayant souffert de reflux pendant 10 ans, les complications étaient rares, les sténoses survenant dans 2% des cas, et l'endobrachyœsophage dans 1% des cas [10]. Dans une autre étude, l'endobrachyœsophage était diagnostiqué chez environ 12 % des patients ayant un reflux et bénéficiant d'une endoscopie [11].

Le risque de développer un endobrachyœsophage augmente avec la durée et la fréquence des symptômes de reflux [12-16]. L'endobrachyœsophage survient rarement avant l'âge de 50 ans, et s'observe le plus souvent chez un sujet de sexe masculin, de race blanche, ayant un



index de masse corporel élevé ou une obésité intra-abdominale [17]. L'endobrachyœsophage est également fortement associé à la présence d'une hernie hiatale [14, 16], et d'une hypotonie du sphincter inférieur de l'œsophage [13, 14].

Le développement d'un endobrachyœsophage est généralement compris comme étant un moyen pour la muqueuse œsophagienne de se protéger du reflux gastrique. Le reflux est responsable d'une agression chronique et répétitive de la muqueuse. Au cours du processus de réparation de la muqueuse, cet environnement acide anormal favorise le développement d'un épithélium glandulaire, plus résistant aux sécrétions acides, et capable de se régénérer plus rapidement que l'épithélium malpighien [18, 19].

Des études ont tenté de déterminer l'origine de cet épithélium glandulaire. Des auteurs ont suggéré que les cellules lésées étaient remplacées par des cellules provenant du cardia, et que l'endobrachyœsophage naîtrait de la migration proximale de cellules glandulaires cardiales [5, 20]. Cependant plusieurs études ultérieures ont montré que la cellule d'origine provenait de l'œsophage, et ont conforté l'hypothèse que l'épithélium de Barrett était de type métaplasique [21, 22]. Plusieurs travaux ont suggéré que des cellules souches présentes dans l'œsophage contribuaient à la régénération épithéliale et à la métaplasie. Ces cellules immatures pluripotentes seraient capables de donner naissance à différents types cellulaires, comme les cellules glandulaires gastriques, les cellules caliciformes, les cellules de Paneth, ou les cellules neuro-endocrines [23-26]. La métaplasie pourrait aussi survenir par la conversion d'une cellule malpighienne mature en une cellule glandulaire [27]. L'épithélium pluristratifié parfois observé dans l'endobrachyœsophage, caractérisé par la présence de cellules malpighiennes surmontées de cellules glandulaires, est considéré comme une étape intermédiaire de cette conversion [28].

La raison de l'existence de plusieurs types d'épithélium métaplasique n'est pas connue. Cette hétérogénéité a été attribuée en partie à la composition variable du reflux, en fonction des proportions des sucs gastriques et des sucs biliaires [24, 29, 30]. Des travaux ont soulevé le rôle des sucs biliaires dans la différenciation intestinale des cellules glandulaires [31].

Ces transformations cellulaires s'étendent jusqu'à former un segment glandulaire visible macroscopiquement, dont la hauteur est corrélée à la sévérité du reflux [13].

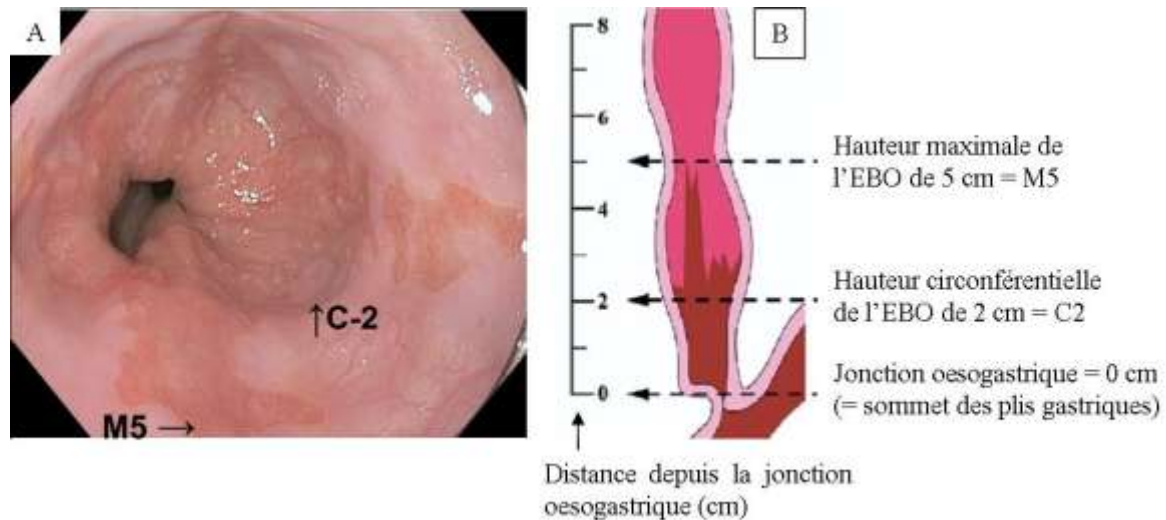
### 1.3. Les moyens de diagnostic de l'endobrachyœsophage

Aucun symptôme, aucun examen radiologique, ne peuvent aider à établir le diagnostic d'endobrachyœsophage. Même si les patients ayant un endobrachyœsophage présentent classiquement des symptômes de reflux, il n'y a pas de symptôme spécifique de l'endobrachyœsophage [9, 32]. Le diagnostic d'endobrachyœsophage dépend exclusivement de l'observation endoscopique combinée à l'examen histologique des biopsies per-endoscopiques.

#### 1.3.1. Les moyens de diagnostic endoscopique

La muqueuse glandulaire de Barrett se présente comme une muqueuse rouge et veloutée, qui tranche sur l'aspect rose pâle et lisse de la muqueuse malpighienne adjacente. La muqueuse de Barrett s'étend dans l'œsophage, à partir de la jonction œsogastrique, de façon circonférentielle et/ou en languettes, avec une considérable variabilité de combinaisons [33]. Cet aspect macroscopique permet à l'endoscopiste d'identifier l'endobrachyœsophage presque toujours facilement, surtout s'il mesure plus de 1 cm de longueur. Cependant, une confirmation histologique du diagnostic est recommandée [32, 34, 35]. Des biopsies sont effectuées au cours de l'examen endoscopique sur la muqueuse glandulaire observée.

Au cours de cet examen, il est également recommandé de mesurer la hauteur de l'endobrachyœsophage, car elle représente un élément pronostic reconnu [17, 35, 36]. Plusieurs études ont montré que le risque de développer un cancer varie directement avec l'étendue de l'endobrachyœsophage [37-40]. Dans l'étude du *Rotterdam Esophageal Tumour Study Group*, le fait de doubler la hauteur de l'endobrachyœsophage augmentait de 1,7 fois le risque de développer un cancer [41]. Un système de mesure, simple et reproductible, a été créé en 2006 par le groupe de l'*International Working Group for the Classification of Oesophagitis*. Ce système, appelé classification de Prague, identifie à la fois la hauteur circonférentielle (C) et la hauteur maximale (M) de la muqueuse de Barrett. Son utilisation est largement répandue parmi les endoscopistes (Figure 2) [42].



**Figure 2. Classification de Prague.** A. Photographie per-endoscopique d'un endobrachyœsophage classé C2M5 : étendue circonférentielle de 2 cm de hauteur (C2) associée à une languette d'endobrachyœsophage qui s'étend jusqu'à 5 cm de hauteur (M5). D'après [42]. B. Représentation de l'endobrachyœsophage classé C2M5. D'après [42].

### 1.3.2. Les moyens de diagnostic histologique

#### 1.3.2.1. Description histologique de la muqueuse glandulaire du bas œsophage

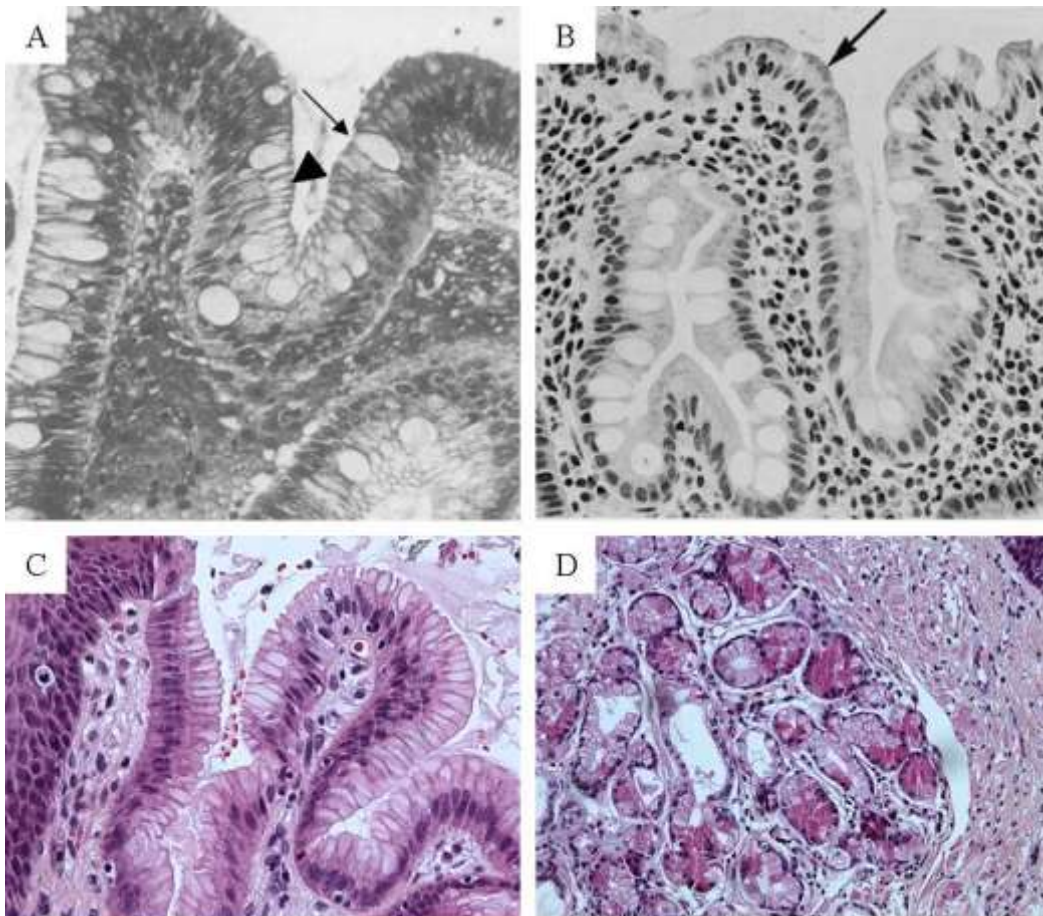
La muqueuse glandulaire observée en endoscopie se caractérise par une grande hétérogénéité histologique, avec plusieurs types de métaplasie glandulaire qui peuvent être combinés chez un même patient [43, 44]. Deux principaux types de métaplasie glandulaire ont été décrits : les métaplasies intestinales qui regroupent la métaplasie spécialisée et la métaplasie intestinale complète ; les métaplasies gastriques qui regroupent la métaplasie cardiaque et la métaplasie fundique (Figure 3) [43].

La métaplasie spécialisée est la plus fréquente des métaplasies observées chez les patients ayant un endobrachyœsophage. Elle correspond à une métaplasie intestinale incomplète, qui se caractérise par la présence de cellules caliciformes associées à des cellules mucosécrétantes transitionnelles. Ces dernières ont des caractéristiques intermédiaires entre les cellules à pôle muqueux fermé de l'estomac et les entérocytes. Elle est dite incomplète car elle ne comporte pas les autres types de cellules observées dans une muqueuse intestinale normale.

La métaplasie intestinale complète se caractérise par la présence de cellules caliciformes associées à des cellules intestinales matures qui, dans la muqueuse intestinale normale, forment la bordure en brosse. De façon inconstante peuvent être retrouvées des cellules de Paneth et des cellules neuro-endocrines.

La métaplasie cardiale, aussi appelée métaplasie jonctionnelle, est souvent observée. Elle se caractérise par la présence de cellules mucosécrétantes à pôle muqueux fermé, ou cellules fovéolaires, qu'on observe dans la muqueuse cardiale normale.

La métaplasie fundique se caractérise par la présence de cellules pariétales et de cellules principales, qu'on observe dans les glandes fundiques normales.



**Figure 3. Les différents types de métaplasie glandulaire dans l'œsophage.** A. Métaplasie intestinale incomplète. L'épithélium est composé de cellules caliciformes (→) et de cellules mucosécrétantes transitionnelles (►). D'après [45]. B. Métaplasie intestinale complète. L'épithélium est constitué de cellules caliciformes, et de cellules absorbantes ayant une bordure en brosse (→). D'après [44]. C. Métaplasie cardiale. L'épithélium est constitué de cellules fovéolaires. D. Métaplasie fundique. Les glandes sont constituées de cellules pariétales et principales.

La distribution de ces différents types d'épithélium métaplasique au sein de la muqueuse de Barrett n'est pas claire. Certaines études ont montré une répartition zonale : la métaplasie intestinale était retrouvée dans la partie la plus proximale de l'œsophage de Barrett, et la métaplasie fundique dans la partie la plus distale à la jonction avec l'estomac ; la métaplasie cardiaque était retrouvée dans la partie intermédiaire [4, 43]. Une étude plus récente a soutenu cette hypothèse en montrant l'existence d'un gradient céphalo-caudal de la métaplasie intestinale : les cellules caliciformes étaient plus nombreuses dans la partie proximale de l'endobrachyœsophage, près de la ligne Z [46]. Cependant dans d'autres études, ces différents types de métaplasie se répartissaient de façon aléatoire au sein de la muqueuse de Barrett, en mosaïque, sans effet de zone [44, 47-49].

#### *1.3.2.2. Critères diagnostiques de l'endobrachyœsophage d'après les recommandations américaines et françaises*

Actuellement, les recommandations américaines et françaises suggèrent que les termes « muqueuse de Barrett » et « endobrachyœsophage » soient réservés aux patients ayant une métaplasie intestinale de l'œsophage [17, 34, 35]. Pour l'*American Gastroenterological Association*, ces recommandations se justifient par le fait que la métaplasie intestinale est la seule des métaplasies glandulaires décrites qui prédispose clairement au cancer. Avec de tels critères, la mise en évidence d'une muqueuse glandulaire de l'œsophage en endoscopie ne permet pas de porter un diagnostic d'endobrachyœsophage. Seul l'examen histologique est capable de déterminer la présence d'une métaplasie intestinale. Si on applique ces recommandations, les patients chez qui une métaplasie glandulaire de type gastrique est mise en évidence en histologie, sans métaplasie intestinale associée, ne sont pas considérés comme ayant un endobrachyœsophage. Le pathologiste a donc un rôle crucial dans le diagnostic d'endobrachyœsophage, et doit savoir distinguer une métaplasie de type intestinal d'une métaplasie de type gastrique.

### *1.3.2.3 Les outils anatomo-pathologiques pour distinguer une métaplasie intestinale d'une métaplasie gastrique*

#### La cellule caliciforme

Généralement la distinction entre une métaplasie intestinale et une métaplasie gastrique est simple pour le pathologiste. La difficulté principale, quand elle existe, consiste à différencier une métaplasie intestinale d'une métaplasie cardiaque, la métaplasie fundique étant facile à identifier. Comme les cellules transitionnelles ressemblent morphologiquement à des cellules à pôle muqueux fermé, elles ne permettent pas de distinguer les deux types de métaplasie. La distinction repose sur la mise en évidence de cellules caliciformes, hautement spécifiques de la muqueuse intestinale. Ainsi rechercher de la métaplasie intestinale revient à rechercher des cellules caliciformes. Même si cela n'est pas explicitement écrit dans les recommandations, la plupart des auteurs reconnaissent que c'est la cellule caliciforme qui fait le diagnostic d'endobrachyœsophage, ce qui a parfois été résumé ainsi : pas de cellules caliciformes, pas d'endobrachyœsophage [50, 51].

Parfois des cellules mucosécrétantes non intestinales, quand elles sont distendues, peuvent ressembler morphologiquement à des cellules caliciformes. On les appelle les cellules pseudo caliciformes. Elles exposent à des risques de sur-diagnostic d'endobrachyœsophage. En cas de difficulté pour les différencier, le pathologiste peut avoir recours à des techniques histochimiques ou immunohistochimiques qui caractérisent les mucines secrétées par ces cellules.

#### Caractérisation des mucines par histochimie

Les mucines secrétées sont neutres ou acides. Parmi les mucines acides, il existe les sialomucines et les sulphomucines. Elles sont mises en évidence par les colorations spéciales de Bleu Alcian, Periodic Acid Schiff (PAS) et Diamine, dont les interprétations sont décrites dans le tableau 1 [45].

Différents travaux ont montré que les cellules à pôle muqueux fermé de la métaplasie gastrique sécrètent des mucines neutres [44, 45].

Dans la métaplasie intestinale, les cellules caliciformes sécrètent des mucines acides, de type sialomucines et/ou sulphomucines [44, 45, 52]. Selon la nature des cellules non caliciformes, 3 types de métaplasie intestinale ont été définis [45, 53] :

- la métaplasie intestinale complète ou type I, qui se caractérise par la présence d'entérocytes, non mucosécrétants
- la métaplasie intestinale incomplète ou type II, qui se caractérise par la présence de cellules transitionnelles à différents degrés de différenciation. On distingue le type IIA quand ces cellules sécrètent des mucines neutres ou des sialomucines, et le type IIB quand ces cellules sécrètent des sulphomucines.

Il a été décrit dans l'estomac que la sécrétion de sulphomucines était associée à un risque plus élevé de transformation carcinomateuse [54, 55]. Cependant, dans l'endobranchyœsophage, les études montrent des résultats divergents [44, 53].

	<b>BA + PAS</b>	<b>BA + Diamine</b>
Mucines neutre	Magenta	pas de marquage
Sialomucines	Bleu	Bleu
Sulphomucines	Bleu	Marron - noir

BA = Bleu Alcian

PAS = Periodic Acid Schiff

**Tableau 1. Caractérisation des mucines gastro-intestinales par les techniques histochimiques. D'après [45]**

### Caractérisation des protéines MUC par immunohistochimie

Les protéines MUC sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire, produites par les tissus épithéliaux. Elles ont la propriété de former un gel qui recouvre et protège les muqueuses. Ces molécules sont codées par les gènes *MUC*, dont les profils d'expression sont spécifiques pour chaque type d'épithélium. Au moins 20 gènes *MUC* ont été identifiés [56-58]. Ces glycoprotéines sont caractérisées par un nombre variable de domaines, répétés en

tandem, riches en sérine et thréonine, et sur lesquels se fixent de nombreux oligosaccharides à liaison O. Cette abondante glycosylation rend les mucines résistantes à la protéolyse et leur confère leur propriété de barrière chimique [56, 57, 59]. Certaines mucines sont liées aux membranes cellulaires, mais la plupart sont sécrétées et forment un gel extracellulaire. C'est le cas des protéines MUC2 et MUC5AC [59]. MUC2 est une protéine codée par le gène *MUC2*, et sécrétée dans la lumière intestinale par les cellules caliciformes de l'intestin grêle et du côlon [57, 60]. MUC5AC est une protéine codée par le gène *MUC5AC*, et sécrétée par l'épithélium foveolaire de l'estomac [56, 61].

Dans l'endobrachyœsophage, les études ont montré que l'expression des mucines était corrélée à la différenciation cellulaire : l'épithélium en métaplasie gastrique exprime MUC5AC, et les cellules caliciformes expriment MUC2. Dans la majorité des cas, les cellules intermédiaires de la métaplasie intestinale incomplète expriment à la fois MUC2 et MUC5AC [58, 59, 62, 63]. Ce phénotype mixte a également été observé dans la métaplasie intestinale incomplète de l'estomac [64].

Les techniques histochimiques et immunohistochimiques caractérisant les types de mucines sécrétées par les cellules mucosécrétantes semblent donc de bons outils pour distinguer les cellules caliciformes des cellules pseudo caliciformes. Cependant plusieurs études ont montré que ces techniques n'étaient pas toujours fiables [52, 58, 65, 66]. Dans la majorité des cas, l'examen histologique en coloration standard suffit pour identifier la présence de cellules caliciformes sur la biopsie.

Avant que le pathologiste puisse détecter de la métaplasie intestinale sur les biopsies d'œsophage, un certain nombre d'étapes préliminaires sont nécessaires, dont certaines représentent des problèmes majeurs au diagnostic d'endobrachyœsophage.



## **1.4. Les problèmes rencontrés pour porter le diagnostic d'endobrachyœsophage**

En pratique, le diagnostic d'endobrachyœsophage peut être difficile, voire impossible dans certains cas, et il nécessite une étroite collaboration entre l'endoscopiste et le pathologiste. Le concept de jonction œsogastrique représente un obstacle majeur au diagnostic d'endobrachyœsophage, posant le problème de sa localisation, et du diagnostic différentiel entre un endobrachyœsophage et une cardite sur les biopsies effectuées à la jonction. Par ailleurs, un autre problème essentiel de l'endobrachyœsophage est la grande variabilité dans le temps de ses critères diagnostics, qui encore aujourd'hui ne font pas l'unanimité dans la communauté scientifique internationale.

### **1.4.1. La localisation de la jonction œsogastrique**

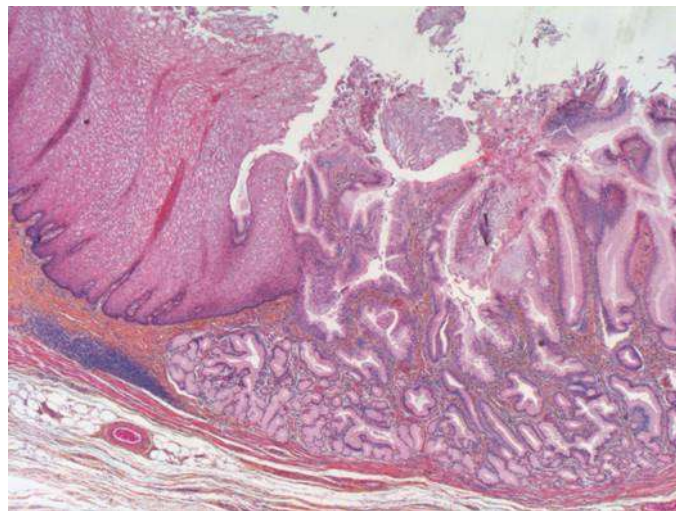
Localiser la jonction œsogastrique en endoscopie est une étape indispensable au diagnostic d'endobrachyœsophage puisqu'elle représente un repère nécessaire à l'identification de la muqueuse de Barrett et à la mesure de sa hauteur. Cependant la jonction œsogastrique représente un sujet de controverse depuis bien des décennies.

La jonction œsogastrique est la ligne anatomique théorique à laquelle l'œsophage se termine et l'estomac commence. En pratique, il n'existe aucun critère universellement accepté pour l'identifier. Différents repères sont utilisés selon le point de vue abordé [20, 67-69] :

- Sur le plan anatomique, la jonction œsogastrique est située à la limite distale du tube qu'est l'œsophage. Elle peut être repérée par l'angle de Hiss, ou par le réfléchissement du péritoine. Elle se situe normalement au niveau de l'orifice diaphragmatique, à la jonction entre le thorax et la cavité abdominale.
- Sur le plan physiologique, la jonction œsogastrique correspond à la partie distale du sphincter inférieur de l'œsophage, détecté par un examen manométrique.
- La jonction œsogastrique histologique est la jonction muqueuse, ou ligne Z. Elle correspond à la juxtaposition de l'épithélium malpighien œsophagien et de l'épithélium glandulaire cardiaal (Figure 4). Macroscopiquement, la muqueuse glandulaire a une couleur rouge qui tranche sur la couleur rose pâle de la muqueuse

malpighienne. La ligne Z peut donc être repérée en endoscopie. Par définition, elle est déplacée dans l'œsophage en cas d'endobrachyœsophage.

La nature histologique de la jonction muqueuse a longtemps été débattue. Certains auteurs ont remis en cause l'existence du cardia, suggérant que la véritable jonction muqueuse était la limite proximale de l'épithélium fundique observé en histologie. Ils présentaient la muqueuse cardiaque comme une muqueuse anormale, métaplasique, et qui se développerait en conséquence du reflux gastro-œsophagien chronique [70-72]. Cet épithélium serait secondairement intestinalisé, donnant naissance à un endobrachyœsophage [30]. Cependant toutes les études ne vont pas dans ce sens : des séries d'autopsies d'enfants et d'adultes ont montré que la muqueuse cardiaque était présente de façon constante et représentait un segment court de 6 mm de longueur en moyenne, même en l'absence d'œsophagite ou d'antécédent de reflux [73, 74]. Enfin certains auteurs ont suggéré que ce segment de muqueuse cardiaque avait un rôle physiologique : en s'intercalant entre l'épithélium malpighien et l'épithélium fundique, il permettrait de protéger l'épithélium malpighien des sucs acides sécrétés par la muqueuse fundique [20]. Actuellement l'existence du cardia n'est généralement plus remise en cause, et la ligne Z est considérée comme étant la jonction entre la muqueuse malpighienne à la partie inférieure de l'œsophage et la muqueuse cardiaque à la partie supérieure de l'estomac.



**Figure 4. Aspect histologique de la jonction muqueuse œsogastrique ou ligne Z :** jonction entre la muqueuse malpighienne (à gauche) et la muqueuse glandulaire cardiaque (à droite)

Avec ces différents critères, anatomiques, physiologiques et histologiques, les jonctions ainsi repérées ne se superposent pas obligatoirement chez un même patient, ce qui est sans doute à l'origine du débat et des incertitudes concernant la localisation de la jonction œsogastrique. En 1961 Hayward avait constaté que la jonction muqueuse se trouvait 1 à 2 cm au-dessus de la jonction anatomique. Comme il définissait la jonction œsogastrique selon les critères anatomiques, cela l'avait amené à conclure que le cardia faisait partie de l'œsophage, et que la présence d'un épithélium glandulaire dans le bas œsophage n'avait rien de pathologique [20].

Des revues récentes ont considéré la jonction œsogastrique non pas comme une seule jonction, mais plutôt comme deux jonctions, une jonction muqueuse et une jonction musculaire, qui ne se superposeraient pas obligatoirement [68, 69]. Dans ce cas, la jonction œsogastrique ne correspondrait pas à une limite nette séparant l'œsophage de l'estomac, mais plutôt à une zone anatomique complexe assurant la transition entre les deux organes.

Aucun des critères anatomiques, physiologiques et histologiques décrits précédemment ne peut être utilisé pour repérer la jonction œsogastrique en endoscopie : elle peut être déplacée dans le thorax en cas de hernie hiatale ; l'angle de Hiss et le péritoine ne se voient pas en endoscopie ; chez certains patients le sphincter inférieur de l'œsophage est défaillant ; la jonction muqueuse est déplacée en cas d'endobrachyœsophage. L'identification endoscopique de la jonction œsogastrique est toutefois indispensable pour dépister et mesurer un segment de muqueuse de Barrett. Comme la jonction œsogastrique n'est pas localisée avec certitude, le choix du repère endoscopique a nécessairement été arbitraire.

Le repère endoscopique recommandé par la plupart des sociétés savantes occidentales est le sommet des plis gastriques [17, 36]. Depuis que McClave et coll. l'ont proposé en 1987, c'est le repère qui a été le plus souvent utilisé par les endoscopistes occidentaux [75]. Il a l'avantage d'être facilement identifié et d'être reproductible [42]. Au Japon, c'est l'extrémité distale des veines longitudinales palissadiques de l'œsophage qui est utilisée comme repère endoscopique de la jonction œsogastrique. Ces veines, absentes dans l'estomac, sont visibles dans l'œsophage même en cas d'endobrachyœsophage [69].

Les incertitudes concernant la localisation précise de la jonction œsogastrique posent peu de difficultés dans la prise en charge endoscopique d'un endobrachyœsophage tant que celui-ci est long d'au moins 1 cm. En revanche, ces incertitudes deviennent problématiques en cas d'endobrachyœsophage ultra-court, de moins de 1 cm [36, 50].

### **1.4.2. Le diagnostic différentiel entre l'endobrachyœsophage ultra-court et la cardite**

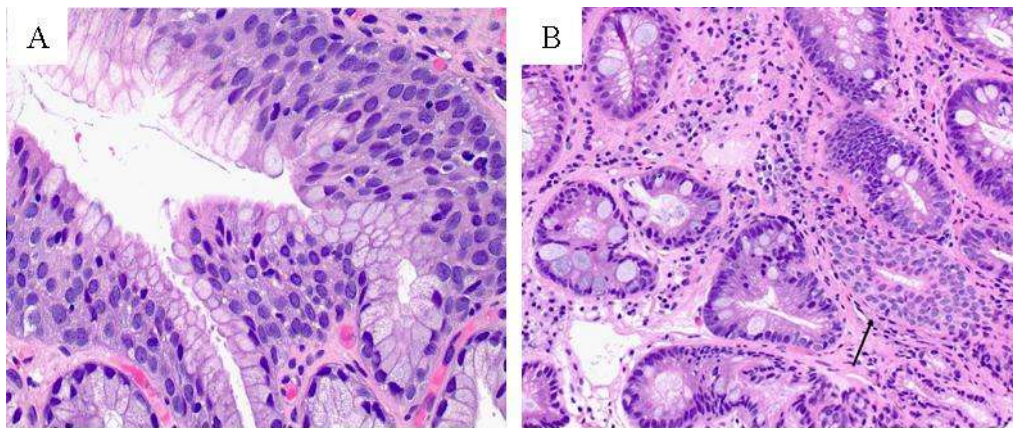
L'identification endoscopique de la muqueuse de Barrett pose peu de problèmes quand le segment de muqueuse glandulaire est long, avec une ligne Z distinctement déplacée. En revanche, il peut être difficile, voire impossible, de distinguer un court segment d'endobrachyœsophage de la muqueuse cardiaque. Une étude a montré qu'en utilisant la classification de Prague pour reconnaître et mesurer la muqueuse de Barrett, la reproductibilité inter-observateurs était excellente, sauf pour les segments de moins de 1 cm, qu'on appelle parfois endobrachyœsophage ultra-court [42]. Dans ce cas, l'examen histologique est absolument essentiel pour poser le diagnostic d'endobrachyœsophage, dont le diagnostic différentiel principal est la cardite [36, 50]. La distinction de ces deux lésions est importante car leur histoire naturelle, leur étiologie, leur prise en charge et leur potentiel de malignité diffèrent [76].

