

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRES
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLAB de Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME
DE MASTER EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière Biologie
Spécialité : Génétique et physiologie

Thème :

*Etude de l'expression des récepteurs hormonaux dans
les carcinomes mammaires infiltrants*

Présentée par :

BENYESSAD Amel

Soutenu devant le jury :

Nom	Grade	Lieu	Qualité
Mr HAMAIDI	MAA	USDB	Président
Mme SLIMANI A	MAA	CHU de Bni Messous	Promotrice
Mr BESSAAD M	MAB	USDB	Co-promoteur
Mme ANAN A	MAA	USDB	Examineur
Mme AMOKRANE A	MAA	USDB	Examineur

2012 /2013

Remerciement

Je souhaite remercier avant tout, Allah le plus puissant, le Miséricordieux, de m'avoir guidé et surtout assisté tout au long de mes études jusqu'à la réalisation de ce document. Qu'il guide davantage mes pas sur le bon chemin.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude et ma profonde reconnaissance envers le professeur, chef de service d'anatomopathologie M^{me} BENDISSARI qui m'a accueilli au sein de son laboratoire.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à M^{me} SLIMANI, ma promotrice d'avoir proposé cette thématique de ce travail et le suivi avec bienveillance et vif intérêt, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, pour sa générosité et la grande patience dont elle a su faire preuve malgré ses charges professionnelles.

Je remercie Mr Bessaad A, mon co-promoteur, pour d'avoir pris le temps et la peine de me guider tout au long de ce travail.

Je remercie très sincèrement, les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examinations.

J'adresse également mes remerciements à tous mes enseignants, qui m'ont donné les bases de la science tout au long de mon cursus.

Je remercie également, toutes les techniciennes du service d'anatomie pathologie de BENI MESSOUS pour m'avoir aidé tout au long de ce travail.

Mes derniers et profonds remerciements vont à mes chères amies et toute personne qui m'ont aidé de près ou de loin durant tout le cursus de mes études.

Merci à tous et à toutes.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma mère MARINA.

Résumé :

Le cancer du sein reste le cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde. Il constitue la première cause de mortalité par cancer. L'évaluation de l'expression des récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone est devenue indispensable pour la prise en charge pronostique et thérapeutique des patientes porteuses d'un cancer du sein.

Notre étude consiste à évaluer l'expression des récepteurs hormonaux dans le cancer du sein et à étudier les corrélations entre ces récepteurs, avec l'HER2, avec le KI67 et, aussi avec le grade histologique.

Pour ce faire, nous avons effectué une étude rétrospective portant sur 47 cas de carcinomes infiltrants mammaires. La méthode immunohistochimique a été réalisée pour évaluer l'expression des récepteurs hormonaux, de l'HER2 et du KI67.

Nous avons trouvé que la moyenne d'âge était de 49 ans, le carcinome canalaire infiltrant de grade II était le plus fréquent. L'expression des récepteurs à l'œstrogène est notée dans 63,83% des cas, des récepteurs à la progestérone dans 59,57% des cas, de l'HER2 dans 23% des cas et de KI67 dans 76,61% des cas.

Ainsi nous avons noté une diminution de l'expression de ces récepteurs avec l'augmentation du grade, une corrélation positive entre les récepteurs à l'œstrogène et les récepteurs à la progestérone, une corrélation négative entre les récepteurs à l'œstrogène / à la progestérone et l'HER2, et une corrélation positive entre les récepteurs à l'œstrogène / à la progestérone et le KI67.

Ces résultats montrent l'intérêt d'évaluer l'expression de ces récepteurs et leurs relations avec les autres facteurs pronostiques biologiques dans le cadre de diagnostic, pronostic et thérapeutique.

Mots clés : cancer du sein, immunohistochimie, récepteurs hormonaux, HER2, KI67.

Summary

Breast cancer remains the most frequent cancer at the woman in the world. It constitutes the first cause of mortality by cancer. The evaluation of the expression of the receptors to the estrogen and progesterone became essential for the prognostic and therapeutic management of carriers of breast cancer patients.

Our study consists in evaluating the expression of the hormonal receptors in breast cancer and studying the correlations between these receptors, with the HER2, the KI67 and, also with the histological grad.

With this intention, we carried out a retrospective study carrying on 47 cases of invasive breast carcinomas. The immunohistochemistry method has been to realize to evaluate the expression of the hormonal receptors, the HER2 and the KI67.

We found that the average age was 49 years, invasive ductal carcinoma grad II was the most frequent. The RE expression is noted in 63,83% of the cases, of PR in 59,57% of the cases, the HER2 in 23% of the cases and KI67 in 76,61% of the cases.

Thus we noted a reduction in the expression of these receptors with the increase in the grad, a positive correlation between RE and PR, a negative correlation between RE /RP and the HER2, and a positive correlation between RE/PR and the KI67.

These results show the interest to evaluate the expression of these receptors and their relationships with other biological prognostic factors within the framework of diagnosis, forecast and therapeutic.

Keywords: breast cancer, immunohistochemistry, hormone receptors, HER2, KI67.

الملخص

لا يزال سرطان الثدي أكثر أنواع السرطان شيوعاً لدى النساء في جميع أنحاء العالم. ويعد السبب الرئيسي للوفاة بالسرطان لديهن . لقد أصبح تقييم التعبير عن مستقبلات هرمون الأستروجين والبروجسترون لا غنى عنه لإدارة التنبؤ بمصير وعلاج مرضى سرطان الثدي.

دراستنا هو تقييم التعبير عن مستقبلات الهرمونات في سرطان الثدي ودراسة العلاقات المتبادلة بين هذه المستقبلات ، مع بروتين ال HER2 و KI67 ، وأيضاً مع الصف النسيجي.

للقيام بذلك، أجرينا دراسة بأثر رجعي من 47 حالة من سرطان الثدي. تم تنفيذ تقنية الكيمونسيجي المناعي لتقييم التعبير عن مستقبلات الهرمون، بروتين HER2 و KI67 .

لقد وجدنا أن متوسط العمر كان 49 سنة، وكان السرطان القنوي المنتشر الصف الثاني الأكثر شيوعاً. ولوحظ التعبير عن مستقبلات هرمون الأستروجين في 63,83% حالة ، مستقبلات هرمون البروجسترون في 57, 59 بالمائة من الحالات، بروتين HER2 في 23 بالمائة من الحالات، و بروتين ال KI67 في 76,61 بالمائة من الحالات.

وهكذا لاحظنا انخفاضاً في التعبير عن هذه المستقبلات مع زيادة درجة تطور السرطان ، وجود علاقة سلبية بين ER / PR و HER2 وجود علاقة إيجابية بين RE و KI67.

وتبين هذه النتائج فائدة التقييم التعبير عن هذه المستقبلات وعلاقتهم مع غيرها من العوامل البيولوجية التنبؤية في ، التشخيص والعلاج.

كلمات البحث: سرطان الثدي، مستقبلات هرمونات الأستروجين و البروجسترون، بروتين HER2 و KI67

Liste des tableaux :

Tableau I : Répartition des patientes selon le type histologique.....	29
Tableau II : répartition des patientes selon l'âge.....	30
Tableau III : répartition des patientes selon le grade SBR.....	30
Tableau IV : nombre et pourcentage des cas récepteurs à l'œstrogène positifs et récepteurs à l'œstrogène négatifs	32
Tableau V : nombre et pourcentage des cas récepteurs à la progestérone positifs et des cas récepteurs à la progestérone négatifs	33
Tableau VI : répartition des cas selon le statut Her2.....	34
Tableau VII : répartition selon l'expression de protéine Ki67	35
Tableau IIX : corrélation entre les récepteurs à l'œstrogène et les récepteurs à la progestérone	36
Tableau IX : expression des récepteurs à l'œstrogène selon le grade SBR.....	36
Tableau X : expression des récepteurs à la progestérone selon le grade SBR.....	37
Tableau XI : corrélation entre les récepteurs à l'œstrogène et l'oncogène HER-2	38
Tableau XII : corrélation entre les récepteurs à la progestérone et l'HER-2.....	38
Tableau XIII : corrélation entre les récepteurs à l'œstrogène et le KI67.....	39
Tableau XIV : corrélation entre les récepteurs à la progestérone et la protéine KI67...	40

Liste des figures

Figure 1 Anatomie du sein	04
Figure 2: Organisation structurale et fonctionnelle des récepteurs nucléaires.....	11
Figure 3: les voies de signalisation induites par les récepteurs aux progestérones.....	16
Figure 4: Arbre généalogique du patiente III.16.....	26
Figure 5 : Arbre généalogique du patiente III.5.....	27
Figure 6 : carcinome canalaire infiltrant (coloration HE, Gx400).....	28
Figure 7 : Carcinome lobulaire infiltrant (coloration HE, Gx400).....	29
Figure 8 : Expression nucléaire marquée (GX400)	31
Figure 9 : absence de marquage (Gx400).....	31
Figure 10 : Expression nucléaire marquée (GX400)	32
Figure 11 : Absence de marquage (Gx400)	32
Figure 12: Absence d'expression de l'HER2 (IHC, Gx200).....	33
Figure 13 : expression membranaire intense et continue, (IHC, Gx200).....	33
Figure 14 : Marquage membranaire intense et continu (GX400)	33
Figure 15 : Marquage nucléaire intense (GX200)	35
Figure 16 : Marquage nucléaire intense (GX400)	35

Liste des graphes

Graphe 1 : Répartition des patientes selon le type histologique.....	29
Graphe2 : Répartition des patientes selon l'âge.....	30
Graphe 3 : répartition des patientes selon le grade selon le grade SBR.....	31
Graphe 4 : répartition selon l'expression de RE.....	32
Graphe 5 : répartition selon l'expression de RP.....	33
Graphe 6 : répartition selon le statut Her2.....	34
Graphe 7 : répartition selon l'expression de Ki67.....	35
Graphe 8 : proportion des cas RE+/PR+, RE+/PR-, RE-/PR+ et RE-/PR-.....	36
Graphe 9 : évolution de l'expression des RE selon le grade SBR.....	37
Graphe 10 : évolution de l'expression des RP selon le grade SBR.....	37
Graphe 11 : proportion des cas RE+/HER2+, RE+/ HER2-, RE-/ HER2+ et RE-/ HER2-.....	38
Graphe 12 : proportion des cas RP+/HER2+, RP +/ HER2-, RP-/ HER2+ et RP-/ HER2-.....	39
Graphe 13 : proportion des cas RE+/KI67+, RE+/ KI67-, RE-/ KI67+ et RE-/ KI67-.....	39
Graphe 14 : proportion des cas RP+/KI67+, RP+/ KI67-, RP-/ KI67+ et RP-/ KI67-.....	40

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AF	Activation function domain
AIB1	Amplified in breast cancer 1
Akt	AK pour la lignée cellulaire de souris AKR qui développe spontanément des lymphomes thymiques , T pour Thymoma
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AP-1	Activator protein-1
ATP	Adénosine triphosphate
BRCA	Breast cancer
CARM1	Coactivator-associated arginine methyl-transferase 1
CBP	CREB : cAMP response élément binding protein
CCI	Carcinome canalaire infiltrant
CDK	Cyclin-dependent kinase
CI	Carcinome infiltrant
CIS	Carcinome in situ
CISH	Chromogenic in situ hybridisation
CLI	Carcinome lobulaire infiltrant
DAB	Di-amino-benzidine
DBD	DNA binding domain
EGFR	Epidermal growth factor receptor
ER	Estrogen receptor
EREs	Eléments de réponse à l'œstrogène
ERK	Extracellular regulated kinase
GPCR	Récepteur couplé à la protéine G
GPER-1	G-protein-coupled ER-1
HATs	Histone acetyltransférases
HDAC	Histone désacétylases
HE	Hématoxyline-éosine
HER 2	Hormonal Epidermal growth factor Receptor 2
HRE	Hormone response element
HSP90	Heat Shock Proteins ou protéines de choc thermique
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IHC	Immunohistochimie
KI67	Kiel 67
LBD	Ligand binding domain
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
mbER	Récepteur ostrogénique membranaire
PELP1	Proline-,glutamic acid-, and leucine-rich protein1
PI3K	Phosphoinositol-3 Kinase
PKA	Protéine kinase A
PRMT1	Protein arginine methyltransferase
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RE	Récepteur à l'œstrogène
RH	Récepteurs hormonaux
Sp1	Specificity protein 1
SR	Steroid receptor
SRA	Steroid receptor activator
SRC	Stéroid receptor coactivator
SWI/SNF	Switch/sucrose nonfermentable chromatin remodeler
TGF	Transforming growth factor
THS	Traitement hormonal substitutif

Sommaire

INTRODUCTION.....	01
CHAPITRE I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE	02
I.1. Rappel anatomique et histologique de la glande mammaire	03
I.2. Epidémiologie	03
I.2.1. Incidence et mortalité.....	03
I.2.2. Les facteurs de risques	05
I.3. Mécanismes de la carcinogénèse dans le cancer du sein	07
I.4. Classification des cancers du sein	07
I.5. Les facteurs pronostiques du cancer de sein	08
I.5.1. Facteurs cliniques et histologiques.....	08
I.5.2 Facteurs biologiques.....	09
I.6. Carcinomes invasifs ou infiltrants.....	09
I.6.1. Carcinome canalaire infiltrant.....	10
I.6.2. Carcinome lobulaire infiltrant	10
I.7. Récepteurs hormonaux REs et RPs	10
I.7.1. Structure des récepteurs hormonaux	11
I.7.2. Récepteur aux œstrogènes	11
I.7.2.1. Isoformes du récepteur aux œstrogènes humains	12
I.7.2.4. Les récepteurs aux progestérones	14
I.8. Récepteurs hormonaux et cancer du sein	16
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	19
II.1. Matériel	20
II.1.2. Population d'étude	20
II.1.3. Matériel biologique.....	20
II.1.4. Matériel non biologique.....	20
II.2. Méthodes.....	21
II.2.1. Préparation des coupes	21
II.2.2. Technique de coloration à Hématoxyline-Eosine (HE)	22
II.2.2. Technique d'immunohistochimie (IHC)	22
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	26
III.1. Résultats	27
III.2. Discussion.....	42
Conclusion.....	46
Référence	47
Annexe	51

INTRODUCTION

Le cancer du sein représente, par sa fréquence, un problème de santé publique (Espie et *al.*; 2012). Il représente le cancer le plus fréquent de la femme dans le monde. En Algérie, il touche environ 7000 nouvelles femmes par an (MEKRACHI et *al.*, 2012). Il représente la première cause de décès par cancer chez la femme.

Le cancer du sein constitue une pathologie hétérogène du fait de la grande variété histologique. Cependant, la classification de l'OMS (2003) des carcinomes infiltrant du sein englobe 21 entités, elle tient compte des données morphologique et immunohistochimique. Les groupes les plus répondus sont le carcinome canalaire infiltrant et le carcinome lobulaire infiltrant (Sigal-Zafrani et *al.*, 2007).

L'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone est extrêmement importante dans la biologie des carcinomes mammaires infiltrants vu qu'elle apporte au clinicien une information d'ordre pronostique et de thérapeutique.

L'objectif de notre étude, est s'intéresser à étudier l'intérêt de l'évaluation de l'expression de récepteurs hormonaux (RE, RP) par l'immunohistochimie, établir des corrélations entre eux, avec de l'HER2, avec le KI67, et avec le grade histologique afin de définir leur intérêt pronostique et aussi comparer nos résultats avec ceux de la littérature.

Chapitre I
Rappels
Bibliographiques

I.1. Rappel anatomique et histologique de la glande mammaire :

La glande mammaire, est une structure glandulaire cutanée, composée d'éléments impliqués dans la sécrétion et l'éjection du lait. Devenue trop large pour demeurer dans la peau elle-même, elle envahit la couche sous-cutanée et les fascia profonds.

Le sein adulte comporte dix à 20 lobes qui orientent du mamelon et irradient le long de la cage thoracique antérieure et latérale. Chaque lobe est drainé par un galactophore principal s'ouvrant au mamelon par un pore individuel. Après une dilatation à contours sinueux appelée sinus lactifère, il se ramifie en branches plus étroites pour aboutir au niveau distal à des unités terminales ducto-lobulaires. L'unité terminale ducto-lobulaire inclut les canalicules extralobulaires, intralobulaires et terminaux ou acini. Les autres composantes incluent une quantité variable de graisse, de tissu conjonctif, de vaisseaux, de nerfs et de vaisseaux lymphatiques (figure1) (Lamothe-Guay et *al.*; 1991).

Les canaux ont deux couches cellulaires, l'une interne en bordure de la lumière, constituée de cellules épithéliales, l'autre externe de cellules myoépithéliales. Ces deux couches sont entourées d'une membrane basale. Le pore d'ouverture du canal au niveau du mamelon est tapissé par un épithélium malpighien. La couche de cellules myoépithéliales est continue dans les gros canaux, discontinue et raréfiée dans les petits.

Le stroma interlobulaire est dense tandis que le stroma lobulaire dit « palléal » est lâche, peu cellulaire et sensible aux stimuli hormonaux. Il contient des fibres musculaires lisses au niveau du mamelon.

La plaque aréolomamelonnaire est revêtue d'un épithélium malpighien très pigmenté. Le derme sous-jacent contient des annexes pilosébacées et des glandes apocrines dont l'ouverture à la peau constitue de petites élévations, les tubercules de Montgomery (Monique et Gaëtan, 1998).

