



N° d'ordre :
N° de série :

Université de Ghardaïa

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Par :

- CHAHMA Sara
- LAKHAL Mokhtaria

Thème

Profil histopathologique et Immunohistochimique du cancer du sein de la wilaya de Ghardaïa

Soutenu publiquement le : .../09/2020

Devant le jury

KHENE A.	MAA	Univ. Ghardaïa	Président
TELLAI S.	DEMS en pathologie	EPH. Ghardaïa	Encadreur
KEMASSI A.	Pr.	Univ. Ghardaïa	Co-Encadreur
MEZERAI R.	MCB	Univ. Ghardaïa	Examinatrice

Année universitaire: 2019/2020

Dédicace

Tout d'abord je tiens à rendre grâce à Dieu et à sa bonté pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.

Je dédie ce travail en signe de respect, de reconnaissance et de remerciement à :

○ *Ma mère*

La femme que je chéris le plus dans ce monde, qui toujours cru en moi et a été présente à chaque moment pour me soutenir et m'encourager ce qui m'a donné la force pour continuer et aller de l'avant. C'est grâce à tes prières, à tes efforts et à ton soutien Maman que je suis arrivée là.

○ *Mon défunt père Abdallah*

Que Dieu l'accueille en son vaste paradis.

○ *Toute ma famille*

Mes frères et mes sœurs pour leur considérable soutien moral et leurs encouragements permanents tout au long de mon parcours universitaire.

○ *Tous mes amis.*

○ *Ma binôme Mokhtarîa et toute la famille Lakhal.*

○ *À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit réalisé. Je vous remercie du fond de mon cœur. Sans oublier monsieur Menmeche.M*

Que Dieu vous bénisse et vous accorde santé et prospérité.

Sara

Dédicace

Je dédie ce travail avec ma profonde gratitude à:

- *Ma mère et mon père pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance.*
- *Mes sœurs NASSIBA, KHADIDJA, NACIRA, IMANE et SABAH.*
- *Mes frères AMINE et OMAR ABD EL KAFI.*
- *Mes chères AICHA, SOUMIA, ASMA, SALMA*
- *Ma binôme SARA et sa famille CHAMA*

Mokhtaria

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre plus profonde reconnaissance à :

***Dieu**, le tout puissant, pour nous avoir donné la force dans les moments difficiles pour réaliser ce mémoire.*

***Docteur : TELLAI S.** Assistant santé publique (EPH Ghardaïa);*

Nous vous exprimons notre profonde gratitude pour nous avoir fait l'honneur de diriger ce thème. Vous nous avez orientés lors de la réalisation de ce travail. Nous vous remercions également pour vos conseils, votre aide et votre disponibilité. Nous vous remercions de votre participation et de votre intérêt pour ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance. Nous souhaitons que ce travail soit à la hauteur de vos espérances.

***Notre Co-encadreur KEMESSIA.** Professeur au département de biologie, à la faculté de SNVST- Université de Ghardaïa;*

Vous nous avez accordé un grand honneur en acceptant de nous Co-encadrer et de nous diriger. Veuillez trouver ici, cher professeur, le témoignage de notre haute admiration et de notre sincère gratitude.

Nous remercions vivement

***M. KHENE A.** Maître-assistant au département de biologie à la faculté SNVST- Université de Ghardaïa)*

***Mme Mezeraï R.** (Maître de conférences au département de biologie à la faculté SNVST- Université de Ghardaïa) de l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail de mémoire. Veuillez trouver, l'expression de notre grande estime.*

*Nous remercions ainsi **Mme. DJOUDI.M**, **Mme SAFFI.H.** (Ingénieur Génie Biologie A EPH TIRICHINE BRAHIME). **Mme HALIS.F** et **Mme BOUCETTA.M.** (Secrétaire médicale au service d'anatomopathologie), **Mme LESVIA ORTIZ MARZO.** (Laborantine A l'EPH TIRICHINE BRAHIM, service d'anatomopathologie), **M. BOUCETTA .O.** (Laborantin à la Clinique d'OASIS, service d'anatomopathologie). Merci pour votre aide, orientation, encouragements et disponibilité*

Résumé

L'objectif de notre travail est de réaliser une étude histopathologique sur les techniques histologiques et immunohistochimiques (IHC) des cancers mammaires. L'analyse histopathologique est suivie par la recherche du profil hormonale notamment de l'oncoprotéine HER2 (human epidermal growth factor receptor 2), et RP (récepteur progestatif), RE (RE /RO récepteurs aux estrogènes) et l'expression de KI67 (Cell cycle related protien).