Dans ces circonstances, le pathologiste peut aider à établir le diagnostic en déterminant la localisation de la biopsie, c'est-à-dire si elle est d'origine œsophagienne ou gastrique, et en déterminant l'étiologie de la lésion, c'est-à-dire si elle est secondaire au reflux gastro-œsophagien ou à une infection à *Helicobacter pylori*. En pratique, ces deux objectifs sont difficiles et nécessitent une étroite coopération entre l'endoscopiste et le pathologiste.

Du fait d'un certain nombre de facteurs, tels que les mouvements respiratoires ou la présence d'une hernie hiatale, il peut être difficile pour les endoscopistes de déterminer avec certitude si les biopsies effectuées à la jonction œsogastrique ont été faites plutôt dans l'œsophage en amont de la jonction, ou plutôt dans l'estomac en aval de la jonction. Plusieurs études récentes ont pu mettre en évidence des signes histologiques spécifiques de l'œsophage ou de l'endobrachyœsophage, et qui peuvent aider le pathologiste à identifier l'origine œsophagienne de la biopsie quand ils sont présents. Ainsi, les glandes sous-muqueuses et leurs canaux excréteurs sont spécifiques de l'œsophage et ne sont pas retrouvés dans l'estomac (Figure 5) [72, 77]. La musculature muqueuse de l'œsophage est presque constamment dédoublée en cas d'endobrachyœsophage [78]. D'autres éléments sont aussi spécifiques de l'endobrachyœsophage : la présence d'ilôts de muqueuse malpighienne au contact de glandes intestinales, et la présence de glandes hybrides (cellules caliciformes confinées dans la partie superficielle de glandes de type cardiaque) [76]. La présence d'un épithélium pluristratifié, constitué de cellules malpighiennes surmontées de cellules

mucosécrétantes, est également un signe fortement associé à l'endobrachyœsophage (Figure 5) [28, 76, 79].

Ces éléments peuvent aider le pathologiste à déterminer si les biopsies intéressent des segments d'endobrachyœsophage. Malheureusement ces signes ne sont présents que dans 30% des cas environ [80]. Dans les autres cas, le pathologiste ne sera pas capable de déterminer avec certitude si les biopsies intéressent l'œsophage ou l'estomac. Aucune coloration spéciale et aucun marquage immunohistochimique n'a prouvé son efficacité à distinguer l'épithélium glandulaire d'origine œsophagienne de l'épithélium glandulaire d'origine gastrique [52, 65, 81]. Dans cette situation, seul l'avis de l'endoscopiste est fiable pour le pathologiste.



**Figure 5. Eléments histologiques associés à un endobrachyœsophage.** A. Epithélium pluristratifié, constitué de cellules malpighiennes et de cellules mucosécrétantes en surface. D'après [76]. B. Des foyers de métaplasie intestinale au contact d'un canal excréteur œsophagien (→). D'après [76].

Par ailleurs, le fait d'associer les biopsies de la jonction œsogastrique à des biopsies de l'œsophage et de l'estomac à distance de la jonction peut aussi aider le pathologiste à distinguer l'endobrachyœsophage de la cardite.

Les deux causes principales de l'inflammation chronique et de la métaplasie intestinale au niveau de la jonction œsogastrique sont le reflux gastro-œsophagien et l'infection par *Helicobacter pylori* [82]. Ces étiologies ne sont pas mutuellement exclusives, cependant plusieurs études ont montré que l'endobrachyœsophage était fortement associé au reflux, et que la cardite chronique était fortement associée à l'infection par *Helicobacter pylori* [83, 84].

Le fait d'effectuer des biopsies de l'œsophage et de l'estomac à distance de la jonction œsogastrique peut permettre de déterminer l'étiologie de la lésion observée à la jonction. Par exemple, si ces biopsies montrent la présence d'une œsophagite peptique active induite par un reflux, sans gastrite à *Helicobacter pylori*, il est fortement probable que la métaplasie intestinale retrouvée sur les biopsies de la jonction œsogastrique corresponde à un endobrachyœsophage plutôt qu'à une cardite. Si au contraire, les biopsies réalisées à distance montrent une gastrite à *Helicobacter pylori*, sans œsophagite peptique active, alors il est fortement probable que la métaplasie intestinale retrouvée sur les biopsies de la jonction œsogastrique corresponde à une cardite plutôt qu'à un endobrachyœsophage.

L'interprétation des biopsies de la jonction œsogastrique demeure dans la plupart des cas un exercice difficile, qui nécessite une étroite coopération entre l'endoscopiste et le pathologiste. Une autre difficulté rencontrée par les endoscopistes et les pathologistes pour établir le diagnostic d'endobrachyœsophage est la grande variabilité de ses critères diagnostiques et l'absence de consensus international.

#### **1.4.3. De Norman Barrett à nos jours : des critères diagnostiques sans cesse débattus**

Les critères diagnostiques de l'endobrachyœsophage ont considérablement évolué depuis les 60 dernières années. Les premières observations de métaplasie glandulaire de l'œsophage retrouvées dans la littérature médicale remontent en 1906, lorsqu'un pathologiste rapportait les cas de plusieurs patients dont les œsophages, siège d'ulcérations peptiques, présentaient une muqueuse ressemblant à une muqueuse gastrique [85]. Pendant les 40 années suivantes, plusieurs auteurs avaient également décrit l'existence d'un épithélium glandulaire de type gastrique au sein de muqueuses œsophagiennes ulcérées [86-88]. Jusque-là l'observation d'une telle lésion ne représentait qu'une simple curiosité médicale. C'est en 1950 que Norman Barrett, chirurgien anglais, isolait cette lésion en affirmant qu'elle était différente des ulcères peptiques œsophagiens. Pour Barrett cet ulcère survenait dans un segment tubuleux intra-thoracique de nature gastrique, qui prolongeait l'œsophage, et qui était d'origine congénitale [89]. Ses travaux ont sans doute suscité beaucoup d'intérêt auprès de la communauté scientifique de l'époque puisque son nom a été rattaché à cette lésion très rapidement : déjà en 1953 Allison et Johnstone proposaient de désigner cette lésion par le

terme « ulcère de Barrett » [1]. Même si la définition actuelle de la muqueuse de Barrett est bien loin de celle décrite initialement par Norman Barrett, ce terme est cependant bien ancré dans la littérature médicale et dans la pratique courante actuelle. Parallèlement en France, Lortat-Jacob décrivait cette entité sous le nom d'endobrachyœsophage, dont l'étymologie souligne le raccourcissement de la muqueuse malpighienne de l'œsophage [90].

Allison et Johnstone ont également montré que l'organe sur lequel survenait cette lésion était l'œsophage, et non pas l'estomac comme l'avait supposé Barrett. Ils étaient les premiers à suspecter que cette lésion n'était pas congénitale, mais acquise et secondaire au reflux gastro-œsophagien [1]. D'autres études ont par la suite confirmé le lien entre la muqueuse de Barrett et le reflux gastro-œsophagien [2-5].

La présence de cellules caliciformes a été rapportée pour la première fois en 1951 [91]. Par la suite, les descriptions histologiques de la muqueuse de Barrett ont considérablement varié, source de confusion [67]. Cette situation a été clarifiée par la publication de Paull *et al.* en 1976 qui montrait l'hétérogénéité de l'œsophage de Barrett, constitué d'une combinaison de cellules de type intestinal et gastrique [43].

C'était également dans les années 70 que le lien entre l'endobrachyœsophage et l'adénocarcinome du bas œsophage était établi [3, 4, 92]. Dans les études, une muqueuse en métaplasie intestinale, parfois dysplasique, était retrouvée au pourtour du cancer dans la majorité des prélèvements, si bien qu'il fut progressivement admis que c'était la métaplasie intestinale qui prédisposait au cancer [4, 12, 93-98]. La métaplasie intestinale était également la plus fréquemment observée, elle était facilement identifiée par les pathologistes, et contrairement à l'épithélium de type gastrique il ne faisait aucun doute qu'elle était anormale quand on la retrouvait dans l'œsophage. Pour toutes ces raisons, la métaplasie intestinale était devenue dans les années 90 le critère le plus distinctif de l'endobrachyœsophage [67]. Encore aujourd'hui, de nombreuses sociétés savantes recommandent de limiter le diagnostic d'endobrachyœsophage à la métaplasie glandulaire de type intestinal [17, 35].

L'endobrachyœsophage avait suscité un grand intérêt scientifique quand sa prédisposition au cancer fut mise en évidence dans les années 70. On accorda plus d'importance à la précision de ses critères diagnostiques. A cause des incertitudes concernant la localisation de la jonction œsogastrique, et afin de ne pas confondre l'endobrachyœsophage avec de la muqueuse gastrique, les chercheurs avaient choisi par commodité de n'étudier que

des endobranchyœsophages assez longs, de 2, 3 voire 5 cm [12, 44, 75]. Ce critère fut repris et adopté par les cliniciens dans leur pratique courante, si bien qu'il fut admis pendant longtemps que la muqueuse glandulaire devait s'étendre sur au moins 3 cm pour pouvoir porter le diagnostic d'endobranchyœsophage [67]. Les patients qui avaient une muqueuse glandulaire de moins de 3 cm de longueur étaient donc exclus des protocoles de surveillance. Or à partir des années 90, des études montraient que la muqueuse glandulaire de moins de 3 cm représentait une complication du reflux gastro-œsophagien chronique [99, 100], et pouvait aussi progresser vers la dysplasie et le cancer [97, 101]. Ce critère de longueur a donc été exclu des critères diagnostiques de l'endobranchyœsophage [102]. Cependant on retrouve la limite des 3 cm dans les termes couramment employés d'endobranchyœsophage long (plus de 3 cm), et d'endobranchyœsophage court (moins de 3 cm) [36, 103].

La disparition de ce critère de longueur a permis d'éviter d'exclure de la surveillance des patients à risque de cancer. En revanche, elle a fait réapparaître le problème qui l'avait amené à être créé, à savoir le problème de la localisation de la jonction œsogastrique, et du diagnostic différentiel entre un endobranchyœsophage ultra-court et une cardite.

Ainsi les critères diagnostiques de l'endobranchyœsophage n'ont pas cessé d'être débattus. Actuellement, c'est l'hégémonie de la métaplasie intestinale qui est remise en cause.

#### **1.4.4. La cellule caliciforme au cœur d'un débat**

Depuis quelques années, la place de la cellule caliciforme dans le diagnostic de l'endobranchyœsophage est l'objet d'un débat au sein de la communauté scientifique internationale. La conception classique de l'endobranchyœsophage considère la détection de cellules caliciformes au sein de la muqueuse œsophagienne comme le seul critère diagnostique de l'endobranchyœsophage. C'est la conception défendue actuellement par les sociétés savantes américaines [17, 35]. Deux courants s'opposent à cette conception et proposent d'élargir le diagnostic à toute forme de métaplasie glandulaire de l'œsophage. Le premier courant, principalement soutenu par des chercheurs britanniques, s'appuie sur l'impossibilité d'éviter des biais d'échantillonnage en endoscopie. Le deuxième courant, initié par des chercheurs japonais, remet en cause l'hégémonie de la cellule caliciforme dans le diagnostic de l'endobranchyœsophage, en argumentant que la métaplasie gastrique serait elle aussi à risque de transformation maligne.



#### 1.4.4.1. Le courant britannique et le biais d'échantillonnage

En Angleterre, une métaplasie glandulaire sans cellules caliciformes est considérée comme étant un endobrachyœsophage, pourvu que la muqueuse glandulaire soit visible en endoscopie et localisée avec certitude dans l'œsophage. Les recommandations anglaises reposent sur le concept que le segment de muqueuse de Barrett visible en endoscopie comporte toujours des cellules caliciformes, mais que celles-ci ne sont pas toujours détectées sur les biopsies du fait de biais d'échantillonnage [32]. Il est possible que les biopsies passent à côté des cellules intestinales, puisque l'endobrachyœsophage correspond à une muqueuse hétérogène constituée d'une mosaïque de différents types cellulaires.

Ce biais d'échantillonnage a été illustré par plusieurs études. Des études ont montré que la probabilité de détecter des cellules caliciformes était directement corrélée à la longueur de l'endobrachyœsophage, indépendamment du nombre de biopsies réalisées [104-106]. Dans l'étude de Csendes et coll., alors que la métaplasie intestinale était détectée dans 75% des segments d'endobrachyœsophage de 3 à 10 cm de longueur, elle était détectée dans seulement 35% des segments d'endobrachyœsophage de moins de 3 cm [104].

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la probabilité de détection des cellules caliciformes était corrélée au nombre de biopsies effectuées [105, 106]. Dans l'étude de Harrison *et al.*, 68% des examens endoscopiques détectaient de la métaplasie intestinale quand 5 à 8 biopsies étaient effectuées, alors que seul 35% des examens endoscopiques la détectaient quand 1 à 4 biopsies étaient effectuées [105].

Du fait de ce biais d'échantillonnage, l'absence de mise en évidence de la métaplasie intestinale sur les biopsies n'implique pas obligatoirement son absence dans la muqueuse de Barrett. L'étude de Gatenby *et al.* a montré que la probabilité de détecter de la métaplasie intestinale augmentait avec la durée de surveillance des patients. Dans son étude, parmi les patients pour lesquels aucune métaplasie intestinale n'avait été détectée initialement, de la métaplasie intestinale était finalement détectée chez 50% d'entre eux après 5 ans de surveillance, et chez 90% d'entre eux après 10 ans de surveillance. Donc si on avait suivi les recommandations américaines au moment de l'endoscopie initiale, de nombreux patients (40% dans cette étude) n'auraient pas été inclus dans les protocoles de surveillance, alors qu'on avait pu prouver ultérieurement qu'ils avaient de la métaplasie intestinale [106].

Dans cette étude, parmi les patients ayant de la métaplasie intestinale détectée initialement, 3% avaient développé un cancer. Or chez les patients pour lesquels la métaplasie intestinale

n'avait pas été détectée initialement, on retrouvait un taux de progression vers le cancer identique, de 3%.

Cette étude montre que si l'on échoue à détecter de la métaplasie intestinale sur les biopsies initiales, cela n'implique ni son absence, ni l'absence de son potentiel de malignité. Parce que la détection de la métaplasie intestinale est sujette à des erreurs d'échantillonnage, cette étude concluait que la décision d'offrir une surveillance ne devrait pas être fondée sur la présence ou l'absence d'une métaplasie intestinale à l'endoscopie initiale [106]. C'est sur argument que reposent les recommandations anglaises.

#### *1.4.4.2. Le courant japonais : la métaplasie gastrique à risque de transformation maligne*

Plusieurs travaux suggèrent que la muqueuse de Barrett en métaplasie gastrique serait aussi à risque de progresser vers le cancer.

Dans une étude récente de Takubo *et al.*, l'épithélium retrouvé au pourtour des adénocarcinomes développés sur endobranchyœsophage était de type gastrique dans 71% des cas, et n'était de type intestinal que dans 22% des cas. Ces résultats remettaient en cause la notion admise depuis longtemps que l'adénocarcinome de Barrett était toujours accompagné d'un épithélium en métaplasie intestinale [51]. Nunobe *et al.* retrouvaient des résultats similaires et suggéraient qu'il existait deux voies de tumorigenèse dans l'endobranchyœsophage, une voie développée à partir de la métaplasie intestinale et l'autre à partir de la métaplasie gastrique [107].

Dans des grandes séries, les lésions néoplasiques se développaient avec la même fréquence dans les muqueuses en métaplasie intestinale que dans les muqueuses en métaplasie gastrique, sans cellules caliciforme détectée [106, 108].

Enfin des anomalies moléculaires, telles qu'une instabilité chromosomique et des délétions de gènes suppresseurs de tumeurs, ont été détectées dans la métaplasie gastrique, suggérant que cet épithélium avait un potentiel de transformation néoplasique [109-111].

Ces données ont été à l'origine d'une nouvelle conception de l'endobranchyœsophage, initiée par des chercheurs japonais. Si la métaplasie de type gastrique est autant à risque de transformation néoplasique que la métaplasie de type intestinal, alors la présence de cellules caliciformes ne devrait plus être requise pour établir un diagnostic d'endobranchyœsophage.

C'est ainsi que plusieurs auteurs ont proposé que l'endobrachyœsophage soit défini par la présence dans le bas œsophage d'une muqueuse en métaplasie glandulaire, quel que soit son type [51, 112]

#### *1.4.4.3. Le courant américain : l'hégémonie de la métaplasie intestinale*

Les sociétés savantes américaines estiment que les données supportées par le courant japonais restent encore insuffisantes et nécessiteraient d'être validées par davantage d'études, et notamment par des études prospectives. Elles recommandent donc que le terme « muqueuse de Barrett » reste réservé aux patients ayant une métaplasie intestinale [17].

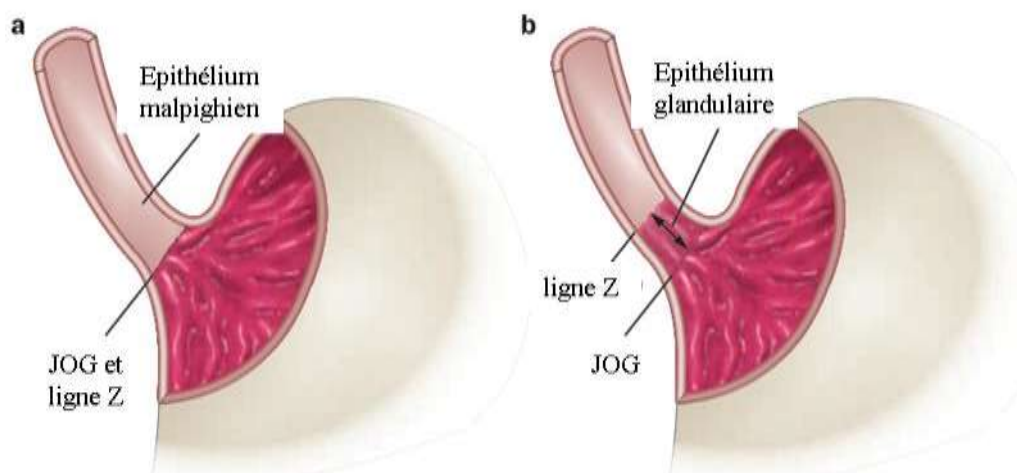
#### *1.4.4.4. Impact du débat dans la prise en charge des patients*

Ces débats sur la place de la cellule caliciforme dans le diagnostic de l'endobrachyœsophage sont importants car la prise en charge des patients ayant un endobrachyœsophage est différente selon la conception adoptée. Avec les conceptions japonaises et britanniques de l'endobrachyœsophage, la mise en évidence d'une muqueuse de Barrett en endoscopie suffit à porter le diagnostic d'endobrachyœsophage. L'examen histologique n'a plus d'intérêt pour le diagnostic d'endobrachyœsophage, sauf dans les cas difficiles en endoscopie, notamment en cas d'endobrachyœsophage de moins de 1 cm. En revanche elle garde son utilité pour détecter la dysplasie et le cancer.

Avec les conceptions japonaises et britanniques, les patients ayant une muqueuse œsophagienne en métaplasie gastrique, sans métaplasie intestinale détectée, devraient être inclus dans les protocoles de surveillance, alors que ces patients ne seraient pas surveillés si on suivait les recommandations américaines.

Par ailleurs, les conceptions japonaises et anglaises font surgir un nouveau problème au niveau de la jonction œsogastrique : si les biopsies montrent une muqueuse glandulaire de type cardiaque, le pathologiste devra établir un diagnostic différentiel entre un endobrachyœsophage ultra-court et la muqueuse cardiaque normale. La jonction œsogastrique est une région anatomique complexe et encore mal définie. Il n'est pas certain que la jonction

muqueuse se superpose obligatoirement au sommet des plis gastriques, et des auteurs supposent que chez certains individus la jonction muqueuse pourrait être déplacée légèrement en amont du sommet des plis gastriques [20, 68, 69]. La signification de ce très court segment de muqueuse cardiaque situé entre le sommet des plis gastriques et la ligne Z n'est pas connue. Par définition il correspondrait à un endobrachyœsophage ultra-court, alors qu'il pourrait aussi correspondre à une muqueuse cardiaque normale chez un patient dont la ligne Z est irrégulière. Dans 30% des cas, le pathologiste serait sans doute en mesure de dire si cet épithélium surviendrait dans l'œsophage, ce qui serait en faveur d'un endobrachyœsophage. Dans les autres cas, il n'existerait aucun moyen de vérifier si cet épithélium serait normal ou métaplasique. Par opposition, la métaplasie intestinale est toujours anormale lorsqu'elle est présente dans cette région [17, 80]. Ainsi, la conception américaine de l'endobrachyœsophage permet d'éviter de porter des diagnostics d'endobrachyœsophage par excès sur de simples jonctions un peu irrégulières [17].



**Figure 6. Problème de la jonction œsogastrique.** a. Chez la plupart des individus en bonne santé, la jonction œsogastrique (JOG) repérée par le sommet des plis gastriques se superpose à la ligne Z. b. Quand la ligne Z est légèrement déplacée en amont de la JOG, à moins de 1 cm, la signification du segment d'épithélium glandulaire situé entre la JOG et la ligne Z n'est pas connue et son interprétation dépend du type d'épithélium glandulaire :  
- métaplasie intestinale : endobrachyœsophage ultra-court ou cardite  
- métaplasie cardiaque : ligne Z irrégulière, ou endobrachyœsophage ultra-court pour certains (conceptions japonaise et anglaise). D'après [80]

L'évolution des critères diagnostiques de l'endobrachyœsophage depuis 60 ans, et le manque de consensus international actuel sont importants à connaître. Ces divergences se retrouvent dans l'hétérogénéité des critères d'inclusion des études, qui peuvent être à l'origine de biais dans l'interprétation de la littérature, et notamment dans les études épidémiologiques. Pour ce travail, nous avons choisi de suivre les recommandations de la *Société Française d'Endoscopie Digestive* (SFED) qui se superposent à celles des sociétés américaines [36]. L'endobrachyœsophage est donc ici défini comme la présence dans le bas œsophage d'une muqueuse en métaplasie intestinale, quelle que soit sa longueur.

## 2. L'évolution vers le cancer

La métaplasie glandulaire de l'endobrachyœsophage est considérée comme étant un moyen pour la muqueuse œsophagienne de résister à l'agressivité du reflux. Malgré son effet protecteur, il est admis depuis de nombreuses années qu'elle prédispose également au développement d'un cancer [3, 4, 92].

La carcinogenèse est un processus biologique complexe et progressif, subordonné à des anomalies génétiques et épigénétiques. Ces anomalies sont induites par certains facteurs, appelés facteurs cancérigènes. Dans l'endobrachyœsophage, ces facteurs sont mal connus. Il semble que les acides biliaires présents dans le reflux, et la réaction inflammatoire chronique induite par le reflux jouent un rôle dans l'initiation du processus néoplasique [113, 114]. Cependant la plupart des endobrachyœsophages n'évoluent pas vers le cancer, et on ne sait pas encore pourquoi certains endobrachyœsophages vont progresser, et d'autres pas.

### 2.1. Epidémiologie

Le cancer de l'œsophage touche chaque année 5000 personnes en France et représente en fréquence le 3<sup>ème</sup> cancer digestif, après le cancer colorectal et le cancer gastrique [115]. Le cancer de l'œsophage comprend deux grands types histologiques, le carcinome épidermoïde lié à la consommation d'alcool et de tabac, et l'adénocarcinome développé sur un endobrachyœsophage. Auparavant le carcinome épidermoïde était le type histologique le plus fréquent. Cependant l'incidence de l'adénocarcinome du bas œsophage a beaucoup augmenté

dans les pays occidentaux au cours de ces 40 dernières années. L'exploitation des données épidémiologiques du *National Cancer Institute* a montré qu'aux Etats-Unis, l'incidence de l'adénocarcinome du bas œsophage a été multipliée par 6 environ entre 1975 et 2001, une augmentation relative supérieure à celle du mélanome, du cancer du sein et du cancer de la prostate [116]. Du fait de l'augmentation de son incidence, l'adénocarcinome du bas œsophage est actuellement plus fréquent que le carcinome épidermoïde en Europe et en Amérique du Nord. Toutefois, le carcinome épidermoïde reste le plus fréquent en France [117].

A l'échelle individuelle, le risque de développer un cancer pour un patient ayant un endobrachyœsophage n'est pas clair. Pendant longtemps, ce risque était estimé élevé. Un certain nombre d'anciennes publications ont décrit une incidence de l'ordre de 2 à 4% par an [118, 119]. Cependant il est probable qu'un certain nombre de biais ait contribué à surestimer le risque, notamment les modifications des critères diagnostiques de l'endobrachyœsophage [120]. Au cours des dix dernières années, les revues systématiques et les larges séries ont suggéré que l'incidence annuelle était plus faible, approximativement de 0,5% [121, 122].

Le risque de cancer augmente avec l'âge [40], le sexe masculin [123], la fréquence et la sévérité des symptômes du reflux [39, 124], et l'étendue de l'endobrachyœsophage en endoscopie [37-40].

## **2.2. La subordination de la progression néoplasique aux anomalies moléculaires**

La néoplasie désigne une prolifération cellulaire anormale échappant aux mécanismes de régulation de l'organisme. Elle englobe un spectre d'affections de sévérité variable, à l'extrémité duquel se trouve le cancer. Le cancer, ou tumeur maligne, est une néoplasie dont l'évolution spontanée est de s'étendre rapidement, de se généraliser, et de provoquer la mort de l'individu porteur. Le cancer qui se développe aux dépens d'un épithélium glandulaire, comme dans l'endobrachyœsophage, est appelé adénocarcinome.

La transformation d'une cellule normale en une cellule tumorale maligne procède d'une accumulation progressive d'anomalies génétiques et épigénétiques, qui lui confèrent les capacités d'échapper aux mécanismes de régulation de la croissance cellulaire, de proliférer à

l'infini, d'envahir les tissus et de métastaser. Les six propriétés fondamentales de la cellule cancéreuse ont été caractérisées par Hanahan et Weinberg en 2000 et sont décrites dans le tableau 2 [125]. Plusieurs anomalies génétiques sont nécessaires pour générer un tel phénotype et la plupart des cancers sont caractérisés par une instabilité génomique, facilitant l'accumulation de mutations [126-128]. Dans l'endobrachyœsophage, cette instabilité survient principalement sous la forme d'une instabilité chromosomique. Ainsi plus de 90% des dysplasies de haut grade et des adénocarcinomes développés sur endobrachyœsophage sont aneuploïdes [129]. De nombreux remaniements chromosomiques ont également été décrits [126, 128].

Différents travaux ont suggéré qu'il existe dans l'endobrachyœsophage une grande hétérogénéité dans les voies moléculaires empruntées par les cellules tumorales et qu'il est impossible d'établir un modèle moléculaire particulier [126, 129, 130]. Au cours de la progression néoplasique, la chronologie d'apparition des anomalies génétiques est très variable d'un patient à l'autre. De plus, les adénocarcinomes de l'œsophage ne partagent jamais complètement les mêmes altérations génétiques ou épigénétiques, et les différents types de mutations peuvent se combiner à l'infini [130]. Cette complexité est également illustrée par la description de différents types d'évolution clonale. L'existence de multiples lignées clonales a été rapportée dans les adénocarcinomes associés à l'endobrachyœsophage, conduisant à une grande diversité génétique au sein d'un même cancer [130, 131].

Les anomalies génétiques les plus fréquemment observées dans la progression néoplasique de l'endobrachyœsophage sont l'aneuploïdie et les anomalies des gènes *p16* et *TP53* [126]. Dans certains travaux, ces anomalies ont été observées à des stades précoces de la progression néoplasique [110, 132-134]. De nombreuses autres anomalies génétiques et épigénétiques ont été décrites, dont certaines sont répertoriées dans le tableau 2.

Les six propriétés fondamentales de la cellule cancéreuse	Exemples d'anomalies génétiques et épigénétiques observées dans la progression néoplasique de l'EBO
<b>1/ L'autonomie de croissance</b> Activation des facteurs de croissance ou de leurs récepteurs :	expression de transforming growth factor-alpha (TGF-alpha) expression du facteur de croissance épidermique (EGF) expression du récepteur au facteur de croissance épidermique (EGFR)
Activation des voies de signalisation du cycle cellulaire :	surexpression de la cycline D1 surexpression de la cycline E
<b>2/ L'insensibilité aux signaux anti-croissance</b> Inactivation des gènes suppresseurs de tumeur :	inactivation de <i>TP53</i> inactivation de <i>p16</i> inactivation de <i>adenomatous polyposis coli (APC)</i>
<b>3/ La capacité à éviter l'apoptose</b> Blocage des voies apoptotiques :	inactivation de <i>TP53</i>
Activation des voies anti-apoptotiques :	surexpression de la cyclooxygénase-2 (COX-2)
Activation de la cascade apoptotique dans les lymphocytes T cytotoxiques :	expression de Fas-Ligand
<b>4/ La capacité à se répliquer sans fin</b> Stabilisation des télomères :	expression de la télomérase
<b>5/ L'entretien de l'angiogenèse</b> Stimulation de la prolifération et de la migration des cellules endothéliales :	expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)
<b>6/ La capacité d'envahir et de métastaser</b> Anomalies des interactions entre les cellules :	diminution d'expression de la E-cadhérine diminution d'expression de la beta-caténine

**Tableau 2. Exemples d'anomalies génétiques et épigénétiques observées dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage, et permettant aux cellules d'acquérir les six propriétés fondamentales de la cellule cancéreuse. D'après [125, 135, 136]**



## 2.3. Les aspects morphologiques de la progression néoplasique

### 2.3.1. La séquence métaplasie – dysplasie – cancer et ses classifications

La pathologie classique enseigne que la perte du contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire qui caractérise la néoplasie s'exprime morphologiquement par des anomalies histologiques qui les distinguent des tissus normaux. Alors que les mécanismes moléculaires de la progression néoplasique dans l'endobranchyœsophage restent encore mal compris, ces aspects morphologiques sont décrits depuis les années 70. En histologie, il est admis que l'évolution de l'endobranchyœsophage vers le cancer se fait selon la séquence morphologique métaplasie intestinale – dysplasie de sévérité croissante – adénocarcinome [4].

La dysplasie est un terme morphologique qui désigne une néoplasie strictement confinée au sein de l'épithélium, sans franchissement de la lame basale. Elle a le potentiel de devenir maligne. Par opposition l'adénocarcinome est une néoplasie invasive, avec franchissement de la lame basale. Cette définition de la dysplasie a été initialement proposée par Riddell *et al.* pour les lésions précancéreuses se développant dans un contexte de pathologie inflammatoire chronique de l'intestin [137]. Elle s'est ensuite progressivement étendue à l'ensemble du tractus digestif [95].