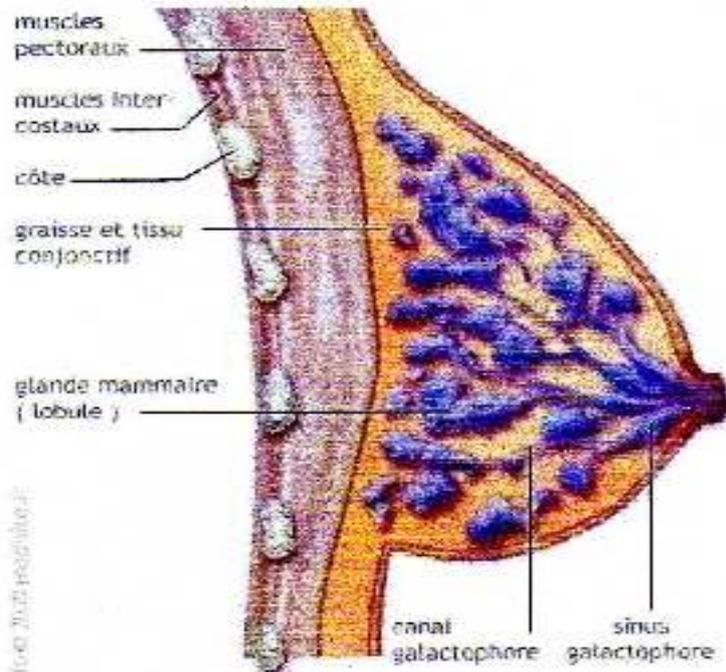


Figure 1: Anatomie du sein (SCHAFFLER *et al.*, 2004).

I.2. Epidémiologie :

I.2.1. Incidence et mortalité :

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde. Il représente environ un quart des cancers féminins, avec un incidence plus élevée dans les pays développés (Znati *et al.*, 2012). Le taux d'incidence (après standardisation sur la structure par âge de la population mondiale) est de 100 pour 100 000 femmes et par ans.

Au niveau mondial, le cancer du sein est la première cause de mortalité chez la femme, Il est responsable de 411 093 décès par ans. Le taux de mortalité augmente avec l'âge. Si l'incidence accroît ou stabilise, la mortalité commence à diminuer grâce aux politiques de dépistage précoce et aux moyens thérapeutiques de ce cancer (Espie *et al.*, 2012).

Le cancer du sein se caractérise aussi par sa répartition géographique inégale, l'incidence la plus haute est notée en Amérique du Nord, certains pays d'Europe, Amérique du Sud, Australie et la Nouvelle-Zélande, la plus basse dans les pays en voie de développement (Fénichel et Brucker-Davis, 2008) et au Japon (Espie *et al.*, 2012).

Les femmes originaires d'un pays à faible risque, migrant dans un pays à risque élevé, rejoignent l'incidence du pays d'accueil après une ou deux générations (Plu-bureau et *al.*, 2002).

En Algérie :

A partir des résultats des registres du cancer dont le premier a vu le jour en 1989 à Sétif, le cancer du sein occupe actuellement la première place en Algérie.

D'après le registre des tumeurs d'Alger de 2003, il existe environ 526 nouveaux cas de cancers mammaires avec une fréquence de 29,7% de l'ensemble des cancers chez la femme.

A Oran, il représente 30,5% de l'ensemble des tumeurs chez la femme avec une fréquence de 40.5 femmes pour 100 000 habitants, en 2003.

En Algérie, le cancer du sein est en augmentation remarquée, passant de 9,6 cas pour 100 000 habitants en 2003 à 19,44 cas pour 100 000 habitants en 2005 (Ouezzani, 2011).

D'après MEKRACHI et *al.*, (2012), plus de 7000 nouveaux cas de cancer du sein sont diagnostiqués chaque année.

I.2.2. Les facteurs de risques :**I.2.2.1. L'âge :**

Le facteur de risque le plus important du cancer du sein est l'âge, l'incidence du cancer du sein a un courbe âge dépendant, augmentant de 30 à 70 ans et tendant à décroître légèrement après 80 ans. Il existe cependant des cancers du sein survenant à un âge jeune (environ 15% à 20 % des cancers du sein sont diagnostiqués avant 50 ans), c'est parmi ces cancers que la fréquence d'une mutation chromosomique de type BRCA1 ou BRCA2 est la plus fréquente (Espié et *al.*, 2012), une mutation de gène BRCA peut augmenter le risque de développer un cancer du sein de 60% et de l'ovaire de 30% . A partir de 50 ans, une femme sur dix aura un cancer du sein durant les 30 années qui lui restent à vivre (Tardivon et Malhaire, 2009).

I.2.2.2. Antécédents familiaux :

Les femmes qui ont un antécédent familial de cancer du sein, que ce soit maternel ou paternel, présentent un risque accru de faire un cancer du sein. 5% à 10% des cancers du sein sont liés à des mutations des gènes de prédisposition (Eisinger et Sobol, 1999). On estime que environ 80% des cancers du sein héréditaires sont due à BRCA1 et BRCA2, gènes suppresseurs de tumeur (Croce et *al.*, 2008). Ils sont impliqués dans la réparation des lésions de l'ADN, recombinaison homologue, la régulation de la transcription et la prolifération embryonnaire (Fucito et *al.*, 2008) . Leur transmission s'effectue selon un mode autosomique dominant mais de pénétrance variable. Pour les femmes porteuses d'une mutation de BRCA1, le risque de développer un cancer du sein jusqu'à l'âge de 70 ans, est de 65% .Pour BRCA2 le risque est de 45%. Une mutation de BRCA1 ou BRCA2, elle augmente également le risque de développer un cancer ovarien. Plusieurs milliers de mutations, réparties tout au long

de la séquence ADN de ces gènes, sont connues à l'heure actuelle. Ces mutations sont dites privées dans la mesure où elles sont spécifiques de chaque famille (Gonçalves et *al.*, 2004).

Il existe d'autres mutations liés à des syndromes autosomiques dominants augmente le risque de survenue d'un cancer du sein, comme les mutations germinales de gène p53 associées au syndrome familial « Li-Fraumeni », de gène PTEN associées au syndrome de Cowden, de gène STK11 associées au syndrome Peutz-Jeghers (Alexandra, 2009 ; Espié et *al.*, 2012).

I.2.2.3. Facteurs hormonaux :

Plusieurs facteurs de risque connus de cancer du sein sont en relation avec une exposition anormalement prolongée aux estrogènes – que ce soit aux estrogènes endogènes (puberté précoce ou ménopause tardive), exogènes (prise d'estroprogestatifs contraceptifs ou traitement hormonal substitutif de la ménopause).

- Une puberté précoce avant l'âge de 12 ans augmente le risque de cancer du sein à l'âge adulte ; alors que chaque année supplémentaire de leur survenue, diminue le risque de cancer du sein de 5 %. Ainsi la survenue des premières règles après 14 ans a un rôle protecteur (Merviel et *al.*, 2010).
- L'âge tardif de la ménopause aussi est un facteur de risque de survenue d'un cancer du sein, Chaque année supplémentaire augmente d'environ 3 % à 4 % le risque de cancer du sein (Espié et *al.*, 2012 ; Merviel et *al.*, 2010).
- La parité est un facteur protecteur si l'âge à la première grossesse est précoce : une première grossesse avant 30 ans diminue de 25 % le risque par rapport à une femme nullipare, et une première grossesse avant 20 ans diminue le risque de 30 % par rapport à une femme qui a eu sa première grossesse après 35 ans (Merviel et *al.*, 2010).
- L'allaitement est l'un des facteurs protecteurs. lorsqu'il est prolongé plus de 12 mois, il réduit le risque de survenue de cancer du sein de 8% (Espié et *al.*, 2012).
- La prise des contraceptifs oraux entraînent une faible augmentation du risque chez les utilisatrices jeunes après une durée d'utilisation plus longue (Plu-bureau et *al.*, 2002).
- Le traitement hormonal substitutif (THS) de la ménopause augmente le risque de cancer du sein. Chaque année de la prise augmente le risque de 2.4% (Plu-bureau et *al.*, 2002). Il semble que, 5 ans après l'arrêt d'utilisation de THS, le risque disparaît presque complètement (This et Cormier, 2002).

I.2.2.4. Mode de vie :

Certains facteurs liés au mode de vie interviennent dans le risque de survenue de cancer du sein tel que l'obésité, le régime alimentaire, la prise d'alcool ou de tabac.

- L'alimentation : Le risque de survenue de cancer du sein est augmenté pour les matières grasses saturées d'origine animale chez les femmes avant leur ménopause ; par contre il est diminué pour l'apport en fibres (Tardivon et Malhaire, 2009).
- L'obésité : les femmes obèses ménopausées ont un risque accru de développer un cancer du sein à l'inverse des femmes non ménopausées. A partir de 18 ans une prise de poids

supérieur à 10kg augmente le risque de survenue d'un cancer du sein après la ménopause de 18%.

- L'activité physique (3 à 5 heures/semaine) diminue le risque de survenue de cancer du sein de 20 à 40% (Tardivon et Malhaire, 2009).
- le tabac augmente le risque de survenue de cancer du sein chez les femmes ayant commencé à fumer à un âge jeune, ou plus de cinq ans avant leur première grossesse à terme (Tardivon et Malhaire, 2009 ; Merviel et *al.*, 2010).
- La prise d'alcool aussi, augmente le risque de cancer du sein de 30%,(risque de 7% pour une consommation de 10g /jour) (Merviel et *al.*, 2010).

I.2.2.5. Antécédents de pathologie mammaire bénigne :

Certaines lésions bénignes mammaires sont considérées comme des lésions à risque représentant un facteur de risque de cancer du sein comme l'hyperplasie atypique (Croce et *al.*, 2008). Ce risque il est important dans le cas d'une femme non ménopausée ou elle a un antécédent familial de cancer du sein (Espié et *al.*, 2012).

I.3. Mécanismes de la carcinogénèse dans le cancer du sein :

Le cancer du sein est une maladie hétérogène. La transformation de la cellule mammaire normale passe par un processus progressif d'étapes successives : hyperplasie (typique ou atypique), carcinome *in situ* (CIS) et carcinome invasif (CI), en accumulant des altérations génomiques et des modifications épigénétiques. Ces altérations sont principalement somatiques. Les altérations génétiques observées au cours de la transformation maligne sont variés: des délétions chromosomiques, translocations, amplifications et des réarrangements, des duplications ou des pertes chromosomiques entiers, et des mutations ponctuelles.

Certaines de ces altérations conduisent à la modification de l'expression et / ou de la structure de produit du gène impliqué par ces modifications. Elle se traduira par l'activation d'oncogènes, inactivation des gènes de suppresseurs de tumeur, l'activation ou l'inactivation de gènes dont les produits interférer avec la stabilité du génome c'est-à-dire les gènes de régulation du processus de réparation de l'ADN (Lerebours et Lidereau, 2001).

I.4. Classification des cancers du sein :

Trois types de classification sont utilisés : la classification clinique, la classification histologique et la classification moléculaire.

I.4.1. Classification TNM 2009 :

La classification pTNM topographique (7^{ième} édition) et stades cliniques se base sur la taille de la tumeur (T), la présence de métastase des ganglions (N), et de métastase des autres organes (M). Se référer à l'annexe01.

I.4.2. Classification histologique OMS : Elle est basée sur les caractéristiques microscopiques des tumeurs, des différents types cellulaires identifiables morphologiquement et des aspects histologiques, se référer à l'annexe 02 (Tardivon et Malhaire, 2009).

I.4.3. Classification moléculaire :

L'utilisation de puces à ADN dans l'étude de profils d'expression génique a permis de classer les carcinomes mammaire en quatre types moléculaires : luminal A, luminal B, HER2, et basal-like.

- **Les types luminales :** présentent les tumeurs qui expriment des gènes codant pour les protéines des cellules épithéliales de la lumière des canaux ou des lobules du sein. Elles sont classées en deux catégories A et B :
 - **Le type luminal A** est le type qui exprime le plus fortement les RE, qui présente une forte expression de la GATA-binding protein 3, de l'hépatocyte nuclear factor 3, de LIV-1 et des cytokératines luminales 7, 8, 18, 19. ce sont des tumeurs hormono-sensible.
 - **Le type luminal B** présente une expression faible ou modérée des gènes spécifiques du type luminal , mais davantage de mutations de la protéine p53 que le type A. Le type B se caractérise aussi par l'expression, dans certains cas, de HER2 et de marqueurs de prolifération. Ce sont des tumeurs sensibles aux traitements hormonaux et à la chimiothérapie.
 - **Le type basal-like** est associé aux cancers dit « *triples négatifs* » c'est-à-dire qu'ils n'expriment ni les récepteurs aux estrogènes ni ceux à la progestérone, ni HER2 limitant les ressources thérapeutiques. Ce sont des tumeurs sensibles à la chimiothérapie.
-
- **Le type HER2** présente une forte expression de l'HER2 et une absence de l'expression de RE et de RP, (Lamy *et al.*, 2010 ; Bourcier *et al.*, 2012). Ces tumeurs sont traités par l' anti-HER2.

Cette classification devrait permettre la compréhension des particularités moléculaire entre ces différentes sous-classes expliquant leur évolutivité et leur pronostic différent et mieux individualiser leur prise en charge thérapeutique (Saglier *et al.* ,2009).

I.5. Les facteurs pronostiques du cancer de sein :**I.5.1. Facteurs cliniques et histologiques:**

Les facteurs principaux sont :

- l'âge inférieur à 35 ans : Les cancers du sein chez la femme jeune sont plus souvent agressifs,
- l'envahissement ganglionnaire axillaire : l'atteinte des ganglions indique que la maladie est devenue plus agressive.
- la classification TNM (T : taille de la tumeur, N : envahissement ganglionnaire, M : présence de métastase) : leur utilisation est surtout limitée à quelques groupes, parmi lesquels les cancers métastatiques, les cancers inflammatoires et les cancers localement avancés.

- la taille tumorale, elle est liée à l’envahissement ganglionnaire. Un pronostic défavorable est associé avec une augmentation de la taille des tumeurs.
- Le type histologique de la tumeur : Certains types particuliers de carcinome mammaire comportent un meilleur pronostic que les formes les plus fréquentes, canalaire et lobulaire.
- Les embolies vasculaires (Treilleux et Brémond, 2002).
- le grade SBR (de Scarff Bloom et Richardson) : ce grade prend en compte les anomalies des noyaux (dyscariose), le degré de différenciation (aptitude à former des tubules) et l’activité mitotique, il comprend trois classes qui ont été corrélées aux taux de survie, du grade 1 de pronostic favorable au grade 3 de pronostic mauvais (Cabarro et Lagrange., 2007).

I.5.2 Facteurs biologiques:

On cite les facteurs les plus couramment utilisés :

I.5.2.1. Récepteurs hormonaux :

Les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone jouent un rôle majeur dans la différenciation et la croissance de l’épithélium mammaire normal ainsi que dans la réponse des cellules cancéreuses aux traitements (Daly-schveitzer, 2008). Leur dosage fait partie du bilan initial des cancers du sein, apportant au clinicien une information d’ordre pronostique et thérapeutique. En effet, la présence de l’un des deux récepteurs stéroïdiens est le témoin d’un bon pronostic et un facteur prédictif d’une réponse favorable au traitement hormonal (Broët et *al.*, 1998).

I.5.2.2. L’oncogène HER-2 :

Il code pour un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase intrinsèque, localisé sur le chromosome 17 (17q21). Il est surexprimé, par une amplification génique, dans 20 à 30% des cancers invasifs du sein. Il appartient à la famille des récepteurs de facteurs de croissance EGFR. Il n’a pas un ligand défini (Delaloge et Marsiglia, 2005). Cependant, il peut hétérodimériser avec d’autres membres de sa famille, dotés d’une puissante activité mitogénique. La surexpression de HER-2 permet sa homodémirésation, et il peut exercer une activité mitogénique en absence de stimulation extracellulaire (Gonçalves et *al.*, 2004). Les carcinomes qui surexpriment HER2 sont habituellement de haut grade et de mauvais pronostic.

I.5.2.3. KI67 :

Le gène MKI67 est localisé sur le chromosome 10 (10q25) (Folkward et *al.*, 1995), il code une protéine exprimée dans le noyau des cellules lorsqu’elles sont dans le cycle cellulaire (toutes les phases sauf G₀ et G₁ précoce). Son rôle exact est mal connu. Il a été montré que l’expression de cette protéine dans les carcinomes mammaires est associée à un mauvais pronostic (Rinat et *al.*, 2010).

I.5.2.4. Gène p53 :

Il est situé sur le chromosome 17 en p13, code pour une phosphoprotéine nucléaire (Delalogue et Marsiglia, 2005). Les mutations ou la perte de fonction de la protéine p53 sont observées dans 50% des cancers du sein (Cabarro, 2000). p53 est considérée comme un régulateur transcriptionnel positif ou négatif de nombreux gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, la réparation, l'apoptose et la régulation du cycle cellulaire. Une mutation germinale du gène p53 augmente le risque de cancer du sein à 50% à l'âge de 30 ans et 90% à l'âge de 70 ans (Delalogue et Marsiglia, 2005).

La recherche des mutations de p 53 pourrait représenter un marqueur pronostique intéressant pour les tumeurs sans envahissement ganglionnaire, et permettrait d'identifier un sous-groupe de patientes répondant mieux à la chimiothérapie et/ou à la radiothérapie (Treilleux et Brémond, 2002).

I.6. Carcinomes invasifs ou infiltrants:

Il s'agit de carcinomes franchissant la membrane basale et envahissant le tissu conjonctif (métastases ganglionnaires précoces possibles) par opposition au carcinome in situ (Boccon, 1992).

La classification de l'OMS (2003) des CI du sein englobe 21 entités, elle tient compte des données morphologiques et immunohistochimique. Une meilleure compréhension de la génétique des cancers du sein devrait entraîner des remaniements futurs dans cette classification des cancers du sein (Sigal-Zafrani et *al.*, 2007).

Les groupes les plus importants et les plus répondus dans notre pays sont le carcinome canalaire infiltrant et le carcinome lobulaire infiltrant.

I.6.1. Carcinome canalaire infiltrant :

C'est la forme la plus fréquente, il représente 70 à 80% des carcinomes infiltrants mammaires, elle se traduit dans 70% des cas par tumeur palpable et multicentrique dans 15 à 30% des cas. Dans ces cancers la bilatéralité présente dans 5 à 8% des cas.

