

REPUBLIQUE ALGERIENE DEMOCRATIQUE ET POPULATION
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRES

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Génétique Et Physiologie

Thème

Détermination de l'amplification de l'oncogène HER-2 dans le cancer du sein invasif par hybridation in situ argentique (SISH)

Réalise par :

KHEDIM ZOUBIDA

Date de soutenance : Septembre 2016

- | | | | |
|---------------------------------|----------------------------|-------|---------------|
| ✓ M ^{me} ZEROUKI F. | MAA | USDB1 | Présidente |
| ✓ M ^{me} BENAOUZ F. | MAA | USDB1 | Examinatrice |
| ✓ M ^{me} MEDJBER N. | MA Hospitalo-universitaire | CHUFF | Promotrice |
| ✓ M ^{me} GUESSAIBIA N. | MCB | USDB1 | Co-promotrice |

REMERCIEMENTS

« *Dieu Merci* » pour ma santé mes parents mes études et mes bonheurs grâce à mon Dieu j'ai contenu dans mon vrai route et je trouve que les bonheurs « *Dieu Merci* ».

Je tiens tout d'abord à remercier le Chef département **Saadi. L** et Chef d'option de Génétique le Grande Monsieur [**Mouhamed .S**merci de m'avoir conseillée et dirigée tout au long de ces années et d'avoir su me remotiver dans les moments difficiles].

Je remercie chaleureusement les membres du **jury** qui me font l'honneur de juger mon travail de thèse malgré leurs obligations professionnelles, la distance et leurs emplois du temps chargés. Merci

Je remercie mes chers parents **Khedim Aissa** et **Guettaï Houria** qui ont toujours été là pour moi, « *Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier* ». Pour le soutien inconditionnel dont ils ont fait preuve depuis que mon projet est défini. Merci pour le soutien financier, moral, psychologique et matériel. Si je suis ici aujourd'hui, c'est grâce à vous!

Je tiens à remercier ma Promotrice de mémoire Madame **Medjber .N** de m'avoir encadré. Et Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma Co-promotrice de mémoire Madame **Guessaïbia. N**.

Je remercie mes frères **Moustapha** et **Mouhamed** et **Fatah** et **Hamid** et mes belles-sœurs **Bourkahomet Fouzia** et **Ahlamet Hamida** et mes frères **Mouhamed** et **Samiretzhour** pour leur accompagnement durant ces scéniques années pour leur soutien inconditionnel et leur encouragement

Je remercie très spécialement **Ala Aldin Aissa** et **Ziyade Abde alaalim** et **Rahim** et **Mounsif Abde al elah** et **Yasmina** et **Sirin** et **Ritage** et **Wissam**, mes fleurs du m'avie.

Je remercie très spécialement mes professeurs {Le grande **Monsieur Errahmani Brahim** et **Monsieur Basaad Mouhamed Amine** et **Monsieur Benyahya** et **Monsieur Khedim Rahim**} qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie également mes belles-professeurs {**Madame Keskes. S** et **Madame Harket. S** et **Madame Benazouz .F** et **Madame Aissani** et **Madame Amoukran** et **Madame Rouaki** et **Madame Belmansour** et **Madame Chakhma** et... les autres} pour la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont prodigué au cours de ces scéniques années passées à l'université de Blida 1

Je tiens à remercier Chanteur [**Tarek** Tu as toujours été là pour moi quand il le fallait, les mots ne peuvent pas exprimer la force de ma gratitude envers toi] et **Mouhamed Algérien** et [**Dr Ahmed mon ami (May a best friend)**] de l'hôpital d'aine anaadja pour les aides et leur amitié et leur encouragement et pour tout.....).

Je remercie également toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce mémoire, très spécialement **Monsieur Mourad** l'inspecteur de la police de Sidi Afradje d'Alger et **Madame Benaïssa Hesna** Responsable dans hôpital de Moustapha Bacha et...).

Enfin, je remercie mes camarades (**Imane (jabonase)** et **Hanya** et **Salah Aldin** et **Manal** et **Idir** et **Amira (la charmante)** et **Kanza** et **Yasmin** et **Iman (minoucha)** et **Iman (la bleu)** **F/Z** et **Aïcha** et

tous les autres) de promotion pour ces Trois années passées ensemble, dans les meilleurs moments comme dans les pires, Je suis heureuse de vous compter dans ma vie, notre amitié m'est très importante et je vous remercie de tous les bons moments passés ensemble, qui illuminent ma vie et me donnent de l'espoir.

Pour finir je remercie tendrement *ma famille* à qui je tiens énormément et qui m'a encouragé pendant toutes ces années d'études, même s'il était parfois compliqué de tout comprendre. Mes sistas, neveux et nièce, et *mes parents*, merci pour tout cet amour. Je me bats pour le valoir chaque jour et c'est cela qui me tire vers le haut.

Merci à *mes parents* de m'avoir élevé comme ils l'ont fait, tout le bonheur que vous m'avez offert me donne cette force de persévérer et de croire en l'avenir. Merci de tout mon cœur !

« *Dieu Mercie* » « *Dieu Mercie* » « *Dieu Mercie* »

Résumé

Le cancer du sein constitue un problème majeur de sante publique, à la fois dans les pays industrialisés, et dans les pays en voie de développement ou son incidence ne cesse d'augmenter d'année en année, en Algérie ce cancer représente 50% des cancers gynécologiques.

La détermination de l'amplification de l'oncogène Her-2 est devenue disponible pour la prise en charge des patientes porteuses d'un cancer du sein invasif vu qu'elle donne une information d'ordre pronostique et thérapeutique. La technique d'hybridation in situ argentique est considérée comme la technique de référence pour la détection de l'amplification du gène Her-2 pour les cas équivoques en immunohistochimie (score 2).

Notre étude a pour but de déterminer l'amplification de l'oncogène HER-2 dans le cancer du sein invasif en score 2 par la technique d'hybridation in situ argentique (SISH).

Il s'agit d'une étude prospective portant sur 38 cas de cancer du sein invasif pour l'analyse immunohistochimique (L'âge ; Type histologique ; Le grade SBR) parme ces 38 cas on a relevé 10 cas pour Hybridation in situ (Détermination de l'amplification) diagnostiqués au service d'anatomie et de cytologie pathologiques de l'hôpital Frantz Fanon à Blida sur la période de janvier à Août 2016. Le profil épidémiologique des femmes de cet âge atteintes du cancer du sein invasif, ainsi que les caractéristiques biologiques du cancer ont été établies et analysées.

Les résultats obtenus indiquent que parmi 38 patientes, 42,10% sont âgées entre [45-55ans] sont les plus touchent par cancer du sein , le carcinome infiltrant « NOS » est le plus fréquent 84,21%, ainsi le grade SBR II soit 73,68%, et pour l'étude d'hybridation in situ (SISH) sur les 10 cas pour détermination de l'amplification de l'oncogène Her2 présente, 70% d'amplification de l'oncogène Her-2, et 30% non amplifié.

Mots clés : Le cancer du sein, l'amplification, la surexpression, l'hybridation in situ argentique (SISH), le carcinome infiltrant « NOS »

Summary

The cancer of the breast compose a widespread problem for the public health, and this in the industrial countries and those of the third world in addition this incidence is growing year after year, and in Algeria it forms a 50% percent from all the types of the women cancer .

The determination of the amplification of l'oncogene becomes existing for the personnes whose have the widespread visrial cancer of breast which help for consultation and the possibility of giving medicaments for the ill person or not, the Hybridation technique is considered as a technique of reference to determine the amplification of gène HER-2 for the equivalents cases of the immunochemistry (score 2).

Our study has a purpse is to uncover the extent of the amplification of l'oncogene HER-2 in the widespread cancer of breast in score 2 and this by the Hybridation technique (SISH),

The prospective study was done about 38 case of widespread breast cancer in the anatomy the cytology pathologic branch of Frantz Fanon of Blida hospital, and this was done in 8 months from January to August 2016 , The women epidemiologic profile whose have the breast cancer and the biological characteristics were studied and anlysed.

The final results indicate that about 38 case between [40-55ans] is the age the most subject to this disease about 42, 10%, the widespread in specific cancer is more repetition about 84, 21% percent more over, the proportation of the SBR II class was 73, 68% percent for the Hybridation study (SISH) and this about 10 cases which presented 70% percent amplification of ontogeny HER-2 and 30% percent non amplification.

Keywords: The cancer of the breast, amplification, the high expression, SISH, cancer NOS.

Liste des figures

| | |
|------------------|---|
| Figure 1 | Anatomie du sein.....2 |
| Figure 2 | Histologie de la glande mammaire.....3 |
| Figure 3 | Évolution de la glande mammaire.....4 |
| Figure 4 | localisation de gène HER-2 dans chromosome 17.....13 |
| Figure 5 | Structure schématique des récepteurs de la famille ErbB.....14 |
| Figure 6 | Les voies de signalisation cellulaire par la liaison du ligand à l'HER2.....16 |
| Figure 7 | Répartition des malades selon l'âge.....27 |
| Figure 8 | Répartition des tumeurs mammaires selon le type histologique.....28 |
| Figure 9 | Répartition des tumeurs mammaires selon le grade SBR.....29 |
| Figure 10 | Carcinome Infiltrant « nos » de score2 à l'étude IHC, grade II. Gr x 20.....29 |
| Figure 11 | Répartition des cas selon l'amplification du gène <i>HER-2</i>30 |
| Figure 12 | Dual ISH, Her-2 non amplifié : 3 copies du gène Her-2<4. Her-2/CEP17<1,8 donc cas négative.....31 |
| Figure 13 | Dual ISH, Her-2 amplifié plus de 12 copies avec présences de nombreux agrégats, |

| | |
|--|--------------|
| | GX 10.....31 |
|--|--------------|

Liste des Tableau

| | |
|---------------------|---|
| Tableau I | Classification moléculaire l’OMS (2012). (Annexe A) |
| Tableau II | Classification TNM du cancer du sein, 7e édition 2010(Annexe A). |
| Tableau III | Grade histopronostique d’Elston-Ellis(Annexe A). |
| Tableau IV | Score de positivé IHC20 |
| Tableau V | Répartition des cas selon l’âge.....27 |
| Tableau VI | Répartition des cas selon type histologique28 |
| Tableau VII | Répartition des cas selon le grade SBR28 |
| Tableau VIII | Répartition les cas selon le score d’amplification du gène Her-2.....30 |

Glossaire

Adénocarcinome: type de cancer qui se développe à partir d'une glande (sein, thyroïde, prostate, etc.) ou du revêtement d'une glande (ovaire). 95 % des cancers du sein sont des adénocarcinomes.

bénin/bénigne : sans gravité. Une tumeur bénigne n'est pas un cancer.

Cancer : ensemble de cellules anormales qui se multiplient de façon incontrôlée. Elles finissent souvent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne.

Grade: degré d'agressivité (de malignité) d'une tumeur. L'examen des cellules au microscope permet d'établir le grade. Connaître le grade permet d'adapter le traitement en relation avec les autres caractéristiques de la tumeur.

HER2 : est une protéine transmembranaire qui forme des homodimères ou hétérodimères avec les autres récepteurs de la famille des EGF (facteur de croissance épithélial – Epithelial Growth Factors)

Hybridation *in situ* : Hybridation d'une sonde d'ADN ou d'ARN spécifique marquée avec l'ARN ou l'ADN cellulaire, sur une coupe de tissu ou des cellules fixées

Hormonosensibilité : se dit d'une tumeur dont la croissance est stimulée par une hormone spécifique.

Invasif (cancer) : Se dit d'un cancer qui s'étend au-delà de la couche de tissu où il s'est développé et se propage aux tissus sains environnants

Le pléomorphisme nucléaire. : Les atypies nucléaires sont jugées sur la population cellulaire prédominante et non sur une zone plus atypique minoritaire.

La différenciation tubulo-glandulaire est appréciée sur la proportion de tubules, glandes présentes dans la tumeur :

Score 1 : bien différencié (> 75 % de la surface tumorale)

Score 2 : moyennement différencié (10 - 75 % de la surface tumorale)

Score 3 : peu différencié (moins de 10 % de la surface tumorale).

Ménopause : arrêt définitif du fonctionnement des ovaires entraînant la suppression des règles. La ménopause peut être naturelle ou liée à un traitement (ablation des ovaires, chimiothérapie, radiothérapie).

Métastase : tumeur formée par des cellules cancéreuses provenant d'une première tumeur. On parle également de maladie métastatique, ou de localisation secondaire du cancer.

Tumeur: amas de cellules. Il existe des tumeurs bénignes (sans gravité) et des tumeurs malignes (cancéreuses).

Abréviations

AC : Anticorps

Ag : Antigène

CCI : Carcinome canalaire infiltrant

CCIS : Carcinome canalaire in situ

CLI : Carcinome lobulaire infiltrant

CLIS: Carcinome lobulaire in situ

CEP17 : Chromosome 17 centromère

EGF: Epithelial grow factor

FGF: Fibroblast growth factor

HER: Humen Epithelial Grow Factor Receptor

IHC: Immunohistochimie

MAPKK: Mitogen activated phosphoryled kinase kinase

OMS : Organisation mondiale de la sante

PI3K: Phospho-inositol triphosphate kinase

RE: Recepteurs d'oestrogene

REGF: Receptor l'epidermal growth factor

RH: Recepteurs hormonaux

RP : recepteur a la progesterone

SBR: Scarff Bloom et Richardson

ASCO:American Society of Clinical Oncology

NOS: Non Spécifique

TNM : **T** - taille tumorale,

N - atteinte ganglionnaire,

M - existence éventuelle de métastases

UICC : Union Internationale Contre le Cancer

SISH : Hybridation in situ argentique

FICH :Fluorescent In Situ Hybridation

CICH : **Hybridation in situ**

Sommaire

Introduction

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1-Généralités et Rappels

| | |
|---|---|
| 1.1. Aspect anatomie du sein | 2 |
| 1.2. Aspect histologique du sein | 2 |
| 1.3. Aspect physiologique du sein | 3 |

2-Cancer du sein

| | |
|---|----|
| 2.1. Définition d'un cancer..... | 4 |
| 2.2. Définition du cancer du sein..... | 5 |
| 2.3. Facteurs de risque | 5 |
| 2.4. Diagnostic positif | 7 |
| 2.4.1. Clinique | |
| 2.4.2. Paraclinique | |
| 2.5. Classification des cancers du sein | 7 |
| 2.5.1. Classification Histologique | 7 |
| 2.5.2. Classification moléculaire | 8 |
| 2.6. Facteurs pronostiques..... | 9 |
| 2.6.1. Cliniques..... | 9 |
| 2.6.2. Histologiques | 10 |
| 2.6.3. Biologiques et moléculaires | 10 |
| 2.7. Approche Thérapeutique..... | 11 |

3. Gènes altérés dans le cancer du sein

| | |
|--|----|
| 3.2. Amplification et surexpression de proto-oncogènes | 12 |
| 3.2. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs..... | 12 |

4. L'oncogène Her-2 dans le cancer du sein

| | |
|--|----|
| 4.1. Définition de l'oncogène Her-2..... | 13 |
| 4.2. Description de l'oncogène Her-2..... | 13 |
| 4.4. Structure de récepteur Her-2 | 14 |
| 4.5. Fonctions biologiques du récepteur Her-2..... | 14 |
| 4.6. Mécanismes d'action du Her-2..... | 15 |

Chapitre II : Matériels et Méthodes

1. Matériels

| | |
|---|----|
| 1.1. Matériels biologique | 17 |
| 1.2. Matériels non biologique (Annexes B) | |
| 1.2.1 .Appareillage (Annexes B) | |
| 1.2.2. Réactifs et matériaux (Annexes B) | |

2. Méthodes

| | |
|---|----|
| 2.1. Etude Morphologique | 18 |
| 2.2. Etude Immunohistochimique..... | 20 |
| 2.2.1. Principe..... | 20 |
| 2.2.2. Score de positivité..... | 20 |
| 2.2.3. Procédure | 21 |
| 2.3. Hybridation in situ (SISH) | |
| 2.3.1. Principe..... | 23 |
| 2.3.2. Détermination de l'amplification HER-2 | 23 |
| 2.3.3 Mode opératoire..... | 24 |

Chapitre III : Résultats et Discussion

1. Résultats

| | |
|--|----|
| 1.1. Caractéristiques de la série | 27 |
| 1.2. Résultats de l'Immunohistochimie..... | 27 |
| 1.3. Résultats de SISH..... | 30 |

2. Discussion.....

| | |
|-----------------------------|----|
| Conclusion..... | 34 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Introduction

Le cancer du sein est une préoccupation majeure de santé publique car représente le cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde. C'est le premier en terme de mortalité féminine par cancer. Une étude basée sur plus de 300 registres du cancer dans 187 pays a montré que le nombre de cancers du sein serait passé de quelque 640.000 cas en 1980 à 1,6 millions en 2010, soit une augmentation de près de 250%**(Forouzanfar MH et al. 2015)**.