L'étude réalisée sur un échantillonnage de 222 patientes (2017 jusqu'à le premier trimestre de 2020), au niveau du service d'anatomopathologie à l'EPH (Etablissement populaire Hospitalier De Ghardaïa Tirichine Brahim) et la clinique d'oasis.

Les résultats obtenus de cette étude sont : la tranche d'âge la plus affectée par ce type du cancer est celle qui est comprise entre 41 à 48 ans, elle représente (27,02%) soit 60 cas. 186 cas micro biopsie (83,78%) et 36 cas de mastectomie (16,22%) et le type histologique le plus fréquent est le carcinome infiltrant non spécifique est de 186 cas (83,78%). Le grade II occupe 132 cas (74,51%).

Du point de vue Immunohistochimique, les proliférations hormonosensibles RE+ RP+ Représentent respectivement (65,38%) et (13,47%) cas. Le statut HER2 négatif est (65%) et KI67 est surexprimé dans (70% ; 65% ; 50% respectivement) chez les cas étudiés.

Ce qui nous a permis une classification moléculaire des cancers du sein (carcinomes) :

- Luminal A : (récepteurs hormonaux positifs, Her2 négatif et de faible Ki-67): ce type représente (50%) soit 26 cas ;
- Luminal B : (récepteurs hormonaux positifs, Her2 négatif et de ki-67 élevé) : (15,38%), soit de 08 cas ;
- Her2 : (récepteurs hormonaux négatifs et Her2 positive) : de (19, 24%) soit 10 cas ;
- Triple négatif : (récepteurs hormonaux négatifs et Her2 négatif) : de (15, 38%) soit de 08 cas).

Mots Clé: Cancer du Sein, histopathologie, Immunohistochimie, HER2, RO, .RP, .KI67, Ghardaïa.

Abstract

The histopathological analysis is followed by the search for the hormonal profile, in particular for the oncoprote in HER2 (humane pidermal growth factor receptor 2), and PR (progestogen receptor), ER (ER / OR estrogen receptors) and the expression of KI67 (Cell cycle related protien).

The study, carried out on a sample of 222 patients (2017 until the first quarter of 2020), is carried out at the level of the pathology service at EPH (Popular Hospital of Ghardaïa Tirichine Brahim) and the oasis clinic. It is noted that the age group most affected by this type of cancer is that between 41 and 48 years, it represents 27.02% or 60 cases. 186 cases of micro biopsy (83.78%) and 36 cases of mastectomy (16.22%), and the most common histological type is invasive non specific carcinomais 186 cases (83.78%). Grade II occupies 132 cases (74.51%). From the immunohistochemical point of view, the hormone-sensitive proliferations RE + RP + respectively represent (65.38%) and (13.47%) cases. The HER2 negative status is 65% and KI67 is over expressed in. This allowed us a molecular classification of breast cancers (carcinomas):

- Luminal A: (hormone receptors positive, Her2 negative and low Ki-67): this type represents (50%) or 26 cases,
- Luminal B: (hormone receptors positive, Her 2 negative and high ki-67): (15.38%), i.e. 08 cases
- Her2: (negative hormone receptors and positive Her2 (19, 24%) or 10 cases;
- Triple negative: (negative hormone receptors and Her 2 negative (15, 38%) or 08 cases