Microscopiquement, il s'agit d'un groupe de tumeurs morphologiquement hétérogènes.

La tumeur peut prendre plusieurs aspect architecturaux en canaux, en cordons, travées, un aspect solide ou syncytial. Les cellules ont un cytoplasme souvent abondant éosinophile, noyau peut être régulier ou polymorphe, siège de nombreuses atypies de type anisocaryose parfois nucléolés (Sigal-Zafrani et *al.*, 2007 ; Benfoula, 2012).

I.6.2. Carcinome lobulaire infiltrant :

Il représente de 5% à 15% des cancers infiltrant, c'est le deuxième type histologique le plus fréquent des carcinomes infiltrants. Il est caractérisé par un aspect histologique particulier avec des cellules non cohésives, le plus souvent petites avec un index mitotique

le plus souvent bas, les noyaux sont ronds avec une chromatine fine et cytoplasme abondant. Ces cellule sont isolées ou en travées d'une seules épaisseur de cellules respectant les structure préexistantes, entourant les galactophores ou infiltrant les mailles du tissu adipeux.

Il représente 2% des cancers infiltrants chez les femmes de moins de 35ans.

La bilatéralité rapportée dans certaines séries est de 8 à 19%.

Les variantes des CLI gardent en commun le caractère non cohésif des cellules tumorales comme caractéristique majeure, le diagnostic de variant n'est que si plus de 90% de la surface de la tumeur présente cet aspect (Sigal-Zafrani et *al.*, 2007 ; Benfoula, 2012).

I.7. Récepteurs hormonaux REs et RPs :

I.7.1. Structure des récepteurs hormonaux :

Les récepteurs stéroïdiens, le récepteur aux œstrogènes (RE) et le récepteur aux progestérones (PR), appartiennent à la super-famille des récepteurs nucléaires qui fonctionnent en tant que des facteurs de transcription sensible à un ligand, ils sont composés de quatre domaines fonctionnels : à l'extrémité aminoterminal, le domaine A/B de transactivation, au centre, le domaine de liaison à l'ADN (DBD) et à l'extrémité carboxyloterminale, le domaine de liaison au ligand (LBD). L'extrémité aminoterminal est la région la plus variable en termes de longueur et de séquence entre les différents récepteurs nucléaires (figure2).

le domaine DBD est formé par deux structures de doigt de zinc. La liaison à l'ADN s'effectue par ce domaine au niveau d'une séquence le plus souvent consensus et propre à chaque type de récepteur dénommée HRE.

Le domaine LBD est la structure la plus conservée, il permet la liaison du ligand et la dimérisation du récepteur. Il participe aussi à la liaison des cofacteurs du récepteur.

Deux autres domaines jouent un rôle important dans la régulation de la transcription par les récepteurs nucléaire. Le domaine AF-1, localisé en N-terminal, est un domaine constitutif de transactivation. Il permet la liaison de nombreux corégulateurs mais aussi des protéines de la machinerie transcriptionnelle. Le domaine AF-2 situé dans le LBD, a une activité dépendante du ligand (agoniste ou antagoniste) (Bertherat, 2007).

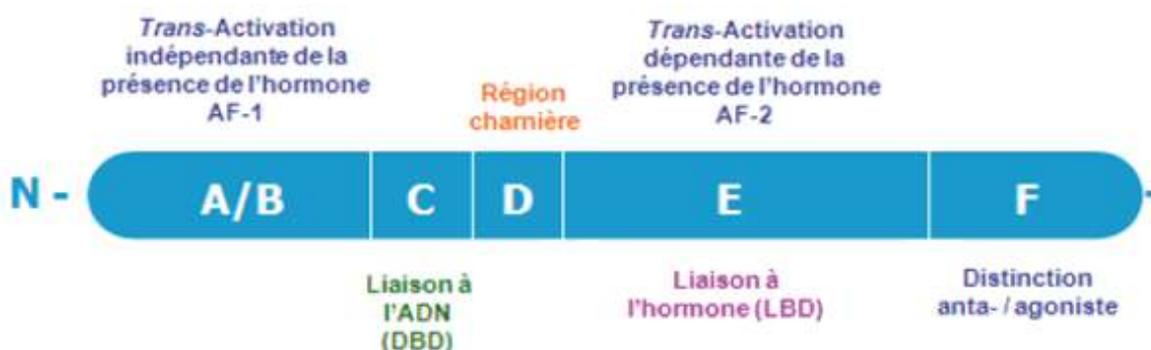


Figure 2: Organisation structurale et fonctionnelle des récepteurs nucléaires (Le Grand, 2009).

I.7.2. Récepteur aux œstrogènes :

I.7.2.1. Isoformes du récepteur aux œstrogènes humains :

Il existe trois formes de récepteurs aux œstrogènes : RE α , RE β et RE γ (ou RE β a). Les isotypes α et β sont retrouvés chez toutes les espèces alors que l'isotype γ n'a été identifié que chez certaines espèces de poissons. Les deux isoformes de REs, RE α et RE β , sont les produits de deux gènes distincts (respectivement ESR1 : estrogen receptor 1 et ESR2) qui sont présents sur des chromosomes distincts : ESR1 se trouve sur le chromosome 6 (locus 6q25.1) alors que ESR2 est localisé sur le chromosome 14 (14q23.2) exprimés différemment dans les tissus. Cependant les différentes variantes de chaque isoforme sont générées par l'épissage alternatif ; au moins quatre isoformes de RE α et cinq isoformes de RE β ont été identifiées (Le Grand, 2010).

I.7.2.2. Répartition tissulaire et fonctions :

ER α et ER β peuvent être détectés dans un grand nombre de tissus. Dans certains organes, les deux types de récepteurs sont présents en quantité similaire alors que dans d'autres, l'un ou l'autre prédomine. Dans certains tissus, les deux récepteurs aux œstrogènes peuvent être exprimés mais dans des cellules différentes. Ainsi, RE α est essentiellement exprimé dans les organes génitaux féminins et masculins, mais aussi dans les os, le foie et certaines régions du cerveau. L'isotype β du récepteur aux œstrogènes est retrouvé principalement dans le colon, les cellules épithéliales de la prostate, les testicules, les cellules des ovaires, la moelle épinière, les glandes salivaires et certaines régions du cerveau (Le Grand, 2010 ; Carreau, 2008).

I.7.2.3. Voies de signalisation des récepteurs aux œstrogènes:

I.7.2.3.1. Voie de signalisation génomique « classique »:

Les RE nucléaires sont étroitement liés au complexe multiprotéique organisé autour Hsp90 et ils sont séquestrés dans le cytoplasme. La liaison de l'œstrogène sur l'RE α , induit un changement conformationnel de RE α , la dissociation du complexe protéique et la libération de Hsp90, et la dimérisation de récepteur. Le dimère RE se lie à l'élément de réponse spécifique aux œstrogènes (ERE) dans le promoteur de gènes cibles. Le dimère RE recrute successivement différents complexes protéiques régulateurs qui contrôlent le remodelage de la chromatine, ce qui améliore fortement l'activité transcriptionnelle (Renoir, 2012 ; Renoir et *al.*, 2012). Parmi ces complexes, les HATs (comme le facteur

CBP/p300) et SRC-1 sont commun entre tous les récepteurs nucléaires .

Les co-activateurs de la famille p160 (SRC-1, SRC-2 et SRC-3, ou AIB1) servent de plateforme pour le recrutement de HATs et de méthyltransférase, pour faciliter la transcription (Renoir, 2012). Le dimère RE peut se lier de façon indirecte à l'ADN par des interactions protéine-protéine impliquant un facteur de transcription comme l'AP-1 ou SP-1. Dans les deux cas, l'association directe et indirecte des RE à l'ADN, et le recrutement de co-activateurs, modulent l'activation des gènes et la synthèse de la protéine (Renoir, 2012 ; Renoir et *al.*, 2012).

Les complexes œstrogène-RE α affectent la transcription de gènes impliqués dans la prolifération, la différenciation, la survie et, aussi dans la stimulation de l'invasion, les métastases et l'angiogénèse en cas de cancer. Parmi ces gènes, certains sont activées comme ceux qui sont impliqués dans la progression du cycle cellulaire (tels que c-myc, cyclines D, A et E), et d'autres gènes leur expression est diminuée (tels que gène p21, inhibiteur de CDK) (Renoir-et-*al.*,2012) .

1.7.2.3.2. Voies de signalisation génomique « ligand-indépendantes » :

En absence de l'œstrogène, les RE peuvent être activés par phosphorylations *via* les protéines kinases A ou C, par des signaux extracellulaires comme des facteurs de croissance, par des neurotransmetteurs ou des cytokines, ou par des régulateurs du cycle cellulaire (Carreau, 2008). L'EGF, l'insuline, l'IGF-1, la dopamine ou encore le TGF- α peuvent activer les RE. Les cibles principales de ces facteurs de croissance sont les nombreux résidus sérines présents dans le domaine AF-1 du RE (Le grand, 2009). Le RE α phosphorylé se lie directement ou indirectement à l'ADN, recrute les co-activateurs et déclenche la transcription. (Renoir, 2012 ; Renoir et *al.*, 2012).

1.7.2.3.3. Voies de signalisations non-génomiques :

➤ Récepteur œstrogénique membranaire mbRE :

Les effets génomiques des hormones stéroïdes sont retardés de plusieurs minutes à plusieurs heures, alors que les effets non génomiques ou extranucléaires se produisent rapidement en seulement quelques minutes.

Différentes cascades de signalisation induite par l'œstrogène ont été identifiés dans le compartiment extra-nucléaire, et impliquent des interactions directes avec une petite quantité de RE (Principalement RE α) localisée à la membrane avec d'autres protéines. En effet, RE α se trouve étroitement lié aux protéines adaptatrices. En outre, mbRE se lie à la sous-unité régulatrice p85 de PI3K (Renoir et *al.*, 2012). La palmitoylation de mbRE permet d'interagir avec la cavéoline-1. La surexpression de la cavéoline-1 augmente la translocation RE α vers la membrane plasmique (Kampa et *al.*, 2008). La Liaison de l'œstrogène aux complexes mbRE conduit à la dépalmitoylation et la dissociation de RE α de la cavéoline-1 et l'activation de nombreuses voies de signalisation intracellulaire, tels

que c-Src, la sous-unité p85 de PI3K, MAPK, AKT, p21ras et la protéine kinase C. Les fonctions non-génomique qui résultent à la liaison d'œstrogène aux mbREs, affectent la prolifération cellulaire, la survie cellulaire (RE α) et l'apoptose (RE β) (Renoir, 2012 ; Renoir et *al.*, 2012).

➤ **Protéine G couplé à l'RE (GPER) :**

Un membre de la superfamille GPCR (Récepteur couplé à la protéine G), GPCR30, a été proposé de participer à la signalisation rapide d'œstrogène; le complexe oestrogène-GPCR-30 peut activer Erk-1 et Erk-2. Ce récepteur, maintenant nommé GPER-1, stimule l'adényl cyclase et la régulation de l'axe EGF-MAPK médiée par l'AMPc. En effet, l'oestrogène agit comme un agoniste de GPCR-30, mais les antagonistes de RE peuvent aussi agir comme des agonistes de GPCR-30, semblable à une variété de phyto-et xenoestrogènes qui stimulent la production d'AMPc. Inversement, GPER est régulé positivement par EGF dans les cellules RE-positif de cancer du sein, d'ailleurs, le GPER a été suggéré d'agir comme un inducteur d'expression de RE α -36 dans diverses cellules de cancer du sein (Renoir, 2012 ; Renoir et *al.*, 2012).

les différents facteurs qui interviennent dans les différentes voies de signalisation du RE sont toutes des cibles potentielles pour une intervention thérapeutique.

I.7.2.4. Les récepteurs à la progestérone :

I.7.2.4.1. Isoformes du récepteur aux progestérones humaine :

Les récepteurs de la progestérone (RP) jouent un rôle central dans les mécanismes par lesquels les progestatifs affectent les cellules cibles. Ils sont synthétisés dans les tissus ayant des récepteurs aux oestrogènes fonctionnels et qui sont stimulés par l'oestrogène. Il existe 3 isoformes de RP, RP-A, RP-B et RP-C, ils sont le produit d'un seul gène localisé sur le chromosome 11 (q22-23) par l'utilisation des promoteurs alternatifs et des sites d'initiation de traduction interne. Les cellules RP positive généralement co-expriment les isoformes RP-B et RP-A; ces récepteurs ont des activités transcriptionnelles diverses par l'utilisation du même contexte du promoteur, mais aussi ils peuvent reconnaître entièrement différents promoteurs. le RP-B est nécessaire pour le développement de la glande mammaire normale, tandis que le RP-A est essentielle pour le développement de l'utérin. Le RP-C est dépourvu d'activité transcriptionnelle classique, il est un inhibiteur dominant du RP-B de l'utérus (Lange, 2007). Le RPA peut fonctionner comme un répresseur dominant de RPB et de RE- α (Murphy et Watson, 2001).

I.7.2.4.2. Voies de signalisation des récepteurs aux progestérones:

I.7.2.4.2.1. Voies de signalisation génomique « classique »:

En l'absence de la progestérone, le RP est séquestré dans le cytoplasme et il est lié avec

des complexes protéiques y compris les protéines de choc thermique. Après la liaison à la progestérone, les récepteurs subissent un changement conformationnel, la dissociation de HSP et la dimérisation (figure 3).

Les récepteurs activés se lient directement aux éléments de réponse spécifiques de la progestérone (PRE) dans les régions promotrices de gènes cibles comme c-myc. Les RPs peuvent aussi lier de façon indirecte sur l'ADN, par des interactions protéine-protéine.

Les RPs liés à l'ADN direct ou indirect, régulent la machinerie transcriptionnelle en association avec des co-régulateurs des récepteurs nucléaires. Les corégulateurs modulent la transcription par le remodelage de la chromatine et le recrutement de la machinerie transcriptionnelle (par exemple, l'ARN-polymérase II). L'Acétyl transférase histones (HAT) et histone désacétylases (HDAC) fonctionnent, respectivement, comme des co-activateurs et des co-répresseurs. Les HATs et les HDAC coordonnent l'activité transcriptionnelle avec d'autres protéines régulatrices, y compris les complexes de remodelage de la chromatine dépendant de l'ATP (SWI / SNF) et méthyltransférases arginine (CARM1 et PRMT1).

Plusieurs protéines kinases (tels que MAPK, CDK2,) phosphorylent les isoformes RP principalement sur les résidus sérine. la phosphorylation de RP est également impliquée dans la régulation de la localisation de RP nucléaire (Lange, 2008).

1.7.2.4.2.2. Voies de signalisation non génomique :

Les récepteurs aux progestérones classiques (RP) peuvent également se localiser au niveau de la membrane plasmique. En effet, le RPA se lie aux protéines adaptatrices. De même, la palmitoylation de ce récepteur est un élément crucial pour sa translocation dans la membrane. La Liaison du ligand aux complexes mbRP conduit à l'activation des voies de signalisation intracellulaire notamment de c-Src kinase, EGFR, et MAPK (figure 3) (Lange, 2008).

Ainsi des mbRP liés aux récepteurs couplés à la protéine $G\alpha_i$ peuvent réguler l'activité de l'adényl cyclase, en entraînant une diminution des taux d'AMPc.

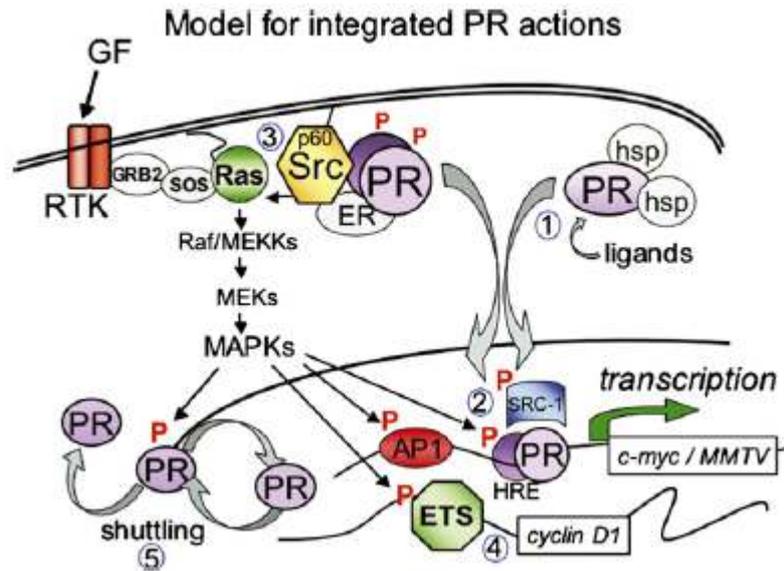


Figure 3: les voies de signalisation induites par les récepteurs aux progestérones (Lange, 2008).

I.8. Récepteurs hormonaux et cancer du sein :

Le développement de la glande mammaire normale nécessite $RE\alpha$, RP, et des facteurs de croissance. Les œstrogènes stimulent l'allongement du canal, et progestatifs induisent l'alveologénèse canalaire. En effet, l'œstrogène induit l'expression des isoformes PRs seulement en présence de EGF ce qui suggère l'existence d'une importante cross-talk entre EGFR et les deux récepteurs stéroïdiens.

L'expression de $RE\alpha$ dans les cellules épithéliales mammaires saines est rare, avec une détection dans la minorité des cellules épithéliales canalaire (7-17%). La minorité des cellules coexpriment $RE-\alpha$ et $RE-\beta$. Toutefois, la majorité des cellules épithéliales mammaires humaines normales (cellules luminales et des cellules myoépithéliales) expriment $RE-\beta$ seulement. Bien que lorsque les deux récepteurs sont co-exprimés, il a été spéculé que les isoformes $RE-\beta$ inhibent à la fois la transcription médiée par $RE\alpha$ et la prolifération induite par E2 (Murphy et Watson, 2001). Par ailleurs, $RE\alpha$ et $RE\beta$ régulent à la fois la prolifération et l'apoptose des cellules épithéliales mammaires normales (Renoir et al., 2012).