En Algérie, Le cancer du sein vient en tête des cas de cancer recensés avec 6625 nouveaux cas diagnostiqués en 2012. Son incidence connaît une progression exponentielle alarmante depuis environ 25 ans. A partir des années 1990, il est devenu plus fréquent que le cancer du col de l'utérus. Les données du registre d'Alger illustrent bien cette augmentation réelle et régulière. En effet, l'incidence est passée de 14,5 nouveaux cas p 10^5 habitants en 1993 à 70,2 p 10^5 en 2012**(Terki. N et col., 2015)**.

Une meilleure prise en charge du cancer du sein passe par une amélioration combinée de la prévention, du dépistage, des tests diagnostiques et par une compréhension des mécanismes de progression tumorale et de résistance aux traitements. La survie à la suite d'un cancer du sein dépend de nombreux facteurs dont le stade, la taille de la tumeur, la nature cellulaire et l'âge de la personne au moment du diagnostic.

Le cancer du sein est une maladie hétérogène, il présente des formes variées tant en ce qui concerne l'apparence morphologique, que l'expression des récepteurs hormonaux et leur pouvoir invasif et métastatique. Les altérations génétiques les plus fréquemment décrites dans le cancer du sein sont des amplifications d'oncogènes, et des mutations ou délétion de suppresseurs de tumeurs **(Thomposon et Easton, 2004)**.

Il existe plusieurs analyses disponibles pour déterminer soit le niveau d'expression de protéine HER2, le nombre de copies du gène ou le niveau d'ARN messager dans les cellules tumorales. Les techniques les plus susceptibles d'être utilisées en clinique sont IHC et HIS (FICH, SISH, CISH).

La technique du SISH est récente en Alger, et le nombre d'études disponibles est encore très limité, Elle est utilisée la précipitation d'ions argent pour le repérage des sondes d'ADN hybridées, deux sondes séparées sont utilisées : une pour le gène HER2 et l'autre pour le centromère du chromosome 17, Dans notre étude ont déterminé par la SISH l'amplification d'un oncogène Her2 dans le cancer infiltrant «NOS» pour les cas équivoques en IHC (score2)

L'amplification du gène Her-2, connu également sous les noms Her-2/neu ou c-erb2, est localisé sur le chromosome 17 (17q22), il appartient à la famille des gènes de récepteurs de facteurs de croissance HER, et il code pour une protéine transmembranaire de 185KDa, récepteur de facteurs de croissance avec activité tyrosine kinase, qui entraîne la signalisation pour la prolifération et la survie cellulaire. Ceci conduit à la surexpression du récepteur HER-2 étant donné la présence anormalement élevée de la protéine HER-2 à la surface des cellules tumorales **(Pierga J Y et Diéras V, 2011)**.

Le but de ce travail prospectif est déterminé par hybridation in situ argentique (SISH), l'amplification du l'oncogène Her-2 dans le cancer du sein diagnostiqués au sein du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques de l'hôpital Frantz Fanon et dont l'étude immunohistochimique a montré une surexpression équivoque de la protéine Her-2 ou score 2.

Chapitre I: Etude Bibliographique

1-Généralités sur le sein :

1.1. Aspect anatomique du sein :

Le sein est un organe visible qui occupe la partie antéro-supérieure du thorax, de part et d'autre du sternum, en avant des muscles pectoraux, on observe de l'espace compris entre la troisième et la septième côte, le mamelon se situant au niveau de la neuvième vertèbre dorsale, en position debout. Sous l'influence de son propre poids, le sein tombe légèrement, ce qui crée le sillon inframammaire entre la moitié inférieure du sein et le thorax. Le sein a une forme discoïde, hémisphérique ou conique, cette forme varie selon l'âge et l'activité génitale. Sa taille est d'environ 12 cm en hauteur et largeur et les deux mamelons sont distants d'environ 20 cm. Son poids varie selon la morphologie de la femme, la grossesse et lactation(Espié M et Gorins A, 2007).

Le sein est composé d'une glande mammaire, de fibres de soutien (ligaments de Cooper), et de graisse (tissu adipeux); le tout est recouvert par la peau. On trouve également des nerfs, ainsi que des vaisseaux sanguins et lymphatiques. (Figure : 1)

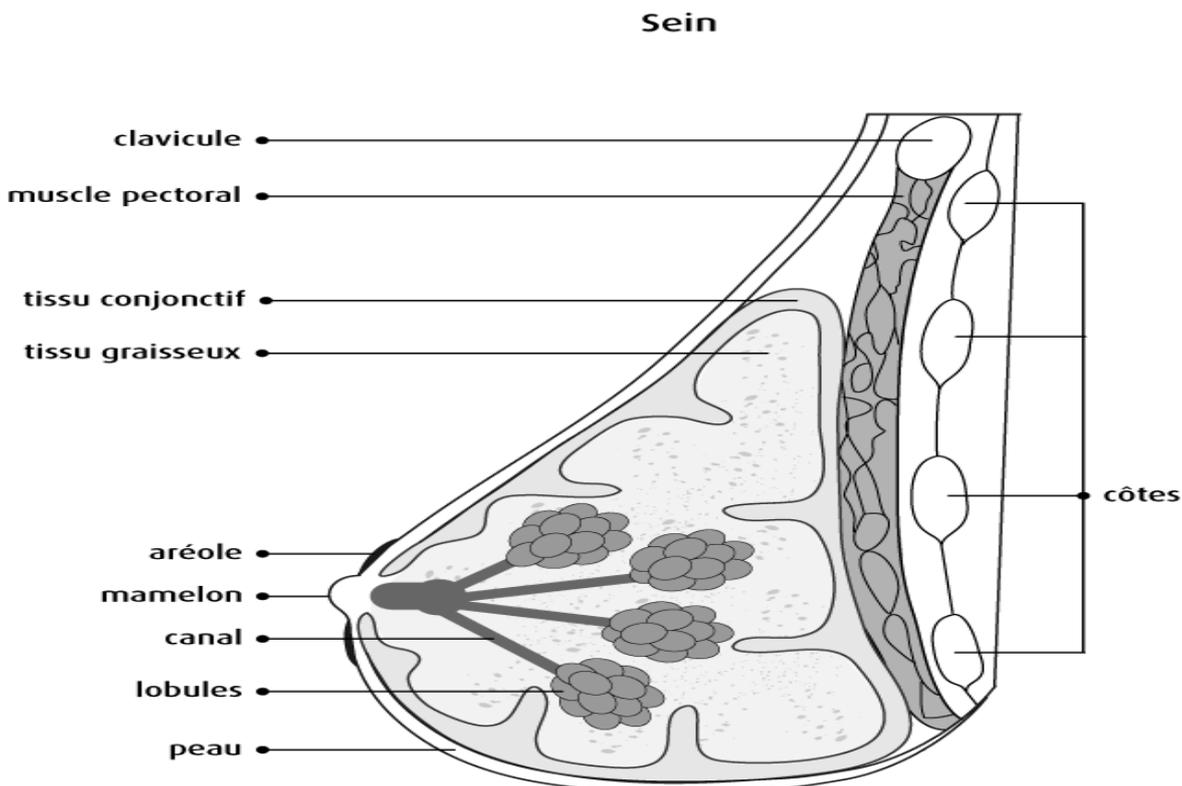


Figure 1 : Anatomie du sein(Wei et Yingyan Y, 2011)

Le mamelon est implanté au centre de l'aréole et présente à son extrémité les orifices des 15 à 20 canaux galactophores terminaux, distinctement séparés les uns des autres. Le volume mammaire n'est pas constitué uniquement de tissu glandulaire mais aussi de tissu adipeux et conjonctif. La quantité de tissu adipeux est en grande partie responsable du volume des seins. Comme on peut

observer des chaînes de ganglions lymphatiques qui filtrent les microbes et protègent le corps contre l'infection et la maladie (Espié M et Gorins A, 2007).

Le cancer du sein peut se développer tant au niveau d'un canal galactophore que d'un lobule et il peut envahir les ganglions lymphatiques.

1.2. Aspect histologique du sein:

Dans chaque sein, la glande mammaire est une masse de densité variable, discoïde aplatie d'avant en arrière, de contour irrégulier. Elle est organisée en une vingtaine de lobes. Chaque lobe est composé de 20 à 40 lobules, et chaque lobule contient 10 à 100 alvéoles l'unité de base est l'acinus ou alvéole. Les acini et les canaux intra lobulaires forment un lobule, et plusieurs lobules se réunissent pour former un lobe glandulaire.

La glande mammaire se développe dans le tissu adipeux spécialisé. L'épithélium mammaire se compose principalement de cellules luminales qui produisent le lait, et bordent la lumière des canaux et des lobules, et de cellules basales myoépithéliales qui entourent les cellules luminales et sont en contact avec la lame basale et le stroma environnant. Ces deux couches cellulaires sont délimitées par une membrane basale, elle-même cernée en périphérie par quelques fibroblastes. Les cellules luminales ont un contact limité avec le milieu environnant tandis que les cellules basales sont en permanence exposées aux signaux issus de l'extérieur. (Figure 2) Ainsi, le compartiment basal de l'épithélium mammaire semble être le siège des cellules souches et progénitrices, dont le rôle est de plus en plus souvent évoqué dans le développement des cancers (Taddei L et coll, 2008).

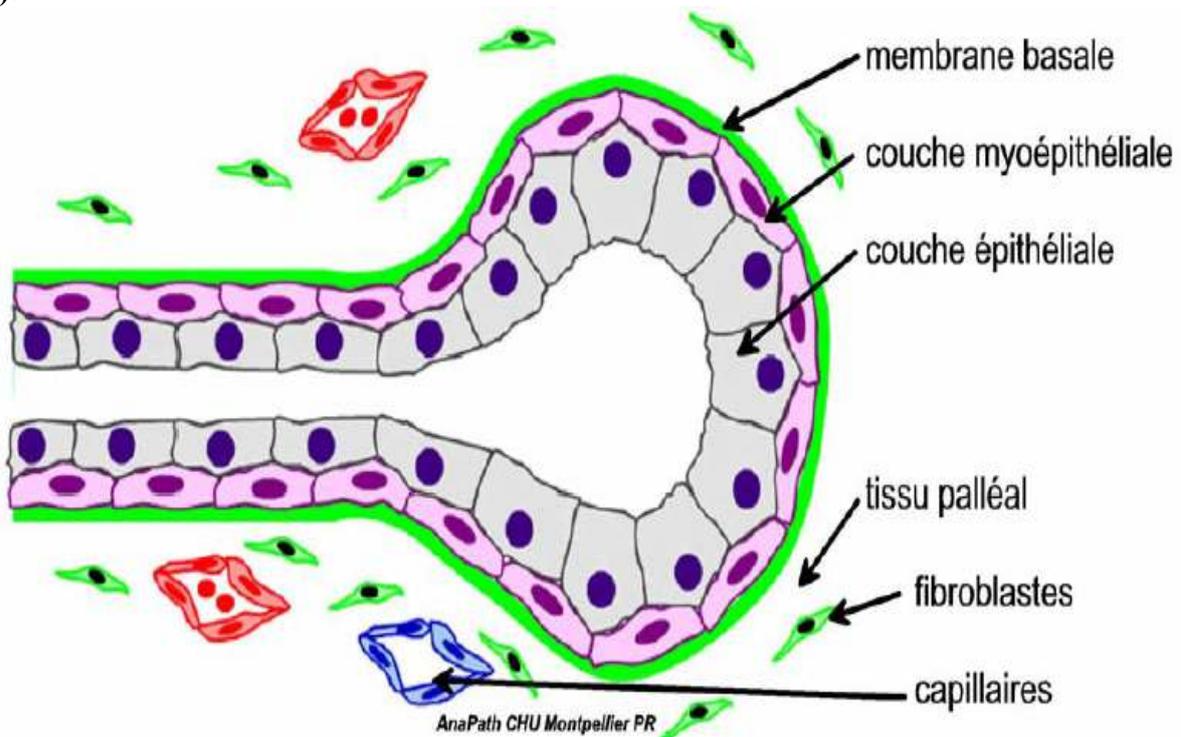


Figure 2 : Histologie de la glande mammaire (Wei et Yingyan Y, 2011).

1.3. Aspect physiologique du sein :

Le développement de cette glande mammaire dépend de trois facteurs interdépendants : l'âge, la composition du tissu mammaire et l'environnement hormonal. L'organogenèse du sein est un phénomène tardif puisque l'essentiel de la croissance mammaire se fait après la puberté et qu'elle ne se termine qu'au cours de la première grossesse menée à terme. Les principales étapes du développement de la glande mammaire comprennent la croissance et la ramification des canaux épithéliaux durant la puberté et la formation du tissu sécrétoire au cours de la gestation.

En période prépubertaire se produit une légère augmentation de la ramification des canaux galactophores et de la lobulation à partir du tissu conjonctif. La puberté génère des modifications morphologiques significatives :

- L'augmentation du volume mammaire par augmentation du tissu mammaire et du tissu graisseux périphérique,
- La saillie du mamelon, l'élargissement et la pigmentation rosée de l'aréole.

Les sécrétions hormonales liées aux premiers cycles ovulatoires stimulent la croissance et la multiplication des canaux sous l'action des oestrogènes sécrétés par les cellules de la thèque interne du follicule ovarien puis en partie par le corps jaune. Le tissu glandulaire, les lobules et les alvéoles se développent sous l'action de la progestérone, qui est sécrétée par le corps jaune ovarien.

En période de gestation et de lactation, l'état gravide entraîne une modification du sein. Il augmente de volume. Le mamelon devient saillant, l'aréole se pigmente et prend un aspect grenu. Cet aspect grenu résulte de la saillie des tubercules de Morgagni, dénommés tubercules de Montgomery au cours de la grossesse et de la lactation.

A la ménopause, la glande mammaire s'atrophie mais le volume du sein ne diminue pas toujours, compensé par l'augmentation des tissus graisseux (Richard L et al.).

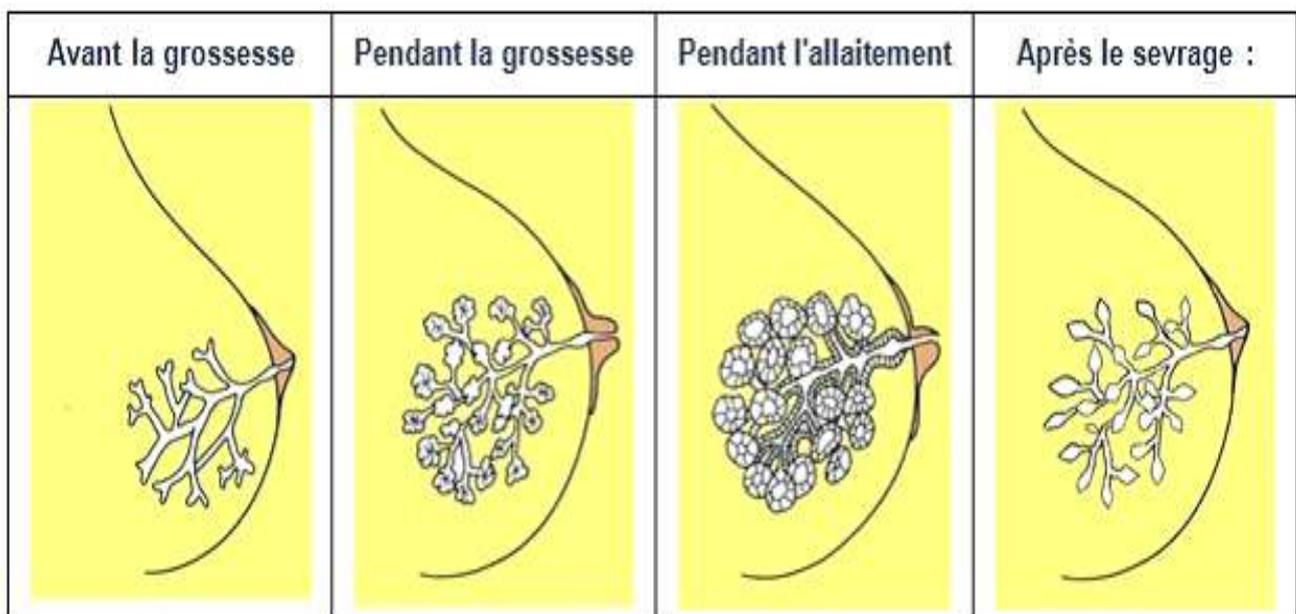


Figure 3 : Évolution de la glande mammaire (Richard L, 2013).

2-Le cancer du sein

2.1. Définition de cancer :

Les cancers sont des pathologies génétiques, c'est-à-dire qu'ils ont pour origine une modification quantitative et ou qualitative des gènes (les proto-oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs, les gènes de réparation). Comme il s'agit d'altérations génétiques somatiques qui ne sont présentes que

dans le tissu malade, la plupart des cancers ne sont donc pas héréditaires. Les cancers familiaux (10 % des cancers humains) sont associés à une altération constitutionnelle (ou germinale) d'un gène. Cette altération est donc présente dans toutes les cellules de notre organisme, gamètes incluses, elle peut donc être transmise à la descendance (**Goudfelet Badis 2013**).

