

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA**



**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master  
**Domaine** : Sciences de la nature et de la vie  
**Spécialité** : Génétique et Physiologie

### **THEME**

**Étude épidémiologique et génétique du cancer triple  
négatif chez des patientes algériennes**

**Présenté par :**

**Mlle Manel BETTAHAR**

Soutenu le 20/12/ 2012 devant le jury composé de :

Président : Mme Souad TAKARLI, Maître assistante A(USDB)

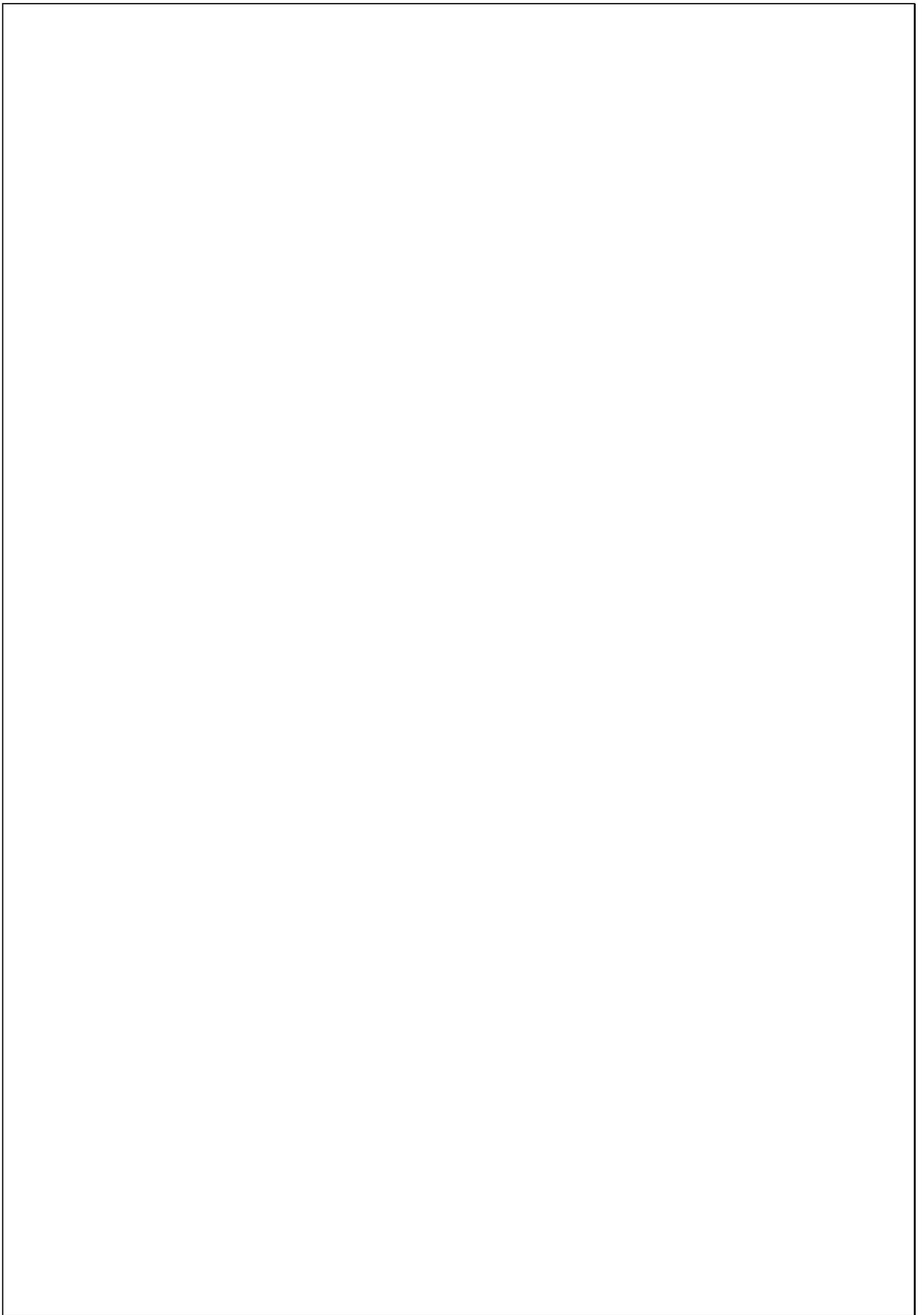
Promoteur : Mr Farid CHERBAL, Maitre de conférences A (FSB-USTHB)

Co-promoteur : Mr Noureddine BENYAHIA, Maître Assistant A (USDB)

Examineur: Mme Radia AISSANI, Maitre assistante A (USDB)

Examineur : Mme Souhila HERKAT, Maitre assistante A (USDB)

**Promotion 2011-2012.**



## *Remerciements*

Je tiens également à remercier **Dr Farid CHERBAL**, Maitre de conférences, à l'USTHB (FSB) encadreur de ce travail, pour sa générosité, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail. Jevoudrais également lui témoigner ma profonde gratitude pour sa patience, son soutien, et sa confiance, afin de mener mon travail à bon port.

En premier lieu, je tiens à remercier **Pr Kada BOUALGA**, chef de service de radiothérapie du centre anti-cancer de l'hôpital Frantz Fanon Blida, de nous avoir permis de mener à bien notre travail et de sa disponibilité, aussi de nous mettre à disposition les archives et le personnel, je tiens à lui témoigner ma gratitude.

Je remercie **M. Noureddine BENYAHIA**, Maitre-assistant à l'USDB, qui c'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, et que sans lui, tout ça n'aurait pas commencé, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer.

Mes vifs remerciements vont également :

**AMmeSouad TAKARLI**, Maitre assistante à l'USDB, pour avoir accepté de juger ce travail.

**A Mme Radia AISSANI**, Maitre assistante à l'USDB, pour avoir accepté de juger ce travail.

**A Mme Souhila HERKAT**, Maitre assistante à l'USDB, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens également à remercier **Mr Mohamed BRAHIM ERRAHMANI**, Maitre-assistant, à l'USDB (faculté des sciences) pour le temps qui m'as accordé et ces précieux conseils.

Je tiens également à remercier chaleureusement tous mes enseignants qui ont participé à ma formation et spécialement **Mr Ramdan MOHAMED SAID**, Maitre-Assistant, à l'USDB, responsable de spécialité de génétique, pour tous les efforts et tout le mal qui se donne pour nous.

Je tiens à saisir cette occasion et adresser mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance au personnel du service de radiothérapie au centre anti cancer de Blida: **A Faiza** l'archiviste pour son temps et son écoute, également son sourire, ainsi aux médecins pour leurs temps, leurs écoutes et leurs précieux conseils.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont apporté l'aide et l'assistance nécessaire à l'élaboration de ce travail.

Ma profonde gratitude et ma plus grande estime pour mes parents, pour leur soutien quotidien et leur compréhension. Je remercie également mes proches, ma tante **HakimaMefeti**, pour son temps, son écoute et son inspiration inestimables.

Je tiens également à remercier Melle **WafaABDOU**, pour l'aide inestimable qu'elle m'a apporté et pour tous les bons moments passés ensemble, la vie nous réserve bien des surprises et la rencontrer c'était une belle surprise.

En fin je tiens à remercier tous mes amis pour leur présence et leur bienveillance.

« Il n'y a pas de réussite facile ni d'échecs définitifs »

Marcel Proust

« c'est pas parce que c'est difficile que nous n'osons pas, c'est parce que nous n'osons pas que c'est difficile »

Confucius

« Finissez toujours ce que vous avez commencé. Cela représente suffisamment de discipline et de sagesse. Si vous observez cette règle, vous serez supérieurs à la plus part des gens »

Deng Ming Dao

## ملخص

سرطان الثدي هو السبب الرئيسي للوفاة عند النساء في الجزائر . التصنيف الجزيئي لسرطان الثدي باستخدام مستقبلات ER وHER2 وPR هو عامل نذير مهم جدا . السرطان الثدي ثلاثي السلبية (TNBC) محدد بعدم وجود المستقبلات ER وPR وHER2 ، سرطان TNBC أيضا ينتمي إلى المجموعة الفرعية القاعدية، ويتميز بارتفاع معدل الطفرات للمورثة BRCA1 و المورثة BRCA2. حتى 15% من حالات سرطان الثدي لدى النساء تنتمي إلى نوع TNBC، ومع ذلك، العديد من الدراسات قد أظهرت أن معدل انتشاره يختلف حسب العرق. أجرينا دراسة وراثية و وراثية لسرطان الثدي الثلاثي السلبية عند المرضى الجزائريات المتابعات على مستوى مركز مكافحة السرطان بالبلدية . تم تحديد حالة المستقبلات ER وPR وHER2 وايضادرجة الورم و المظهر النسيجي ل 651 مريضة . معدل انتشار TNBC هو 21% في دراستنا، ومتوسط العمر عند التشخيص هو 48 سنة للمرضى . TNBC معدل انتشار TNBC عند المرضى قبل انقطاع الطمث هو 20.3% و معدل انتشار TNBC عند المرضى بعد سن اليأس هو 21% . تم استخراج الحمض النووي الجيني من الدم الكامل للحالات المدروسة بواسطة المعالج Wizardgenomic DNA لشركة Promega بادرنا بتقنية PCR لتطبيقها على تحليل الجينات BRCA1 .

كلمات البحث: الجزائر، TNBC، والتصنيف الجيني ، BRCA1.

PDF Create! 4  
www.nuance.com

## Résumé

Le cancer du sein est la première cause de mortalité chez la femme en Algérie. La classification moléculaire du cancer du sein en utilisant les récepteurs ER, PR et Her2, est un facteur de pronostic très important. Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est défini par l'absence d'expression des récepteurs ER, PR et Her2 (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, Her2<sup>-</sup>). Le cancer TNBC appartient aussi au sous-groupe basal like et il est caractérisé par une grande prévalence de mutations sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. 12 à 15% des cas de cancer du sein chez la femme appartiennent au type TNBC, cependant de nombreuses études ont montré que sa prévalence varie en fonction des races.

Dans le présent travail, nous avons fait une étude épidémiologique et génétique du cancer triple négatif chez des patientes suivies au niveau du centre anti-cancer de Blida. Le statut des récepteurs (ER, PR et Her2) ainsi que le grade et le profil histologique des tumeurs du cancer du sein ont été déterminés chez 651 patientes. La prévalence du TNBC est de 21% dans notre étude, et l'âge moyen au diagnostic est de 48 ans chez les patientes TNBC. La prévalence du TNBC est de 20.3% chez les patientes pré ménopausées et de 21% chez les post ménopausées. L'extraction de l'ADN génomique à partir du sang total des cas index a été réalisée avec le Kit Wizardgenomic DNA de la firme Promega. Nous nous sommes initiés à la technique de la PCR appliquée à l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

**Mots clés :** Algérie, TNBC, classification moléculaire, immunohistochime, *BRCA1*.

## ***Abstract***

Breast cancer is the leading cause of death among women in Algeria. The molecular classification of breast cancer using receptor status ER, PR and HER2, is a very important prognostic factor. The triple-negative breast cancer (TNBC) is defined by the lack of protein expression of estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) and the absence of Human epidermal growth factor 2 (HER2). TNBC also belongs to breast cancer basal like subgroup and it is characterized by a high prevalence of mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes. 12-15% of breast cancer cases belong to the type TNBC, but some studies have reported that its prevalence differs between races.

In the present work, we performed an epidemiological and genetic study in triple negative breast cancer patients referred through the anti-cancer center of Blida. Receptor status (ER, PR and HER2) and the histological grade and profile of breast tumors were determined in 651 breast cancer patients. TNBC prevalence was 21% in our study, and the average age at diagnosis was 48 years for TNBC patients. The prevalence of TNBC was 20.3% in premenopausal patients and 21% in post-menopausal. The extraction of genomic DNA from whole blood of index cases was performed with genomic DNA Kit Wizard Promega the firm. We get acquainted with PCR technique applied to the analysis of *BRCA1* and *BRCA2* genes.

**Key words:** Algeria, TNBC, molecular classification, immunohistochemistry, *BRCA1*.

## *Liste des figures*

**Figure 1:** L'incidence et la mortalité de différents cancers chez la femme en Algérie. en 2008

**Figure 2:** Anatomie du sein normal.

**Figure 3:** Les caractéristiques communes entre le cancer du sein triple négatif, le Basl-like et les tumeurs associées au *BRCA1* muté.

**Figure 4:** Structure du gène *BRCA1*.

**Figure 5:** Carte génétique et idéogramme du gène *BRCA1*.

**Figure 6:** Représentation schématique des différents domaines de la protéine *BRCA1* et son interaction avec les autres protéines cellulaires.

**Figure 7:** Les rôles de la protéine *BRCA1*.

**Figure 8:** Structure du gène *BRCA2*.

**Figure 9:** Carte génétique et idéogramme du gène *BRCA2*.

**Figure 10:** Domaines fonctionnels de la protéine *BRCA2*.

**Figure 11:** Les mutations retrouvées sur le gène *BRCA2*.

**Figure 12:** Exemples de mutations retrouvées sur le gène *BRCA1*.

**Figure 13:** Répartition selon l'âge des patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon.

**Figure 14:** Représentation de la répartition des patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon selon les marqueurs biologiques.

**Figure 15:** Histogramme de la répartition des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif de notre échantillon selon l'âge.

**Figure 16:** Proportions des sous types du cancer du sein chez les prés et les post ménopausées.

**Figure 17:** Représentation des patientes atteintes du cancer du sein dans les différentes wilayas d'Algérie.

**Figure 18:** (a) Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1% de l'ADN génomique des patientes prélevées ; (b) marqueur de taille  $\lambda$  hind III d'ADN de Promega.

**Figure 19:** (a) gel d'agarose à 2% des produits PCR de l'exon 11.1 du gène *BRCA1*, (b) marqueur de taille de PCR 100pb.

## *Liste des tableaux*

**Tableau 1 :** Les Carcinomes du sein les plus fréquents.

**Tableau 2 :** La classification TNM.

**Tableau 3 :** Caractéristiques moléculaires du cancer du sein TN.

**Tableau 4 :** Score et marquage des récepteurs hormonaux selon la méthode d'immunohistochimie.

**Tableau 5 :** Score et marquage de l'HER2 selon la méthode d'immunohistochimie.

**Tableau 6 :** Etapes et conditions de la technique PCR.

**Tableau 7 :** Effectifs et proportions des classes d'âges des patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon.

**Tableau 8 :** Effectifs et proportions des patientes TN de notre échantillon selon différentes classe d'âge.

**Tableau 9 :** Corrélation entre les sous types du cancer du sein chez la femme et les critères cliniques, anatomopathologiques.