Dans la séquence métaplasie – dysplasie – adénocarcinome, la dysplasie ne correspond pas à une entité unique, mais elle englobe un large panel de lésions de sévérité variable. Il existe une progression lésionnelle avec des degrés de sévérité qui s'accroissent de la métaplasie à l'adénocarcinome, et qui témoignent de l'avancée des cellules néoplasiques dans le processus de cancérisation. Afin de rendre compte des différents degrés de sévérité de la dysplasie, les pathologistes l'ont classée en différents grades selon l'importance des anomalies observées. Riddell et coll. furent les premiers en 1983 à diviser les lésions de dysplasie en dysplasie de bas grade et en dysplasie de haut grade [137]. Cette division a été reprise par les classifications actuelles décrites dans le tableau 3 [103, 138].

La classification de Vienne a été élaborée à l'échelle internationale en 1998. Elle préfère les termes de néoplasie non invasive et néoplasie invasive à ceux de dysplasie et adénocarcinome.

La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est réactualisée régulièrement et la plus récente date de 2010. Dans certains organes, elle préfère le terme de néoplasie intra-épithéliale au terme de dysplasie. En effet, on connaît aujourd'hui des lésions néoplasiques

précoces du tractus digestif qui ne montrent pas les signes histologiques conventionnels de la dysplasie. C'est le cas par exemple des adénomes festonnés du côlon. Pour cette raison, certains auteurs préfèrent le terme de néoplasie qui est plus conceptuel, et qui reflète mieux le potentiel malin de la lésion, tandis que le terme de dysplasie est trop morphologique et renvoie à une image histologique [139]. Néanmoins le remplacement du terme de dysplasie par celui de néoplasie intra-épithéliale n'a pas été réellement adopté par les pathologistes occidentaux, qui, pour leur majorité, continuent d'employer le terme de dysplasie. Dans l'endobranchyœsophage en particulier, ce terme reste généralement le plus usité. C'est celui-ci qui sera utilisé dans ce texte, avec les abréviations suivantes : DBG pour dysplasie de bas grade, DHG pour dysplasie de haut grade, et ADK pour adénocarcinome.

Excepté ces différences de terme, on peut constater que ces trois classifications sont presque superposables. La classification morphologique de la progression néoplasique dans l'endobranchyœsophage a donc peu évolué depuis 30 ans.

Classification de Riddell et coll.	Classification de Vienne	Classification OMS 2010
Pas de dysplasie	1. Pas de néoplasie / dysplasie	Pas de dysplasie
Dysplasie indéfinie	2. Néoplasie / Dysplasie indéfinie	Dysplasie indéfinie
Dysplasie de bas grade	3. Néoplasie non infiltrante de bas grade (dysplasie de bas grade)	Dysplasie (NIE) de bas grade
Dysplasie de haut grade	4. Néoplasie non infiltrante de haut grade 4.1 Dysplasie de haut grade 4.2 Carcinome non infiltrant (Carcinome in situ) 4.3 Suspicion de carcinome infiltrant	Dysplasie (NIE) de haut grade
	5. Néoplasie infiltrante 5.1 Carcinome intra-muqueux 5.2 Carcinome sous-muqueux ou au-delà	Adénocarcinome

NIE : Néoplasie Intra-Epithéliale

**Tableau 3. Principales classifications des lésions néoplasiques de l'endobranchyœsophage.** D'après [103, 137, 138]

### 2.3.2. Les difficultés diagnostiques rencontrées par le pathologiste

Ces classifications ont pourtant leurs limites, principalement parce que des catégories artificielles ne peuvent pas rendre compte d'un processus lésionnel continu. Il n'est donc pas surprenant que les diagnostics de dysplasie soient difficilement reproductibles à chaque extrémité du spectre lésionnel : pour distinguer l'épithélium régénératif de l'épithélium dysplasique, pour distinguer la dysplasie de bas grade de la dysplasie de haut grade, et pour séparer l'épithélium dysplasique de la tumeur invasive précoce.

#### 2.3.2.1. *Epithélium régénératif et dysplasie de bas grade*

Le reflux gastro-œsophagien induit des lésions inflammatoires d'œsophagite. La distinction entre des lésions dysplasiques et des modifications liées à la régénération de la muqueuse peut être très difficile, voire impossible, surtout en cas d'inflammation aiguë, d'érosion ou d'ulcère. La plupart des anomalies architecturales et cytologiques observées dans la dysplasie de bas grade peuvent être présentes en cas de régénération de la muqueuse.

Il était classiquement admis que la maturation de surface était conservée en cas d'épithélium régénératif, c'est-à-dire que les anomalies cytologiques étaient confinées au fond des cryptes, tandis qu'en cas de dysplasie de bas grade les anomalies cytologiques s'étendaient jusqu'à l'épithélium de surface. Cette observation était la seule qui pouvait vraiment aider les pathologistes à distinguer ces deux entités [140, 141]. Cependant des études récentes suggèrent que les atypies confinées au fond des cryptes représenteraient déjà des lésions néoplasiques précoces, encore appelées dysplasie cryptique [142-144]. Si ces observations sont confirmées par de nouvelles études, les difficultés des pathologistes à distinguer des lésions de dysplasie de bas grade d'un épithélium régénératif seront majorées.

Le terme de « dysplasie indéfinie » a été introduit par Riddell et coll. pour les lésions dont le diagnostic de dysplasie n'était pas formel mais dont le degré d'atypies ne pouvait être ignoré [137]. Les classifications de Vienne et de l'OMS 2010 reprennent ce terme [103, 138]. Un tel diagnostic ne signifie pas que le pathologiste est incertain, mais plutôt qu'il n'est pas possible d'affirmer l'absence de néoplasie dans du matériel inflammatoire. Il est alors recommandé de répéter la biopsie après un traitement médical efficace contre le reflux, afin d'éliminer les effets histologiques de l'inflammation, source de confusion pour le pathologiste [32, 36, 80].

### 2.3.2.2. *Dysplasie de bas grade et dysplasie de haut grade*

Le diagnostic histologique de dysplasie repose sur des critères architecturaux et cytologiques qui suggèrent la transformation néoplasique de l'épithélium, et qui sont résumés dans le tableau 4 [140, 141]. Le diagnostic de DBG est porté quand les anomalies architecturales et cytologiques sont minimales ou modérées, alors que le diagnostic de DHG est porté quand les anomalies sont marquées (Figure 7). Quelques signes sont fortement évocateurs d'une dysplasie de haut grade : la présence de massifs cribriformes, d'une nécrose intra-luminale, ou d'une perte de la polarité des noyaux. Mais quand ces signes sont absents, le classement de la lésion en DBG ou DHG repose sur des critères semi-quantitatifs, assez subjectifs, qui exposent à des risques de sur ou sous diagnostics [140, 141, 145].

---

**Anomalies architecturales**

Augmentation du nombre de glandes

Glandes accolées

Glandes ramifiées

**Anomalies cytologiques**

Pseudostratification nucléaire

Augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique

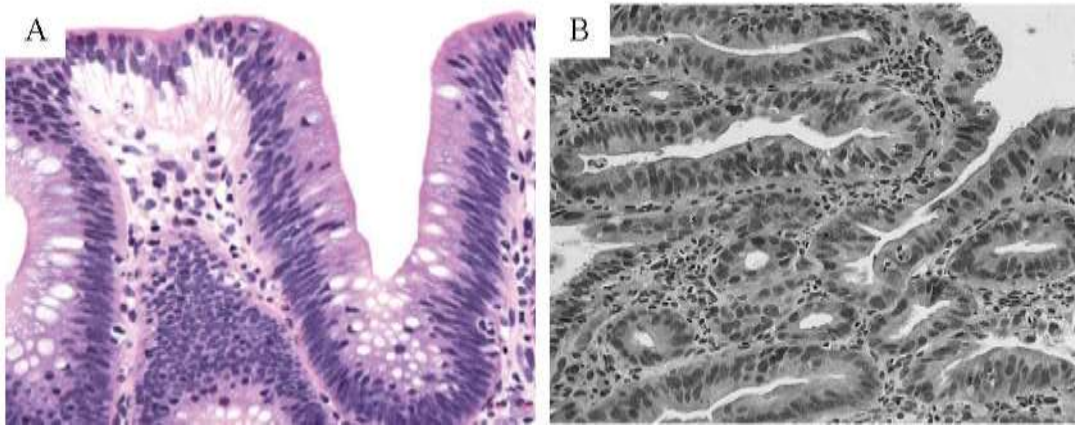
Diminution de la mucosécrétion

Augmentation du nombre de mitoses

Pléiomorphisme nucléaire

---

**Tableau 4. Principales anomalies architecturales et cytologiques décrites dans la dysplasie.** D'après [140, 141]



**Figure 7. A. Dysplasie de bas grade.** Il existe une pluristratification nucléaire, restant disposée au pôle basal des cellules. Les noyaux sont hyperchromatiques, et effilés. Les atypies cytologiques s'étendent à l'épithélium de surface, avec une diminution de la mucosécrétion. D'après [80]. **B. Dysplasie de haut grade.** Les atypies nucléaires sont marquées avec une perte de la polarité et une perte de la maturation de surface. D'après [141]

#### 2.3.2.3. *Dysplasie de haut grade et carcinome intra-muqueux*

Le diagnostic de carcinome intra-muqueux est porté lorsque la néoplasie franchit la lame basale de l'épithélium et infiltre le chorion, avec ou sans infiltration de la musculaire muqueuse. La distinction entre une DHG et un carcinome intra-muqueux est souvent difficile, car les signes d'infiltration peuvent être discrets, et la stroma-réaction est rare à ce stade (Figure 8) [140, 141]. Ces difficultés expliquent l'introduction dans la classification de Vienne de la catégorie « suspicion de carcinome invasif » [138].

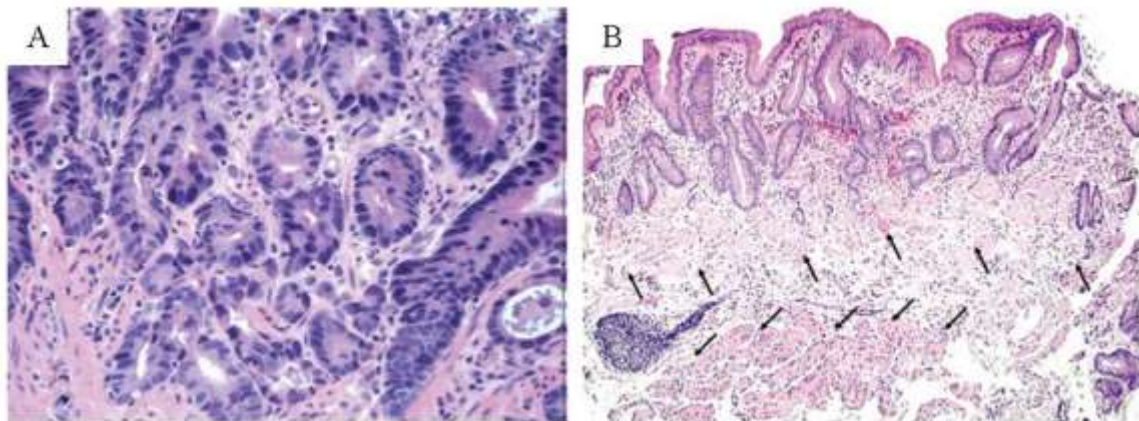
#### 2.3.2.4. *Carcinome intra-muqueux et carcinome sous-muqueux*

L'adénocarcinome invasif est considéré comme intra-muqueux lorsque les cellules néoplasiques franchissent la lame basale et infiltrent le chorion de la muqueuse, avec ou sans infiltration de la musculaire muqueuse. L'adénocarcinome invasif devient sous-muqueux lorsque les cellules tumorales infiltrent la paroi au-delà de la musculaire muqueuse [140, 141].

Il est important de noter que la musculaire muqueuse est presque constamment dédoublée dans un endobranchyœsophage (Figure 8). Ce signe doit être recherché car la tumeur qui pénètre dans la nouvelle musculaire muqueuse est toujours considérée comme « intramuqueuse » [146, 147].

L'évaluation du stade d'infiltration est difficile sur les biopsies. Celles-ci sont rarement assez profondes pour que les pathologistes soient capables de distinguer une invasion de la musculaire muqueuse d'une invasion de la sous-muqueuse. L'invasion en profondeur est mieux déterminée sur les pièces de mucosectomie, dans lesquelles les repères anatomiques de l'œsophage sont le plus souvent clairement identifiés [148].

L'évaluation du stade de la tumeur repose sur la profondeur d'infiltration, l'envahissement des ganglions régionaux, et la présence de métastases [103, 149].



**Figure 8. A. Adénocarcinome intra-muqueux associé à des lésions de DHG.** On observe au bas de l'image plusieurs petites glandes accolées, associées à des cellules tumorales isolées. Les atypies nucléaires sont marquées. D'après [80]. **B. Double musculaire muqueuse dans l'endobranchyœsophage (→).** D'après [33]

### 2.3.3. Le manque de reproductibilité du diagnostic de dysplasie

Les difficultés diagnostiques rencontrées par les pathologistes sont illustrées par un degré important de variabilité intra et inter observateurs, pour les pathologistes généraux [140, 141, 150], mais également pour les pathologistes spécialisés en digestif [140, 145, 151, 152]. Ce manque de reproductibilité est plus élevé pour les lésions en

dysplasie de bas grade [140, 141, 151]. Dans une étude, la reproductibilité inter observateurs pour porter le diagnostic de DBG n'était que de 32%, tandis que celle pour porter le diagnostic de DHG ou de carcinome était de 64% [141].

Une tendance au sur-diagnostic serait observée. Dans une étude de 485 patients, environ 40% des néoplasies initialement diagnostiquées comme de la DHG par un pathologiste général étaient rétrogradées quand les prélèvements étaient relus par des pathologistes experts en digestif [145]. Dans une autre étude, 85% des diagnostics de DBG étaient rétrogradés après relecture des lames par deux experts [153].

Ainsi plusieurs auteurs ont proposé que le diagnostic de dysplasie soit confirmé par un deuxième pathologiste, avant la prise de décision thérapeutique [140, 150]. Cette pratique est désormais recommandée par les sociétés savantes américaines [17].

Les différences diagnostiques s'accroissent lorsque l'on compare les diagnostics établis par les pathologistes des pays nord-américains ou des pays européens avec ceux établis par les pathologistes japonais. Plusieurs études ont montré que les néoplasies classées en DHG par la plupart des pathologistes occidentaux étaient presque toujours classées en carcinome par les pathologistes japonais. Cette discordance s'explique principalement par l'utilisation de critères de malignité différents au Japon et en Occident. Pour faire le diagnostic de carcinome, les Japonais attachent plus d'importance aux anomalies nucléaires et architecturales, sans exiger la preuve morphologique d'invasion, tandis que les Occidentaux réservent le terme de carcinome aux néoplasies invasives [138, 154].

La classification de Vienne, proposée par un groupe international de pathologistes, devait établir un consensus afin de réduire ces divergences. Le groupe de travail a mis en évidence que ni les Occidentaux ni les Japonais n'étaient capables de distinguer de façon reproductible les DHG, les carcinomes in situ, et les néoplasies suspectes d'être un carcinome infiltrant. Dans la mesure où la prise en charge thérapeutique des ces lésions est la même, le groupe de travail proposa de regrouper ces lésions dans une même catégorie (tableau 3). En utilisant cette nouvelle classification, les taux de concordance des diagnostics de lésions gastriques, colorectales et œsophagiennes passaient respectivement de 37 à 71%, de 45 à 65% et de 14 à 62%. La reproductibilité des diagnostics s'améliorait considérablement, mais n'était pas parfaite [138].

### 2.3.4. Les nouveautés

Deux formes particulières de dysplasie ont été décrites récemment dans l'œsophage de Barrett : la dysplasie fovéolaire, et la dysplasie limitée à la partie profonde des cryptes.

#### 2.3.4.1. La dysplasie fovéolaire

Des observations récentes montrent que le morphotype de la dysplasie de Barrett serait plus hétérogène que celui généralement admis [155-159]. Une autre forme de dysplasie a été isolée, ressemblant à la dysplasie fovéolaire de type II décrite dans l'estomac. La dysplasie habituellement décrite dans l'endobranchyœsophage se rapproche de la dysplasie intestinale de type I de l'estomac [160]. Ainsi ces observations suggèrent que la dysplasie de Barrett prend en fait deux formes principales : une dysplasie intestinale ou adénomateuse, et une dysplasie fovéolaire ou gastrique.

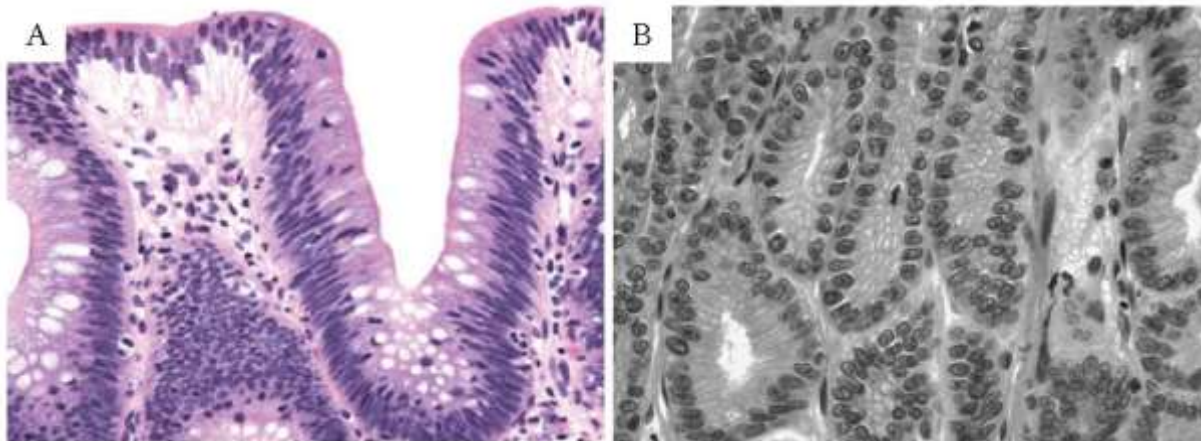
La dysplasie de type intestinal ressemble à celle observée dans les adénomes du côlon. Elle se caractérise par une stratification nucléaire avec des noyaux allongés, effilés, et une chromatine mottée. La dysplasie de type fovéolaire se distingue de la dysplasie adénomateuse par des critères architecturaux et cytologiques. Les glandes sont plus petites et plus rapprochées, avec des lumières glandulaires moins visibles. Les cellules sont cubiques, rarement cylindriques, avec un cytoplasme clair ou éosinophile. Le rapport nucléo-cytoplasmique est élevé. Les noyaux sont ronds ou ovales, avec un nucléole bien visible (Figure 9) [156, 157]. Toutefois des cas hybrides, mélangeant des critères des deux types, ont été décrits [157, 160].

En immunohistochimie, ces deux types peuvent être distingués par l'expression des mucines. L'expression de MUC5AC sert de marqueur de la différenciation fovéolaire, et l'expression de MUC2 de marqueur de la différenciation intestinale. Néanmoins d'assez nombreux cas exprimant à la fois MUC2 et MUC5AC ont été décrits, ainsi que quelques cas sans aucune expression des mucines [159].

Dans l'endobranchyœsophage, la dysplasie fovéolaire semble nettement moins fréquente que la dysplasie intestinale. Dans deux études, elle représentait environ 6% des dysplasies observées [156, 158]. Récemment, des critères histologiques de classement en dysplasie de bas grade et dysplasie de haut grade ont été proposés, mais leur reproductibilité n'a pas encore été testée



[158]. Des anomalies moléculaires, telles que l'aneuploïdie, ont été retrouvées, sans différence significative avec les cas de dysplasie adénomateuse [156]. Une progression de la dysplasie fovéolaire vers l'adénocarcinome a été décrite, mais des études prospectives sont nécessaires pour mieux déterminer la signification et le taux de progression de ce type de dysplasie dans l'endobrachyœsophage [156, 158].



**Figure 9. A. Dysplasie de type intestinal.** Les noyaux sont hyperchromatiques, effilés et pluristratifiés. D'après [80]. **B. Dysplasie de type fovéolaire.** Les glandes sont rapprochées les unes des autres, et bordées par une seule assise de cellules polarisées, avec des noyaux ovales et nucléolés. D'après [156]

La reconnaissance de cette forme de dysplasie pose la question de son origine. Pour certains, l'hypothèse la plus logique serait que la dysplasie fovéolaire se développe à partir de la métaplasie gastrique, suggérant l'existence d'une seconde voie de carcinogenèse de l'endobrachyœsophage selon la séquence métaplasie gastrique – dysplasie fovéolaire – adénocarcinome. Dans plusieurs études, certaines muqueuses au voisinage des lésions de dysplasie fovéolaire ne montraient pas de cellules caliciformes. Dans le débat sur les cellules caliciformes, cette hypothèse apporterait un argument supplémentaire aux partisans du changement des critères diagnostiques de l'endobrachyœsophage, et de l'inclusion dans les protocoles de surveillance des patients présentant exclusivement de la métaplasie gastrique [156, 157].

Cependant tous les auteurs ne partagent pas cet avis, et certains considèrent que le débat sur les cellules caliciformes devrait rester distinct du diagnostic de dysplasie fovéolaire dans l'endobrachyœsophage [158]. L'autre hypothèse serait que les différentes formes de dysplasie

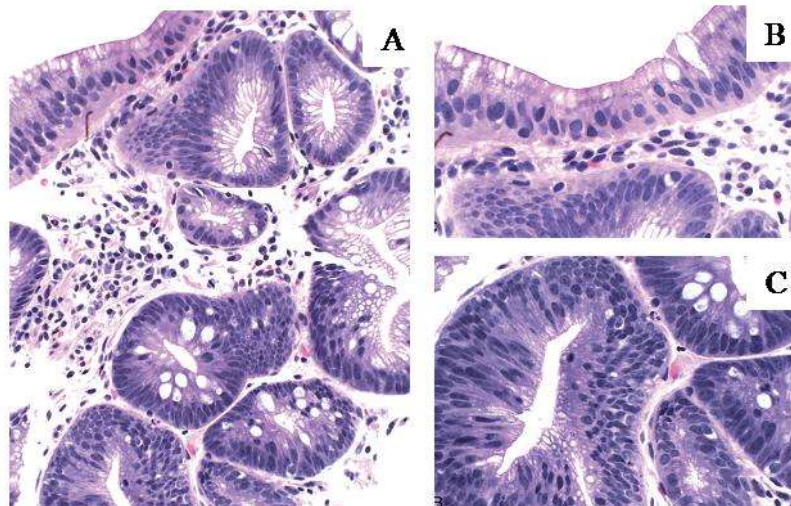
de Barrett naîtraient de cellules souches pluripotentes. Plusieurs études prouvent qu'une cellule souche serait à l'origine des différents types de métaplasie glandulaire de l'œsophage. Le rôle d'une cellule souche dans la progression néoplasique de l'endobrachyœsophage a également été proposé [25-27].

#### 2.3.4.2. *La dysplasie cryptique*

Des données récentes suggèrent que la dysplasie sur endobrachyœsophage se développe dans le fond des cryptes et s'étend ensuite vers la surface. Les études décrivent des atypies ressemblant à celles de la dysplasie conventionnelle mais confinées au fond des cryptes, appelées par les auteurs dysplasie cryptique (Figure 10). Ces lésions représenteraient déjà des lésions néoplasiques précoces. Dans les études, ces lésions présentaient en effet des anomalies moléculaires et des signes de prolifération anormalement augmentée. Elles étaient aussi associées à des lésions de dysplasie conventionnelle et/ou d'adénocarcinome [142, 143]. Classiquement les lésions de dysplasie de bas grade sont distinguées de l'épithélium régénératif par l'absence de maturation de l'épithélium de surface [80, 140, 141]. La description de cette nouvelle entité remet en cause ce critère, et suggère qu'une lésion peut être néoplasique tout en conservant une maturation de surface. Si ces observations sont confirmées par de nouvelles études, les difficultés des pathologistes à distinguer des lésions de dysplasie de bas grade d'un épithélium régénératif seront majorées. Un article récent a tenté de déterminer des critères morphologiques pour le diagnostic de la dysplasie cryptique. Les auteurs de cette étude se sont accordés sur les critères suivants : des cellules clairement dysplasiques présentes dans n'importe quelle zone des cryptes ou dans toute la crypte, mais épargnant la surface épithéliale intercryptique. Cependant dans cette étude, la reproductibilité inter observateurs ne dépassait pas 46%, même avec cette définition consensuelle [144].

D'autres données suggèrent que le processus néoplasique débute encore plus précocement dans l'endobrachyœsophage, avant l'apparition des signes morphologiques de dysplasie. L'index de prolifération est plus élevé dans l'épithélium en métaplasie intestinale que dans l'épithélium malpighien normal adjacent [18]. Des études ont retrouvé des anomalies moléculaires dans l'épithélium en métaplasie intestinale habituellement retrouvées dans les lésions néoplasiques développées sur endobrachyœsophage : aneuploïdie, anomalies des gène *TP53* et *p16* [132-134]. Ces données soutiennent le concept que la métaplasie

glandulaire représenterait la première manifestation de la néoplasie dans l'endobranchyœsophage.



**Figure 10. Dysplasie cryptique.** A. La partie profonde des cryptes montre des atypies cytologiques de dysplasie de bas grade ; la maturation de surface est conservée. B. Fort grossissement sur l'épithélium de surface mature et bien différencié ; les noyaux sont polarisés, ronds et réguliers de contour. C. Fort grossissement sur la partie profonde des cryptes qui montre des anomalies cytologiques de dysplasie de bas grade : les noyaux sont pluristratifiés, hyperchromatiques avec une perte de la mucosécrétion. D'après [139]

La signification de ces lésions n'est cependant pas encore clairement établie. La dysplasie conventionnelle, intestinale ou fovéolaire, reste actuellement la seule lésion morphologique validée pour témoigner de la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage.

### 3. Les moyens de dépistage des patients à risque de transformation néoplasique

#### 3.1. Les protocoles de surveillance endoscopique

Le dépistage des lésions néoplasiques développées sur endobrachyœsophage est nécessaire car les lésions dysplasiques et les cancers superficiels sont le plus souvent asymptomatiques. Les symptômes qui manifestent la présence d'un cancer de l'œsophage sont principalement une dysphagie, voire une aphasie en cas de lésion sténosante, ou une altération de l'état général. Malheureusement la présence de tels symptômes indique le plus souvent que la tumeur est à un stade très avancé, rarement curable [103]. Afin de dépister et traiter les lésions néoplasiques précocement, à un stade pré-symptomatique, une surveillance endoscopique est proposée aux patients ayant un endobrachyœsophage. L'enjeu de ce dépistage est important car le pronostic de ces cancers est très sombre, avec un taux de survie à 5 ans d'environ 10% seulement [161].

Le dépistage des lésions dysplasiques des patients ayant un endobrachyœsophage repose donc sur une surveillance endoscopique combinée à l'examen histologique des biopsies per-endoscopiques. Le rythme de surveillance recommandé est variable d'un pays à l'autre. La surveillance est plus fréquente en cas de dysplasie de bas grade, et intensifiée en cas de dysplasie de haut grade non traitée [17, 36]. Le rythme de surveillance proposé par l'*American Gastroenterological Association* est le suivant : tous les 3 à 5 ans en cas d'endobrachyœsophage sans dysplasie, tous les 6 à 12 mois en cas de dysplasie de bas grade, tous les 3 mois en cas de dysplasie de haut grade non traitée [17]. Plusieurs études ont suggéré que les programmes de surveillance avaient des effets bénéfiques : ils détectaient les adénocarcinomes à un stade précoce et curable, et obtenaient un meilleur taux de survie après traitement que les adénocarcinomes découverts tardivement devant des symptômes [162-164].

L'examen endoscopique de surveillance a pour objectif de dépister des lésions néoplasiques précoces. Le plus souvent, les foyers dysplasiques n'ont pas d'aspect macroscopique particulier, et se fondent dans la muqueuse environnante [49, 165]. Ils sont souvent de petite taille, uni ou multifocaux, et n'ont pas de localisation préférentielle au sein de la muqueuse de Barrett [49, 166]. Sans lésion visible, l'endoscopiste doit réaliser des biopsies à l'aveugle dans la muqueuse de Barrett. Il existe donc un risque important de passer à côté d'une lésion néoplasique.

Afin de réduire le risque de faux négatifs, de nombreuses biopsies doivent être effectuées. Des protocoles rigoureux d'échantillonnage biopsique ont été proposés, comme le protocole de Seattle en 1993 qui comprenait des biopsies tous les 2 cm des 4 quadrants de la muqueuse de Barrett. Plusieurs études ont montré qu'il améliorait la détection des lésions de dysplasie de haut grade et d'adénocarcinome [165-169]. Dans une étude, ce protocole permettait de détecter 13 fois plus de lésions dysplasiques qu'en l'absence de protocole [170].

Pourtant, des auteurs attestaient que, même avec ce protocole, seule 3,5 % de la muqueuse lésionnelle était échantillonnée [169] et que des foyers d'adénocarcinome restaient indétectés [171-173].

Par la suite, des cliniciens ont proposé qu'en cas de dysplasie connue, les biopsies soient effectuées tous les cm, et pas seulement tous les 2 cm. Des travaux ont montré que cela permettait de détecter deux fois plus de cancers [174].

Enfin des techniques complémentaires endoscopiques ont été testées, telles que la chromoendoscopie, l'endoscopie grossissante, ou l'endoscopie à bande spectrale étroite, afin de détecter la présence de lésions néoplasiques occultes. Même si aucune n'est recommandée en routine actuellement [17, 36], ces techniques nouvelles permettront sans doute un jour d'affiner la détection endoscopique des lésions dysplasiques de l'endobrachyœsophage.

D'autre part, la dysplasie peut parfois apparaître sous forme d'une lésion visible macroscopiquement, telle qu'une muqueuse irrégulière, déprimée ou surélevée, un nodule, un polype, une érosion, un ulcère, ou une lésion bourgeonnante. Plusieurs études ont montré que l'aspect macroscopique des lésions était associé à un risque accru de progression vers le cancer [175-178]. Les tumeurs malignes avancées sont souvent ulcérées, saignant au contact, bourgeonnantes, voire sténosantes empêchant la progression de l'endoscope [103].

Afin de réduire le risque de méconnaître une lésion maligne occulte, les sociétés savantes actuelles recommandent de suivre un protocole biopsique rigoureux, inspiré du protocole de Seattle, et comprenant des biopsies tous les 2 cm des 4 quadrants de la muqueuse de Barrett, et tous les cm en cas d'antécédent ou de suspicion de dysplasie. Toute anomalie de la muqueuse doit être biopsiée, les lésions bien visibles macroscopiquement étant associées à un risque accru de néoplasie [17, 36]. Au cours de l'examen endoscopique, il est aussi recommandé de mesurer l'endobrachyœsophage [17, 35, 36], car le risque de développer un cancer varie directement avec l'étendue de la muqueuse glandulaire [37-40].