Les cellules RP- et RE-positif constituent seulement environ 7-10% de la population de cellules épithéliales dans la glande mammaire normale. En réponse à la communication entre le stroma et l'épithélium, les cellules épithéliales SR-positif expriment et sécrètent des molécules pro-prolifératives telles que Wnt ou IGF-II, en induisant la prolifération des cellules épithéliales adjacente SR-négatif. Par contre, la majorité des cancers du sein (environ 80%) expriment ER et PR. L'existence de cellules proliférantes SR-positives dans le cancer du sein implique que les cellules SR-positives sont soumis à une commutation pour donner des cellules autocrines et / ou des lignées cellulaires SR-positif continuent à se diviser (Murphy et Watson, 2001).

En effet, les cellules souches épithéliales mammaires sont considérées comme les principales cibles dans l'étiologie du cancer du sein. Les données proposent un modèle où les cellules positives aux récepteurs des stéroïdes dispersés dans l'épithélium mammaire sont les cellules souches qui s'auto-renouvèlent par division cellulaire asymétrique, et après un petit nombre de divisions cellulaires, les cellules amplifiées se différencient en cellules myoépithéliales ou lumorales caractérisés par des marqueurs spécifiques (Clarke, 2003 ; Clarke et *al.*, 2004).

Ainsi, les voies de signalisation impliquées dans la croissance normale et le développement de la glande mammaire sont probablement réactivées au cours de la progression du cancer du sein (Murphy et Watson, 2001).

Plusieurs co-activateurs de RE sont positivement régulés dans les cancers du sein par rapport aux tissus mammaires normaux. Ceux-ci incluent SRA, AIB1, PELP1, et le CBP (Murphy et Watson, 2001 ; Renoir et *al.*, 2012).

Chapitre II

Matériel et Méthodes

II.1. Matériel :

II.1.2. Population d'étude :

Cette étude a été réalisée au niveau du service de pathologie du Centre Hospitalo-universitaires de BENI MESSOUS sur une série de 47 patientes porteuses de cancer du sein infiltrant, diagnostiqués entre 2012 et 2013 (annexe 04). Les données concernant les patientes ont été recueillies par consultation de leurs dossiers cliniques. Deux autres patientes, ont été soumises à un questionnaire qui nous a permis de déterminer les antécédents personnels et familiaux ainsi que les facteurs de risque associés à l'apparition de cette maladie (**Annexe 05**).

Après la technique de routine et l'identification du carcinome mammaire, un marquage immunohistochimique des récepteurs de l'œstrogène **RE** et à la progestérone **RP**, à la protéine transmembranaire **HER2** et à la protéine nucléaire **KI67** est réalisé sur les 47 cas.

II.1.3. Matériel biologique:

Le matériel adressé au service, est représenté essentiellement par des microbiopsies, des pièces tels les nodules, les tumorectomies ou mastectomies, et des blocs communiqués pour avis diagnostic.

II.1.4. Matériel non biologique:

➤ **Appareillage:**

Appareil de circulation automatique, appareil d'inclusion en paraffine, congélateur, microtome rotatif, bain marie, L'étuve, microscope photonique.

➤ **Réactifs et solutions:**

➤ **Réactifs**

Formol à 10%, xylène, toluène et alcool (Ethanol) à 80%, 85%, 90%, et 100%. Eau distillée et eau de robinet, Paraffine, Hématoxyline de Harris; Hématoxyline de Mayer; Eosine; Eukitt (Entellan Féf. 7961)

➤ **Kit d'immunohistochimie**

Visualization Reagent, Peroxidase-Blocking Reagent, Negative control Reagent, DAB Bufferd Substrate, DAB Chromogen, Epitope Retrieval Solution X10, Wash Buffer X10, Faramount Aqueous Mounting Medium, Rabbit Anti-Human HER2 Protein, Monoclonal mouse anti-human Estrogen Receptor α , Monoclonal mouse anti-human Progesterone Receptor, MIB-1 antibody.

II.2. METHODES:**II.2.1. Préparation des coupes****➤ Enregistrement des prélèvements**

Les prélèvements sont adressés au laboratoire d'anatomie pathologique puis sont identifiés (nom, âge, sexe, siège de la tumeur ...).

➤ Fixation

Les prélèvements sont fixés dans du formol à 10% pendant 24h, puis rincés, et mise en cassettes. Cette étape a pour but de conserver la morphologie cellulaire, et le durcissement des tissus.

➤ **Déshydratation** Cette opération s'effectue en trois étapes :

➤ Elle est réalisée par un passage des fragments tissulaires dans six bains d'alcool éthylique de concentration croissante (75°, 80°, 85°, 90°, 95°, 97°). Chaque bain dure une heure, tandis que le cinquième et le sixième bain durent deux heures chacun.

➤ **L'éclaircissement:** après, un passage dans trois bains de xylène de cinq heures (deux bains de 1h30 chacun et le dernier de 02 heures).

➤ **Imprégnation:** l'imprégnation a été effectuée à chaud dans deux cuves en acier inoxydable et thermostatées (60°) contenant de la paraffine liquéfiée. chaque bain dure une heure de temps où le tissu est pénétré par la paraffine.

➤ Inclusion ou enrobage:

L'enrobage se réalise à l'aide d'un appareil d'inclusion et des moules, les biopsies sont inclus dans la paraffine fondu à 62°C, après refroidissement, on obtient des blocs de paraffine durs, qui sont par la suite conservés au congélateur à - 4°C jusqu'à la réalisation des coupes.

➤ La confection des coupes:

À l'aide d'un microtome rotatif, on coupe des rubans de 3 à 5 µm d'épaisseur puis on les étale sur des lames à l'aide de l'eau et une plaque chauffante afin de permettre une adhérence optimale des tissus. Les lames sont séchées dans l'étuve à 40°C pendant une nuit.

-Pour la coloration de routine, le ruban est étalé sur une lame en verre non silanisée.

- Pour l'IHC, ce même ruban est étalé sur lame en verre silanisée.

II.2.2. Technique de coloration à Hématoxyline-Eosine (HE) :

➤ **Principe :**

La coloration HE est une coloration topographique de routine, permettant l'identification des caractères histologiques de tissus, en associant à une coloration nucléaire en bleu par hématoxyline de Harris, à une coloration cytoplasmique en rose par l'éosine.

➤ **Mode opératoire**

La coloration des coupes est effectuée selon les étapes suivantes :

- Déparaffinage : passage des lames dans trois bains de toluène (5minutes Chacun).
- Réhydratation : dans trois bains d'alcool de concentration décroissante (97° à 80°) (5minutes chacun)
- Rinçage à l'eau courante
- Mettre les lames dans un bain de l'hématoxyline pendant 5 minutes
- Rinçage à l'eau courante.
- Mettre les lames dans un bain d'éosine (2minutes).
- Rinçage à l'eau courante.
- Déshydratation dans 3 bains d'alcool (éthanol) à des concentrations croissantes (80°,90°,97°) 5minutes chacun.
- Passage des lames dans 3 bains de toluène pour l'éclaircissement des tissus.
- Montage les lames à l'aide d'une goutte de l'Eukitt puis les recouvrir par une lamelle
- Observation au microscope optique.

Le type de carcinomes infiltrant a été évalué selon la classification histologique de l'OMS et le grade histologique selon les critères de SBR (Scraff , Bloom et Richardson).

II.2.2. Technique d'immunohistochimie (IHC)

➤ **Principe**

L'examen immuno-histochimique (IHC) consiste à révéler sur coupe histologique, la présence des molécules antigéniques cellulaires intranucléaires, membranaires ou cytoplasmiques visualisées grâce à la détection par un anticorps spécifique, couplé à un chromogène agissant sur un substrat (Le réactif principal est un anticorps dirige contre l'antigène à marquer).

Dans notre travail les substances antigéniques recherchées sont les récepteurs hormonaux ER et PR, l'Her2 et le KI67.

➤ **Mode opératoire**

➤ **Déparaffinage et réhydratation :**

les lames doivent être déparaffinées, puis réhydratées.

1. Passage des lames dans deux bains de xylène (5minutes chacun)

2. placer les lames dans 4 bain de l'éthanol à 95% pendant 3 minutes chacun.
3. placer les lames dans de l'eau distillée pendant au moins 30 secondes.

➤ **Démasquage antigénique**

1. Transférer les lames dans un bac de solution de restauration de l'épitope pré chauffée dans un bain marie (90 à 95°C) pendant 40 minutes.
2. Refroidissement pendant 20 min à température ambiante.
3. Rincer les couper avec du tampon de lavage dilué.

➤ **Blocage de la peroxydase**

1. Entourer la coupe tissulaire d'un cercle, avec un DAKO pen .
2. Appliquer 3 gouttes de réactif inhibiteur de peroxydase de manière à couvrir l'échantillon.
3. Incuber durant 5 minutes.
4. Rincer doucement à l'eau distillée ou avec le tampon de lavage.

➤ **Application de l'anticorps primaire**

1. Couvrir l'échantillon de 3 gouttes d'anticorps (anti-protéine HER2, RE, RP ou l'anti-protéine KI67).
2. Incuber durant 30 minutes
3. Rincer doucement au tampon de lavage.

➤ **Application de l'anticorps secondaire :**

1. Couvrir l'échantillon de 3 gouttes de réactif de visualisation.
2. Incuber durant 30 minutes
3. Rincer les lames au tampon de lavage.

➤ **Révélation**

1. Couvrir l'échantillon de 3 gouttes de solution de substrat chromogène (DAB).
2. Incuber durant 10 minutes.
3. Rincer doucement à l'eau distillée
4. Récupérer la solution de substrat chromogène (DAB) dans un conteneur pour produit dangereux pour une élimination appropriée.

➤ **Contre coloration**

Immerger les lames 2 a trois minutes dans l'hématoxyline de Mayer ,les rincer a l'eau courante (5 minutes),puis les plonger dans un bain d'eau ammoniaquée pour bleuir les tissus, puis déshydraté et éclaircir

➤ **Montage**

Les lamelles sont déposées sur les lames à l'aide d'un milieu de montage aqueux(Faramount).

➤ **Lecture des lames :**

- ✓ La lecture des récepteurs hormonaux :

Le score est établi en prenant en compte le pourcentage des cellules marquées et l'intensité du marquage. Le seuil de positivité est $> 1\%$.

Score du pourcentage des cellules positives:

- 0 : 0% pas de marquage

- 1 : $< 1\%$

- 2 : 1% à 10%

-3 : 11% à 33%

-4 : 34% à 66%

-5 : $> 67\%$

Score de l'intensité du marquage :

- 1 : intensité faible

- 2 : intensité moyenne (modérée)

- 3 : intensité forte

Donc le score est obtenu en additionnant la cotation des deux paramètres, et on obtient un score (pourcentage + intensité) varie de 0 à 2 : Score négatif ou 2 à 8 score positif .

✓ **La lecture du marqueur HER2 :**

-Score 0 : absence de marquage ou marquage $< 10\%$ des cellules tumorales ; cas négatif

-Score 1+ : marquage membranaire partiel faible, $> 10\%$ des cellules tumorales, cas négatif.

-Score 2+ : Marquage membranaire complet, faible à modéré, $> 10\%$ et $< 30\%$ des cellules tumorales. (Cas douteux)

-Score 3+ : Marquage membranaire complet, fort $> 30\%$ des cellules tumorales ; cas positif.

Les cas HER2 score 2 nécessitent un contrôle par FISH ou CISH pour confirmer es que le gène est amplifiée ou pas.

KI67 : se porter aux zones les plus mitotiques, un seuil de 20% est admis actuellement.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Résultats :

Nous avons réalisé deux arbres généalogiques :

La première famille est composée par 36 membres comportant 3 générations et 1sujets présentant un cancer du sein (III.16).

Notre cas index, c'est la seule patientes dans sa famille, âgée de 47ans, célibataire, elle a eu le cancer du sein à l'âge jeune, et avait fait une mastectomie à l'âge de 32ans, selon ses réponses au questionnaire, elle avait ses premières règles à l'âge de 15 ans.

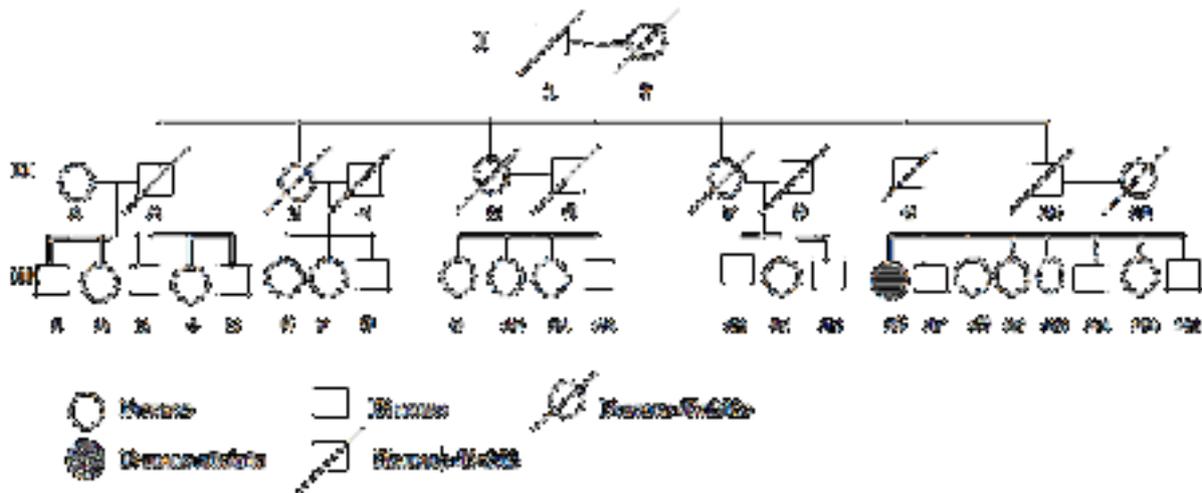


Figure 4 : Arbre généalogique du patiente III.16.

La deuxième famille est composée par 39 membres, comportant 3 générations et 2 sujets présentant un cancer du sein (III.5 et III.12).

Notre cas index, âgée de 50 ans, janvier passé elle a découvert la survenue de cancer du sein de type colloïde muqueux. Selon ses réponses au questionnaire, elle avait ses premières règles à l'âge de 11 ans, est nullipare, et a été ménopausée vers 44ans. Sa cousine, âgée de 36 ans, a eu aussi un cancer du sein.

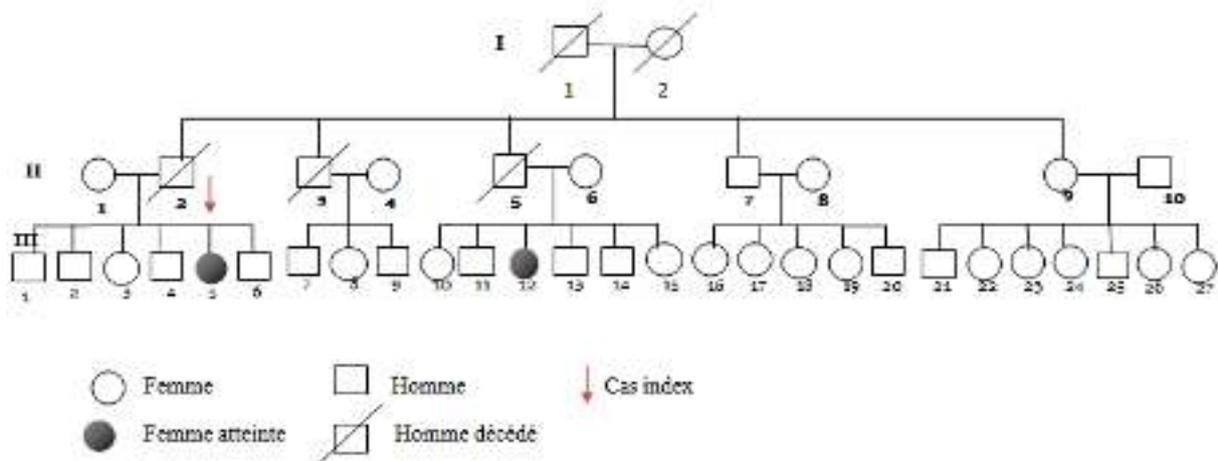


Figure 5 : Arbre généalogique du patiente III.5.

➤ **Caractéristiques cliniques et histologiques de la série.**

• **Type histologique :**

Parmi les 47 cas de carcinomes infiltrants traités dans cette étude, on trouve 42 cas de carcinomes canauxiaux infiltrants (**Figure 10**) avec un pourcentage de 88,64%, et 5 cas de carcinomes lobulaires infiltrants (**Figure 11**) avec un pourcentage de 11,36% (tableau1, Graph1).

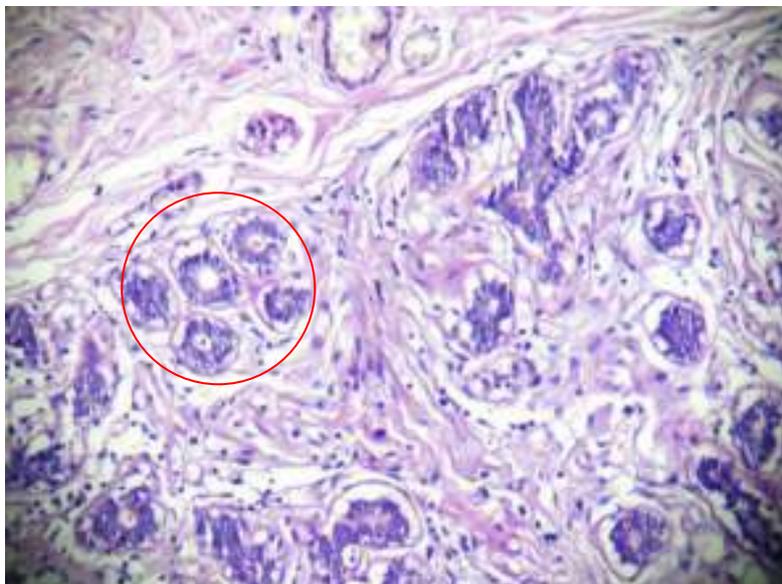


Figure 6 : carcinome canalaire infiltrant (coloration HE, Gx400) (le cercle rouge : Des structures canauxiales bien différenciées).