2.2. Définition du cancer du sein :

Le cancer du sein est une prolifération de cellules anormales au niveau de la glande mammaire, prolifération qui aboutira à la formation d'une masse ou tumeur maligne. Suivant que les cellules cancéreuses se développent dans les canaux ou dans les lobules. Lorsque les cancers restent limités à l'intérieur des canaux ou des lobules, on parle de cancers in situ. Lorsque les cellules cancéreuses infiltrent les tissus autour des canaux ou des lobules, on parle de cancers infiltrant (**Goudfelet Badis 2013**).

2.3. Facteurs de risque :

Le cancer du sein apparaît comme une maladie multifactorielle. Une identification des facteurs de risques sur lesquels il est possible d'agir, telle que la surcharge pondérale, et une meilleure connaissance des mécanismes de tumorigénèse en cause, pourraient faciliter la mise en œuvre de stratégies de prévention. Quelques facteurs augmentent le risque de cancer du sein. Les plus importants ne sont pas modifiables.

Sexe : Le premier facteur de risque, puisque plus de 99% de cancer du sein sont diagnostiqués chez les femmes contre 1% chez les hommes (**Yoney A et al. 2009**).

Age : L'âge est le facteur de risque le plus important vis-à-vis du cancer du sein. La maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans. Le risque augmente entre 50 et 75 ans (près des deux tiers des cancers du sein). Plus une femme est âgée, plus le risque de cancer du sein est élevé (**Kelsey JL et Bernstein L, 1999**).

Antécédents familiaux : Les femmes dont les sœurs, les mères ou les filles ont un cancer du sein présentent un risque plus important. Il l'est tout particulièrement si les membres de la famille sont malades avant 50 ans (**Krebsliga A, 2010**).

Prédispositions héréditaires : On trouve chez les femmes touchées certaines modifications génétiques qui augmentent considérablement le risque de cancer du sein. La moitié environ des cancers du sein liés à l'hérédité sont dus à une mutation des gènes BRCA1 et/ou BRCA2. Environ 5 à 10 % de tous les cancers du sein sont déclenchés par une prédisposition héréditaire. Les femmes concernées sont souvent malades avant 50 ans (**Nkondjock .A et Ghadirian. P, 2005**).

Métabolisme hormonal : Le métabolisme hormonal influence également le risque de voir apparaître un cancer du sein. Ce risque est proportionnel à la durée d'action de l'œstrogène l'hormone sexuelle féminine dans le corps. Les femmes qui ont eu leurs premières règles avant l'âge de 12 ans ou leur dernière menstruation après l'âge de 55 ans présentent donc un risque accru. C'est également le cas des femmes qui ont mis au monde leur premier enfant après l'âge de 30 ans ou qui n'ont pas d'enfant. (**Nkondjock .A et Ghadirian. P, 2005**).

Maladies bénignes du sein : Les maladies bénignes du sein constituent un facteur de risque de cancer du sein. Elles sont histologiquement divisées en deux groupes : les lésions prolifératives et les lésions non prolifératives avec ou sans atypie. Les lésions non prolifératives ne sont généralement pas associées à un risque accru de cancer du sein ou, si elles le sont, le risque est très

faible. Les lésions prolifératives sans atypie multiplient le risque par deux, tandis que les lésions hyperplasiques avec atypie augmentent ce risque d'au moins quatre fois(**Key TJ et al,2001**).

Traitement hormonal substitutif (THS) : Le THS de la ménopause est prescrit pour pallier la diminution du niveau des hormones ovariennes circulantes. Les femmes sous THS présentent un risque augmenté de cancer du sein, si on les compare aux femmes qui ne l'ont jamais utilisé, et le risque augmente avec la durée d'utilisation. Pour les femmes ayant suivi un THS pendant cinq ans ou plus, le risque est augmenté de 26% à 35 %. Le THS influence le risque de cancer du sein est qu'il retarde les effets de la ménopause(**JAMA, 2002**).

Le mode de vie joue également un rôle. Les facteurs suivants peuvent légèrement augmenter le risque:

Grossesses : Une première grossesse tardive survenant après 35 ans est un facteur de risque important pour le cancer du sein. L'absence de grossesse représente un facteur de risque (**Pierrick Horde, 2014**).

Radiations ionisantes : L'exposition du tissu mammaire aux radiations ionisantes, avant l'âge de 40 ans, est susceptible de provoquer un cancer du sein. Il a également été montré que l'effet des radiations ionisantes, chez les femmes exposées avant l'âge de 40 ans, est associé à un risque de cancer du sein multiplié par trois, pour une exposition évaluée à 1 Gy (**Boice JD, 1996**). Les radiations ionisantes augmentent le risque de cancer du sein dans la mesure où elles endommagent l'ADN et ses constituants.

La prise de la pilule contraceptive : Si une femme prend la pilule, son risque de développer un cancer du sein est un peu plus élevé pendant ce traitement. Dès qu'elle cesse la contraception hormonale, le risque recule à nouveau (**Nkondjock .A et Ghadirian. P, 2005**).

L'obésité : L'obésité augmente d'environ 50 % le risque de cancer du sein .Les femmes en surpoids après la ménopause présentent un risque accru de voir apparaître un cancer du sein : comme l'oestrogène est aussi produit dans les tissus adipeux, les femmes en surpoids sont davantage sous l'influence de cette hormone. Une alimentation équilibrée avec beaucoup de fruits et de légumes peut aider à éviter le surpoids(**Key TJ et al ,2001**).

L'absence d'activité physique régulière : L'activité physique modérée (30 à 60 minutes au moins 4 fois par semaine) diminue le risque de cancer du sein d'environ 35 %, en particulier chez les femmes ménopausées. Un bénéfice maximal est tiré d'une activité physique intense et soutenue tout au long de la vie. Les mécanismes biologiques par lesquels l'activité physique serait associée à une diminution de risque impliquent la réduction de la production d'oestrogènes et le maintien de l'équilibre énergétique(**Friedenreich CMet al, 2001**).

L'alcool : L'alcool est le seul facteur nutritionnel établi de risque de cancer du sein. Ce risque augmente d'environ 7 % pour une consommation moyenne d'une boisson alcoolique par jour. Les femmes ayant un cancer du sein, et consommant au moins une boisson alcoolique par jour, ont une durée de survie diminuée de 15 % à 40 %, comparativement à celles qui ne boivent pas d'alcool. L'alcool provoque une augmentation du niveau des hormones dans le sérum et une production accrue de facteurs de croissance IGF (*insulin-like growth factor*). Les IGF agissent comme des mitogènes inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes .Une production accrue d'IGF augmente le risque de cancer du sein, surtout avant la ménopause(**Feigelson HS et al, 2001**).

Cigarette : La fumée du tabac est une importante source de substances carcinogènes. Le tabagisme passif semble associé à un risque augmenté d'environ 60 % ; ce risque est multiplié par trois chez

les femmes après la ménopause. L'effet protecteur de la cigarette dans le cancer du sein serait dû à une diminution des œstrogènes circulants et à l'action anti-ostrogénique du tabac (**Johnson KC et Hu J, 2000**).

2.4. Diagnostic positif

2.4.1. Clinique :

Les symptômes suivants sont le signe d'un cancer du sein:

- Nodosité dure ou solide dans le sein ou le creux axillaire.
- Modifications de la peau, notamment rougeurs ou aspect en peau d'orange.
- Écoulement du mamelon.
- Rétraction ou aspect bombé (épaississement) de la peau ou du mamelon.

2.4.2. Paraclinique :

Pour diagnostiquer un cancer du sein, on recourt en premier lieu à deux procédés la mammographie (scanner du sein) et la biopsie (prélèvement d'un échantillon de tissu).

- **La mammographie :** Est l'examen radiologique de base qui permet d'analyser la structure mammaire, les deux seins sont passés au scanner et les images donnent des informations sur la nature, l'emplacement et la taille d'un nodule. Elle est indiquée devant toute anomalie clinique.
- **La biopsie :** le médecin prélève à l'aide d'une aiguille ou d'un trocart à biopsie (instrument médical en forme de poinçon) des échantillons de tissu du nodule suspect, que l'on analyse ensuite au microscope.
- **L'échographie :** Est complémentaire, mais ne peut jamais remplacer la mammographie. Elle peut aider à localiser l'anomalie pour faciliter un prélèvement, ou à reconnaître un kyste liquidien (**Baillet.2015**).

2.5. Classification des cancers du sein

2.5.1. Classification Histologique :

La classification actuelle utilisée est celle de l'OMS 2012. Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la grande majorité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non épithéliales (sarcomes, lymphomes malins non hodgkiniens primitifs) sont rares (moins de 1% des cancers du sein) (**Dabakuyo TS et al. ,2008**).

Carcinomes infiltrats: Il s'agit de la forme la plus fréquente des cancers du sein représentant environ 80 % des carcinomes mammaires infiltrant. Il s'agit le plus souvent d'une tumeur palpable, plus rarement d'une image mammographique isolée. Le dépistage a permis d'augmenter l'incidence globale et la fréquence des cancers infra cliniques, et de diminuer ainsi la taille moyenne de ces tumeurs.

Macroscopiquement, l'aspect est très variable selon la taille de la tumeur. Il s'agit le plus souvent d'une tumeur à contours étoilés, irréguliers. Les contours sont mal définis, avec une consistance ferme à dure et une couleur blanc-grisâtre à la coupe.

Histologiquement, les aspects sont très variés en fonction du degré de différenciation, la capacité des cellules tumorales à former des tubes, glandes, travées, ou massifs.

Carcinome lobulaire infiltrant : C'est un carcinome invasif représentant 5 à 15 % des cancers. Macroscopiquement, il s'agit en général d'une lésion irrégulière et mal définie. Microscopiquement, les cellules sont non cohésives, de petite taille, à noyau rond à chromatine fine, et à cytoplasme abondant. Ces cellules sont isolées ou organisées en fils indienne, dans un stroma fibreux. Les mitoses sont le plus souvent rares.

Sur le plan génétique, il se caractérise par une perte de l'expression membranaire de l'E-cadherine qui est une protéine intervenant dans l'adhésion intercellulaire.

Carcinome tubuleux et cribriforme : C'est un type spécial de carcinomes mammaires, qui se caractérise par un pronostic favorable. Il est composé de structures tubulaires ou cribriformes, tapissées par une seule couche de cellules épithéliales. C'est une entité rare qui représente moins de 2 % des cancers du sein.

Carcinome à différenciation médullaire : Le carcinome médullaire représente de 1 à 7 % des cancers du sein. C'est un carcinome bien circonscrit composé de cellules peu différenciées disposées en nappes, sans aucune structure glandulaire, un stroma peu abondant et un important infiltrat lymphoplasmocytaire.

Microscopiquement, 5 critères sont essentiels pour le diagnostic:

- une architecture syncytiale dans plus de 75% des cas.
- des contours microscopiquement nets, non infiltrants.
- un infiltrat mononucléé diffus, de modère à marqué.
- des atypies nucléaires modères ou marquées.
- l'absence de différenciation glandulaire.

Carcinome mucineux : Le carcinome colloïde du sein appelé aussi mucineux ou gélatineux est un carcinome contenant de larges quantités de mucus extracellulaire dans lesquelles sont disposées des amas de cellules carcinomateuses. C'est une entité histologique rare, constituant 2 % de tous les cancers du sein.

Carcinome adénoïde kystique ou cylindre : C'est un carcinome très rare dont l'aspect histologique est comparable aux tumeurs de même type des glandes salivaires. Il se distingue par l'association d'un contingent de cellules basaloïdes et un contingent de cellules épithéliales. L'agencement épithélial se fait sur un mode cribriforme, tubulaire, trabéculaire ou massifs.

Carcinome inflammatoire : C'est une forme particulière de carcinome mammaire avec une présentation clinique secondaire à une obstruction lymphatique à partir d'un carcinome infiltrant sous-jacent. La majorité des cas présente une infiltration lymphatique dermique proéminente par la tumeur. Le carcinome inflammatoire est une forme des carcinomes mammaires avancés. L'invasion lymphatique dermique sans l'image clinique caractéristique est insuffisante pour poser le diagnostic.

Les autres formes de carcinomes (papillaire, neuroendocrine, adénoïde kystique, apocrine...) sont plus rares (**Lamchahab M., 2014**)

2.4.2. Classification moléculaire :

Les analyses moléculaires des profils d'expression transcriptomique des carcinomes infiltrants du sein ont, depuis quelques années, modifié leur classification et tentent d'améliorer la compréhension de la carcinogénèse mammaire. Les données des profils d'expression ont permis d'individualiser cinq principaux sous-types moléculaires parmi les carcinomes infiltrants.

- ✓ **Profil Luminal A** : Caractérisé par une très forte expression de tous les gènes associés aux récepteurs aux œstrogènes (RO) et par une stabilité du génome.
- ✓ **Profil luminal B** : Expression plus faible des gènes associés aux récepteurs aux œstrogènes (RO), le génome tumoral est plus instable, on peut retrouver quelques amplifications (dont HER2) et délétions et mutations (comme P53).
- ✓ **Profil HER2** : dont les tumeurs surexpriment l'oncogène HER2 et les gènes liés plus ou moins aux récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone.
- ✓ **Profil basal-like (BL)** : Les tumeurs BL, issues des cellules basales/myoépithéliales, ils n'expriment ni récepteurs aux œstrogènes (RO), ni HER2, ils présentent quasiment toujours des altérations de P53, une grande instabilité génétique, une forte prolifération et l'expression variable de EGFR, du récepteur aux androgènes supposant des sous groupes biologiques.
- ✓ **Profil normal-like**: il correspond au profil d'expression de gènes non épithéliaux. Il s'agit en fait d'un artefact lié à l'étude génétique de tumeurs pauci cellulaires dont les gènes tumoraux ont été dilués par les gènes du stroma. Il n'a aucune signification clinique **Tableau 1 (Zilberman et al, 2013)**.

Plus récemment, l'utilisation de techniques génomiques à haut débit comme les puces à ADN a permis d'y ajouter une caractérisation moléculaire

Les récentes avancées dans la connaissance de la génétique moléculaire, associées aux nouvelles techniques à haut débit, offrent l'opportunité d'identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques, pronostiques, ainsi que de nouvelles cibles thérapeutiques.

Le test diagnostique Oncotype DX, développé par la compagnie américaine Genomic Health Inc., consiste en une réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse (RT-PCR) de 21 gènes ciblés. Son résultat, présenté sous forme d'un score de récurrence (*recurrence score*; RS) situé entre 0 et 100, permet de déterminer le risque de récurrence des patients présentant un cancer du sein, et de prédire quel bénéfice ces patients pourraient retirer d'un traitement adjuvant de chimiothérapie. Il ne permet toutefois pas d'orienter la décision concernant le traitement adjuvant d'hormonothérapie (Dowsett. M et al. ,2010).

2.5. Facteurs pronostiques :

Les différents consensus internationaux, dont le plus récent est le consensus de St Gallen 2009, ont identifié plusieurs facteurs pronostiques dans le cancer du sein : l'âge, la taille tumorale, l'atteinte ganglionnaire, l'infiltration lymphovasculaire, le degré de différenciation selon Scarff Bloom et Richardson (grades I à III), la présence des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone, et la surexpression de HER2 TNM, Le statut HER-2 etc. Ils permettent une approche individualisée dans le traitement du cancer du sein en sélectionnant le traitement le plus efficace correspondant à un type particulier de cancer mammaire (Goldhirsch A et Wood WC, 2007)

2.5.1. Cliniques

TNM : Le système TNM distingue le stade clinique pré-thérapeutique noté "cTNM" et le stade anatomopathologique postchirurgical noté "pTNM". Cette classification est un système international, établie par le comité de nomenclature et de statistiques de l'UICC (Union Internationale Contre Le Cancer) en 1997, révisée en 2003. elle permet d'évaluer l'extension de la

tumeur (T), le degré d'atteinte des ganglions lymphatiques (N *nodes*) ainsi que la présence d'éventuelles métastases (M)(**Boudiaf A, 2016**).

L'âge : L'âge est un facteur pronostique. Des études ont montré qu'un âge inférieur à 35 ans était corrélé à un plus mauvais pronostic(**Spielmann.M et al. 2009**).

La grossesse : L'âge à la première grossesse est également un facteur important pour le cancer du sein. Plus le nombre d'enfants augmente, plus le risque de cancer du sein diminue, de l'ordre de 8 % par enfant (**Fagherazzi G, 2011**).

Le cas particulier des formes inflammatoires : Le caractère inflammatoire est un facteur pronostique très péjoratif. Ces formes cliniques sont souvent observées chez des femmes plutôt jeunes, mais le caractère inflammatoire prime de loin sur l'âge(**Spielmann.M et al, 2009**).

2.5.2. Facteurs histologiques

La taille tumorale : est un facteur pronostique important et indépendant dans des études multivariées. Mesurée à l'examen macroscopique et/ou microscopique, elle est mesurée dans au moins deux dimensions. La taille de la tumeur est établie sur la plus grande dimension (**Canter CL et al, 1989**).