**Tableau 10 :** Caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des patientes prélevées.

**Tableau 11 :** Classification moléculaire du cancer du sein basée sur les statuts RE/RP/HER2

**Tableau 12 :** Proportions des sous types moléculaires au sein de différentes populations.

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique  
**ADNc** : Acide DésoxyriboNucléique Complémentaire  
**ARN** : Acide désoxyriboNucléique  
**ARNm**: AcideRiboNucléiquemessenger  
**ATM**: Ataxia Telangiectasia Mutated  
**ATR**:*Ataxia telangiectasia and RAD3 related*  
**BER**: Base Exicision Repair  
**BLBC**: Basal Like Breast Cancer  
**BRCA1**: Breast Cancer Gene1  
**BRCA2**: Breast Cancer Gene2  
**BRCT** : BRCA1 C-Terminus  
**CCI** : Carcinome Canalaire Infiltrant  
**CCIS** : Carcinome Canalaire In Situ  
**CHK2** : checkpoint kinase 2 (  
**CIS** : CarcinomeIn situ  
**CLI** : Carcinome Canalaire Infiltrant  
**CLIS**: Carcinome Lobulaire In Situ  
**DSB**: double-strand break  
**EGFR**: Epidermal Growth Factor Receptor  
**ER** :Oestrogen receptor  
**HER2**: Humain Epidermal Growth Factor Receptor-2  
**IHC**: Immunohistochimie  
**Kb**: Kilobase  
**KDa** :KiloDalton  
**NES**: Nuclear Export Sequence  
**NHEJ**: Non Homologous End Joining  
**NLS** :NuclearLocalizationSequences  
**OMS** :OrganisationMondiale de Santé  
**PARP** : Poly (ADP-ribose) Polymérase  
**PCR** : Polymerase Chain Reaction  
**PR** :Progesteronreceptor  
**RE** : Recepteur de l'œstrogène  
**RH** : Recombinaison Homologue  
**RP** :Récepteur de progésterone  
**SSB**: single-strand break  
**TN**: Triple Négatif  
**TNBLBC**: Triple Négatif Basal Like Breast Cancer  
**TNM** : TumorNodesMetastasis

## Table des matières

Introduction .....	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique.....	2
I. Epidémiologie du cancer du sein.....	2
I.1.1. Dans le monde .....	2
I.1.2. En Algérie.....	2
II. Clinique du cancer du sein.....	3
II.1. Anatomie du sein.....	3
II.2. Définition du cancer.....	3
II.3. Définition du cancer du sein.....	3
II.4. Classification du cancer du sein.....	4
II.4.1. Classification histologique.....	4
II.4.2. Classification TNM .....	4
II.4.3. Classification moléculaire.....	5
III. Le cancer du sein triple négatif .....	6
III.1 Définition.....	6
III.2. Caractéristiques du TNBC.....	6
III.2.1. Caractéristique moléculaires.....	6
III.2.2 Caractéristiques cliniques.....	7
III.3. Le TNBC et le BLBC .....	7
III.4. TNBC et <i>BRCA</i> .....	8
III.4.1. Le gène <i>BRCA1</i> .....	8
III.4.1.1. Structure du gène <i>BRCA1</i> .....	8
III.4.1.2. La protéine <i>BRCA1</i> et ses fonctions.....	10
III.4.2. Le gène <i>BRCA2</i> .....	11
III.4.2.1. La structure du gène <i>BRCA2</i> .....	11
III.4.2.2. La protéine <i>BRCA2</i> et ses fonctions.....	12
III.4.3. Les mutations du gène <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> .....	13
III.5. Métastases du cancer du sein triple négatif.....	14
III.6. Thérapeutique du TNBC.....	14
III.6.1. Thérapies non ciblées.....	15
III.6.2. Thérapies ciblées.....	15
III.6.2.1. Inhibiteurs de l'EpidermalGrowth Factor (EGFR).....	15
III.6.2.1. Inhibiteurs de la Poly (ADP-ribosylation )Polymerase.....	15
Chapitre II. Matériels et méthodes.....	16
I. Matériels.....	16
I.1. Patients .....	16
I.2. Matériel biologique.....	16
II. Méthodes.....	16
II.1. L'immunohistochimie.....	16
II.2. Extraction d'ADN génomique.....	17
II.3. L'électrophorèse sur gel d'agarose.....	19
II.4. La technique Polymerase Chain Reaction (PCR).....	20
II.5. Test statistique, comparaison entre deux proportions.....	21
Chapitre III. Résultats et discussions.....	22
I. Résultats.....	22
I.1. Résultats de l'étude épidémiologique .....	22
I.1.1. Répartition de patientes atteintes du cancer du sein selon l'âge .....	22

I.1.2. Répartition de patientes atteintes du cancer du sein selon les marqueurs biologiques.....	23
I.1.3. Epidémiologie du cancer du sein triple négatif.....	23
I.1.3.1. Répartition des patientes TN selon l'âge.....	23
I.1.3.2. Proportions du TNBC chez le pré et post ménopausées.....	24
I.1.4. Corrélation entre les sous types de cancer du sein et les critères anatomopathologiques .....	25
I.2. Résultats de l'extraction de l'ADN .....	26
I.3. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose.....	26
I.4. Résultats de la Polymerase Chain Reaction.....	27
I.5. Analyse des caractéristiques cliniques, anatomopathologiques, et épidémiologiques des patientes triple négatifs prélevées de notre étude.....	28
II. Discussion.....	30
II.1. Epidémiologie du cancer du sein .....	30
II.1.1. Répartition des différents sous-types de cancer du sein.....	30
II.1.2. Epidémiologie du cancer du sein triple négatif.....	30
II.1.3. Répartition du cancer du sein triple négatif selon l'âge .....	30
II.1.4. Proportions du TNBC chez le pré et post ménopausées.....	30
II.1.5. Corrélation entre les sous types de cancer du sein et les critères anatomopathologique .....	31
II. 1.6. Analyse des caractéristiques cliniques, anatomopathologiques, et épidémiologiques des patientes triple négatifs prélevées de notre étude .....	31
Conclusion.....	32
Références Bibliographiques.....	33
Annexes	

PDF Creator  
www.nuance.com

## Introduction

Le cancer du sein est le cancer féminin le plus fréquent dans le monde. En 2008, le nombre de nouveaux cas diagnostiqués était estimé à 1,38 million (10,9 % de tous les cancers) et se classe cinquième, en terme de mortalité (458 000 décès, 6,1 %) (GLOBOCAN, 2008).

Il existe 3 types de cancer du sein :

- Le cancer du sein sporadique qui représente 70 % de l'ensemble de ces types, et apparaît le plus souvent à un âge tardive (> 45 ans) et n'est pas lié à une prédisposition héréditaire
- Le second type est le cancer héréditaire associé à l'ovaire, il apparaît à un âge plus précoce (< 45 ans), il représente 5-10% des cancers du sein, lié le plus souvent aux deux gènes majeurs de prédisposition héréditaire *BRCA1* (Breast Cancer 1) et *BRCA2* (Breast Cancer 2) et se transmet selon le mode autosomique dominant.
- Le cancer du sein familial : il représente 15 à 20 % de l'ensemble des cancers du sein. Chez ces familles, on y trouve plus de cancers que dans la population générale, mais on ne retrouve pas les critères stricts des cancers héréditaires. L'analyse génétique du cancer du sein familial a montré qu'il se transmet, selon un mode non mendélien, non lié aux gènes *BRCA1* et *BRCA2* et serait polygénique.

De plus, le séquençage du génome humain, l'avènement des techniques de séquençage à haut débit, ainsi que l'utilisation des micro-puces à ADN ont permis une avancée majeure dans notre compréhension de la génomique du cancer du sein. L'utilisation des micro puces à ADN a permis pour la première une classification moléculaire des cancers du sein en fonction du profil d'expression génique en relation avec le profil anatomo-pathologique de la tumeur (Perou, *et al.* 2000 ; Sorlie *et al.*, 2001). Parmi les sous types de cancer du sein caractérisés par la technique des micro-puces à ADN, le cancer triple négatif. Il est dit triple négatif car les cellules n'expriment pas les marqueurs ER, PR et Her2, de plus il survient avec une grande prévalence chez les jeunes patientes et il a un mauvais pronostic. Cette nouvelle classification moléculaire des sous types du cancer du sein permet désormais un diagnostic génotypique précis et un traitement personnalisé de cette pathologie.

Notre travail s'inscrit dans le projet de recherche de l'équipe des pathologies génétiques en Algérie (Unité de génétique) de la faculté des sciences biologiques de l'USTHB(Alger), nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Recrutement de patientes atteintes du cancer du sein au niveau du service de radiothérapie du centre anti-cancer de Blida
- Prélèvement sanguin pour les cas index
- Etude épidémiologique du cancer du sein chez des patientes originaires de toutes les wilayas du pays.
- Etude du statut des biomarqueurs : ER, PR et Her2 chez les patientes atteintes du cancer du sein en relation avec l'âge, le type, le grade et le type histologique de la tumeur, et le statut ménopausique, sur une période d'une année au niveau du centre anti-cancer de Blida.
- Initiation aux techniques de la biologie moléculaire appliquée à l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*

PDF Create! 4 Trial  
[www.nuance.com](http://www.nuance.com)

## I. Epidémiologie du cancer du sein

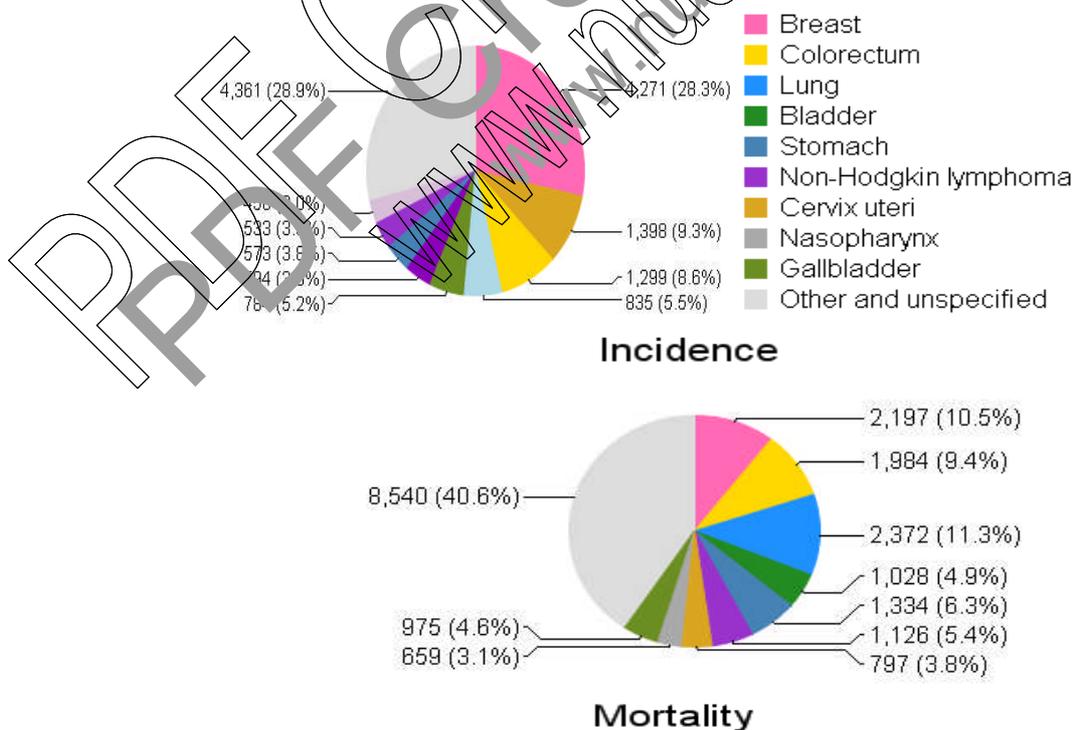
L'épidémiologie du cancer du sein consiste en l'étude de la fréquence du cancer du sein dans une population donnée et cette fréquence varie en fonction de divers facteurs appelés facteurs de risques (environnementaux, hormonaux, nutritionnels et facteurs génétiques) (Dos Santos Silva, 1999).

### I.1.1. Dans le monde

Le cancer du sein est le plus communément diagnostiqué chez la femme dans le monde avec une estimation de 1,38 million de nouveaux cas de cancer du sein dans le monde en 2008 (10,9 % de tous les cancers) et se classe cinquième, en terme de mortalité (4,8/100 000 décès) (GLOBOCAN, 2008). Le taux d'incidence le plus élevé du cancer du sein est retrouvé dans l'ouest de l'Europe avec un taux de 89,7 par 100.000 et les moins élevés ont été retrouvés dans le centre et l'ouest d'Afrique, respectivement avec 21,3 par 100.000 et 19,3 par 100.000 personnes, Alors qu'il représente 32,7/100.000 dans le nord d'Afrique.

### I.1.2. En Algérie

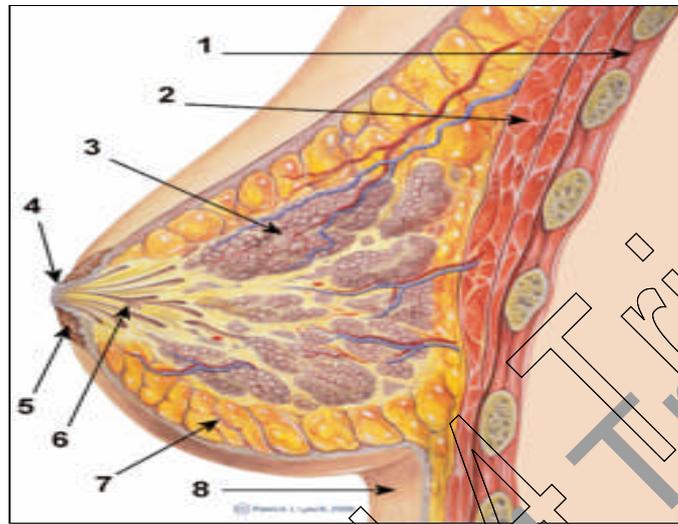
Le cancer du sein a pris de l'ampleur ces dernières années en Algérie, selon une étude faite en 2008, le taux d'incidence du cancer du sein est de 28,6 par 100.000 personnes qui est en dessous des taux trouvés chez les pays européens (allant de 145,2 chez la Belgique jusqu'à 56,5/100.000 en Grèce). 4271 cas de cancer du sein ont été relevés qui représente 28,3% de tous les cancers, alors que le taux de mortalité est de 10,5% (2197 cas) (GLOBOCAN, 2008)



**Figure 1.** L'incidence et la mortalité de différents cancers chez la femme en Algérie en 2008 (<http://globocan.iarc.fr/>)

## I. Clinique du cancer du sein

### II.1. Anatomie du sein



**Figure 2.** Anatomie du sein normal : 1. Cage thoracique ; 2. Muscles pectoraux ; 3. Lobules ; 4. Mamelon 5. Aréole 6. Canaux galactophores 7. Tissu adipeux 8. Peau (Torjaniet al., 1998).

Les seins sont des organes glandulaires de forme hémisphérique reposant sur les muscles pectoraux ; chaque sein est essentiellement formé de quinze à vingt lobes glandulaires indépendants, séparés par des cloisons conjonctives et subdivisés en lobules et acini (Figure 2). La cavité des acini est tapissée de cellule épithéliales chargées de la sécrétion. L'appareil excréteur ou arbre galactophore, est formé de canaux qui se réunissent pour aller se terminer au mamelon dans les pores galactophores (pour la sécrétion de lait). Les canaux galactophores ont deux couches cellulaires, l'une interne en bordure de la lumière, constituée de cellules épithéliales, l'autre externe de cellules myoépithéliales (Torjaniet al., 1998).

### II.2. Définition du cancer

Le cancer est une maladie génétique de la cellule où des cellules anormales se multiplient avec un échappement au contrôle cellulaire normal. La transformation et la croissance de ces millions de cellules dans un seul endroit comme le sein constitue une tumeur. Les modifications génétiques associées à cette transformation sont souvent des mutations qui produisent une augmentation des fonctions des oncogènes ou une perte de fonction des gènes de suppresseurs de tumeurs (Ruddon, 2007)

### II.3. Définition du cancer du sein

Le cancer du sein est une pathologie caractérisée par la présence d'une (ou de plusieurs) tumeur maligne, qui se développe au dépens des tissus épithéliales (carcinome), plus rarement au dépens des cellules du tissu conjonctif (sarcome). Certaines cellules cancéreuses se détachent de leur lieu d'origine et migrent vers les ganglions de l'aisselle ou vers les

différentes parties du corps à travers les vaisseaux sanguins, c'est ce qu'on appelle métastases (Ruddon, 2007).

### II.4. Classification du cancer du sein

Il existe différentes possibilités de classification des tumeurs : selon l'organe, selon le tissu dont elles sont issues (classification anatomopathologique) ; selon leur aspect macroscopique et enfin selon leur extension (Torjani *et al.*, 1998). Il existe aussi une classification selon l'expression des gènes (Sorlie *et al.*, 2001).

#### II. 4.1. Classification histologique

Les tumeurs mammaires sont dites lobulaires ou canalaire selon qu'elles se développent au niveau des lobules ou plus souvent au niveau des canaux galactophores. Les carcinomes sont des proliférations malignes qui représentent 98% des tumeurs malignes du sein. Selon la classification établie par l'organisation mondiale de la santé, les carcinomes sont représentés par deux groupes : les carcinomes infiltrants et les carcinomes non infiltrants. Les carcinomes in situ (CIS), carcinomes canalaire infiltrants (CCI), lobulaires infiltrants (CLI) sont les plus fréquents de tous les carcinomes (tableau 1) (Torjani *et al.*, 1998).

**Tableau 1.** Les Carcinomes du sein les plus fréquents (Torjani *et al.*, 1998).

Carcinome	In situ	Infiltrant
Carcinome canalaire	(CCIS) se définit comme une prolifération de cellules épithéliales, cytologiquement malignes, confinées à l'intérieur de l'arbre galactophorique. Il se distingue du carcinome infiltrant par l'absence d'effraction de la membrane basale et d'envahissement du connectif. Il représente 15 à 20% des cancers du sein.	(CCI) Plus fréquent, il représente 65 à 80% de tous les cancers du sein infiltrant.
Carcinome lobulaire	(CLIS) L'OMS le définit comme un carcinome intéressant les canalicules intralobulaires qui sont comblés et distendus par une prolifération de cellules peu jointives sans envahissement du tissu conjonctif voisin. Environ 0,5 % des carcinomes mammaires.	(CLI) constitué de petites cellules régulières comparables à celle du carcinome lobulaire in situ.

#### II. 4.2. Classification TNM

Les différents cancers du sein ainsi que leur degré d'évolution locale et métastatique sont classés selon des stades bien définis, basés sur l'apparence des cellules. L'indice TNM (Tableau 2) résume les stades de la maladie (De la Fontan *et al.*, 2012).