Key word: breast cancer; immunohistochemistry; HER 2, RO, .RP, .KI67, Ghardaia

الملخص

الهدف من عملنا هو إجراء دراسة نسيج سرطان الثدي باستعمال تقنية التحليل النسيجي ، الكيمائي-المناعي، التحليل التشريحي متبوع بتحليل هرموني، ولا سيما عن البروتين الورمي (HER2) الذي يمثل مستقبل عامل نمو البشرة البشري 2، و مستقبلات الهرمونات (RP) مستقبلات هرمون البروجستيرون (RE) مستقبلات هرمون الأستروجين (RE/RO) والتعبير عن (KI67) (بروتين متعلق بدورة الخلية). أجريت الدراسة على عينة قوامها 222 مريضاً خلال سنة 2017 حتى الفصل الأول من عام 2020 على مستوى مصلحة التشريح الباطني في بمستشفى تريشين إبراهيم وكذا عيادة الواحات بولاية غرداية. ويلاحظ أن الفئة العمرية الأكثر تضرراً من هذا النوع من السرطان هي تلك المحصورة بين 41 و48 عاماً والتي تمثل 27.02% أي 60 حالة. 186 حالة خزعة مجهرية أي 83.78% و36 حالة استئصال للثدي (16.22%)، والنوع النسيجي الأكثر شيوعاً هو السرطانات الغازية غير النوعية 186 حالة (83.78%)، تحتل الدرجة الثانية 132 حالة (74.51%). من وجهة نظر الكيمياء المناعية، تمثل حالات التكاثر الحساسة للهرمونات (RE + RP+) على التوالي 65.38% و13.47% حالة. الحالة السلبية (HER2) بنسبة 65% و حالة الإفراط في التعبير (KI67) ، سمحت لنا هذه الحالات بالتصنيف الجزيئي لسرطان الثدي كما يلي:

- (Luminal-A): مستقبلات هرمون موجبة، (2Her) سلبي ومنخفض (Ki-67): هذا النوع يمثل (50%) أي 26 حالة.
- (Luminal-B): مستقبلات هرمون موجبة، (2Her) سلبي و (ki-67) عالي: 15.38%، أي 08 حالات
- (Her 2): مستقبلات الهرمونات السلبية و (Her2) موجبة، 19.24% أي 10 حالات؛
- ثلاثية سلبية: مستقبلات الهرمونات السلبية و (Her2) سالب 15.38% أو 08 حالات.

الكلمات الدالة: سرطان الثدي، الكيمياء المناعية، مستقبلات البروجستيرون (RP)، مستقبلات الأستروجين (RO) (HER2-KI67)، غرداية.

Liste des abréviations

ACR: American College of Radiology
ADN : Acide désoxyribonucléique
AFAQAP : Association Française d'Assurance Qualité en Anatomie et Cytologie Pathologiques
Ag CALLA : Antigène CALLA
AJCC: American Joint Committee on Cancer
AML: Actine-Muscle Lisse.
ARN: Acide Ribo nucléique
ASCO: American Society for Clinical Oncology
ATM: Ataxietélangiectasie
BRCA: Breast Cancer susceptibility gene
C.G.H : Hybridation génomique Comparative
CAP: College of American Pathologists
CCI : Carcinome canalaire infiltrant
CCIS : Carcinome Canalaire In Situ
Cdk1 : cyclin dependent kinase
C-erbB-2: Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2
CISH: Chromogenic In Situ Hybridization
CK: Cytokératine
CLI : Carcinome lobulaire infiltrant
CLIS : Carcinome lobulaire in Situ
C-Myc : myelocytomatosis
CO: Contraception oral
CP : Communication. Personnelle
EGF: Epidermal Growth Factor
EGF: épidual growth factor ou facteur de croissance épidermique
EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor
EHS : Etablissement Hospitalier Spécialisé
EPH : Etablissement populaire Hospitalier.
ErbB oncogène d'un virus d'érythroblastose aviaire
ESR: Estrogen Receptor Gene
F.D.A: Food and Drug Administration
FISH : Fluorescence In Situ Hybridization
GATA3: GATA binding protein 3
GEFPICS : Groupe d'Etude des Facteurs Pronostiques Immunohistochimiques dans les Cancers du Sein
GFAP: Glial fibrillary acidic protein, protéine acide fibrillaire gliale (SNC)
GLIAL : fibrillaryacidicprotein
GS: Ganglion sentinelle
HE : Hématoxyline-Eosine
HER2: Human Epidermal growth factor Receptor 2
HIER: récupération d'épitopes induite par la chaleur
IHC : Immunohistochimie

