

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Smai safia & Belghit houria**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité: Génétique fondamentale et appliquée**

THÈME

*Classification moléculaire des  
carcinomes mammaires*

Soutenue publiquement le ...../....07./2019

DEVANT LE JURY

Président M.CHIBANI Abdelwahid  
Encadreur M.GUEDOUAR Youcef  
Examinatrice M. MOKHTAR Meriem

Pr U. Mostaganem  
MCB U. Mostaganem  
MCA U. Mostaganem



## ***REMERCIEMENT***

*Tout d'abord, nous tenons à remercier le **DIEU**, pour nous avoir donné la force, le courage, la patience et la santé afin d'accomplir  
Ce travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadreur*

***Mr. GUEDOUAR. Y** pour son aide qu'elle nous a apportée et ses précieux conseils.*

*Nous adressons notre respectueux remerciement à tous les membres du jury :*

***Mr. CHIBANI. A** et **M<sup>me</sup> MOKHTAR.M** qui nous feront l'honneur de juger notre travail.*

*Nous tenons à exprimer toute ma gratitude et mes remerciements à tous nos enseignants de département de Biologie particulièrement : **Mr. CHIBANI, M<sup>me</sup>.***

***DALLACHE, M<sup>me</sup> .ABASSANE.***

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont aidés à réaliser notre stage à **l'hôpital de jour (Mazagran)** dans le service d'Oncologie et à **l'hôpital de chigivara** dans Laboratoire d'anatomopathologie.*

*Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire :*

*A mes parents,*

*Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

*Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant  
Qu'ils seront toujours fiers de moi.*

*A mes sœurs et mes frères.*

*A la famille smai*

*A tous mes amis et mon binôme houria*

*Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.*

# *Safia*

# Dédicace

*Je dédie ce travail à.....*

*A mes parents,*

*Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours*

*Pour mener à bien mes études.*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour*

*Exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as*

*Cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance*

*Et même à l'âge adulte.*

*«Que dieu vous garde»*

*A mes très chères sœurs : mansouria ; amina ; hanan ; karima*

*A mes très chers frères : Ahmed, Foucef, Moussa, Ismail, Abd  
erahman, merci pour vos encouragements pour vos soutiens.*

*à tout la famille :belghit et louali .*

*ames très chères amies : souad ; amina ; tawoos ; amira ;*

*sans oublier mon binôme safia avec qui j'ai élaboré mon projet de fin d'étude.*

# Houria

## **Résumé :**

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent et représente la deuxième cause de décès dans le monde. Une classification moléculaire de ce cancer a été établie récemment par Sorlie et Perou pour mieux caractériser cette néoplasie. Ils ont défini 5 sous types de pronostic et de réponse thérapeutique différents: luminal A, luminal B, normal, Her-2, et basal.

Le but de ce travail est d'évaluer l'expression des récepteurs hormonaux et de la protéine Her-2 dans le cancer du sein, étudier les corrélations entre eux et avec les autres facteurs pronostiques, comparer nos résultats avec ceux de la littérature et évaluer notre technique immunohistochimique.

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 130 cas de cancer du sein diagnostiqués au service d'anatomie pathologique de l'hôpital de Chigivara, en 2019. L'évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux et de l'HER2 était réalisée par méthode histologique et immunohistochimique.

Les RE- sont exprimés dans (18,46%) des cas, et RE+ (81,54%), les PR- dans (26,92%) des cas, et RP+ (73,08%), et l'HER2 dans (score 0: 52,31%, score 1: 20%, score 2: 6,92%, et score 3: 20,77%) des cas.

Comme la plupart des études de la littérature, nous avons noté une association entre les RE et les PR et entre les RE et l'HER2.

**Mots clé :** cancer du sein -Classification moléculaire - histologique – immunohistochimique.

## **Abstract:**

Breast cancer is the most common cancer and the second leading cause of death in the world. A molecular classification of this cancer was recently established by Sorlie and Peru to better characterize this neoplasia. They defined 5 different types of prognosis and therapeutic response: luminal A, luminal B, normal, Her-2, and basal.

The aim of this work is to evaluate the expression of hormone receptors and Her-2 protein in breast cancer, to study the correlations between them and with other prognostic factors, to compare our results with those of the literature and to evaluate our immunohistochemical technique.

This is a prospective study of 130 breast cancer cases diagnosed in the pathology department of Chigivara hospital in 2019. The evaluation of hormone receptor expression and HER2 was performed by histological and immunohistochemical method.

The RE- are expressed in (18.46%) of the cases, and RE + (81.54%), the PR- in (26.92%) of the cases, and RP + (73.08%), and the HER2 in (score 0: 52.31%, score 1: 20%, score 2: 6.92%, and score 3: 20.77%) cases.

Like most literature studies, we found an association between ERs and RAs and between ERs and HER2.

**Key words :** breast cancer - Molecular classification - histological - immunohistochemical.

## Sommaire :

Remercîment

Dédicace

Résumé

Abstract

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

## Chapitre I : Etude Bibliographique

|        |  |    |
|--------|--|----|
| I-     | Le sein normal et glande mammaire.....           | 02 |
| 1-     | Le sein normal.....                              | 02 |
| 1-1-   | Définition .....                                 | 02 |
| 1-2-   | Anatomie du sein.....                            | 02 |
| 1-3-   | Le lobule .....                                  | 03 |
| 1-4-   | Tissu de soutien.....                            | 03 |
| 1-5-   | Le poids.....                                    | 04 |
| 2-     | La glande mammaire.....                          | 04 |
| 2-1-   | Définition.....                                  | 04 |
| 2-2-   | Vascularisation.....                             | 04 |
| 2-3-   | Innervation.....                                 | 05 |
| 2-4-   | Facteurs hormonaux.....                          | 05 |
| 2-4-1- | la progestérone.....                             | 05 |
| 2-4-2- | L'œstrogène.....                                 | 06 |
| II-    | Le sein pathologie.....                          | 06 |
| 1-     | L'histoire naturel du cancer.....                | 06 |
| 2-     | Définition du cancer du sein .....               | 06 |
| 3-     | Classification OMS des carcinomes mammaires..... | 07 |
| 3-1-   | tumeurs bénignes et tumeurs malignes.....        | 07 |

|      |  |    |
|------|--|----|
| 3-2- | Les carcinome in situ (non infiltrants).....                   | 08 |
| 3-3- | Les carcinomes invasifs (infiltrants).....                     | 08 |
| 3-4- | Les carcinomes métastasiques.....                              | 09 |
| 3-5- | Maladies de Paget de mamelon.....                              | 09 |
| 4-   | Mécanisme de la cancérogénèse.....                             | 10 |
| 4-1- | Initiation.....  | 10 |
| 4-2- | Promotion.....   | 10 |
| 4-3- | Progressio.....  | 11 |
| 5-   | Classification TNM.....  | 11 |
| 6-   | Caractérisation des cancers du sein par immunohistochimie..... | 12 |
| 6-1- | Grade histologique.....  | 12 |
| 6-2- | L'envahissement ganglionnaire.....                             | 13 |
| 6-3- | Statut HER2.....   | 13 |
| 6-4- | L'antigène Ki67.....   | 13 |
| 7-   | Les marqueurs tumoraux.....                                    | 13 |
| 7-1- | Récepteur à l'œstrogène (RE).....                              | 14 |
| 7-2- | Récepteur à progestérone(RP).....                              | 14 |
| 7-3- | Récepteur à HER2.....  | 14 |
| III- | Classification moléculaire.....                                | 15 |
| 1-   | L'objectif.....  | 15 |
| 2-   | Sous type moléculaire.....                                     | 15 |
| 2-1- | carcinomes de type luminal A.....                              | 15 |
| 2-2- | carcinomes de type luminal B.....                              | 16 |
| 2-3- | carcinomes de type HER2.....                                   | 16 |
| 2-4- | carcinomes de typebasal -like.....                             | 16 |
| 2-5- | carcinomes de typenomale-like.....                             | 17 |

## Chapitre II : Matériel et Méthode

|      |                             |    |
|------|-----------------------------|----|
| I-   | Matériel.....               | 19 |
| II-  | Méthode .....               | 19 |
| 1-   | Technique histologique..... | 19 |
| 1-1- | Fixation.....               | 19 |
| 1-2- | Déshydratation.....         | 19 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 1-3-  | L'inclusion.....   | 20 |
| 1-4-  | Réalisation des coupes.....                                  | 20 |
| 1-5-  | Réhydratation.....   | 20 |
| 1-6-  | Coloration.....  | 21 |
| 1-7-  | Etude en microscopie optique.....                            | 23 |
| 2-    | Technique immunohistochimique.....                           | 23 |
| 2-1-  | Le repérage de la composante carcinomateuse infiltrante..... | 23 |
| 2-2-  | La confection des coupes.....                                | 23 |
| 2-3-  | La prétraitement thermique.....                              | 23 |
| 2-4-  | Le déparaffinage.....  | 24 |
| 2-5-  | La réhydratation.....  | 25 |
| 2-6-  | Le démasquage des sites antigénique.....                     | 25 |
| 2-7-  | Le blocage des activités enzymatiques.....                   | 25 |
| 2-8-  | L'incubation avec les l'anticorps primaire.....              | 25 |
| 2-9-  | L'incubation avec l'anticorps secondaire.....                | 26 |
| 2-10- | La révélation.....   | 27 |
| 2-11- | La contre coloration.....                                    | 27 |
| 2-12- | Le rinçage et la révélation.....                             | 27 |
| 2-13- | Le montage.....  | 27 |
| 2-14- | L'observation microscopique.....                             | 28 |
| 2-15- | La lecture des lames.....                                    | 28 |

## Chapitre III : Résultat et Discussions

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 1-     | Caractéristique globale de carcinome infiltrant.....    | 31 |
| 1-1-   | Caractéristique des clinco-histopathologiques.....      | 31 |
| 1-1-1- | Répartition selon l'âge des patient.....                | 31 |
| 1-1-2- | Répartition selon la taille tumorale.....               | 32 |
| 1-1-3- | Répartition des tumeurs selon le type histologique..... | 33 |
| 1-1-4- | Répartition selon le grade SBR.....                     | 33 |
| 1-1-5- | Répartition selon l'envahissement ganglionnaire.....    | 34 |
| 1-2-   | Caractéristiques biologique.....                        | 34 |
| 1-2-1- | Expression des récepteurs l'estrogène RE.....           | 35 |
| 1-2-2- | Expression des récepteurs progesterone.....             | 35 |

|        |   |    |
|--------|---|----|
| 1-2-3- | Expression membranaire de l'oncoprotéine HER2.....                | 36 |
| 1-2-4- | Expression de l'antigène Ki67.....                                | 36 |
| 2-     | Détermination immuno-histochimique des sous –types moléculaires.. | 37 |
| 2-1-   | Sous- type luminal.....   | 38 |
| 2-2-   | Sous- type HER2.....  | 39 |
| 2-3-   | Sous-type triple négative.....                                    | 39 |
| 2-3-1- | Sous type triple – négative/basale- like.....                     | 40 |

## **Conclusion**

## **Référence bibliographique**

## Liste Des Abréviations :

- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- CCIS : carcinome canalaire in situ.
- CLIS : carcinome lobulaire in situ.
- CS : cancer du sein.
- DAB : Di-Amino-Benzidine
- EDTA : Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique
- EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor.
- ER± : récepteur aux S strogènes ±.
- FISH : hybridation in situ en fluorescence.
- HE : Hématoxyline-Eosine.
- HER-2: Human Epidermal growth factor Receptor 2.
- IHC : L'immunohistochimie.
- Ki-67: cell cycle related nuclear protein.
- P53 : protéine 53.
- PAM : Plaque Aérolo-Mamelonnaire.
- PBS : Phosphate Buffered Saline.
- pH : potentiel hydrogène
- PR : Récepteur à La progestérone.
- RE : Récepteurs aux œstrogènes.
- RH : récepteurs hormonaux.
- RO : Récepteurs aux œstrogènes.
- SBR : Scarff Bloom et Richardson.
- TBS : TertButyldiméthylSilyle
- TNM : tumeurnode (ganglion) métastases.
- UTDL : l'unité terminale ducto-lobulaire.

### Liste des tableaux :

Tableau 01: Critères utilisés pour la classification moléculaire du cancer du sein.....17

Tableau 02 : les réactions de coloration l'HEMALUN-EOSINE.....22

### Liste des figures :

- Figure01: structure anatomique du sein.....02
- Figure02: Dessin anatomique du sein.....02
- Figure 03: représentation schématique d'un lobule mammaire.....03
- Figure04: Vascularisation de la glande mammaire.....06
- Figure 05 : cellules cancéreuses.....07
- Figure 06 : la formation d'une tumeur.....08
- Figure07: Coupes histologiques des principaux types de cancers du sein.....09
- Figure08 : Etapes de la cancérogénèse.....11
- Figure09 : Classification TNM du cancer du sein.....12
- Figure 10:les Etapes de la technique histologique.....19
- Figure 11 : Les différentes étapes de la coloration.....20
- Figure 12 : Etapes de l'immunohistochime.....23
- Figure 13 : Etapes de l'immunohistochime.....26
- Figure 14 : Etapes de l'immunohistochime.....27
- Figure 15 : répartition des patientes selon l'âge.....29
- Figure 16 : répartition des tumeurs selon la taille pt.....30
- Figure 17 : Répartition des tumeurs selon le type histologique.....31
- Figure 18 : Répartition des tumeurs selon le Grade SBR.....31
- Figure 19 : Répartition des ganglions lymphatique selon N.....32
- Figure 20 : répartition selon Expression des récepteurs d'œstrogène (RE).....33
- Figure 21 : répartition selon Expression des récepteurs progestérones (RP).....33
- Figure 22 : répartition selon Expression membranaire de HER2.....34
- Figure 23 : Répartition selon l'antigène KI 67.....35
- Figure 24 : Proportion des tumeurs luminal A et luminal B.....36
- Figure 25 :répartition de sous-type HER2.....37
- Figure 26 : Répartition selon sous type Triple négative.....38

## **Introduction:**

La notion de « cancer du sein » relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif. Le terme de « cancer du sein » ne désigne que les tumeurs malignes, potentiellement agressives, du sein tandis que le terme de « tumeur du sein » désigne à la fois les tumeurs malignes et bénignes, (Saglier et Antoine, 1996).

Les facteurs cliniques et pathologiques comme la taille tumorale, le type histologique, le grade histologique, les métastases ganglionnaires, la présence d'une composante in situ et l'âge peuvent servir comme facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse à une thérapie adjuvante, (Tavassoli FA, et al, 2004).

Parmi ces facteurs les récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone et l'HER-2 dont l'expression est extrêmement importante dans la biologie du cancer du sein vu qu'elle apporte au clinicien une information d'ordre pronostique et thérapeutique, (Almasri N et Al Hamad M, 2005).