**Tableau 2.** La classification TNM (De la Fontan *et al.*, 2012).

<b>T</b>	<b>T<sub>x</sub></b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Extension locale (dimension de la tumeur)	Tumeur ne peut être évaluée	Tumeur ≤2 cm	2<Tumeur≤5 cm	T > 5 cm	tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique (a) ou à la peau (b)
<b>N</b>	<b>N<sub>x</sub></b>	<b>N0</b>	<b>N1</b>	<b>N2</b>	<b>N3</b>
Adénopathies (anomalies des ganglions)	Les ganglions lymphatiques régionaux ne peuvent être évalués	Absence d'adénopathie régionale	Ganglions axillaires homolatéraux suspects qui restent mobiles.	Ganglions axillaires homolatéraux suspects, fixés entre eux ou à d'autres structures	Ganglions sous-claviculaires homolatéraux suspects
<b>M</b>	<b>M<sub>x</sub></b>		<b>M0</b>	<b>M1</b>	
Absence ou présence de métastase	les métastases à distance ne peuvent être évaluées.		Absence de métastase	Présence de métastase	

### II.4.3. Classification moléculaire

Les critères classiques utilisés par les pathologistes pour classer les tumeurs du sein étaient : la taille de la tumeur, le grade, les marqueurs hormonaux progestérones, œstrogènes ; plus récemment le statut HER2, mais avec l'hétérogénéité du cancer du sein ces critères ne permettent pas de bien suivre son évolution et de bien personnaliser le traitement selon les différents types (De la Fontan *et al.*, 2012).

Perou *et al.* (2000) furent les premiers à classer les tumeurs en 4 sous-groupes définis par leurs profils moléculaires grâce à des puces d'ADNc ER+/luminal-like, basal-like, Erb-B2+ et normal breast, ensuite cette classification fut améliorée par Sorlie *et al.* (2001) En précisant et en divisant le groupe luminal en 2 sous-types (Luminal A, B). Toutefois, certains sous-types apparaissent eux-mêmes hétérogènes et doivent être encore mieux décrits. Pour chaque sous-classe, les marqueurs biologiques exprimés ainsi que les types histologiques des tumeurs ont été étudiés. Ces catégories moléculaires ont des pronostics différents ce qui apporte un intérêt majeur dans le traitement de cancers du sein.

**Le groupe Luminal A :** tumeurs exprimant au moins un récepteur hormonalet n'exprimant pas le HER2 (RE+ et/ou RP+, HER2), dont l'expression génique est proche de celle des cellules épithéliales lumorales dont l'expression des cytokératines CK8/18. Ce groupe présente le meilleur pronostic avec un temps de rémission plus long.

**Le sous-type LuminalB** : tumeurs exprimant au moins un récepteur hormonal et surexprimant le récepteur HER2 (RE+ et/ou, HER2+), le Luminal B est caractérisé par un pronostic moins bon que le Luminal A.

**Le sous-typeHER2** : tumeurs caractérisées par une surexpression de l'oncogène HER2, ainsi qu'une faible expression de RE. Il a un pronostique défavorable.

**Le sous-type normal-like** :représente la surreprésentation des cellules mammaires normales, exprimant des gènes différents de ceux des cellules épithéliales et adipeuses. Elles ont aussi une faible expression des gènes des cellules lumorales.

**Le sous-typeBasal-like** : Les tumeurs de type basal ou basal-like (BLBC, Basal-LikeBreast Cancer) sont caractérisées par l'expression de gènes identiques à ceux exprimés par des lignées de cellules myoépithéliales (basales), donc ces tumeurs expriment une forte expression des cytokératines CK 5,6 et 17, aussi actine du muscle lisse EGFR, et n'expriment pas les récepteurs hormonaux (RE, RP) et l'HER2. Présentent un taux plus élevé de mutation de p53 ; leur grade histopronostique est de III avec une activité mitotique élevée. Ce sous-type a le pronostic le plus défavorable pour la survie globale et sans rechutes.Par extension, on parle de tumeurs triples négatives (TNBC).

**Le sous-type Triple négatif (TNBC)** : les tumeurs sont triple négatif (RE- RP- HER2-) qui comprennent un grand nombre de tumeurs de type basal. Il n'y a toutefois pas de superposition complète entre ces deux groupes.

### III. Le cancer du sein triple négatif

#### III.1. Définition

Le cancer du sein triple négatif (TNBC for Triple NegatifBreast Cancer) est un type particulier de cancer du sein défini par l'absence d'expression des récepteurs d'œstrogènes, de progestérone ainsi que l'absence d'amplification du récepteur HER2.Il a ses propres caractéristiques cliniques pathologiques et constitue une réelle préoccupation du fait de son aspect agressif et de son mauvais pronostic (William *et al.*,2008).

#### III.2. Caractéristiques du TNBC

##### III.2.1. Caractéristique moléculaires

Le cancer du sein triple négatif se caractérise par l'absence des récepteurs hormonaux (RE, RP) et de HER2 mais aussi expriment fortement ou faiblement d'autres molécules, (le tableau 2) résume ses caractéristiques (William *et al.*, 2008).

**Tableau 3.**Caractéristiques moléculaires du cancer du sein TN (William *et al.*, 2008).

Forte expression	Faible
Cytokératines 4 ,14 ,17	ER
EGFR	PR
Vimentin	HER2
E-cadhérine	Cycline D1
Cycline E	RB
C-kit	

### III.2.2. Caractéristiques cliniques

Le cancer du sein triple négatif, représente un groupe très agressif, cette agressivité est due aux caractéristiques particulières de ce type moléculaire.

- Caractéristiques des patientes : le jeune âge au diagnostic, la prévalence la plus élevée chez la race afro-américaine, la tumeur TN est la première tumeur chez les porteuses de mutations *BRCA1* (William *et al.*, 2008)
- Caractéristiques histopathologiques : présentant une histologie canalaire ou mixte, et le plus souvent de haut grade (III), la taille de la tumeur est supérieur à celui des autres types, Il n'existe pas corrélation entre la taille de la tumeur et le statut ganglionnaire, contrairement aux autres types de tumeurs. L'âge moyen du diagnostic de ce type est inférieur à celui des autres tumeurs (Dent *et al.*, 2007). Le TNBC présente le plus faible pronostic avec un risque de rechutes précoces (William *et al.*, 2008)
- Traitement : il n'existe pas de thérapie ciblée utilisée (l'heure actuelle) pour le TNBC, mais il présente une bonne réponse à la chimiothérapie primaire (William *et al.*, 2008)

La plus part des TNBC présentent une histologie CCI, d'autres types d'histologies sont retrouvés dans cette catégorie de tumeur (Weight *et al.*, 2008). En effet le TNBC ne représente pas un type histologique particulier mais un statut immunohistochimique commun à un nombre de tumeurs aux biologies et notamment cliniques différents. Les types histologiques du TN sont représentés par un groupe ayant un bon pronostic (Carcinome médullaire, Carcinome adénoïde Kystique, Carcinome métaplasique de BG) d'une autre part les types ayant un mauvais pronostic (CCI, CII, C métaplasique de HG) ; ceci démontre l'hétérogénéité que représente le TNBC (Okmar *et al.*, 2010).

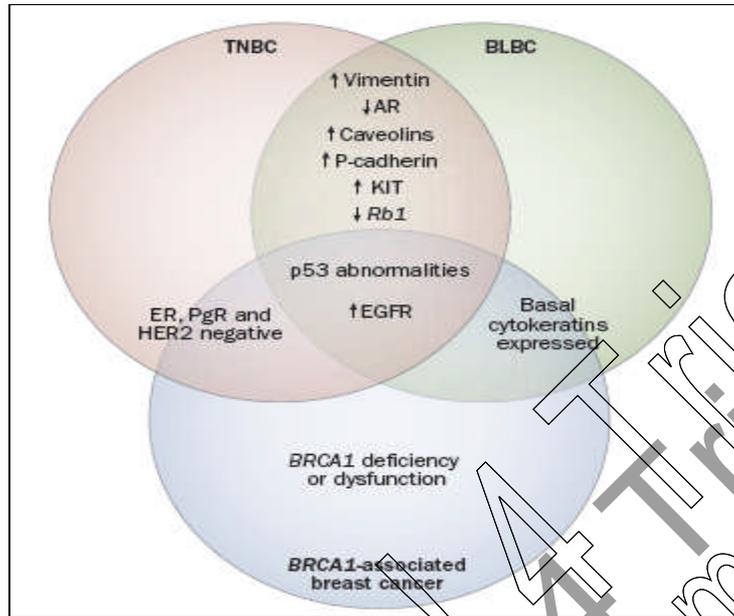
### III.3. Le TNBC et le BLBC

Le terme triple négatif est attribué aux tumeurs qui ont des statuts d'ER/RP/HER2 négatif en tests immunohistochemiques cliniques alors que l'attribution du phénotype de Basal-like (BLBC) est fait à partir de l'expression des cytokératines 5/6 ou 17 plus la triple négativité des récepteurs RE/RP/HER2 (Carey *et al.*, 2010). L'expression génique du Basal-like ressemble à celui des cellules myoépithéliales (nommé aussi basal, d'où le nom Basal-like) comme les cytokératines (CK 6/5, CK 14, CK 17), la cavéoline, cycline D1, vimentine et p-cadhérin, EGFR (Carey *et al.*, 2010).

Le sous-type Basal like, représente entre 10% et 20% du cancer du sein, il a une grande prévalence chez les jeunes patientes pré-ménopausées (Carey *et al.*, 2006).

Des études utilisant des profils d'expression génique montrent que seulement 71% de tumeurs TN correspondent à un phénotype BLBC, elles sont donc TNBLBC, ceci suggère que les TNBC ne sont pas tous Basal-like, et inversement seulement 77% des BLBC montrent un profil histologique TN, appelées TNBLC et ceci suggère que pas tous les BLBC sont TNBC (Figure 5). De plus le BLBC semble former un groupe de tumeurs très homogène contrairement au TNBC. Le BLBC présente un mauvais pronostic, de ce fait le mauvais

pronostique du TNBC peut être attribué à la fraction du TNBC qui est BLBC (TNBLBC) (de Ruijter *et al.*, 2011)



ER : Récepteur d'œstrogène, BLBC : Basal-like breast cancer, PgR : récepteur de progésterone, TNBC : cancer triple négatif, BRCA1 : le gène BRCA1

**Figure 3.** Les caractéristiques communes entre le cancer du sein triple négatif, le Basal-like et tumeurs associées au BRCA1 muté (Carey *et al.*, 2010).

### III.4. TNBC et BRCA

Une étude a montré que les patients atteints du cancer du sein et portant une mutation germinale du gène *BRCA1*, ont le plus souvent un profil négatif pour RE, RP, HER2 et positif pour la protéine P53 ; en effet 90% des porteuses de mutation *BRCA1* ont un statut négatif pour l'ER, 79% pour le RP, 79% pour l'HER2 ; contrairement à celles qui sont porteuses de mutations du gène *BRCA2*, qui elles présentent un profil ressemblant à ceux des personnes saines (Bakhtani *et al.*, 2002).

D'un autre côté, une étude a établi que 19,5% des TNBC ont des mutations BRCA (15,6% sur *BRCA1* et 3,9% sur *BRCA2*) (Gonzalez *et al.*, 2011).

La figure 5, illustre le chevauchement et les caractéristiques communes existant entre le TNBC, le BLBC et les tumeurs *BRCA1* mutés.

#### III.4.1. Le gène *BRCA1*

##### III.4.1.1. Structure du gène *BRCA1*

En 1990, l'équipe de MC King positionne le premier gène majeur de susceptibilité au cancer du sein *BRCA1* (Breast Cancer 1) situé le bras long du chromosome 17 dans la région q21 (Hall *et al.*, 1990). Quatre ans plus tard *BRCA1* est cloné par la technique de clonage positionnel (Miki *et al.*, 1994). Le gène *BRCA1* est constitué de 24 exons répartis sur 81 kb

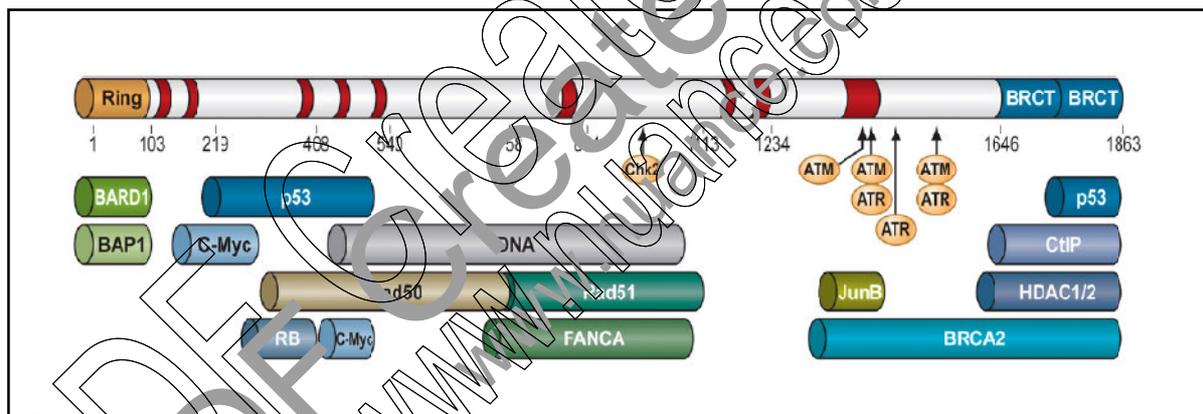


## III.4.1.2. La protéine BRCA1 et ses fonctions

Le gène *BRCA1* code pour une phosphoprotéine nucléaire complexe de 1863 Aa, elle est synthétisée durant la transition G1/S du cycle cellulaire avec un pic en phase S qui est maintenu jusqu'à la fin G2 (Miki *et al.*, 1994).

Cette protéine ressemble aux autres protéines par les régions conservées (Mark *et al.*, 2005):

- La région N-terminal contient un domaine Ring Finger constitué de 126 acides aminés situés entre l'exon 2 et 5 ; qui lie la protéine BARD1. Ce domaine à un rôle important dont les fonctions incluent la régulation de la transcription, la recombinaison et la réparation de l'ADN, permet les interactions protéine-protéine et ADN/protéine. La région N-terminal contient aussi deux séquences de localisation nucléaire NLS située en 5' de l'exon 11 semblerait également impliquée dans les interactions protéine/protéine.
- La région centrale de BRCA1 contient un site de phosphorylation de la protéine CHK2.
- La région C-terminal contient un domaine SCD : 10 sites potentiels de phosphorylation par les ATM. Cette région contient aussi un domaine à deux motifs BRCT, répétés en tandem, cette région intervient au niveau des interactions protéine/protéine ce domaine est retrouvé dans de nombreuses protéines participant aux réparations de l'ADN et au contrôle du cycle cellulaire.



**Figure 3.** Représentation schématique des différents domaines de la protéine BRCA1 et son interaction avec les autres protéines cellulaires (Mark *et al.*, 2005).

*En rouge :* Les principaux partenaires d'interactions de la protéine BRCA1 sont représentés ainsi que les sites de phosphorylation (flèches) de BRCA1.

La protéine BRCA1 par ses domaines fonctionnels et ses interactions avec d'autres protéines a plusieurs rôles (figure 7) : rôle dans la transcription en interagissant avec la machinerie de transcription (Sculy *et al.*, 1997), rôle dans la réparation de l'ADN en interagissant avec le complexe multi-protéique de surveillance (BASC) (Wang *et al.*, 2000). Aussi BRCA1 a un rôle dans le contrôle du cycle cellulaire à travers la phosphorylation de BRCA1 qui est indispensable pour l'activation des checkpoints (Roy *et al.*, 2012)

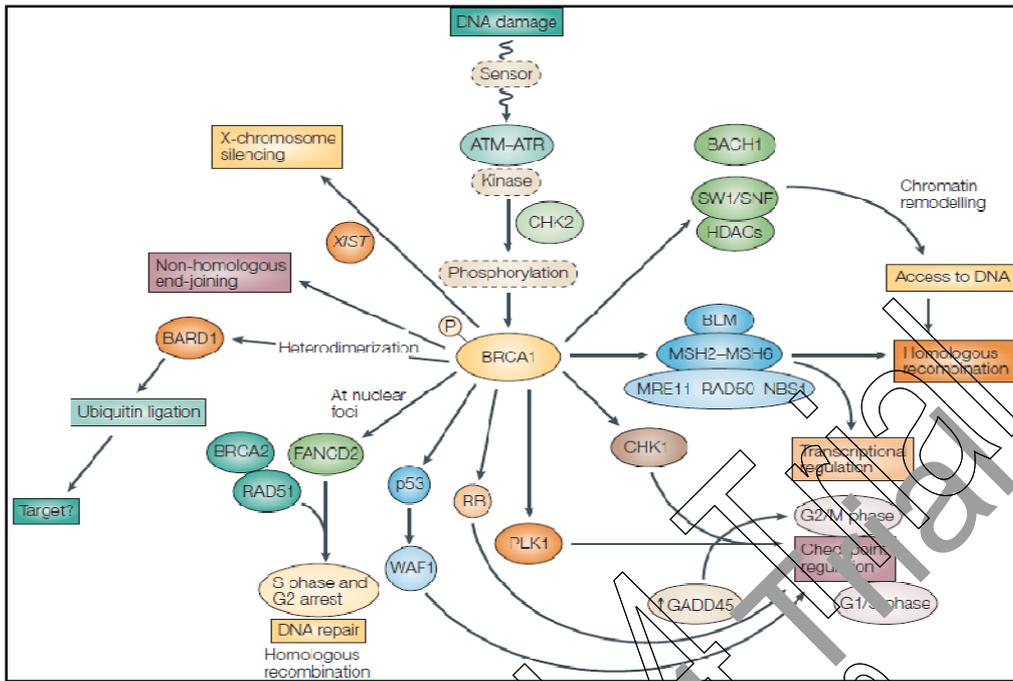


Figure 7. Les rôles De la protéine BRCA1 et ses interactions (Narod and Foulks., 2004)

### III.4.2. Le gène *BRCA2*

#### III.4.2.1. La structure du gène *BRCA2*

Le gène *BRCA2* est localisé sur le chromosome 13q12 entre les marqueurs D13S267 et DS13260 (figure 9). C'est un gène de 27 exons (figure 8) dont le premier n'est pas codant, répartis sur 84Kb d'ADN génomique. Il présente deux exons centraux de grande taille l'exon 10 et l'exon 11 (Tavtigian *et al.*, 1996).