L'envahissement ganglionnaire : L'envahissement ganglionnaire axillaire reste le critère le plus important. Il existe un parallélisme entre le nombre de ganglions envahis et le risque de rechute, mais aussi entre la survie et le nombre de ganglions métastatiques : au-delà de 10 ganglions envahis, la survie à 5 ans est globalement très faible, inférieure à 25 %. ainsi que le nombre de ganglions atteints initialement est corrélé avec un moins bon pronostic en phase métastatique (**Nemoto T et al, 1980**).

Grade histologique : Quel que soit le système de grading utilisé, le grade histologique constitue un facteur pronostique important et indépendant pour le risque métastatique et la survie dans les deux groupes N+ et N-.

Le "grading" de Scarff Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis (grade de Nottingham) est actuellement le plus utilisé en Europe. Il prend en compte trois critères histologiques cotés de 1 à 3 : la différenciation tubuloglandulaire de la tumeur, le pléomorphisme nucléaire et le compte des mitoses (**Penault-Llorca F et al. ,2002**).

Les embolies vasculaires péri tumorales : La présence d'embolies vasculaires péri tumorales est un facteur pronostique important aussi bien dans le groupe des patientes N- ou c'est un facteur indépendant pour prédire les rechutes métastatiques et la survie globale, que dans le groupe des patientes N+ ou c'est un facteur indépendant pour la prédiction des récurrences locales. Les embolies vasculaires sont définies par la présence de structures carcinomateuses dans les lumières de vaisseaux lymphatiques ou sanguins péri tumorales (**Lamchahab M., 2014**)

Le type histologique : Certains types histologiques de carcinomes infiltrants du sein ont fait la preuve de leur bon pronostic, tels les carcinomes tubuleux, mucineux, adénoïde kystique, papillaire, et cribriforme(**Lamchahab M., 2014**).

2.5.3. Facteurs biologiques et moléculaires :

Les récepteurs hormonaux : Les récepteurs hormonaux sont un facteur pronostique d'autant plus important que les patientes ont, par ailleurs, d'autres critères de bon pronostic. Le statut hormonal de la tumeur du sein a été utilisé pour prédire la réponse de la patiente à l'hormonothérapie. Le

statut du récepteur à l'oestrogènes (RE) seul a été utilisé. Là encore, c'est un facteur de choix thérapeutique important. L'état des récepteurs hormonaux est donc à la fois un facteur pronostique et un élément prédictif de la réponse au traitement (**Barginear M.F et al. 2008**)

Le statut HER-2 : dans le cancer du sein, le statut de l'oncogène HER-2 est un marqueur biologique à la fois pronostique et prédictif. L'amplification de l'oncogène Her-2 survient dans près de 15 à 30 % des cancers mammaires, et provoque la surexpression du récepteur HER-2. L'amplification et la surexpression du gène Her-2 définissent un statut HER-2 positif, la positivité est, en effet, associée à un mauvais pronostic en termes de survie sans récurrence et de survie globale, et permet de plus de prédire le répons aux traitements ciblés sur la protéine HER-2 (**Ferrtti et al, 2010**).

Présence de certains marqueurs :

Ki 67 : Marqueur de prolifération, l'évaluation de la cinétique de prolifération peut être abordée grâce au Ki 67 : ce marqueur est très reproductible, facile à doser en immunohistochimie et peu coûteux. Cet antigène nucléaire se retrouve dans les phases actives du cycle cellulaire. Dans le cancer du sein, l'expression du marqueur Ki-67 s'associe à un plus haut risque de récurrences tumorales et à une diminution sensible de la survie(**Spielmann M et al. 2009**).

Anti-oncogène p53 :Le gène *P53* est impliqué dans la réponse au stress génotoxique, dans le contrôle du cycle cellulaire, dans la réparation de l'ADN, ainsi que dans l'apoptose. est muté dans près de 50% des cancers humains avec une fréquence variable d'un type de cancer à l'autre. La grande majorité des mutations (75%) sont des substitutions d'une base unique (mutations ponctuelles), entraînant le remplacement d'un acide aminé par un autre (mutations faux-sens). Le gène *P53* est muté dans 30% des cas de cancer du sein sporadiques, ainsi que chez les patients atteints du syndrome de Li Fraumeni qui portent des mutations germinales de *P53*(**Norman M, 2003**).

2.8. Approche Thérapeutique :

Le traitement de la carcinogénèse mammaire a évolué à la cour de ces dernières années. Par prise en charge thérapeutique d'un certain nombre de spécialités médicales. Différents facteurs déterminent le traitement à mettre en place, notamment le type de tumeur, le stade de la maladie ainsi que l'âge de la femme concernée. Il se peut que le traitement diffère selon que la patiente soit déjà ménopausée ou pas encore. Pour le cancer du sein localisé : Le traitement repose sur les quatre armes thérapeutiques que sont la chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie et l'hormonothérapie.

La Chirurgie : La chirurgie, tout comme la radiothérapie, est fondamentalement un traitement local qui va retirer la tumeur. Son efficacité est maximale lorsque le cancer est localisé et/ou que la métastase est unique. En cas de métastases, la chirurgie peut être nécessaire, parfois pour éviter et traiter les complications graves de la maladie.(**Nicole Zernike, 2011**).

La radiothérapie : Est un traitement local qui agit directement sur les métastases et qui s'intègre aux autres traitements chirurgicaux et médicaux pour lutter contre la tumeur, soulager la douleur et améliorer la qualité de vie des patientes. (**Nicole Zernike, 2011**).

La chimiothérapie : Son but est de détruire les cellules tumorales. On peut utiliser des mono-chimiothérapies (un seul médicament) ou des poly-chimiothérapies (plusieurs médicaments). Les choix sont donc proposés en fonction de l'état de la patiente, du profil évolutif de la tumeur et des chances attendues de réponse au traitement proposé. (**Nicole Zernike, 2011**).

L'hormonothérapie : C'est le traitement de choix chez les femmes âgées et chez les patientes dont la tumeur est d'évolution lente. Il s'agit en fait d'un traitement antihormonal actif chez les patientes atteintes de cancer exprimant des récepteurs aux œstrogènes. (Nicole Zernike, 2011).

Les thérapies ciblées spécifiques : Utilisées actuellement dans le traitement du cancer du sein métastatique. On distingue essentiellement deux grandes familles : les thérapies ciblées antiHER2 et les thérapies ciblées antihormonales.

-Les thérapies ciblées anti-HER2 : visent le récepteur HER2 présent en quantité importante dans près de 20% des cancers métastatiques. Des anticorps spécifiques (trastuzumab) ou des petites molécules (lapatinib, neratinib) permettent de bloquer son action. Des nouveaux anticorps permettent de bloquer de façon différente ce récepteur qui peut s'associer à d'autres récepteurs (pertuzumab). La combinaison d'un anticorps associé à une chimiothérapie permet également de cibler la chimiothérapie au niveau de ces cellules et il semble de plus en plus évident que l'utilisation de deux thérapies différentes ciblant ce récepteur soient plus efficaces qu'une seule.

-Les thérapies ciblées Antihormonales : empêchent les cellules cancéreuses qui possèdent des récepteurs aux oestrogènes, d'être stimulées par les oestrogènes de l'organisme, soit en entravant leur fixation (inhibition compétitive par le Tamoxifène ou le fulvestrant) soit en empêchant leur production (inhibiteurs de l'aromatase)(Nicole Zernike, 2001).

4. Gènes altérés dans le cancer du sein :

Pour développer un cancer, il faut l'accumulation de plusieurs évènements mutationnels, touchant certains gènes, notamment ceux ayant une influence directe sur la division, la différenciation ou la mort cellulaire (apoptose).

4.1 Amplification et surexpression de proto-oncogènes :

Trois proto-oncogènes ont été trouvés amplifiés dans plus de 15 % des tumeurs mammaires :

- **Proto-oncogène MYC**
- **Proto-oncogène ERB-B2**

Ce gène appartient à la famille des gènes ERB-B dont le premier découvert (ERBB1 ou EGFR) est le récepteur de l'EGF (epidermal growth factor). Plus récemment, deux autres gènes de cette famille, ERB-B3 et ERB-B4, ont été identifiés. Bien que les quatre gènes de la famille ErbB semblent tous intervenir dans l'oncogenèse mammaire, seul le gène Erb-B2 est significativement amplifié dans les tumeurs du sein. Il est surexprimé dans environ 20 % des cancers du sein invasifs et dans 60 % des comedocarcinomes.

- **Proto-oncogène CCND1** qui code pour la cycline D1. D'autres gènes ont été trouvés amplifiés à moindre taux (10 % et moins) : les gènes FGFR1 (8p11) et FGFR2 (10q26), et le gène IGF1R (15q26) (Lamchahab M., 2014).

4.2. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs :

Les altérations moléculaires à l'origine de la perte de fonction des gènes suppresseurs dans les tumeurs solides sont variées. Il peut s'agir de mutations ponctuelles, de délétions, d'insertions, d'anomalies de méthylation des promoteurs inhibant la transcription, on a

- **Le groupe des gènes BRCA :** Il y a deux gènes connus dans ce groupe de gènes BRCA1 et BRCA2. Ils sont localisés sur les chromosomes 17 et 13 respectivement.
- **Le gène P53** localisé sur le chromosome 17p. Il est impliqué dans environ 25 à 30 % des cas de cancers du sein. Bien que les mutations germinales du gène P53 soient présentes dans toutes les

cellules somatiques, les tumeurs malignes, dont les mutations sont la cause, ne sont présentes que dans les cellules de certains organes, les cellules ciblent.

- **Le gène ATM**, localisé sur le chromosome 11q22-23. Très peu d'autres gènes suppresseurs de tumeur sont notés, comme le gène CDH1 codant pour la cadherine E qui semble muté spécifiquement dans les carcinomes lobulaires invasifs (**Lamchahab M., 2014**)

4. L'oncogène Her-2 dans le cancer du sein

4.1. Définition d'un l'oncogène :

Il existe trois grandes catégories de gènes (les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation) de l'ADN associés aux pathologies cancéreuses, ce sont des gènes qui déclenchent une prolifération désordonnée de cellule. Tout gène cellulaire appelé proto-oncogène est susceptible de devenir, par suite d'une modification génétique : les mutations, les translocations et les amplifications géniques, un oncogène. Dans tous les cas, on obtient un gène capable de conférer le phénotype cancéreux à une cellule normale eucaryote, comme il stimule la division cellulaire de sorte qu'elle échappe à la régulation normale. La modification de ce proto-oncogène en oncogène qui initie la survenue du cancer. Dans 95 % des cas, il subit une amplification génique, c'est-à-dire une surexpression due à la production de plusieurs copies, du gène (**Salamon et al, 1989**).

4.2. Description de l'oncogène HER-2 :

L' HER2 (erbb2/neu), est un gène qui code pour la protéine HER2. Ce proto-oncogène est localisé sur le chromosome 17 (en 17q21-22), il code pour une protéine transmembranaire de 185KDa. Ce gène est un membre de la famille du récepteur à l'*Epidermal Growth Factor* (EGFR), famille de récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase. Le gène *HER2* code pour un récepteur qui n'a pas de domaine de liaison à un ligand. Son activation, en particulier dans les cancers du sein, est essentiellement liée à une amplification qui a pour conséquence d'entraîner une surexpression de la protéine à la surface des cellules (**Lamy P J, 2002**).

D'autres altérations génétiques peuvent être à l'origine de cette activation telle que la mutation du gène (5% des cas). Elle a été identifiée la première fois en 1981 et c'est en 1987 que Slamon et autres ont décrit la première fois son importance biologique dans le cancer du sein.

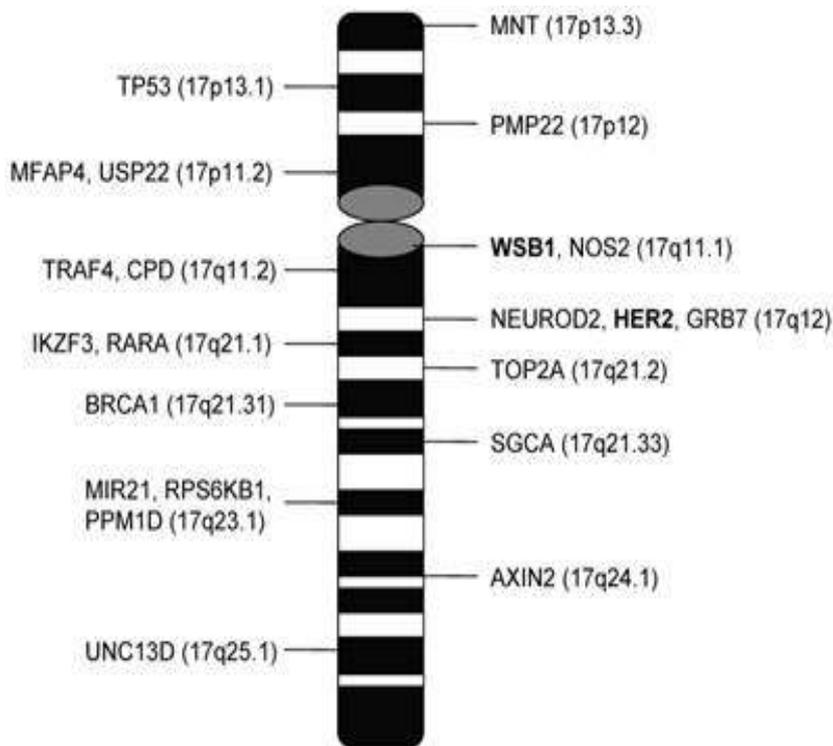


Figure4 : localisation de gène HER-2 dans chromosome 17 (17q21-17q22)(Wei et Yingyan Y, 2011).

3.2. Structure de récepteur HER-2 :

Her-2 est le récepteur d'un facteur de croissance de la famille des récepteurs erbb tyrosine kinase .il existe sous forme d'hétérodimère.Cette famille comporte 4 types de récepteurs : le récepteur de l'épidermal growth factor (erbb1 ou EGFr), erbb2 (Her-2), erbb3 (Her-3) et erbb4 (Her-4). Ces récepteurs transmembranaires possèdent tous une activité tyrosine kinase dans leur partie intra cytoplasmique ,riche en résidus tyrosine qui comprend le domaine catalytique tyrosine kinase (260 Acide Aminées).et domaine C terminal (230 à 380 Acide Aminées) qui porté les sites majeurs de phosphorylation sur tyrosine.

Le domaine extracellulaire forme la partie réceptrice de liaison aux ligands, l'EGF et les neurégulines présentant (620 Acides Aminées) et composée de 4 domaines homologues 2 à 2 appelés L1 et L2 (domaines 1 et 2) deux domines de liaison du ligand, et CR1 et CR2 deux domaines riches en cystéine. Et un domaine transmembranaire (23 Acide Aminées), composé d'un segment lipophile qui permet l'ancrage du récepteur dans la membrane cellulaire.

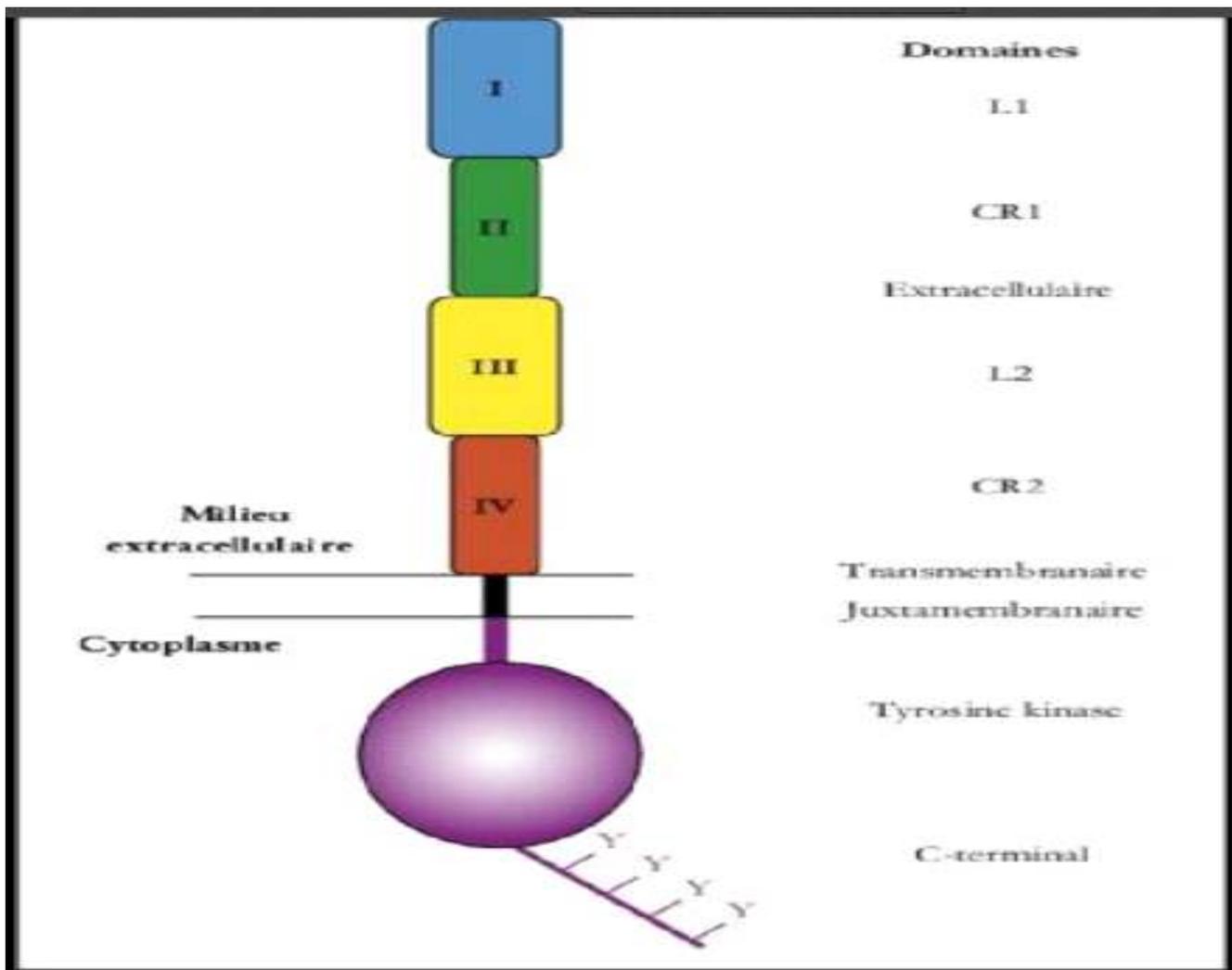


Figure 5 : structure schématique des récepteurs de la famille Erbb (Hubert P, 2006).