Le développement de techniques de biologie moléculaire et de séquençage génétique a permis de progresser dans la compréhension de l'oncogène mammaire. En effet, ces techniques d'oncogénétique et leur expression histologique, révélée par l'immunohistochimie, sont systématiquement utilisées pour définir un pronostic et surtout faire un choix thérapeutique avec comme objectif de mieux stratifier les malades et de pouvoir dispenser une thérapie personnalisée pour chaque patiente.

A partir de l'année 2000: les études fondatrices du profil génétique lancées par les travaux pionniers de Sorlie et Perou ont stipulé que l'hétérogénéité clinique et morphologique des cancers mammaires était associée à une hétérogénéité moléculaire se situant à un niveau transcriptionnel, ont proposé une classification moléculaire des cancers du sein en cinq principaux sous-types moléculaires parmi les carcinomes infiltrants : luminal A, luminal B, ErbB2(HER2), basal-like et normal-like, (Sorlie T et al, 2001).

# Chapitre I



Etude

Bibliographique

## I. Le sein normal et la glande mammaire:

### 1- Le sein normal:

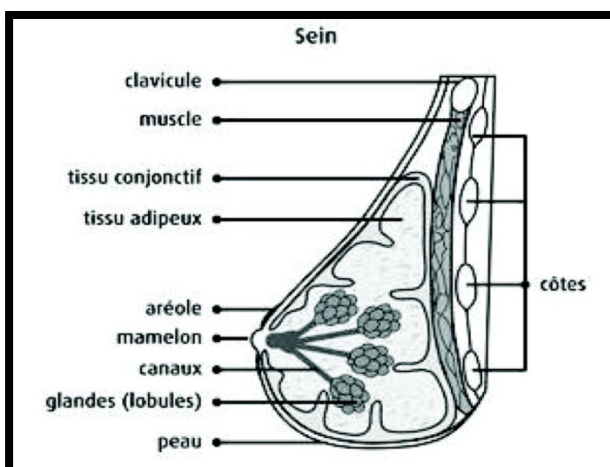
#### 1-1- Définition:

Le sein joue un rôle important dans la féminité et dans la morphologie du corps de la femme. La fonction biologique du sein est de produire du lait afin de nourrir un nouveau-né. Le sein est constitué de la glande mammaire et se compose de quinze à vingt lobes séparés par du tissu graisseux qui donne au sein la forme qu'on lui connaît. Ces lobes sont, eux-mêmes, constitués de lobules capables de sécréter du lait en période d'allaitement. Le lait transporté par les canaux galactophores jusqu'au mamelon, situé au centre d'une zone pigmentée (l'aréole), (Fumoleau et Mignard, 2018).

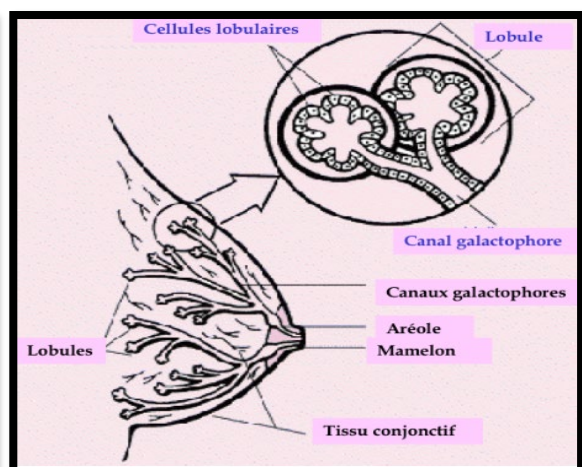
#### 1-2- Anatomie du sein:

Le sein comporte d'avant en arrière le tégument (peau), le tissu conjonctif sous-cutané renfermant la glande mammaire, puis un tissu conjonctif lâche permettant au corps mammaire de glisser en arrière sur le plan musculaire du grand pectoral. Cliniquement, le sein est divisé en quatre quadrants : supéro-externe, supéro-interne, inféro-externe et inféro-interne. Ceci ne correspond à aucune réalité anatomique, il s'agit d'une convention de « repérage », (fig.01), (Marie, 2013).

Au niveau du mamelon, s'ouvre une dizaine de galactophoriques. La glande mammaire correspond à un système ramifié de canaux galactophores. En arrière du mamelon, ces galactophores se divisent en canaux de plus en plus étroits, jusqu'à l'unité terminale ducto-lobulaire (UTDL). L'UTDL comporte les canaux extra-intralobulaires qui se terminent par les acini qui sont fonctionnels surtout pendant la grossesse et la lactation, (fig.02), (Copath, 2013).



**Figure01:** structure anatomique du sein.  
(Jean-Loup Sautière, 2006).



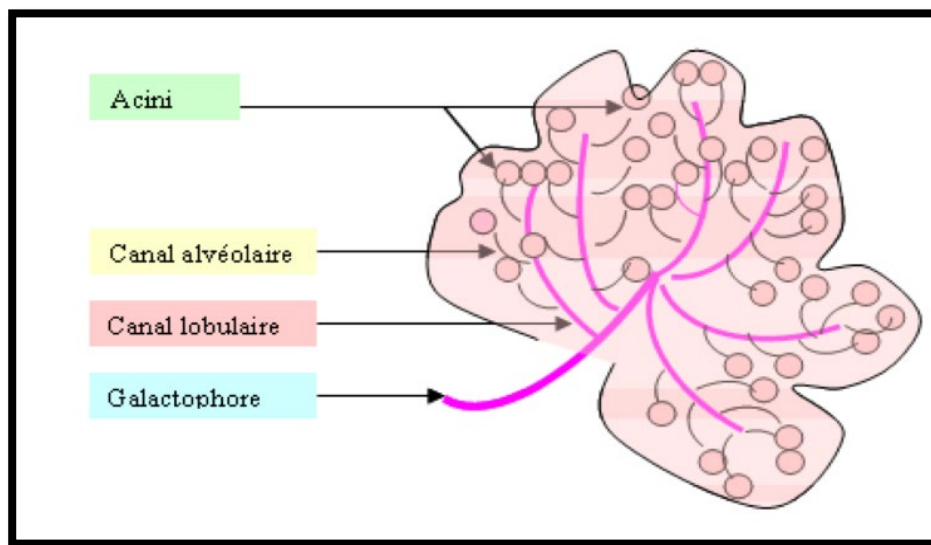
**Figure02:** Dessin anatomique du sein,  
(<http://www.cancer.org/cancerinfo>).

**1-3- Le lobule :**

Le lobule est une formation sphérique d'environ 0,5 à 1 mm de diamètre constituée de petits tubes borgnes (appelés ductules terminaux) agencés de manière radiée autour d'un canal collecteur intralobulaire (le galactophore terminal intralobulaire).

Ces ductules terminaux, au nombre de 20 à 100, sont entourés par un tissu fibro-collagène lâche appelé tissu palléal et dont les limites périphériques séparent le lobule du tissu fibro-collagène de soutien.

Le revêtement épithélial des lobules est à double, la couche interne faite de cellules épithéliales bordant la lumière, la couche externe de cellules myoépithéliales, (fig.03), (Pawlina, 2006).



**Figure 03:**représentation schématique d'un lobule mammaire, (<http://olympusmom.wordpress.com>)

**1-4- Tissu de soutien :**

Les canaux et lobules mammaires sont entourés par un associant des vaisseaux sanguins et lymphatiques et quelques nerfs, de la graisse et un tissu fibreux qui enveloppent les structures glandulaires leur assurant protection et soutien. A la partie profonde, la glande mammaire est séparée du muscle pectoral par une lame fibreuse qui correspond au feuillet profonde du *fasiasuperficialis*. La graisse prédomine à la partie superficielle de la glande ou elle se constitue avec celle du tissu cutané sans véritable séparation anatomique ou histologique. (Schnitt, 1993).

**1-5- Le poids :**

Le poids du sein varie selon la morphologie de la femme et la grossesse et lactation: de 200 g chez la jeune fille, il peut atteindre 500 g chez la femme allaitante et 900 g dans certains cas, (<http://www.centre-maladies-sein-sait-louis>).

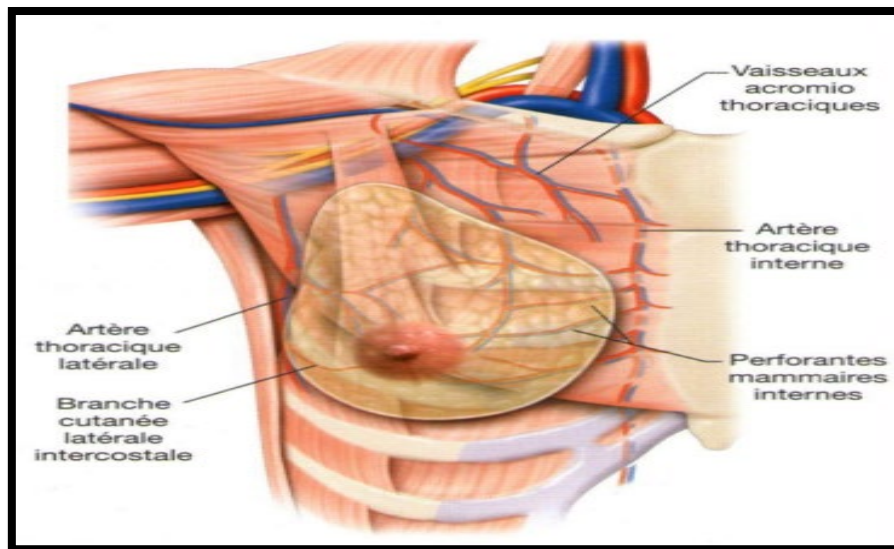
**2- La glande mammaire :****2-1- Définition :**

Le sein est l'organe qui renferme la glande mammaire. Cette glande exocrine d'origine ectodermique, sécrète du lait. La glande mammaire est nichée dans du tissu adipeux. Elle est composée de 15 à 20 lobes glandulaires qui contiennent des lobules. Chaque lobule contient des alvéoles ou acini. L'unité de base est l'alvéole ou l'acinus, une cavité à activité sécrétrice. Chaque acinus se draine par un canal alvéolaire. Les acini et les canaux alvéolaires forment le lobule qui se draine par un canal lobulaire. Plusieurs lobules réunis forment un lobe glandulaire qui se draine par un canal galactophore ou lactifère. Les lobes sont entourés de tissu conjonctif, de filets nerveux, de vaisseaux sanguins et de vaisseaux lymphatiques. La majorité des vaisseaux lymphatiques se jette dans les ganglions axillaires.

Le développement anatomique de cette glande commence dès les premières semaines de vie fœtale et suit les étapes hormonales de la vie de la femme, (**Sappey, 1874**).

**2-2- Vascularisation :**

La vascularisation de la glande mammaire repose sur un réseau rétro glandulaire et un réseau antérieur. Celui-ci est composé d'un réseau sous-dermique plus dense à proximité de la plaque aréolo-mamelonnaire et d'un réseau pré-glandulaire à la surface de la glande, qui communiquent par l'intermédiaire des crêtes de Duret. Deux pédicules principaux et trois pédicules accessoires assurent l'alimentation vasculaire du sein, (fig.04), (**Sappey, 1874**).



**Figure04:** Vascularisation de la glande mammaire, (Fitoussi, 2010).

### 2-3- Innervation:

Trois groupes de nerfs convergent de façon radiaire vers la PAM :

- un groupe antérieur comprenant les rameaux cutanés antérieurs des 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup>, 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> nerfs intercostaux. Ces rameaux cheminent en avant de la glande.
- un groupe latéral issu des 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> nerfs intercostaux. Ces nerfs se dirigent en arrière du fascia superficialis et perforent la glande après l'avoir abordée par sa face postérieure. Ils cheminent ensuite vers la PAM dans le septum horizontal du sein ;
- un groupe supérieur issu de rameaux descendants du plexus cervical superficiel, (Zemmari, 2017).

### 2-4- Facteurs hormonaux :

#### 2-4-1- La progestérone :

Est l'hormone de la différenciation sécrétoire de la glande mammaire. En synergie avec l'œstradiol, elle agit sur la partie distale du galactophore en induisant la formation et la différenciation des acini. Elle autorise ainsi l'organisation de la glande mammaire en système sécrétoire. Cette sécrétion ne devient elle-même effective que lorsque la prolactine est sécrétée. Par ailleurs, la progestérone s'oppose à l'augmentation de la perméabilité capillaire. Ainsi, la progestérone agit à la fois en synergie avec l'œstradiol (différenciation sécrétoire) mais aussi en antagonisme (perméabilité capillaire). Une eutrophie mammaire implique donc une harmonie quantitative et chronologique entre l'œstradiol et la progestérone, (Marie, 2013).

### 2-4-2- L'œstrogène :

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdes qui régulent le développement et la physiologie du système de reproduction et de la glande mammaire par l'intermédiaire des ER. Ce sont des morphogènes c'est-à-dire qu'ils sont indispensables au développement de certains organes. En ce qui concerne le développement de la glande mammaire, les œstrogènes sont le principal moteur de régulation de la croissance et des ramifications des canaux et des acini. Ils interviennent aussi dans le développement d'autres tissus tels que l'os, le système cardiovasculaire, le cerveau et le système immunitaire, (Yeretssian et al, 2009).

## II. Le sein pathologie :

### 1- L'Histoire naturel du cancer :

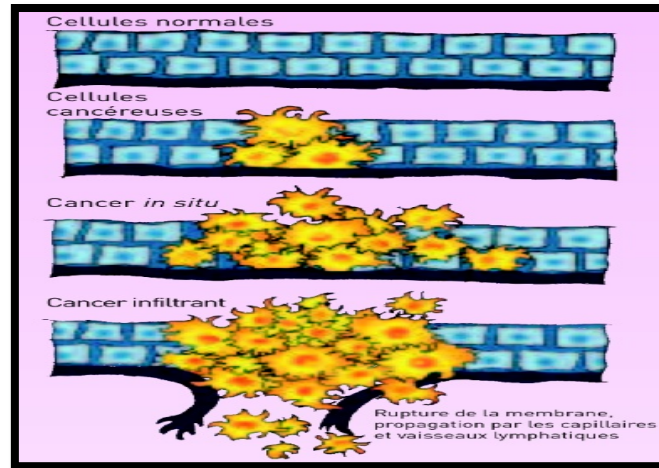
Est dédiée à une analyse, bien que sommaire, mais d'une manière didactique, aux principaux événements qui ont fait leur apparition au cours de l'histoire naturelle du cancer. Des études de biologie et de génétique moléculaire ont suggéré le fait que le processus de l'oncogenèse doit parcourir ces étapes: l'initiation, la promotion et la progression maligne. Les étapes nommées ont comme substrat plusieurs modifications génétiques qui s'accumulent progressivement dans les cellules cancéreuses, ce phénomène étant une caractéristique majeure des néoplasmes malins, (Pirici, 2012).