Les introns représentent 86% de la séquence génomique de *BRCA2*. Les 26 exons déterminent une CxF de 11 385 pb qui permet la synthèse d'une protéine de 3418 acides aminés de 440 kDa. Comme pour *BRCA1*, il existe différents transcrits *BRCA2* résultant d'un épissage alternatif (Tavtigian *et al.*, 1996).

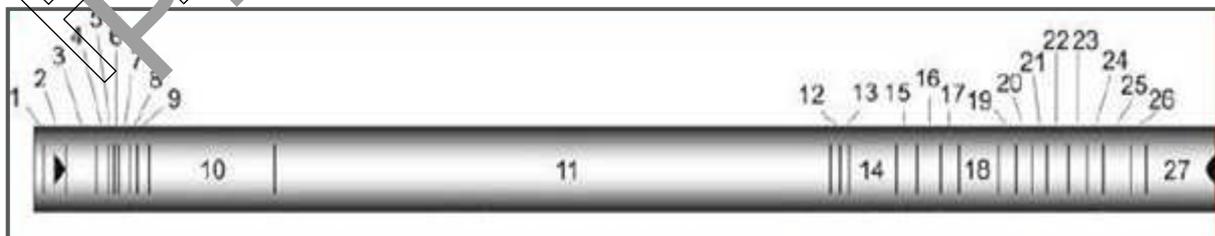


Figure 8. Structure du gène *BRCA2* (In Breast Cancer Information Core)

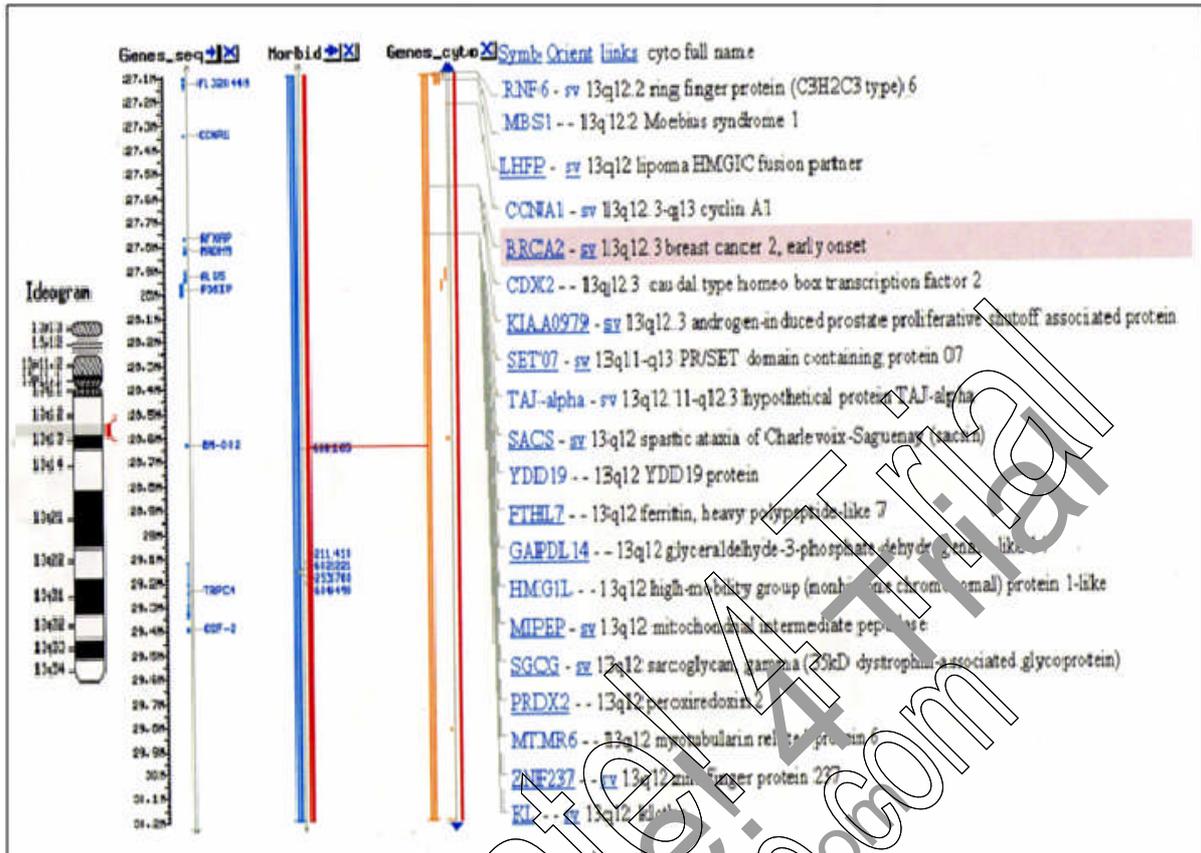


Figure 9. Carte génétique et ideogramme du chromosome 13. [www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM/MapViewer](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM/MapViewer)

### III.4.2.2. La protéine BRCA2 et ses fonctions

Les domaines fonctionnels de BRCA2 (Mark *et al.*, 2005) :

- La protéine BRCA2 contient un domaine central (BRC repeats), ce domaine contient huit éléments répétés, formé de 40 acides aminés localisés sur l'exon 11, ce domaine lie la protéine RAD51, cette dernière impliquée dans la réparation de l'ADN.
- Le domaine de liaison à l'ADN (DBD) qui lie aussi bien l'ADN simple brin que l'ADN double brin.
- La région C-terminale contient deux domaines NLS et elle peut lier la RAD51.

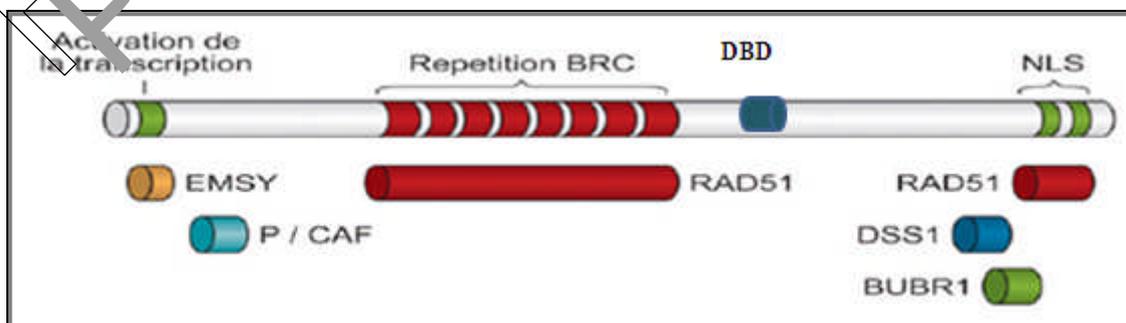


Figure 10. Domaines fonctionnels de la protéine BRCA2 (Mark *et al.*, 2005).

La protéine BRCA2 est exprimée de façon ubiquitaire. Elle joue un rôle important dans la réparation de l'ADN, cependant son rôle dans la régulation de la transcription et du point de contrôle cellulaire n'est pas encore bien fini (Venkitarman *et al.*,2002).

En conclusion les gènes *BRCA1* et *BRCA2* maintiennent la stabilité du génome (caretakers) en ayant un rôle dans la réparation et le contrôle du cycle cellulaire, c'est des gènes suppresseurs de tumeurs (Venkitarman *et al.*,2002)..

### III.4.3. Les mutations du gène *BRCA1* et *BRCA2*

L'inactivation des gènes *BRCA1/2* implique l'apparition d'un potentiel de mutations (figure 11,12) qui déclenchent la prolifération maligne. Plus de 1536 et 1885 mutations germinales distinctes, variants de signification biologique inconnue (UVs) et polymorphismes sont dispersés, respectivement tout au long de la séquence des gènes *BRCA1* et *BRCA2* (Banque de données internationales BIC). Les mutations pathogéniques des gènes *BRCA1* dans la majorité des cas, sont des mutations conduisant à une protéine tronquée : mutation stop, petites délétions (70%) et 10% d'insertions de quelques nucléotides rompant le cadre de lecture, anomalie d'épissage, et les grands réarrangements génomiques (LGR) c'est-à-dire des grandes délétions ou des duplications. Il faut souligner aussi, que les LGR sont plus nombreux au niveau du gène *BRCA1* (83 ont été déjà décrits) que sur le gène *BRCA2* (17 ont été déjà décrits).

Il existe un grand nombre de substitutions pour lesquelles les conséquences fonctionnelles restent encore inconnues. Ces sont les variants à signification incertaine (UVs), dont la proportion reste difficile à estimer. Ces variants peuvent être délétères ou neutres. La plus part des réarrangements résultent de recombinaisons entre deux séquences Alu homologues, or ces séquences répétées sont présentes en très grand nombre dans les gènes *BRCA1* et sont répartis uniformément dans tous les introns (Venkitarman *et al.*,2001).

Chez les patientes algériennes, 8 UVs et polymorphisme ont été détecté dans les gènes *BRCA1/2* (33 *BRCA1* and 47 *BRCA2*) (Cherbal *et al.*,2012), trois mutations pathogéniques c.83\_84delTG, c.111T>G, c.798\_799delTT ont été reporté et deux grands réarrangements incluant une délétion de l'exon 2 et 8 respectivement du gène *BRCA1* (Cherbal *et al.*, 2010).

Deux mutations pathogéniques c.1310\_1313delAAGA et c.5722\_5723delCT ont été identifiées dans le gène *BRCA2*. Trois autres mutations dans l'exon 2 du gène *BRCA1* dont deux faux sens (122 G>A, 135C>G) et une mutation silencieuse (191T>C), une autre mutation silencieuse (3333C>T) a été identifié sur l'exon 11 du gène *BRCA1* (Salhi *et al.*, 2006)

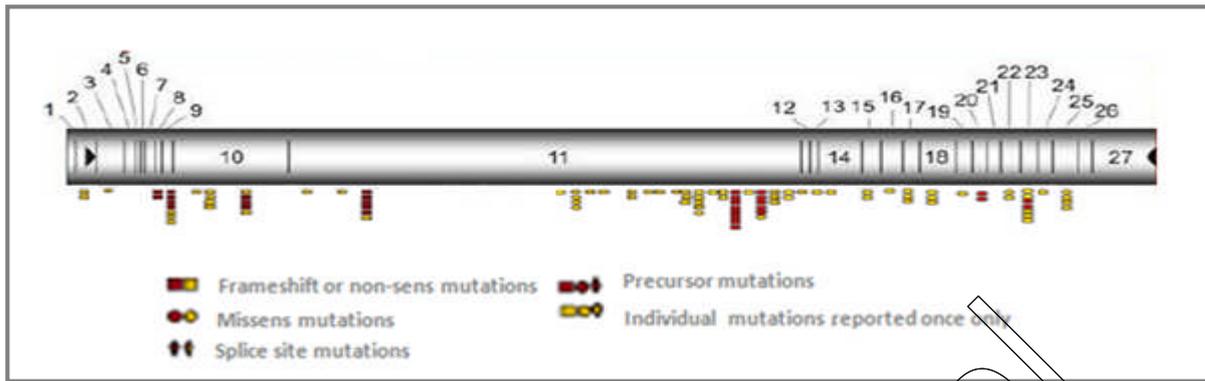


Figure 11. Les mutations retrouvées sur le gène *BRCA2* (In Breast Cancer Information Core)

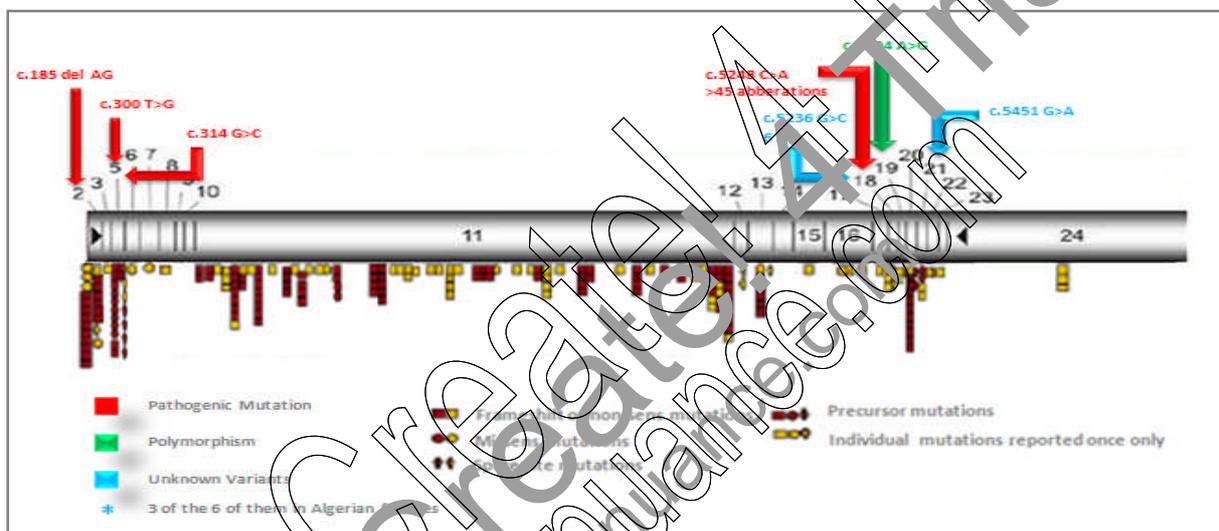


Figure 12. Exemples de mutations retrouvées sur le gène *BRCA1* (In Breast Cancer Core)

### III.5. Métastases du cancer du sein triple négatif

Le cancer du sein métastatique n'est pas curable, les traitements administrés aux patientes métastatiques visent à améliorer leur qualité de vie.

Le cancer du sein triple négatif a une tendance aux métastases viscérales (cérébrales et poumons), plutôt que par les ganglions lymphatiques (osseuses et foie) (Rakha *et al.*, 2011).

### III.6. Thérapeutique du TNBC

En général les options de traitement TNBC sont divisées, en deux groupes thérapies ciblées et les thérapies non ciblées (agents cytotoxiques), ces dernières ont des effets qui endommagent toutes les cellules en division, y compris les cellules normales et surtout qui ont une division rapide comme les cellules sanguines ; c'est les effets secondaires de ces agents cytotoxiques (Carey *et al.*, 2010).

### III.6.1. Thérapies non ciblés

Cependant la seule option de traitement systémique pour ces patientes TN est la chimiothérapie avec les agents cytotoxiques, pour lesquels ces tumeurs (TN) montrent une chimio-sensibilité. Le schéma actuellement validé est le FEC (Fluorouracil, Epirubicine, Cyclophosphamide)/taxane(William *et al.*,2006).

### III.6.2. Thérapies ciblées

Le TNBC reste la tumeur qui a le plus mauvais pronostic ceci dit à cause de la proportion(50 à 60%) de TNBC présentant une chimiorésistance (De Laurentiis *et al.*, 2010). Pour cela la recherche de biomarqueurs qui semble indispensable pour des approches thérapeutiques. De nombreuses thérapies ciblées pour le TNBC sont en cours d'études. Nous allons aborder deux de ces principaux cibles prometteuses pour le traitement des tumeurs triple négatives :

#### III.6.2.1 Inhibiteurs de l'Epidermal Growth Factor (EGFR)

EGFR pour Epidermal Growth factor Receptor ou HER1, c'est un récepteur à activité tyrosine Kinase qui appartient à une famille de 4 récepteurs. Parmi les cibles thérapeutiques potentielles, l'EGFR apparaît comme un élément clé du processus tumoral, par les phénomènes qu'il régule (division cellulaire, angiogenèse, métastase et inhibition de l'apoptose) et par sa surexpression dans certains types de tumeurs. La majorité des TNBC expriment l'EGFR. Pour neutraliser l'EGFR (HER2), deux stratégies sont tentées : Anticorps monoclonaux (par exemple le Cétuximab) et les inhibiteurs de la Tyrosine Kinase (par exemple le gefitinib) (Moussard, 2003).

#### III.6.2.1. Inhibiteurs de la Poly ADP-Ribosylation Polymerase

Les mutations des gènes *BRCA1* et autres dysfonctionnement dans la voie BRCA sont fréquentes dans le phénotype TNBC.