4.4. Fonctions biologiques du récepteur Her-2 :

Les activités biologiques de cette famille (La famille des récepteurs de facteurs de croissance épidermique HER) sont exercées par le biais de diverses interactions ligand -récepteur et récepteur-récepteur. Le récepteur qui joue un rôle central dans ce réseau de signalisation est HER2, il se comporte comme un amplificateur des signaux de croissance cellulaire des récepteurs HER impliquant la cancérogenèse (Medjdoub A et al, 2009).

La protéine Her-2 est faiblement exprimée dans les cellules épithéliales normales, du sein et d'autres organes. Dans le cancer du sein, la surexpression de la protéine HER2 à la surface des cellules tumorales, souvent liée à l'amplification du gène HER2, caractérise un statut HER2 positif. Un statut HER2 positif est lié à une agressivité tumorale, à une incidence élevée de dissémination métastatique, à un risque accru de récurrence après la chirurgie, à un temps de survie réduit, à une résistance à certaines thérapies endocrines (hormonales) et à une réponse incomplète à la chimiothérapie conventionnelle (Lebeau A, 2006).

4.5. Mécanismes d'action du Her-2:

En absence de ligand, ces récepteurs (HER) existent majoritairement sous forme des monomères inactifs. La fixation d'un ligand va entraîner l'association de deux monomères, formant

ainsi un dimère actif. Ces dimères actifs peuvent être des homodimères, composés de deux monomères identiques, ou des hétérodimères associant deux monomères de natures différentes.

L'activation de l'activité tyrosine kinase induite par dimérisation va se traduire par la phosphorylation de résidus tyrosine présents sur les récepteurs eux-mêmes (autophosphorylation), puis par le recrutement de protéines possédant des motifs de reconnaissance pour ces phosphotyrosines : domaines SH2 (Src homology domain 2) et PTB (phosphotyrosine binding). Ces événements vont entraîner l'activation de diverses cascades de signalisation, voies des MAP kinases, de la PI3 kinase, phospholipase C, l'assemblage de ces protéines cibles sur la face interne de la membrane plasmique culmine lors de la formation de seconds messagers comme les polyphosphoinositides et les inositol polyphosphates, entraînant l'activation de la cascade mitogène des Ras/Raf/MAP kinases. Parmi les cibles finales de ces voies de signalisation se retrouvent des facteurs de transcription qui sont transloqués du cytosol vers le noyau après activation par leurs kinases ou phosphorylases respectives. Les récepteurs ErbB possèdent des sites de phosphorylation sur tyrosine différents, ce qui explique la diversification des voies de signalisation activées en fonction des ligands et des partenaires associés dans les dimères. La durée d'activation est aussi un facteur important déterminant quelles voies de signalisation vont être engagées et quels effets cellulaires vont être obtenus (**Yarden Y et Sliwkowski MX. 2001**)

Le récepteur Her-2 possède en fait une configuration très particulière de son domaine extracellulaire et, plus précisément, une configuration « ouverte » mimant un état de dimérisation permanente qui lui permet d'interagir comme partenaire privilégié avec les autres récepteurs de la même famille. Alors que les autres récepteurs HER ont une configuration « repliée » en l'absence de fixation de leur ligand, Her-2 se dimérise sans avoir lui-même fixé de ligand spécifique direct.

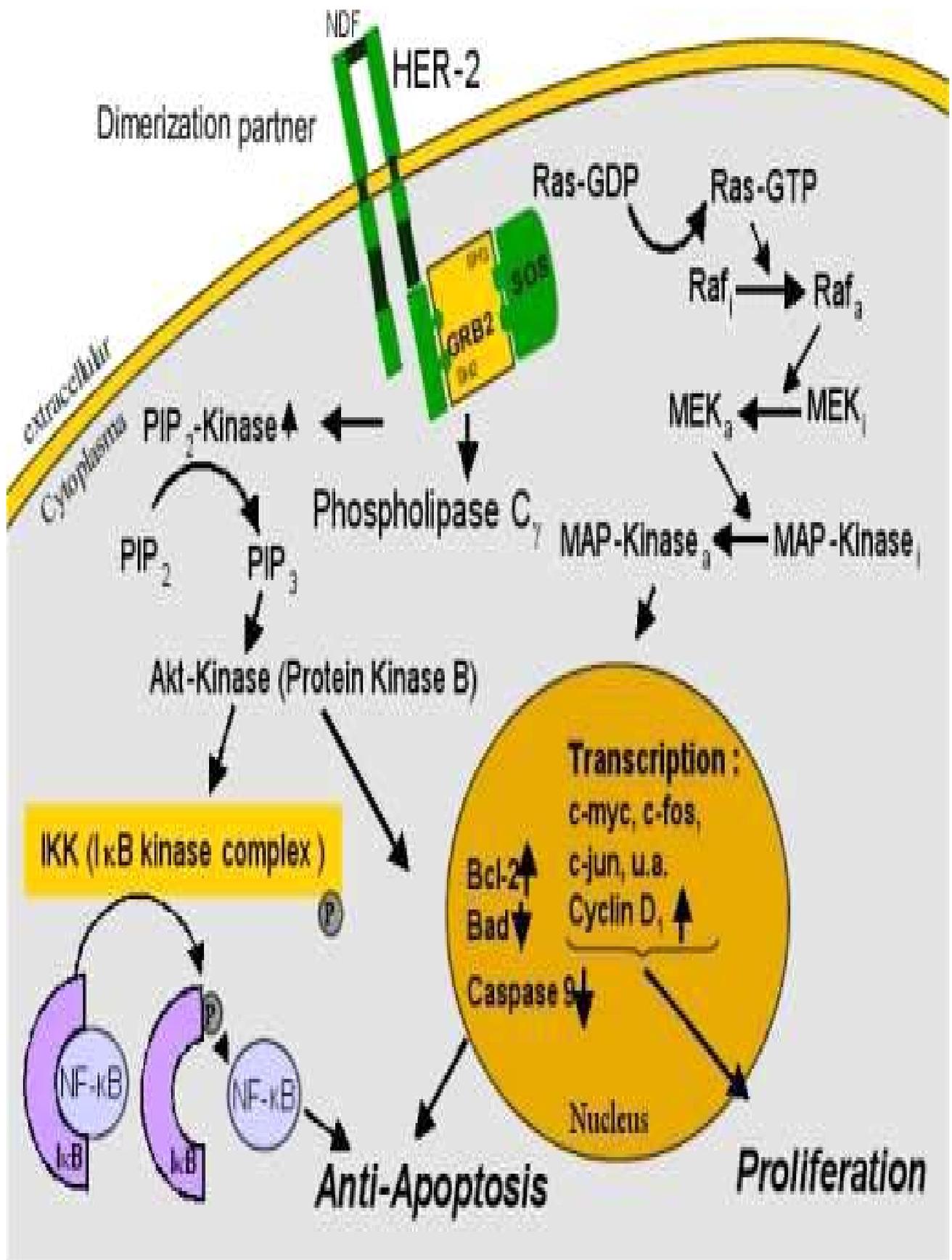


Figure 6 : Les voies de signalisation cellulaire par la liaison du ligand à l'HER2 (Sedlacek, 2000).

1. Matériel

Notre travail porte sur une étude de carcinomes mammaires infiltrants dont le statut HER-2 est de score 2 en immunohistochimie, chez 38 patientes dans la période de Janvier 2016 jusqu'à Aout 2016. Ces cas proviennent du centre anti cancer, Hôpital Frantz Fanon, CHU Blida, ainsi que d'autres hôpitaux (externes) pour l'étude IHC et la relecture

1.1 .Matériel biologique

Notre étude au niveau du service d'anatomopathologie a porté sur des prélèvements provenant de 38 patientes âgées entre 24 et 85 ans. Une étude immunohistochimique permettra de mettre en évidence la surexpression du Her-2 dans les cancers mammaires et par une hybridation in situ argentique (SISH) on détermine l'amplification du gène HER-2 à score 2 sur 10 cas relevé parmi les 38 cas.

1.2. Matériel non biologique

1.2.1. Appareillage :(Annexes B)

1.2.2. Réactifs et matériaux :(Annexes B)

2. Méthodes

Les données collectées à partir des fiches de renseignements archivées sont :

- Nature du prélèvement : Biopsie ou pièce
- L'âge
- Le type histologique
- le grade SBR
- Score d'amplification du gène Her-2 score 2.

1. Etude morphologique:

1. Examen macroscopique: Les pièces sont reçues fixées afin d'éviter l'autolyse de tissu. D'abord, on commence par la description de la pièce: aspect externe, la taille de la tumeur, les remaniements puis on passe au prélèvement.

2. Prélèvement: Les coupes réalisées doivent être de l'ordre de 4 à 5µm, renfermant la tumeur et limites avec le tissu sain. Elles sont mises dans des cassettes numérotées pour chaque patiente.

***Fixation:** Elle a plusieurs effets; immobiliser les molécules in situ, en particulier l'antigène et préserver la structure tissulaire. La plus utilisée est:

- Le formol à 10% car il préserve mieux les structures et donne une meilleure immobilisation des protéines.

***déshydratation:** L'échantillon est déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées (4bains), jusqu'à ce que l'eau soit remplacée par de l'alcool. Ce dernier est ensuite remplacé par un solvant organique capable à la fois de dissoudre l'alcool et la paraffine, le plus utilisé est le xylène (4bains).

***inclusion en paraffine chauffée:** L'échantillon est immergé dans la paraffine chauffée parce qu'elle se solidifie à température ambiante. La paraffine est très facilement dissoute par les solvants aromatiques tels que le toluène ou l'éther de pétrole de ce fait la pénétration des anticorps dans l'épaisseur de la coupe est excellente.

***Refroidissement:** Une fois le tissu imprégné, on le laisse refroidir dans le module rempli de paraffine pour se solidifier.

***Confection des coupes:** Après refroidissement on obtient des blocs solides, et à l'aide d'un microtome on fait des coupes très fines de l'ordre de 3µm qu'on va étaler au bain marie puis placer sur des lames.

*** Circulation :** (dans Automate de circulation leica Asp 6025)

a) déshydratation :

- Ethanol 70°
- Ethanol 80°
- Ethanol 95°
- Trois Ethanol (100°)

a) Eclaircissement :

- Xylène 3

c) imprégnation :

- Paraffine 3

***Inclusion :** Préparation des blocs par paraffine dans l'appareil SLSS Mps/W

***Coloration de routine hématoxyline et éosine :**

1-Mettre les lames dans l'étuve 60°C pendant 30 minutes

- Cette étape pour déparaffinage et fixation et séchage

2-Mettre les lames dans Automate de coloration (leica stv4040)

a)Déparaffinage :

-Mettre dans xylène 4 bains pendant 8 minutes pour chaque bain 2 minutes

a) Réhydratation :

-Mettre dans l'alcool 3 bains :

-Alcool 100° pendant 2 minutes

-Alcool 90°pendant 2 minutes

-Alcool 70° pendant 2 minutes

-L'eau pendant 2 minutes

b) Coloration :

-Mettre dans Hématoxyline 2 bains pour chaque bain 2 minutes

-Mettre dans l'eau 2 minutes

-Mettre dans Alcool et Acide pendant 2 minutes

-Mettre dans Alcool et Ammoniac pendant 2 minutes

-Mettre dans éosines 2 bains pour chaque bain 2 minutes

c) Déshydratation :

-Mettre dans l'alcool 3 bains :

- Alcool 70° pendant 2 minutes

-Alcool 90° pendant 2 minutes

-Alcool 100° pendant 2 minutes

-Xylène pendant 2 minutes

d) Montage :

Observation sous microscope optique (4, 10 à 40 GX).

2.2. Etude immunohistochimique:

2.2.1. Principe:

C'est une technique qui permet l'identification "in situ", sur coupe histologique, d'un antigène cellulaire ou tissulaire. Cette technique est basée sur une réaction spécifique antigène-anticorps utilisant des anticorps mono ou polyclonaux conjugués à une substance fluorescente ou à une enzyme qui réagit avec son substrat en donnant une coloration facile à voir au microscope optique en lumière blanche ou ultra-violette.

Elle est reconnue comme la technique de référence pour déterminer le statut de HER2 dans les cancers du sein (Lahzaoui T ,2013).

2.2.2. Score du positivée :

Tableau IV : Score du positivée (Wolff et al. 2007).

| Caractéristiques du marquage | Score | Interprétation test de surexpression |
|--|-------|--------------------------------------|
| aucun marquage ou marquage membranaire incomplet d'intensité faible dans moins de 10 % des cellules. | 0 | Négatif |
| marquage membranaire incomplet d'intensité faible dans plus de 10 % des cellules | +1 | Négatif |
| 10 % de cellules tumorales avec marquage membranaire périphérique total, d'intensité modérée ou < 30% de cellules tumorales avec marquage membranaire périphérique total d'intensité forte | +2 | Faiblement positif |
| >30% de cellules tumorales avec marquage membranaire périphérique total en cadre, d'intensité forte, | +3 | Fortement positif |

2.2.3. Procédure:

***La coupe:** 4à5 µm sur des lames silanisées.

***Déparaffinage et réhydratation:**

-Mettre dans l'étuve à 37% pendant 24 heures

-Xylène: 2 bains pendant 10minutes

-Alcool 100% 2 bains pendant 10 minutes

-Alcool 95% pendant 5 minutes

-Alcool 50% pendant 1 minute

-Rincer à l'eau distillée pendant 5 minutes

***Démasquage antigénique:**

-Mettre les lames dans le bac de la solution de démasquage

-Mettre le bac dans le bain marie à 97°C pendant 40à 60 minutes

-Refroidissement à dans de l'eau froide

-Rincer à l'eau distillée

- le but de cette étape et de permettre aux Ac d'entrer en contact avec les Ag en coupant les liaisons covalentes inter et intra moléculaires entres les protéines et les glycoprotéines occasionnées par la fixation formolée.

***Préparation des Chambres humide (l'eau distillée)**

-Encercler l'échantillon avec le Dako Pen

***Blocage des peroxydases endogènes tissulaires:**

-Mettre les lames dans peroxydase pendant 5 à 10 minutes

-Rincer à TBS 2 fois pendant 5 minutes

- Le but de cette étape est de bloquer l'activité des peroxydases endogènes présentées dans certaines cellules.

***Incubation avec l'anticorps primaire:**

-Incuber avec l'Ac primaire dilué pendant 50 minutes

-Rincer dans le tampon TBS deux fois pendant 5 minutes

-Déposer dans une chambre humidifiée

***Incubation avec polymère HRP:** pendant 20 à 30 minutes

-Rincer avec TBS deux fois pendant 5 minutes

***Révélation du complexe avec un chromogène:**

-Utiliser DAB pendant 5 à 10 minutes selon l'intensité de marquage.

-Rincer 3 fois pendant 5 minutes TBS

***Contre coloration:**

-Ajouter l'hématoxyline de MEYER pendant 1 minute

-Rincer à l'eau de robinet 3 fois

-Rinçage d'ammoniac quelques secondes (pour éliminer la coloration)

-Rinçage à l'eau distillée pendant 5 minutes

***Batterie de réhydratation:**

-Alcool 70% pendant 3 minutes

-Alcool 90% pendant 3 minutes

-Alcool 100% pendant 3 minutes

-Alcool 100% pendant 1 minute

- Xylène: 3 bains pendant 3 minutes

***Montage:**

- Mettre des gouttes eukit sur les lames.