### 2- Définition du cancer du sein :

Ce cancer survient lorsque, dans les glandes ou les canaux, des cellules se multiplient de façon incontrôlée. Cela forme un petit amas appelé «tumeur maligne ».

Des cellules cancéreuses se détachent parfois de cette tumeur. Elles peuvent alors se retrouver dans d'autres organes et créer d'autres tumeurs cancéreuses : des métastases. Le cancer du sein atteint presque uniquement les femmes. Il peut toucher des femmes de tous âges mais l'âge moyen au moment du diagnostic se situe dans la cinquantaine, ([www.chumontreal.qc.ca](http://www.chumontreal.qc.ca)).

Le terme « carcinome » ou « épithélioma » est parfois utilisé, comme synonyme de « cancer ». En réalité carcinome est un terme spécifique de morphologie microscopique (histologique) qui désigne les plus fréquents des cancers du sein d'origine épithéliale c'est-à-dire dérivant des unités sécrétoires (lobules) ou des canaux lactifères, (fig.05), (Geneva, 1993).



**Figure 05** : cellules cancéreuses, (Institut National Du Cancer, 2008).

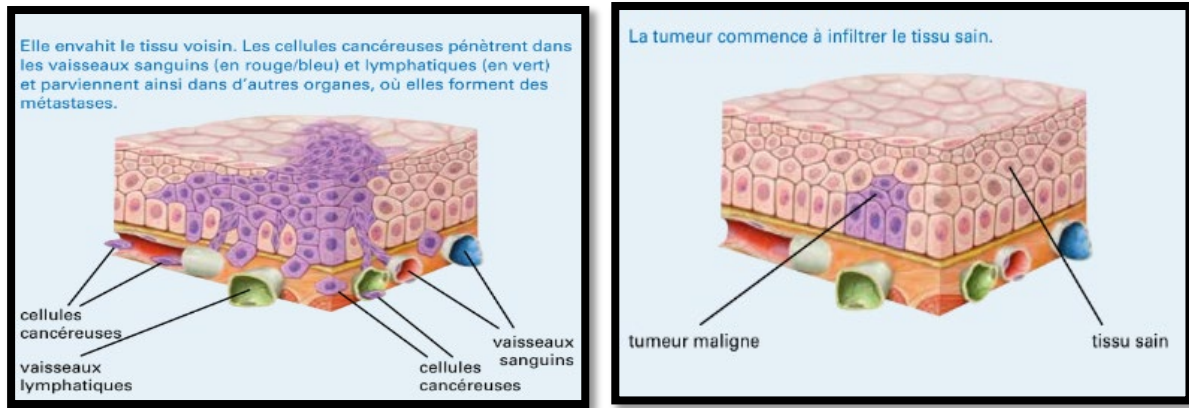
### 3- Classification OMS des tumeurs :

La classification histologique actuellement utilisée est celle de l'OMS. Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la presque totalité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non carcinomateuses sont rares (moins de 1% des cancers du sein), (Rouëssé, 2002).

#### 3-1- Tumeurs bénignes et tumeurs malignes:

En grandissant, les tumeurs bénignes compriment le tissu sain, mais elles ne l'envahissent pas et ne forment pas non plus de métastase. Suivant leur localisation, elles peuvent cependant provoquer des troubles importants en écrasant le tissu normal ou en entraînant le rétrécissement d'un canal comme un nerf ou un vaisseau sanguin. Certaines tumeurs bénignes peuvent se transformer en tumeurs malignes, parfois après de longues années. Les polypes de l'intestin en sont un bon exemple. Ces excroissances qui se développent sur la muqueuse intestinale peuvent constituer un stade précurseur du cancer de l'intestin.

Les tumeurs malignes, quant à elles, envahissent le tissu environnant et l'endommagent. Elles forment également de nouveaux vaisseaux sanguins pour s'approvisionner en éléments nutritifs. Des cellules cancéreuses peuvent se détacher de la tumeur et passer dans les vaisseaux sanguins ou lymphatiques. Elles parviennent ainsi dans les ganglions lymphatiques et dans d'autres organes, où elles forment des métastases. En principe, les cellules cancéreuses conservent les caractéristiques de leur tissu d'origine, de sorte qu'il est possible d'identifier l'organe dont les métastases sont issues, fig6, ([www.liguecancer.ch/brochures](http://www.liguecancer.ch/brochures)).



**Figure 06 :** la formation d'une tumeur, ([www.liguecancer.ch/cancerline](http://www.liguecancer.ch/cancerline)).

### 3-2- Les carcinomes *in situ* (non infiltrants) :

La prolifération épithéliale maligne est dans la lumière soit du canal galactophorique, il s'agit alors d'un carcinome canalaire (CCIS), soit des acinis situés dans les lobules, on parle alors de carcinomelobulaire (CLIS). Dans tous les cas, la membrane basale est toujours respectée et le tissu conjonctif n'est pas envahi. Les carcinomes mammaires *in situ* sont rares (2 à 3% des cas) et généralement de bon pronostic mais peuvent toutefois évoluer vers une forme infiltrant dans environ 20% des cas, (fig.07) (Verbeke, 2010).

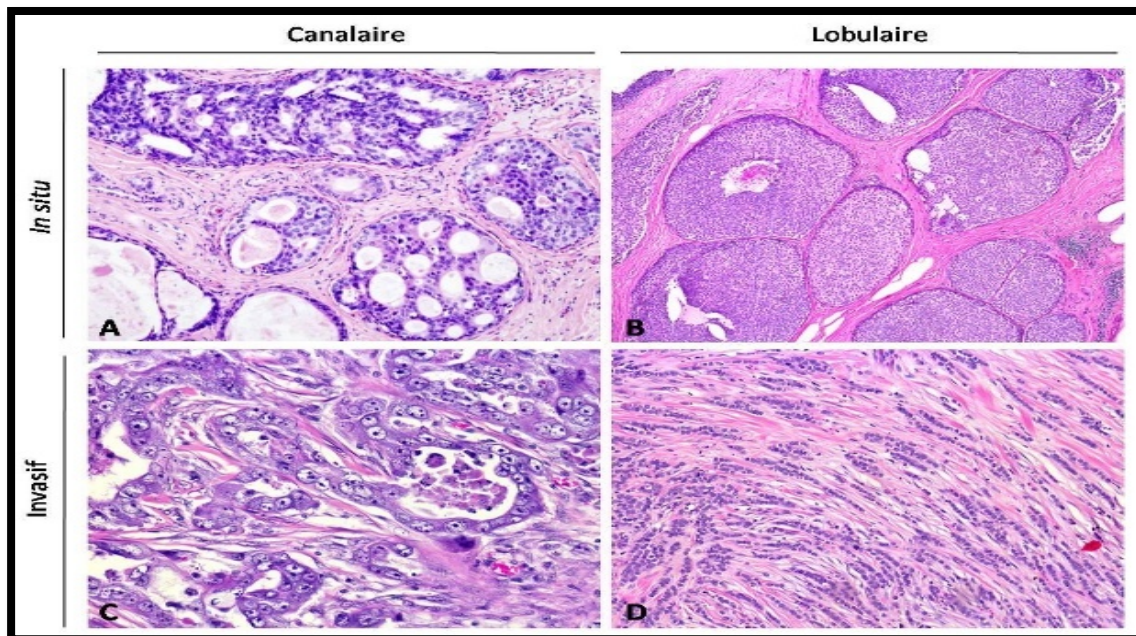
### 3-3- Les carcinomes invasifs (infiltrants) :

Contrairement aux précédents, ce type de carcinome se distingue par la capacité des cellules cancéreuses à envahir le tissu conjonctif voisin. Ce groupe est constitué de plusieurs entités. Le premier type est le carcinome canalaire infiltrant. Il est le plus fréquent des tumeurs malignes soit environ 70% des cancers du sein. L'autre type est le carcinome lobulaire infiltrant représentant 5 à 15% des cancers. De nombreux autres carcinomes plus rares sont également décrits.

Cette classification des tumeurs mammaires est actuellement remise en question par des études transcriptomiques à haut débit. En effet, les cancers du sein représentent une pathologie complexe et hétérogène, résultant de multiples altérations moléculaires. L'étude de cette hétérogénéité est cruciale pour le développement de thérapies plus efficaces ciblant spécifiquement la tumeur de chaque patiente, (fig.07), (Christelle, 2013).

### 3-4- Les carcinomes métastatiques:

Les cellules néoplasiques des carcinomes invasifs envahissent le tissu mammaire environnant et peuvent disséminer à partir de la tumeur primaire, le plus souvent par le réseau lymphatique mais aussi par les vaisseaux sanguins. Les premiers relais ganglionnaires sont colonisés et peuvent être à l'origine d'une dissémination générale du cancer. Cet envahissement des ganglions lymphatiques est le reflet du potentiel métastatique des cellules tumorales et est important dans le pronostic de la tumeur. Dans la plupart des cancers du sein, les métastases sont principalement localisées au niveau des os, des poumons et du cerveau et peuvent être également retrouvées dans le foie, la plèvre et la peau, (fig.07), (Verbeke, 2010).



**Figure07** : Coupes histologiques des principaux types de cancers du sein, <http://www.hopkinsbreastcenter.org/pathology/malignant/>.

### 3-5- Maladie de Paget du mamelon :

On observe dans ce cas un écoulement sanglant ou eczéma du mamelon. L'analyse histologique met en évidence des cellules carcinomateuses au sein du revêtement malpighien du mamelon. Les cellules sont de grandes tailles, polygonales, au cytoplasme abondant clair, au noyau irrégulier et d'architecture lentigineuse. La maladie de Paget du sein témoigne d'un cancer infiltrant ou d'un carcinome intracanaulaire du sein. Il s'agit d'une propagation de cellules carcinomateuses au mamelon, (Tavassoéli et al, 2003).

#### 4- Mécanisme de la cancérogénèse :

Le processus de cancérogénèse est long et comporte quatre phases : l'initiation, promotion, la progression et l'invasion, (fig.08).

##### 4-1- Initiation:

Est la première phase de la cancérogénèse, elle ne concerne qu'une seule cellule, ainsi « initiée » sur la voie de la cancérisation. Cette phase correspond à l'introduction dans l'ADN d'une ou plusieurs lésions, transmissibles au génome des cellules filles. Ces modifications sont toxiques, ils sont dits génotoxiques et peuvent être d'origine chimique, physique ou biologique. Il existe des systèmes capables d'effectuer des réparations de l'ADN qui sont fidèles dans la majorité des cas, cependant ils peuvent se révéler infidèles ou fautifs, et dans ce cas réparer des lésions en insérant d'autres erreurs. L'accumulation des anomalies génétiques aboutit alors à des mutations de gènes importants dans le maintien de l'intégrité et des caractéristiques de chaque type cellulaire, (Weinberg, 1996).

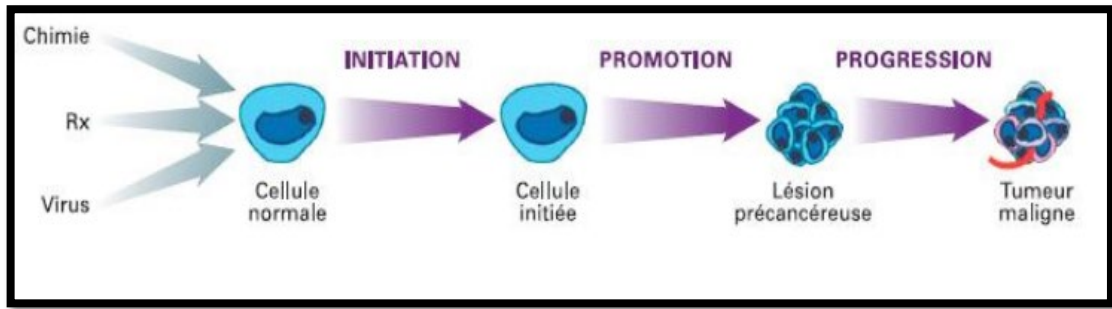
##### 4-2- La promotion :

Celle-ci est liée à l'induction d'une prolifération cellulaire qui provoque l'expansion clonale de la cellule initiée, soit que ce clone soit plus sensible que les cellules saines aux facteurs de croissance présents, soit que l'apoptose y soit diminuée.

La plus part des agents de promotion stimulent la prolifération, mais souvent de façon temporaire ou réversible. L'irritation mécanique prolongée et l'inflammation sont de promotion car, administrés en quantité importante, ils provoquent des lésions irréversibles conduisant à la mort d'une proportion élevée de cellules. L'intensité des événements dépend de la dose des agents de promotion, car ces derniers fonctionnent par effet seuil. Les lésions causées peuvent être réversibles quand l'exposition est faible. Par contre la présence chronique ou itérative de l'agent promoteur pendant cette phase peut conduire à des lésions précancéreuses qui persistent à croître malgré l'interruption de l'exposition. Elle devient autonome. La deuxième phase de la cancérogénèse a alors été accomplie. Celle-ci se termine quand un clone de cellules initiées est devenu capable d'échapper au contrôle tissulaire pour entrer dans la troisième phase: la progression tumorale, (Lauer-Fields et al, 2001).

##### 4-3- Progression :

Pendant cette phase, les cellules filles de la cellule transformée sont sélectionnées pour donner des clones plus malins et pour acquérir des propriétés leur permettant par exemple de métastaser. C'est l'étape finale dans le développement d'un cancer qui devient cliniquement détectable, (<http://www.sante-environnement-travail.fr>).



**Figure08** : Etapes de la cancérogénèse, (FNCLCC, 2009).

### 5- Classification TNM :

Le TNM est un système de classement reposant sur l'extension tumorale locale, régionale (ganglionnaire) et métastatique. Il a été établi pour permettre des comparaisons en particulier internationales. Il était initialement exclusivement clinique afin d'être applicable par toutes les équipes (classement simple à faire, peu coûteux). Son succès, les progrès de la cancérologie, le désir de faire des comparaisons plus fines, ont fait introduire dans ce classement certaines données de l'imagerie et les constatations anatomopathologiques.

Les classements ont varié dans le temps de sorte qu'il est nécessaire de préciser l'année du TNM choisi pour décrire une population tumorale. Les dimensions centimétriques de T et de N sont de plus en plus prises en compte au détriment des autres critères.

D'une certaine façon, le TNM résume l'observation mais ne la remplace pas. A lui seul, il ne peut permettre de poser les indications de façon correcte.

Le T va de 1 à 3 ou 4 selon l'extension locale révélée par le bilan clinico-radiologique. Le pT va de 1 à 3 ou 4 et tient compte de l'extension tumorale constatée par l'examen anatomopathologique de la pièce opératoire.