PARP est une superfamille de dix-sept enzymes, qui présentent des rôles et des structures différentes. PARP1 est une enzyme qui a un rôle dans la réparation des cassures d'ADN simples brins (SSB). *BRCA1* est un médiateur important dans ses voies de réparation.

Les systèmes de réparation sont complémentaires lorsque une voie de réparation se perd, une voie la remplace, lorsque un gène perd sa fonction (*BRCA1* ou PARP), une autre voie de réparation est activée, mais la perte des fonctions des deux gènes est létale pour la cellule et c'est ce principe utilisé dans la thérapie ciblée avec les inhibiteurs de PARP pour les cellules *BRCA1* déficientes(De Laurentiis *et al.*, 2010).

Les inhibiteurs de PARP sont en cours d'essais cliniques montrant une activité anti-tumorale prometteuse avec peu d'effets secondaires comme par exemple l'*Olaparib* et le *BSI-201* (De Laurentiis *et al.*, 2010).

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

### I. Matériels

#### I.1. Patients

Le but du présent travail est l'étude épidémiologique et génétique du cancer du sein triple négatif chez des patientes algériennes. Pour cela nous avons fait une étude rétrospective à partir des dossiers du service de radiothérapie du centre anti-cancer de l'hôpital Frantz Fanon de Blida (Responsable Pr Boualga Kada), notre stage pratique au niveau du service de radiothérapie du centre anti cancer de Blida s'est déroulé du mois d'avril à juin 2012. La deuxième partie de notre stage pratique de Master a été réalisée au niveau de l'unité de génétique (Equipe des pathologies génétiques en Algérie) de la faculté des sciences biologiques de l'USTHB (Alger). Elle a duré du 03 au 16 Juillet 2012.

Nous avons relevés 851 cas de cancer du sein admis de juin 2011 au juin 2012 dans ce service. Nous avons éliminé 200 cas à cause des statuts incomplets des biomarqueurs. A partir des 651 patientes atteintes du cancer du sein nous avons sélectionné 10 patientes atteintes du cancer du sein triple négatif, un interrogatoire a été fait avec elles :

- L'histoire familiale du cancer.
- Age actuelle.
- Age du diagnostic.
- Situation familiale.
- Grossesses (oui /non & nombres).
- Allaitement (oui/non) et durée.
- Prise de contraceptif oral (oui /non).

Une fiche clinique précise a été remplie à partir des dossiers médicaux de ses patientes (voir annexe I). Ces patientes ont été informées de l'objectif de notre étude et une fiche de consentement leur a été présentée pour chacune d'elle (annexe I).

#### I.2. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est le sang total du patient, ce dernier est recueilli dans des tubes à EDTA sous vide. Comme nos patientes sont sous chimiothérapie, il leur a été prélevé 3ml et le sang doit être bien homogénéisé au moment du prélèvement, afin d'éviter le phénomène de la coagulation qui risque d'altérer la qualité de l'ADN.

### II. Méthodes

#### II.1. L'immunohistochimie

L'immunohistochimie, méthode utilisée dans la localisation des protéines dans les cellules d'une coupe de tissu. cette méthode a été utilisée pour l'évaluation des récepteurs hormonaux

---

(RE ,PR) et de l'HER2 chez les patientes , cette méthode réalisé en routine au niveau du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital Frantz Fanon(Responsable Pr Lamouti ), technique mieux adapté aux tissus fixés et inclus en paraffine (Mohsinet *al.*, 2004 ).

### -Analyse des résultats de l'immunohistochimie

- Score de positivité des récepteurs hormonaux (RE , RP)

La valeur seuil de la positivité des récepteurs hormonaux est de 10% des cellules marquées qui correspond au score 2

**Tableau 4.**Score et marquage des récepteurs hormonaux selon la méthode d'immunohistochimie(Mohsinet *al.*, 2004)

Score	Marquage
0	Pas de marquage
1	1% de cellules marquées
2	1/10 cellules marquées
3	1/3 cellules marquées
4	2/3 cellules marquées
5	100% cellules marquées

- Seuil de positivité de l'HER2

Pour l'HER2, selon la coloration des membranes des cellules tumorales, le classement s'effectue de zéro à plus de trois (0-3). Le seuil de positivité est à partir du score +3.

**Tableau 5.** Score et marquage de l'HER2 selon l'immunohistochimie (Jacobs *et al.*, 2000)

Score	Marquage
0	Pas de marquage
+1	Marquage membranaire incomplet
+2	Marquage membranaire complet d'intensité moyenne de plus de 30% des cellules tumorales
+3	Marquage membranaire complet et intense dans plus de 30% des cellules tumorales

## II.2.Extraction d'ADN génomique

Ce travail pratique a été réalisé au niveau de l'unité de génétique de la faculté des sciences biologiques à l'U.S.T.H.B (Alger).

L'extraction de l'ADN génomique à partir des globules blancs du sang périphérique, consiste à éliminer toutes les substances indésirables (protéines, ARN, sels...), et pour cela nous avons travaillé sur du sang congelé qu'on a décongelé avant l'extraction.

Le sang humain étant un liquide biologique à haut pouvoir pathogène et infectieux, il faut pour cela respecter toutes les conditions d'hygiène et de stérilité, ainsi que les procédures standards définies par l'OMS afin d'éviter les contaminations. Pour cela, le port de blouses blanches, de lunettes spéciales et de gants stériles sont obligatoires durant toutes les étapes de l'extraction de l'ADN génomique à partir du sang humain

Protocole d'extraction de l'ADN génomique à l'aide du Kit Promega Wizard® GenomicDNA Purification Kit, cat# A1120).

### ➤ Lyse des globules rouges

- Ajouter 300µl de sang total à un tube de 1.5ml contenant 900µl de solution de lyse des globules rouges (Celllysis solution), incubé à température ambiante pendant 10 minutes puis vortexer quelques secondes
- Centrifuger à 12000rpm pendant 3min, puis transférer le surnageant à l'aide d'une micropipette et garder 10 à 20µl de liquide résiduel
- Vortexer le tube vigoureusement afin de resuspendre les globules blancs dans le volume résiduel restant.

### ➤ Lyse des globules blancs

- Ajouter 300µl de solution de lyse des cellules (NLS nucleolysis solution) au tube contenant la suspension cellulaire puis resuspendre à l'aide d'une micropipette afin de permettre la lyse des cellules.
- Mixer puis incubé le tube à 37°C ou à température ambiante jusqu'à ce que la solution devienne homogène. (Les échantillons sont stables dans la solution de lyse cellulaire pour une durée de 18 mois à température ambiante)
- Ajouter 3µl de protéinase K (PK) puis incubé à 56°C durant 1h jusqu'à lyse complète.

### ➤ Traitement à la RNase (optionnel)

- Ajouter 1µl de solution ARNase au lysat cellulaire.
- Mixer les échantillons en inversant le tube 25 fois, puis incubé à 37°C durant 15min

### ➤ Précipitation des protéines

- Laisser les échantillons refroidir à température ambiante, vortexer puis incubé dans la glace (une dizaine de minutes)
- Ajouter 100µl de solution de précipitation des protéines au lysat cellulaire.
- Vortexer vigoureusement à une grande vitesse durant 20sec afin de bien homogénéiser la solution de précipitation de protéines avec les lysats cellulaires.
- Centrifuger à 12000rpm pendant 15min, les protéines formant un culot de couleur foncé (noir ou brun).

### ➤ Précipitation de l'ADN

- Transférer délicatement le surnageant contenant de l'ADN dans un tube de 1,5ml Contenant 300µl de l'isopropanol 100%, et conserver à -20°C les tubes contenant le culot des protéines.
- Mélanger les échantillons en inversant délicatement les tubes 50 fois jusqu'à apparition de filaments d'ADN blanchâtres visibles (apparition d'une méduse).
- Mettre à -20 °C pendant 20min, afin d'accélérer la précipitation de l'ADN puis centrifuger à 12000rpm pendant 10min.
- Retirer le surnageant et laisser sécher les échantillons sur du papier absorbant puis ajouter 300µl d'éthanol 70% conservé à -20°C, et inverser le tube plusieurs fois afin de laver le culot d'ADN.
- Centrifuger à 12000rpm pendant 10min, ensuite retirer délicatement l'éthanol sans déloger l'ADN(ne laisser que la méduse).
- Sécher le tube sur du papier absorbant puis laisser sécher les échantillons à l'air libre durant 15-30min
- Reprendre le culot d'ADN dans 100µl de solution d'hydratation de l'ADN (ou de l'eau stérile DNase et RNase free)
- Laisser l'ADN se réhydrater toute la nuit à température ambiante.(Alternativement si le culot d'ADN ne se dissout pas alors chauffer à 65°C durant 1h)
- Stocker au réfrigérateur entre 2°C et 8°C.

### II. 3. L'électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel est la méthode de choix pour la séparation, la purification et l'identification des fragments d'ADN.

Les molécules d'ADN sont des macromolécules polyanioniques uniformément chargées, on peut les faire migrer dans un champ électrique. Les molécules migrent vers le pôle opposé à leur charge, leur migration sera en fonction du poids moléculaire et la concentration du gel. Le gel d'agarose est le plus utilisé (l'acrylamide a un pouvoir séparateur plus important que l'agarose, cependant il est plus toxique) et permet de séparer des fragments d'ADN de taille comprise entre 0,5 et 20kb. Le choix de la nature et la concentration du gel de l'électrophorèse est fonction de la taille moyenne des fragments.

#### Les étapes

##### ➤ 1<sup>er</sup> étape : Préparation du gel d'agarose 1%.

- peser 0,1 g de poudre d'agarose sur du papier aluminium, et mélanger avec 100 ml de tampon TBE 1X.
- Le mélange est chauffé jusqu'à homogénéisation complète (ébullition) sur plaque chauffante ou dans un four à microondes (350 W pendant 2min).
- laisser refroidir le gel quelques minutes.
- Ajouter ensuite 2,5µl de SYBR safe (Invitrogen) à la dilution de 1/10000 (le SYBR safe est agent intercalant qui est moins mutagène que le BET, il émet de la fluorescence lorsqu'il est intercalé dans l'ADN sous ultra-violet.
- le gel est ensuite coulé dans la cuve d'électrophorèse.

### ➤ 2<sup>ème</sup> étape : Préparation des échantillons

Le volume final des échantillons est de 6 µl : 5 µl d'ADN + 1 µl de loadingbuffer (constitué de : glycérol pour garder les échantillons au fond des puits, le bleu de bromophénol, et le xylène cyanol permettent de suivre la migration et de l'EDTA qui est un agent chélateur d'ions, inhibiteur de nucléases).

On a utilisé λ/Hind III comme marqueur de taille.

### ➤ 3<sup>ème</sup> étape : Dépôt et électrophorèse

Les échantillons sont déposés dans les puits du gel d'agarose après les avoir mélangé (up/down). La migration se fait sous un voltage de 50V pendant 1h.

### ➤ 4<sup>ème</sup> étape : Visualisation

Après migration, les bandes d'ADN sont visualisées sous lumière UV, ensuite des photos sont prises avec un appareil photocoprint II. Les fichiers sont sauvegardés dans une carte mémoire.

## II.4. La technique Polymerase Chain Reaction (PCR)

### ➤ Principe de la PCR

Technique de biologie moléculaire elle a été mise au point par un groupe de biochimistes américains dont Kary Mullis et fut améliorée par l'utilisation de la taq polymérase d'une bactérie *thermusaquaticus* (bactérie thermophile) (Taguet *al.*, 2003)

C'est une technique d'amplification *in vitro* des séquences d'ADN reposant sur la répétition de réactions avec trois plateaux différents de température : la dénaturation à 95°C, l'hybridation 45- 65°C, l'élongation 72°C.

Les résultats de la PCR doivent être optimisés en fonction d'un certain nombre de paramètres : concentration en MgCl<sub>2</sub> et en amorces, spécificité des amorces ...etc.

Le choix des amorces est particulièrement crucial pour obtenir des résultats satisfaisants. Le choix des amorces :

- le nombre de bases doit être entre 20 et 25 pb.
- il faut que la somme de G+C soit égale à T+A.
- pas de séquence complémentaire ni de séquence répétée.
- l'égalité entre les TM (température de fusion) des deux amorces sens et anti-sens.

### ➤ Amplification de l'exon 11.1 du gène *BRCA1*

Dans notre étude, nous avons amplifié l'exon 11.1 du gène *BRCA1* qui est susceptible de contenir beaucoup de mutations. Pour cela nous avons utilisés des amorces spécifiques, et des conditions adaptées au gène *BRCA1*.

### ➤ Préparation de la réaction PCR

Le Master mix Comprend :

-2,4 µl de MgCl<sub>2</sub> à une concentration finale [c]<sub>finale</sub> =3Mm.

-4,6 µl de H<sub>2</sub>O.

-1 µl de Primer mix.

-2 d'ADN génomique.

-2 µlADN génomique

Ce mélange s'effectue à l'intérieur de la chambre blanche donnant un mélange de 18µl par tube. A ce mélange on rajoute 2µl d'ADN génomique en dehors de la chambre blanche, [c]<sub>finale</sub> =1ng/µl.

Les composants de la réaction sont mélangés dans une plaque PCR, et sont ensuite placés dans un thermocycler (Peltier Effect Cycling PTC TM -100, MJ reserachinc). Ce dernier assure de manière automatique les variations cycliques de la température préalablement programmées.

-Les conditions de PCR pour l'amplification de l'exon 11.1 du gène *PRCA1*

Etapes de la PCR	Température	durée
Dénaturation	95°C	15sec
Hybridation	65°C	30sec
Elongation	72°C	20sec
Etape d'extension	72°C	5min
Etape de refroidissement	4°C	Toute la nuit

**Tableau 6.** Etapes et condition de la PCR.

Dans notre travail, on a amplifié nos échantillons pendant 40 cycles, ensuite une étape d'extension à 72°C puis une étape de refroidissement pour la renaturation de l'ADN. Les produits de PCR sont ensuite analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2%.

### II.5. Test statistique, comparaison entre deux proportions

C'est le test qui compare deux proportions  $p_1$  et  $p_2$  issues de deux populations différentes, avec une hypothèse nul  $H_0$ : «  $p_1 = p_2$  » en supposant que les fréquences des deux échantillons suivent une loi normale. Si la valeur calculée sur les deux échantillons est supérieur au  $p$  alpha (0,05),  $H_0$  est retenu et les deux échantillons sont comparables, sinon on rejette l'hypothèse  $H_0$  et il y a une différence significative entre les deux échantillons (Dogde, 2004). Ce test fut utilisé pour la comparaison entre la proportion du TNBC chez les ménopausées et la proportion du TNBC chez les non ménopausées.

**I. Résultats**

Nous avons étudié 851 dossiers de patientes atteintes du cancer du sein au service de radiothérapie issues de différentes wilayas d’Algérie (Annexe II). A partir de cette étude on a éliminé 200 dossiers à cause de leurs statuts de biomarqueurs incomplets. De ces 651 patientes restantes (qui représentent notre échantillon), nous avons classé ces dernières selon leurs statuts des biomarqueurs à partir des résultats de l’examen immunohistochimique en 4 types (Tableau 7) Luminal A, Luminal B, TNBC et HER2+.

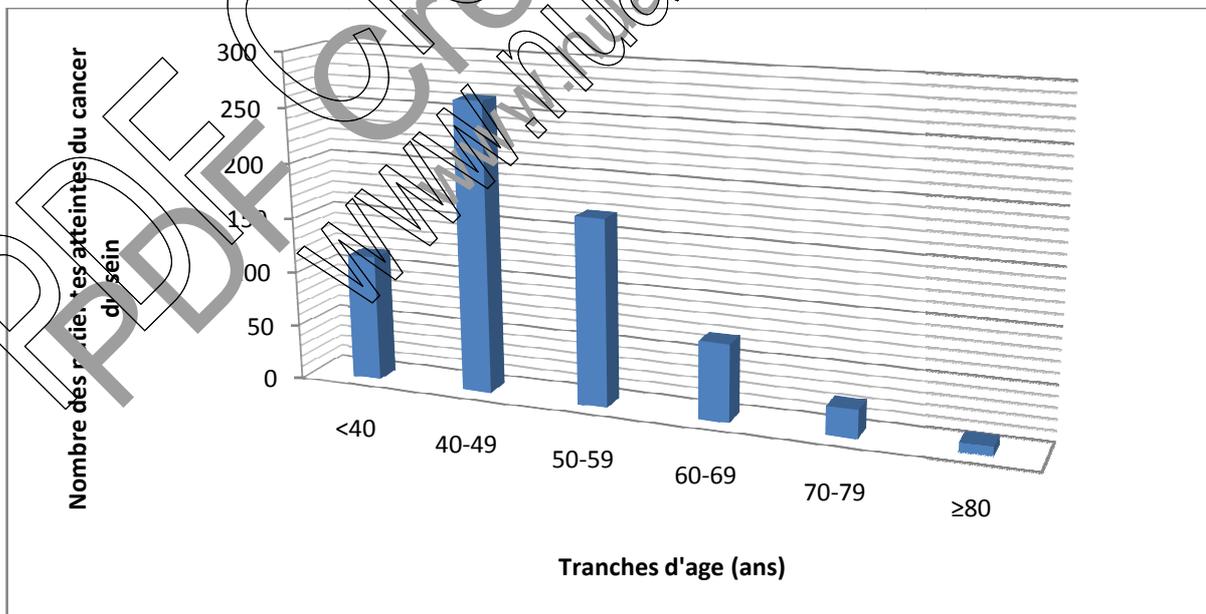
**Tableau 7. Classification moléculaire du cancer du sein basée sur les statuts RE/RP/HER2 (Linnet *al.*, 2006)**

Sous-type de cancer du sein	RE	RP	HER2
Luminal A	+ et /ou	+	-
Luminal B	+ et /ou	+	+
TNBC	-	-	-
HER2 positif	-	-	+

**I.1. Résultats de l’étude épidémiologique**

**I.1.1. Répartition de patientes atteintes du cancer du sein selon l’âge**

L’âge moyen étant de 49 ans, la médiane étant de 48ans, des extrémités de 25 ans à 85 ans. La distribution de la population selon l’âge est représentée dans la figure 13, l’effectif et les pourcentages sont présentés dans le tableau 8.