## **3.2. La dysplasie : l'unique marqueur de dépistage fiable des patients à risque de cancer**

Le diagnostic histologique d'une dysplasie sur les biopsies per-endoscopiques est actuellement le seul marqueur morphologique fiable pour sélectionner les patients à risque de développer un cancer [17, 179].

### **3.2.1. La dysplasie de haut grade**

La DHG est considérée comme la lésion la plus susceptible d'évoluer vers un adénocarcinome [179]. Elle demeure actuellement le marqueur le plus fiable pour dépister les patients à risque de cancer.

L'histoire naturelle de la DHG reste cependant débattue. Il semble que la plupart des DHG n'évolueront pas vers le cancer. Alors que dans une étude seul 16% des DHG avaient évolué vers le cancer en 7 ans [180], d'autres études ont retrouvé un taux de progression vers le cancer d'environ 60% sur une période de 2 à 5 ans [179, 181, 182]. Une méta-analyse récente a rapporté un risque de progression de la DHG vers le cancer de 6% par an et par patient [183]. Dans les études, la DHG évoluait rapidement vers le cancer en quelques mois chez certains patients, tandis que chez d'autres la DHG restait stable pendant plusieurs années [179, 184]. Une régression apparente de la DHG en dysplasie de bas grade, voire en muqueuse glandulaire sans dysplasie, a également été décrite [180, 182, 184]. L'évolution de la DHG semble donc imprévisible pour un patient donné.

Certains critères augmentent le risque de progression vers le cancer des lésions de DHG. Une lésion visible en endoscopie est plus à risque de progresser qu'une lésion occulte [175-178]. Il a aussi été suggéré que les lésions diffuses de DHG étaient plus à risque que les lésions unifocales, mais les résultats des études sont contradictoires [176, 185].

### 3.2.2. La dysplasie de bas grade

Dans les séries prospectives, la DBG est plus fréquente que la dysplasie de haut grade [180, 184, 186] mais sa signification clinique est moins bien comprise. L'incidence du cancer chez les patients ayant de la DBG est particulièrement mal établie. Les taux publiés de progression de DBG vers la dysplasie de haut grade ou l'adénocarcinome varient de 0.5 à 13.4% par patient par an [42, 151, 153, 179, 187]. Ces écarts s'expliquent en partie par le manque de reproductibilité du diagnostic de DBG, et de la tendance à son sur-diagnostic. Des études ont montré en effet que le taux de progression vers la dysplasie de haut grade ou le cancer était plus élevé quand le diagnostic de DBG était confirmé par deux ou trois pathologistes [151, 153]. Dans une étude, 28% des cas de DBG évoluaient vers la dysplasie de haut grade ou le cancer quand un seul pathologiste portait le diagnostic de DBG ; 40% des cas de DBG évoluaient vers le cancer quand deux pathologistes s'accordaient sur le diagnostic de DBG ; et 80% des cas évoluaient quand trois pathologistes s'accordaient sur le diagnostic [151].

L'évolution de la DBG semble également imprévisible pour un patient donné. Les études montrent qu'elle peut rester stable, régresser vers une muqueuse glandulaire sans dysplasie, ou progresser vers la dysplasie de haut grade ou le cancer [151, 180, 184, 186, 188]. Quand elle a lieu, l'évolution vers le cancer est généralement lente. Dans les études, l'apparition d'un cancer survient presque toujours plus de 3 ans après le diagnostic de DBG [179, 184].

Les histoires naturelles des lésions de dysplasie restent donc mal comprises. Les taux rapportés sont variables d'une étude à l'autre. Les résultats sont souvent difficiles à interpréter à cause de deux biais majeurs : les erreurs d'échantillonnage biopsique, et la variabilité inter observateur du diagnostic de dysplasie [32, 80]. Ainsi, un phénomène de progression apparemment rapide peut être observé si, à cause du biais d'échantillonnage, les biopsies initiales avaient manqué la lésion de dysplasie. Il convient aussi d'être prudent dans l'interprétation des régressions décrites dans les études. En cas de régression apparente, on peut s'interroger sur le diagnostic initial, ou sur la présence d'une dysplasie non détectée à cause d'erreurs d'échantillonnage. Malgré ces biais, toutes les études s'accordent pour reconnaître le potentiel de transformation maligne des lésions dysplasiques. La dysplasie

représente aujourd'hui le seul marqueur fiable pour prédire la progression vers le cancer [17, 179]. Elle est dépistée par les protocoles de surveillance endoscopique.

Malheureusement, l'évolution d'une lésion dysplasique est impossible à prédire pour un patient donné. Des marqueurs supplémentaires sont nécessaires pour déterminer avec une meilleure précision le risque individuel d'évolution vers le cancer.

### **3.3. Intérêt des biomarqueurs**

A l'heure actuelle, la dysplasie représente le seul marqueur de prédiction d'évolution vers le cancer [17]. Dans les protocoles de surveillance endoscopique, le rythme des examens dépend de la présence ou pas d'une dysplasie. Pourtant ce marqueur est loin d'être satisfaisant, en raison de son histoire naturelle encore mal connue, des biais d'échantillonnage lors de l'examen endoscopique, et de son manque de reproductibilité diagnostique entre pathologistes.

Comme les programmes de surveillance endoscopique sont lourds et coûteux, de nombreux efforts ont été déployés depuis une vingtaine d'années pour rechercher et tester des biomarqueurs complémentaires, qui pourraient permettre de mieux sélectionner les patients à risque de développer un cancer et nécessitant une surveillance rapprochée. Parmi les marqueurs testés, p53 est l'un des plus prometteurs.



## 4. p53 dans la carcinogenèse

La protéine p53 joue un rôle fondamental dans le contrôle du cycle cellulaire, et dans la lutte de l'organisme contre le développement du cancer. Elle est le garant de l'intégrité de l'ADN dans les cellules, et pour cette raison elle a été appelée la « gardienne du génome ». A l'inverse, l'inactivation de p53 favorise la progression tumorale. Les mutations inactivatrices du gène *TP53* sont les anomalies génétiques les plus fréquemment observées dans les cancers. L'inactivation de p53 semble jouer un rôle important dans la carcinogenèse de l'endobranchyœsophage.

### 4.1. Rôle et fonctionnement de p53 dans la cellule normale

#### 4.1.1. La fonction de suppression de tumeur

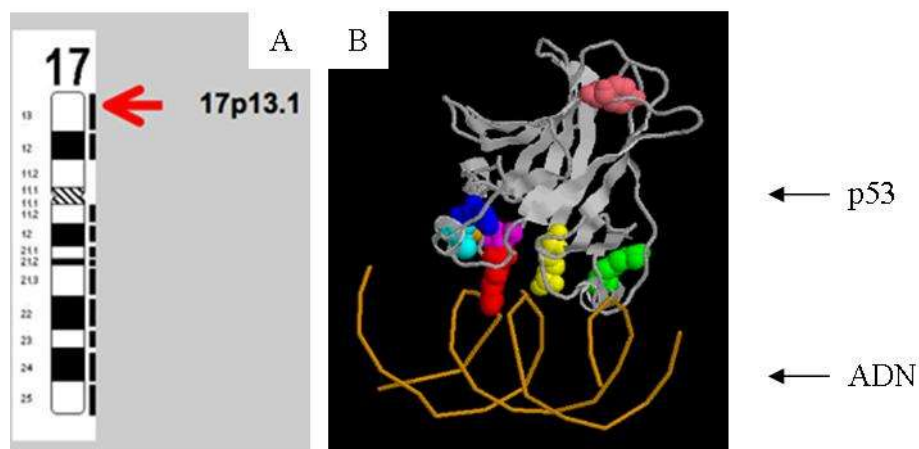
La protéine p53 a été découverte en 1979. Pendant les 10 premières années, les chercheurs travaillaient sans le savoir sur des formes mutantes de la protéine, si bien que le gène *TP53* avait été initialement classé en oncogène. Ce n'est qu'en 1989 que différentes études permirent de classer le gène *TP53* en gène suppresseur de tumeur [189].

La protéine p53 est une protéine remarquable par la multiplicité de ses effets. Elle est un facteur de transcription qui régule l'expression de très nombreux gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire, l'apoptose, la synthèse de l'ADN et sa réparation. La protéine p53 prévient le développement du cancer en empêchant une cellule dont le génome est instable de se répliquer [190].

#### 4.1.2. Structures du gène et de la protéine

Le gène *TP53* est localisé sur le bras court du chromosome 17 en 17p13.1, et est constitué de 11 exons (Figure 11). Il code une protéine nucléaire de 53 kilodaltons, appelée pour cette raison p53 [191]. La protéine p53 contient 393 acides aminés. Elle est constituée de plusieurs domaines fonctionnels, le plus important étant le domaine central localisé entre les résidus 102 et 292, qui assure la liaison de p53 à l'ADN. Ce domaine est capable de se lier à

une séquence spécifique d'ADN, activant ainsi la transcription des gènes régulés par p53. La configuration spatiale de ce domaine est un élément essentiel pour que la protéine soit active (Figure 11). La majorité des mutations du gène *TP53* surviennent dans la séquence d'ADN codant ce domaine. Elles se caractérisent par la substitution d'un acide aminé qui suffit à perturber la structure spatiale particulière de ce domaine, l'empêchant de se lier à l'ADN et inactivant la fonction transcriptionnelle de p53. Par ailleurs la protéine p53 s'oligomérisse pour former un tétramère [192, 193].



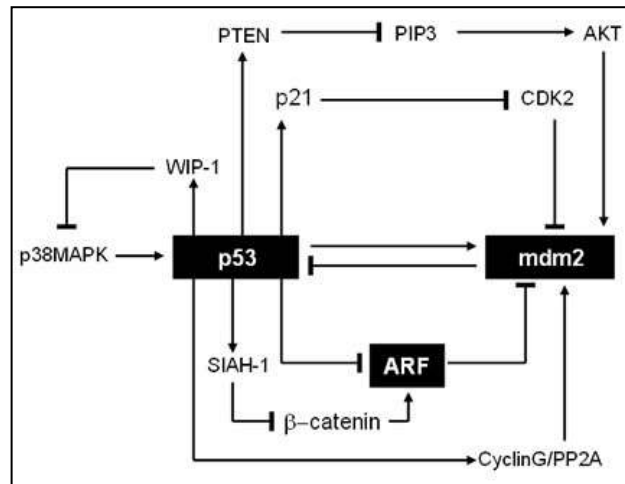
**Figure 11. Structures du gène *TP53* et de la protéine p53.** A. Localisation du gène *TP53* sur le chromosome 17. D'après [194]. B. Configuration tridimensionnelle de p53 lui permettant de se lier à l'ADN. D'après [194]

#### 4.1.3. Mécanismes de régulation de p53

Etant donné le rôle crucial que joue la protéine dans la cellule, il n'est pas surprenant que ses mécanismes de régulation soient multiples et complexes. Parmi les moyens connus pour réguler p53, on peut citer la protéine mdm2 (murine double minute 2) codée par le gène *mdm2*. La protéine mdm2 inhibe la protéine p53 en se liant à elle. Le complexe protéique ainsi formé dissimule le domaine de liaison à l'ADN de p53, et empêche donc p53 de se lier à l'ADN. De plus, mdm2 favorise la dégradation de p53.

Le gène *mdm2* fait partie des nombreux gènes dont la transcription est déclenchée par p53. La protéine p53 stimule donc la synthèse de mdm2, son inhibiteur. Cela constitue une boucle de rétrocontrôle négatif, permettant à la cellule de contrôler l'activité transcriptionnelle de p53.

De nombreuses protéines, dont certaines ne sont probablement pas encore connues, interviennent dans la régulation de p53 et du couple p53-mdm2. Par exemple, la protéine p14(ARF) inhibe l'interaction p53-mdm2, et agit donc en activant p53 [195, 196]. Plusieurs boucles de régulation connues sont présentées dans la figure suivante et illustrent la complexité de la régulation de p53.



**Figure 12. Boucles de régulation positive et négative de p53.** Cette figure illustre la complexité de la régulation de p53. La plupart des boucles de régulation impliquent la protéine mdm2, soulignant le rôle central joué par mdm2 dans la régulation de p53. —| : inhibition. → : activation. D'après [195]

#### 4.1.4. Fonctionnement de la protéine p53 sauvage dans une cellule normale

A l'état normal, la protéine p53 existe sous une forme de latence, car elle n'est pas nécessaire au fonctionnement de la cellule. Elle a par exemple une configuration tridimensionnelle qui l'empêche de se lier à l'ADN. De plus, la protéine p53 latente forme un complexe protéique avec la protéine mdm2. Ce complexe a une durée de vie très faible dans la cellule et conduit à la dégradation rapide de p53. La protéine p53, dans cette forme de latence, n'est donc présente dans le noyau qu'à de très faibles concentrations, non détectables par des techniques d'immunohistochimie classique [191, 193].

Plusieurs stimuli, endogènes ou exogènes, peuvent être à l'origine de l'activation de la protéine p53, tels que les dommages de la molécule d'ADN, les situations d'hypoxie, ou la

présence d'un oncogène forçant la cellule à se répliquer. Contrairement à de nombreux autres gènes suppresseurs de tumeurs, les principaux mécanismes d'activation de p53 ne surviennent pas à l'échelle du gène ou de l'ARN, mais directement sur la protéine. De nombreux mécanismes de phosphorylation et d'acétylation ont été décrits. Ces modifications permettent de rompre le lien entre mdm2 et p53, et de libérer p53. Cette libération conduit à une stabilisation de la protéine et à un allongement de sa durée de vie. Dans ces situations d'activation de p53, l'accumulation nucléaire de la protéine peut être détectée par les techniques d'immunohistochimie. Les modifications post-traductionnelles entraînent également un changement de la configuration tridimensionnelle de la protéine, qui devient alors capable de se lier aux séquences spécifiques d'ADN, et d'activer la transcription des gènes cibles [191, 193].

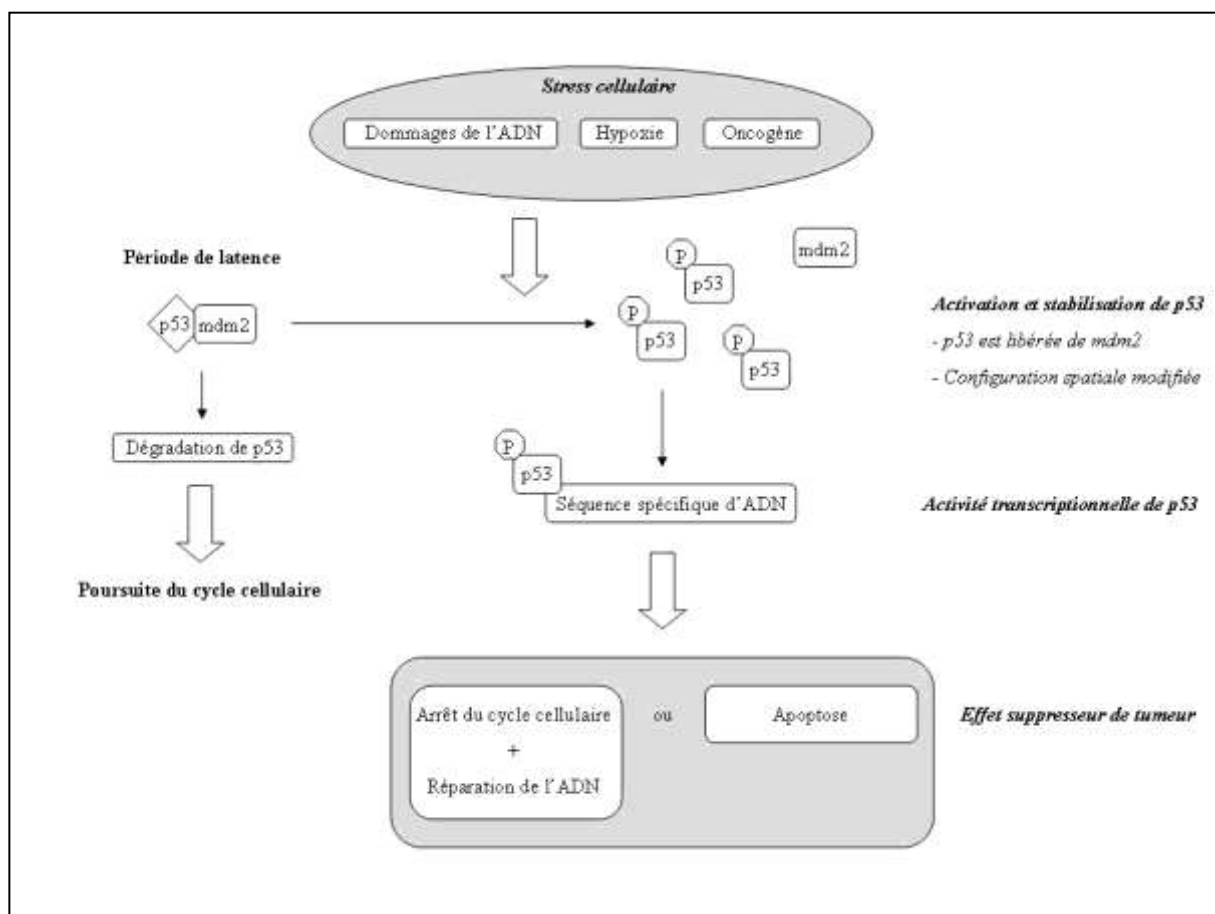


Figure 13. Fonctionnement de p53 dans une cellule normale.

L'activation de la protéine p53 entraîne la cellule dans deux voies possibles : l'arrêt du cycle cellulaire avec la réparation de l'ADN, ou l'entrée en apoptose. Dans la première voie, la protéine p53 provoque la transcription de nombreux gènes permettant à la cellule d'interrompre son cycle et de procéder aux réparations de l'ADN. Quand celles-ci sont terminées, le taux de p53 retourne à la normale, et le cycle cellulaire reprend. Dans d'autres cas, quand les dommages subis par la cellule sont irréparables, la cellule entre en apoptose. Ces deux réponses cellulaires, orchestrées par p53, permettent d'éviter la réplication d'une cellule ayant une molécule d'ADN endommagée. Le mécanisme permettant à la cellule de choisir entre ces deux voies n'est pas encore connu [193].

Ainsi, la protéine p53 sauvage agit comme un formidable suppresseur de tumeur en garantissant l'intégrité du génome. A l'inverse son inactivation peut avoir des conséquences délétères pour la cellule.

## **4.2. L'inactivation de p53**

### **4.2.1. Le rôle de l'inactivation de p53 dans la carcinogénèse**

Etant donné les divers rôles joués par la protéine p53 pour protéger l'intégrité de l'ADN cellulaire, il n'est pas surprenant que la perte de fonction de p53 prédispose au développement du cancer. En cas d'inactivation de p53, la cellule poursuit son cycle et se réplique même si sa molécule d'ADN a été endommagée. Ainsi l'inactivation de p53 expose la cellule aux mutations. Des études ont montré que l'instabilité génomique était fréquemment associée aux mutations de *TP53* et que les anomalies génétiques de *TP53* précédaient l'aneuploïdie [197, 198]. Cette association a été rapportée dans l'adénocarcinome de l'œsophage [198-201]. Cette instabilité génomique favorise l'accumulation de mutations dans la cellule, et à plus ou moins long terme sa transformation en cellule cancéreuse.

L'inactivation de p53 confère donc un avantage aux cellules néoplasiques. Certains auteurs avancent qu'il existerait, du fait de cet avantage, un phénomène de sélection des cellules néoplasiques ayant une inactivation de p53, ce qui expliquerait la très grande prévalence des mutations de *TP53* dans les cancers [193].

Par ailleurs, dans certaines tumeurs, l'inactivation de p53 semble avoir un impact sur le pronostic de la tumeur. Certaines études ont montré que la présence de mutations de *TP53*

était associée à une moins grande efficacité de la radiothérapie et de la chimiothérapie, et à un taux de survie plus faible des patients. La radiothérapie et la chimiothérapie détruisent les cellules tumorales en activant la cascade apoptotique dépendante de p53. Dans les cellules néoplasiques ayant des mutations de *TP53*, la cascade apoptotique de p53 ne fonctionne pas, ce qui pourrait conférer une résistance des cellules néoplasiques aux traitements anti-cancéreux. Un impact pronostic des mutations de *TP53* a été observé par exemple dans le cancer du sein [202]. Dans l'adénocarcinome développé sur endobranchyœsophage, plusieurs études ont analysé l'impact de l'inactivation de p53 sur le stade TNM du cancer et la survie des patients. Mais les résultats de ces études divergent [203-208].

#### **4.2.2. Les mécanismes d'inactivation de p53**

Il existe plusieurs mécanismes permettant d'inactiver p53, le plus fréquent étant la mutation du gène *TP53*.

##### *4.2.2.1. Les mutations de TP53*

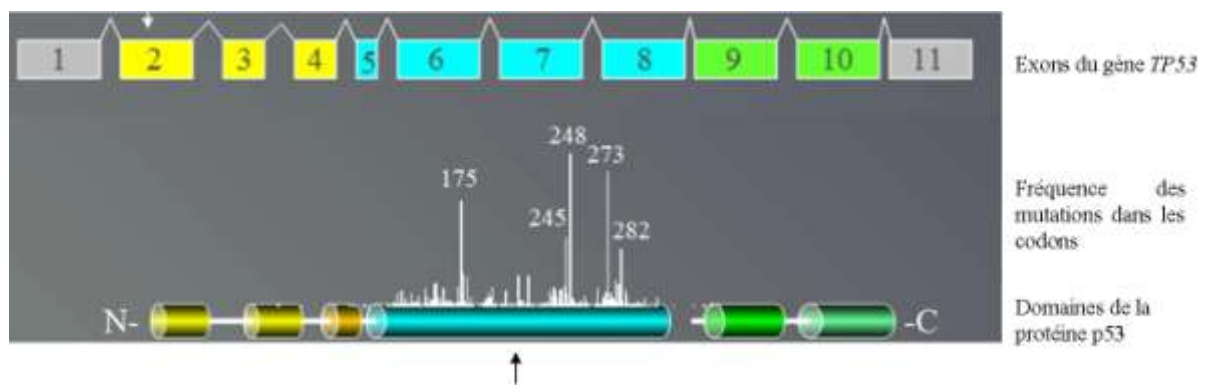
Les mutations du gène *TP53* sont les anomalies génétiques les plus fréquemment observées dans les cancers, retrouvées dans environ 40% des tumeurs malignes. La prévalence varie de 0 à 60% selon le site et le type histologique [194, 209]. Le gène *TP53*, comme tous les gènes suppresseurs de tumeur, agit sur un mode autosomique récessif. Les deux copies du gène doivent être inactivées pour rendre le gène silencieux. Les personnes ayant une mutation germinale du gène *TP53* sont beaucoup plus à risque de développer des cancers que les personnes ayant deux allèles sauvages de *TP53*. Ce syndrome est appelé syndrome de Li Fraumeni [210]. Mais dans la majorité des cancers, les mutations de *TP53* sont acquises [190].

L'inactivation des deux copies du gène est souvent due à la mutation du gène *TP53* d'un allèle et à la perte de l'autre allèle, appelée perte d'hétérozygotie (LOH pour *loss of heterozygosity*). Cette perte allélique peut survenir par une délétion d'une partie du chromosome ou par une recombinaison mitotique. Plusieurs études ont montré une forte association entre la présence de mutations de *TP53* et d'une LOH du bras court du

chromosome 17 (17p) dans une même tumeur. Il semble également que les mutations précèdent la LOH, mais quand la mutation survient, la LOH suit rapidement [211, 212]. Ces données ont été observées dans différentes tumeurs, dont l'adénocarcinome de l'œsophage développé sur endobrachyœsophage [213].

La plupart des gènes suppresseurs de tumeurs sont inactivés par des mutations non-sens ou décalant le cadre de lecture, aboutissant à une protéine tronquée ou absente. Pourtant environ 75% des mutations de *TP53* sont des mutations faux-sens, qui modifient l'identité d'un acide aminé [194]. La majorité des mutations faux-sens du gène *TP53* surviennent dans la séquence d'ADN qui code le domaine de liaison à l'ADN de la protéine p53 (Figure 14). La substitution d'un acide aminé par un autre acide aminé dans ce domaine modifie la configuration tridimensionnelle de p53 qui devient incapable de se lier à l'ADN. Par ailleurs, ces mutations stabilisent et allongent la durée de vie de la protéine p53 mutante, si bien que la protéine inactive s'accumule dans le noyau. Cette accumulation de la protéine p53 est alors détectable par un examen immunohistochimique [191, 193].

Les mutations non-sens et les mutations décalant le cadre de lecture de *TP53* sont plus rares. Elles aboutissent à la synthèse d'une protéine tronquée, voire à l'absence de synthèse protéique, qui ne peut pas être détectée en immunohistochimie [191].



**Figure 14.** La majorité des mutations de *TP53* se concentrent dans les exons 5 à 8, qui codent le domaine central de la protéine assurant la liaison à l'ADN (→). D'après [194]

#### 4.2.2.2. *La surexpression de la protéine mdm2*

Le gène *mdm2* est un proto-oncogène. La surexpression de *mdm2*, secondaire à l'amplification de son gène, a été détectée dans plusieurs tumeurs, notamment dans les sarcomes. La protéine *mdm2* surexprimée se lie à p53 et inhibe son activité transcriptionnelle. Ainsi l'amplification du gène *mdm2* permet à la cellule d'échapper au contrôle exercé par p53, et favorise la progression néoplasique [214].

#### 4.2.2.3. *L'expression d'une oncoprotéine virale*

Le même effet peut être obtenu avec des oncoprotéines virales dont la liaison avec p53 conduit à l'inactivation de la protéine et à sa dégradation. C'est par ce mécanisme épigénétique que le virus Human Papilloma Virus (HPV) rend les cellules infectées du col utérin susceptibles d'évoluer vers le cancer. La protéine virale E6 exprimée par HPV se lie spécifiquement à p53 et induit sa dégradation [215]. Dans les cancers du col, les mutations de *TP53* sont rares, et sont plutôt observées dans les cancers cervicaux qui ne sont pas associés à une infection par HPV [216].

#### 4.2.2.4. *Autres mécanismes*

L'inactivation de protéines intervenant dans la régulation de p53, par des mécanismes génétiques ou épigénétiques, peut entraîner une inactivation de p53. C'est le cas par exemple de la protéine p14(ARF), dont la perte d'expression a été impliquée dans de nombreuses tumeurs [217, 218]. Cependant ces mécanismes restent encore assez mal connus.



### 4.3. Les techniques d'investigation de p53

#### 4.3.1. Les anomalies génétiques de *TP53*

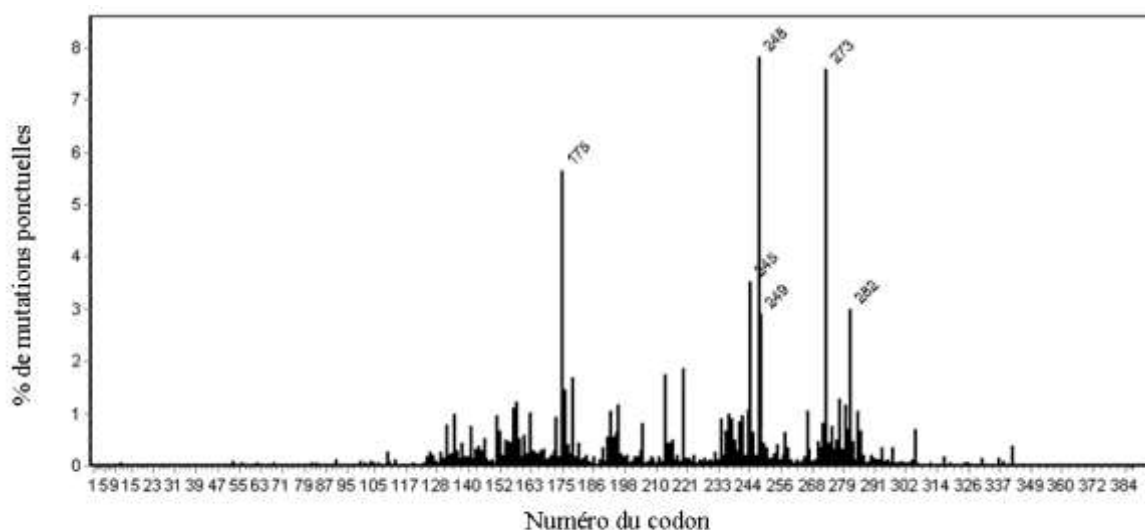
La recherche des mutations du gène *TP53* est considérée comme le gold-standard pour étudier l'inactivation de p53 [181]. Actuellement la technique utilisée pour détecter des mutations de *TP53* est le séquençage direct. Elle peut être effectuée à partir de matériel congelé ou à partir de matériel inclus en paraffine [219].

En 1989, les travaux de Nigro *et al.* ont rapporté que 86% des mutations faux-sens du gène *TP53* étaient localisées dans les exons 5, 7 et 8 du gène, correspondant aux régions les plus conservées du gène [211]. Le gène *TP53* étant très long à séquencer en totalité, la plupart des auteurs choisissent de ne séquencer que les exons 5 à 8 du gène, qui concentrent la majorité des mutations.

Les mutations de *TP53* se caractérisent par leur grande hétérogénéité. Plus de 1500 types de mutations de *TP53* ont été décrits. La fréquence de ces mutations est très variable. Toutefois, les différentes revues et bases de données montrent l'existence de 6 hot-spots, concentrant plus de 40% des mutations faux-sens, localisés dans les exons 5, 7 et 8, et correspondant aux acides aminés 175, 245, 248, 249, 273, et 282 [194, 209] (Figure 15). A l'inverse, certaines mutations n'ont été rapportées qu'une seule fois. La signification biologique de ces rares mutations est mal connue, car la majorité des études ont porté sur les hot-spots du gène *TP53*. L'équipe de Soussi et coll. a mis en évidence que certaines mutations de *TP53* pouvaient conserver des degrés variables d'activité transcriptionnelle [220].

La LOH de 17p peut être recherchée par cytométrie de flux ou par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) [221].

Toutes ces techniques, séquençage direct, cytométrie de flux et FISH, ont l'inconvénient d'être longues, coûteuses, et peu accessibles, nécessitant des laboratoires spécialisés. A l'inverse la technique d'immunohistochimie est rapide, économique, et disponible dans tous les laboratoires de pathologie. Elle est donc plus facile à mettre en place en routine.