-Placer les lamelles

***Lire au microscope optique**

3.3. Hybridation in situ argentique ou SISH :

Le test d'hybridation *in situ* argentique ou SISH (pour *silver-enhanced in situ hybridization*) utilise des sondes d'ADN marquées par un haptène (le dinitrophénol) qui sert de cible à un anticorps lui-même reconnu par un polymère d'anticorps jumelé à l'enzyme HRP. Cette dernière entraîne la précipitation des ions argent (Ag⁺) en solution au site du gène. Cette réaction se manifeste par l'apparition dans le noyau cellulaire de points noirs visibles par microscopie à fond clair. L'hybridation *in situ* permet une visualisation directe sur la coupe tissulaire, dans les noyaux des cellules tumorales invasives, du nombre de copies du gène Her2 par une méthode SISH.

Les trousse de diagnostic comprennent la sonde HER2 seule, ou associée à une sonde centromérique du 17, permettant la détermination du nombre de copies du chromosome. Le résultat de l'examen est donc donné en nombre moyen de signaux HER2 par noyau, ou en rapport du nombre de signaux HER2 sur signaux centromériques.

L'amplification, c'est à dire l'augmentation du nombre de copies du gène est fortement corrélée avec la surexpression du récepteur HER-2 dans le cancer du sein et le mécanisme principal de cette surexpression (**Garcia Caballero et al, 2010**).

3.3.1. Principe:

L'hybridation in situ argentique (SISH) est une nouvelle technique d'ISH qui utilise la précipitation d'ions argent pour le repérage des sondes d'ADN hybridées, deux sondes séparées sont utilisées : une pour le gène HER2 et l'autre pour le centromère du chromosome 17. Le kit le plus utilisé est Ventana/Roche(**Lahzaoui T ,2013**).

3.3.2. Détermination du statut HER-2 (Score du positivité) :

Selon les recommandations de l'ASCO :

- Amplification : présence de **> 6** copies de HER2 par noyau (en l'absence de sonde centromérique du chromosome 17) ou un rapport nombre de copies HER2 /CEP 17 (sonde centromérique sur chromosome 17) **> 2,2**.
- Absence d'amplification : présence de **< 4** copies de HER2 par noyau ou un rapport HER2 / CEP 17 **< 1,8**.
- Test équivoque : présence de copies de gène HER2 **> 4** mais **< 6** ou rapport HER2/CEP 17 **>1,8**, mais **< 2,2**(**Wolf et coll., 2007**).

2.3.3. Mode opératoire

❖ Le protocole du SISH

-Étapes de la préparation

-Coupe les blocs par microtome sur les lames silanisées

-Mettre étuve pendant 24 heures pour déparaffinage

-Mettre dans Ventana Roch

La technique est basée dans les premières étapes sur le chauffage et l'incubation et entre ces deux étapes on a le rinçage et l'ajustage et la déposition, les deux étapes se répètent presque 4 fois. On commence par : Chauffage des lames à 63°C et incubation pendant 20 minutes (étuvage) suivie par l'activation des stations de mélange et après désactiver.

-Chauffage des lames jusqu'à 72°C et incubation pendant 4 minutes suivie par la déposition/l'ajustage du volume EZ Prep et le rinçage.

- Chauffage des lames désactivé et incubation pendant 4 Minutes, suivie par rinçage et Déposition de Depar Volume Adjul avec Huile de Paraffine avec activation des stations mixage et on chauffer et incuber pendant 4 Minutes, suivie par rinçage et Ajustassions et déposition des lames avec Réaction Buffer.après point pause (zone de chargement).

-Après un rinçage d'EZ Perp et évacuateur elle Appliquer CC Coverslip Long, suivie par chauffage des lames à 36°C avec déposition de 450µl d'EZ et Cell Conditioner 2 et la température régler à 86°C.

-Chauffages des lames 86°C et incuber pendant 4 Minutes avec CC2 après déposer CC2, incubation de cycle 1 et pendant 8 Minutes avec déposer de CC2 et incubation de cycle 2 et pendant 12 Minutes avec déposer de CC2 avec une quantité réduite d'Huile de Paraffine et incubation de cycle 3 pendant 8 Minutes.

-Chauffages des lames et incuber pendant 4 Minutes suivie par rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Bufferet dépositiond'Huile de Paraffine.après point pause (zone de chargement).

-Chauffage des lames jusqu'à 36°C et puis rincer et ajuster avec Réaction Buffer suivie par déposer d'une goutte de ISH-PROTEASE 3, avec Huile de Paraffine, et suivre par autre chauffage des lames à 36°C avec rinçage et Ajustassions des lames avec SSC et dépositiond'Huile de Paraffine.

-Déposer des trois gouttes de HYB RDY SOL, et Coverslip puis incuber pendant 4 Minutes après la sonde qui suivie par déposer de deux gouttes de HER2DNP CHR17DIG (C-Sonde) avec incubation pendant 4 Minutes.

-Chauffages des lames à 86°C et incuber pendant 20 Minutes (**Dénaturation**) suivie par déposer de 150µL de SSC puis chauffer les lames à 44°C avec incubation pendant 4 Minutes suivre par déposerd'Huile de Paraffine.

-Incuber pendant 6 heures (**Hybridation**)suivie par rinçage et Ajustassions des lames avec SSC et dépositiond'Huile de Paraffine.

-Chauffages les lames à 76°C et incuber pendant 8 Minutes (Température de lavage rigoureux) et suivre par rinçage et déposer de 450µL de SSC et d'Huile de Paraffine, les étapes de incubation 8 Minutes et déposer sont répété 2 fois et suivie par rinçage et Ajustassions des lames avec SSC. Après point pause (zone de chargement).

-Chauffages les lames jusqu'à 36°C et puis rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer et déposer d'une goutte de SIL ISH DNP RAB, avec Huile de Paraffine suit incubation pendant 20 Minutes.

-Multimer SISH suivie par déposer d'une goutte de SIL ISH DNP HRP, avec Huile de Paraffine et puis rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer, avec déposer d'une goutte SIL ISH DNP CHRA, avecHuile de Paraffine et incubation pendant 4 Minutes.et puis on à déposer de d'une goutte SIL ISH DNP CHRA avecHuile de Paraffine et incubation de 4 Minutes suivie par déposer d'une goutte de SIL ISH DNP CHR B, puis incubation pendant 4 Minutes.

-Chromogène argent puis déposer d'une goutte SIL ISH DNP CHRC et incubation pendant 8 Minutes suivie par rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer.après point pause (zone de rechargement).

-Chauffage des lames jusqu'à 36°C avec rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer et déposer d'une goutte de RED ISH DIG MAB avec déposer Huile de Paraffine suivie par incubation 20 Minutes.

-Multimère ISH rouge suivie par déposer d'un goutte de RED ISH DIG AP, avec déposer Huile de Paraffine et incubation pendant 24 Minutes puis rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer suivie par déposer de deux gouttes de RED ISH DIG PHS, et Huile de Paraffine puis incubé pendant 8 Minutes et déposer d'une goutte de RED ISH DIG NAP, incubé 4 Minutes et déposer d'une goutte de RED ISH DIG FR et incubé 4 Minutes.

-Chromogène rouge suivie par déposition d'une goutte de RED ISH DIG FR, et puis incubé pendant 12 minutes suivie par rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer et déposer d'une goutte de HEMATOXYLIN II (Contre coloration) et application Coverslip et incubation pendant 8 Minutes.

-Rinçage et Ajustassions des lames avec Réaction Buffer suivie par déposer de deux gouttes de BLUING REAGENT (Post Contre Coloration), et application Coverslip et incubation pendant 4 Minutes enfin rinçage des lames et jet Drain avec Réaction Buffer.

-Montage :

- Mettre des gouttes eukit sur les lames.

-Placer les lamelles

*Lire au microscope optique

1. Résultats :

I. Caractéristiques épidémiologiques de la population :

Dans notre travail, nous présentons des résultats immunohistochimique des carcinomes infiltrants dont le score de la surexpression de la protéine HER-2 est à 2, et ce depuis janvier 2016 jusqu'au Août 2016. Nous avons inclus durant cette période 38 patients. Les résultats étaient comme suit :

1. Répartition selon l'âge:

L'âge des patientes recrutées pour notre étude est compris entre 24 et 85 ans ; notre moyen est 48 ± 22. Le diagramme montre une des patientes âgées de [40-55 ans] représentant (42,10%), suivie par la tranche d'âge [24-40 ans] avec un pourcentage de (28,94%), alors que les patientes âgées entre [55-70 ans] ont un pourcentage de (18,42%), les patientes âgées de [70-85 ans] , Représentant (10,52%).

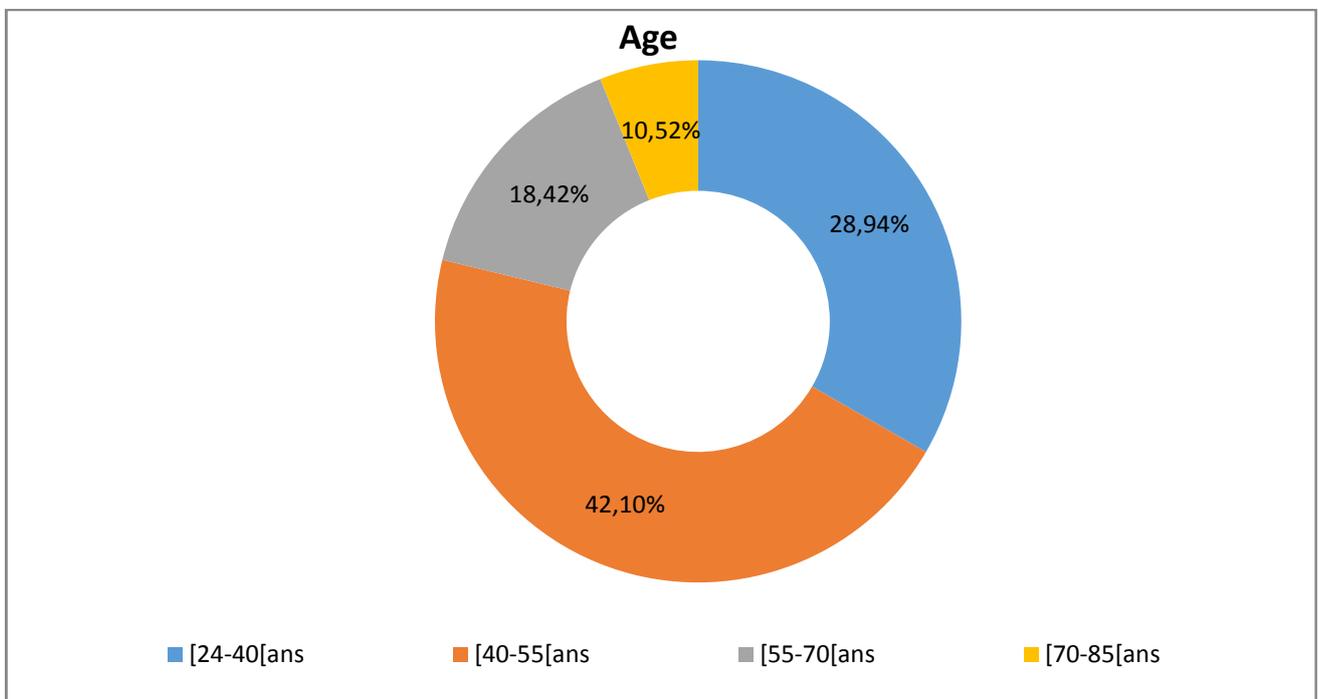


Figure 7 : Répartition des malades selon l'âge.

II- Caractéristiques morphologiques du carcinome mammaire infiltrant :

2. Répartition selon type histologique:

Sur le plan histologique, le carcinome infiltrant non spécifique était largement dominé retrouvé dans 32 cas soit (84,21%), suivis par le carcinome lobulaire infiltrant retrouvé dans 4 cas soit (10,52%). Le reste des tumeurs était représenté par des cas rares retrouvés dans 2 cas soit (5,26%).

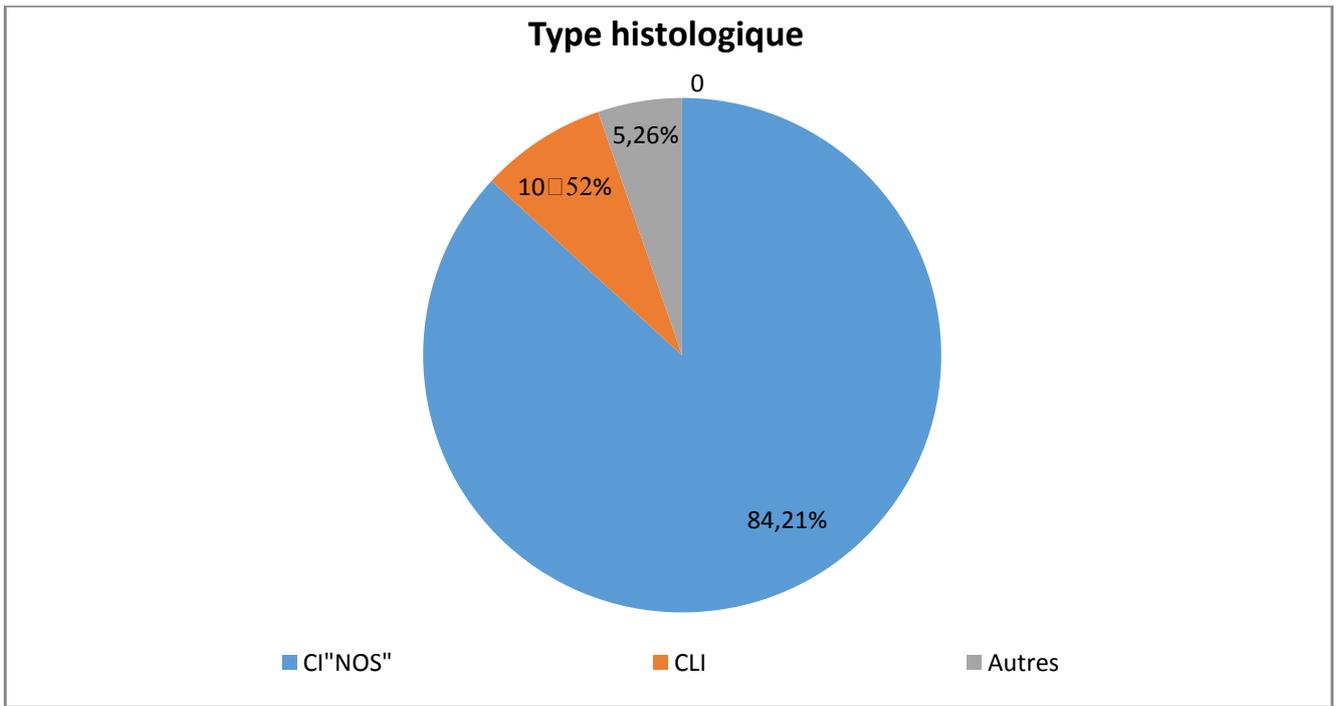


Figure 8 : Répartition des tumeurs mammaires selon le type histologique.

3. Répartition selon le grade d'Elston et Ellis:

Selon les résultats illustrés la catégorie qui prédomine est celle du grade II (73,68%), suivie par la catégorie des tumeurs des grades III et II (13,15%).

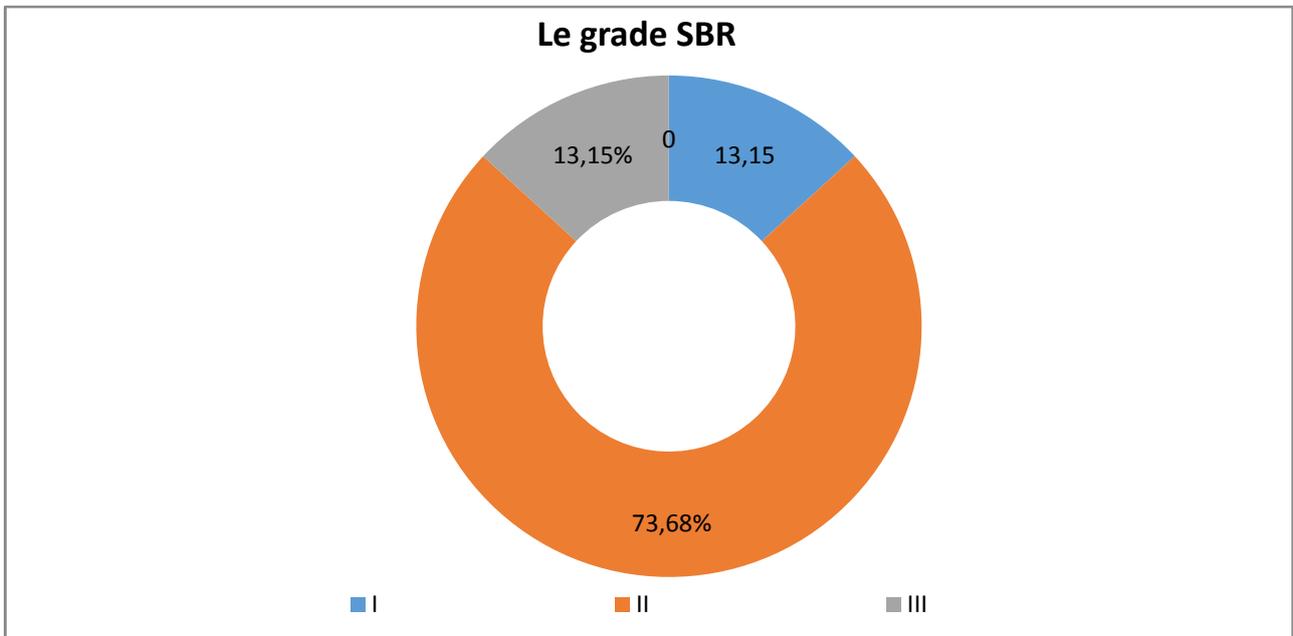


Figure 9 : Répartition des tumeurs mammaires selon le grade SBR.