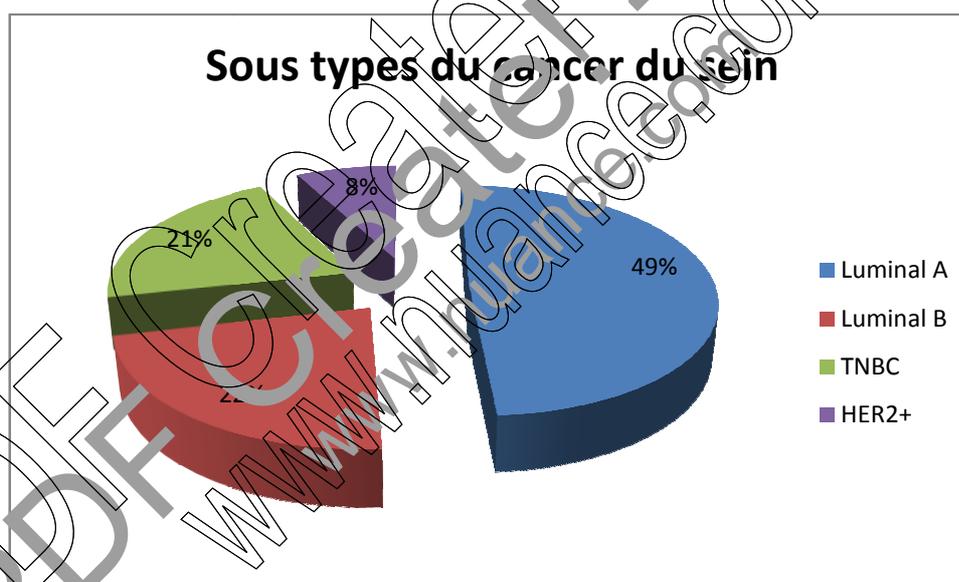
**Figure 13. Répartition selon l’âge des patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon.**

**Tableau 8.** Effectifs et proportions des patientes atteintes du cancer du sein selon l'âge.

Tranche d'âge (ans)	Effectif	%
<40	115	18
40-49	263	40
50-59	169	26
60-69	70	11
70-79	26	4
≥80	8	1
Total	651	100

### I.1.2. Répartition de patientes atteintes du cancer du sein selon les marqueurs biologiques

Afin de répartir les patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon (651 patientes) en sous types, nous avons utilisés les biomarqueurs reportés lors de l'étude épidémiologique, les résultats trouvés sont représentés dans la figure 14, avec 49% de Luminal A ( 319 patientes), 22% de Luminal B(146 patientes), 21% de TNBC(136 patientes), 8% de HER2+ (50 patientes).



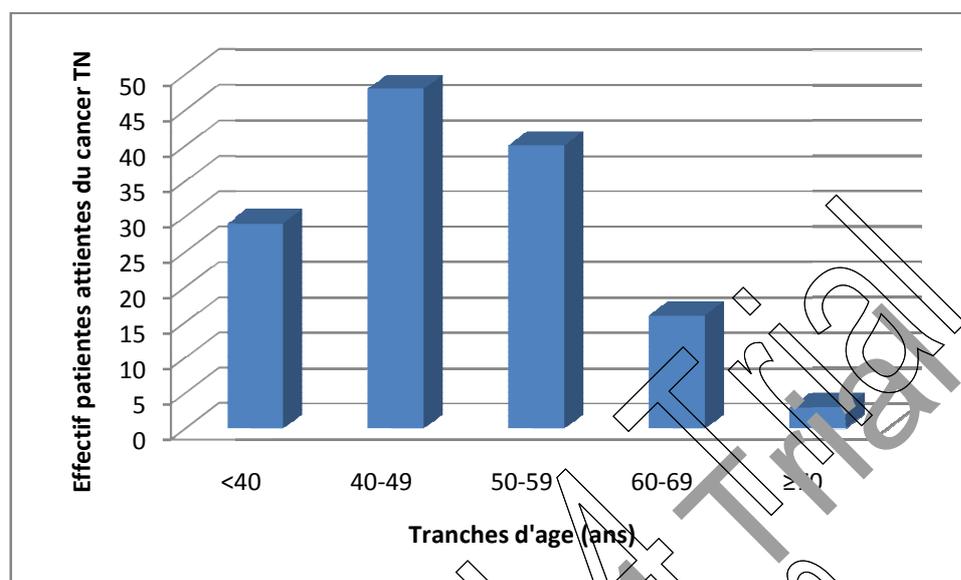
**Figure 13.** Représentation des patientes atteintes du cancer du sein de notre échantillon selon les marqueurs biologique.

Le but de notre étude étant l'évaluation de la distribution du cancer du sein triple négatif au sein de notre échantillon.

### I.1.2. Répartition des patientes Triple négatif selon l'âge

Notre échantillon des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif (TN) est de 136 patientes. L'âge moyen des patientes diagnostiquées avec un cancer du sein TN est de 48ans, avec des extrémités allant de 25 ans à 76 ans.

La répartition des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif selon l'âge est représentée dans la figure 15.



**Figure 15.** Histogramme représentant la répartition des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif de notre échantillon selon l'âge.

**Tableau 8.** Effectifs et proportions des patientes TN de notre échantillon selon différentes classe d'âge.

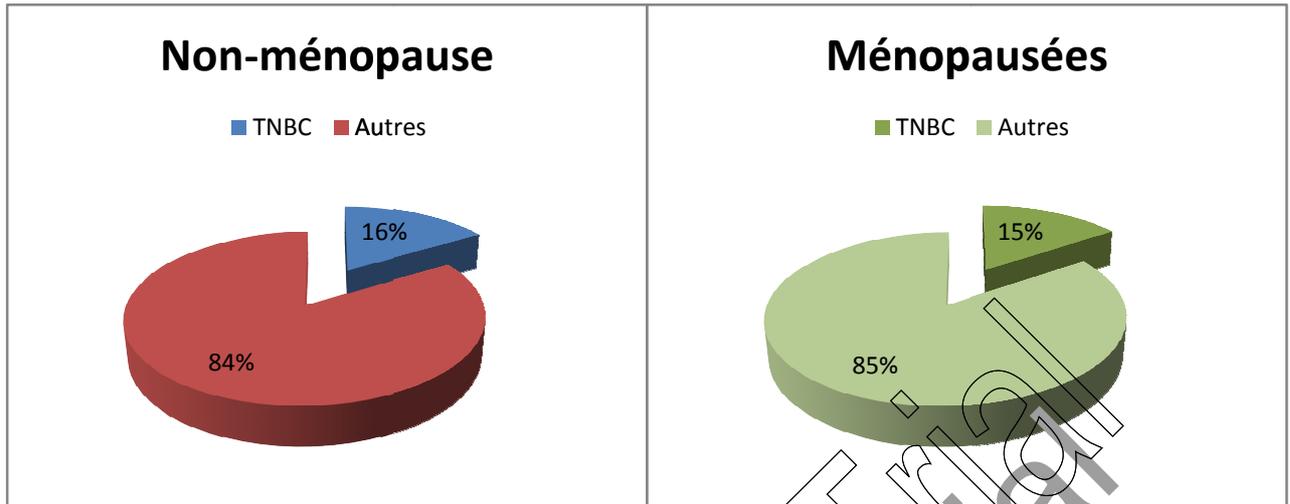
Tranches d'âge (a. s.)	Nombre	%
<40	31	21
40-49	48	35
50-59	40	30
60-69	16	12
≥70	3	2
Total	136	100

### 11.3. Proportions du TNBC chez le non-ménopausées et chez les ménopausées

La proportion du cancer du sein triple négatif chez les femmes pré-ménopausées est de 20,37% ( $\approx 21\%$ ) (Figure 16) qui correspond à 77 patientes sur 378 non ménopausées (Annexe III), elle est de 22% (Figure 16) chez les ménopausées qui correspond à 59 patientes sur 273 post-ménopausées (Annexe III).

On applique le test de comparaison des proportions entre la proportion du TNBC chez les non-ménopausées et la proportion des TNBC chez les ménopausées : En posant l'hypothèse nul  $H_0$  : « la différence entre les proportions est égale à 0 ».

Le P calculé 0,735 qui est supérieur au niveau de signification seuil alpha, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nul, ce qui revient à dire qu'il n'y a pas de différence significative entre la proportion des TNBC chez les non-ménopausées et chez les ménopausées.



Autres : Luminal A, Luminal B, HER2.  
L'âge présumé de la ménopause est de 50ans.

**Figure 16.** Proportions des sous types du cancer du sein chez les non-ménopausées et les ménopausées.

**I.1.4. Corrélation entre les sous types de cancer du sein et les critères anatomopathologiques**

La corrélation entre les 4 sous types (Luminal A, Luminal B, TNBC et HER2) et les critères cliniques et anatomo-pathologiques (l'âge des patientes, le grade histo-pronostique, le type histologique des tumeurs) est représenté dans le tableau 10.

**Tableau 10.** Corrélation entre les sous types du cancer du sein chez la femme et les critères cliniques, anatomopathologiques.

	Sous types du cancer du sein							
	Luminal A (319)		Luminal B (146)		TNBC (136)		HER2 (50)	
Age	(nbre)	%	(nbre)	%	(nbre)	%	(nbre)	%
<40	52	16	26	18	29	21	8	16
40-49	130	41	66	45	48	35	19	38
50-59	77	24	38	26	40	30	14	28
≥60	60	19	16	11	19	14	9	18
Grade	(nbre)	%	(nbre)	%	(nbre)	%	(nbre)	%
I	54	17	20	14	9	7	1	2
II	187	59	79	54	55	40	24	48
III	68	21	32	22	64	47	23	46
ND	10	3	15	10	8	6	2	4
type histologique(nbre) %			(nbre)	%	(Nbre)	%	(nbre)	%
CCI	253	79	122	84	111	82	43	86
CLI	37	12	9	6	6	4	0	0
C mixe	9	3	6	4	3	2	1	2
autre	20	6	9	6	16	12	6	12

Nbre : nombre, % : pourcentage, ND : non défini

## I.2. Résultats de l'extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN s'est faite à partir de dix (10) échantillons sanguins prélevés sur des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif, après cette extraction nous avons fait une électrophorèse sur gel d'agarose à 1% afin de vérifier la pureté de l'ADN.

## I.3. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse s'est faite pour l'analyse de la pureté de l'ADN de 10 échantillons. Les résultats sont représentés dans la figure 17.

Les puits 2, 3, 4 correspondent aux patientes ayant terminées leurs traitement de radiothérapie, alors que les puits 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 correspondent aux patientes sous radiothérapie au moment du prélèvement sanguin.

Après visualisation des résultats d'électrophorèse nous avons constaté que les ADN sont purs et correspondent toute a une taille de 23kb selon le marqueur  $\lambda$ . Quoique Les bandes 5, 8, 9, 10 sont très fluorescentes alors que les autres bandes 2, 4, 6, 7, 11, la bande 3 présente la plus faible fluorescence. Cette hétérogénéité des bandes due à l'état physiologique et clinique des patientes suite au traitement de chimiothérapie et de radiothérapie.



(a) (b)

**Figure 16.** (a) Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose à 1% de l'ADN génomique des 10 patientes prélevées ; (b) marqueur de taille  $\lambda$ / hind III d'ADN de Promega.

Puit 1 : marqueur de taille ( $\lambda$ )

Puit 8 : 0912440

Puit 2 : 091167

Puit 9 : 0912490

Puit 3 : 0911129  
Puit 4 : 0911312  
Puit 5 : 0912432  
Puit 6 : 0912434  
Puit 7 : 0912439

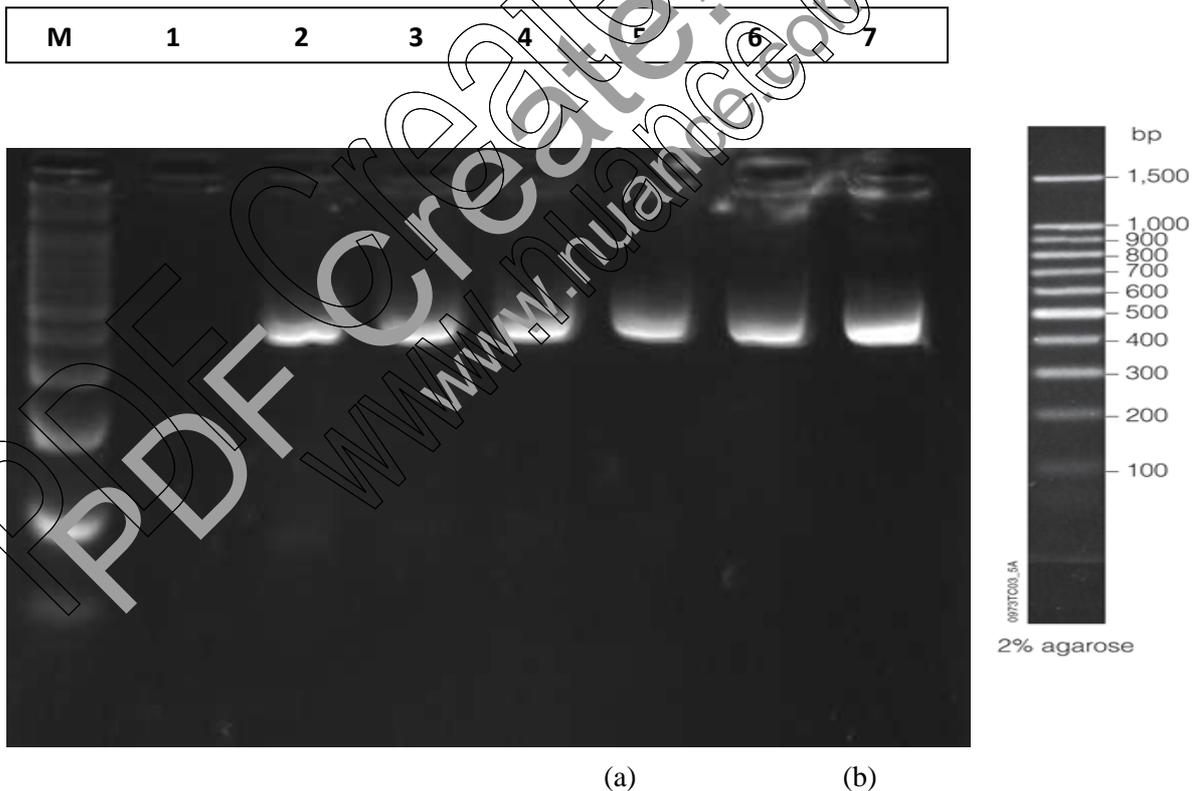
Puit 10 : 0912510  
Puit 11 : 0912511  
Puit 12 : ADN témoin

#### I.4. Résultats de la Polymerase Chain Reaction

- **Amplification de l'exon 11.1 du gène BRCA1**

Dans le but de nous initier à la technique de PCR , nous avons amplifié l'exon 11.1 du gène BRCA1 chez 6 patientes atteintes du cancer du sein triple négatif puis visualisé la migration des produits PCR sur un gel d'agarose 2%. Les puits 2, 3, 4, 5, 6, 7 correspondent aux 6 patientes TN.

Puit 2 : patient 0911 67  
Puit 3 : patient 0911 312  
Puit 4 : patient 0912 432  
Puit 5 : patient 0912 434  
Puit 6 : patient 0912 439  
Puit 7 : patient 0912 440



M : marqueur de PCR 100pb, Puit 1 : contrôle négative  
**Figure 17.** : (a) gel d'agarose à 2% des produits PCR de l'exon 11.1 du gène *BRCA1* ; (b) marqueur de PCR 100pb.

Dans le cadre de notre initiation à la technique de PCR appliquée pour l'analyse du gène BRCA1, nous avons amplifiés l'exon 11.1 de ce gène, pour cela nous avons utilisé un master mix : le Go TaqPromega.