Le N va de N0 à N3 selon la taille et le siège des adénopathies. N- et N+ sont utilisés en l'absence ou en présence d'un envahissement ganglionnaire à l'analyse anatomopathologique des ganglions.

Le M correspond à l'existence (M1) ou non (M0) de métastases.

Pour les comparaisons, on peut regrouper les cas en stades selon le schéma habituel suivant :

- Stade I : T1N0M0
- Stade II : T1 N1 M0 et T2 N0 ou N1
- Stade III : T1 N2 T2 N2 T3 N0 ou N1 ou N2
- Stade IV : T4 et/ou N3 et/ou M positif, fig.09, (Singletary. SE et al, 2003).

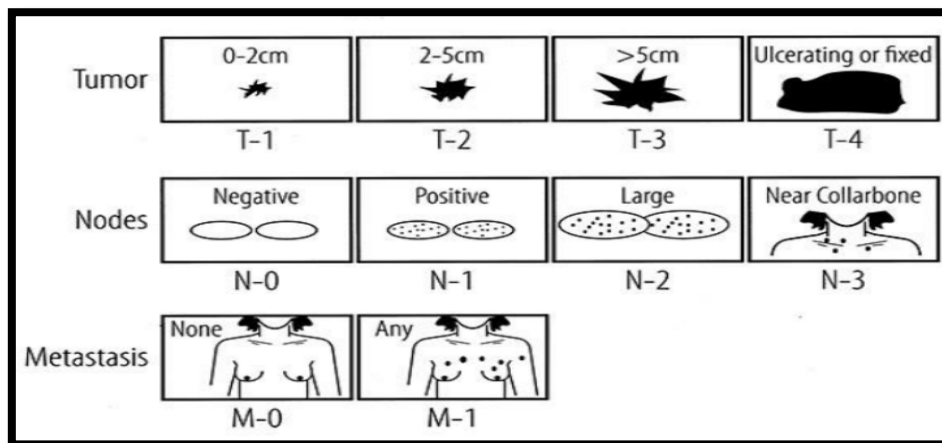


Figure09 :Classification TNM du cancer du sein, (<http://www.cbcbf.org>).

## 6- Caractérisation des cancers du sein par immunohistochimie:

### 6-1- Grade histologique:

Le type histologique du cancer infiltrant a une valeur pronostique reconnue.

Le rôle du grade histologique est maintenant largement admis pour les cancers infiltrants; le système le plus utilisé est le « grade de Scarff Bloom Richardson » (SBR), revu par le groupe de Nottingham et repris par l'EuropeanCommunityWorking group for BreastPathology.

La méthode du *grading* SBR consiste à évaluer trois paramètres morphologiques:

- La formation de tubules
- Le pléomorphisme nucléaire
- La fréquence des mitoses.

Un score allant de 1 à 3est attribué à chacun de ces paramètres. Les différents scores sont additionnés pour obtenir le grade histologique global.

- Grade I = score 3-5
- Grade II = score 6-7
- Grade III = score 8-9

Les cancers de grade I sont mieux différenciés tandis que les cancers de grade III le sont moins. Les cancers indifférenciés ont habituellement une évolution plus grave et plus rapide que les cancers différenciés, mais ils se montrent aussi plus sensibles aux traitements néoadjuvants, ([www.chumontreal.qc.ca](http://www.chumontreal.qc.ca)).

### 6-2- L'envahissement ganglionnaire :

Le cancer du sein est très lymphophile. L'envahissement ganglionnaire est habituellement considéré comme le plus important des facteurs pronostiques. Sa présence est corrélée à la taille de la tumeur et au grade SBR. D'autres éléments tels que la taille ganglionnaire, l'importance de l'envahissement et la rupture capsulaire sont également discutés. Actuellement, beaucoup d'équipes s'intéressent au caractère micro métastatique de l'envahissement déterminé par immuno-marquage, (**Mauriet *al*, 1999**).

### 6-3- Statut HER2 :

La protéine HER2 (humanepidermalgrowth)est un récepteur transmembranaire qui possède une activité tyrosinekinase. Elle appartient à la famille des récepteurs de l'épidermalgrowth factor. Son activation se traduit par uneprolifération des cellules tumorales humaines qui surexpriment HER2.Dans 15 à 20% des cancers du sein,HER2 est amplifiéet surexprimé.Larecherche dustatut HER de la tumeur est obtenue par immunohistochimie ou par amplification génique (hybridation in situen fluorescence: FISH),(**Saglier *et al*, 2009**).

### 6-4- L'antigène Ki-67 :

La protéine Ki-67 est une protéine produite par le corps qui influence le processus de division des cellules cancéreuses du sein et, par là-même, leur vitesse de croissance (prolifération). Un taux élevé de Ki-67 dans les cellules cancéreuses peut indiquer une vitesse de croissance accrue,(**[www.liguecancer.ch/brochures](http://www.liguecancer.ch/brochures)**).

## 7- Les marqueurs tumoraux :

Le cancer du sein a la particularité que deux de ses facteurs pronostiques et prédictifs, nominalement les récepteurs hormonaux (RH) et l'oncoprotéine HER-2, sont dans le même temps des cibles thérapeutiques et demeurent, malgré les progrès récents liés aux signatures multigéniques, la clé de voute du pronostic et des choix thérapeutiques, (**Jacot *et al*, 2010**).

### 7-1- Récepteur à l'œstrogène (RE) :

Le récepteur à l'œstrogène fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires Il agit comme un régulateur de la transcription nucléaire. La première identification de ce récepteur est attribuable à l'équipe de D. Toft en 1966. Il a été cloné et séquencé à partir de cellules épithéliales mammaires cancéreuses, (**Sanchez, 2003**).

Dans les années 1970, Mc Guire et al. ont montré l'importance clinique de la quantification des RE comme facteur pronostique et prédictif du bénéfice de l'hormonothérapie dans le CS. De nombreuses publications ont confirmé que le pourcentage de cellules tumorales exprimant les RE a une valeur pronostique et prédictive importante : la survie globale, la survie sans récurrence et la réponse à l'hormonothérapie sont positivement corrélées au taux de RE, **(Barnes et al, 1996)**.

### 7-2- Récepteur à La progestérone (RP) :

Le PR est exprimé dans 60 à 70 % des cancers du sein. Dans les carcinomes, la proportion de cellules carcinomateuses positives varie de 1% à 100%. On observera en microscopie optique un marquage du noyau des cellules carcinomateuses. Les autres cellules présentes dans ou autour de la tumeur tels que les fibroblastes, adipocytes, lymphocytes ne sont pas marquées. Là aussi il y a une corrélation directe entre le niveau d'expression du PR et la réponse aux traitements hormonaux. Malgré le fait que l'expression du PR dépend de celle d'ER±, ils ne sont pas toujours exprimés simultanément dans les carcinomes. Quatre combinaisons sont donc observables : le phénotype [ER±+, PR+] est le plus fréquent (70%) et est associé avec la meilleure réponse thérapeutique ; les carcinomes négatifs pour ER± et PR [ER±-, PR-] représentent 25% des tumeurs et ne répondent pas aux thérapeutiques hormonales. Les deux autres phénotypes [ER+, PR-] et [ER-, PR+] montrent des réponses intermédiaires, **(Lakhani et al, 2012)**.

### 7-3- Récepteur à Her2 :

La surexpression de l'HER2 joue un rôle dans la carcinogenèse et la progression du cancer du sein. Elle apparaît tôt et reste stable durant l'histoire naturelle de la maladie, **(Dansereau.S et Ferron.D, 2006)**.

Dans les tissus mammaires sains, on compte environ 20000 récepteurs Her2 par cellule. Dans les cancers de sein présentant une amplification du gène Her2, on dénombre jusqu'à 100 fois plus de récepteurs par cellule, **(Manner et al 2004)**.

La surexpression de l'Her2, est rapportée dans approximativement 30% des cancers mammaires invasifs, mais aussi dans 60 à 70% des carcinomes canaux in situ, principalement peu différenciés, de haut grade histologique, de type comédocarcinome. **(Moreno , 1997)**.

Des études de la famille des EGFR dans des modèles du cancer du sein ont montré que l'HER2 est le récepteur de la famille des EGFR le plus largement exprimé dans la cellule

mammaire et que dans le cancer du sein, l'hétérodimère le plus représenté est HER2/HER3, (Ménard et al, 2000).

### III. Classification moléculaire:

A partir de l'année 2000: les études fondatrices du profil génétique lancées par les travaux pionniers de Sorlie et Perou ont stipulé que l'hétérogénéité clinique et morphologique des cancers mammaires était associée à une hétérogénéité moléculaire se situant à un niveau transcriptionnel.

Analyse du profil d'expression génique du cancer du sein, par l'étude de la variation globale de l'expression des gènes de 115 tumeurs du sein sur des puces à ADN utilisant un panel de 534 gènes, a permis de reclasser la population en 5 sous-types moléculaires, (Sorlie et al, 2001).

#### 1- L'objectif:

La classification moléculaire permet :

- l'établissement d'une nouvelle taxonomie de cancer du sein,
- la définition d'index pronostiques basés sur les caractéristiques génétiques,
- la prédiction de la réponse aux différents traitements antitumoraux,
- l'identification de cibles moléculaires permettant de nouveaux traitements cibles, (Dieras, 2007).

#### 2- Sous type moléculaire:

##### 2-1- Carcinomes de type Luminal A:

Sur le plan du phénotype, en pratique clinique, on rappelle que ce type correspond aux carcinomes tubuleux, Et à des carcinomes canaux infiltrants (CCI) ou à des carcinomes lobulaires infiltrants (CLI) de grade I ou II, (Taneja, 2008).

Représentant une réceptivité hormonale importante (ER $\pm$ ++) et une faible prolifération. Expression des cytokératines luminales 8, 18 et du gène GATA3 impliqué dans le contrôle de la croissance et le maintien de la différenciation des tumeurs ER+. Généralement traités par hormonothérapie et de bon pronostic. P53 muté dans moins de 15% des cas, (Verbeke, 2010).

### 2-2- Carcinomes de type Luminal B:

Représente 15 à 20 % des cancers du sein et présente un phénotype plus agressif. Ces tumeurs sont souvent de plus haut grade histologique avec un index de prolifération plus élevé et un pronostic plus péjoratif. Ce sous-type présente un risque de récurrence plus élevé et un taux de survie après récurrence plus bas que pour le sous-type luminal A. Ces tumeurs présentent un certain degré d'instabilité génomique. Elles sont hormonosensibles mais bénéficient également de la chimiothérapie, voire d'une thérapie anti-Her2 quand elles surexpriment Her2. En immunohistochimie, le sous-type luminal B est défini comme RE positif, Her2 négatif et Ki67 élevé ou RE et Her2 positifs. En effet, 30 % des tumeurs Her2 positives appartiennent au sous-type luminal B. Cependant, 6 % des sous-types luminaux B sont RE négatifs et Her2 négatifs, et c'est là une des failles de cette classification (Emmanuelle, 2012).

### 2-3- Carcinomes de type HER2:

Représentent 15 à 20 % des cancers du sein. Le statut Her2 positif confère une agressivité biologique et clinique. Ces tumeurs sont caractérisées par une forte surexpression de plusieurs gènes de l'amplification Her2 et une négativité des récepteurs hormonaux. Le récepteur Her2 est codé par le gène Her2 qui est un pro-oncogène situé sur le chromosome 17. Ce sont des tumeurs hautement proliférantes avec un grade histopronostique élevé et fréquemment des mutations p53. Le profil immunohistochimique Her2 positif et RE négatif ne correspond pas tout à fait au sous-type moléculaire puisque seuls 70 % des tumeurs Her2 enrichies par puces à ADN surexpriment la protéine en immunohistochimie. À l'inverse, toutes les tumeurs avec amplification ou surexpression d'Her2 ne sont pas incluses dans le cluster Her2 par puces à ADN, (Audrey, 2014).

### 2-4- Carcinomes de type basal-like:

Tumeurs dites «triples négatives» c'est à dire n'exprimant pas les récepteurs hormonaux (ER et PR) et ne surexprimant pas le récepteur HER2, (Verbeke, 2010).

Le type basal-like est caractérisé en analyse transcriptomique par un très faible niveau d'expression des gènes des RO, associé à une expression forte des gènes tels que Cytokératines 5,6 et 17, EGFR. Sur le plan génomique, les carcinomes basal-like présentent de nombreuses altérations. Génomiques avec plusieurs gains et pertes de segments chromosomiques (Vincent-Salomon et al, 2007).

Sur le plan morphologique les carcinomes basal-like sont de type canalaire le plus souvent de grade III peu différenciés à marges "refoulantes" associés à des plages de nécrose

géographique souvent centrale avec un infiltrat inflammatoire lymphocytaire en périphérie. Les cellules présentent des atypies nucléaires souvent marquées et un index mitotique élevé. Les cellules tumorales sont agencées en travées sans différenciation glandulaire, (**Livasyet *al*, 2006**).

### 2-5- Carcinomes de type normale-like:

Caractérisé par un profil triple négatif et par l'expression de gènes observés dans le tissu mammaire normal et de tissu adipeux.

Par la suite, la même équipe a affiné cette classification sur plusieurs cohortes de patientes porteuses d'un cancer du sein en utilisant un panel de gènes intrinsèques, et a montré que le groupe luminal/RE+ pouvait être subdivisé en au moins deux sous-groupes de pronostics différents, luminal A (bon pronostic) et luminal B (mauvais pronostic, incluant aussi des tumeurs RE+HER2+), sur la base notamment de la présence ou non d'un cluster de gènes liés à la prolifération, (**Sorlie et *al*, 2003**).

**Tableau 01:** Critères utilisés pour la classification moléculaire du cancer du sein.

| Sous type moléculaire | Critères utilisés                        |
|-----------------------|--|
| Luminal A             | RE (+), RP (+), Her2 (-) et Ki 67 < 20 % |
| Luminal B             | RE (+), RP (+), Her2 (+) et Ki 67 élevé  |
| Her 2                 | RE (-), RP (-) et Her2 (+)               |
| Basal like            | RE (-), RP (-), Her2 (-)                 |

# Chapitre II



Matériel

Et Méthodes

**I- Matériel :**

Notre travail est réalisé à Mostaganem, de 26 Février à 30 Avril au niveau de l'hôpital de jour, mazagan service d'oncologie avec Docteur NEGADI et l'hôpital de CHIGIVARA dans laboratoire d'anatomopathologie avec Docteur KERFOUF.

Notre étude est effectuée sur des patientes porteuses d'un nodule, recrutées pour une tumorectomie ou mastectomie avec curage axillaire.

Seuls les cas uniques de carcinomes canaux et lobulaires infiltrants du sein ont été retenus et c'est ainsi que nous avons sélectionné 130 patientes pour lesquelles les différentes caractéristiques tumorales sont précisées.