**Figure 15. Distribution des fréquences des mutations dans les codons.** Six hot-spots se détachent : codons 175, 245, 248, 249, 273 et 282, situés dans les exons 5, 7 et 8. D'après [194]

#### 4.3.2. La surexpression de p53 en immunohistochimie

La surexpression de p53 en immunohistochimie (IHC) est souvent utilisée comme témoin indirect de la présence des mutations de *TP53*. La plupart des anticorps anti-p53 reconnaissent les extrémités de la protéine [222]. Or la majorité des mutations de *TP53* sont des mutations faux-sens qui intéressent le domaine de liaison à l'ADN, situé dans la partie centrale de la protéine. Ainsi la plupart des protéines mutantes sont reconnues par les anticorps. En outre les protéines mutantes sont stables et s'accumulent dans le noyau. Cette accumulation est détectable en immunohistochimie [191]. Environ 95% des mutations faux-sens seraient associées à la surexpression de p53 en immunohistochimie [194].

Cependant plusieurs études ont montré le manque de concordance entre la surexpression de p53 en immunohistochimie et la présence de mutations de *TP53* [209]. Quand les mutations de *TP53* sont des mutations non-sens ou des mutations décalant le cadre de lecture, elles peuvent générer des protéines tronquées ou absentes qui ne sont pas détectables en immunohistochimie, et peuvent être responsables de faux négatifs [191]. Ainsi environ 90% des mutations non-sens et des mutations décalant le cadre de lecture seraient associées à une immunohistochimie de p53 négative [194]. Cependant, ces mutations représentent moins de 25% des mutations de *TP53*.

Par ailleurs, il semble que d'autres mécanismes que les mutations de *TP53* puissent induire une stabilisation de p53 détectable en immunohistochimie, à l'origine de faux positifs [191]. Dans les situations de stress cellulaire, la protéine p53 sauvage est activée et s'accumule dans le noyau. Ces situations d'activation de p53 peuvent être induites par une hypoxie, la présence d'un oncogène, ou un dommage de l'ADN, induit par exemple par la radio-chimiothérapie. Ces situations ne sont pas rares dans l'histoire naturelle et clinique d'une tumeur. D'autres mécanismes d'inactivation de p53 pourraient aussi stabiliser la protéine p53 et induire une surexpression de p53 en immunohistochimie.

Cette faible concordance entre la surexpression de p53 et la présence d'une mutation de *TP53* a été observée dans les adénocarcinomes et les lésions dysplasiques développés sur endobranchyœsophage [223, 224]. Pourtant, les investigateurs utilisent souvent la surexpression de p53 comme témoin indirect du statut mutationnel de *TP53*, car l'immunohistochimie présente l'avantage d'être une technique simple.

A l'heure actuelle, les critères de la surexpression de p53 en immunohistochimie ne font pas l'objet d'un consensus. Plusieurs études ont choisi le seuil de 10% de noyaux marqués pour témoigner de la surexpression de p53 [223, 225]. D'autres études ont fixé le seuil à 1% ou 50% [201, 203]. Pour d'autres études, seule l'intensité du marquage compte [226]. Il est probable aussi que le seuil de surexpression de p53 puisse varier selon l'anticorps utilisé. Cette absence de consensus peut être à l'origine de biais dans la comparaison des résultats des études.

#### **4.4. La surexpression de p53 et les mutations de *TP53* dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage**

##### **4.4.1. Prévalence**

D'après la base de données de l'*International Agency for Research on Cancer* (IARC), la prévalence des mutations de *TP53* dans les adénocarcinomes de l'œsophage est de 49,2% [194]. Une revue de la littérature a évalué la prévalence de la surexpression de p53 en immunohistochimie à 63,4% dans les adénocarcinomes de Barrett [227]. Les mutations de *TP53* et la surexpression de p53 en immunohistochimie sont donc fréquentes dans cette pathologie.

#### 4.4.2. Épidémiologie moléculaire

Les mutations de *TP53* ont la particularité d'avoir un intérêt épidémiologique. Certains carcinogènes entraînent des mutations particulières de l'ADN, et laissent des empreintes moléculaires permettant de retrouver la cause de la mutation. Ceci est à la base de l'épidémiologie moléculaire. Par exemple, les transversions de G:C en T:A sont induites par certains carcinogènes présents dans la fumée de cigarette et sont les mutations les plus fréquemment observées dans les cancers du poumon. Les mutations en tandem, et notamment les transitions CC→TT, sont induites par le rayonnement ultra-violet et sont les mutations les plus fréquemment observées dans les cancers de la peau [209]. Dans l'adénocarcinome de l'œsophage développé sur endobranchyœsophage, les études rapportent une prépondérance des transitions de G:C en A:T, comme dans les cancers colorectaux et dans les cancers gastriques. Ce type de mutations témoigne le plus souvent du caractère spontané de la mutation. Plus rarement elles peuvent être induites par les N-nitrosamines [209, 212].

Le spectre de mutations de l'adénocarcinome de l'œsophage est différent de celui du carcinome épidermoïde de l'œsophage, dans lequel on observe moins de transitions de G:C en A:T, et davantage de transversions de G:C en T:A, soulignant le lien existant entre ce cancer et l'exposition à la fumée de cigarette [228]. Le rôle du tabac dans l'adénocarcinome de Barrett a été débattu et les études épidémiologiques ont montré des résultats divergents [39, 41]. La faible prévalence des transversions de G:C en T:A dans l'adénocarcinome de Barrett donne un argument supplémentaire pour exclure le rôle mutagénique de la fumée de cigarette dans l'endobranchyœsophage [209].

#### 4.4.3. Chronologie

Dans l'endobranchyœsophage, les études montrent que la chronologie d'apparition des anomalies de p53 est variable. Dans l'étude de Schneider *et al.*, aucune mutation n'était détectée dans les 22 lésions de métaplasie et les 13 lésions de DBG analysées, tandis que des mutations étaient détectées dans 33% des lésions de DHG, et dans 46% des lésions d'ADK, suggérant que les mutations de *TP53* survenaient après le stade de DBG [229]. Cependant plusieurs études ont détecté des mutations au stade de DBG, comme celle de Bian et coll. qui détectait des mutations de *TP53* dans 29% des lésions de DBG analysées [223]. Certaines

études ont également retrouvé des mutations de *TP53* au stade de métaplasie intestinale sans dysplasie [109, 230] : parmi 30 prélèvements d'endobranchyœsophage sans dysplasie, Campomenosi *et al.* identifiaient des mutations de *TP53* dans 27% d'entre eux [230]. Ces résultats suggèrent que les mutations de *TP53* peuvent survenir précocement au cours de la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage. Ils soulignent aussi que l'apparition des mutations de *TP53* dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage est variable d'un patient à l'autre, et témoignent de l'hétérogénéité des voies de carcinogénèse dans l'endobranchyœsophage.

Toutefois les études s'accordent pour montrer qu'au fur et à mesure de la progression histologique des lésions vers le cancer, la fréquence de l'inactivation de p53 augmente. Par exemple, Reid *et coll.* ont mis en évidence une LOH de 17p dans 6% des lésions en métaplasie, 20% des lésions en DBG, et 57% des lésions en DHG [181]. Dans l'étude de Dolan *et al.*, des mutations de *TP53* étaient détectées dans 3% des lésions de métaplasie, dans 13% des lésions de DBG, et dans 33% des lésions d'ADK [207]. Dans l'étude de Ramel *et coll.*, une surexpression de p53 en immunohistochimie était observée dans 5% des lésions de métaplasie, 15% des lésions de DBG, 45% des lésions de DHG, et 53% des lésions d'ADK [231]. Ces études suggèrent que p53 joue un rôle important dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage.

#### **4.4.4. Prédiction de progression vers le cancer**

L'inactivation de p53 favorisant la mise en place d'une instabilité génomique dans les cellules mutées, il a été proposé que les anomalies du gène *TP53* servent de marqueur de prédiction de l'évolution vers le cancer chez les patients ayant un endobranchyœsophage. Cependant très peu d'études ont été conduites dans l'endobranchyœsophage pour le déterminer. Dans les travaux de Reid *et coll.*, les patients avec une LOH de 17p avaient un risque significativement plus grand d'évoluer vers le cancer que ceux sans la LOH. Dans cette étude, le risque de progresser vers le cancer des patients atteints d'endobranchyœsophage avec ou sans DBG était de 37% s'il y avait une LOH de 17p, et de 3% en l'absence de la LOH [181]. Dans l'étude de Dolan *et al.*, sur 48 patients suivis pour endobranchyœsophage avec ou sans DBG, 2 patients avaient des mutations de *TP53* au début de l'étude, et l'un des deux avait développé un cancer 16 mois après. Inversement aucun des patients sans mutation de

*TP53* n'avait développé de cancer. Dans cette étude, le taux de progression vers le cancer était de 50% en cas de mutation de *TP53*, et de 0% en l'absence de mutations. Mais cette étude était limitée par le très faible nombre de lésions mutées [207].

La surexpression de p53 en immunohistochimie comme marqueur de prédiction d'évolution vers le cancer a été plus souvent étudiée dans l'endobranchyœsophage, probablement parce que la technique d'immunohistochimie est plus simple à mettre en place que la recherche des anomalies génétiques de *TP53*. Dans plusieurs études rétrospectives et prospectives, les lésions dysplasiques ayant une surexpression de p53 en immunohistochimie étaient plus à risque d'évoluer vers le cancer qu'en l'absence de surexpression [226, 232-236]. Cependant, à cause d'une sensibilité et d'une spécificité insatisfaisantes, et du manque de concordance avec le statut mutationnel de *TP53*, l'étude immunohistochimique de la surexpression de p53 n'a pas encore été recommandée en pratique courante dans l'endobranchyœsophage [17].

## BUTS DE L'ETUDE

Le gène *TP53* joue un rôle dans la progression néoplasique précoce de l'endobranchyœsophage. Pour cette raison, *TP53* a été proposé comme biomarqueur prédictif de l'évolution vers le cancer des lésions néoplasiques développées sur endobranchyœsophage. Dans ce contexte, la recherche des mutations de *TP53* est considérée actuellement comme la méthode de référence pour analyser l'inactivation de la protéine p53, or sa valeur prédictive de l'évolution vers le cancer n'a été que rarement étudiée dans l'endobranchyœsophage.

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer la valeur prédictive de la mutation du gène *TP53* dans la progression néoplasique des lésions de dysplasie de bas grade développées sur endobranchyœsophage, et de la comparer à celle de la surexpression de p53 en immunohistochimie. Les objectifs secondaires étaient de 1) déterminer la fréquence et la chronologie d'apparition des mutations de *TP53* et de la surexpression de p53 en immunohistochimie dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage ; 2) déterminer la concordance entre l'existence d'une mutation de *TP53* et la surexpression de p53 en immunohistochimie dans les lésions néoplasiques sur endobranchyœsophage ; 3) déterminer si l'inactivation de p53 était restreinte à un type de dysplasie, intestinale ou fovéolaire.

## **MATERIEL ET METHODES**



## 1. Patients et prélèvements

Deux groupes de patients surveillés au centre hospitalier universitaire (CHU) de Nantes et ayant des lésions d'endobrachyœsophage compliqué de dysplasie de bas grade ont été créés et comparés. Le groupe d'étude était constitué de 18 patients dont les lésions de dysplasie de bas grade avaient évolué vers la dysplasie de haut grade ou le cancer. Le groupe témoin était constitué de 11 patients ayant des lésions de dysplasie de bas grade depuis au moins 5 ans, sans évolution connue vers la dysplasie de haut grade ou le cancer.

Pour chaque patient du groupe d'étude, 1 échantillon tissulaire ayant intéressé des lésions de dysplasie de bas grade et 1 échantillon ayant intéressé des lésions de dysplasie de haut grade ou d'adénocarcinome étaient extraits des archives des laboratoires de pathologie de la région nantaise. Les prélèvements provenaient de biopsies endoscopiques, de mucosectomies ou de pièces de résection chirurgicale, réalisées entre 2004 et 2011. Le délai moyen entre chaque prélèvement était de 6,8 mois. Chacun de ces échantillons a fait l'objet d'une analyse immunohistochimique de la protéine p53 et d'une analyse moléculaire du gène *TP53*. Les 18 échantillons de dysplasie de bas grade ont également fait l'objet d'une analyse immunohistochimique des protéines MUC2 et MUC5AC.

Pour chaque patient du groupe témoin, un échantillon tissulaire de dysplasie de bas grade était extrait des archives du laboratoire de pathologie du CHU de Nantes. Les prélèvements provenaient de biopsies endoscopiques, réalisées entre 1998 et 2007. Chacun de ces échantillons a fait l'objet d'une analyse immunohistochimique de la protéine p53 et d'une analyse moléculaire du gène *TP53*.

## 2. Etude histologique

Après fixation formolée et inclusion en paraffine, 2 à 4 coupes sériées de 3 µm et 2 à 6 coupes sériées de 10 µm étaient réalisées à partir des échantillons tissulaires. Une coupe de 3 µm était colorée à l'hématoxyline – phloxine– safran (HPS). Les autres coupes de 3 µm servaient à la technique d'immunohistochimie. Les coupes de 10 µm servaient à l'extraction d'ADN.

Chaque échantillon était réexaminé par deux pathologistes. Les lésions étaient classées sur le plan histologique selon la classification de Vienne [138]. La catégorie 1 regroupait les lésions sans dysplasie. La catégorie 2 regroupait les lésions de néoplasie indéfinie. La catégorie 3 regroupait les lésions de néoplasie non infiltrante de bas grade ou dysplasie de bas grade (DBG). La catégorie 4 regroupait les lésions de néoplasie non infiltrante de haut grade (DHG). La catégorie 5 regroupait les lésions de néoplasie infiltrante ou adénocarcinome (ADK). Le stade des lésions de DHG et d'ADK était déterminé selon la classification TNM des carcinomes de l'œsophage de l'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC, 7<sup>ème</sup> édition 2009) (Annexe) [149].

Les 18 lésions de DBG du groupe d'étude étaient classées en dysplasie de type intestinal ou fovéolaire. Elles étaient classées en type intestinal quand on observait une stratification nucléaire avec des noyaux allongés, effilés, et une chromatine mottée. Elles étaient classées en type fovéolaire quand les glandes étaient petites et rapprochées, bordées par des cellules cubiques, au rapport nucléo-cytoplasmique élevé, aux noyaux ovalaires et nucléolés [156, 157].

### **3. Immunohistochimie de p53, MUC2 et MUC5AC**

Après déparaffinage des coupes de 3 µm, les sites antigéniques étaient démasqués avec du tampon EDTA, pH 9,0 pour p53, et avec du tampon citrate, pH 6,0 pour MUC2 et MUC5AC, à 100°C pendant 30 min. Les anticorps primaires utilisés étaient les suivants : p53 (anticorps monoclonal de souris anti-p53 humaine, clone DO-7, 1/2000<sup>e</sup> ; Dako, Danemark), MUC2 (anticorps monoclonal lyophilisé de souris NCL-MUC2, clone Ccp58, 1/600<sup>e</sup> ; Novocastra, Newcastle, UK), et MUC5AC (anticorps monoclonal de souris anti-MUC5AC, 1/1000<sup>e</sup> ; don de Jacques Bara).

La technique d'immunohistochimie était réalisée avec le kit Bond<sup>R</sup> Polymer Refine Detection (Leica, Newcastle, UK). Ce kit incluait du peroxyde d'hydrogène pour l'inhibition de la peroxydase endogène, une solution bloquante, un anticorps secondaire couplé à la peroxydase, du diaminobenzidine pour la révélation de l'activité de la peroxydase, et de l'hématoxyline pour la contre-coloration.

Deux types de marquage étaient déterminés : positif ou négatif.

Pour p53, le marquage était positif quand le marquage était nucléaire et que 10% ou plus des noyaux étaient marqués intensément [223].

Pour MUC2 et MUC5AC, le marquage était positif quand le marquage était cytoplasmique et que 10% ou plus des cellules étaient marquées. Quatre profils immunophénotypiques étaient établis : intestinal quand MUC2 était positif et MUC5AC négatif ; foveolaire quand MUC5AC était positif et MUC2 négatif ; mixte quand MUC2 et MUC5AC étaient positifs ; nul quand MUC2 et MUC5AC étaient négatifs [160].

## **4. Analyse moléculaire du gène *TP53***

### **4.1. Extraction de l'ADN**

L'examen des lames colorées par l'HPS permettait d'identifier les zones lésionnelles à extraire. Sur les coupes épaisses, les zones d'intérêt étaient prélevées en disséquant le tissu avec la lame d'un scalpel. Le matériel était déposé dans un tube contenant 0,5 ml de tampon Sodium EDTA Buffer (SEB). Après avoir rajouté 10 µl de protéinase K, les échantillons étaient incubés et digérés toute la nuit à 60°C. L'ADN était extrait en rajoutant successivement 0,5 ml de phénol – chloroforme - alcool iso amylique et 0,5 ml de chloroforme, puis isolé grâce aux filtres Amicons 50K.

### **4.2. Réaction en chaîne par polymérase et séquençage de l'ADN**

Les exons 4 à 8 du gène *TP53* étaient amplifiés par une réaction en chaîne par polymérase (PCR) avec les amorces décrites dans le tableau 5. Le mix de PCR correspondant à un volume total de 25 µl contenait 5 µl d'ADN génomique, 0,4 pM d'amorces sens et anti-sens, 0,2 mM de chaque dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 unité de tampon, 1 unité de Taq Polymerase (Invitrogen Platinum<sup>R</sup> Taq DNA Polymerase, Invitrogen, Camarillo, USA).

L'ADN était amplifié dans un thermocycleur avec les conditions suivantes : étape initiale de dénaturation à 95°C pendant 10 min, suivie de 12 cycles d'amplification de 30 s à 95°C (dénaturation), 30 s à 68°C (-1°C par cycle) (hybridation) et 30 s à 72°C (élongation), puis de 36 cycles d'amplification de 30 s à 95°C (dénaturation), 30 s à 55°C (hybridation) et 30 s à

72°C (élongation), avec une étape finale d'élongation de 72°C pendant 10 min. Une électrophorèse sur un gel à 1,2% d'agarose permettait de vérifier l'amplification.

Dix microlitres de produits de PCR étaient purifiés en ajoutant 2 µl d'ExoSap-IT, et en laissant incubé à 37°C pendant 15 min puis à 80°C pendant 15 min. Deux réactions de séquence, une sens et une antisens, étaient réalisées pour chaque produit de PCR avec 3 µl de produit de PCR purifié, du BigDye (BigDye<sup>R</sup> Terminator v1.1, Applied Biosystems, USA) et la même amorce que celle de la PCR (tableau 5). La réaction de séquence consistait en 25 cycles de 96°C pendant 10 s, 50°C pendant 5 s, 60°C pendant 1 min 15, dans un thermocycleur. Les produits de réactions de séquence étaient purifiés par une filtration sur gel sephadex G50, puis séquencés par un automate de séquençage (3130 XL Genetic Analyzer, Applied Biosystems, USA). Les données étaient analysées grâce au logiciel SeqScape.

Exon	Sens	Antisens	taille du fragment d'ADN (pb)
4	5'-CTGGTAAGGACAAGGGTTGG-3'	5'-ATTCTGGGAGCTTCATCTGG-3'	213
5	5'-CAACTCTGTCTCCTTCCTCTTCC-3'	5'-CAGCCCTGTCGTCTCTCC-3'	246
6	5'-CTCAGCATCTTATCCGAGTGG-3'	5'-CACTGACAACCACCCTTAACC-3'	155
7	5'-GCACTGGCCTCATCTTGG-3'	5'-GGCAAGTGGCTCCTGACC-3'	163
8	5'-TGATTTCCTTACTGCCTCTTGC-3'	5'-TAACTGCACCCTTGGTCTCC-3'	230

Tableau 5. Séquences des amorces pour la PCR et le séquençage (gène *TP53* - exons 4 à 8)

## 5. Analyse statistique

L'analyse statistique était réalisée à l'aide du logiciel Prism (GraphPad Software, USA). Le test exact de Fisher était utilisé pour les variables qualitatives, et le test de Student pour les variables quantitatives, avec un degré de signification  $p < 0,05$ .

## **RESULTATS**

## **1. Données cliniques, endoscopiques et thérapeutiques**

### **1.1. Groupe d'étude**

Dans le groupe d'étude, la série de patients regroupait 15 hommes et 3 femmes (sex-ratio de 5:1). La moyenne d'âge des patients au moment du diagnostic de cancer ou de dysplasie de haut grade était de 73 ans (de 53 à 83 ans).

L'endobranchyœsophage observé en endoscopie mesurait en moyenne 6 cm (de 2 à 17 cm). La hauteur circonférentielle était en moyenne de 5 cm (de 0 à 17 cm). Pour 16 patients, les lésions de cancer ou de dysplasie de haut grade étaient associées à des anomalies macroscopiques, identifiées au cours de l'examen endoscopique. Ces anomalies correspondaient le plus souvent à une lésion bourgeonnante, parfois associée à une sténose ou une ulcération. Plus rarement était observée une muqueuse surélevée ou déprimée, nodulaire ou polypoïde, énanthémateuse ou érosive. La sténose et l'ulcération étaient toujours associées à la présence d'un cancer. Pour 2 patients, aucune anomalie macroscopique n'avait été identifiée.

Tous les patients avec de la dysplasie de haut grade avaient bénéficié d'une mucosectomie. Parmi les patients ayant un adénocarcinome, 3 avaient bénéficié d'une mucosectomie, et 4 d'une oesogastrectomie polaire supérieure.

### **1.2. Groupe témoin**

Dans le groupe témoin, la série de patients regroupait 9 hommes et 2 femmes (sex-ratio de 5:1). La moyenne d'âge des patients au moment du prélèvement était de 67 ans (de 42 à 87 ans). L'endobranchyœsophage observé en endoscopie mesurait en moyenne 6,7 cm (de 2 à 16 cm). La hauteur circonférentielle était en moyenne de 6 cm (de 0 à 16 cm). Les lésions de dysplasie de bas grade étaient connues depuis 9 ans en moyenne (de 6 à 13 ans).

### **1.3. Comparaison des deux groupes**

Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes pour les données cliniques et endoscopiques.

## **2. Etude histologique**

### **2.1. Groupe d'étude**

Dans le groupe d'étude, 1 échantillon intéressant des lésions de DBG, et 1 échantillon intéressant des lésions de DHG ou d'ADK, ont été analysés pour chacun des 18 patients.

Parmi les 18 lésions de DBG, 15 (83%) étaient classées sur les critères histologiques en dysplasie intestinale, et 3 (17%) en dysplasie fovéolaire (tableau 6).

Les 18 lésions de DHG - ADK se répartissaient ainsi : 8 (44%) lésions de DHG, et 10 (56%) lésions d'ADK. Les lésions d'adénocarcinome correspondaient le plus souvent à des adénocarcinomes intra-muqueux, de stade pT1a (5/10, 50%). Deux adénocarcinomes infiltraient la paroi jusqu'à la sous-muqueuse et étaient classés stade pT1b. Un adénocarcinome infiltrait la paroi jusqu'à l'adventice et était classé stade pT3. Pour deux adénocarcinomes, la profondeur d'infiltration n'était pas évaluable ; ils étaient au moins intra-muqueux, et étaient classés au moins pT1a. Seul un adénocarcinome était associé à un envahissement ganglionnaire régional. Aucun des cancers n'était associé à des métastases au moment du diagnostic (tableau 6).

### **2.2. Groupe témoin**

Dans le groupe témoin, 1 échantillon intéressant des lésions de DBG a été analysé pour chacun des 11 patients.

## **3. Expression de MUC2 et MUC5AC en immunohistochimie**

Dans le groupe d'étude, les 18 lésions de DBG ont fait l'objet d'une analyse immunohistochimique de MUC2 et MUC5AC. L'expression des protéines MUC2 et MUC5AC était considérée significative quand plus de 10% des cellules étaient marquées.

Les 15 lésions classées en dysplasie intestinale en histologie avaient un immunophénotype mixte. Parmi les 3 lésions classées en dysplasie fovéolaire en histologie, 2 avaient un immunophénotype fovéolaire et 1 avait un immunophénotype mixte (tableau 6). Au total, les

profils immunophénotypiques se répartissaient ainsi : 16 (89%) mixtes et 2 (11%) fovéolaires (Figures 18 et 19). Aucun profil immunophénotypique intestinal ou nul n'était retrouvé.

N° patient	DBG		DHG - ADK	
	Type histologique	Immunophénotype MUC2 - MUC5AC	Type histologique	pTNM
1	intestinal	mixte	ADK	T1a
2	intestinal	mixte	DHG	Tis
3	fovéolaire	fovéolaire	ADK	T1a N1
4	intestinal	mixte	ADK	T1a
5	intestinal	mixte	ADK	au moins T1a
6	fovéolaire	mixte	DHG	Tis
7	intestinal	mixte	ADK	T1a
8	intestinal	mixte	DHG	Tis
9	intestinal	mixte	DHG	Tis
10	intestinal	mixte	DHG	Tis
11	intestinal	mixte	DHG	Tis
12	intestinal	mixte	DHG	Tis
13	intestinal	mixte	DHG	Tis
14	intestinal	mixte	ADK	T1a
15	intestinal	mixte	ADK	T1b
16	intestinal	mixte	ADK	T3
17	intestinal	mixte	ADK	au moins T1a
18	fovéolaire	fovéolaire	ADK	T1b

**Tableau 6. Données histologiques et immunophénotypiques des lésions néoplasiques des 18 patients du groupe d'étude**



## **4. Surexpression de p53 en immunohistochimie**

Les 18 lésions de DBG et les 18 lésions de DHG – ADK du groupe d'étude, et les 11 lésions de DBG du groupe témoin ont fait l'objet d'une étude immunohistochimique (IHC) de p53. La protéine p53 était considérée surexprimée quand plus de 10% des noyaux étaient marqués intensément.

### **4.1. Groupe d'étude**

Dans le groupe d'étude, la surexpression de p53 était observée dans 17 des 18 lésions de DBG (94%) (Figures 18 et 19). Dans la plupart des cas ( $n = 15$ ), le marquage de p53 s'étendait tout le long des cryptes jusque dans l'épithélium de surface. Dans 2 cas (patients 2 et 15), seul le fond des cryptes était marqué, sans marquage de l'épithélium de surface (Figure 16).

La surexpression de p53 était observée dans 17 des 18 lésions de DHG – ADK (94%). Le marquage de p53 s'étendait toujours jusqu'à l'épithélium de surface.

La surexpression de p53 était stable. Quand elle était observée dans les lésions de DBG, elle persistait dans les lésions de DHG – ADK.

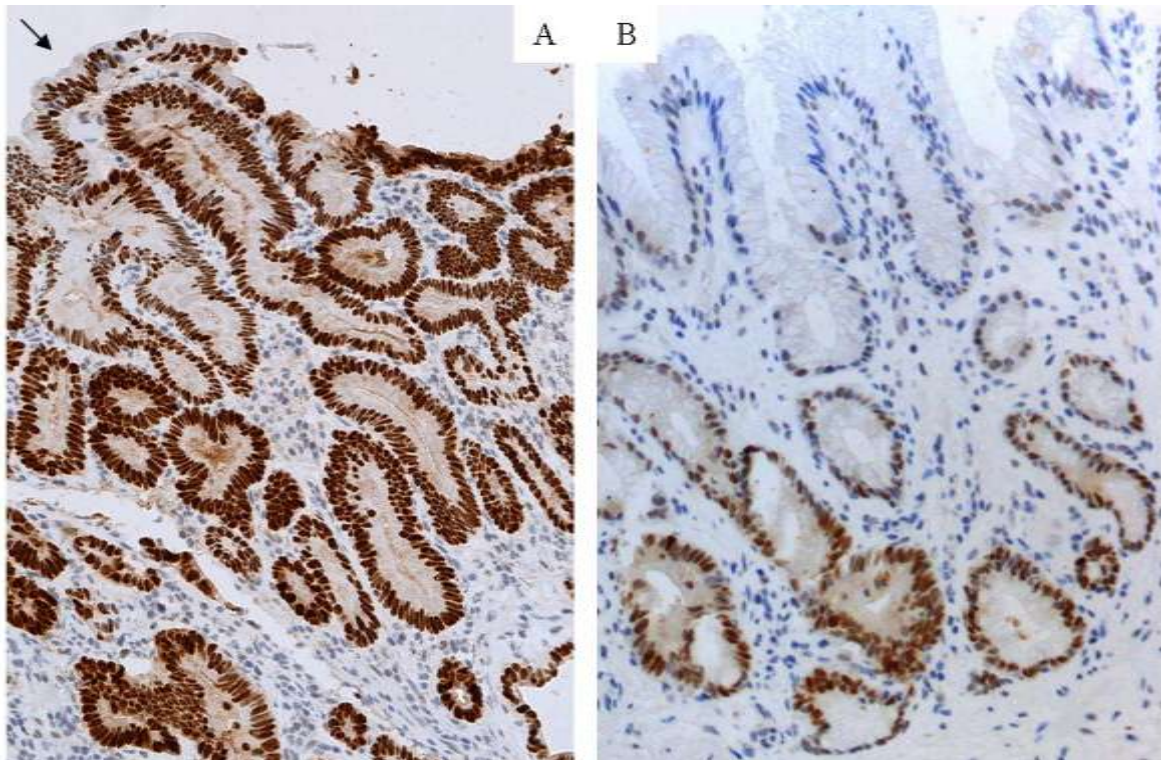
### **4.2. Groupe témoin**

Parmi les 11 témoins de DBG, 4 (36%) surexprimaient p53. Le marquage de p53 était toujours confiné au fond des cryptes.

### **4.3. Comparaison des deux groupes de DBG (tableau 7)**

La surexpression de p53 en IHC était significativement plus fréquente dans les lésions de DBG du groupe d'étude que dans le groupe témoin ( $p = 0,0014$ ). En cas de surexpression

de p53 en IHC, le marquage confiné au fond des cryptes était significativement plus fréquent dans le groupe témoin que dans le groupe d'étude ( $p = 0,0025$ ).



**Figure 16. Distribution du marquage de p53 en IHC.** A. Marquage nucléaire intense s'étendant tout le long des cryptes jusqu'à l'épithélium de surface (→) (patient 12). B. Marquage confiné au fond des cryptes (patient 15).

## 5. Mutations du gène *TP53*

Les 18 lésions de DBG et les 18 lésions de DHG – ADK du groupe d'étude, et les 11 lésions de DBG du groupe témoin ont fait l'objet d'une étude moléculaire des exons 4 à 8 du gène *TP53*.

### 5.1. Description des mutations de *TP53*

#### 5.1.1. Groupe d'étude

Dans le groupe d'étude, 26 mutations étaient détectées. La majorité des mutations étaient localisées dans les exons 5, 7 et 8, et 46% des mutations concernaient les 6 hot-spots connus de *TP53* (acides aminés 175, 245, 248, 249, 273, et 282).

Les mutations étaient des mutations faux-sens (n = 19) (Figures 18 et 19), des mutations non-sens (n = 4), des mutations d'épissage (n = 2), ou des délétions en phase (n = 1). La transition de G:C en A:T était la substitution nucléotidique la plus fréquente.