L'analyse des résultats montre que la contrôle négatif n'as pas été amplifié donc n'as pas été contaminé et que la migration s'est faite proprement. Les bandes obtenues correspondent à la taille de l'ADN amplifié de 378 pb.

### **I.5. Analyse des caractéristiques cliniques, anatomopathologiques, et épidémiologiques des patientes triple négatifs prélevées de notre étude**

Le seul critère utilisé pour la sélection de nos patientes est la négativité des biomarqueurs RE, RP et HER2.

Les patientes atteintes du cancer du sein triple négatif prélevées (Tableau 11) sont âgées de 31 ans à de 62 ans avec une moyenne d'âge de 49 ans.

Sur les 10 patientes prélevées toutes ont l'âge supérieur à 20 ans, sur les 9 mariées ; 8 ont conduit au moins deux grossesses à terme. Sur les 8 qui ont eu des enfants, 7 ont allaités avec une période moyenne de 17 mois.

L'âge de la ménarchie de nos patientes varie entre 12 ans et 15 ans avec une moyenne de 13 ans ; 8 d'entre elles ont présenté un âge inférieur ou égal à 13 ans.

Parmi les 10 patientes, 9 d'entre elles vivent dans les grandes villes et une dans les zones rurales.

Sur les 9 patientes mariées cinq d'entre elles ont pris la pilule.

Sur les 10 patientes, toutes ont un type histologique CCI sauf une qui a un CLI, aussi 6 ont un grade histopronostique III, trois d'entre elles ont un grade II et une un grade I.

**Tableau 10.** Caractéristiques cliniques et anatomopathologiques des patientes prélevées.

code	Age actu	Type de tumeur	gr	Type de marqueur	Antécédents familiaux	Région	mariage	Nbre enf.	Allai.	C.O	Age ménarchie
9-11-067	62	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	RAS	Alger	Oui	6	4mois/ chaque enf	Non	12
9-11-129	31	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	RAS	Alger	Oui	2	4mois/ chaque enf	Oui	13
9-11-312	46	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	RAS	Alger	Oui	1	Non	Non	11
9-12-432	50	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	RAS	Alger	Oui	4	Deux ans	Oui	16
9-12-434	45	CCI	II	RE-/RP-/HER2-	Tante maternelle atteinte néo du sein	BBA	Oui	6	Un an	Oui	15
9-12-439	56	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	RAS	Medea	Oui	7	3 ans	Non	12
9-12-440	50	CCI	III	RE-/RP-/HER2-	Sœur atteinte néoplasie du sein	Medea	Non	/	/	/	12
9-11-490	50	CLI	I	RE-/RP-/HER2-	RAS	Taret	Oui	4	Un an	Oui	15
9-11-510	59	CCI	II	RE-/RP-/HER2-	RAS	Medea	Oui	Pas d'enfants	/	Non	15
9-11-511	41	CCI	II	RE-/RP-/HER2-	RAS	Tipaza	Oui	2	2 semaines	Oui	12

Age diag : Age lors du diagnostic ; Age actu : l'Age actuelle ; Gr : grade ; Nbre enf. : Nombre d'enfants ; Allai. : Allaitement ; ménarchie : Survenue des premières règles

C.O. : Contraception orale ; RAS : rien à signaler ; néo du sein : néoplasie du sein.

## II. Discussion

### II.1. Discussion des résultats de l'étude épidémiologique

#### II.1.1. Répartition moléculaire des différents sous-types de cancer du sein

Dans cette étude nous avons évalué la distribution des différents sous-types moléculaires du cancer du sein féminin dans un échantillon de 651 patientes, en fonction de la présence ou l'absence des marqueurs biologiques canoniques l'ER, PR, HER2. Nous avons constatés que 49% des patientes sont du sous type Luminal A, que 22% du luminalB, que 21% du TNBC, et enfin 8% du l'HER2.

Le pourcentage du cancer du sein triple négatif est de 10 à 20% des autres cancers. Ce pourcentage varie entre les populations. Chez les afro-américains (10 à 17%), il est aussi très prévalant au sein de la population hispanique (Lara-Medina *et al.*, 2011), le pourcentage le moins élevé a été retrouvé dans la Population asiatique et les îles de l'océan pacifique (8,4%) (Bauer *et al.*, 2007), néanmoins une autre étude a révélé que le pourcentage du cancer triple négatif est le plus élevé chez les afro-américains (27,2 %) (Milikan *et al.*, 2008 ; Triverset *et al.*, 2009).

Le taux du TNBC de notre échantillon (21%) est comparable à celui de l'étude faite sur le TNBC en 2011 au CAC Blida et à l'hôpital de Ain Madja qui est de 20% (Cherbalet *et al.*, 2011).

#### II.1.2. Répartition du cancer du sein triple négatif selon l'âge

Les pourcentages les plus élevés (35% et 30%) sont représentés par les tranches d'âges 40-49ans et 50-59ans. Les pourcentages les moins élevés (12% et 2%) sont représentés par les tranches d'âges 60-69 ans et > 70 ans. On constate que le TNBC est en déclin dès l'âge de 60 ans, nos résultats sont comparables avec une étude californienne faite par Bauer *et al.*, quoi que le pourcentage le plus élevé se trouve chez la tranche d'âge 50-59 ans alors que la plus élevée d'après nos résultats c'est la tranche d'âge 40-49 ans, ce qui nous laisse penser que le TNBC touche plus les jeunes algériennes. Aussi d'après Bauer *et al.*, le TNBC est en déclin à partir de l'âge de 60 ans ce qui concorde avec nos résultats.

L'âge moyen des patientes atteintes du cancer du sein triple négatif calculé dans notre étude est de 48 ans ce qui confirme l'abondance de ce type de cancer chez les sujets jeunes en activité biologique.

#### II.1.3. Proportions du TNBC chez les non-ménopausées et les ménopausées

Durant ces dernières années plusieurs études ont relevé que le cancer du sein triple négatif est plus prévalent chez les jeunes femmes (pré-ménopausées ou non ménopausées) que chez les plus âgées (post-ménopausées ou ménopausées). L'une de ces études en Caroline (USA) relève : 24% des femmes atteintes du cancer du sein en pré ménopause et 15% en post ménopause ont un phénotype triple négatif (Williamet *et al.*, 2008).

Une autre étude a montré que la proportion du TNBC chez les prés-ménopausées (non-ménopausées) est de 20% et que chez les post-ménopausées (ménopausées) elle est de 18% (Cherbalet *et al.*, 2011). Nos résultats (21% pour les pré-ménopausées et 22% pour les post-ménopausées) semblent être comparable aux résultats trouvés par Cherbalet *et al.*

Etant donné ces résultats, il serait préférable à l'avenir de prendre l'état physiologique réel des patientes en prenant l'âge exact de la ménopause.

### II.1.4. Corrélation entre les sous types de cancer du sein et les critères anatomopathologique

L'âge le plus prévalent chez le luminal A, luminal B, et l'HER2 ainsi que le TNBC est de 40 à 49 ans. D'après les résultats reportés par une étude californienne sur le TNBC l'âge le plus prévalent est de 50-59 ans (Bauer *et al.*, 2007), ceci vient confirmer que le TNBC chez les patientes algériennes touche plus de jeunes.

Le grade histologique le plus prévalent chez les sous types luminal A (59%), Luminal B (54%) et HER2 (48%) est le grade II, alors que le grade le plus prévalent chez le sous type TNBC est le grade III, ce dernier résultat est comparable à ceux de la littérature (Dent *et al.*, 2007).

Le sous type histologique qui représente la large majorité chez les 4 sous types est le type canalaire Infiltrant, Le luminal A avec 79%, le luminal B avec 84%, le HER2 avec 86% et enfin le TNBC avec 82%, ce dernier résultat est le résultat souhaité c'est-à-dire parmi les caractéristiques du TNBC est le sous type canalaire infiltrant (William *et al.*, 2008).

### II.1.5. Analyse des caractéristiques cliniques, anatomopathologiques, et épidémiologiques des patientes triple négatifs prélevées de notre étude

Selon l'allaitement prolongé a un effet protecteur contre le cancer du sein, et tout particulièrement contre le cancer du sein triple négatif et ceci s'oppose avec nos résultats sur les 8 femmes enfantées 7 ont allaité (Yang *et al.*, 2011).

L'environnement et le mode de vie peuvent avoir une influence sur le risque de développer un cancer du sein, 9/10 vivent dans les grandes villes, ce qui adhère à l'idée que l'environnement joue un rôle dans l'apparition du cancer du sein (Yang *et al.*, 2011).

L'avis des scientifiques est partagé quant à l'influence de la contraception orale sur l'apparition du cancer du sein, selon une étude récente les contraceptifs oraux n'avaient aucune influence sur l'apparition du cancer du sein (Meir *et al.*, 2011), au contraire, une autre étude, menée par Phipset *al.*, (2011) montre que l'influence des C.O x diffère d'un sous type moléculaire à un autre et que le risque est augmenté de 2 à 9 fois chez les patients TN. On ne peut ni confirmer ou infirmer les résultats nos résultats avec cinq patientes ayant pris la pilule. Ceci ne peut être vérifiable avec nos résultats puisque 5/9 des patientes mariées ont pris de la pilule,

Le TNBC a pour caractéristique le haut grade et le type histologique canalaire (William *et al.*, 2008, Cherbalet *al.*, résultats non publiés) ceci concorde avec nos résultats, 9/10 ont un CCI et 6/10 ont un grade histo-pronostique III.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Conclusion

L'analyse d'un échantillonnage de 851 de cas de cancer du sein, représentatif de la population Algérienne, au niveau du service de Radiothérapie du centre anti-cancer de l'hôpital Frantz Fanon de Blida en utilisant les statuts (RE/RP/HER2) nous a permis de relever : l'âge le plus prévalent chez les patientes atteintes du cancer du sein est de 40 à 49 ans. Aussi le l'âge le plus prévalent chez les patientes TN est de 40-49 ans ce qui nous permet de dire que le TNBC touche plus les jeunes femmes.

La proportion du cancer du sein triple négatif qui est de 21% des cancer du sein, alors que le luminal A représente 49%, le luminal B 22% et le HER2 8%. Le type histologique, carcinome canalaire Infiltrant (84% de tout le TNBC) et le grade histo-pronostique III (47% de tous les TNBC) font du TNBC un cancer très agressif.

Il n'y a pas de différence significative entre le taux des TNBC chez les prés et les post-ménopausées, ni de différence entre les deux groupes post et pré-ménopausées, ce qui permet de dire qu'à l'avenir il serait souhaitable de travailler avec l'ignorer de la ménopause chez les femmes atteintes du cancer du sein.

Il est indispensable de connaître la contribution des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et leur prévalence dans le cancer du sein triple négatif chez les patientes Algériennes, pour leur faire bénéficier de thérapie ciblée (inhibiteur de l'EGFR ou inhibiteur de la voie PARP). Une étude sur les gènes BRCA de nos patientes ou d'autres échantillons se fera dans un futur proche.

Ce travail préliminaire nous a permis d'apporter une contribution à la connaissance épidémiologique du cancer du triple négatif en Algérie. Une étude épidémiologique incluant un plus grand nombre de patientes triple négatifs avec une amélioration de l'état des archives des dossiers médicaux des patientes et de l'informatisation de ces derniers, nous permettra de préciser les composantes oncologiques, génétiques et moléculaires chez la patientes Algériennes atteintes de cancer du sein y compris le cancer du sein triple négatif.

## Références bibliographiques

---

Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. **Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype : a population-based study from the California cancer registry.** *Cancer*.2007, **109**:1721–8.

Ben Abdelkrim S, Trabelsi A, Missaoui N, Beizig N, Bdioui A, Anjorin A, Jomma W, Mokni M. **Distribution of molecular breast cancer subtypes among Tunisian woman and correlation with histopathological parameters : A study of 194 patients pathology-research and practice.** *Pathol Res Pract*. 2010, **206**(11):772-5.

Carey L, Winer E, Viale G, Cameron D, Gianni Luca. **Triple negative breast cancer: disease entity or title of convenience ?***Nat Rev ClinOncol*. 2010, **7**:683-692.

Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K. **Rare breast cancer subtypes , and survival in the Carolina Breast cancer study.***JAMA*. 2006,**295**(21):2492-502.

Chahbouni S. **La classification moléculaire du cancer du sein.** Université Sidi Mohamed Ben Abedallah FES. 2009, thèse N° 135/09.

Cherbal F, Bakour R, Adane S, Boualga K, Benais-Poind G, Maillet P. **BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast cancer families.** *Dis Markers*. 2010, **28**(6): 377-84.

Cherbal F, Saiah I, Kamel A, Bakour R, Boualga K, Karoun-Zitouni N, Ait Dahmane F, Charid I, Daoudi S. « **Triple-negative breast cancer in Algerian patients: prevalence, age at diagnosis and its association with menopausal status** » In :**Proceedings of AACR special conference , Advances in Breast Cancer Research**; 2011, 12-15 October ; San Francisco , CA. Philadelphia (PA): AACR, 2011, Abstract nr 42.

Cherbal F, Salhi N, Bakour R, Adane S, Boualga K, Maillet P. **BRCA1 and BRCA2 unclassified variants and missense polymorphisms in Algerian breast/ovarian cancer families.***Dis Markers*. 2012, **32**(6):343-53.

De la Fonten L, Merj E. **Nouvelle classification TNM applicable au 1<sup>ER</sup> Janvier 2003 .***La lettre de sénologie*.2012, N 18.

De Laurentis M, Di Cianniello B, Caputo R, Stanzione B, Arpinob G, Cimierie S, Lorusso V, De Placido S. **Treatment of triple negative breast cancer (TNBC): current options and futures perspectives.***Cancer Treatment Reviews*. 2010, **36**S3: S80-S86.

De Ruijter T C, Veeck J, de Hoon J P J, Van England M, Vivianne C. **Characteristics of triple negative breast cancer.** *J Cancer ClinOncol*. 2011, **137**: 183-192

Del Casar JM, Martin A, Garcia C, Corte MD , Alvarez A, Junquera S, González LO, Bongera M, García-Muñiz JL, Allende MT, Vizoso F. **Characterization of breast cancer subtypes by quantitative assesment of biological parameters: relationship with clinicopathological characteristics, biological features and prognosis.***Eur J ObstetGynecolReprod Biol*. 2008, **141**: 147-152

## Références bibliographiques

---

Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hnna W, Kahn HK, Sawka C, Lickley LA, Rawlinson E, Sun P, Narod S .**Triple negative breast cancer:clinical features and patterns of recurrence.** *Clin Cancer Res.* 2007,**13**: 4429-4434.

Dogde Y. **Statistique : dictionnaire encyclopédique.** Springer. 2004, p 547.

Dos Santos Silva I. **Epidémiologie du cancer : principes et méthodes.** IARC.1999, p3.

Fuks F, Milner J, Kouzarides T. **BRCA2 associates with acetyltransferase activity when bound to P/CAF.***Oncogene.*1998, **17**(19):2531-4.

Gatei M, Scott SP, Filippovitch I, Soronika N, Lavin MF, Weber B, Khanna KK. **Role for ATM in DNA damage-induced phosphorylation of BRCA1.***Cancer Res.* 2000, **60**(12):3299-304.

Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Power J, Lanchbury JS, Stemke-Hale K, Hennessy BT, Arun BK, Hortobagayi GN, D'Orsi KA, Mills GB, Meric-Bernstam F. **Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor negative breast cancer.** *Clin Cancer Res.* 2011, **17**(5): 1082-9.

Hall JM, Lee MK, Newman B, Morrow JE, Anderson LA, Huey B, King. **Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21.***Science.*1990, **250** (4988): 1684-9.

Huo D, Ikpat F, Khramstov A , Dangou JM, Nassif R, Dignan J, Zhang B, Grushko T, Irvin WJ, Carey LA.**What is triple-negative breast cancer?***Eur J Cancer.* 2008, **44**(18): 2799-805.

Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, Barnes M J, Schnitt SJ. **HER-2/neu Protein Expression in Breast Cancer Evaluated by Immunohistochemistry A Study of Interlaboratory Agreement.***American Journal of Clinical Pathology.*2000, **113**: 251-258.

Lakhani SR, Van De Vijver, Jacquemier M.**The pathology of familial breast cancer : predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor , progesterone receptor, HER2, and P53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2 .** *ClinOncol.* 2002, **20**(9): 316-9.

Lara-Medina F, Pérez-Sánchez V, Saaveda-Perez D, Blake-Cereda M, Arce C, Motola-Ku, Motola-Kuba D, Villarreal-Garza C, Gonzalez-Angulo AM, Bargallo E, Aguilar JL, Mohar A, Arrieta O. **Triple-negative breast cancer in hispanic patients : High prevalence, poor prognosis, and association with menopausal status, body mass index, and parity.** *Cancer.* 2011, **117**(16):3658-69

Linn SC, Van't Veer LJ.**Clinical relevance of the triple-negative breast cancer concept: Genetic basis and clinical utility of the concept.** *Eur J Cancer.*2009, **45**(1):11-26.