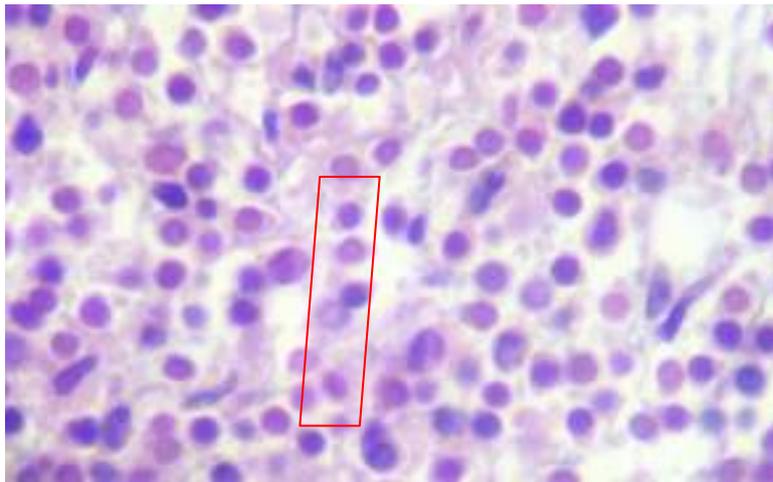
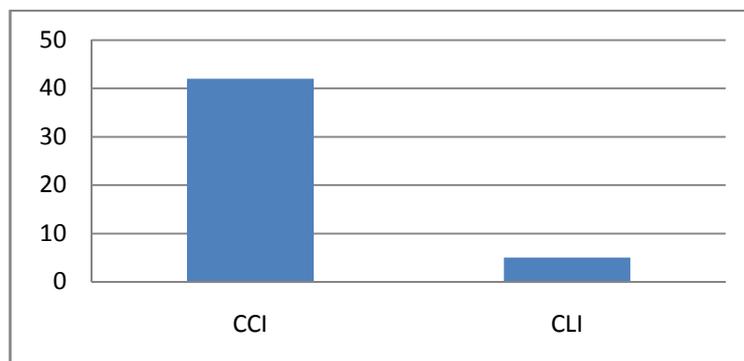


Figure 7 : Carcinome lobulaire infiltrant (coloration HE, Gx400)(aspect : fil indienne)

Tableau I : Répartition des patientes selon le type histologique

Carcinomes infiltrants du sein	47	100%
CCI	42	89, 36%
CLI	5	10,64%

Graphe 1 : Répartition des patientes selon le type histologique

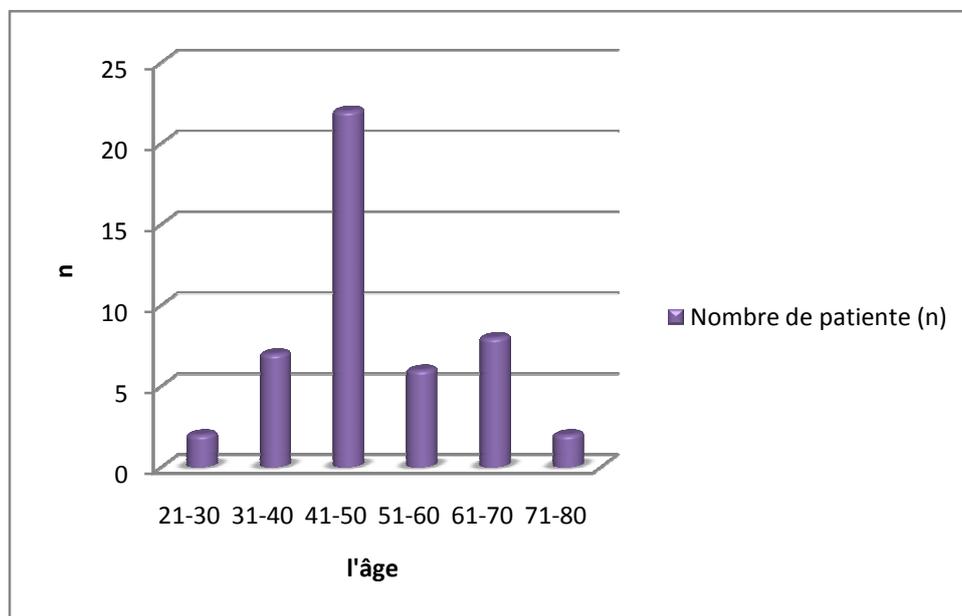


- **L'âge :**

Les âges extrêmes sont 26 ans et 74 ans, avec une moyenne d'âge de 49 ans. La tranche d'âge la plus atteinte est celle de la cinquième décennie soit 47,73% (Tableau II, graphe 2).

Tableau II : répartition des patientes selon l'âge

L'âge	Nombre de patient (n)	Pourcentage %
21-30	2	4,25%
31-40	7	14,90%
41-50	22	46,81%
51-60	6	12,76%
61-70	8	17,02%
71-80	2	4,25%

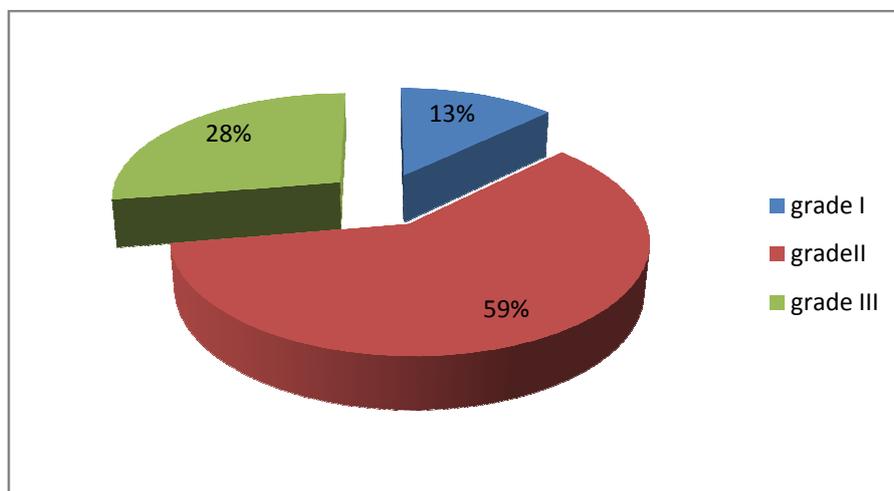
Graphe2 : Répartition des patientes selon l'âge.

- **Le grade SBR :**

La plupart des carcinomes sont de grade II de SBR, suivi du grade III puis du grade I (tableau III et graphique 3).

Tableau III : répartition des patientes selon le grade SBR

Grade SBR	Nombre de cas	Pourcentage %
I	6	12,76
II	28	59,57
III	13	27,66

Graphe 3 : répartition des patientes selon le grade selon le grade SBR

- **Résultats immunohistochimiques:**

- **Récepteur à l'œstrogène :**

Les RE sont positifs dans 30 cas (soit 63,83%), et sont négatifs dans 17 cas (soit 36,17%) (Tableau 4 , graphe 4 et figures 12,13).

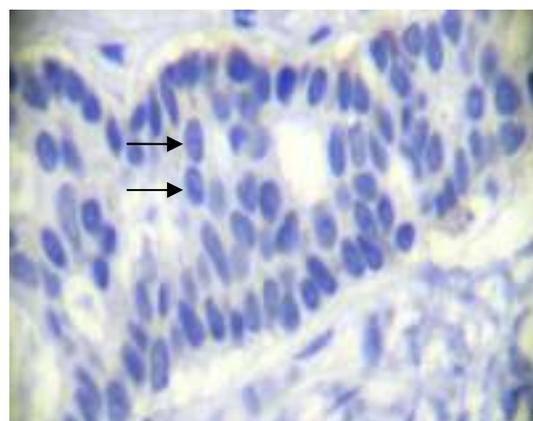
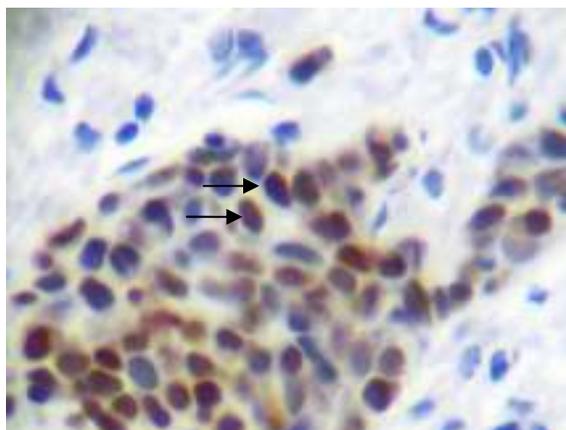
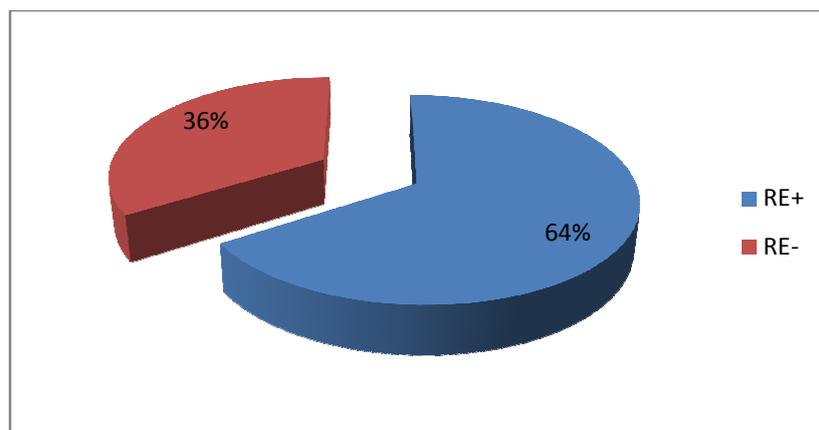
**Fig 8** : Expression nucléaire marquée (GX400) **Fig 9** : absence de marquage (Gx400)

Tableau IV : nombre et pourcentage des cas récepteurs à l'œstrogène positifs et récepteurs à l'œstrogène négatifs

RE	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Positifs	30	63,83
Négatifs	17	36,17
Total	47	100

Graphique 4 : répartition selon l'expression de RE



- **Récepteur à la progestérone:**

Les PR sont positifs dans 28 cas (soit 59,57 %), et négatifs dans 19 cas (soit 40,42%) (tableau 5 , graphe 5 et figures 14, 15).

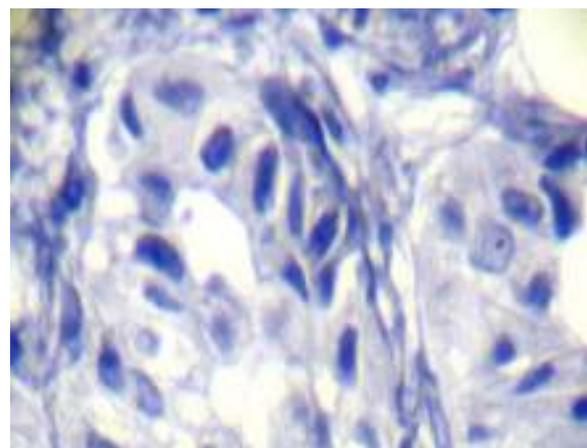
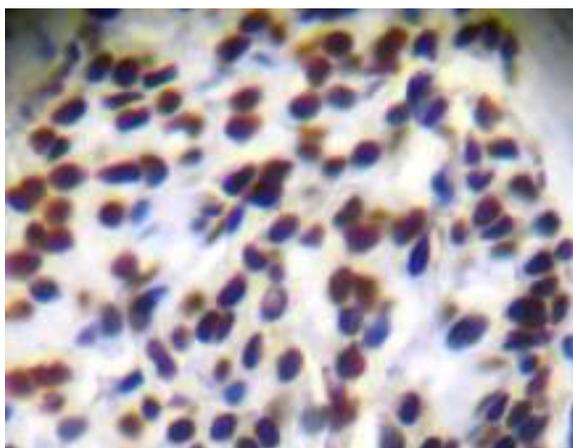
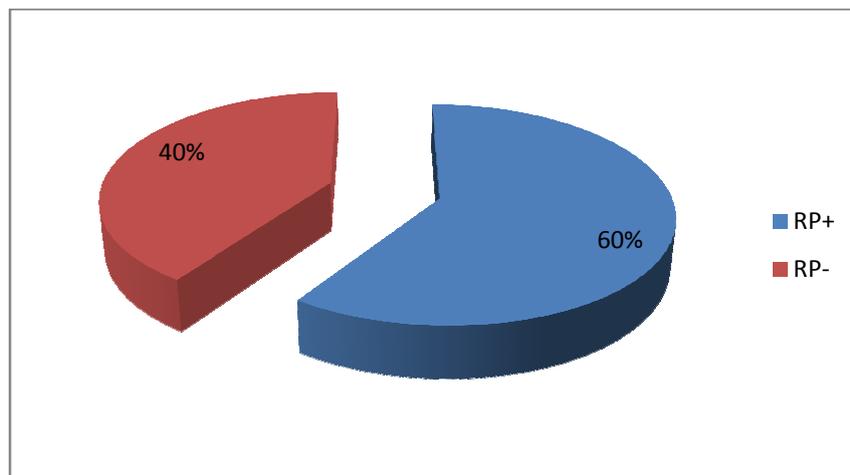


Fig10 : Expression nucléaire marquée (GX400) **Fig11** : Absence de marquage (Gx400)

Tableau V : nombre et pourcentage des cas récepteurs à la progestérone positifs et des cas récepteurs à la progestérone négatifs

PR	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Positifs	28	59,57
Négatifs	19	40,42
Total	47	100

Graphique 5 : répartition selon l'expression de récepteurs à la progestérone



- **HER-2**

La protéine Her2 est exprimée dans 11 cas (score 3), soit 23,40% alors que l'absence de son expression (scores 0 et 1) est notée dans 36 cas, soit 76,61% des cas. (tableau6, graphe 6 et figures 16, 17, 18) .

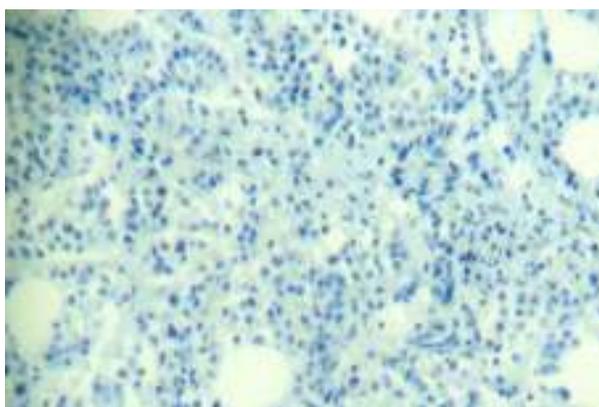


Fig 12: Absence d'expression de l'HER2 (IHC, Gx200).

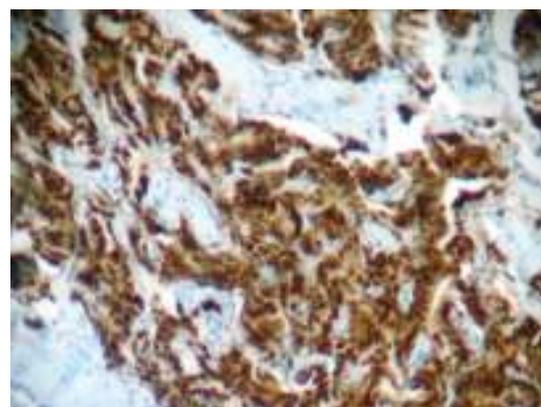


Fig13 : expression membranaire intense et continue, (IHC, Gx200).