**II- Méthodes :**

Pour la recherche de ce travail, nous avons utilisé les techniques histologiques et immunohistochimique pour l'analyse de différents prélèvements.

Les patientes atteintes de cancers du sein admises en consultations ou en traitement, aux services d'Oncologie médicale, Les dossiers de ces patientes ont servi à répondre au questionnaire médical que nous avons établi afin de réaliser une étude épidémiologique et d'établir des corrélations entre les différents paramètres incriminés dans la survenue du cancer du sein.

**1- Technique histologique:**

Les tumeurs récupérées sont immédiatement mises dans un liquide fixateur. La pièce est mesurée (Longueur-largeur) et sa localisation est déterminée. La pièce est ensuite préparée à la microscopie en suivant les étapes ci-après, (fig. 10) :

**1-1- Fixation :**

Afin de protéger les pièces de toute atteinte extérieure (infection) et de maintenir les constituants cellulaires des tissus étudiés aussi proche que possible de leur état naturel, les pièces sont fixées dans du Formol 10% pendant au moins 18 h.

**1-2- Déshydratation :**

Les pièces fixées sont placées dans quatre bains d'acétone, à raison d'1h par bain à une température de 37°C, puis introduites dans un bain de Toluène pendant 30 min, suivi d'un bain de paraffine et toluène 30 min.

**1-3- L'inclusion :**

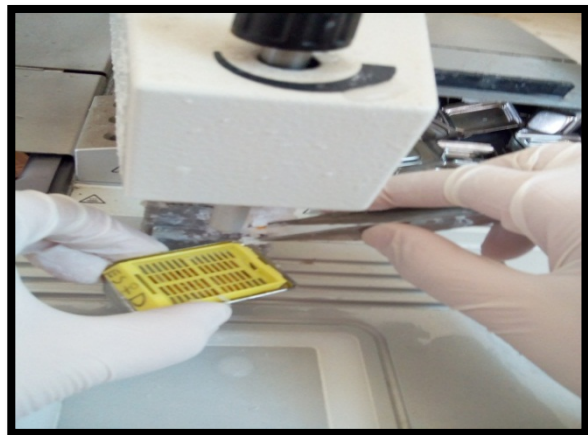
L'inclusion se fait dans des cassettes spéciales, la paraffine chauffée à une température de 56 à 58°C pendant 30 min à 1heure est préalablement filtrée puis versée dans le moule, la pièce étudiée après avoir été orientée est alors immergée dans la paraffine et entièrement recouverte, les blocs démoulés sont étiquetés afin de les référencer.

**1-4- Réalisation des coupes :**

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



Placer la pièce dans le moule.



Inclusion en paraffine : Réalisation des blocs.



Refroidissement des blocs sur plaque froide.



Les coupes au microtome

**Figure 10:** les Etapes de la technique histologique.

**1-5- Réhydratation :**

Une fois les plans de coupe réalisés, ils sont déposés sur une lame de verre et la paraffine est dissoute par un solvant organique avant un temps de réhydratation par des solutions

alcooliques de plus en plus diluées. Quand la réhydratation est achevée, les coupes sont colorées.

### 1-6- coloration :

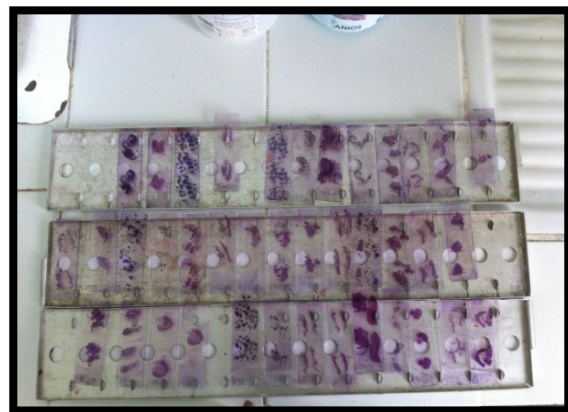
La coloration utilisée est une coloration de type Hématoxyline-Eosine (HE), largement utilisée en histologie. Elle consiste à plonger les coupes dans deux bains de toluène avec des temps respectifs de 5 et 10 min pour dissoudre la paraffine. Ensuite les coupes sont immergées successivement dans des bains d'alcool de concentrations croissantes. Les coupes sont ensuite rincées dans un bain d'eau distillée.

La coloration correspond à l'imprégnation des cellules par les deux colorants spécifiques, les lames sont d'abord trempées dans l'hémalum pendant 2 à 4 min, suivi d'un lavage dans l'eau courante pendant 5 mn, les coupes sont ensuite immergées dans l'éosine. L'excès d'éosine est éliminé par un lavage abondant à l'eau courante. La phase de montage représente la dernière phase de la coloration. Elle consiste à couvrir la coupe par une lamelle soigneusement posée sur une grosse goutte de leucit, des petites pressions sur la lamelle permettent l'élimination complète des bulles d'air, qui entravent l'observation au microscope, tableau 02, (fig. 11).

| Colorant     | affinité   | Coloration |
|--------------|------------|------------|
| Hématoxyline | Noyaux     | Violet     |
| L'éosine     | Cytoplasme | Rose       |



Batterie de Hemalum-Eosine.



Séchage des lames après coloration Hemalum-Eosine.

**Figure 11:** Les différentes étapes de la coloration.

**Tableau 02** : les réactions de coloration l'HEMALUN-EOSINE.

| Réactions       | Solution utilisée                        | Durée       |
|-----------------|--|-------------|
| Fixation        | Formole                                  | 18 heures   |
| Déshydratation  | 2 bains Formole                          | 12 heures   |
|                 | 4 bains Alcool                           |             |
|                 | 4 bains Toluène                          |             |
|                 | 2 bains Paraffine                        |             |
| Déparaffinage   | Toluène I                                | 10minutes   |
|                 | Toluène II                               | 10minutes   |
| Coloration      | Ethanol                                  | 5 minutes   |
|                 | Ethanol                                  | 5 minutes   |
|                 | Ethanol                                  | 5 minutes   |
|                 | Héματοxyline                             | 5 minutes   |
|                 | Eau acide                                | 30 secondes |
|                 | Bicarbonate de Lithium                   | 30 secondes |
|                 | Eosine alcoolique                        | 30 secondes |
|                 | Ethanol                                  | 30 secondes |
|                 | Ethanol                                  | 30 secondes |
|                 | Acétone                                  | 30 secondes |
|                 | Acétone                                  | 30 secondes |
| Eclaircissement | Toluène III                              | 10minutes   |
| Montage         | Lamelle montée sur lame avec de l'Eukitt |             |

**1-7- Etude en microscopie optique :**

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

**2- Technique immunohistochimique :**

Les techniques d'immunohistochimie (IHC) sont réalisées sur les prélèvements fixés et inclus en paraffine contenant les tumeurs primitives pour la détermination des facteurs moléculaires avec les anticorps spécifiques. Après le repérage de la composante carcinomateuse infiltrante, les carcinomes canaux ou lobulaires infiltrants sont délimités sur lame en vue de l'étude immunohistochimique. La technique immunohistochimique est comparable pour les récepteurs hormonaux RH, pour l'oncoprotéine HER2 et pour les cytokératines en tenant compte des spécificités de chaque anticorps. La sensibilité et la spécificité de détection immunohistochimique des récepteurs sont très variables en fonction du fixateur, du type de prétraitement, de l'anticorps primaire et de la méthode de révélation.

La première partie de l'étude IHC permet de préciser le statut des récepteurs RE/RP et HER2 pour les 120 tumeurs, (fig.12, 13, 14).

**2-1- -Le repérage de la composante carcinomateuse infiltrante :**

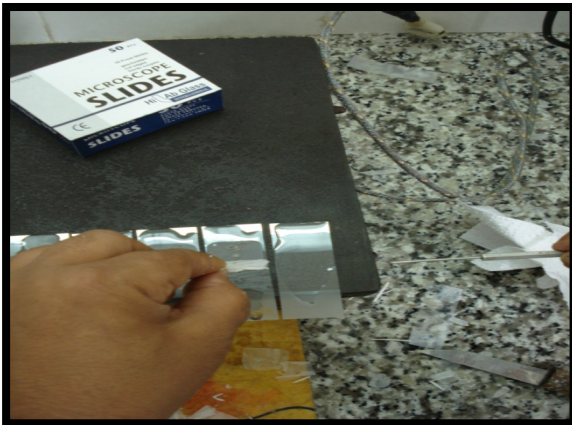
Ce repérage est réalisé en l'histologie. C'est une étape indispensable puisque la mise en évidence des récepteurs par les anticorps spécifiques au niveau de la tumeur ne prend en compte que la composante infiltrante. La réalisation des témoins internes et/ou externes est capitale.

**2-2- La confection des coupes :**

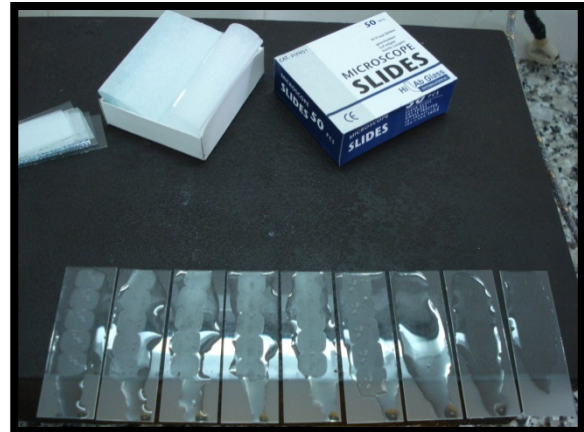
Des coupes de 2 à 4  $\mu$  réalisées au microtome sont montées sur lames traitées au 3-aminopropyltriéthoxy-silane à 2%(Sigma). Les coupes sont étiquetées (RE, RP, HER2 et CK5/6) et collées à l'albumine bovine (Dako) sur plaque chauffante.

**2-3- Le prétraitement thermique :**

Les lames, rangées dos à dos et placées dans un porte lames, subissent un prétraitement thermique dans l'étuve à 40°C durant 24 heures.



Les coupes réalisées au microtome sont collées sur les lames à l'aide d'albumine bovine.



Séchage les coupes sur la plaque chauffante.



Etiquetage les coupes correspondant au bloc.



Plaque porte lames.



Prétraitement thermique à l'étuve.

**Figure 12:** Etapes de l'immunohistochimie.

**2-4- Le déparaffinage :**

Est réalisé dans deux bains de toluène de 05 minutes à température ambiante.

**2-5- La réhydratation :**

Elle s'effectue à l'aide de deux bains d'éthanol absolu, suivis de deux autres bains d'eau distillée durant 05 minutes chacun.

**2-6- Le démasquage des sites antigéniques :**

Il a pour but de restaurer en plaçant la solution de démasquage durant 45 minutes à 90°C dans un bain Marie, puis à température ambiante pendant 20 minutes, suivi par 2 bains de l'eau distillé et 2 bains de TBS à 10% durant 5 minutes chacun.

Les antigènes à localiser avant l'incubation avec les anticorps.

Les lames sont mises dans la solution de démasquage.

**2-7- Le blocage des activités enzymatiques :**

Après avoir repéré les composantes infiltrants, le prélèvement est entouré à l'aide du Dakopen sur la lame pour délimiter la zone choisie.

Le blocage est réalisé à l'aide de deux gouttes HRP1 (Dual Endogenous Enzyme bloc K 4065 Dakko) déposées sur la zone délimitée. Cette réaction dure 10 minutes dans la chambre humide suivie de deux bains de TBS pendant 5 minutes chacun.

- Pour la mise en évidence des RE/RP : on utilise la solution Dakocytomation Target Retrieval solution p H9 Reeady-to-use S 2368.

- Pour la recherche de l'expression de l'oncoprotéine HER2 et les cytokératines CK 5/6 : un tampon citrate à pH 6 est utilisé.

**2-8- L'incubation avec l'anticorps primaire :**

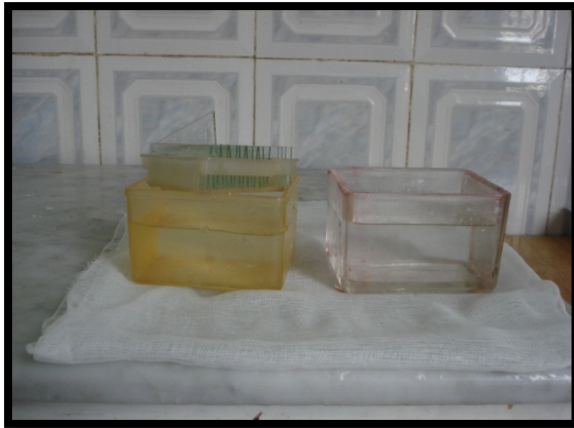
Dans la chambre humide à une température ambiante de 18 à 25°C, l'incubation avec l'anticorps primaire pendant 1 heure a lieu, suivi de deux bains de TBS pendant 5 minutes. Une à deux gouttes d'anticorps primaire est déposée dans les limites du marquage.

- Pour les récepteurs nucléaires, les anticorps sont prédilués et prêts à l'utilisation:

RE: 1D5 DaKo code 1575.

RP: Pg R 636 DaKo cde 1630.

- Pour le récepteur membranaire, l'anticorps est commercialisé et livré par DaKo concentré (polyclonal anti-humén C-erbB2 DaKo réf A0485). La dilution au 1/200 est réalisée avec le diluant d'anticorps (l'antibody diluant with Back ground Reducing components R- S3022).
- Pour les récepteurs cytoplasmiques, l'anticorps est prédilué et prêt à l'utilisation: CK 5/6: D 5/16 B4, Ref m 7237. Lot: 00042599.



Déparaffinage: 2 bains de toluène.



Solution de démasquage dans le bain marie.



Dilution de la solution PBS.



Batterie des anti-corps RH, HER2, CK 5/6.



Dépôt des anticorps sur les lames.

Chambre humide.

**Figure13** : Etapes de l'immunohistochimie.**2-9- L'incubation avec l'anticorps secondaire:**

Une à deux gouttes du HRP2 (Label polymer-HRP K 4065) sont déposées sur la zone délimitée de chaque lame. La réaction durera 30minutes dans la chambre humide suivi de deux bains de TBS de 5 minutes chacun.

**2-10- La révélation:**

La solution de révélation est préparée extemporanément à partir de 750 $\mu$ l de DAB 3(DAB + Substrate Buffer K 4065) et 3 gouttes de DAB + Chromogen (K 4056), une à deux gouttes de cette dernière sont déposées sur chaque lame durant 2 minutes suivi d'un rinçage à l'eau distillée.

**2-11- La contre coloration:**

Les lames remises dos à dos dans un porte lames sont plongées dans l'Hémalun de MAYER durant 5 minutes.