III. les résultats microscopiques de l'immunohistochimique.

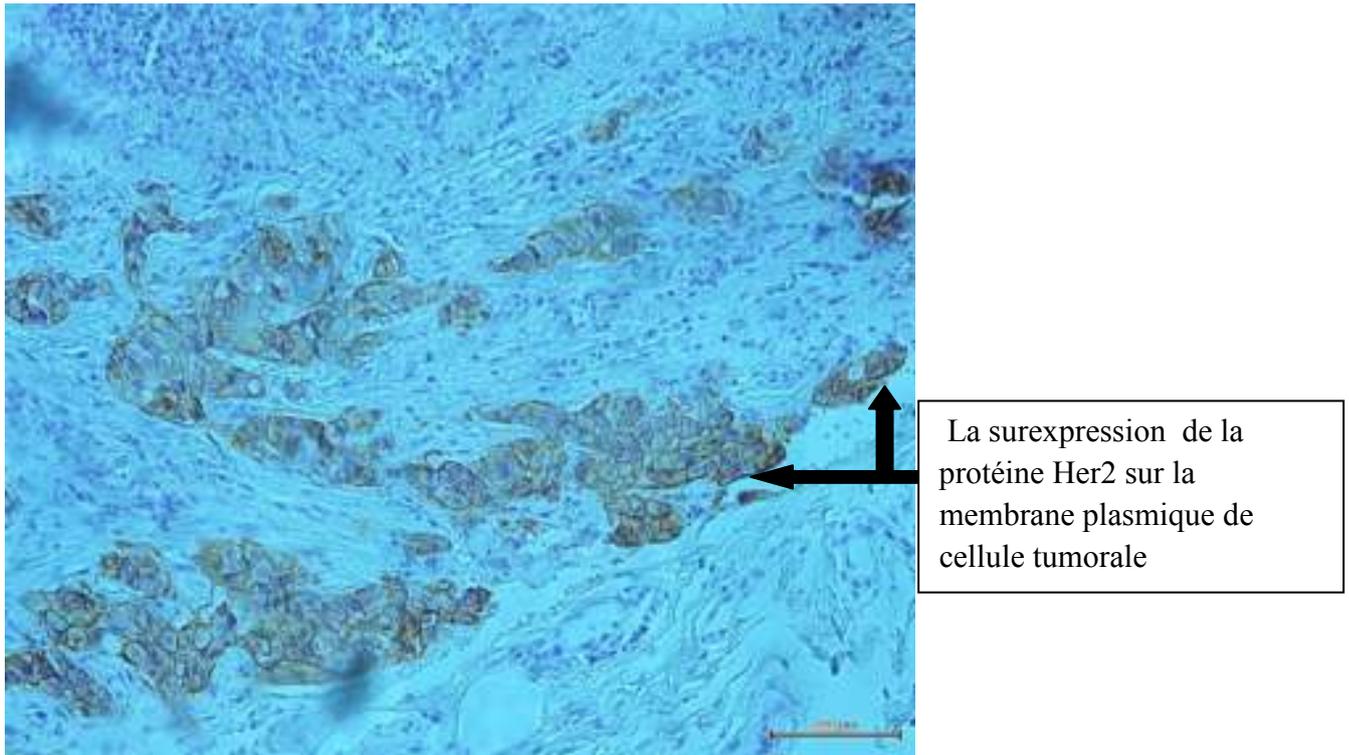


Figure 10: Carcinome Infiltrant « nos » de score 2 à l'étude IHC, grade II. Gr x 20

La figure montre un marquage des cellules cancéreuses au grossissement $\times 20$. Le nombre de cellules est marquées est non élevé (score 2)

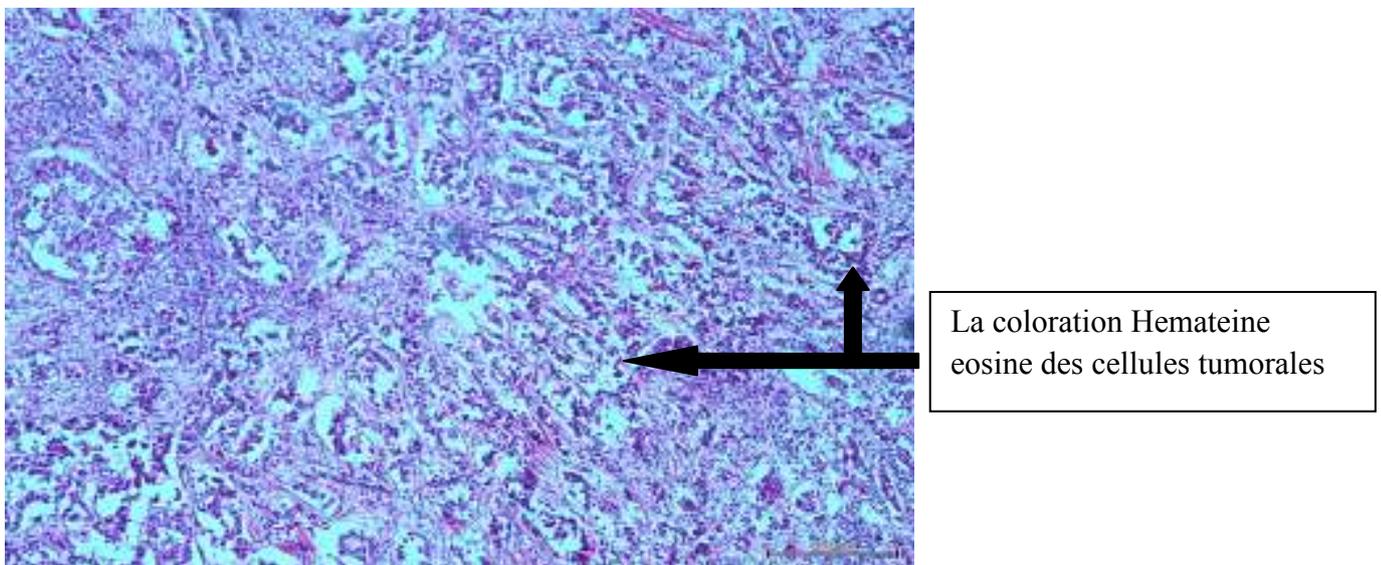


Figure 11 : Carcinome infiltrant « NOS » coloration Hemateine eosine $G \times 10$

2. Résultats de la SISH :

Cependant notre pratique au laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques de l'hôpital Frantz Fanon sur la SISH appliquée sur des tumeurs du sein invasifs en ciblant le gène Her-2 , nous a permis d'obtenir les résultats suivant ,qui sont illustrés sur les micrographies , obtenus sur des coupes en paraffines pour détecter l'amplification du gène Her2.

Dans notre étude on n'a choisi que 10 cas parmi les 38 cas pour l'hybridation (SISH).les résultats sont les suivants :

2.1. Répartition selon le score d'amplification

Selon les résultats illustrés on a 7 cas présentant une amplification soit (70%), suivie par 3 cas non amplifiés soit (30%).

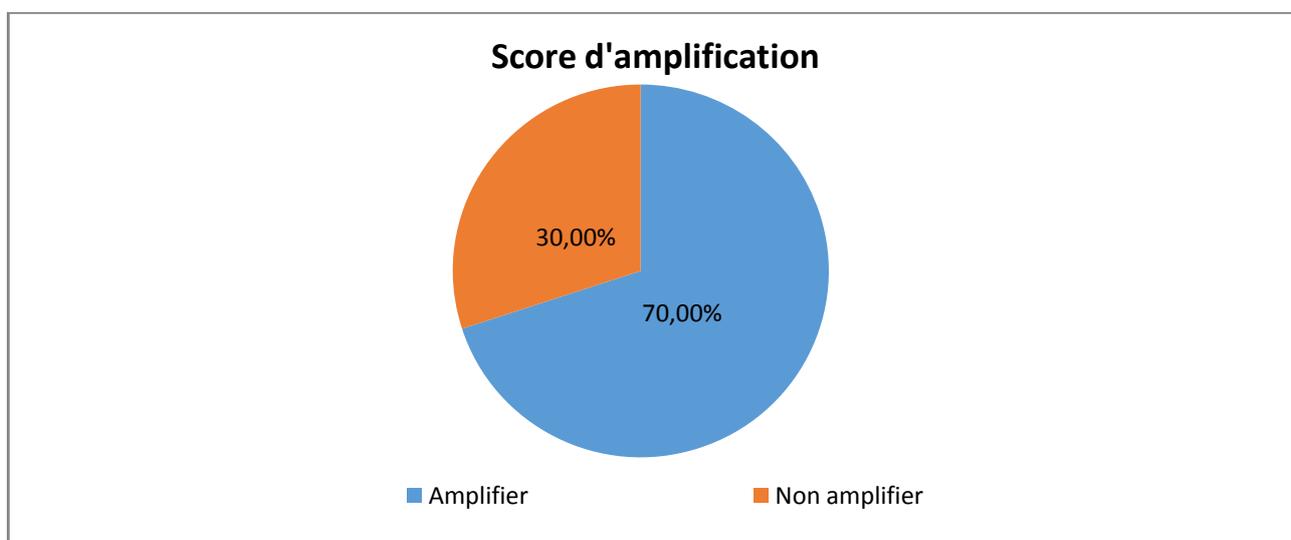


Figure 11: Répartition des cas selon l'amplification du gène *HER-2*

Les résultats microscopiques de l'SISH et Dual HIS :

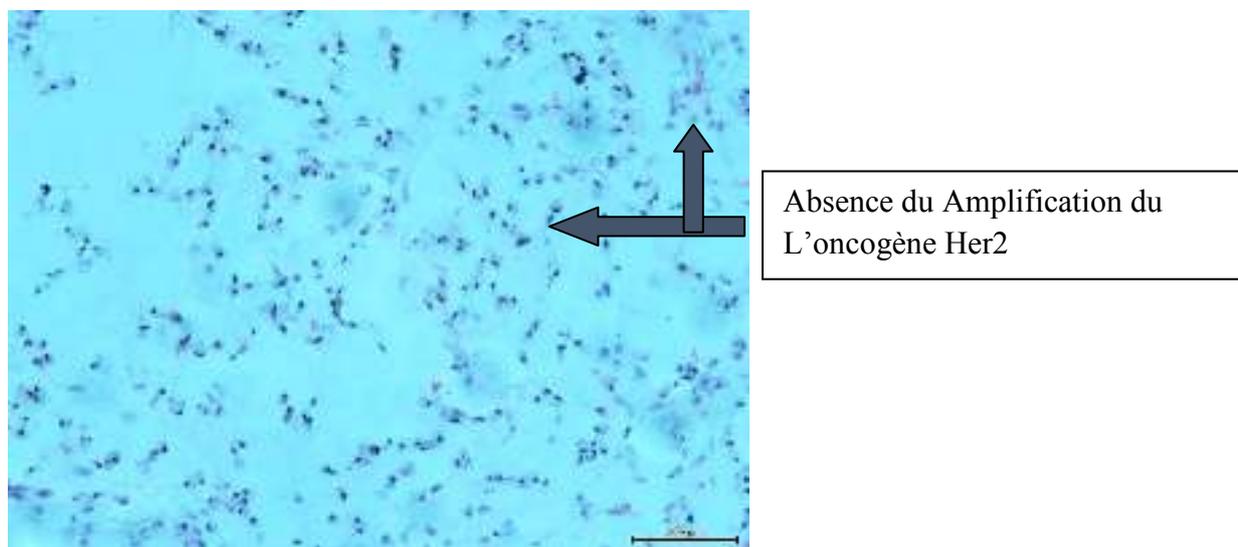


Figure 12 : Dual ISH, Her-2 non amplifié : 3 copies du gène Her-2 < 6. Her-2/CEP17 < 1,8 donc cas négative.

Dans les cas où le nombre de copies de HER-2 est inférieur à 6 mais avec un ratio inférieur à 1,8 ne sont plus considérées comme porteuses d'une amplification. Il est également plus logique de prendre en compte le nombre absolu de copies d'Her-2

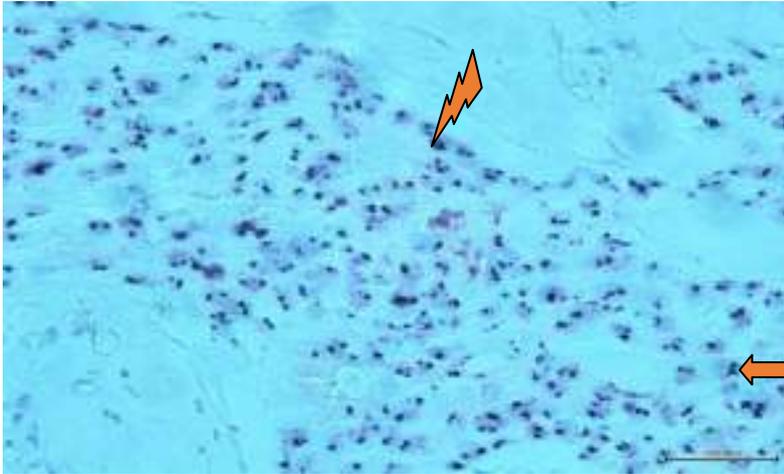


Figure 13 : Dual ISH, Her-2 amplifié plus de 12 copies avec présences de nombreux agrégats, GX 10

Dans les cas rares où le nombre total de copies de HER-2 est supérieur à 6 mais le ratio supérieur à 2,2, il est plus logique de raisonner sur le nombre absolu de copies d'Her-2 et de considérer le cas comme amplifié. Ces cas comprennent les situations de co-amplification de la région du centromère du chromosome 17.

2. Discussion

Le cancer du sein reste, malgré les progrès des traitements et l'apparition des thérapies ciblées, la première cause de mortalité par cancer chez la femme. C'est aussi le premier cancer à avoir bénéficié d'un ciblage thérapeutique avec les récepteurs hormonaux et aujourd'hui *HER-2* (**Lamy et al, 2010**).

La détermination du statut *HER-2* dans notre étude est basée sur deux tests, l'immunohistochimie (IHC) pour évaluer le niveau d'expression de la protéine *HER-2* dans la tumeur et l'hybridation in situ argentique (SISH) pour rechercher une amplification du gène *HER-2*.

D'après les 38 fiches consultées et collectées dans notre série, il ressort que l'âge le plus touché est entre [45-55 ans] soit (42.10%). C'est ce qui a été démontré avec les travaux de **Talot laure, 2011** qui a présumé que le facteur âge représente le risque le plus important car on constate qu'après 40 ans le risque de développer un cancer du sein se multiplie par une fois et demi tous les dix ans. **Guenel Pascal, 2011** a observé que le risque de cancer du sein augmente avec un âge précoce aux premières règles et un âge tardif à la première grossesse à terme et diminue avec la durée de l'allaitement.

Rey J.-P et al, 2006 ont observé que le cancer du sein est la première cause de mortalité par cancer chez la femme avant 65 ans dans les pays occidentaux. La fréquence des cancers du sein est en constante augmentation depuis 20 ans (progression de 2.4 % par an). **Sarah Mombelli, 2014** a estimé que l'âge est le facteur de risque le plus important vis-à-vis du cancer du sein. L'incidence de ce cancer augmente avec l'âge, la maladie est rare en dessous de 30 ans et augmente entre 45 et 70 ans, puis diminue progressivement. c'est ce qui a été aussi démontré par **ESMO, 2014** que moins de 5 % des cancers du sein sont diagnostiqués chez des femmes de moins de 35 ans. Nos résultats indiquent que la tranche d'âge [24-45ans] est également atteinte.

En subdivisant les différents types de tumeurs en CI « NOS » et CLI et d'autres types rares, l'analyse histopathologique de nos cas a montré que le type histologique prédominant est le carcinome infiltrant « NOS » un avec pourcentage de (84,21%). Ce type a été suivi par le carcinome lobulaire infiltrant (10,52%) des cas. Et d'autres types rares (5,26%).

selon **Bissan Mohamed, 2007**, la prédominance des CI NOS a été estimée à (75%) .Le carcinome lobulaire infiltrant est plus rare, représentant de 5 à 15 % des cancers infiltrants

Le grade SRB est un facteur pronostique ainsi que la taille et l'état des ganglions. la répartition de nos cas selon le grade SRB a montré une dominance du grade II (73,68%), suivi des deux grades I et III (13,15%) des cas. la différence de pourcentage entre les grades I et III était non significative. Ses travaux concordent avec ceux de **Bethune Volters A et al, 2004** ; sur le plan histologique les tumeurs étaient principalement des carcinomes infiltrants « NOS » avec une majorité de grade II.