INCA : Institut National du cancer
IRM : Imagerie par résonance magnétique
Ki-67: Cell cycle related nuclear protein
MGG: Grunewald Giemsa
MIB-1 : MindbombHomolog 1
NST : Non spécifique tumeur
OMS : Organisation mondiale de la santé
P53 : Protéine 53
P63 : Protéine 63
P100 :Protéine 100
PAM : Plaque aréolo-mamelonnaire
Rb : Rétinoblastome
RCP : Réunion de concertation pluridisciplinaire
RE alpha : Récepteurs aux œstrogènes alpha
RE beta : Récepteurs aux œstrogènes beta
RE/RO : Récepteurs aux œstrogènes
RH : Récepteurs Hormonaux
RP : Récepteur Progestatif
SAI : sans autre indications
SBR : Scarff Bloom et Richardson
SG : Signature Génomique
SISH: Silver in Situ Hybridization
TC: Tissu conjonctif
TDLU: Terminal Duct Lobular Unit
TDM: Tomo densito métrie
TGF-a: Tumor Growth Factor-a.
TN : Triple Négatifs
TNS : Type Non Spécifique
UICC : Union Internationale Contre le Cancer.
UTDL : unité terminale ducto-lobulaire.
WHO : World Health Organization

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des figures photos	

Introduction

Chapitre I. Généralités sur les glandes mammaires

I.1	Embryologie	20
I.2	Anatomie	20
I.3	Description.....	20
I.3.1	Vascularisation artérielle	21
I.3.2	Vascularisation veineuse.....	21
I.3.3	Réseau lymphatique	22
I.3.4	Innervation	22
I.4	Nomenclature des quadrants.....	23
I.5	Histologie.....	24
I.5.1	Structure générale	24
I.5.2	Aréole et le mamelon	25
I.5.3	Lobes et lobules	26
I.5.4	Canaux galactophores	27
I.5.5	Caractéristiques immunohistochimiques	27
I.6	Développement de la glande mammaire	28
I.7	Carcinogénèse mammaire :(histoire naturelle du cancer du sein).....	30
I.8	Facteurs biologiques et moléculaires	30
I.9	Données épidémiologiques.....	32
I.9.1	Epidémiologie descriptive	32
I.10	Facteurs de risque du cancer du sein	34
I.10.1	Facteurs de risque internes (aggravant).....	34
I.10.2	Facteurs de risque externes	34
I.11	Classification Histologique du cancer du sein.....	35

I.11.1	Carcinome non invasif (<i>in situ</i>) :.....	35
I.11.2	Carcinome invasif (infiltrant) (CI)	35
I.11.3	Les formes particulières	35
I.12	Classification moléculaire des sous-types de cancers du sein.....	36
I.12.1	Les récepteurs hormonaux (RH)	36
I.12.2	HER2	36
I.12.3	L'antigène Ki-67	36
I.13	Classification Tumeur Node Metastasis (TNM)	37
I.14	Le grade histopronostique	37
I.15	Moyens diagnostiques	38
I.15.1	Diagnostic clinique.....	38
I.15.2	Examen clinique.....	38
I.15.3	Examens d'imagerie.....	39
I.15.4	L'échographie.....	39
I.15.5	Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	39
I.15.6	Examen anatomopathologique	39
I.16	Traitements	39
I.16.1	Chirurgie.....	39
I.16.2	Chimiothérapie	40
I.16.3	Radiothérapie	40
I.16.4	Hormonothérapie.....	40
I.16.5	Thérapie ciblée	40

II. Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1	Origine des échantillons.....	42
II.2	Matériels	43
II.2.1	Appareillage	43
II.2.2	Réactif et produit.....	45
II.3	Techniques de prise en charge des échantillons	45
II.3.1	Réception.....	45
II.4	Etude histopathologique	46
II.4.1	Etude macroscopique	46
II.4.2	Technique histologique	47
II.5	Etude immunohistochimique (IHC)	56
II.5.1	Principe.....	56