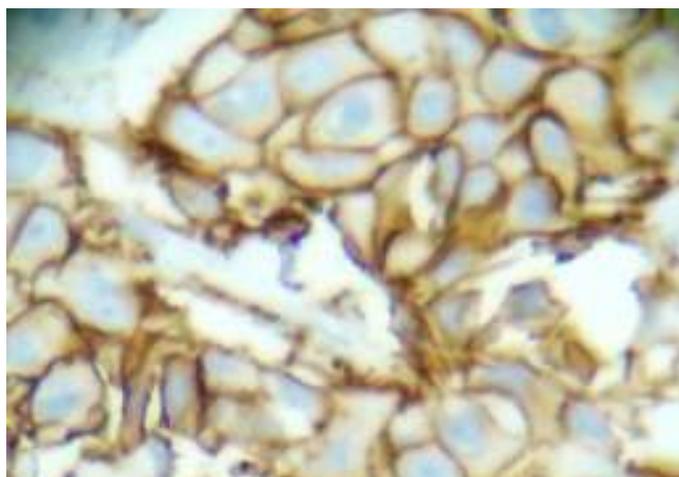
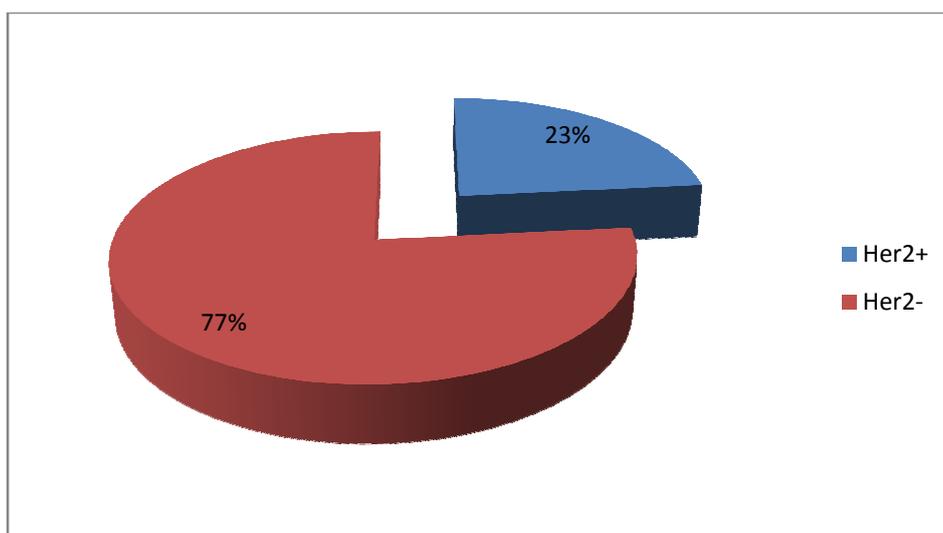


Figure 14 : Marquage membranaire intense et continu (GX400)

Tableau VI : répartition des cas selon le statut Her2

HER2	Nombre de cas (n)	Pourcentage
Positifs	11	23,40
Négatifs	36	76,61
Total	47	100

Graphe 6 : répartition selon le statut Her2



- **KI67 :**

La protéine Ki67 est exprimée dans 36 cas, soit 76,61%, (tableau 7, graphe 7, figure 15 , 16.).

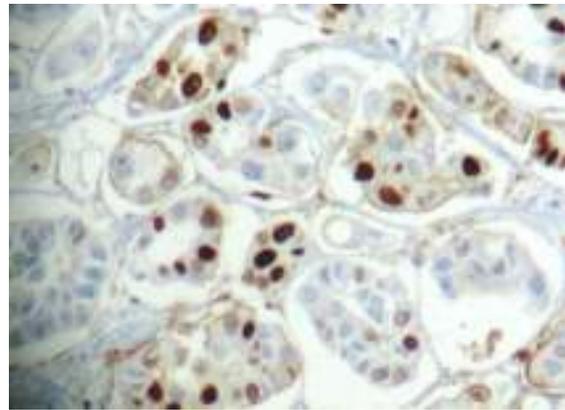
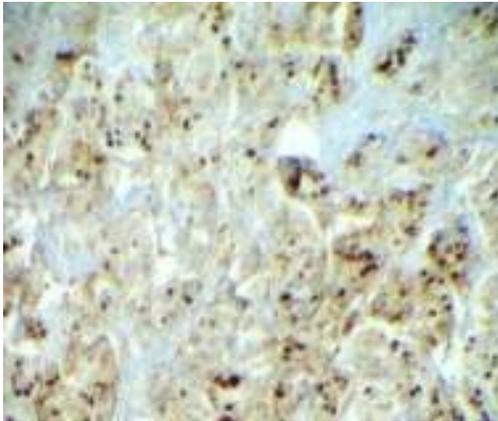
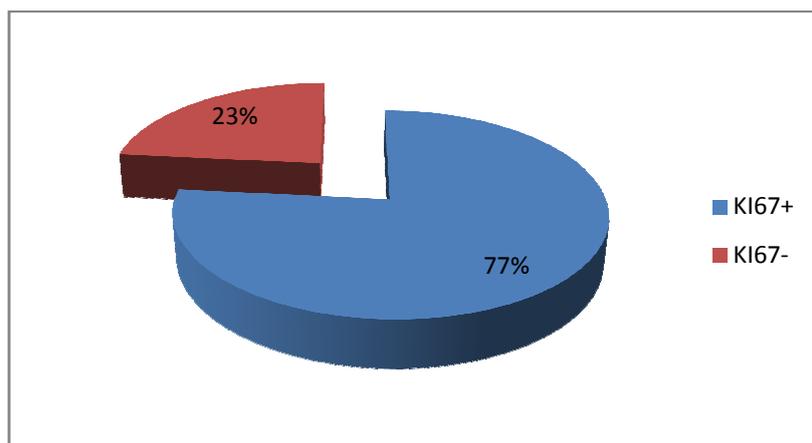


Fig 15 : Marquage nucléaire intense (GX200) / **Fig 16 :** Marquage nucléaire intense (GX400)

Tableau VII : répartition selon l'expression de Ki67

Ki67	Nombre de cas (n)	Pourcentage (%)
Positifs	36	76,61
Négatifs	11	23,40
Total	47	100

Graphe 7 : répartition selon l'expression de Ki67



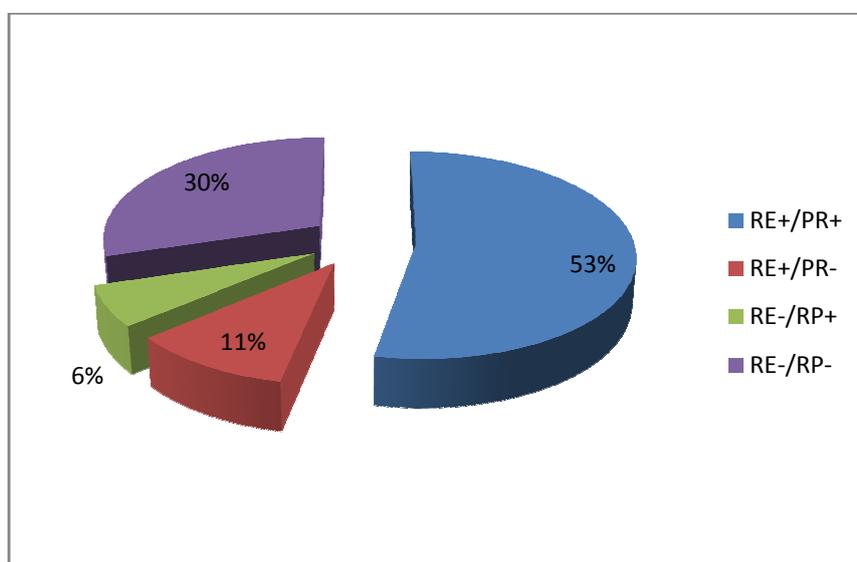
- **Corrélation entre l'expression de RE et RP :**

Permis les 30 cas RE positifs, on est 25 cas expriment les RP. Et permis les 17 cas RE- on est 14 cas sont RP- . Ce résultat signifie l'existence d'une corrélation positive entre ces deux récepteurs.

Tableau VIII : corrélation entre les récepteurs à l'œstrogène et les récepteurs à la progestérone

	RP positifs n	RP négatifs n	total
RE positifs	25	5	30
RE négatifs	3	14	17
Total	28	19	47

Graph 8 : proportion des cas RE+/PR+, RE+/PR-, RE-/PR+ et RE-/PR-.



La moitié de nos cas sont RE+/ RP+, et 11% des cas sont RE- /RP+.

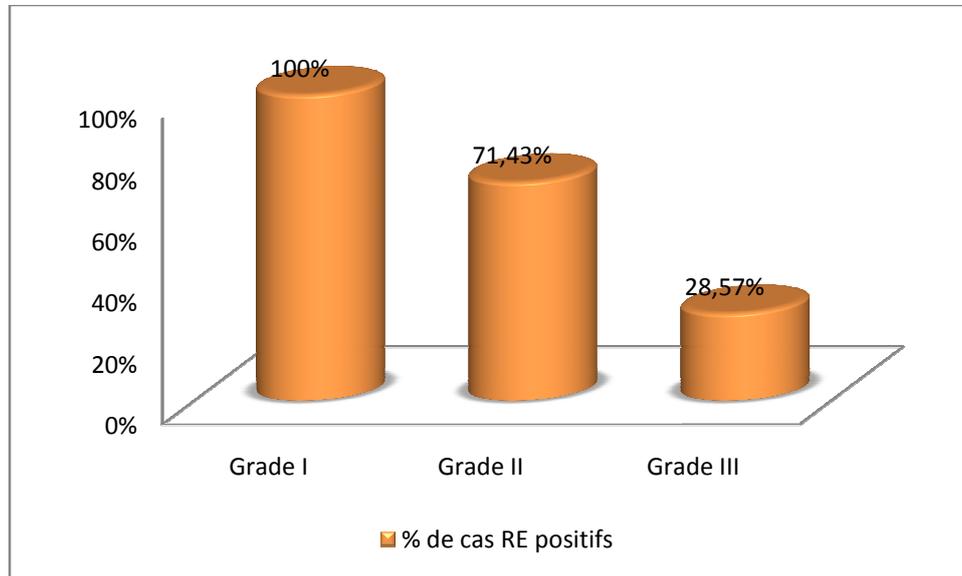
- **Corrélation entre le grade SBR et récepteurs hormonaux :**

Le taux d'expression des RE et RP est plus importante dans le grade I (soit 100%, 83,33% respectivement) suivi par le grade II dans 71,43% et 64,28% des cas.

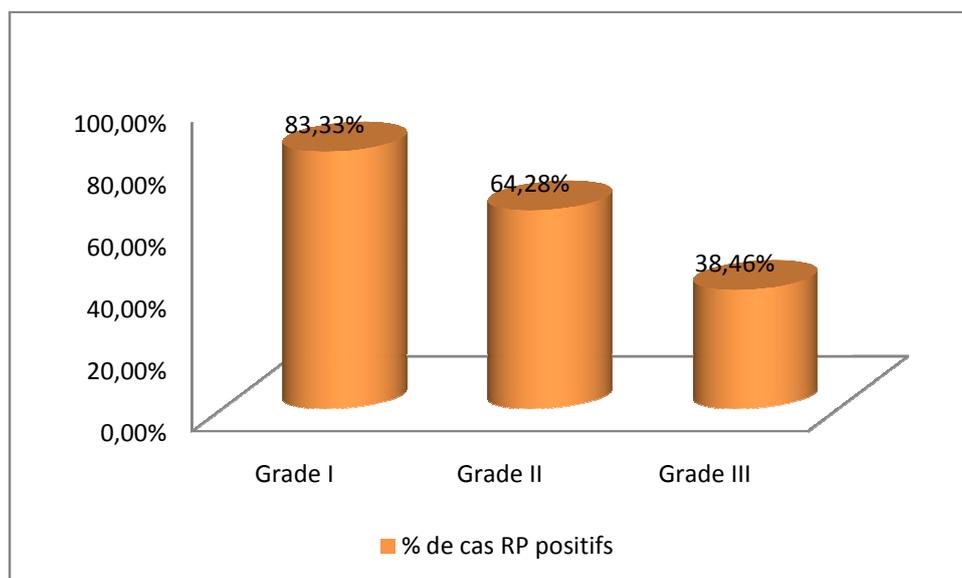
L'expression des RE et des RP diminue avec l'augmentation du grade SBR (tableaux IX et graphe 9 et tableaux X et graphe 10).

Tableau IX : expression des récepteurs à l'œstrogène selon le grade SBR.

	RE positifs n (%)	RE négatifs n (%)	Total (%)
Grade I	6 (100)	0 (0)	6 (100)
Grade II	20 (71)	8 (2.57)	28 (100)
Grade III	4 (28.57)	9 (71.43)	13 (100)
Total	30	17	47

Graphe 9 : évolution de l'expression des récepteurs à l'œstrogène selon le grade SBR**Tableau X :** expression des récepteurs à la progestérone selon le grade SBR.

	RP positifs n (%)	RP négatifs n (%)	Total
Grade I	5 (83,33%)	1 (16,67%)	6 (100%)
Grade II	18 (64,28%)	10 (35,71%)	28 (100%)
Grade III	5 (38,46%)	8 (61,64%)	13 (100%)
Total	28	19	47

Graphe 10: évolution de l'expression des récepteurs à la progestérone selon le grade SBR

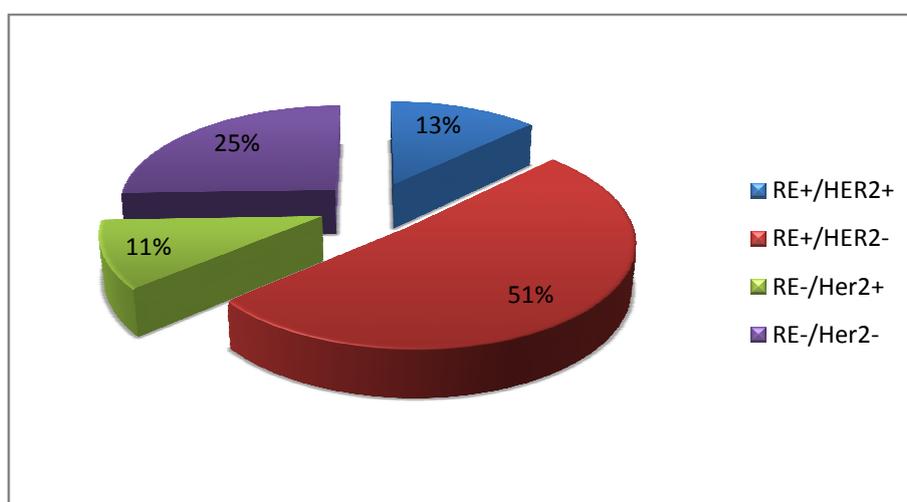
• **Corrélation entre l'expression des récepteurs hormonaux et l'HER2 :**

Parmis les 30 cas RE +, nous avons 24 cas, sont HER2-, et parmi les 17 cas RE-, 12 cas sont HER2-, Ce qui signifie l'existence d'une corrélation négative entre les RE et l'HER2 (tableau XI, graphe 11).

Tableau XI: corrélation entre les récepteurs à l'œstrogène et l'oncogène HER-2

	Her2 positifs n	Her2 négatifs	total
RE positifs	6	24	30
RE négatifs	5	12	17
Total	10	36	47

Grphe 11 : proportion des cas RE+/HER2+, RE+/ HER2-, RE-/ HER2+ et RE-/ HER2-.



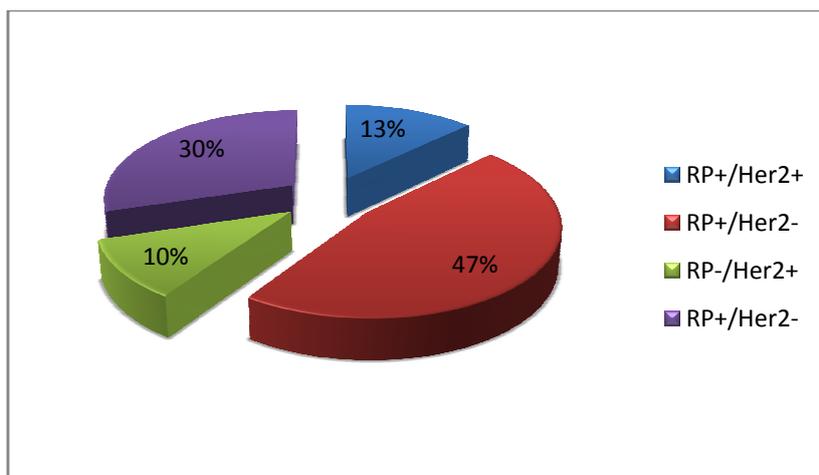
La moitié des cas sont RE+/HER2- et 13 % des cas sont RE+/ HER2+.

L'expression de l'HER2 est plus faible dans les RP- . ce résultat révèle l'existence d'une corrélation négative entre l'HER2 et RP.

Tableau XII : corrélation entre les récepteurs à la progestérone et l'HER-2

	Her2 positifs n	Her2 négatifs	total
RP positifs	6	22	28
RP négatifs	5	14	19
Total	11	36	47

Graphe 12 : proportion des cas RP+/HER2+, RP +/ HER2-, RP-/ HER2+ et RP-/ HER2-.



La moitié des cas sont RP+/HER2-. Et 13 % des cas sont RP+/ HER2+ .

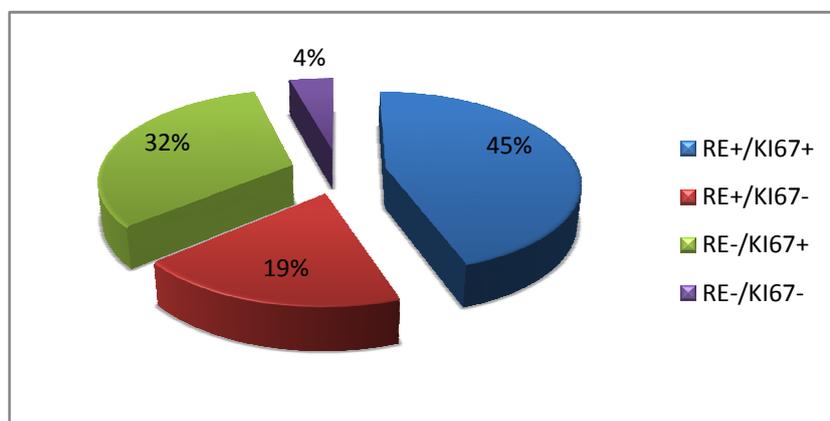
- **Corrélation entre le statut hormonal et l’expression de KI67 :**

L’expression de KI67 est plus important dans les RE +, il existe une corrélation entre l’expression de ces deux derniers (tableau XIII, Graphe 13).

Tableau XIII : corrélation entre les récepteurs à l’œstrogène et le KI67

	Ki67 positifs	Ki67 négatifs	total
RE positifs	21	9	30
RE négatifs	15	2	17
Total	36	11	47

Graphe 13 : proportion des cas RE+/KI67+, RE+/ KI67-, RE-/ KI67+ et RE-/ KI67-.