#### 5.1.2. Groupe témoin

Dans le groupe témoin, 8 mutations étaient détectées. Elles étaient localisées dans les exons 5, 7 et 8, et 25% des mutations concernaient les hot-spots. Elles étaient toutes des mutations faux-sens. La transition de G:C en A:T était la substitution nucléotidique la plus fréquente.

#### 5.1.2. Comparaison des deux groupes de DBG (tableau 7)

Les mutations de *TP53* détectées dans les lésions de DBG n'étaient pas qualitativement différentes entre le groupe d'étude et le groupe témoin.

	<b>Patients DBG</b>	<b>Patients DHG - ADK</b>	<b>Témoins DBG</b>	<b>valeur de p*</b>
	<b>n = 18</b>	<b>n = 18</b>	<b>n = 11</b>	
<b>Surexpression de p53 en IHC</b>	17 (94%)	17 (94%)	4 (36%)	p = 0,0014
dont marquage cryptique	2/17 (12%)	0	4/4 (100%)	p = 0,0025
<b>Mutations de TP53</b>				
nombre de mutations détectées	13	13	8	
site des mutations				p = 0,58
exon 4	1	0	0	
exon 5	1	3	6	
exon 6	1	0	0	
exon 7	6	4	1	
exon 8	4	6	1	
hot-spots	6 (46%)	6 (46%)	2 (25%)	p = 0,4
nature des mutations				
faux-sens	11 (85%)	8 (62%)	8 (100%)	p = 0,5
non-sens	2	2	0	
épissage	0	2	0	
délétion	0	1	0	
transitions G>A / substitutions nucléotidiques	4/13 (31%)	8/11 (73%)	4/8 (50%)	p = 0,6
nombre de cas mutés	9 (50%)	12 (67%)	6 (55%)	p = 1
<b>Concordance IHC - Mutations</b>	55%	60%	45%	p = 0,71

\* : la valeur de p était calculée en comparant les données des patients DBG et des témoins DBG

**Tableau 7. Comparaison des résultats des anomalies de p53**

## 5.2. Fréquence des mutations

### 5.2.1. Groupe d'étude

Dans le groupe d'étude, le gène *TP53* était muté dans 9 des 18 lésions de DBG (50%), et dans 12 des 18 lésions de DHG – ADK (67%).

L'évolution des mutations dans la progression néoplasique suivait 4 profils différents.

1/ Le profil mutationnel était stable : aucune mutation n'était détectée dans la lésion de DBG et dans la lésion de DHG – ADK, dans 3 cas (17%) (cas 1, 4 et 10) (tableaux 9 et 10).

2/ Le profil mutationnel était stable : des mutations étaient détectées dans les deux types de lésions, dans 6 cas (33%). Il pouvait s'agir soit des mêmes mutations (cas 7, 14 et 18), soit de mutations différentes, le plus souvent sur des exons différents (cas 2, 9 et 15). Dans le cas 7, parmi les 4 mutations détectées dans la lésion de DBG, 1 était retrouvée dans la lésion d'ADK.

3/ Le profil mutationnel était instable : des mutations étaient détectées dans la lésion de DHG - ADK, tandis qu'aucune mutation n'était retrouvée dans la lésion de DBG, dans 6 cas (33%) (cas 5, 8, 11, 13, 16 et 17). Pour 4 de ces lésions de DBG, certains exons n'avaient pu être analysés ; il n'était donc pas possible d'exclure la présence d'une mutation, non détectée, sur ces exons. Dans le cas 16, l'exon qui n'avait pu être analysé dans la lésion de DBG, était celui qui portait la mutation dans la lésion d'ADK.

4/ Le profil mutationnel était instable : des mutations étaient détectées dans la lésion de DBG, tandis qu'aucune mutation n'était retrouvée dans la lésion de DHG - ADK, dans 3 cas (17%) (cas 3, 6 et 12).

### 5.2.2. Groupe témoin

Dans le groupe témoin, le gène *TP53* était muté dans 6 des 11 lésions de DBG (55%).

### 5.2.3. Comparaison des deux groupes de DBG (tableau 7)

Il n'y avait pas de différence significative pour la fréquence des mutations de *TP53* entre les lésions de DBG du groupe d'étude et celles du groupe témoin ( $p = 1$ ).

## **6. Concordance entre la surexpression de p53 et les mutations de TP53**

### **6.1. Groupe d'étude**

Dans le groupe d'étude, le gène *TP53* était muté dans 9 des 17 lésions de DBG surexprimant p53. Aucune mutation n'était détectée dans la lésion ne surexprimant pas p53 (tableau 9). La concordance entre la surexpression de p53 en IHC et la présence de mutations de *TP53* était de 55%.

Le gène *TP53* était muté dans 11 des 17 lésions de DHG – ADK surexprimant p53, et dans la lésion ne surexprimant pas p53 (tableau 10). La concordance entre la surexpression de p53 en IHC et la présence de mutations de *TP53* était de 60%.

### **6.2. Groupe témoin**

Dans le groupe témoin, le gène *TP53* était muté dans 2 des 4 lésions de DBG surexprimant p53, et dans 4 des 7 lésions ne surexprimant pas p53 (tableau 11). La concordance était de 45%.

### **6.3. Comparaison des deux groupes de DBG (tableau 7)**

Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes pour la concordance entre la surexpression de p53 en IHC et la présence de mutations de *TP53* ( $p = 0,71$ ).

### **6.4. Concordance tous groupes confondus**

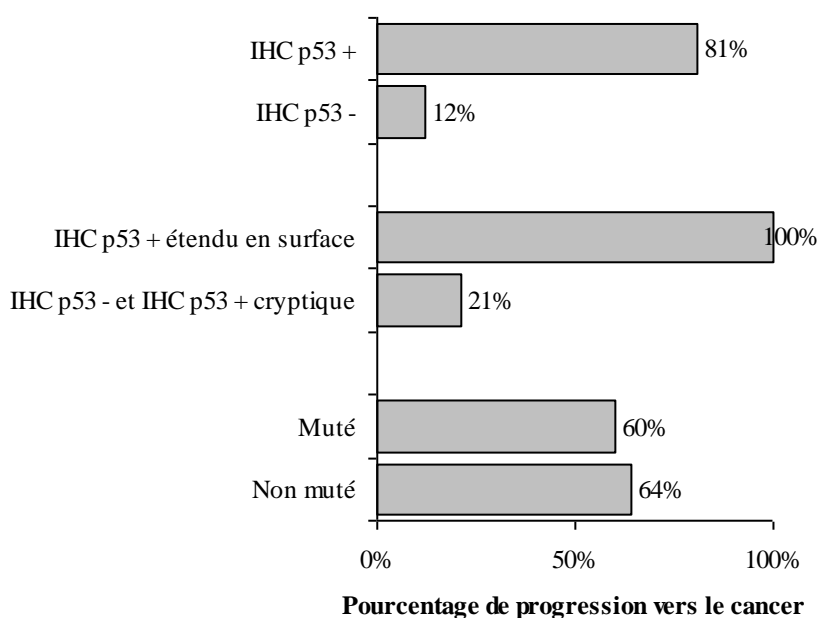
Quand on réunissait les résultats des 2 groupes, la concordance était de 55%. La surexpression de p53 en IHC et la présence de mutations de *TP53* n'étaient pas significativement associées ( $p = 1$ ).

## 7. Corrélation entre le phénotype de la dysplasie de bas grade et les anomalies de p53

Une surexpression de p53 en IHC était observée quel que soit le phénotype histologique de la DBG (type intestinal, n = 14 ; type fovéolaire, n = 3), et quel que soit l'immunophénotype des mucines (immunophénotype mixte, n = 15 ; immunophénotype fovéolaire, n = 2). Des mutations du gène *TP53* étaient détectées quel que soit le phénotype histologique de la DBG (type intestinal, n = 6 ; type fovéolaire, n = 3) et quel que soit l'immunophénotype.

## 8. Etude de la valeur prédictive de la surexpression de p53 et des mutations du gène *TP53*

Parmi les 29 patients étudiés ayant de la dysplasie de bas grade, 18 avaient évolué vers le cancer, et 11 témoins n'avaient pas d'évolution connue vers le cancer.



**Figure 17. Pourcentage des lésions de DBG ayant évolué vers le cancer selon la technique d'exploration de p53 (surexpression de p53 en IHC et mutations du gène *TP53*)**

Parmi les 21 patients ayant une DBG avec une surexpression de p53 en IHC, 17 (81%) avaient évolué vers le cancer. Parmi les 8 patients n'ayant pas de surexpression de p53 en

IHC, 1 seul (12%) avait évolué vers le cancer. La surexpression de p53 en IHC était significativement associée à une évolution vers le cancer ( $p = 0,0014$ ). La sensibilité de la surexpression de p53 en IHC pour prédire l'évolution vers le cancer était de 94% et la spécificité de 64%. La valeur prédictive positive était de 81%, et la valeur prédictive négative de 88%. Une lésion de DBG ayant une surexpression de p53 en IHC avait 2,6 plus de risque d'évoluer vers le cancer qu'en l'absence de surexpression de p53.

Quand on prenait en compte l'étendue du marquage de p53 dans les glandes, les valeurs prédictives étaient modifiées. L'étendue du marquage de p53 – marquage confiné au fond des cryptes ou étendu à l'épithélium de surface – était significativement différente entre le groupe ayant évolué vers le cancer et le groupe n'ayant pas évolué vers le cancer ( $p = 0,0025$ ). Tous les patients ayant une DBG avec une surexpression de p53 s'étendant à l'épithélium de surface avaient évolué vers le cancer ( $n = 15, 100\%$ ). Parmi les 14 patients ayant une DBG sans surexpression de p53, ou avec une surexpression de p53 confinée au fond des cryptes, 3 (21%) avaient évolué vers le cancer. La surexpression de p53 en IHC étendue à l'épithélium de surface était significativement associée à une évolution vers le cancer ( $p < 0,0001$ ). La sensibilité de la surexpression de p53 étendue à l'épithélium de surface pour prédire l'évolution vers le cancer était de 83% et la spécificité de 100%. La valeur prédictive positive était de 100%, et la valeur prédictive négative de 79%.

Parmi les 15 patients ayant des mutations de *TP53*, 9 (60%) avaient évolué vers le cancer. Parmi les 14 patients n'ayant pas de mutations de *TP53*, 9 (64%) avaient évolué vers le cancer. La présence de mutations de *TP53* dans les lésions de DBG n'était pas significativement associée à une évolution vers le cancer ( $p = 1$ ).

	Surexpression de p53 en IHC	Surexpression de p53 étendue à l'épithélium de surface	Mutations de <i>TP53</i>
valeur de p	$p = 0,0014$	$p < 0,0001$	$p = 1$
Sensibilité	94%	83%	50%
Spécificité	64%	100%	45%
VPP	81%	100%	60%
VPN	88%	79%	36%

VPP : valeur prédictive positive. VPN : valeur prédictive négative

**Tableau 8. Prédiction d'évolution vers le cancer selon la technique d'exploration de p53**



N° Patient	IHC p53	Mutations de <i>TP53</i>			
		Exon	Nucléotide	Acide Aminé	Type
1	+	-			
2	+	8	c.880G>A	p.Glu294Lys	Faux-sens
3	+	7	c.745A>G	p.Arg249Gly	Faux-sens
4	+	-			
5	+	- *			
6	+	8	c.844C>T	p.Arg282Trp	Faux-sens
		8	c.836G>A	p.Gly279Glu	Faux-sens
		4	c.109T>C	p.Ser37Pro	Faux-sens
		7	c.733G>A	p.Gly245Ser	Faux-sens
7	+	7	c.742C>T	p.Arg248Trp	Faux-sens
		7	c.745A>G	p.Arg249Gly	Faux-sens
		7	c.745A>G	p.Arg249Gly	Faux-sens
8	+	- *			
9	+	6	c.637C>T	p.Arg213X	Non-sens
10	+	- *			
11	+	-			
12	+	5	c.406C>T	p.Gln136X	Non-sens
13	+	- *			
14	+	7	c.754C>A	p.Leu252Ile	Faux-sens
15	+	7	c.746G>T	p.Arg249Met	Faux-sens
16	-	- *			
17	+	-			
18	+	8	c.841G>A	p.Asp281Asn	Faux-sens

\* : certains des exons n'ont pu être analysés

**Tableau 9. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DBG du groupe d'étude**

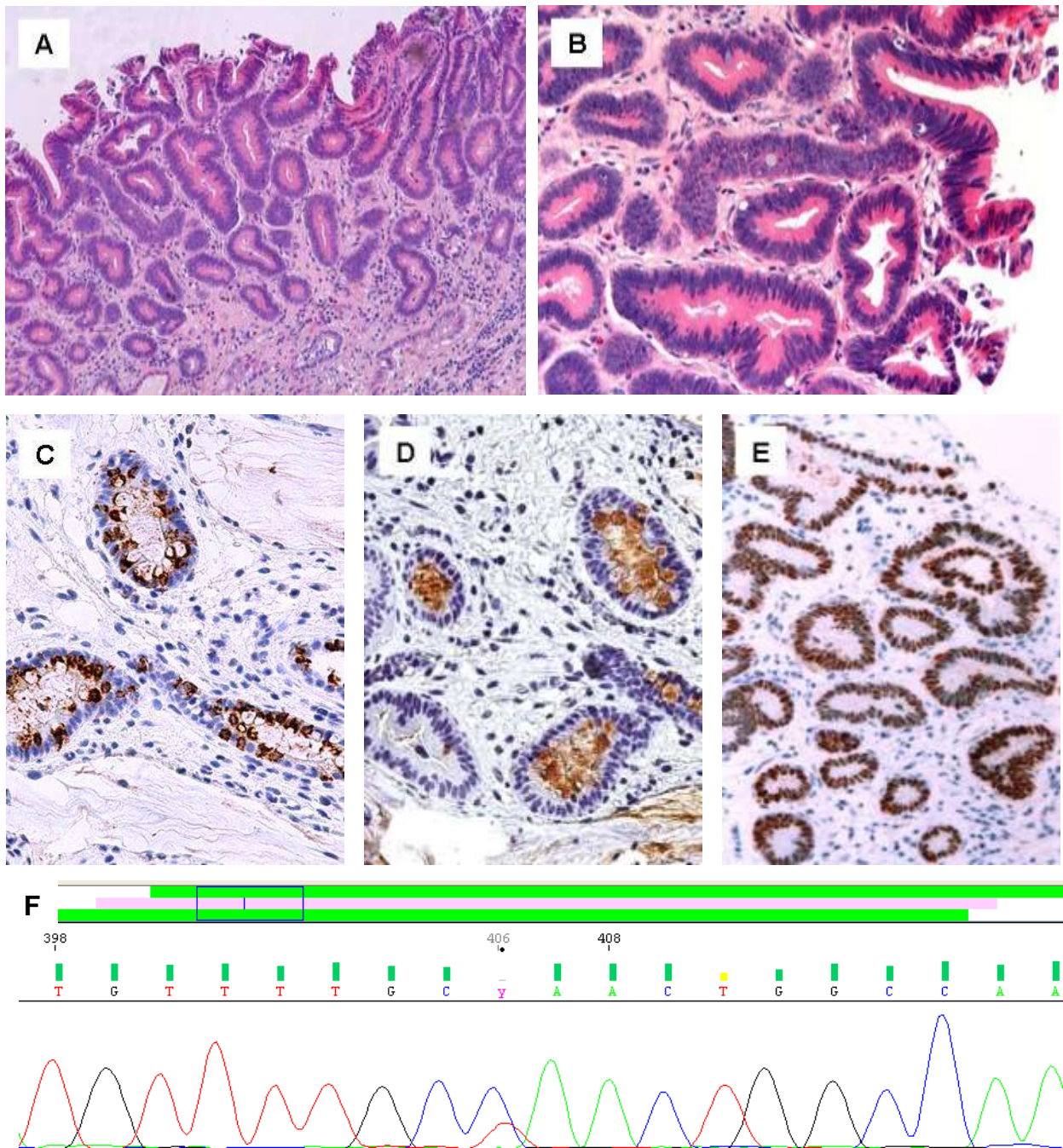
N° Patient	IHC p53	Mutations de <i>TP53</i>			
		Exon (Intron)	Nucléotide	Acide Aminé	Type
1	+	-			
2	+	( 4 )	c.376-2del	p.?	Epissage
3	+	-			
4	+	-			
5	+	8	c.817C>T	p.Arg273Cys	Faux-sens
6	+	-			
7	+	7	c.733G>A	p.Gly245Ser	Faux-sens
		8	c.916C>T	p.Arg306X	Non-sens
8	+	7	c.725G>A	p.Cys242Tyr	Faux-sens
9	+	( 4 )	c.376-1G>A	p.?	Epissage
10	+	-			
11	+	8	c.818G>A	p.Arg273His	Faux-sens
12	+	-			
13	+	5	c.524G>A	p.Arg175His	Faux-sens
14	+	7	c.755_763del	p.Ile254_Thr256del	Délétion en phase
15	+	8	c.818G>A	p.Arg273His	Faux-sens
16	-	8	c.880G>T	p.Glu294X	Non-sens
17	+	7	c.733G>A	p.Gly245Ser	Faux-sens
18	+	8	c.841G>A	p.Asp281Asn	Faux-sens

Tableau 10. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DHG – ADK du groupe d'étude

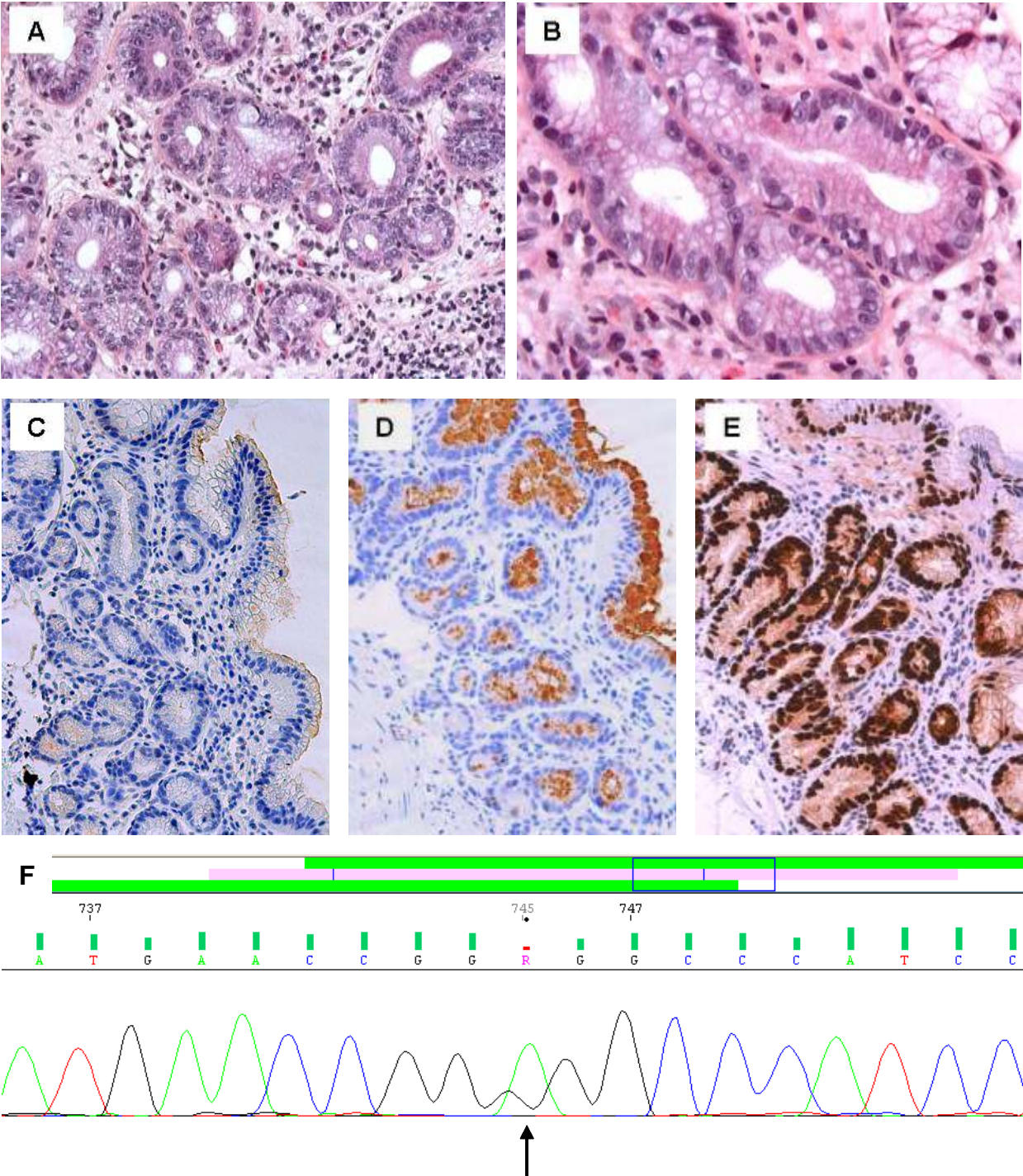
N° Témoïn	IHC p53	Mutations de <i>TP53</i>			
		Exon	Nucléotide	Acide Aminé	Type
T1	-	5	c.425C>A	p.Pro142His	Faux-sens
		5	c.473G>A	p.Arg158His	Faux-sens
T2	-	-			
T3	-	5	c.399G>A	p.Met133Ile	Faux-sens
		7	c.742C>T	p.Arg248Trp	Faux-sens
T4	+	- *			
T5	-	-			
T6	-	5	c.386C>T	p.Ala129Val	Faux-sens
T7	+	- *			
T8	-	8	c.796G>A	p.Gly266Arg	Faux-sens
T9	-	-			
T10	+	5	c.524G>A	p.Arg175His	Faux-sens
T11	+	5	c.535C>T	p.His179Tyr	Faux-sens

\* : certains des exons n'ont pu être analysés

**Tableau 11. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DBG du groupe témoïn**



**Figure 18. Patient 12.** A (HPS x100) et B (HPS x200) : lésions de dysplasie de bas grade de type intestinal. On observe une pluristratification nucléaire restant disposée au pôle basal des cellules, et s'étendant jusqu'à l'épithélium de surface ; les noyaux sont allongés, effilés, et hyperchromatiques. C (MUC2 x400) et D (MUC5AC x400) : immunophénotype mixte. Les cellules mucosécrétantes expriment MUC2 et MUC5AC. E (p53 x200) : surexpression nucléaire de p53. F (logiciel SeqScape) : présence d'une mutation du gène *TP53* au nucléotide 406 dans l'exon 5 ; transition de C en T (→).



**Figure 19. Patient 3.** A (HPS x200) et B (HPS x400) : lésions de dysplasie de bas grade de type fovéolaire. Les glandes sont petites et rapprochées. Il n’y a pas de pluristratification nucléaire. Les noyaux sont situés au pôle basal des cellules, arrondis, et parfois nucléolés. C (MUC2 x200) et D (MUC5AC x200) : immunophénotype fovéolaire. Les cellules mucosécrétantes sont MUC2- et MUC5AC+. E (p53 x200) : surexpression nucléaire de p53 étendue à l’épithélium de surface. F (logiciel SeqScape) : présence d’une mutation du gène *TP53* au nucléotide 745 dans l’exon 7 ; transition de A en G (→).

## **DISCUSSION**

Notre étude a exploré la valeur de la surexpression de p53 en immunohistochimie et des mutations de *TP53* pour prédire la progression néoplasique des lésions de DBG développées sur endobrachyœsophage. Il s'agit de la première étude longitudinale cas - témoin explorant la valeur prédictive des mutations de *TP53* dans l'endobrachyœsophage. Cette étude montre que la surexpression de p53 en immunohistochimie a une meilleure valeur prédictive de l'évolution des DBG sur endobrachyœsophage vers l'adénocarcinome que la recherche des mutations de *TP53*. La concordance entre la surexpression de p53 en immunohistochimie et la détection des mutations de *TP53* est faible, suggérant l'intervention d'autres mécanismes d'inactivation de p53 au cours de la progression des lésions néoplasiques de l'endobrachyœsophage surexprimant p53. L'inactivation de p53 est indépendante du phénotype histologique ou de l'immunophénotype des mucines de la DBG.

Les caractéristiques cliniques des patients inclus dans les 2 groupes de cette étude cas - témoin n'étaient pas différentes, notamment en termes d'âge et de sexe. Il apparaissait aussi que la longueur moyenne de la muqueuse de Barrett mesurée en endoscopie était la même dans les 2 groupes de patients. Plusieurs études ayant montré que le risque de développer un cancer variait directement avec l'étendue de l'endobrachyœsophage [37-40], on aurait pu s'attendre à ce que la muqueuse de Barrett soit plus longue chez les patients ayant un cancer que chez les témoins en DBG.

Les résultats de notre étude sont limités par leur caractère rétrospectif. La cohorte d'étude de 18 patients n'était pas très importante, mais pour une étude longitudinale il s'agit d'une cohorte de taille comparable à celles examinées dans la littérature. En fait, la limite principale de cette étude est la population témoin de patients atteints de DBG n'ayant pas évolué vers un cancer, qui est en nombre encore insuffisant pour une réelle étude cas - contrôle. La constitution d'un tel groupe témoin s'avère difficile car le diagnostic de DBG est peu reproductible. La DBG est en particulier difficile à distinguer des aspects régénératifs associés à l'inflammation de l'endobrachyoesophage [140, 141]. Dans notre étude, cet écueil a été atténué par la relecture des cas par deux pathologistes, dont l'un était expert en pathologie digestive, ce qui est connu pour diminuer le risque de diagnostic erroné [153]. L'enrichissement de notre cohorte est toutefois nécessaire pour assurer le résultat de notre étude.

Cette étude longitudinale cas-témoin est la première comparant l'évolution des mutations de *TP53* dans des cohortes de patients atteints d'endobrachyœsophage avec DBG ayant évolué

vers un cancer et de patients atteints d'endobrachyœsophage avec DBG n'ayant pas évolué vers un cancer. Cette étude a pu être menée à bien car les techniques d'extraction d'ADN et de séquençage des exons 4 à 8, siège des « hot spots » de mutation de *TP53* dans les tumeurs œsophagiennes sur endobrachyœsophage, ont été développées à partir de biopsies ou de mucosectomies fixées dans le formol et incluses en paraffine. Cette étude a bénéficié aussi de la surveillance longitudinale des patients suivis au CHU de Nantes, qui inclut systématiquement la réalisation de prélèvements réguliers selon des protocoles stricts (protocole de Seattle).

Dans cette étude, p53 a été exploré dans les lésions de DBG sur endobrachyœsophage à l'échelon protéique par la recherche d'une surexpression en immunohistochimie, et à l'échelon génétique par la recherche des mutations du gène *TP53*, dans le but d'évaluer le meilleur biomarqueur de progression vers le cancer. Dans notre étude, la surexpression de p53 en immunohistochimie avait une meilleure valeur prédictive que les mutations de *TP53* pour prédire l'évolution vers le cancer des DBG. Ce résultat était assez inattendu car la surexpression de p53 a souvent été considérée comme un marqueur indirect des mutations de *TP53*, elles-mêmes considérées comme la référence d'étude de l'inactivation de p53 [181].

Dans notre étude la prévalence des mutations de *TP53* était de 52% dans les lésions de DBG et de 67% dans les lésions de DHG - ADK. La prévalence des mutations de *TP53* que nous avons observée dans les lésions de DBG est nettement plus élevée que celle rapportée dans d'autres articles qui décrivent une prévalence des mutations de *TP53* variant de 0 à 31% dans les lésions de DBG sur endobrachyœsophage [109, 207, 223, 229, 237, 238]. La recherche des mutations dans ces travaux étaient faites avec des techniques comparables à la nôtre mais dans des cohortes de patients nettement moindres.

La valeur prédictive de la LOH de 17p et des mutations de *TP53* n'a été évaluée que dans 2 études [181, 207]. L'étude s'intéressant aux mutations de *TP53* était limitée par un très faible nombre de lésions mutées analysées [207]. Dans notre étude, nous avons comparé les taux de mutations entre 18 DBG ayant une évolution connue vers le cancer, et 11 DBG témoins sans évolution connue vers le cancer. Les taux de mutations obtenus n'étaient pas significativement différents entre les 2 groupes (50% vs 55% ;  $p = 1$ ). Pour prédire l'évolution vers le cancer, la valeur prédictive positive des mutations de *TP53* n'était que de 60%. A notre connaissance, aucune étude n'avait analysé la prédiction d'évolution vers le cancer des mutations de *TP53* dans une cohorte de lésions de DBG de cette taille.



La surexpression de p53 en immunohistochimie comme marqueur de prédiction d'évolution vers le cancer a été plus souvent étudiée dans l'endobrachyœsophage. Dans les études, la surexpression de p53 en immunohistochimie était souvent considérée comme un témoin indirect du statut mutationnel de *TP53*. Une prévalence plus faible de la surexpression de p53 est parfois rapportée. Kubba et coll. la rapportent dans 23,6% des DBG sur endobrachyœsophage et dans 63,4% des adénocarcinomes de Barrett [227]. Cependant, des taux semblables aux nôtres sont souvent rapportés dans la littérature [201, 232, 239, 240]. Dans notre étude, la surexpression de p53 en immunohistochimie dans les lésions de DBG était significativement associée à la progression vers le cancer, car les patients atteints de DBG ayant évolué vers un cancer présentaient une surexpression plus fréquente et souvent plus étendue que les patients atteints de DBG n'ayant pas évolué vers le cancer ( $p = 0,0014$ ). Pour prédire l'évolution vers le cancer, la surexpression de p53 en immunohistochimie avait une valeur prédictive positive de 81%, et une valeur prédictive négative de 88%. Nous retrouvons des résultats semblables aux études rétrospectives antérieures. Dans les études de Skacel *et al.* portant sur des lésions de DBG, et dans l'étude de Gimenez *et al.* portant sur des lésions de DBG indéfinie, les valeurs prédictives positives étaient respectivement de 88% et 80%, et les valeurs prédictives négatives de 75% et 82% [232, 235]. Dans les études prospectives, les valeurs prédictives positives étaient plus basses, de 30 à 56%, et les valeurs prédictives négatives plus élevées, de 87 à 100% [226, 233, 234]. Par ailleurs, dans la plupart des études, l'analyse immunohistochimique de p53 avait des meilleures valeurs prédictives que la détection histologique de la DBG [226, 232, 234, 235]. L'analyse immunohistochimique présente également l'avantage d'être une technique facile, rapide et économique. Ainsi certains auteurs ont suggéré que les patients ayant une DBG avec une surexpression de p53 devraient être surveillés de façon plus étroite que les patients ayant une DBG sans surexpression de p53 [226].