**2-12- Le rinçage et la révélation:**

Les lames sont trempées dans un bain d'eau courante ensuite l'eau ammoniacale (à 2%) suivi deux bains d'eau distillée.

**2-13- Le montage:**

Le montage des lamelles sur lames a lieu dans un milieu de montage miscible à l'eau fourni par DAKO (C0565 DakoCytomationGlycerogelMontingMedim).

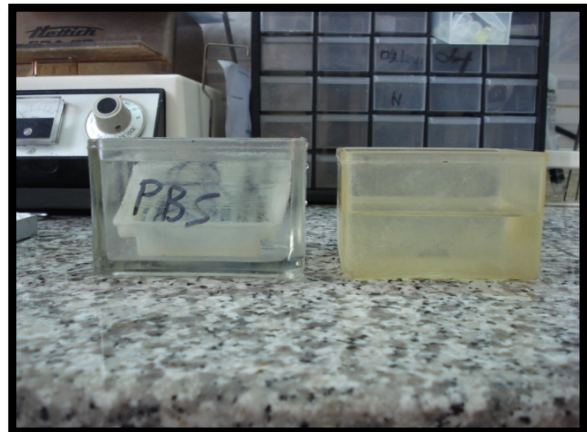
**2-14- L'observation microscopique:**

L'observation est faite au faible grossissement en vue de repérer la structure d'ensemble; puis au moyen et fort grossissement pour l'appréciation du marquage dans l'ordre suivant:

- Les lames traitées avec les anticorps anti-récepteurs nucléaires (RE et RP).
- Les lames traitées avec les anticorps anti-oncoprotéine membranaires HER2.
- Les lames traitées avec les anticorps anti-pan-cytokératines CK 5/6.



Plaque porte lames avec les anticorps secondaires des RH, CK5/6 et HER2.



2 Bains PBS.



Batterie de DAB 3.



Le résultat des lames après la réaction du DAB 3.

**Figure 14 :** Etapes de l'immunohistochimie.

**2-15- La lecture des lames:**

La lecture des lames marquées par les anticorps anti récepteurs hormonaux est différente de celle des lames marquées par l'anticorps anti-oncoprotéine HER2 et l'anticorps anti-pan-cytokératines CK5/6.

- **Pour les RH :**

Les résultats d'une analyse immunohistochimique des récepteurs hormonaux doivent être exprimés en pourcentage de cellules tumorales invasives, marquées, associées à l'intensité de ce marquage (intensité estimée sur une échelle de 0 à 3). Bien que certains auteurs utilisent une valeur seuil de positivité à 5, voire même à 1%, il est classique et recommandé d'utiliser la valeur seuil de 10%. Cette valeur donne les meilleurs résultats de concordance avec la biochimie, et surtout avec l'évolution clinique.

- **Pour l'oncoprotéine HER2:**

La lecture se fait en utilisant un score dans lequel le pourcentage de cellules marquées, l'intensité du marquage et le caractère continu ou discontinu du marquage membranaire des cellules carcinomateuses infiltrantes sont pris en considération. Seule le marquage membranaire des éléments carcinomateux invasifs est retenu. La lecture est représentée par la grille de marquage de l'oncoprotéine HER2 suivante.

- **Pour les CK 5/6 :**

Les résultats de l'analyse immunohistochimique des récepteurs cytologiques sont exprimés en pourcentage de cellules marquées en prenant en considération la valeur seuil de 10%.

# Chapitre III



Résultats

ET Discussion

**I-RESULTATS ET DISCUSSION :**

Les résultats de notre étude porte sur 130 cas de carcinomes mammaires infiltrants, montre une répartition variable selon les paramètres cliniques, histopathologiques et biologiques, diagnostiqués au service d'anatomie pathologique et déterminer par immunohistochimie.

Les résultats sont exposés en trois parties :

1 - Etude des caractéristiques globales des 130 cas de carcinomes infiltrants.

1-1 -Analyse des paramètres clinico-pathologiques des carcinomes infiltrats.

1-2 Analyse Biologique.

2- Détermination immunohistochimie des sous - types moléculaires.

**1- Caractéristiques globale de carcinome infiltrant :**

Notre analyse de l'ensemble des tumeurs (130 cas) montre une répartition variable selon les paramètres cliniques, histopathologiques et biologiques.

**1-1- Caractéristiques clinico-histopathologiques :**

Dans notre travail nous avons réalisé la répartition des patientes selon les paramètres cliniques. L'étude histologique des prélèvements permet de préciser les paramètres tumoraux tels que : la taille tumorale, le type histologique, le grade SBR, l'envahissement ganglionnaire.

**1-1-1- Répartition selon Age des patientes (130 cas):**

L'âge des patientes varie de 24 à 75 ans avec un âge moyen de 49ans.

- Les résultats montrent que La tranche d'âge la plus touchée se situe entre [40-49] ans avec un pourcentage de (32,31%), les femmes de moins de 50 ans représentent plus de la moitié soit (52,31%), (fig.15), ce qui concorde avec ceux de la littérature les travaux de GUEDOUAR et al (2013, 2014, 2016).

- L'âge est un facteur clinique important car il est lié au statut hormonal de la femme, (moins de 50 ans étant l'âge de la ménopause admis statistiquement).

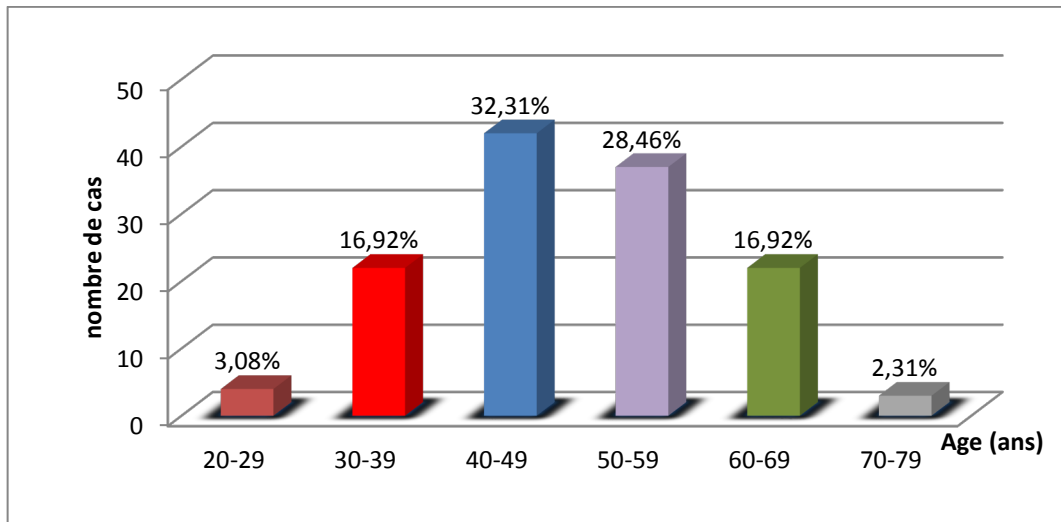


Figure15: Répartition des patientes selon l'âge.

**1-1-2- Répartition selon la taille tumorale :**

Dans notre série La taille varie de pT1 à pT4 (0,3 cm et 9,3) cm avec une prédominance de pT1 (48,46%), il s'agit de la taille post chirurgicale (pT) des tumeurs déterminées par la classification pTNM, (fig.16).

Notre résultat comparé aux données de la littérature montre les mêmes proportions avec la prédominance de la taille pT1 et pT2.

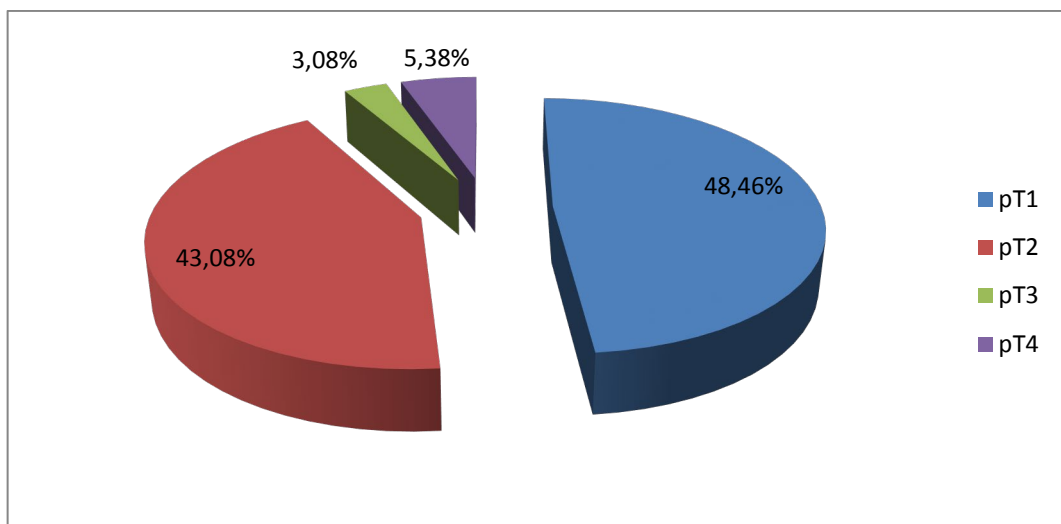
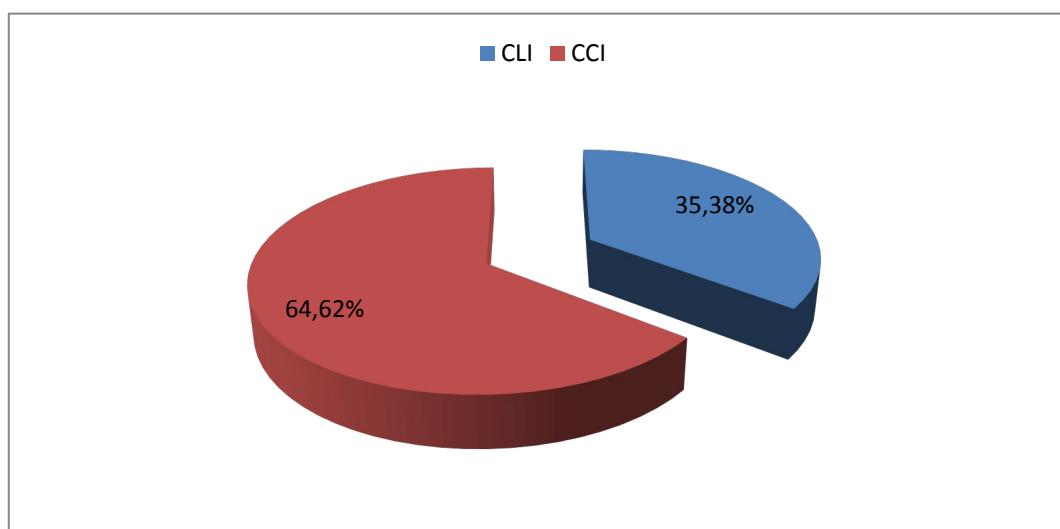


Figure 16 : répartition des tumeurs selon la taille pt.

**1-1-3- Répartition des tumeurs selon le type histologique :**

Le type histologique étudiés c'est les carcinomes infiltrants les carcinomes canalaireinfiltrants et carcinome lobulaires infiltrants.

Dans notre série en marque la prédominance de carcinome canalaire infiltrant avec un pourcentage de (64,62%) par rapport aux carcinomes lobulaires infiltrant (35,38%), (fig.17), ce qui concorde avec ceux de la littérature et les travaux de GUEDOUAR et al (2013, 2014, 2018), (BEKKOUCHE et al, 2003, 2007).



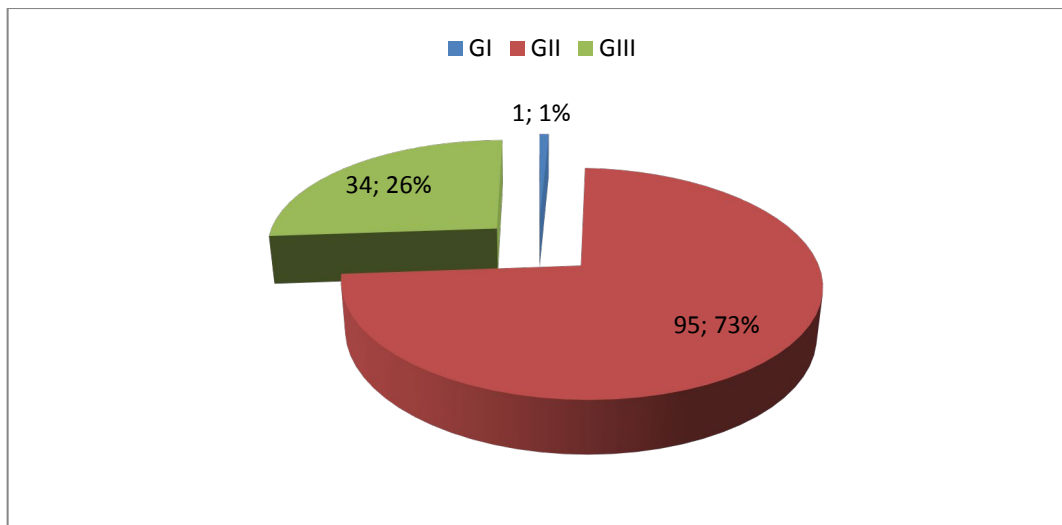
**Figure 17 :** Répartition des tumeurs selon le type histologique.

**1-1-4- Répartition selon le Grade SBR :**

La classification histopronostique de Scarff et Bloom-Rechanson permet de distinguer 3 grades : SBR I, SBR II et SBR III.

L'analyse de l'ensemble de cas montre la prédominance du grade SBR II avec un pourcentage de (95,73%) et le grade SBR III avec un pourcentage de (34,25%), (fig.18).