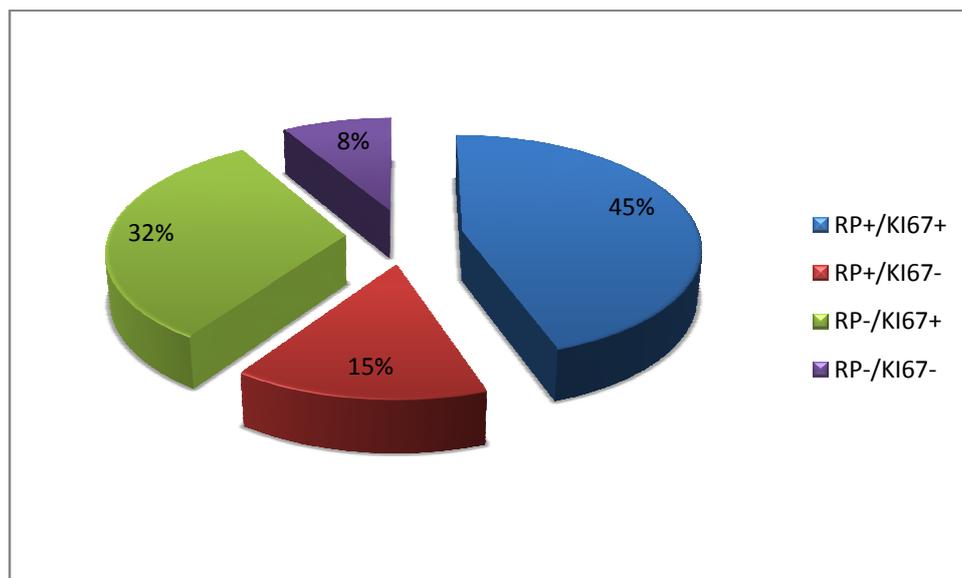
presque la moitié des cas sont RE+/KI67+. L'expression de KI67 est plus importante chez les RE- .

75% des cas RP positive expriment le KI67 (tableau XIV, graphe 14), ce ci indique l'existence d'une corrélation entre l'expression de KI67 et le RP.

Tableau XIV : corrélation entre les récepteurs à la progestérone et la protéine KI67

	Ki67 positifs	Ki67 négatifs	Total
RP positifs	21	7	28
RP négatifs	15	4	19
Total	36	11	47

Graphe 14 : proportion des cas RP+/KI67+, RP+/ KI67-, RP-/ KI67+ et RP-/ KI67-.



45% des cas sont RP+/KI67+. L'expression de KI67 est plus importante chez les RP- .

III. 2. Discussion

Après un questionnaire proposé pour deux femmes atteintes de cancer du sein pour en savoir plus sur les facteurs de risque nous avons réalisé deux arbres généalogiques.

L'étude des arbres généalogique de ces 2 familles a pour objectif la recherche des antécédents familiaux de cancer du sein.

La première famille est composée par 36 membres comportant 3 générations et 1 sujet présentant un cancer du sein (III.16).

Notre cas index (III.16), elle n'a aucun antécédent familial de cancer du sein, aussi les réponses au questionnaire révèlent qu'elle n'avait aucun risque génétique de développer un cancer du sein.

On a étudié une autre famille de 39 individus divisés en 3 générations, 2 d'entre eux présentent un cancer du sein (les 2 issus de la 3^{ème} génération).

La patiente (III.5), correspondant au cas index, elle présentait un carcinome colloïde muqueux de grade T₁N₀M₀. Sa cousine germaine (III.12) âgée de 36ans porte aussi un cancer du sein.

Il est important de noter que notre cas index (III.5), avait une exposition prolongée aux œstrogènes endogène ; en fait, elle a eu ses premières règles à l'âge de 11ans, elle est nullipare, et elle est ménopausée vers l'âge 44ans. D'après (Merviel et *al.*, 2010) cette exposition prolongée aux œstrogène c'est l'un des facteurs de risque de développement de cancer du sein.

La présence d'un deuxième individu atteint de cancer du sein dans la famille de notre cas index, (III.12), révèle que les personnes de cette famille présente un risque accru de cancer du sein héréditaire. Selon (Eisinger et sobol, 1999), 5 à 10% de l'ensemble des cancers du sein sont lié à des mutations des gènes de prédisposition, et environ 80% des cancers du sein héréditaires sont due aux gènes BRCA1et BRCA2.

En effet, une recherche de mutation doit être effectué chez ces patientes, donc évidemment plus susceptible d'être porteuse de la mutation qu'une personne encore saine, ou encore rechercher cette mutation particulière chez les membres de la famille ayant un patrimoine génétique commun avec le cas index.

La suite de notre travail était réalisé sur 47 patientes atteint d'un cancer du sein nous a permis d'explorer les résultats suivants :

Le type histologique le plus fréquent dans notre étude, c'est les carcinomes canaux infiltrants avec un pourcentage de 88,64%, ce résultat est en accord avec ceux décrits dans la littérature (HAMMAS, 2009 ; Dragos, 2010)

L'âge est un facteur pronostique très important, la moyenne d'âge dans notre étude est de 49 ans avec des extrêmes de 26 et 74 ans, ces résultats concordent avec ceux de Chahbouni, (2012) qui a trouvé 46 ans.

La répartition selon le grade SBR montre une prédominance du grade II (59,57 %), ce constat est en accord avec ceux de (Dragos, 2010) qui a trouvé 50% des patientes présentent ce grade, et ceux de (Chahbouni, 2012) qui a trouvé 54% des patientes présentent ce grade.

Les cellules PR- et ER-positif constituent seulement environ 7-10% de la population de cellules épithéliales dans la glande mammaire normale. Par contre plus de 70% des cancers du sein invasifs sont RE-alpha positifs. Dans notre étude, 63,83% de nos patientes sont RE-alpha positifs, ceci est en accord avec ce qui est rapporté par plusieurs études dont l'étude australienne de (Zeillinger et *al.*, 1993) (63%), l'étude marocaine de (Hammas, 2009) (64%), l'étude Angleterre de (Nicolas et *al.*, 2006) (61%), l'étude canadienne de (Nancy et *al.*; 1991) (67%). Ce taux reste un peu élevé par rapport à certains études dont l'étude marocaine de (Abbas et *al.*, 2009) (55,5%) et l'étude korienne de Yunhee (55,8%), et l'étude américaine de (Pamela et *al.*; 2012) (53.5%).

Cependant, 59,57% de nos patientes expriment le RP, ce qui rejoint le taux de 50-70% décrit dans la littérature (Murphy et Watson, 2001). Les résultats que nous avons obtenus sont en accords avec ceux de différents auteurs dont (Voralak et *al.*; 2012) (55.2%), (Pamela et *al.*; 2012) (66.8%) et (Attalia et *al.*; 2011)(53.5%), (Nancy et *al.*; 1991) (55%), (Zeillinger et *al.*; 1993) (54%).

Dans l'épithélium mammaire normal RE et RP sont co-exprimés mais ces cellules sont non-proliférantes. En effet, dans notre étude on note une forte co-expression entre les RP et RE dans 53% des cas. Ce constat est confirmé par plusieurs études notamment l'étude de (Rhodes et *al.*; 2000) qui ont trouvé (54.8%), l'étude de (ZEILLINGER et *al.*; 1993) qui ont trouvé (46,01%). D'après (Murphy et Watson, 2001) l'expression du RE est considéré comme un marqueur de l'intact de la voie de signalisation du RE, ainsi les carcinomes RE+/RP+ sont du bon pronostic et ils ont une chance élevée de répondre aux thérapies endocrines.

Par contre, les carcinomes RE+/RE- sont de mauvais pronostic (Huang et *al.*; 2005) en raison d'une plus grande présence et activation des récepteurs aux facteurs de croissance Her1 et Her2, cette même activation explique une régulation négative transcriptionnelle du RP et une moindre efficacité du tamoxifène (Roché, 2005).

Cependant, Parmi les cas exprimant les RP, nous avons 10,71 % des cas n'expriment pas les RE. Dans ces cas RE- /RP+ l'expression de RP peut être conduite par l'interférence avec des voies de récepteurs de facteur de croissance (Hammas, 2009).

Ainsi nous avons 30% des cas RE- /PR- ce résultat est superposable à celui décrit dans certaines études, (Yunhee et *al.*; 2012) qui ont trouvé (27,4%) , et (Rhodes et *al.*; 2000) qui ont trouvé (22,1%) , mais plus faible que celui obtenu par d'autres (Zeillinger et *al.*; 1993) et (Makroo et *al.*; 2012) (49.46%).

L'expression de l'HER2 est remarquée dans 23% de nos patientes, cette résultat rejoint le taux de 10 à 25% décrit dans la littérature (van de Ven et *al.*; 2010). Ce taux est également respecté dans plusieurs études : (Borg et *al.*; 1993) (20%) , (Makroo et *al.*; 2012) (23,9%), (Abbas et *al.*; 2009) (27,5%), et (Huang et *al.*; 2005) (17,7%) . La surexpression de l'HER-2 n'a pas été observée dans le tissu mammaire normal, lorsqu'elle est surexprimée, la protéine HER2 acquiert un pouvoir oncogénique qui lui confère un rôle important dans la prolifération des cellules épithéliales (Tse, 2011).

L'expression de l'HER2 est associée avec des tumeurs plus agressives et est un facteur de mauvais pronostic (Borg et *al.*; 1993) et aussi est une cible pour la thérapie ciblé. La présence de RE et de l'œstrogène dans les cellules mammaires supprime la transcription de l'HER2 (Huang et *al.*; 2005 ; Hammas, 2009).

La moitié de nos patientes sont HR+ /HER2-, cette corrélation négative entre le HR et l'HER2 est confirmée par plusieurs études (Huang et *al.*; 2005 , ROUX-DOSSETO et *al.*; 1998, HAMMAS, 2009). Cette corrélation n'est pas absolue. Dans notre étude 80 % des cas RE négatifs expriment l'HER-2, alors que seulement 29,41% des cas RE positifs l'expriment. Selon (Badve et Nakshatri, 2005), la surexpression de l'HER2 dans les cas ER+ est associée à la résistance à la tamoxifène. En effet, l'activation de la voie de signalisation de l'HER2 conduit à l'activation des RE membranaires.

Le grade SBR est un facteur de pronostic et aussi un facteur prédictif de la réponse à la chimiothérapie ; les tumeurs grade III répondent mieux que celles classées grade I ou II.

Dans notre étude nous avons noté une diminution de l'expression des ER et des PR avec l'augmentation du grade. Nos résultats sont en concordance avec des résultats obtenus dans la littérature et qui montrent que les tumeurs de haut grade sont généralement associées à une négativité des RE et des PR (Ayadi L et *al.*; 2008 ; Hammas, 2009) .

Les récepteurs hormonaux et le marqueur de prolifération KI67 sont exprimés dans des populations cellulaires séparées dans l'épithélium mammaire sain. Moins de 3% des cellules mammaires saines expriment le KI67 et ce sont des cellules proliférantes qui n'expriment pas les RE. Cette séparation d'expression des RH et de KI67 n'existe pas dans les carcinomes mammaires infiltrant (Rinat et *al.*; 2005).

Le taux d'expression de KI 67 dans notre étude est 76,61%, il est élevé par rapport aux résultats décrits dans la littérature : 36.4% pour (Querzoli et *al.*; 1996), (46.3%) pour (Rahim et Akbar, 2012). Un taux élevé d'expression de KI67 dans les cas RE- a été observés par rapport aux cas RE+ (soit 70 % et 88,23% respectivement). En outre, les carcinomes RP+ et RP- ont presque même taux d'expression de KI67 (soit 75% et 78,95% respectivement). plusieurs études trouve une corrélation inverse entre l'expression de KI67 et les RH (Querzoli et *al.*; 1996 ; Jensen et Ladekarl, 1995 ; Leonardi et *al.*;1992)

Conclusion

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation d'expression de récepteurs hormonaux, HER2 et KI67 dans les carcinomes mammaires infiltrants. Grâce à l'étude immunohistochimique, nous avons noté :

- un taux d'expression des récepteurs hormonaux, de l'her2 et de KI67 proche de celui décrit dans la littérature.
- une diminution de l'expression des ER et des PR avec l'augmentation du grade,
- Les récepteurs hormonaux sont corrélés entre eux et avec l'expression de l'HER2 et avec le KI67.

Notre travail ouvre à d'importantes perspectives :

- Etendre l'étude à un nombre plus important de patientes et doit impérativement comporter toutes les informations nécessaires concernant l'évolution des patientes et leur survie.
- L'utilisation de nouvelles techniques de biologie moléculaire, telles que la CISH et la FISH dans la détection de l'amplification de l'HER2.
- La collaboration entre les différents services de pathologie, de radiologie, de chirurgie et d'oncologie.

Référence :

1. Abbass Fouad, Akasbi Yousra, Znati Kaoutar, El Mesbahi Omar, Amarti Afaf, Bennis Sanae , *Classification moléculaire du cancer du sein au Maroc*, The Pan African Medical Journal, 2012 .
2. Adélaïde Le Grand, *Etude comparative de récepteurs aux oestrogènes : Aspects moléculaire et cellulaire de la réponse aux œstrogènes et anti-oestrogènes impliqués dans les causes et thérapies du cancer du sein*, L'Université de Bretagne-Sud, 2012. 26-39p.
3. Alexandra J Murray, *The genetics of breast cancer*, basic science, 2009, 105p.
4. Ayadi L et al, *Correlation of HER-2 overexpression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma*, World J of Surgical Onc 2008, 112p.
5. Badve S, Nakshatri H, *Oestrogen-receptor-positive breast cancer: towards bridging histopathological and molecular classifications*, J Clin Pathol, 2009, 7p.
6. Benfoula A. *le cancer du sein*, thèse doctorat en médecine, oran, 2012, 54p.
7. Bertherat J, *Récepteurs nucléaires*, Elsevier Masson SAS, 2007, 2-3p.
8. Boccon-Gibod, L., *Pathologie chirurgicale: Chirurgie urologique et gynécologique*, Elsevier Masson, Paris, (1992), 431 p.
9. Borg A ke, Baldetorp Bo, Marten Fernija, Dick Killander, Hikan Olsson, Stefan RydCnb, Helgi Sigurdsson, *ERBB2 amplification is associated with tamoxifen resistance in steroid-receptor positive breast cancer*, 139p.
10. Bourgier C, Heymann S, Vielh P, Azria D, *Implications radiobiologiques de la classification moléculaire des cancers du sein : présent ou avenir ?* Elsevier Masson SAS, France, 2011, 30p.
11. Broët, P., Pichon, M.-F., Magdelenat, H., Delarue, J.-C., Spyrtos, F., Basuyau, J.-P., Saez, S., Rallet, A., Courrière, P., Million, R., Asselain, B., *Rôle pronostique à long terme des récepteurs stéroïdiens dans le cancer du sein*, Bulletin du Cancer, 1998,52 p.
12. Cabarrot, E., Lagrange J.L., *Cancérologie générale*, Elsevier Masson, Paris, 2007, 232 p.
13. Cabarrot E, *Histoire naturelle des cancers du sein*, scientifiques et médicales Elsevier SAS,2000, 4p.
14. Carreau C, *Propriétés oestrogéniques des phyto-oestrogènes dans une lignée de cancer du sein. Implication des domaines de transactivation du récepteur aux œstrogènes alpha*. L'universite bordeaux 1, 2008, 37p.
15. Chahbouni S, *Correlation Entre La Classification Moléculaire Et Les Aspects Morphologiques Du Cancer Du Sein*, Maroc, 2012, 36p.
16. Clarke Robert B., *Steroid receptors and proliferation in the human breast*, Elsevier Inc, 2003, 792p.
17. Clarke Robert B., Katherine Spence, Elizabeth Anderson, Anthony Howell,Hideyuki Okano, Christopher S. Potten, *A putative human breast stem cell population is enriched for steroid receptor-positive cells*, Elsevier Inc, 2004,443-454p.
18. Claudia Rauh, Sebastian Jud, Michael Schrauder, Christian R. Loehberg, Matthias W. Beckmann, Arndt Hartmann c, Michael P. Lux , *Ki-67 as a prognostic molecular marker in routine clinical use in breast cancer patients*, Elsevier Ltd, Germany, 2009, 140p.
19. Croce S, Bretz-Grenier M.-F., Mathelin C, *Les principales lésions mammaires épithéliales bénignes et à risque. Prise en charge diagnostique et thérapeutique*. Elsevier Masson, France 2008, 788-789p.
20. Daly-Schveitzer, *Suivi médical du patient traité pour un cancer De l'annonce du traitement au suivi à long terme en médecine de ville*, Elsevier Masson, Paris, (2008), 302 p.
21. Delalogue S, Marsiglia H, *Bases génétiques de la radiosensibilité des cancers du sein*, Elsevier SAS, France, 2005, 82p.