Dans certains cas de DBG, la surexpression de p53 était observée exclusivement au fond des cryptes de la muqueuse d'endobrachyœsophage avec DBG, sans marquage de l'épithélium de surface. Cet aspect de la surexpression de p53 était observé dans 12% des DBG avec une évolution vers le cancer et 100% des patients sans évolution vers le cancer. Cette observation rejoint les données récentes de la littérature qui suggèrent que la dysplasie sur endobrachyœsophage se développerait à partir du fond des cryptes et s'étendrait ensuite vers la surface [142, 143]. Ces données soulignent l'importance de la perte de la maturation de surface dans la progression néoplasique, qui classiquement permettait de distinguer la

DBG des atypies de régénération. Des observations comparables ont été décrites avec les marqueurs de la prolifération cellulaire tels que le Ki67 et la PCNA [18, 240, 241]. Le marquage du Ki67 était situé plus souvent au fond des cryptes dans les lésions de métaplasie et de DBG, tandis que le marquage s'étendait plus souvent à l'épithélium de surface dans les lésions de DHG et d'ADK [18]. Dans notre étude, en ne tenant compte que de la surexpression de p53 étendue à l'épithélium de surface, et en excluant l'immunomarquage confiné au fond des cryptes, la spécificité de la surexpression de p53 pour prédire l'évolution vers le cancer était nettement améliorée, et passait de 64% à 100%. En revanche, la sensibilité était sensiblement diminuée. De même la valeur prédictive positive passait à 100% et la valeur prédictive négative était sensiblement diminuée. A notre connaissance, ce critère de prédiction n'avait jamais été étudié auparavant. Cependant la concordance de l'appréciation de ce critère entre les pathologistes était bonne, car il était facile de déterminer si le marquage était exclusivement cryptique ou étendu à l'épithélium de surface. Notre étude montre donc que lorsqu'on interprète l'immunomarquage de p53 en ne tenant compte que du marquage étendu à l'épithélium de surface, on améliore la spécificité de la surexpression de p53 en immunohistochimie pour prédire l'évolution vers le cancer. Avec une spécificité à 100%, la surexpression de p53 pourrait devenir un biomarqueur utilisable en routine.

Dans notre étude, 11% des lésions de DBG avaient un aspect histologique et un immunophénotype de dysplasie fovéolaire. Elles étaient associées à une surexpression de p53 en immunohistochimie et à la présence de mutations de *TP53*. L'étude du statut mutationnel de *TP53* n'a jamais été effectuée dans les dysplasies fovéolaires de l'endobranchyœsophage. Notre étude montre que les mutations de *TP53* ne sont pas exclusives d'un type histologique particulier de la DBG, et qu'elles peuvent survenir aussi bien dans les dysplasies de type intestinal que dans les dysplasies de type fovéolaire.

Dans notre étude, la surexpression de p53 en immunohistochimie observée dans les lésions de DBG persistait dans les lésions appariées de DHG - ADK. Au contraire la présence des mutations de *TP53* et leur type variaient d'une lésion néoplasique à l'autre chez un même patient. La variation du profil mutationnel au cours de la progression des lésions néoplasiques sur endobranchyœsophage est rarement rapportée dans la littérature. Dans la plupart des études, les mutations de *TP53* n'étaient recherchées dans les lésions dysplasiques que si elles étaient préalablement détectées dans l'adénocarcinome sur endobranchyœsophage du même patient [223, 242]. Néanmoins, trois autres études rapportent des variations mutationnelles de *TP53*

avec la progression néoplasique des lésions [132, 206, 229]. Par exemple, dans l'étude de Casson *et al.*, la mutation de *TP53* était retrouvée dans 4 lésions d'endobrachyœsophage sans dysplasie, appariées à 7 adénocarcinomes sans mutation de *TP53* [132]. Cette instabilité mutationnelle suggère l'existence d'une hétérogénéité clonale ou d'un mosaïcisme probable des lésions néoplasiques développées sur endobrachyœsophage. D'autres études décrivent des phénomènes de divergence génétique et l'évolution clonale complexe des adénocarcinomes sur endobrachyœsophage [130, 131]. En ce sens, il semble difficile que les mutations de *TP53* puissent servir de biomarqueur exclusif pour prédire l'évolution vers le cancer. Ces données sont renforcées par les résultats de notre étude dans laquelle les mutations de *TP53* ne prédisaient l'évolution vers le cancer que dans 60% des lésions de DBG.

Le site et la nature des mutations détectées dans cette étude se superposaient à ceux décrits dans la littérature. La majorité des mutations étaient localisées dans les exons 5, 7 et 8, et principalement dans les 6 hot-spots connus de *TP53*, correspondant aux acides aminés 175, 245, 248, 249, 273, et 282 [194]. La majorité des mutations étaient des mutations faux-sens, et plus particulièrement des transitions de G:C en A:T, suggérant le caractère spontané des mutations de *TP53* survenant dans l'endobrachyœsophage. Par ailleurs, seules 2 transversions de G:C en T:A étaient détectées, supportant les conclusions d'autres études, à savoir que le tabac ne serait pas impliqué dans la carcinogenèse de l'endobrachyœsophage contrairement au carcinome épidermoïde de l'œsophage [209, 228].

Notre étude montre une faible concordance entre la surexpression de p53 en immunohistochimie et la détection des mutations de *TP53* dans les lésions néoplasiques sur endobrachyœsophage. Cette faible concordance a été rapportée par de nombreuses études [209]. Dans notre étude, cette faible concordance était principalement due aux faux positifs, c'est-à-dire des lésions surexprimant p53 en immunohistochimie en l'absence de mutation de *TP53* détectée. Comme les exons du gène *TP53* n'ont pas tous été séquencés, il est possible que des mutations présentes sur d'autres exons n'aient pas été détectées. Néanmoins, d'après les connaissances actuelles, les mutations de *TP53* situées en-dehors des exons 4 à 8 sont rares et elles ne pourraient pas suffire à expliquer tous les faux positifs obtenus dans notre étude [211]. L'observation de ces faux positifs suggère donc que les mutations faux-sens de *TP53* n'expliquent pas toutes les inactivations de p53 dans les lésions néoplasiques sur endobrachyœsophage. D'autres mécanismes d'inactivation doivent intervenir, expliquant la stabilisation de la protéine p53 dans le noyau et sa détection en immunohistochimie.

Peu de mécanismes alternatifs sont rapportés dans le contexte des lésions néoplasiques sur endobranchyœsophage. Les virus HPV ne semblent pas être impliqués dans l'endobranchyœsophage. La perte d'expression de la protéine p14(ARF) pourrait être un mécanisme alternatif d'inactivation de p53 [217, 243]. Une étude a détecté la réduction significative de l'expression de cette protéine dans 75% des adénocarcinomes de Barrett, suggérant qu'elle serait également impliquée dans la carcinogenèse de l'endobranchyœsophage [244]. Dans des études portant sur des lésions néoplasiques d'autres organes, il a été montré que l'amplification de *mdm2* et la surexpression de *mdm2* en immunohistochimie étaient souvent associées à une surexpression de p53 en l'absence de mutation de *TP53* [245-249]. Dans ces cas, le complexe p53-mdm2 n'était pas dégradé et s'accumulait dans le noyau. L'amplification de *mdm2* pourrait donc représenter un autre mécanisme alternatif d'inactivation de p53, facilitant la stabilisation de la protéine. L'amplification de *mdm2* a été rarement recherchée dans l'endobranchyœsophage, et dans ces rares études sa prévalence était très faible comparée à celle des mutations de *TP53* [250, 251].

Tous ces mécanismes alternatifs ont été peu étudiés dans l'endobranchyœsophage, car il est généralement admis que la mutation faux-sens de *TP53* représente le mécanisme d'inactivation de p53 dans l'endobranchyœsophage. Notre étude suggère que les mutations faux-sens de *TP53* ne sont pas si fréquentes, et justifie un peu plus l'exploration de ces voies alternes d'inactivation de p53 au cours de la progression des lésions néoplasiques sur endobranchyœsophage.

En conclusion, la surexpression de p53 en immunohistochimie a une meilleure valeur prédictive que les mutations de *TP53* pour prédire l'évolution vers le cancer des lésions de DBG développées sur endobranchyœsophage. La surexpression de p53 a une excellente valeur prédictive, surtout quand elle atteint l'épithélium de surface. Elle pourrait servir en routine de biomarqueur prédictif d'évolution péjorative. La faible concordance entre la surexpression de p53 en immunohistochimie et la détection des mutations de *TP53* suggère qu'il existe d'autres mécanismes d'inactivation de p53 dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage. Les mutations de *TP53* ne devraient plus être considérées comme le gold-standard pour étudier p53 dans l'endobranchyœsophage. Les voies alternes d'inactivation de p53 sont peu connues dans l'endobranchyœsophage, et mériteraient d'être explorées. Comme *mdm2* est le principal régulateur de p53, nous pensons que l'exploration de la surexpression de *mdm2*, notamment par amplification de son gène, est une bonne piste.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Allison PR and Johnstone AS. *The oesophagus lined with gastric mucous membrane*. Thorax 1953; 8: p.87-101.
2. Moersch RN, Ellis FH, Jr., and Mc DJ. *Pathologic changes occurring in severe reflux esophagitis*. Surg Gynecol Obstet 1959; 108: p.476-84.
3. Naef AP, Savary M, and Ozzello L. *Columnar-lined lower esophagus: an acquired lesion with malignant predisposition. Report on 140 cases of Barrett's esophagus with 12 adenocarcinomas*. J Thorac Cardiovasc Surg 1975; 70: p.826-35.
4. Haggitt RC, Tryzelaar J, Ellis FH, et al. *Adenocarcinoma complicating columnar epithelium-lined (Barrett's) esophagus*. Am J Clin Pathol 1978; 70: p.1-5.
5. Bremner CG, Lynch VP, and Ellis FH, Jr. *Barrett's esophagus: congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosal regeneration in the dog*. Surgery 1970; 68: p.209-16.
6. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, et al. *The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus*. Am J Gastroenterol 2006; 101: p.1900-20.
7. Stein HJ, Barlow AP, DeMeester TR, et al. *Complications of gastroesophageal reflux disease. Role of the lower esophageal sphincter, esophageal acid and acid/alkaline exposure, and duodenogastric reflux*. Ann Surg 1992; 216: p.35-43.
8. Fein M, Ireland AP, Ritter MP, et al. *Duodenogastric reflux potentiates the injurious effects of gastroesophageal reflux*. J Gastrointest Surg 1997; 1: p.27-32; discussion 33.
9. Locke GR, 3rd, Talley NJ, Fett SL, et al. *Prevalence and clinical spectrum of gastroesophageal reflux: a population-based study in Olmsted County, Minnesota*. Gastroenterology 1997; 112: p.1448-56.
10. McDougall NI, Johnston BT, Kee F, et al. *Natural history of reflux oesophagitis: a 10 year follow up of its effect on patient symptomatology and quality of life*. Gut 1996; 38: p.481-6.
11. Winters C, Jr., Spurling TJ, Chobanian SJ, et al. *Barrett's esophagus. A prevalent, occult complication of gastroesophageal reflux disease*. Gastroenterology 1987; 92: p.118-24.
12. Skinner DB, Walther BC, Riddell RH, et al. *Barrett's esophagus. Comparison of benign and malignant cases*. Ann Surg 1983; 198: p.554-65.
13. Oberg S, DeMeester TR, Peters JH, et al. *The extent of Barrett's esophagus depends on the status of the lower esophageal sphincter and the degree of esophageal acid exposure*. J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 117: p.572-80.
14. Campos GM, DeMeester SR, Peters JH, et al. *Predictive factors of Barrett esophagus: multivariate analysis of 502 patients with gastroesophageal reflux disease*. Arch Surg 2001; 136: p.1267-73.

15. Eloubeidi MA and Provenzale D. *Clinical and demographic predictors of Barrett's esophagus among patients with gastroesophageal reflux disease: a multivariable analysis in veterans*. J Clin Gastroenterol 2001; 33: p.306-9.
16. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, et al. *Hiatal hernia and acid reflux frequency predict presence and length of Barrett's esophagus*. Dig Dis Sci 2002; 47: p.256-64.
17. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, et al. *American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus*. Gastroenterology 2011; 140: p.1084-91.
18. Hong MK, Laskin WB, Herman BE, et al. *Expansion of the Ki-67 proliferative compartment correlates with degree of dysplasia in Barrett's esophagus*. Cancer 1995; 75: p.423-9.
19. Nancarrow DJ, Clouston AD, Smithers BM, et al. *Whole Genome Expression Array Profiling Highlights Differences in Mucosal Defense Genes in Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma*. PLoS One 2011; 6: p.e22513.
20. Hayward J. *The lower end of the oesophagus*. Thorax 1961; 16: p.36-41.
21. Gillen P, Keeling P, Byrne PJ, et al. *Experimental columnar metaplasia in the canine oesophagus*. Br J Surg 1988; 75: p.113-5.
22. Salo JA, Kivilaakso EO, Kiviluoto TA, et al. *Cytokeratin profile suggests metaplastic epithelial transformation in Barrett's oesophagus*. Ann Med 1996; 28: p.305-9.
23. Bateson MC, Hopwood D, Milne G, et al. *Oesophageal epithelial ultrastructure after incubation with gastrointestinal fluids and their components*. J Pathol 1981; 133: p.33-51.
24. Jankowski JA, Wright NA, Meltzer SJ, et al. *Molecular evolution of the metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence in the esophagus*. Am J Pathol 1999; 154: p.965-73.
25. Leedham SJ, Preston SL, McDonald SA, et al. *Individual crypt genetic heterogeneity and the origin of metaplastic glandular epithelium in human Barrett's oesophagus*. Gut 2008; 57: p.1041-8.
26. Sarosi G, Brown G, Jaiswal K, et al. *Bone marrow progenitor cells contribute to esophageal regeneration and metaplasia in a rat model of Barrett's esophagus*. Dis Esophagus 2008; 21: p.43-50.
27. Zhang HY, Spechler SJ, and Souza RF. *Esophageal adenocarcinoma arising in Barrett esophagus*. Cancer Lett 2009; 275: p.170-7.
28. Chen X, Qin R, Liu B, et al. *Multilayered epithelium in a rat model and human Barrett's esophagus: similar expression patterns of transcription factors and differentiation markers*. BMC Gastroenterol 2008; 8: p.1.
29. Fitzgerald RC, Omary MB, and Triadafilopoulos G. *Dynamic effects of acid on Barrett's esophagus. An ex vivo proliferation and differentiation model*. J Clin Invest 1996; 98: p.2120-8.
30. Oh DS and Demeester SR. *Pathophysiology and treatment of Barrett's esophagus*. World J Gastroenterol 2010; 16: p.3762-72.

31. Hu Y, Jones C, Gellersen O, et al. *Pathogenesis of Barrett esophagus: deoxycholic acid up-regulates goblet-specific gene MUC2 in concert with CDX2 in human esophageal cells*. Arch Surg 2007; 142: p.540-4; discussion 544-5.
32. *A report of the Working Party of the British Society of Gastroenterology* (en ligne). 2005. Disponible sur: <http://www.bsg.org.uk> (consulté le 2 Mai 2011).
33. Flejou JF. *Barrett's oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer*. Gut 2005; 54 Suppl 1: p.i6-12.
34. Boyer J, Laugier R, Chemali M, et al. *French Society of Digestive Endoscopy SFED guideline: monitoring of patients with Barrett's esophagus*. Endoscopy 2007; 39: p.840-2.
35. Wang KK and Sampliner RE. *Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus*. Am J Gastroenterol 2008; 103: p.788-97.
36. Heresbach D, Napoléon B, Delchier JC, et al. *Recommandations de la SFED; Consensus en Endoscopie Digestive (CED); Indications des biopsies digestives au cours de la fibroscopie ou du dépistage des néoplasies oeso-gastro-duodénales* Acta Endoscopica 2009; 39: p.206-211.
37. Weston AP, Krmopotich PT, Cherian R, et al. *Prospective long-term endoscopic and histological follow-up of short segment Barrett's esophagus: comparison with traditional long segment Barrett's esophagus*. Am J Gastroenterol 1997; 92: p.407-13.
38. Hirota WK, Loughney TM, Lazas DJ, et al. *Specialized intestinal metaplasia, dysplasia, and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data*. Gastroenterology 1999; 116: p.277-85.
39. Avidan B, Sonnenberg A, Schnell TG, et al. *Hiatal hernia size, Barrett's length, and severity of acid reflux are all risk factors for esophageal adenocarcinoma*. Am J Gastroenterol 2002; 97: p.1930-6.
40. Gopal DV, Lieberman DA, Magaret N, et al. *Risk factors for dysplasia in patients with Barrett's esophagus (BE): results from a multicenter consortium*. Dig Dis Sci 2003; 48: p.1537-41.
41. Menke-Pluymers MB, Hop WC, Dees J, et al. *Risk factors for the development of an adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett) esophagus. The Rotterdam Esophageal Tumor Study Group*. Cancer 1993; 72: p.1155-8.
42. Sharma P, Dent J, Armstrong D, et al. *The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett's esophagus: the Prague C & M criteria*. Gastroenterology 2006; 131: p.1392-9.
43. Paull A, Trier JS, Dalton MD, et al. *The histologic spectrum of Barrett's esophagus*. N Engl J Med 1976; 295: p.476-80.
44. Rothery GA, Patterson JE, Stoddard CJ, et al. *Histological and histochemical changes in the columnar lined (Barrett's) oesophagus*. Gut 1986; 27: p.1062-8.
45. Peuchmaur M, Potet F, and Goldfain D. *Mucin histochemistry of the columnar epithelium of the oesophagus (Barrett's oesophagus): a prospective biopsy study*. J Clin Pathol 1984; 37: p.607-10.

46. Chandrasoma PT, Der R, Dalton P, et al. *Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus*. Am J Surg Pathol 2001; 25: p.1188-93.
47. Bezahler GH. *Mucosal patterns in Barrett's metaplasia*. Hum Pathol 1983; 14: p.1093.
48. Thompson JJ, Zinsser KR, and Enterline HT. *Barrett's metaplasia and adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction*. Hum Pathol 1983; 14: p.42-61.
49. Chatelain D and Flejou JF. *High-grade dysplasia and superficial adenocarcinoma in Barrett's esophagus: histological mapping and expression of p53, p21 and Bcl-2 oncoproteins*. Virchows Arch 2003; 442: p.18-24.
50. Weinstein WM and Ippoliti AF. *The diagnosis of Barrett's esophagus: goblets, goblets, goblets*. Gastrointest Endosc 1996; 44: p.91-5.
51. Takubo K, Aida J, Naomoto Y, et al. *Cardiac rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma*. Hum Pathol 2009; 40: p.65-74.
52. Chen YY, Wang HH, Antonioli DA, et al. *Significance of acid-mucin-positive nongoblet columnar cells in the distal esophagus and gastroesophageal junction*. Hum Pathol 1999; 30: p.1488-95.
53. Jass JR. *Mucin histochemistry of the columnar epithelium of the oesophagus: a retrospective study*. J Clin Pathol 1981; 34: p.866-70.
54. Jass JR and Filipe MI. *Sulphomucins and precancerous lesions of the human stomach*. Histopathology 1980; 4: p.271-9.
55. Sipponen P, Seppala K, Varis K, et al. *Intestinal metaplasia with colonic-type sulphomucins in the gastric mucosa; its association with gastric carcinoma*. Acta Pathol Microbiol Scand A 1980; 88: p.217-24.
56. Guyonnet Duperat V, Audie JP, Debailleul V, et al. *Characterization of the human mucin gene MUC5AC: a consensus cysteine-rich domain for 11p15 mucin genes?* Biochem J 1995; 305 ( Pt 1): p.211-9.
57. Allen A, Hutton DA, and Pearson JP. *The MUC2 gene product: a human intestinal mucin*. Int J Biochem Cell Biol 1998; 30: p.797-801.
58. Guillem P, Billeret V, Buisine MP, et al. *Mucin gene expression and cell differentiation in human normal, premalignant and malignant esophagus*. Int J Cancer 2000; 88: p.856-61.
59. Arul GS, Moorghen M, Myerscough N, et al. *Mucin gene expression in Barrett's oesophagus: an in situ hybridisation and immunohistochemical study*. Gut 2000; 47: p.753-61.
60. Chang SK, Dohrman AF, Basbaum CB, et al. *Localization of mucin (MUC2 and MUC3) messenger RNA and peptide expression in human normal intestine and colon cancer*. Gastroenterology 1994; 107: p.28-36.
61. Van Klinken BJ, Dekker J, Buller HA, et al. *Biosynthesis of mucins (MUC2-6) along the longitudinal axis of the human gastrointestinal tract*. Am J Physiol 1997; 273: p.G296-302.



62. Warson C, Van De Bovenkamp JH, Korteland-Van Male AM, et al. *Barrett's esophagus is characterized by expression of gastric-type mucins (MUC5AC, MUC6) and TFF peptides (TFF1 and TFF2), but the risk of carcinoma development may be indicated by the intestinal-type mucin, MUC2.* Hum Pathol 2002; 33: p.660-8.
63. Chaves P, Cruz C, Dias Pereira A, et al. *Gastric and intestinal differentiation in Barrett's metaplasia and associated adenocarcinoma.* Dis Esophagus 2005; 18: p.383-7.
64. Reis CA, David L, Correa P, et al. *Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression.* Cancer Res 1999; 59: p.1003-7.
65. Phillips RW, Frierson HF, Jr., and Moskaluk CA. *Cdx2 as a marker of epithelial intestinal differentiation in the esophagus.* Am J Surg Pathol 2003; 27: p.1442-7.
66. McIntire MG, Soucy G, Vaughan TL, et al. *MUC2 is a highly specific marker of goblet cell metaplasia in the distal esophagus and gastroesophageal junction.* Am J Surg Pathol 2011; 35: p.1007-13.
67. Spechler SJ and Goyal RK. *The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia, and Norman Barrett.* Gastroenterology 1996; 110: p.614-21.
68. Wallner B. *Endoscopically defined gastroesophageal junction coincides with the anatomical gastroesophageal junction.* Surg Endosc 2009; 23: p.2155-8.
69. Huang Q. *Definition of the esophagogastric junction: a critical mini review.* Arch Pathol Lab Med 2010; 135: p.384-9.
70. Chandrasoma P. *Pathophysiology of Barrett's esophagus.* Semin Thorac Cardiovasc Surg 1997; 9: p.270-8.
71. Oberg S, Peters JH, DeMeester TR, et al. *Inflammation and specialized intestinal metaplasia of cardiac mucosa is a manifestation of gastroesophageal reflux disease.* Ann Surg 1997; 226: p.522-30; discussion 530-2.
72. Chandrasoma P, Makarewicz K, Wickramasinghe K, et al. *A proposal for a new validated histological definition of the gastroesophageal junction.* Hum Pathol 2006; 37: p.40-7.
73. Kilgore SP, Ormsby AH, Gramlich TL, et al. *The gastric cardia: fact or fiction?* Am J Gastroenterol 2000; 95: p.921-4.
74. Stojic ZM, Stevanovic RM, Stojanovic MM, et al. *Histological features of gastric cardia in adults: an autopsy study.* J Gastrointest Liver Dis 2011; 20: p.13-8.
75. McClave SA, Boyce HW, Jr., and Gottfried MR. *Early diagnosis of columnar-lined esophagus: a new endoscopic diagnostic criterion.* Gastrointest Endosc 1987; 33: p.413-6.
76. Srivastava A, Odze RD, Lauwers GY, et al. *Morphologic features are useful in distinguishing Barrett esophagus from carditis with intestinal metaplasia.* Am J Surg Pathol 2007; 31: p.1733-41.

77. Takubo K, Vieth M, Aryal G, et al. *Islands of squamous epithelium and their surrounding mucosa in columnar-lined esophagus: a pathognomonic feature of Barrett's esophagus?* Hum Pathol 2005; 36: p.269-74.
78. Takubo K, Sasajima K, Yamashita K, et al. *Double muscularis mucosae in Barrett's esophagus.* Hum Pathol 1991; 22: p.1158-61.
79. Glickman JN, Chen YY, Wang HH, et al. *Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus.* Am J Surg Pathol 2001; 25: p.569-78.
80. Odze RD. *Barrett esophagus: histology and pathology for the clinician.* Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2009; 6: p.478-90.
81. DeMeester SR, Wickramasinghe KS, Lord RV, et al. *Cytokeratin and DAS-1 immunostaining reveal similarities among cardiac mucosa, CIM, and Barrett's esophagus.* Am J Gastroenterol 2002; 97: p.2514-23.
82. Morales TG, Sampliner RE, and Bhattacharyya A. *Intestinal metaplasia of the gastric cardia.* Am J Gastroenterol 1997; 92: p.414-8.
83. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Lindenbaum J, et al. *Association of infection due to Helicobacter pylori with specific upper gastrointestinal pathology.* Rev Infect Dis 1991; 13 Suppl 8: p.S704-8.
84. Ormsby AH, Kilgore SP, Goldblum JR, et al. *The location and frequency of intestinal metaplasia at the esophagogastric junction in 223 consecutive autopsies: implications for patient treatment and preventive strategies in Barrett's esophagus.* Mod Pathol 2000; 13: p.614-20.
85. Tileston W. *Peptic ulcer of the esophagus.* Am J Med Sci 1906; 132: p.240-265.
86. Stewart MH, SJ. *Chronic peptic ulcer of the esophagus.* J Pathol Bact 1929; 32: p.9-14.
87. Lyall A. *Chronic peptic ulcer of the esophagus: a report of eight cases.* Br J Surg 1937; 24: p.534-47.
88. Allison PR. *Peptic ulcer of the oesophagus.* Thorax 1948; 3: p.20-42.
89. Barrett NR. *Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'.* Br J Surg 1950; 38: p.175-82.
90. Lortat-Jacob JL. *L'endobrachyoesophage.* Ann Chir 1957; 11: p.1247-54.
91. Boshier LH and Taylor FH. *Heterotopic gastric mucosa in the esophagus with ulceration and stricture formation.* J Thorac Surg 1951; 21: p.306-12.
92. Hawe A, Payne WS, Weiland LH, et al. *Adenocarcinoma in the columnar epithelial lined lower (Barrett) oesophagus.* Thorax 1973; 28: p.511-4.
93. Smith RR, Hamilton SR, Boitnott JK, et al. *The spectrum of carcinoma arising in Barrett's esophagus. A clinicopathologic study of 26 patients.* Am J Surg Pathol 1984; 8: p.563-73.

94. Lee RG. *Dysplasia in Barrett's esophagus. A clinicopathologic study of six patients.* Am J Surg Pathol 1985; 9: p.845-52.
95. Schmidt HG, Riddell RH, Walther B, et al. *Dysplasia in Barrett's esophagus.* J Cancer Res Clin Oncol 1985; 110: p.145-52.
96. Hameeteman W, Tytgat GN, Houthoff HJ, et al. *Barrett's esophagus: development of dysplasia and adenocarcinoma.* Gastroenterology 1989; 96: p.1249-56.
97. Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, et al. *Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus.* Gastroenterology 1995; 109: p.1541-6.
98. Paraf F, Flejou JF, Pignon JP, et al. *Surgical pathology of adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. Analysis of 67 cases.* Am J Surg Pathol 1995; 19: p.183-91.
99. Johnston MH, Hammond AS, Laskin W, et al. *The prevalence and clinical characteristics of short segments of specialized intestinal metaplasia in the distal esophagus on routine endoscopy.* Am J Gastroenterol 1996; 91: p.1507-11.
100. Weston AP, Krmpotich P, Makdisi WF, et al. *Short segment Barrett's esophagus: clinical and histological features, associated endoscopic findings, and association with gastric intestinal metaplasia.* Am J Gastroenterol 1996; 91: p.981-6.
101. Schnell TG, Sontag SJ, and Chejfec G. *Adenocarcinomas arising in tongues or short segments of Barrett's esophagus.* Dig Dis Sci 1992; 37: p.137-43.
102. Sampliner RE. *Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology.* Am J Gastroenterol 1998; 93: p.1028-32.
103. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Eds.). *WHO Classification of Tumours of the Digestive System.* IARC: Lyon 2010.
104. Csendes A, Smok G, Burdiles P, et al. *Prevalence of intestinal metaplasia according to the length of the specialized columnar epithelium lining the distal esophagus in patients with gastroesophageal reflux.* Dis Esophagus 2003; 16: p.24-8.
105. Harrison R, Perry I, Haddadin W, et al. *Detection of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus: an observational comparator study suggests the need for a minimum of eight biopsies.* Am J Gastroenterol 2007; 102: p.1154-61.
106. Gatenby PA, Ramus JR, Caygill CP, et al. *Relevance of the detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-lined oesophagus.* Scand J Gastroenterol 2008; 43: p.524-30.
107. Nunobe S, Nakanishi Y, Taniguchi H, et al. *Two distinct pathways of tumorigenesis of adenocarcinomas of the esophagogastric junction, related or unrelated to intestinal metaplasia.* Pathol Int 2007; 57: p.315-21.
108. Kelty CJ, Gough MD, Van Wyk Q, et al. *Barrett's oesophagus: intestinal metaplasia is not essential for cancer risk.* Scand J Gastroenterol 2007; 42: p.1271-4.
109. Romagnoli S, Roncalli M, Graziani D, et al. *Molecular alterations of Barrett's esophagus on microdissected endoscopic biopsies.* Lab Invest 2001; 81: p.241-7.

110. Chaves P, Crespo M, Ribeiro C, et al. *Chromosomal analysis of Barrett's cells: demonstration of instability and detection of the metaplastic lineage involved*. Mod Pathol 2007; 20: p.788-96.
111. Liu W, Hahn H, Odze RD, et al. *Metaplastic esophageal columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell-containing epithelium*. Am J Gastroenterol 2009; 104: p.816-24.
112. Riddell RH and Odze RD. *Definition of Barrett's esophagus: time for a rethink--is intestinal metaplasia dead?* Am J Gastroenterol 2009; 104: p.2588-94.
113. Burnat G, Majka J, and Konturek PC. *Bile acids are multifunctional modulators of the Barrett's carcinogenesis*. J Physiol Pharmacol 2010; 61: p.185-92.
114. Lao-Sirieix P and Fitzgerald RC. *Role of the micro-environment in Barrett's carcinogenesis*. Biochem Soc Trans 2010; 38: p.327-30.
115. Ferlay J, Parkin DM, and Steliarova-Foucher E. *Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008*. Eur J Cancer 2010; 46: p.765-81.
116. Pohl H and Welch HG. *The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence*. J Natl Cancer Inst 2005; 97: p.142-6.
117. Svrcek M and Flejou JF. *Role of the pathologist in the processing of adenocarcinoma of the stomach, oesophagogastric junction and lower third of the oesophagus*. Ann Pathol 2011; 31: p.419-26.
118. Robertson CS, Mayberry JF, Nicholson DA, et al. *Value of endoscopic surveillance in the detection of neoplastic change in Barrett's oesophagus*. Br J Surg 1988; 75: p.760-3.
119. Bartlesman JF, Hameeteman W, and Tytgat GN. *Barrett's oesophagus*. Eur J Cancer Prev 1992; 1: p.323-5.
120. Shaheen NJ, Crosby MA, Bozyski EM, et al. *Is there publication bias in the reporting of cancer risk in Barrett's esophagus?* Gastroenterology 2000; 119: p.333-8.
121. Drewitz DJ, Sampliner RE, and Garewal HS. *The incidence of adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a prospective study of 170 patients followed 4.8 years*. Am J Gastroenterol 1997; 92: p.212-5.
122. Alcedo J, Ferrandez A, Arenas J, et al. *Trends in Barrett's esophagus diagnosis in Southern Europe: implications for surveillance*. Dis Esophagus 2009; 22: p.239-48.
123. Yousef F, Cardwell C, Cantwell MM, et al. *The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis*. Am J Epidemiol 2008; 168: p.237-49.
124. Lagergren J, Bergstrom R, Lindgren A, et al. *Symptomatic gastroesophageal reflux as a risk factor for esophageal adenocarcinoma*. N Engl J Med 1999; 340: p.825-31.
125. Hanahan D and Weinberg RA. *The hallmarks of cancer*. Cell 2000; 100: p.57-70.