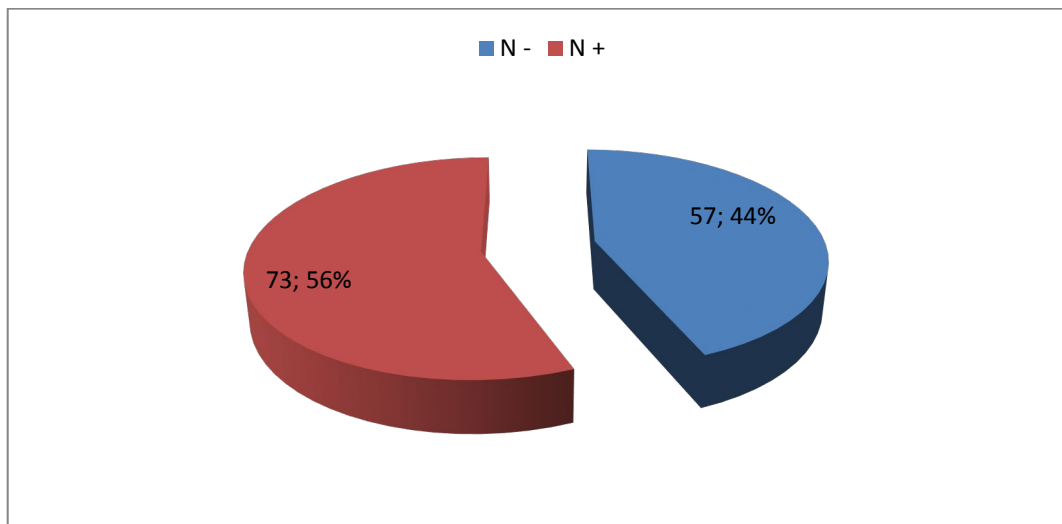
Notre résultat sont similaire à ceux de la littérature qui soulignent la haut grade et le pronostic le plus défavorable pour la survie globale et pour la survie sans rechute des carcinomes infiltrants (GUEDOUAR et al, 2017), (BEKKOUCHE et al, 2013).



**Figure 18 :** Répartition des tumeurs selon le Grade SBR.

#### 1-1-5- Répartition selon l'envahissement ganglionnaire (N) :

L'étude anatomo-pathologique des ganglions a révélé que (73,56%) des patientes étaient porteuses de ganglions sains classés N-, contre 57,44% classées N+, (fig.19). ce qui souligne une évolution défavorable.



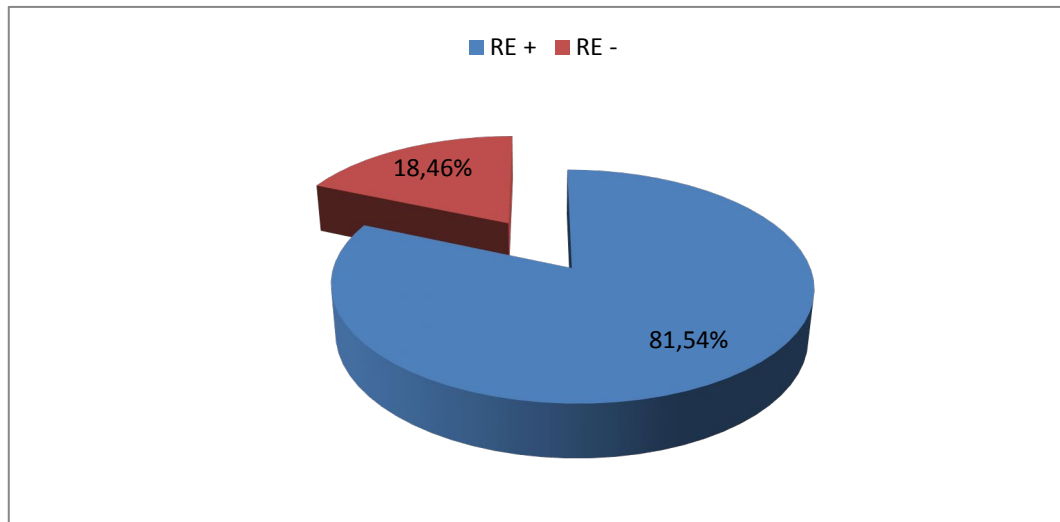
**Figure 19 :** Répartition des ganglions lymphatique selon N.

#### 1-2- Caractéristiques Biologiques :

Nos travaux portent sur les facteurs biologiques ou moléculaires utilisés en routine et ayant une utilité clinique prouvée tels qu'ils sont définis par le Consensus Américain de Pathologie (CAP).

**1-2-1- Expression des récepteurs d'œstrogène (RE) :**

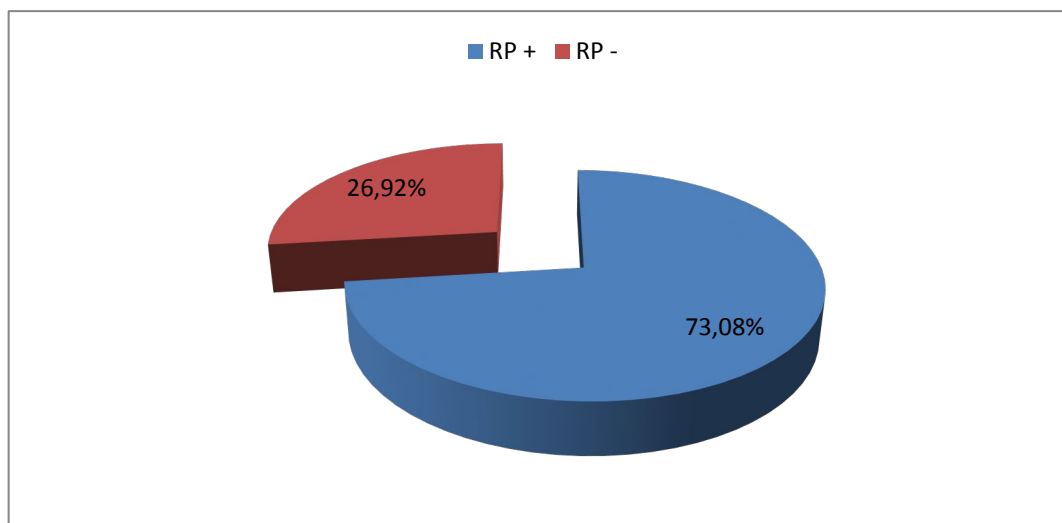
L'analyse immunohistochimique des carcinomes infiltrants montre que les récepteurs d'œstrogène (RE) sont exprimés dans 106 cas soit (81,54%), (fig.20). L'absence d'expression des RE dans (18,46%) des carcinomes est un facteur défavorable.



**Figure 20:** répartition selon Expression des récepteurs d'œstrogène (RE).

**1-2-2- Expression des récepteurs progestérones (RP) :**

La recherche de l'expression des RP revêt une grande importance car elle est liée à une meilleure survie et leur présence implique l'hormothérapie.

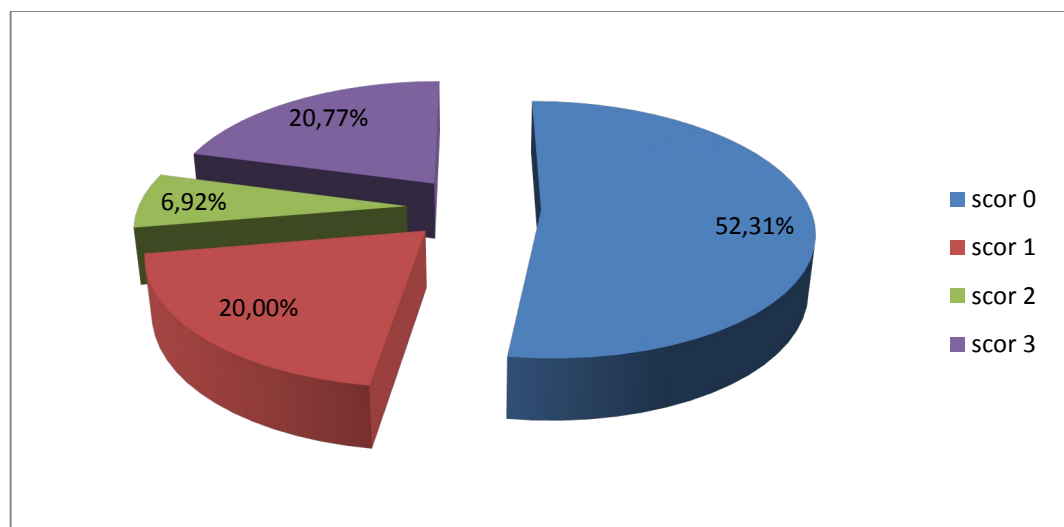


**Figure 21 :** répartition selon Expression des récepteurs progestérones (RP).

- L'analyse immunohistochimique des carcinomes infiltrants montre que les récepteurs progestéroniques RP sont positifs dans (96) soit 73,08% et l'absence d'expression de RP est notée dans (35) cas soit (26,92%), (fig.21).
- La présence des récepteurs hormonaux (RE+ et/ou RP+ est corrélée à un pronostic favorable.

### 1-2-3- Expression membranaire de l'oncoprotéine HER2 :

La recherche de l'expression de l'oncoprotéine HER2, réalisée par l'immunohistochimie, au niveau de la composante carcinomateuse infiltrante permet de visualiser le marquage membranaire des cellules tumorales.



**Figure 22 :** répartition selon l'expression membranaire de HER2.

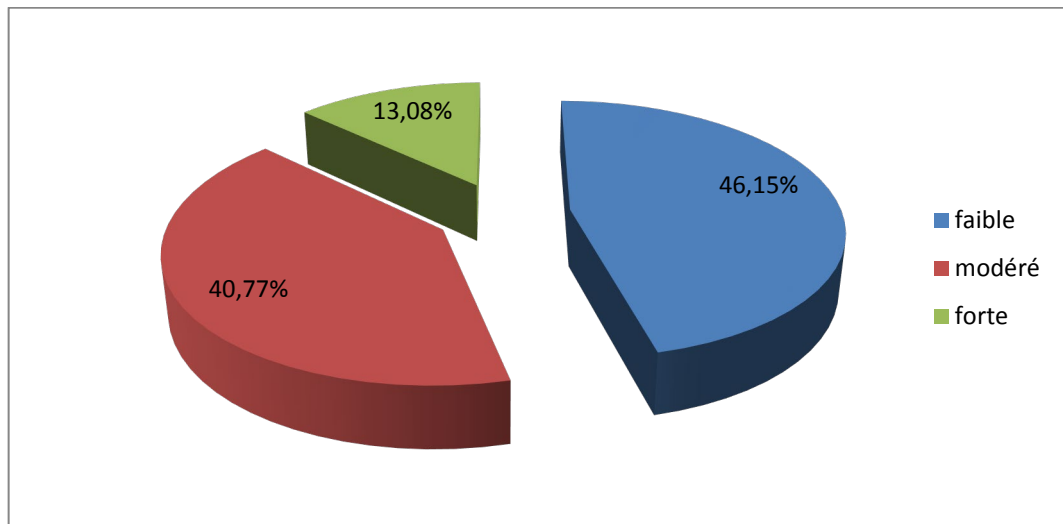
On a 2 groupes de l'oncoprotéine HER2 : HER2- « Score 0 et 1 » soit (72,31%), et HER2+ « Scor 2 » soit (6,92%) et « Scor 3 » soit (20,77%).

- Les résultats de notre étude montrent que HER2 (Score 0) est fortement exprimée avec un pourcentage (52,31%), et le groupe le plus faible, c'est HER2 (Score 2) avec un pourcentage (6,92%), (fig.22).

### 1-2-4- Expression de l'antigène Ki67:

L'activité mitotique prise isolément ou intégrée dans le grading SBR est un facteur pronostique déterminant pour le cancer infiltrant du sein. Ces dernières années, d'importants efforts ont été entrepris pour standardiser la technique de comptage des mitoses. Il persiste néanmoins un manque de consensus sur les seuils permettant de séparer les patientes en groupe de bon ou de mauvais pronostic en fonction du nombre de mitoses, (Sigal-Zafrani et al. 2004).

Le Ki-67 est un antigène, recherché dans le cas des cancers, cancer du sein notamment, par le biais des anticorps Ki-67 en immunohistochimie et immunofluorescence. Cet antigène, présent dans les noyaux des cellules tumorales, est un marqueur de la prolifération cancéreuse.



**Figure 23** :Expression de l'antigène Ki67

L'analyse de l'expression de l'antigène Ki67 est présentée en 3 catégories selon l'intensité de marquage : Ki67+ faible, Ki67++ modéré et le Ki67+++ fort, (fig. 23).

L'analyse des lames des 130 carcinomes par l'antigène Ki67 révèle la présence dominante de Ki67++ modéré avec (40,77%) et une proportion élevée de Ki67+++ fort, (13,08 %).

La présence d'une forte fréquence de Ki67+++ chez les femmes reflète une grande prolifération tumorale corrélée à une survie globale basse et un mauvais pronostic, (Mathieu, 2012).

## 2- Détermination immunohistochimique des sous-types moléculaires :

L'analyse immunohistochimique de l'ensemble des 130 cas de notre série permet de déterminer la répartition des sous-types selon l'expression des paramètres biologiques étudiés : RE, RP, HER2, Ki67 et CK 5/6.

### 2-1- Sous-type Luminal :

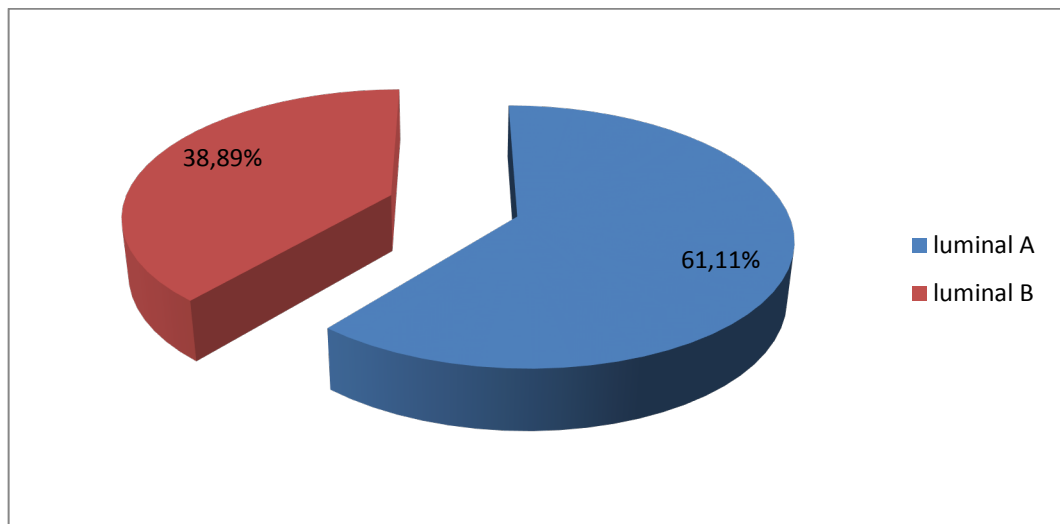
Le sous-type Luminal, majoritairement RE+, comprend deux groupes : Luminal A et Luminal B selon l'intensité du marquage des RE.

La présence du Luminal A pour l'ensemble des cas (130) est retrouvée dans (61,11 %) avec marquage nucléaire intense des récepteurs estrogénique et absence d'expression de HER2.

Le phénotype est : RE++, RP+, HER2-, Ki67 faible. La proportion du sous-type Luminal B est de (38,89%) caractérisée par l'expression faible à modérée des RE et un profil : RE+, RP+/-, HER2-, Ki67 fort, (fig.24).