22. Dragos Mihai Plečan, *Etude clinique, histologique et immunohistochimique dans un groupe de patients atteints de cancers du sein*, Craiova, 2012, 6-9p.
23. Eisinger F, Sobol H, *Risques héréditaires des cancers du sein et de l'ovaire. Identification et stratégies de prise en charge*, 1999. Elsevier, PARIS, 1-2p.
24. Espié M, Hamy A.-S., Eskenazy S, Cuvier C, Giacchetti S, *Epidémiologie du cancer du sein*, Elsevier Masson, 2012, 1-8 p.
25. Fénichel P, Brucker-Davis F, *Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancer du sein: de nouveaux facteurs de risque ?*, Elsevier Masson, France 2008 ,970p.
26. Folkward G, Wiesner, Achim Magener, Peter A. Fasching, Julia Wesse , Mayada R. Bani Jensen V, Ladekarl M, *Immunohistochemical quantitation of oestrogen receptors and proliferative activity in oestrogen receptor positive breast cancer*, J Clin Pathol 1995, 429p.
27. Fucito A , Lucchetti C, Giordano A, Romano G, *Genetic and epigenetic alterations in breast cancer: What are the perspectives for clinical practice?*, Elsevier Ltd. Italy, 2007.
28. Gonçalves A, Viens P, H. Sobol H, Maraninchi D, Bertucci F. *Altérations moléculaires des cancers du sein : applications cliniques et nouveaux outils d'analyse*, Elsevier SAS, France, 2004, 471-473p.
29. Hammam Nawal, *Évaluation De L'immuno-Marquage Par Les Hormonaux Et L'herceptest Dans Le Cancer Du Sein Récepteurs*, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Maroc, 2009, 94-112p.
30. Huang H J, Neven P, Drijkoningen D, Paridaens R, Wildiers H, Van Limbergen E, Berteloot P, Amant F, Vergote I, Christiaens M R, *Association between tumour characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer*, J Clin Pathol, 2005, 611-615p.
31. Kampa Marilena, Vassiliki Pelekanou, Elias Castanas, *Membrane-initiated steroid action in breast and prostate cancer*, Elsevier Inc, Greece, 2008, 950p.
32. Lamothe-Guay M, Lefebvre Y, Lamothe-Laforest L, *Physiologie du sein*, Elsevier Masson, Québec, 1991, 2p.
33. Lange Carol A., *Integration of progesterone receptor action with rapid signaling events in breast cancer models*, Elsevier Ltd, 2007, 204-207p.
34. Leonardi E, Girlando S, Serio G, Mauri G A, Perrone G, Scampini S, Dalla Palma P, Barbareschi M, *PCNA and Ki67 expression in breast carcinoma: Correlations with clinical and biological variables*, J Clin Pathol 1992, 418p.
35. Lamy P J ,Romieu G, Rouanet P, Jacot W , *Classification moléculaire des cancers du sein : utilité en clinique*, Elsevier Masson SAS, 2009, 35p
36. Lerebours F, Lidereau R, *Molecular alterations in sporadic breast cancer*, Elsevier Science Ireland Ltd , 2002, 122p.
37. Makroo R N, Chowdhry M, Fauzdar A, Mishra A , Srivastava P, Bhaudauria P, Kaul S, Sarin R, Das P K , Dua H, *Her2/neu gene amplification in breast carcinoma patients: Our experience with fluorescence in situ hybridization (FISH) technique*, Apollo Medicine, 2012, 147-148p.
38. Mekrachi E, Chkali M, Lamari C, Moussaoui M, Terkmane Y, Afiane Z , Allouache D, Baamara S, Benachenou N, Boudjellah H, Chenini, Elrich S, Guemane H, Hamdi H, Haoui M, Mahiou, Meziani M, Moussaoui D, Mejdoub M, Moussei A, Oulad Chabane, Salem N, *100 Questions et Réponses sur le cancer du sein*, Association ELBADR, 2012, 4^{ème} édition, 18p.
39. Merviel P, Jouvance O, Naepels P, Fauvet R, Cabry-Goubet R, Gagneur O, Gondry J. *Existe-t-il encore des facteurs de risque de survenue d'un cancer du sein ?*, Elsevier Masson SAS, France 2010 ,488-489p.
40. Monique Trojani , Gaëtan Mac Grogan , *Anatomie pathologique du sein*, Elsevier Masson, Québec, 1998 , 1p.

41. Murphy L C, Watson P, *Steroid receptors in human breast tumorigenesis and breast cancer progression*, scientifiques et médicales Elsevier SAS, Canada , 2002, 65-75p.
42. Ouezzani, *L'étude de l'expression de E-cadhérine dans les carcinomes lobulaires infiltrants*, thèse doctorat en médecine, Alger, 2011.
43. Plu-Bureau G, Touraine P, Kuttann P, *Sein et hormones*, scientifiques et médicales Elsevier SAS, 2002, 10-12p.
44. Querzoli P, Albonico G, Ferretti S, Rinaldi R, Magri E, Indelli M, Nenci I, *MIB- 1 proliferative activity in invasive breast cancer measured by image analysis*, J Clin Pathol 1996, 982p.
45. Rahim Golmohammadi, Akbar Pejhan, *The prognostic value of the P53 protein and the Ki67 marker in breast cancer patients*, JPMA, 2012, 873p.
46. Renoir Jack-Michel , Véronique Marsaud, Gwendal Lazennec, *Estrogen receptor signaling as a target for novel breast cancer therapeutics*, Elsevier Inc, France, 2012, 450-454p.
47. Renoir Jack-Michel, *Estradiol receptors in breast cancer cells: Associated co-factors as targets for new therapeutic approaches*, Elsevier Inc, France, 2012, 1250-1251p.
48. Rhodes A, Jasani B, Balaton A J, Miller K D , Barnes DM , *Frequency of oestrogen and progesterone receptor positivity by immunohistochemical analysis in 7016 breast carcinomas: correlation with patient age, assay sensitivity, threshold value, and mammographic screening*, J Clin Pathol, 2000, 690-691p.
49. Rinat Yerushalmi, Ryan Woods, Peter M Ravdin, Malcolm M Hayes, Karen A Gelmon, *Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential*, Lancet Oncol, 2010, 174-175p.
50. Roché H, *Évolution des traitements médicaux Traitements adjuvants : impact décisionnel des récepteurs hormonaux*, Lille, 2006 , 85p.
51. ROUX-Dosseto, Romain S, Dussault N, Martin P M, *Correlation of erbB2 gene amplification with low levels of estrogen and/or progesterone receptors in primary breast cancer: do erbB-2 products delineate hormone-independent tumors?*, Elsevier, Paris, 1989, 641p.
52. Saglier J., Benzebo, P., *Cancer du sein questions et réponses au quotidien*, Masson Elsevier, France, (2009), 194p.
53. Sigal-Zafrani B, Mac Grogan G, Vincent-Salomon A, Arnoud L, *Enseignement post-Universitaire EPU Pathologie mammaire*, 2007, 75p.
54. Tardivon A, Malhaire C, *Cancer du sein (II). Procédures diagnostiques et thérapeutiques*. Elsevier Masson SAS , 2009, 2-4p.
55. This P, Cormier C ; *Approche de la ménopause chez la femme à risque de cancer du sein*, Elsevier SAS, 2002, 103p.
56. Treilleux I, Brémond A, *Pronostic des cancers du sein*, Elsevier SAS, 2002 ,2-3p.
57. Tse C, *HER2 sérique : récepteur du facteur de croissance épidermique*, Elsevier Masson SAS, 2011, 2-3p.
58. Van de Ven S, Smit V.T.H.B.M., Dekker T.J.A., Nortier J.W.R., Kroep J.R. *Discordances in ER, PR and HER2 receptors after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer*, Elsevier Ltd, 2010, 422p.
59. Yunhee Lee, Sang-Ah Lee, Ji-Yeob Choi, Minkyong Song, Hyuna Sung, Sujee Jeon, Sue K Park, Keun-Young Yoo, Dong-Young Noh, Sei-Hyun Ahn and Daehee Kang, *Prognosis of breast cancer is associated with one-carbon metabolism related nutrients among Korean women*. BioMed Central Ltd, 2012, 4p.
60. Zeillinger R, Kury F, Speiser P, Sliutz G, Czerwenka K, Kubista E, *EGF-R And Steroid Receptors In Breast Cancer: A Comparison With Tumor Grading, Tumor Size, Lymph Node Involvement, And Age*. Clinical Biochemistry, Usa, 1993, 221-223p.

61. Znati K , Bennis S , Abbass F , Akasbi Y , Chbani L , Elfatemi H , Harmouch T , Amarti A , *Cancer du sein chez la femme jeune dans le Nord-Est du Maroc Breast cancer in young patient in Morocco*, Elsevier Masson, Maroc, 2012 , 2p.

ANNEXES

Annexe 01 :

Classification pTNM 2009 :

- T0 absence de tumeur primitive
- Tis Carcinome in situ de type canalaire ou lobulaire, maladie de Paget du mamelon
- T1 Tumeur $\leq 20\text{mm}$
 - T1 mi : Lésion micro-invasive $\leq 1\text{mm}$
 - T1a : $1\text{mm} < \text{tumeur} \leq 5\text{mm}$
 - T1b : $5\text{mm} < \text{tumeur} \leq 10\text{mm}$
 - T1c : $10\text{mm} < \text{tumeur} \leq 20\text{mm}$

- T2 : $20\text{mm} < \text{tumeur} \leq 50\text{mm}$

- T3 : Tumeur $> 50\text{mm}$

- T4 :
 - T4a : Tumeur étendue à la paroi thoracique.
 - T4b : Tumeur étendue à la peau.
 - T4c : T4a + T4b.
 - T4d : Carcinome de type inflammatoire.

- N0 : absence de métastase ganglionnaire régionale détectée en histologie standard (y compris un amas de cellules tumorales de moins de 0,2mm). Un suffixe « i+ » indique la présence de cellules détectées en immunohistochimie et dont la taille globale est de moins de 0,2 mm. Un suffixe « mol+ » indique la détection de cellules tumorales par des techniques de biologie moléculaire.
- N1mi Micro métastase ganglionnaire (compris entre 0,2mm et 2,0mm)
- N1a Atteinte de 1 à 3 ganglions axillaires (au moins une métastase $> 2\text{mm}$)
- N2a atteinte de 4 à 9 ganglions axillaires (au moins une métastase $> 2\text{mm}$)
- N3a Atteinte d'au moins 10 ganglions axillaire (au moins une métastase $> 2\text{mm}$)

- M0 Absence de métastases à distance
- M1 Métastase à distance

ANNEXE 0 2 : Classification OMS 2003

Types histologiques des cancers du sein (Organisation mondiale de la santé [OMS] 2003)
(Tardivon et Malhaire, 2009).

- **Carcinome canalaire infiltrant (SAI)**
 - Carcinome canalaire infiltrant de type mixte
 - Carcinome canalaire infiltrant pléomorphe
 - Carcinome canalaire infiltrant avec cellules géantes ostéoclastiques
 - Carcinome canalaire infiltrant avec aspects choriocarcinomateux
 - Carcinome canalaire infiltrant avec aspects mélanocytaires

- **Carcinome lobulaire infiltrant**
- **Carcinome tubuleux**
- **Carcinome cribiforme infiltrant**
- **Carcinome médullaire**
- **Carcinome mucineux et autres tumeurs avec mucine abondante**
 - Carcinome mucineux
 - Cystadénocarcinome et carcinome mucineux à cellules cylindriques
 - Carcinome à cellules de bague à chaton
- **Tumeurs neuroendocrines**
 - Carcinome neuroendocrine solide
 - Tumeur carcinoïde atypique
 - Carcinome à petites cellules de type *oat-cell*
 - Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
- **Carcinome papillaire infiltrant**
- **Carcinome micropapillaire infiltrant**
- **Carcinome apocrine**
- **Carcinome métaplasique**
 - Carcinome avec métaplasie épithéliale pure
 - Carcinome épidermoïde
 - Adénocarcinome métaplasique à cellules fusiformes
 - Carcinome adénoquameux
 - Carcinome mucoépidermoïde
 - Carcinome métaplasique mixte épithélial/mésenchymateux
- **Carcinome à cellules riches en lipides**
- **Carcinome sécrétant (juvénile)**
- **Carcinome oncocytaire**
- **Carcinome adénoïde kystique**
- **Carcinome à cellules acineuses**
- **Carcinome à cellules claires (riches en glycogène)**
- **Carcinome sébacé**
- **Carcinome inflammatoire**
- **Autres histologies**
 - Lymphomes
 - Sarcomes
 - Mélanomes

Annexe 04:

NUM	Age	Type de la tumeur	grade	FACTEURS PRONOSTIQUE
1	59	CCI	II	RE+ RP+ HER2+ score1 Ki67 -<20%
2	74	CCI	III	RO- RP- Her2 – Ki67+ environ100%
3	45	CLI	II	RE- RP - Her2 –SCORE0 KI67-
4	38	CCI	III	RP+ RE- Her2 – score1 KI67+>70%
5	47	CCI	III	RP- RE- Her2-score0 Ki67+>90%
6	44	CCI	III	RP- RE- Her2+ score3 Ki67+>50%
7	52	CCI	I	RP+ RE+ HER2+score3 KI67-
8	52	CCI	II	RP+ RE+ HER2+score3 KI67+>14%
9	40	CCI	II	RP+ RE+ HER2- score1 Ki+ >20%
10	42	CCI	II	RP+ RE+ HER2- score1 Ki67- <14%
11	66	CCI	II	RE+ RP+ HER2 – score1 Ki67+>90%
13	44	CCI	I	RE+ RP +

				HER2 – score 1 Ki67 + environ90%
14	38	CCI	III	RE+ RP+ HER2+ score3 Ki67+ >20%
15	64	CCI	III	RP- RE- HER2-score0 KI67+
16	37	CCI	II	RE- RP- Her2 –score1 Ki67+>90%
17	41	CLI	II	RP+ RE+ Her2- score1 Ki67 + >70%
18	45	CLI	II	RP- RE + HER2-score0 Ki67-
19	45	CCI	III	RP+ RE + Her2- score0 Ki67 +>20%
20	26	CCI	II	RE+ RP- HER2- Score0 KI67+>70%
21	41	CLI	II	RE+ RP+ HER2-score1 KI67+>70%
22	52	CCI	I	RP- RE+ HER2+ score3 KI67-
23	44	CCI	III	RP- RE- HER2+ score3 KI67+>50%
24	42	CCI	II	RP+ RE- HER2-SCORE1 KI67+
25	26	CCI	II	RE+ RP- HER2 – score 0

				Ki67+>70%
26	67	CCI	II	RP- RE- HER2+ score3 KI67 +>20%
27	48	CCI	I	RE + RP+ HER2 – score1 KI67-<20%
28	48	CLI	I	RP+ RE+ HER2 –Score1 KI67- <20%
29	45	CCI	III	RP+ RE+ HER2- score0 KI 67+ >20%
30	47	CCI	II	RE- RP+ Her2+ score3 Ki +>20%
31	55	CCI	II	RP+ RE+ Her2 – score1 Ki67 +>20
32	74	CCI	III	RE- RP- HER2-SCORE0 KI67+>40%
33	64	CCI	II	RE- RP- HER2- SCORE 1 KI67+ >50%
34	59	CCI	II	RP+ RE+ HER2- SCORE1 KI67+> 80%
35	70	CCI	II	RE+ RP+ HER2 – SCORE0 KI67-
36	45	CCI	II	RP+ 7 RE+ 5 HER2+ score3 KI67 + 30%

37	45	CCI	III	RP+ RE+ HER2- SCORE0 KI67+>20
38	63	CCI	II	RE+ RP+ HER2-score0 KI67-
39	44	CCI	I	RE + RP+ HER2 -SCORE0 KI67+>20%
40	69	CCI	II	RE + RP + HER2-SCORE0 KI67+>80%
41	32	CCI	III	RE- RP- HER2- KI67 + 65%
42	34	CCI	II	RE+ RP+ HER2 SCORE0 – KI67+70%
43	45	CCI	II	RE+ RP+ HER2+SCORE3 KI67+30%
44	48	CCI	II	RE- RP- HER2+ SCORE3 KI67+>50%
45	46	CCI	III	RE- RP- HER2-score0 KI67+>90%
46	69	CCI	II	RE+ RP- HER2- SCORE1 KI67+>20%
47	46	CCI	II	RE- RP- HER2- Ki67-

Annexe05 :

Questionnaire

L'âge de patiente :.....

L'âge de la femme au moment du diagnostic de la lésion initiale : ans.

L'âge des premières règles : ans.

La prise de contraception orale supérieure à six mois : -oui.... Non...

L'état civil : mariée..... célibataire.....

L'âge de la première grossesse : ans.

Le nombre de grossesses :

L'allaitement et nombre d'enfants allaités supérieur à trois mois :.....

L'âge de la ménopause :ans. (non ménopausée.....)

La prise d'un traitement hormonal substitutif supérieure à trois ans : -oui.... -non....

La bilatéralité : oui..... Non.....

Autres membres de la famille ont eu un cancer du sein et/ou de l'ovaire :

C'est qui ?
.....

Un parent proche (homme) a eu un cancer du sein : oui..... non.....

Si oui, c'est qui ?

Le nombre d'enfant : filles	Garçons
En vies	En vies
Décédés	Décédés

La cause de la mort :

Le nombre de sœurs :En vies..... Décédés

La cause de la mort :.....

Le nombre de frères :..... En vies..... Décédés

La mère : En vie..... Décédé La cause de la mort :.....

Le père : En vie..... Décédé La cause de la mort :.....

Les grands parents maternels : grand-mère :.... grand-père :....
En vie..... Décédé La cause de la mort :

Les grands parents paternels : grand-mère :.... grand-père :....
En vie..... Décédé La cause de la mort :

Les oncles maternels :.... En vies Décédés
La cause de la mort :

Les tentes maternelles:..... En vies Décédés
La cause de la mort :

Les oncles paternels :.... En vies Décédés
La cause de la mort :

Les tentes paternelles:..... En vies Décédés
La cause de la mort :

Autres remarques :

Annexe 4 : APPAREILLAGE



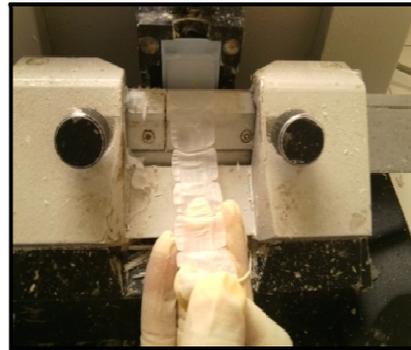
Appareil d'inclusion



Appareil de circulation



L'étuve



Microtome rotatif



Plaque chauffante



bain marie

Matériels et verreries :

- aiguilles montées, pinces, pinceau
- bacs et paniers
- cassettes en plastique
- crayon diamant
- crayon plomb
- lames silanisée
- Micropipettes réglable et cônes adéquats
- moule en métal
- papier absorbant
- porte lames
- stylo Dakopen