Mahnane A, Hamdi Cherif M.**Registre du Cancer de Sétif, Laboratoire Santé Environnement des Hauts Plateaux Sétifiens.** SAOM. 2012.

## Références bibliographiques

---

Mark WY, Liao JC, Lu Y, Ayed A, Laister R, Szymczyna B, Chakrabarty A, Arrowsmith CH. **Characterization of segments form the central region of BRCA1: an intrinsically disordered scaffold for multiple protein-protein and protein –DNA interactions.***JMol Bio.* 2005, **345**(2):275-87.

Meir CR. **Health risks of oral contraceptives.***Ther Umsch.*2011, **68** (6): 345-352

Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, Liu Q, Cochran C, Bennett LM, Ding W (1994). **A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1.***Science.* 1994, **266**(5182):66-71

Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, Smith LV, Labbok MH, Geradts J, Bensen JT, Jackson S, Nyante S, Livasy C, Carey U, Farp HS, Perou CM. **Epidemiology of basal-lik breast cancer.***Breast Cancer Res Treat.* 2008, **109**(1):123-39.

Mohsin SK, Weiss H, Havighurst T, Clark G, Berardo M, Roann Le D, To TV, Zho Q, Love RR, Allred DC. **Progesterone receptor by immunohistochemistry and clinical outcome in breast cancer: a validation study.** *Modern Pathology.* 2007, **17**(12):1545-54.

Moussard C. **Biologie moléculaire Biochimie des communications cellulaires.** De Boeck. 2003, p166.

Munoz M, Fernandez-Acenero J, Martin S, Schneider J. **Prognostic signifiange of molecular classification of breast invasive ductal carcinoma.** *Arch Gynecol Obstet.*2009, **280**(1):43-8.

Nakajima H, Fujiwara I, Mizuta N, Sakaguchi K, Hachimine Y, Konishi E, Yanagisawa A, Magae J. **Prognosis of Japanese breast cancer on hormone receptor and HER2 expression determined by in nunohistochemical staining.** *World J Surg.* 2008, **32**(11):2477-82.

Narod SA, Foulks W D. **BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond.** *Nature Reviews Cancer.* 2004, **4**:665-675

Okman C, Niaz G, Di Leo A. **Management of triple negative breast cancer.***Breast.* 2010, Oct, **15** (5):212-21.

Orban TI, Olah E. **Emerging roles of BRCA1 alternative splicing.** *MolPathol.*2003, **56**(4):191-7.

Perou CM, Sørliie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO, Botstein D. **Molecular portaites of humain breast cancer.** *Nature.*2000, **406**(6797): 747-52.

Perou CM. **Population Differences in Breast Cancer: Survey in Indigenous African Women Reveals Over-Representation of Triple-Negative Breast Cancer.***J ClinOncol.*2009, **27**:4515-4521.

## Références bibliographiques

---

Phips AI, Chelbowski RT, Prentice R, McTiernan A, Wactawski-Wende J, Kuller LH, Adams-Campbell LL, Lane D, Stefanick ML, Vitolins M, Kabat GC, Rohan TE, Li CI. **Reproduction history and oral contraceptive use in relation to risk of triple-negative breast cancer.** *J Natl Cancer Inst.* 2011, **103**(6): 470-7.

Rakha EA, Chan S. **Matastasic Triple-negative breast cancer.** *Clinical Oncology.* 2011, **23**(9): 585-600.

Roy R, Chun J, Powell SN. **BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection.** *Nat Rev Cancer.* 2012, **12**: 68-78.

Ruddon RW. **Cancer Biology.** *Oxford University Press.* 2007, P4.

Salhi N, Gargouri R, Bakour R, Benzidane N, Boualgua K, Guargouri A, Chebbat F. **BRCA1 mutations in breast cancer identification of new mutations in the BRCA1 gene in Algerian population.** *proc Amer cancer Res.* 2006, vol 47.

Scully R, Anderson S, Chao DM, Wei W, Ye L, Young RA, Livingston DM, Parvin JD. **BRCA1 is a component of the RNA polymerase II holoenzyme.** *Proc Nat AcadSci USA.* 1997, **94**(11):5605-10.

Scully R, Livingston DM. **In search of the tumor suppressor functions of BRCA1 and BRCA2.** *Nature.* 2000, **408**(6811):429-32.

Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. (2001). **Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subtypes with clinical implications.** *Proc Nat AcadSci USA*, **89**(19): 10869-74.

Spitale A, Mazzola P, Solini D, Mazzuchelli L, Bordini A. **Breast cancer classification according to immunohistochemical markers : clinopathologic features and and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland.** 2009, **20**(4): 628-635.

Tagu D, Meusnard C. **Principe des techniques de biologie moléculaire.** *INRA, Paris.* 2003

Tavtigian S V, Simard J, Rommens J, Couch F, Shattuck-Eidens D, Neuhausen S, Merajver S. **The complete BRCA2 gene and mutations in chromosome 13q-linked kindreds.** *Nat Genet.* 1996, **12**(3):333-7.

Torjani M, Mac Gorgan. **Anatomie pathologique du sein .** *Encycl Méd Chir* .1998, **810-B-10**, 18p.

Trivers KF, Lund MJ, Porter PL, Liff JM, Flagg EW, Coates RJ, Eley JW. **The epidemiology of triple-negative breast cancer, including race.** *Cancer Causes Control.* 2009, **20**(7):1071-82.

## Références bibliographiques

---

Venkitaraman AR. **Cancer Susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2.***Cell.* 2002, **108**:171-182

Venkitaraman AR. **Chromosome stability, DNA recombination and the BRCA2 tumour suppressor.***Curr Opin Cell Biol.* 2001, **13**(3):338-43.

Wang Y, Cortez D, Yazdi P, Neff N, Elledge SJ, Qin J. **BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures.***Genes Dev.* 2000, **14**(8):927-39.

Weigt B, Horlings HM, Kerike B, Hayes MM, Hauptmann M, Wessels LF, Jong D, Vijver MJ, Van't Veer LJ, Peterse JL. **Refinement of breast cancer classification by molecular characterization of histological special types.***J Pathol.* 2008, **216**(2):141-50.

William J Irvin Jr , Carey Lisa A. **What is triple negative breast cancer?***European Journal of Cancer.* 2008, **44**(18): 2799-2805.

Wilson CA, Payton MN, Elliott GS, Buas FW, Cajulis E, Grosshans D, Ramos L, Reese DM, Slamon DJ, Calzone FJ. **Differential subcellular localization, expression and biological toxicity of BRCA1 and the splice variant BRCA1-delta11b.***Oncogene.* 1997, **14**(1):1-16.

Xu CF, Chambers JA, Nicolai H, Brown MA, Frenat Y, Mohammed S, Hodgson S, Kelsell DP, Spurr NK, Bishop DT, Solomon E. **Mutations and alternative splicing of the BRCA1 gene in UK breast/ovarian cancer families.***Genes Chromosomes Cancer.* 1997, **18**(2):102-10.

Yang XR, Chang-Claude J, Goode EL, Couch FJ, Nevanlinna H, Milne RL, Gaudet M, Schmidt MK, Broeks A, Coates A, Fasching PA, Hein R. **Association of breast cancer risk factors with tumor subtypes: a pooled analysis from the Breast Cancer Association Consortium studies.***Natl Cancer Inst.* 2011, **103** (3): 250-63.

Zhang C, Oluwasola O, Malaka D, Malami S, Odetunde A, Adeoye AO, Iyare F, Falusi A, Zhang HM. **Clinical characteristics and survival in the operable breast cancer patients with different molecular subtype.***ZhonghuaZhong Liu ZaZhi.* 2009, **31**: 447-451.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Annexes I

### Fiches de l'étude du cancer du sein Triple négatif (TNBC) en Algérie

Hôpital :  
Service :  
Professeur/Chef de service :  
Tel/Fax :  
Et  
Dr Farid Cherbal  
Unité de génétique  
LBCM/FSB  
USTHB  
Alger

#### Fiche N°1

### **Fiche d'information pour les patients Recherche génétique sur les cancers TNBC (Information relative à la prise de sang)**

La prise de sang que nous souhaitons réaliser chez vous est totalement facultative et soumise à votre accord. Un refus de votre part ne modifierait en rien notre attitude sur les éventuels soins.

Il s'agit d'une recherche sur les liens entre la génétique et la pathologie du cancer du sein triple négatif qui vous affecte. Les connaissances actuelles sont encore préliminaires; ce qui explique que dans l'immédiat nous ne pouvons pas vous communiquer de résultats sur les recherches qui ont été menées.

Par contre, si dans un avenir plus ou moins proche nous disposons de résultats suffisamment fiables pour vous être transmis, nous vous informerons de la possibilité de vous les communiquer. Vous resterez entièrement libre d'accepter ou de refuser de les connaître. Ces résultats relèvent du secret médical et ne seront transmis qu'à vous-même et en aucun cas à un autre membre de votre famille.

Concernant d'éventuelles publications scientifiques, seules les informations ne faisant mention ni de votre nom, ni de votre adresse, seront communiquées.

L'anonymat de ces recherches est strictement préservé. Votre consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités et vous conservez tous vos droits garantis par la loi.

**Fiche N° 2**

Hôpital :  
Service :  
Professeur/Chef de service :  
Tel/Fax :

**Fiche de consentement du Patient**  
**Recherche génétique dans le cancer du sein triple négatif**

Je soussigné (nom et prénom) :

Déclare avoir pris connaissance des informations explicatives. J'accepte le prélèvement sous les conditions décrites.

J'accepte ce type de recherche **oui - non.**

En cas de réponses affirmatives, je souhaite que les résultats puissent m'être communiqués **oui- non.**

J'autorise l'utilisation de ces résultats (sans leur communication) pour d'éventuelles analyses chez les membres de ma famille. **Oui – non.**

**Fait à ....**

**Signature du médecin**

**Signature du patient**

Hôpital :  
Service :  
Professeur /Chef de service :  
Tel/Fax :

**Fiche N°3**  
**Cancer du sein triple négatif**

Année:

N° de dossier:

Nom:

Prénom:

Date de naissance:

Lieu de naissance:

Age:

Sexe: M F

Etat civil:

Profession:

Adresse:

Tel:

---

**Antécédents**

• **Personnels:**

Age de la : ménarche

la ménopause: du diagnostic:

Atteinte : ---Sein droit --- sein gauche --- Bilatérale --- Ovaire

Multifocalité :

Autre :

Opéré : oui---non

Décédé: oui---non

• **Familiaux:**

---

**Clinique**

Symptomatologie:

Examen clinique:

Bilan d'extension:

---

**Histologie de la biopsie (type/date):**

Les métastases:

La chirurgie:

Type:

Dates:

Histologie de la pièce opératoire: Date:

Type:

Différentiation:

Les ganglions:

Les limites de résection

**Marqueurs : ER :**

**PR :**

**Her2 :**

(suite Fiche N° 3 au cas où la patiente a des antécédents familiaux)

**Fiche familiale du patient(e) ( au cas où la patiente a des antécédents familiaux) :**

Sujet 1 : lien de parenté :

Age:

Age du diagnostic :

Age ménarchie :

Age ménopause :

Atteinte :

Opéré : oui---non

Décédé : oui---non

S2 : lien de parenté :

Age:

Age du diagnostic :

Age ménarchie :

Age ménopause :

Atteinte :

Opéré : oui---non

Décédé : oui---non

S3: lien de parenté :

Age:

Age du diagnostic :

Age ménarchie :

Age ménopause :

Atteinte :

Opéré : oui---non

Décédé : oui---non

S4: lien de parenté :

Age:

Age du diagnostic :

Age ménarchie :

Age ménopause :

Atteinte :

Opéré : oui---non

Décédé : oui---non

S5: lien de parenté :

Age:

Age du diagnostic :

Age ménarchie :

Age ménopause :

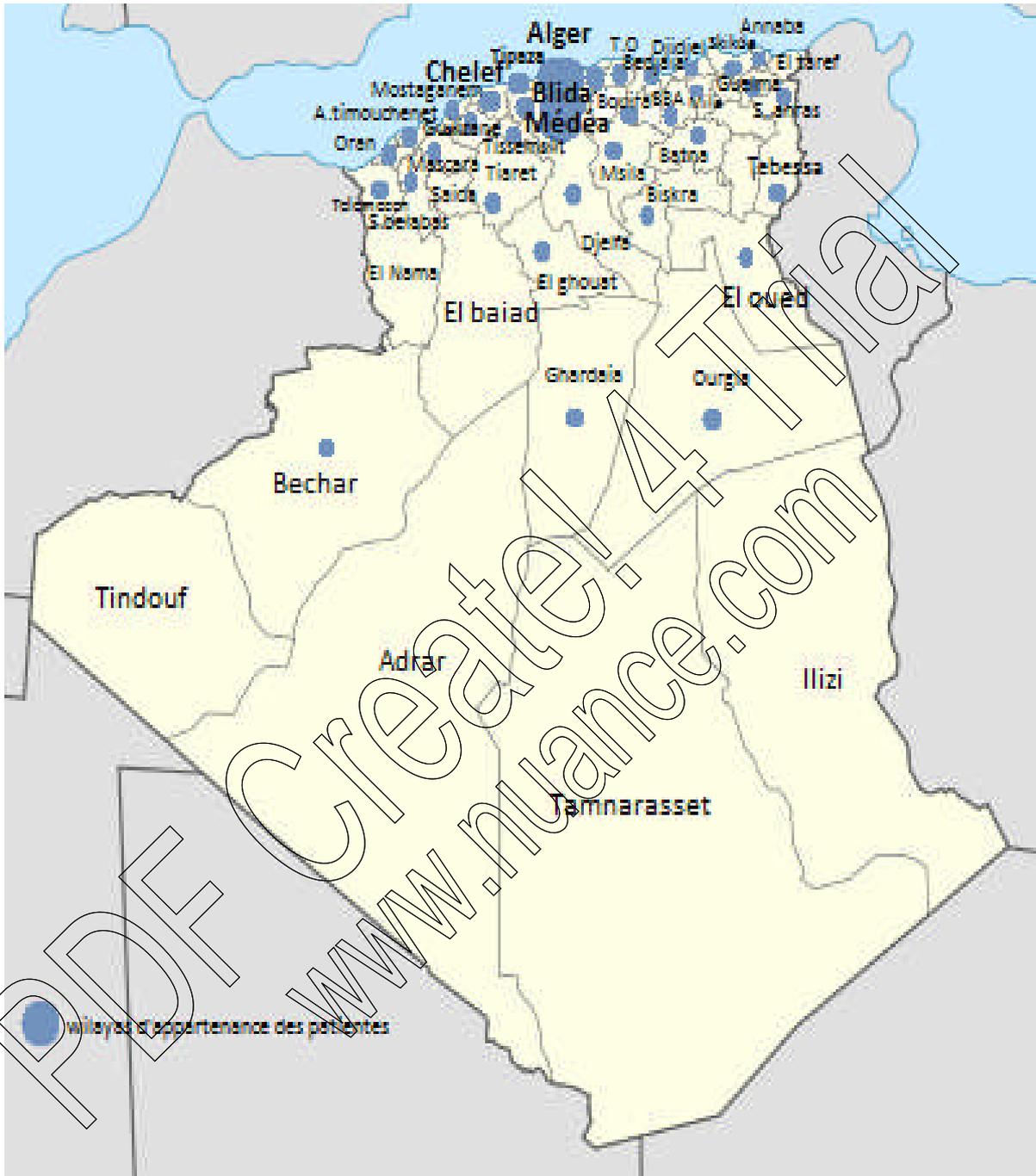
Atteinte :

Opéré : oui---non

Décédé : oui---non

## Annexe II

Distribution des 851 patientes atteintes du cancer du sein à travers les wilayas d'Algérie



Effectif des 851 patientes atteintes du cancer du sein à travers les wilayas d'Algérie

1. Alger	128
2. Blida	128
3. Chelef	75
4. Tipaza	68
5. Medea	65
6. Ain defla	52
7. Tizi o	44
8. Djelfa	37
9. Bedjaia	35
10. Boumerdes	27
11. tiaret	24
12. Tissemesilt	21
13. Bouira	19
14. Setif	16
15. Msila	15
16. BBA	14
17. Ghardaïa	10
18. Laghouat	7
19. Djidjel	6
20. Biskra	6
21. Ghilizane	6
22. Batna	6
23. Telemecen	4
24. Mila	4
25. Bechar	3
26. El oued	3
27. Skikda	4
28. Tebessa	3
29. Souk Ahras	2
30. Ourgla	2
31. Mostganem	2
32. Annaba	2
33. A.timouchent	1
34. Oran	1
35. Sidi belabbas	1
36. Guelma	1
37. Maskara	1

### Annexe III

**Tableau.** Effectifs des TN et des autres sous-types chez les patientes pré et post-ménopausées

	TNBC	Luminal A	Luminal B	HER2	Total
Preménopausées	77	182	92	27	378
Postménopausées	59	137	54	23	273
Total	136	319	146	50	651

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com