Le profil Luminal, concerne les patientes présentant une réceptivité hormonale importante. Ce groupe comprend des tumeurs RE+ dont l'expression génique est proche des cellules épithéliales Luminales et se caractérise par des tumeurs de faible grade.

L'identification du sous-type Luminal revêt une signification particulière, car la dégradation du marquage IHC des RE est retrouvée par les analyses génomiques au niveau de la classification moléculaire avec la distinction de deux entités selon l'expression du récepteur aux estrogènes : Luminal A (RE++, RP+, HER2-, Ki67 faible) et Luminal B (RE+, RP+/-, HER2-, Ki67 fort), (Guedouar et al. 2013).



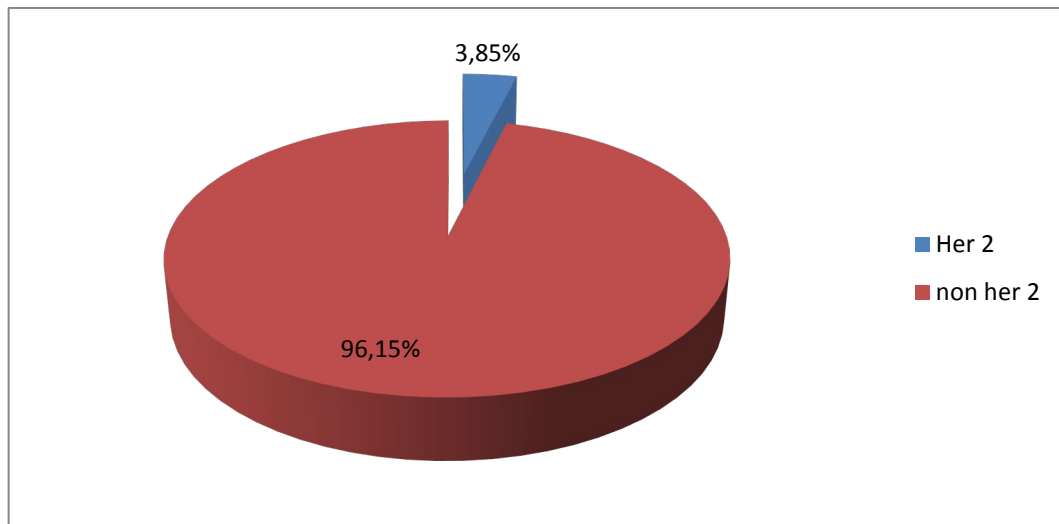
**Figure 24** :Proportion des tumeurs luminal A et luminal B.

### 2-2- Sous-type HER2 :

Ce sous-type est caractérisé par la surexpression de HER2, il constitue un facteur d'agressivité tumorale lié à un pronostic péjoratif.

Ce groupe des carcinomes, caractérisé par une forte expression de HER2 et une négativité des RE, est observé dans (3,85 %) pour les 130 des cas. Le phénotype est HER2+, RE-, RP-, ce qui reflète un mauvais pronostic.

Ce groupe est le plus souvent défini comme incluant toutes les tumeurs HER2+ quelle que soit l'expression des récepteurs hormonaux (RH).



**Figure 25 :** répartition de sous-type HER2.

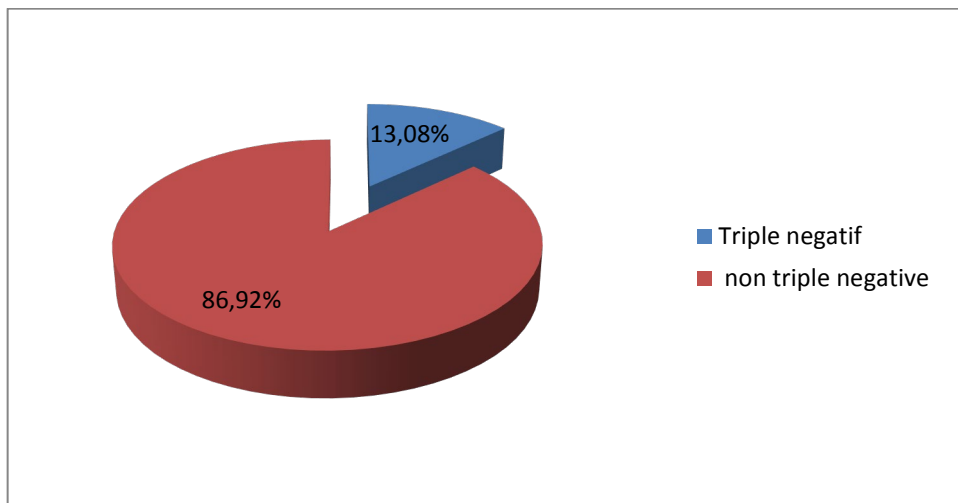
### **2-3-Sous-type triple-négatif :**

#### **2-3-1-Sous-type triple-négatives/basal-like:**

Les triple-négatifs/basal-like sont un sous-type particulier au sein des carcinomes mammaires caractérisé par l'absence d'expression des RE, RP et HER2 et l'expression de cytokératine CK 5/6. Le phénotype des triple-négatifs/basal-like est RE-, RP-, HER2- CK5/6+.

Etude immunohistochimique des tumeurs triple-négatives chez les femme montre un fort pourcentage avec (86,92%)cas.

L'analyse immunohistochimique des marqueurs biologiques (RE, RP, HER2), au niveau de la composante infiltrante des carcinomes, a permis de répertorier cas soit (13,08%) de tumeurs négatives pour les trois récepteurs : ces tumeurs constituent les carcinomes triple-négatifs. Ce résultat est similaire au travaux de (Guedouar et al 2017), ceci met l'accent sur l'agressivité et la prédominance des tumeurs de pronostic sombre en Algérie.



**Figure 26 :**Répartition selon sous type Triple négative.

## **Conclusion :**

Le cancer du sein est une maladie hétérogène. Cette hétérogénéité se retrouve aussi bien au niveau histologique que phénotypique et moléculaire.

Cette hétérogénéité de profils moléculaires et de marqueurs phénotypiques entre les tumeurs d'un même organe (hétérogénéité inter tumorale) conduit à une classification en sous-types de tumeurs.

Le succès de ces études dépendra de collaborations étroites entre chercheurs de différentes disciplines (anatomo-pathologistes et oncologues...) et de la qualité du suivi des patientes sans lequel toutes ces études seraient peu contributives à la compréhension de cette pathologie et à la prise en charge des malades dans notre contexte.

Les techniques d'immunohistochimie (IHC) sont réalisées sur les prélèvements fixés et inclus en paraffine contenant les tumeurs primitives pour la détermination des facteurs moléculaires avec les anticorps spécifiques.

Dans notre étude, nous avons noté un taux d'expression des récepteurs hormonaux et de l'her2 proche de celui décrit dans la littérature. Les récepteurs hormonaux sont corrélés entre eux et avec l'expression de l'HER2, Ceci nous aidera à choisir des traitements, potentiellement plus efficaces et moins toxiques

Les résultats obtenus par notre étude sont encourageants. Les tumeurs de phénotype basal et Her-2 étaient associées à des caractéristiques cliniques et histopathologiques plus agressives que les tumeurs de phénotype luminal.

Nos résultats concordent généralement avec ceux de la littérature et notre technique immunohistochimique a fait preuve de sa fiabilité.

## Référence :

Almasri N.M., Al Hamad M. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan Breast Cancer Research 2005, 7: R598-R604.

Audrey Mailliez. Ce que le radiologue doit savoir des nouvelles classifications moléculaires des cancers du sein. *Imagerie de la Femme* (2014) 24, 159—164.

Barnes DM, Harris WH, Smith P, Millis RR, Rubens RD. Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. *Br J Cancer* 1996;74:1445–51.

Classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé connexes, Volume 1. Geneva: Organisation Mondiale de la Santé, 1993.

Dansereau S, Ferron D La thérapie ciblée en oncologie et la pointe de l'Iceberg. Première partie: le récepteur épidermique humain HER/ErbB. *Pharmactuel* ; Vol. 39 ; N° 3 ; Mai-Juin-Juillet 2006 ; p 135-43.

Dieras V; Saint Paul de Vence, Institut curie, janvier 2007.

Emmanuelle Charafe-Jauffret, Christophe Ginestier. Entités moléculaires du cancer du sein : la différence est dans l'origine. *Annales de pathologie* (2012) 32S, S35-S36.

Fitoussi A, Couturaud B, Delay E, Lanteri L. Chirurgie du cancer du sein. Traitement conservateur, oncoplastie et reconstruction. *Expérience de l'institut Curie* 2010. Elsevier Masson.

Fumoleau P et Mignard D, janvier 2018, Les cancer du sein ( lalique).

Gender differences in expression of the human caspase-12 long variant determines susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106: 9016-20.

Guedouar y, 2011 – classification moléculaire des cancers mammaires invasifs : thèse de magister université d'Oran 156 p.

Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *JCO* 1999; 17:1474.

[http://www.sante-environnementtravail.fr/minisite.php3?id\\_rubrique=868&id\\_article=2678](http://www.sante-environnementtravail.fr/minisite.php3?id_rubrique=868&id_article=2678).

Institut National Du Cancer, Cancer du sein, avril 2008.

Jacot W, Romieu G, Lamy P-J. Cancer du sein métastatique : progrès dans la prise en charge et limites actuelles. *Médecine Nucl.* 2010;34(1):52–57.

Lakhani, S.R, Ellis. I.O, Schnitt, S.J, Tan, P.H, van de Vijver, M.J. (2012).WHO Classification of tumors, volume 4.

Lauer-Fields JL, Brder T, Srithan T, Chung L, Nagase H, Fields GB. Kinetic analysis of matrix metalloproteinase activity using fluorogenic triple-helical substrates. *Biochemistry.* 2001;40 :5795 803.

Livasy CA, Karaca G, Nanda R et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006;19:264-71.

Lopez F, Belloc F, Lacombe F, Dumain P, Reiffers J, Bernard P, et al. Modalities of synthesis of Ki67 antigen during the stimulation of lymphocytes. *Cytometry* 1991;12:42–9. <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.990120107>.

Manner L., Milano G., PenaultLlorca F., Merlin J.L. Targeting of membrane receptor tyrosine kinase: is there resistance in the HER? *Bulletin du cancer*, Vol 91, No 9, 685-94, Sépt 2004.

Marie R, 2013 - Fibroadénome géant chez l'adolescente et influence hormonale : analyse d'une série de 90 cas thèse de doctorat, Université Paris 7 -Paris Diderot, 70 p.

Mauri FA, Maisonneuve P, Caffo O, Veronese S, Aldovini D, Ferrero S, Cozzaglio F, Dalla Palma P, Galligioni E, Barbareschi M. Prognostic value of estrogen receptor status can be improved by combined evaluation of p53, bcl2 and pgr expression: An immunohistochemical study on breast carcinoma with long-term follow-up. *Int J Oncol* 1999;15:1137-1147.

Ménard. S et al. Role of HER2 Gene Overexpression in Breast Carcinoma; Journal of cellular physiology 182:p. 150 (2000).

Moreno A. et al. Ductal carcinoma in situ of the breast : correlation between histologic classification and biologic markers. Modern pathology 10 (1997); pp. 1088-1092. Pauline Brosselin et Mounia El Yaman. Cancer et Environnement [Internet]. Available from:

Pawlina MHRW. Female reproductive system. Histology. A text and atlas, 5<sup>th</sup> edn. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:804–6.

Pirici E, 2012 - Aspects diagnostiques et thérapeutiques des métastases osseuses du néoplasme de la glande mammaire, thèse de doctorat, Université de Médecine et Pharmacie de Craiova, 112 P.

Rouëssé J. Cancer du sein : étape pré-thérapeutique. John Libbey Eurotext; 2002. 156 p.

Saglier J, Beuzeboc P, Pommeyrol A, Toledano A. Cancer du sein, Questions et réponses au quotidien. 3<sup>ème</sup> édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier, Masson, 2009. p. 194.

Sanchez.M -Deneux Immunosuppresseurs et antistéroïdes dans les cellules de cancers de sein humains : effets sur la prolifération cellulaire, les récepteurs des œstrogènes et sur la transcription des gènes qu'ils régulent ; thèse de doctorat de l'institut national agronomique Paris-Grignon ; p 30 ; Décembre 2003.

Sappey C. Anatomie, physiologie, pathologie des vaisseaux lymphatiques. Adrien Delahaye Librairie. Editeur, Paris 1874.

Schnitt SJ. Normal anatomy and development. In: Hayes. Atlas of breast cancer.<sup>st</sup> Ed. London : Mosby Europe; 1993. p. 3.1-3. 5.

Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry D, Bland KI et al. Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. J Clin Oncol 2003 ; 20 : 3628-36.

Société canadienne du cancer disponible sur  
<http://www.cbcf.org/fr/fr/central/AboutBreastCancerMain/Diagnosis/Pages/StagingGrading.aspx>[consulté le jeudi 11/04/2018].

Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, EysteinLonning P and Borresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869-10874.

Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8418-23.

Taneja S, Evans AJ, Rakha EA, Green AR, Ball G, Ellis IO. The mammographic correlations of a new immunohistochemical classification of invasive cancer. *Clin Radiol* 2008;63: 1228—35.

Tavassoli F.A, Devilee P. WHO. Pathology and genetics. Tumors of the breast and female genital organs. 2003.

Tavassoli FA, et al Eds: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs; Lyon: IARC Press; 2004.

Verbeke S, 2010 - Etude des voies de signalisation du récepteur p75<sup>ntr</sup> impliquées dans la croissance des cellules de cancer du sein thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille, 170 p.

Vincent-Salomon A, Gruel N, Lucchesi C et al. Identification of typical medullary breast carcinoma as a genomic sub-group of basal-like carcinomas, a heterogeneous new molecular entity. *Breast Cancer Res* 2007;9:R24.

Weigelt B, Peterse JL, van't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer*. 2005 ; 5 :591 602.

Weinberg, R. Molecular basis of carcinogenesis: understanding the cell cycle clock. Cytokines Mol. Ther.2(2):105-1, (1996).

Yeretssian G, Doiron K, Shao W, Leavitt BR, Hayden MR, Nicholson DW, Saleh M. (2009).

Zemmari M, 2017 - Les Tumeurs Phyllodes Du Sein (A propos de 40 cas), thèse de doctorat, Université Sidi Mohammed Benabdellah, 122 p.

Les sites :

- <http://www.hopkinsbreastcenter.org/pathology/malignant/>.
- [www.liguecancer.ch/cancerline](http://www.liguecancer.ch/cancerline).
- <http://olympusmom.wordpress.com>.
- [www.chumontreal.qc.ca](http://www.chumontreal.qc.ca).
- [www.liguecancer.ch/brochures](http://www.liguecancer.ch/brochures).