L'étude statistique de **Abbas Akhadar, 2011** a démontré une amplification du gène Her-2 avec un pourcentage de (42,07%), ces résultats concordent avec les résultats publiés par **Rey J.-P et al, 2006** où il a été retrouvé plus que 15% (20 à 30 %) d'amplification. Notre étude a montré une amplification de l'oncogène HER-2 soit (70%), et non amplifié (30%).

Les travaux étudiant l'association entre l'amplification ou la surexpression de l'Her-2 et les facteurs pronostiques non modifiables (traditionnels) ont donné des résultats hétérogènes, mais la plupart des études depuis la publication de Slamon et al 1987, ont montré le rôle pronostique de l'Her-2.

Par exemples concernant l'association avec le type histologique, certaines études décrivent une association entre le type histologique et l'expression de Her-2 mais d'autre ne trouvent aucune association, parmi les quelles une étude tunisienne qui ne trouve pas d'association ni de différence de l'expression de l'Her2 entre le CI «NOS » et le CLI. Et cette étude estime un taux de surexpression similaire entre le grade II et le grade III **Ayadi L et al, 2008.**

Conclusion

Le cancer du sein est une prolifération de cellules anormales qui aboutira à la formation d'une masse ou tumeur maligne. Les cellules cancéreuses quant à elles, ont acquis une certaine indépendance face aux signaux extérieurs, beaucoup d'études accusent l'effet de l'amplification de l'oncogène HER-2 dans le développement tumoral. Ce qui cause une surexpression de protéine HER-2 sur la surface des cellules tumorales.

Un statut HER-2 positif (une surexpression ou une amplification de HER-2) est associé à une tumeur plus agressive, une incidence élevée des métastases, un risque accru de récurrence après la chirurgie, un temps de survie réduit, une résistance à certaines thérapies endocrines (hormonales) et une réponse incomplète à la chimiothérapie conventionnelle. L'évaluation des cellules tumorales doit porter uniquement sur la composante infiltrant du carcinome.

L'analyse statistiques effectuée sur 38 cas de carcinomes infiltrants « NOS » de score 2 en IHC, a démontré que l'âge le plus touché est entre [40-55ans] soit (42,10%), et les carcinomes infiltrants non spécifique est le type le plus répandu (84,21%), et le grade le plus prédominant est le grade II (73,68%). Dans notre étude on a déterminé, par la SISH, l'amplification de l'oncogène HER-2 du carcinome infiltrant « NOS » de score 2 en IHC, sur 10 cas parmi les 38 cas. Le résultat ne ressort que l'amplification de l'HER-2 touche la majorité des cas avec un pourcentage de (70%), et les cas non amplifiés avec pourcentage de (30%).

La SISH est une technique relativement nouvelle et peu de publications en font l'objet. Elle est toutefois recommandée dans les lignes directrices canadiennes. Les résultats analysés montrent une concordance élevée avec la FISH. Elle est attribuable à une grande spécificité du test, et une sensibilité qui apparaît faible car elle a été estimée à partir d'un nombre restreint de patientes. La poursuite des recherches sur la performance de cette technique est souhaitable.

Les références



Andre Nkondjock, Parviz Ghadirian, Facteurs de risque du cancer du sein. médecine/sciences 2005 ; 21 : 175-80

B

Boyce JD, Cancer following irradiation in childhood and adolescence. *MedPediatric Oncol* 1996; 1 (suppl): 29-34.

Brettes PJ, Mathelin C, Gairard B, Bellocq P J .Cancer du sein. Edition 2007.

Bissan Mohamed, cancer du sein : aspect clinique et thérapeutiques dans le service de chirurgie « A » du CHU du point G. Thèse n°07M60 ANN2E 2007.

Bethune Volters A Gueoratte.S, Labroquère.M, Hacene .K, Neumann .R, Carney .W. Pichon.MF, her2 sérique cancer du sein et trastuzumab immune-analyse et Biologie Spécialise .volume 19 5, octobre 2004, pages 250-254.

Professeur **Baillet** Service de radiothérapie Cancérologie Niveau DCEM 3, « 2002 – 2003, Université Pierre et Marie Curie. Mise à jour: 5 October 2015.

C

Chang J, Clark GM, Alled DC, Mohsin S, Chamness G, Elledge R. M. Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer*.2003; 97(3):545-53.

Canter CL, Allen C, Henson DE, relation of tumor size, lymph node status and survival in 24270 breast cancer cases, *Cancer*, 1989,63,181,7.

D

Dowsett, M., J. Cuzick, C. Wale et al., Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a *TransATAC* study. *J Clin Oncol*, 2010. **28**(11): p. 1829-34.

European society for medical oncologyes, www.fondsanticancer.org et www.esmo.org

F

Feigelson HS, Calle EE, Robertson AS, et al. Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 2001; 12: 895-902. Yu H. Alcohol consumption and breast cancer risk. *JAMA* 1998; 280:1138-9.

Friedenreich CM, Courneya KS, Bryant HE. Influence of physical activity in different age and life periods on the risk of breast cancer. *Epidemiology* 2001; 12: 604-12.

Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, et al. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 2011; published online Sept 2015. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61351-2.

**G**

Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, Facture pronostiques: Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ. Progressand promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of earlybreast cancer 2007. *Ann Oncol* 2007; 18 (7):1133.

Guide pratique STATUT HER-2 et HYBRIDATION IN SITU.la technique en pratique : étapes à respecter.Volume 2-FISH/CISH/SISH et Dual HIS

**J**

Johnson KC, HuJ, Mao Y. Passive and active smoking and breast cancer risk in Canada, 1994-97.The Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 211-21.

JAMA .Writing group for the Women's Health Initiative investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women.Principal results from the Women's Health Initiative randomizedcontrolled trial. *JAMA* 2002; 288: 321-33

**K**

Key TJ, Verkasalo PK, Banks E.Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol* 2001; 2: 133-40.

**L**

Lamchahab Meryem, Corrélation entre les aspects morphologiques et moléculaires du cancer du sein : expérience du service d'anatomo-pathologique au chu Hassan ii de Fes. Mémoire pourl'obtention du diplôme de spécialiste en médecine, option : anatomie pathologique. Sous la direction de : Professeur Hinde el Fatemi, Session Novembre 2014.

Lahzaoui Touria,L'expression du recepteur her2 dansle cancer gastrique ou de jonction oeso-gastrique métastatiqueétude prospectivea propos de 30 cas.Thèse présentée et soutenue publiquement le 22/04/2013.

**M**

May P, May E,Twenty years of p53 research: structural and functional aspects of the p53 protein.*Oncogene* 1999; 18: 7621-36.

Medjdoub A. Tahari, Z, Sahraoui, T, El Kebir, FZ. Reçu le 12 mars 2009 ; accepté le 10 avril 2009 © Springer-Verlag 2009 Étude du profil d'expression de la protéine HER2 dans 50 cas de cancers mammaires dans la wilaya d'Oran.

M. Spielmann, M. Riofrio, L. Zelek.Facteurs pronostiques du cancer du sein et facteurs prédictifs de la réponse au traitement. *La Lettre du Cancérologue* - Volume IX - no 1 - février 2009

Marianne Duperray, Dr Valérie Mazeau-Woynar,Dr Marie de Montbel,Les traitementsdes cancersdu sein,L'Institut national du cancer est l'agence nationale sanitaire et scientifique chargée de coordonner la lutte contre le cancer en France.octobre 2013.

**N**

Nemoto T., Vana J., Bedwani R.N. et al. Management and survival of female breast cancer: results of a national survey by the American College of Surgeons. *Cancer* 1980; 45 : 2917-2.

Norman Moullan, cancer du sein et radiosensibilité : implication des variants des gènes de Réparation de l'ADN. 2003.

Nicole Zernik, Présidente d'Europa Donna Forum France. Europadonnaest une association loi 1901 sans but lucratif. 12/2011.

**P**

Pierrick Horde. Cancer du sein - Facteurs de risque. Réalisé, en collaboration avec des professionnels de la santé et de la médecine, sous la direction du docteur Pierrick 2014

Pierre-Jean Lamy. HER-2 et trastuzumab : un nouveau paradigme biologique et thérapeutique dans le cancer du sein. Laboratoire d'oncobiologie Centre Régional de Lutte contre le Cancer Val d'Aurelle-Paul Lamarque Montpellier (2002).

Press M.F., Slamon D.J., Flom K.J., Park J., Zhou J.Y., Bernstein L. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and over expression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3095-105.

**R**

Rey J.-P., S. Fournier, C. Duc, C. Girardet, ICHV, Sion; M. Stalder, CONSILIA, Sion, Analyse de l'expression de l'oncogène HER2 dans les cancers du sein septembre 2006.

Raouf Hassen-Khodja .Hybridation *in situ* argentique (dual-color sish) dans la détection De l'amplification génique de her2 Dans les cancers gastriques À un stade avancé, Direction de l'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé (DETMIS) Centre hospitalier de l'Université de Montréal Novembre 2012.

**S**

Sevenet N, Cottu p N. Génomique et cancer du sein : apport des puces a ADN. *Bull Cancer* 2004 ; 91 (spécial) : S226-3.

Sarah Mombelli .Cancers du sein et Immunologie anti-tumorale, THESE, Pour obtenir le grade de, DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE, Le 22 décembre 2014.

**T**

Terki. N et col. Incidence annuelle du cancer du sein dans la population Algérienne diagnostiquée au niveau des centres de référence d'anatomopathologie en Algérie. Le fascicule de la santé n°19- Avril 2015.

Taddei I, coll, Aspect histology. *Nat. Cell. Biol.* « B1 Integrin Deletion from the Basal Compartment of the Mammary Epithelium Affects Stem Cells ». Juin 2008; vol, 10 p.

**W**

Wolff CA, Hammond MEH, Schwartz JN, et al. American Society of Clinical oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007 ; 25 : 118-145.

Les Annexes

Annexe A

Tableau 1 : Classification moléculaire l'OMS (2012).

| | RH | HER2 | KI67 |
|------------------------------|-----------------------|------------------------|-------------|
| Luminal A | Positif (Score élevé) | Négatif | <14% |
| Luminal B | Positif | Négatif | >14% |
| HER2 HER2/Luminal | Négatif Positif | Positif Positif | Taux élevé |
| Triple négatif | Négatif | Négatif | Taux élevé |

Tableau 2: Classification TNM du cancer du sein, 7e édition 2010

| Tumeur Primaire T |
|---|
| <p>Tx : la tumeur primitive ne peut pas être évaluée</p> <p>T0 : la tumeur primitive n'est pas palpable</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Tis : carcinome in situ ● Tis (DCIS) : carcinome canalaire <i>in situ</i> ● Tis (CLIS) : carcinome lobulaire <i>in situ</i> ● Tis (Paget) : maladie de Paget du mamelon sans tumeur sous-jacente ● NB : la maladie de Paget associée à une tumeur est classée en fonction de la taille de la tumeur <p>T1 : tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T1mic : micro-invasion ≤ 1 mm dans sa plus grande dimension</p> <ul style="list-style-type: none"> ● T1a : 1 mm < tumeur ≤ 5 mm dans sa plus grande dimension ● T1b : 5 mm < tumeur ≤ 1 cm dans sa plus grande dimension ● T1c : 1 cm < tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension <p>T2 : 2 cm < tumeur ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T3 : tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension</p> <p>T4 : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral ● T4b : œdème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein ● T4c : T4a + T4b <p>● T4d : cancer inflammatoire</p> |

| Ganglions lymphatiques régionaux Pn |
|--|
| <p>Nx : l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué (par exemple déjà enlevés chirurgicalement ou non disponibles pour l'analyse anatomopathologique du fait de l'absence d'évidement)</p> <p>N0 : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées</p> <ul style="list-style-type: none"> ● N0 (i-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude immunohistochimique négative · N0 (i+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, IHC positive, avec des amas cellulaires \leq 0,2 mm (considéré comme sans métastase ganglionnaire) ● N0 (mol-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire négative <p>N0 (mol+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire positive (RT-PCR)</p> <p>N1mi : micrométastases $>$ 0,2 mm et \leq 2 mm</p> <p>N1 : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique</p> <ul style="list-style-type: none"> ● N1a : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ● N1b : envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ● N1c : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique (pN1a+ pN1b) <p>N2 : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire</p> <ul style="list-style-type: none"> ● N2a : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires avec au moins un amas cellulaire $>$ 2 mm ● N2b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire <p>N3 : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous-claviculaires (niveau III axillaire) ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ou envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux</p> <ul style="list-style-type: none"> ● N3a : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires (avec au moins un amas cellulaire $>$ 2 mm) ou envahissement des ganglions sous-claviculaires ● N3b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ● N3c : envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux |
| Métastases à distance (M) |
| <ul style="list-style-type: none"> ● Mx : renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance ● M0 : absence de métastases à distance ● M1 : présence de métastase(s) à distance |

Tableau 3: Grade histopronostique d'Elston-Ellis

| |
|---|
| Différenciation tubulo-glandulaire |
|---|

| |
|---|
| |
| Proportion de tubes ou glandes dans la tumeur (en % de surface tumorale) > 75% : tumeur bien différenciée : 1 10-75% : tumeur moyennement différenciée : 2 < 10% : tumeur peu différenciée : 3 |
| Pléomorphisme nucléaire : degré d'atypie |
| Apprécié sur la population tumorale prédominante Noyaux petits, réguliers, uniformes : 1 Pléomorphisme modéré : 2 Variation marquée de taille, de forme, avec nucléoles proéminents : 3 |
| Nombre de mitoses |
| À compter au grossissement x 400 ; 1 sur quelques champs : 1 2 sur la majorité des champs : 2 > 3 sur la majorité des champs : 3 |
| Score total par addition des 3 paramètres |
| 3-4-5 : Grade I 6-7 : Grade II 8-9 : Grade III |

Annexes B

1.2.1. Appareillage :

- Automate leica Asp6025
- Automate SLEE Mps /W
- Automate leica stv4040
- Microtome (SLEE)
- L'étuve (dual-use)
- Bain-marie (80°C –bouillant)
- Chambre humide
- Microscope optique (10à60GX)
- Plaque chauffante
- Les lames couvre-objets (24x60mm)

-Ventana Roch (Bench Mark-ultra)

1.2.2. Réactifs et matériaux :

-Les blocs

-Les lames silanisées

-Xylène

-Peroxydases

-Hématoxyline

-Ethanol

-Ammoniac

-Dako Pen

-éosines

-Alcool

-Eukihanic handing

Annexes C



Microtome



Bain-marie



L'étuve



Chambre humide



Ventana Roch



Microscope optique



Automate Slee Mps /W



Automate leica stv4040



Automate leica Asp6025

Appareillages



Hématoxyline



DAB (HIC)



HRP (HIC)



Batterie d'Alcool



Le kit



Réactive Ventana Roch



TBS Solution de lavage



L'eau distillée



ÉosineHématoxylineAmmoniac



Paraffine



Les lames



Les blocs

Réactifs et matériaux

Annexes D

LES DES PATINTES

| Matricule | Age | Type histologique | Grade SBR |
|-----------|-----|---|-----------|
| 569/16 | 40 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 593/16 | 53 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 647/16 | 35 | Carcinome infiltrant «NOS » | I |
| 1211/16 | 56 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 1422/16 | 34 | Carcinome infiltrant «NOS » bifocale+composant mucineux | III |
| 1573/16 | 33 | Carcinome infiltrant «NOS » | III |
| 1556/16 | 54 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 1959/16 | 27 | Carcinome infiltrant «NOS » | I |
| 2044/16 | 45 | Carcinome lobulaire infiltrant | II |
| 2080/16 | 53 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2152/16 | 47 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2249/16 | 42 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2339/16 | 45 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2321/16 | 46 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2418/16 | 37 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2571/16 | 46 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2582/16 | 80 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 2821/16 | 51 | Carcinome lobulaire infiltrant | II |
| 2874/16 | 64 | Carcinome.Micropopulaire bifocale | II |
| 3002/16 | 40 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 3014/16 | 52 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 3041/16 | 29 | Carcinome infiltrant «NOS » | III |
| 3105/16 | 45 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |

| | | | |
|-----------------|-----------|---|-----|
| 3156/16 | 38 | Carcinome infiltrant «NOS » | I |
| 3232/16 | 32 | Carcinome infiltrant «NOS » | III |
| 3270/16 | 39 | Carcinome lobulaire infiltrant | II |
| 3350/16 | 68 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 3521/16 | 71 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 3501/16 | 70 | Carcinome lobulaire infiltrant | II |
| 3775/16 | 45 | Carcinome. nucineux | I |
| 4650/16 | 47 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 8005/16 | 61 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 8317/16 | 72 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 8322/16 | 53 | Carcinome Canalaire polymorphe infiltrant | I |
| 8861/16 | 61 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 1960 /16 | 46 | Carcinome infiltrant «NOS » | II |
| 8252 /16 | 54 | Carcinome infiltrant «NOS » | III |