126. Wijnhoven BP, Tilanus HW, and Dinjens WN. *Molecular biology of Barrett's adenocarcinoma*. *Ann Surg* 2001; 233: p.322-37.
127. Selaru FM, Zou T, Xu Y, et al. *Global gene expression profiling in Barrett's esophagus and esophageal cancer: a comparative analysis using cDNA microarrays*. *Oncogene* 2002; 21: p.475-8.
128. Zhang X, Yu C, Wilson K, et al. *Malignant transformation of non-neoplastic Barrett's epithelial cells through well-defined genetic manipulations*. *PLoS One* 2010; 5: pii: e13093.
129. Barrett MT, Sanchez CA, Prevo LJ, et al. *Evolution of neoplastic cell lineages in Barrett oesophagus*. *Nat Genet* 1999; 22: p.106-9.
130. Shibata D. *Clonal diversity in tumor progression*. *Nat Genet* 2006; 38: p.402-3.
131. Maley CC, Galipeau PC, Finley JC, et al. *Genetic clonal diversity predicts progression to esophageal adenocarcinoma*. *Nat Genet* 2006; 38: p.468-73.
132. Casson AG, Mukhopadhyay T, Cleary KR, et al. *p53 gene mutations in Barrett's epithelium and esophageal cancer*. *Cancer Res* 1991; 51: p.4495-9.
133. Wong DJ, Paulson TG, Prevo LJ, et al. *p16(INK4a) lesions are common, early abnormalities that undergo clonal expansion in Barrett's metaplastic epithelium*. *Cancer Res* 2001; 61: p.8284-9.
134. Yu C, Zhang X, Huang Q, et al. *High-fidelity DNA histograms in neoplastic progression in Barrett's esophagus*. *Lab Invest* 2007; 87: p.466-72.
135. Morales CP, Souza RF, and Spechler SJ. *Hallmarks of cancer progression in Barrett's oesophagus*. *Lancet* 2002; 360: p.1587-9.
136. Souza RF. *The molecular basis of carcinogenesis in Barrett's esophagus*. *J Gastrointest Surg* 2010; 14: p.937-40.
137. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, et al. *Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications*. *Hum Pathol* 1983; 14: p.931-68.
138. Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, et al. *The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia*. *Gut* 2000; 47: p.251-5.
139. Odze RD and Maley CC. *Neoplasia without dysplasia: lessons from Barrett esophagus and other tubal gut neoplasms*. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: p.896-906.
140. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, et al. *Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus*. *Hum Pathol* 1988; 19: p.166-78.
141. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, et al. *Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation*. *Hum Pathol* 2001; 32: p.368-78.
142. Lomo LC, Blount PL, Sanchez CA, et al. *Crypt dysplasia with surface maturation: a clinical, pathologic, and molecular study of a Barrett's esophagus cohort*. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: p.423-35.

143. Zhang X, Huang Q, Goyal RK, et al. *DNA ploidy abnormalities in basal and superficial regions of the crypts in Barrett's esophagus and associated neoplastic lesions*. Am J Surg Pathol 2008; 32: p.1327-35.
144. Coco DP, Goldblum JR, Hornick JL, et al. *Interobserver variability in the diagnosis of crypt dysplasia in Barrett esophagus*. Am J Surg Pathol 2011; 35: p.45-54.
145. Kerkhof M, van Dekken H, Steyerberg EW, et al. *Grading of dysplasia in Barrett's oesophagus: substantial interobserver variation between general and gastrointestinal pathologists*. Histopathology 2007; 50: p.920-7.
146. Hahn HP, Shahsafaei A, and Odze RD. *Vascular and lymphatic properties of the superficial and deep lamina propria in Barrett esophagus*. Am J Surg Pathol 2008; 32: p.1454-61.
147. Lewis JT, Wang KK, and Abraham SC. *Muscularis mucosae duplication and the musculo-fibrous anomaly in endoscopic mucosal resections for barrett esophagus: implications for staging of adenocarcinoma*. Am J Surg Pathol 2008; 32: p.566-71.
148. Mino-Kenudson M, Hull MJ, Brown I, et al. *EMR for Barrett's esophagus-related superficial neoplasms offers better diagnostic reproducibility than mucosal biopsy*. Gastrointest Endosc 2007; 66: p.660-6.
149. Edge SB, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A (Eds.). *AJCC Cancer Staging Manual*. New York, NY: Springer 2010.
150. Alikhan M, Rex D, Khan A, et al. *Variable pathologic interpretation of columnar lined esophagus by general pathologists in community practice*. Gastrointest Endosc 1999; 50: p.23-6.
151. Skacel M, Petras RE, Gramlich TL, et al. *The diagnosis of low-grade dysplasia in Barrett's esophagus and its implications for disease progression*. Am J Gastroenterol 2000; 95: p.3383-7.
152. Ormsby AH, Petras RE, Henricks WH, et al. *Observer variation in the diagnosis of superficial oesophageal adenocarcinoma*. Gut 2002; 51: p.671-6.
153. Curvers WL, ten Kate FJ, Krishnadath KK, et al. *Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: overdiagnosed and underestimated*. Am J Gastroenterol 2010; 105: p.1523-30.
154. Schlemper RJ, Itabashi M, Kato Y, et al. *Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and western pathologists*. Lancet 1997; 349: p.1725-9.
155. Asthana N, Mandich D, and Ligato S. *Esophageal polypoid dysplasia of gastric foveolar phenotype with focal intramucosal carcinoma associated with Barrett's esophagus*. Am J Surg Pathol 2008; 32: p.1581-5.
156. Rucker-Schmidt RL, Sanchez CA, Blount PL, et al. *Nonadenomatous dysplasia in barrett esophagus: a clinical, pathologic, and DNA content flow cytometric study*. Am J Surg Pathol 2009; 33: p.886-93.
157. Brown IS, Whiteman DC, and Lauwers GY. *Foveolar type dysplasia in Barrett esophagus*. Mod Pathol 2010; 23: p.834-43.

158. Mahajan D, Bennett AE, Liu X, et al. *Grading of gastric foveolar-type dysplasia in Barrett's esophagus*. Mod Pathol 2010; 23: p.1-11.
159. Demicco EG, Farris AB, 3rd, Baba Y, et al. *The dichotomy in carcinogenesis of the distal esophagus and esophagogastric junction: intestinal-type vs cardiac-type mucosa-associated adenocarcinoma*. Mod Pathol 2011; 24: p.1177-90.
160. Park do Y, Srivastava A, Kim GH, et al. *Adenomatous and foveolar gastric dysplasia: distinct patterns of mucin expression and background intestinal metaplasia*. Am J Surg Pathol 2008; 32: p.524-33.
161. Faivre J, Forman D, Esteve J, et al. *Survival of patients with oesophageal and gastric cancers in Europe. EURO CARE Working Group*. Eur J Cancer 1998; 34: p.2167-75.
162. van Sandick JW, van Lanschot JJ, Kuiken BW, et al. *Impact of endoscopic biopsy surveillance of Barrett's oesophagus on pathological stage and clinical outcome of Barrett's carcinoma*. Gut 1998; 43: p.216-22.
163. Corley DA, Levin TR, Habel LA, et al. *Surveillance and survival in Barrett's adenocarcinomas: a population-based study*. Gastroenterology 2002; 122: p.633-40.
164. Fountoulakis A, Zafirellis KD, Dolan K, et al. *Effect of surveillance of Barrett's oesophagus on the clinical outcome of oesophageal cancer*. Br J Surg 2004; 91: p.997-1003.
165. Reid BJ, Weinstein WM, Lewin KJ, et al. *Endoscopic biopsy can detect high-grade dysplasia or early adenocarcinoma in Barrett's esophagus without grossly recognizable neoplastic lesions*. Gastroenterology 1988; 94: p.81-90.
166. Cameron AJ and Carpenter HA. *Barrett's esophagus, high-grade dysplasia, and early adenocarcinoma: a pathological study*. Am J Gastroenterol 1997; 92: p.586-91.
167. Levine DS, Haggitt RC, Blount PL, et al. *An endoscopic biopsy protocol can differentiate high-grade dysplasia from early adenocarcinoma in Barrett's esophagus*. Gastroenterology 1993; 105: p.40-50.
168. Fitzgerald RC, Saeed IT, Khoo D, et al. *Rigorous surveillance protocol increases detection of curable cancers associated with Barrett's esophagus*. Dig Dis Sci 2001; 46: p.1892-8.
169. Boyce HW. *Barrett esophagus: endoscopic findings and what to biopsy*. J Clin Gastroenterol 2003; 36: p.S6-18; discussion S26-8.
170. Abela JE, Going JJ, Mackenzie JF, et al. *Systematic four-quadrant biopsy detects Barrett's dysplasia in more patients than nonsystematic biopsy*. Am J Gastroenterol 2008; 103: p.850-5.
171. Heitmiller RF, Redmond M, and Hamilton SR. *Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. An indication for prophylactic esophagectomy*. Ann Surg 1996; 224: p.66-71.
172. Falk GW, Rice TW, Goldblum JR, et al. *Jumbo biopsy forceps protocol still misses unsuspected cancer in Barrett's esophagus with high-grade dysplasia*. Gastrointest Endosc 1999; 49: p.170-6.
173. Tschanz ER. *Do 40% of patients resected for barrett esophagus with high-grade dysplasia have unsuspected adenocarcinoma?* Arch Pathol Lab Med 2005; 129: p.177-80.

174. Reid BJ, Blount PL, Feng Z, et al. *Optimizing endoscopic biopsy detection of early cancers in Barrett's high-grade dysplasia*. Am J Gastroenterol 2000; 95: p.3089-96.
175. Thurberg BL, Duray PH, and Odze RD. *Polypoid dysplasia in Barrett's esophagus: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of five cases*. Hum Pathol 1999; 30: p.745-52.
176. Buttar NS, Wang KK, Sebo TJ, et al. *Extent of high-grade dysplasia in Barrett's esophagus correlates with risk of adenocarcinoma*. Gastroenterology 2001; 120: p.1630-9.
177. Montgomery E, Bronner MP, Greenson JK, et al. *Are ulcers a marker for invasive carcinoma in Barrett's esophagus? Data from a diagnostic variability study with clinical follow-up*. Am J Gastroenterol 2002; 97: p.27-31.
178. Hillman LC, Chiragakis L, Clarke AC, et al. *Barrett's esophagus: Macroscopic markers and the prediction of dysplasia and adenocarcinoma*. J Gastroenterol Hepatol 2003; 18: p.526-33.
179. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, et al. *Dysplasia as a predictive marker for invasive carcinoma in Barrett esophagus: a follow-up study based on 138 cases from a diagnostic variability study*. Hum Pathol 2001; 32: p.379-88.
180. Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G, et al. *Long-term nonsurgical management of Barrett's esophagus with high-grade dysplasia*. Gastroenterology 2001; 120: p.1607-19.
181. Reid BJ, Levine DS, Longton G, et al. *Predictors of progression to cancer in Barrett's esophagus: baseline histology and flow cytometry identify low- and high-risk patient subsets*. Am J Gastroenterol 2000; 95: p.1669-76.
182. Weston AP, Sharma P, Topalovski M, et al. *Long-term follow-up of Barrett's high-grade dysplasia*. Am J Gastroenterol 2000; 95: p.1888-93.
183. Rastogi A, Puli S, El-Serag HB, et al. *Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia: a meta-analysis*. Gastrointest Endosc 2008; 67: p.394-8.
184. Miros M, Kerlin P, and Walker N. *Only patients with dysplasia progress to adenocarcinoma in Barrett's oesophagus*. Gut 1991; 32: p.1441-6.
185. Dar MS, Goldblum JR, Rice TW, et al. *Can extent of high grade dysplasia in Barrett's oesophagus predict the presence of adenocarcinoma at oesophagectomy?* Gut 2003; 52: p.486-9.
186. Conio M, Bianchi S, Lapertosa G, et al. *Long-term endoscopic surveillance of patients with Barrett's esophagus. Incidence of dysplasia and adenocarcinoma: a prospective study*. Am J Gastroenterol 2003; 98: p.1931-9.
187. Dulai GS, Shekelle PG, Jensen DM, et al. *Dysplasia and risk of further neoplastic progression in a regional Veterans Administration Barrett's cohort*. Am J Gastroenterol 2005; 100: p.775-83.
188. Sharma P, Falk GW, Weston AP, et al. *Dysplasia and cancer in a large multicenter cohort of patients with Barrett's esophagus*. Clin Gastroenterol Hepatol 2006; 4: p.566-72.



189. Culotta E and Koshland DE, Jr. *p53 sweeps through cancer research*. Science 1993; 262: p.1958-61.
190. Harris CC and Hollstein M. *Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene*. N Engl J Med 1993; 329: p.1318-27.
191. Keswani RN, Noffsinger A, Waxman I, et al. *Clinical use of p53 in Barrett's esophagus*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15: p.1243-9.
192. Cho Y, Gorina S, Jeffrey PD, et al. *Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: understanding tumorigenic mutations*. Science 1994; 265: p.346-55.
193. Levine AJ. *p53, the cellular gatekeeper for growth and division*. Cell 1997; 88: p.323-31.
194. Petitjean A, Mathe E, Kato S, et al. *Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database*. Hum Mutat 2007; 28: p.622-9.
195. Harris SL and Levine AJ. *The p53 pathway: positive and negative feedback loops*. Oncogene 2005; 24: p.2899-908.
196. Kruse JP and Gu W. *Modes of p53 regulation*. Cell 2009; 137: p.609-22.
197. Livingstone LR, White A, Sprouse J, et al. *Altered cell cycle arrest and gene amplification potential accompany loss of wild-type p53*. Cell 1992; 70: p.923-35.
198. Blount PL, Galipeau PC, Sanchez CA, et al. *17p allelic losses in diploid cells of patients with Barrett's esophagus who develop aneuploidy*. Cancer Res 1994; 54: p.2292-5.
199. Galipeau PC, Cowan DS, Sanchez CA, et al. *17p (p53) allelic losses, 4N (G2/tetraploid) populations, and progression to aneuploidy in Barrett's esophagus*. Proc Natl Acad Sci U S A 1996; 93: p.7081-4.
200. Giaretti W. *Aneuploidy mechanisms in human colorectal preneoplastic lesions and Barrett's esophagus. Is there a role for K-ras and p53 mutations?* Anal Cell Pathol 1997; 15: p.99-117.
201. Gleeson CM, Sloan JM, McManus DT, et al. *Comparison of p53 and DNA content abnormalities in adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia*. Br J Cancer 1998; 77: p.277-86.
202. Olivier M, Langerod A, Carrieri P, et al. *The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer*. Clin Cancer Res 2006; 12: p.1157-67.
203. Coggi G, Bosari S, Roncalli M, et al. *p53 protein accumulation and p53 gene mutation in esophageal carcinoma. A molecular and immunohistochemical study with clinicopathologic correlations*. Cancer 1997; 79: p.425-32.
204. Casson AG, Tammemagi M, Eskandarian S, et al. *p53 alterations in oesophageal cancer: association with clinicopathological features, risk factors, and survival*. Mol Pathol 1998; 51: p.71-9.
205. Ireland AP, Shibata DK, Chandrasoma P, et al. *Clinical significance of p53 mutations in adenocarcinoma of the esophagus and cardia*. Ann Surg 2000; 231: p.179-87.

206. Schneider PM, Stoeltzing O, Roth JA, et al. *P53 mutational status improves estimation of prognosis in patients with curatively resected adenocarcinoma in Barrett's esophagus*. Clin Cancer Res 2000; 6: p.3153-8.
207. Dolan K, Walker SJ, Gosney J, et al. *TP53 mutations in malignant and premalignant Barrett's esophagus*. Dis Esophagus 2003; 16: p.83-9.
208. Lehrbach DM, Ceconello I, Ribeiro Jr U, et al. *Adenocarcinoma of the esophagogastric junction: relationship between clinicopathological data and p53, cyclin D1 and Bcl-2 immunoeexpressions*. Arq Gastroenterol 2009; 46: p.315-20.
209. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, et al. *Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis*. Cancer Res 1994; 54: p.4855-78.
210. Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. *Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms*. Science 1990; 250: p.1233-8.
211. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. *Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types*. Nature 1989; 342: p.705-8.
212. Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, et al. *p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis*. Cancer Res 1990; 50: p.7717-22.
213. Gleeson CM, Sloan JM, McGuigan JA, et al. *Base transitions at CpG dinucleotides in the p53 gene are common in esophageal adenocarcinoma*. Cancer Res 1995; 55: p.3406-11.
214. Momand J, Jung D, Wilczynski S, et al. *The MDM2 gene amplification database*. Nucleic Acids Res 1998; 26: p.3453-9.
215. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, et al. *The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53*. Cell 1990; 63: p.1129-36.
216. Crook T, Wrede D, Tidy JA, et al. *Clonal p53 mutation in primary cervical cancer: association with human-papillomavirus-negative tumours*. Lancet 1992; 339: p.1070-3.
217. Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, et al. *A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types*. Science 1994; 264: p.436-40.
218. Zhang Y, Xiong Y, and Yarbrough WG. *ARF promotes MDM2 degradation and stabilizes p53: ARF-INK4a locus deletion impairs both the Rb and p53 tumor suppression pathways*. Cell 1998; 92: p.725-34.
219. Goelz SE, Hamilton SR, and Vogelstein B. *Purification of DNA from formaldehyde fixed and paraffin embedded human tissue*. Biochem Biophys Res Commun 1985; 130: p.118-26.
220. Soussi T, Kato S, Levy PP, et al. *Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutations*. Hum Mutat 2005; 25: p.6-17.
221. Rygiel AM, Milano F, Ten Kate FJ, et al. *Assessment of chromosomal gains as compared to DNA content changes is more useful to detect dysplasia in Barrett's esophagus brush cytology specimens*. Genes Chromosomes Cancer 2008; 47: p.396-404.

222. Legros Y, Lafon C, and Soussi T. *Linear antigenic sites defined by the B-cell response to human p53 are localized predominantly in the amino and carboxy-termini of the protein.* Oncogene 1994; 9: p.2071-6.
223. Bian YS, Osterheld MC, Bosman FT, et al. *p53 gene mutation and protein accumulation during neoplastic progression in Barrett's esophagus.* Mod Pathol 2001; 14: p.397-403.
224. Doak SH, Jenkins GJ, Parry EM, et al. *Characterisation of p53 status at the gene, chromosomal and protein levels in oesophageal adenocarcinoma.* Br J Cancer 2003; 89: p.1729-35.
225. Segal F, Kaspary AP, Prolla JC, et al. *p53 protein overexpression and p53 mutation analysis in patients with intestinal metaplasia of the cardia and Barrett's esophagus.* Cancer Lett 2004; 210: p.213-8.
226. Younes M, Ertan A, Lechago LV, et al. *p53 Protein accumulation is a specific marker of malignant potential in Barrett's metaplasia.* Dig Dis Sci 1997; 42: p.697-701.
227. Kubba AK, Poole NA, and Watson A. *Role of p53 assessment in management of Barrett's esophagus.* Dig Dis Sci 1999; 44: p.659-67.
228. Hollstein MC, Metcalf RA, Welsh JA, et al. *Frequent mutation of the p53 gene in human esophageal cancer.* Proc Natl Acad Sci U S A 1990; 87: p.9958-61.
229. Schneider PM, Casson AG, Levin B, et al. *Mutations of p53 in Barrett's esophagus and Barrett's cancer: a prospective study of ninety-eight cases.* J Thorac Cardiovasc Surg 1996; 111: p.323-31; discussion 331-3.
230. Campomenosi P, Conio M, Bogliolo M, et al. *p53 is frequently mutated in Barrett's metaplasia of the intestinal type.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5: p.559-65.
231. Ramel S, Reid BJ, Sanchez CA, et al. *Evaluation of p53 protein expression in Barrett's esophagus by two-parameter flow cytometry.* Gastroenterology 1992; 102: p.1220-8.
232. Gimenez A, de Haro LM, Parrilla P, et al. *Immunohistochemical detection of p53 protein could improve the management of some patients with Barrett esophagus and mild histologic alterations.* Arch Pathol Lab Med 1999; 123: p.1260-3.
233. Bani-Hani K, Martin IG, Hardie LJ, et al. *Prospective study of cyclin D1 overexpression in Barrett's esophagus: association with increased risk of adenocarcinoma.* J Natl Cancer Inst 2000; 92: p.1316-21.
234. Weston AP, Banerjee SK, Sharma P, et al. *p53 protein overexpression in low grade dysplasia (LGD) in Barrett's esophagus: immunohistochemical marker predictive of progression.* Am J Gastroenterol 2001; 96: p.1355-62.
235. Skacel M, Petras RE, Rybicki LA, et al. *p53 expression in low grade dysplasia in Barrett's esophagus: correlation with interobserver agreement and disease progression.* Am J Gastroenterol 2002; 97: p.2508-13.
236. Kaye PV, Haider SA, Ilyas M, et al. *Barrett's dysplasia and the Vienna classification: reproducibility, prediction of progression and impact of consensus reporting and p53 immunohistochemistry.* Histopathology 2009; 54: p.699-712.

237. Gonzalez MV, Artimez ML, Rodrigo L, et al. *Mutation analysis of the p53, APC, and p16 genes in the Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma.* J Clin Pathol 1997; 50: p.212-7.
238. Djalilvand A, Pal R, Goldman H, et al. *Evaluation of p53 mutations in premalignant esophageal lesions and esophageal adenocarcinoma using laser capture microdissection.* Mod Pathol 2004; 17: p.1323-7.
239. Jones DR, Davidson AG, Summers CL, et al. *Potential application of p53 as an intermediate biomarker in Barrett's esophagus.* Ann Thorac Surg 1994; 57: p.598-603.
240. Kim R, Clarke MR, Melhem MF, et al. *Expression of p53, PCNA, and C-erbB-2 in Barrett's metaplasia and adenocarcinoma.* Dig Dis Sci 1997; 42: p.2453-62.
241. Hritz I, Gyorffy H, Molnar B, et al. *Increased p53 expression in the malignant transformation of Barrett's esophagus is accompanied by an upward shift of the proliferative compartment.* Pathol Oncol Res 2009; 15: p.183-92.
242. Neshat K, Sanchez CA, Galipeau PC, et al. *p53 mutations in Barrett's adenocarcinoma and high-grade dysplasia.* Gastroenterology 1994; 106: p.1589-95.
243. Smeds J, Berggren P, Ma X, et al. *Genetic status of cell cycle regulators in squamous cell carcinoma of the oesophagus: the CDKN2A (p16(INK4a) and p14(ARF) ) and p53 genes are major targets for inactivation.* Carcinogenesis 2002; 23: p.645-55.
244. Huang Y, Peters CJ, Fitzgerald RC, et al. *Progressive silencing of p14ARF in oesophageal adenocarcinoma.* J Cell Mol Med 2009; 13: p.398-409.
245. Marchetti A, Buttitta F, Pellegrini S, et al. *mdm2 gene amplification and overexpression in non-small cell lung carcinomas with accumulation of the p53 protein in the absence of p53 gene mutations.* Diagn Mol Pathol 1995; 4: p.93-7.
246. Pilotti S, Della Torre G, Lavarino C, et al. *Distinct mdm2/p53 expression patterns in liposarcoma subgroups: implications for different pathogenetic mechanisms.* J Pathol 1997; 181: p.14-24.
247. Molina P, Pellin A, Navarro S, et al. *Analysis of p53 and mdm2 proteins in malignant fibrous histiocytoma in absence of gene alteration: prognostic significance.* Virchows Arch 1999; 435: p.596-605.
248. Skomedal H, Kristensen GB, Nesland JM, et al. *TP53 alterations in relation to the cell cycle-associated proteins p21, cyclin D1, CDK4, RB, MDM2, and EGFR in cancers of the uterine corpus.* J Pathol 1999; 187: p.556-62.
249. Della Torre G, Pasquini G, Pilotti S, et al. *TP53 mutations and mdm2 protein overexpression in cholangiocarcinomas.* Diagn Mol Pathol 2000; 9: p.41-6.
250. Soslow RA, Altorki NK, Yang G, et al. *mdm-2 expression correlates with wild-type p53 status in esophageal adenocarcinoma.* Mod Pathol 1999; 12: p.580-6.
251. Taniere P, Martel-Planche G, Maurici D, et al. *Molecular and clinical differences between adenocarcinomas of the esophagus and of the gastric cardia.* Am J Pathol 2001; 158: p.33-40.

## INDEX DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Tableau 1. Caractérisation des mucines gastro-intestinales par les techniques histochimiques .....	15
Tableau 2. Exemples d'anomalies génétiques et épigénétiques observées dans la progression néoplasique de l'endobranchyœsophage, et permettant aux cellules d'acquérir les six propriétés fondamentales de la cellule cancéreuse.....	32
Tableau 3. Principales classifications des lésions néoplasiques de l'endobranchyœsophage....	34
Tableau 4. Principales anomalies architecturales et cytologiques décrites dans la dysplasie..	36
Tableau 5. Séquences des amorces pour la PCR et le séquençage (gène <i>TP53</i> - exons 4 à 8)	68
Tableau 6. Données histologiques et immunophénotypiques des lésions néoplasiques des 18 patients du groupe d'étude .....	72
Tableau 7. Comparaison des résultats des anomalies de p53.....	76
Tableau 8. Prédiction d'évolution vers le cancer selon la technique d'exploration de p53 .....	80
Tableau 9. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DBG du groupe d'étude.....	81
Tableau 10. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DHG – ADK du groupe d'étude.....	82
Tableau 11. Résultats de la recherche des anomalies de p53 dans les lésions de DBG du groupe témoin.....	83

Figure 1. Histologie normale de l'œsophage .....	7
Figure 2. Classification de Prague.....	11
Figure 3. Les différents types de métaplasie glandulaire dans l'œsophage .....	12
Figure 4. Aspect histologique de la jonction muqueuse œsogastrique ou ligne Z.....	18
Figure 5. Eléments histologiques associés à un endobrachyœsophage.....	21
Figure 6. Problème de la jonction œsogastrique .....	28
Figure 7. Dysplasie de bas grade et dysplasie de haut grade .....	37
Figure 8. Adénocarcinome intra-muqueux et double musculaire muqueuse .....	38
Figure 9. Dysplasie de type intestinal et dysplasie de type fovéolaire.....	41
Figure 10. Dysplasie cryptique.....	43
Figure 11. Structures du gène <i>TP53</i> et de la protéine p53 .....	50
Figure 12. Boucles de régulation positive et négative de p53.....	51
Figure 13. Fonctionnement de p53 dans une cellule normale.....	52
Figure 14. La majorité des mutations de <i>TP53</i> se concentrent dans les exons 5 à 8, qui codent le domaine central de la protéine assurant la liaison à l'ADN .....	55
Figure 15. Distribution des fréquences des mutations dans les codons .....	58
Figure 16. Distribution du marquage de p53 en IHC.....	74
Figure 17. Pourcentage des lésions de DBG ayant évolué vers le cancer selon la technique d'exploration de p53 (surexpression de p53 en IHC et mutations du gène <i>TP53</i> ).....	79
Figure 18. Patient 12 .....	84
Figure 19. Patient 3 .....	85

## ANNEXE

**Classification pTNM des carcinomes de l'œsophage** (*American Joint Committee on Cancer*, 7<sup>ème</sup> édition 2009) [149]

### T – Tumeur primitive

- T0 Pas de signe de tumeur primitive
- Tis Carcinome in situ / Dysplasie de haut grade
- T1 Tumeur infiltrant le chorion, la musculaire muqueuse, ou la sous-muqueuse
  - T1a Tumeur infiltrant le chorion ou la musculaire muqueuse
  - T1b Tumeur infiltrant la sous-muqueuse
- T2 Tumeur infiltrant la musculuse
- T3 Tumeur infiltrant l'adventice
- T4 Tumeur infiltrant les structures de voisinage
  - T4a Tumeur infiltrant la plèvre, le péricarde ou le diaphragme
  - T4b Tumeur infiltrant d'autres structures de voisinage telles que l'aorte, la trachée, ou une vertèbre

### N – Adénopathies régionales

- N0 Absence de métastase ganglionnaire
- N1 1 à 2 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques
- N2 3 à 6 ganglions lymphatiques régionaux métastatiques
- N3 7 ou plus ganglions lymphatiques régionaux métastatiques

### M – Métastases à distance

- M0 Absence de métastase à distance
- M1 Présence de métastase à distance

NOM : LECOINTRE

PRENOM : Claire

**Titre de Thèse :** La surexpression de p53 est un facteur prédictif de progression de la dysplasie de bas grade dans l'endobrachyœsophage

---

## RESUME

Cette étude longitudinale cas – témoin cherchait à déterminer la valeur de p53 pour identifier les patients atteints d'endobrachyœsophage avec dysplasie de bas grade (DBG) ayant un risque élevé de transformation carcinomateuse. Un groupe de patients atteints de DBG ayant évolué vers un cancer, et un groupe de patients atteints de DBG sans évolution connue ont été comparés. La surexpression de p53 en immunohistochimie, mais pas les mutations du gène *TP53*, était significativement plus fréquente dans la DBG du groupe d'étude. La valeur prédictive de progression de la surexpression de p53 était supérieure à celle des mutations de *TP53*. La surexpression de p53 concordait rarement avec la mutation de *TP53*. Cette étude suggère que la progression néoplasique de l'endobrachyœsophage implique d'autres mécanismes d'inactivation de p53 que la mutation.

---

## MOTS CLES

Endobrachyœsophage - *TP53* - Valeur prédictive - Dysplasie