II.5.2	Les témoins internes et externes.....	57
II.5.3	Méthode.....	58

III. Chapitre III.Résultats et discussion

III.1	Résultat d'étude épidémiologique	66
III.1.1	Répartition de l'échantillon selon les années	66
III.1.2	Répartition en fonction de l'âge	66
III.1.3	Répartition selon le type de prélèvement	68
III.2	Résultat d'étude histologique	69
III.2.1	Répartition selon les types histologiques	69
III.2.2	La répartition selon les grades histologiques	70
III.3	Résultats d'étude immunohistochimique (Moléculaire).....	70
III.3.1	Répartition selon les récepteurs hormonaux (RH)	70
III.3.2	Répartition de HER2 :	72
III.3.3	Expression de Ki-67	72
III.4	Classification moléculaire (les sous types luminal)	73

Conclusion

Référence

Annexe

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique d'une coupe sagittale au niveau d'une glande mammaire	21
Figure 2 : Vascularisation artérielle du sein.....	21
Figure 3 : Voies lymphatiques du sein.	22
Figure 4 : Innervation du sein.....	23
Figure 5 : Dénomination des Quadrants du sein.	24
Figure 6 : structure de l'unité ducto- lobulaire. configuration interne du sein et aspect fonctionnel..	25
Figure 7 : Représentation schématique de la structure d'un acinus mammaire ou alvéole	25
Figure 8 . Histologie de lobe et lobule mammaire (TC : tissu conjonctif).....	26
Figure 9 : Immunohistochimie du sein.....	28
Figure 10 : Structure et développement des lobules mammaires (Lasserre A, 2016).....	29
Figure 11 : Taux d'incidence estimé et normalisé selon l'âge du cancer du sein dans le monde, en 2018.	33
Figure 12 : Les localisations cancéreuses les plus fréquentes chez la femme en Algérie en 2018	33
Figure 13 : Différentes étapes de la coloration histologique.....	54
Figure 14 : Principe d'immunoréactions indirecte	57
Figure 15 : Procédure Du Protocol Manuel En Vision™ Flex System Dako	58
Figure 16 : Graphique en Secteur montrant la répartition de l'échantillon selon l'année.....	66
Figure 17 : Répartition des cas selon les tranches d'âge.	67
Figure 18 : Répartition de cancer de sein selon le type de prélèvement	68
Figure 19 : Répartition des cas selon le type histologique	69
Figure 20 : Répartition de tumeurs selon le grade histologique.....	70
Figure 21 : La répartition des cas selon les récepteur hormonaux.	71
Figure 22 : Répartition des patientes selon l'expression du HER2.....	72
Figure 23 : Répartition des patients selon l'expression du Ki67.....	73
Figure 24 : Répartition selon la classification moléculaire	73

Liste des photos

N°	Titre	Page
Photo 1	Pièce de mastectomie radicale pour néoplasie maligne largement ulcérée (originale)	42
Photo 2	xérèse	49
Photo 3	Etude macroscopique de la pièce, et sa dissection en petits fragments. Vue antérieure d'une pièce de mastectomie avec mensuration à côté	50
Photo 4	Etapes de préparation des échantillons pour les coupes histologiques au microtome (original)	52
Photo 5	La mise en place des fragments d'une pièce opératoire (01) biopsie(02) dans une cassette numérotée (originale).	52
Photo 6	Inclusion en paraffine : Réalisation des blocs (original)	53
Photo 7	Refroidissement des blocs	54
Photo 8	Les coupes au microtome et l'obtention des coupes sous forme d'un ruban(original).	55
Photo 9	Etalement des coupes sur la lame (original)	56
Photo10	Séchage des lames (originale).	59
Photo11	Etapes de montage des lames (original)	59
Photo12	Observation des coupes colorées par microscope photonique double tête(original)	60
Photo13	déparaffinage Les lames sont mises dans l'étuve à température du (75°C pendant 24h)	62
Photo14	Bacs à solution de démasquage avec les lames sont dans le bain marie	63
Photo15	Traçage avec le Dako Pen et le dépôt de l'AC primaire (Flèches et cercle rouge	64
Photo16	Dépôt de la solution de blocage des peroxydases endogènes	64
Photo17	incubation de l'anticorps primaire. Dans la chambre humide à une température ambiante de 18 à 25°C	65
Photo18	dépôt de l'AC secondaire couplé à la peroxydase (HRP rabbit/mouse)	66
Photo19	Préparation puis application du DAB sur les lames et apparition des taches	66
Photo20	Application du L'Hématoxyline sur les lames	67
Photo21	Hyperplasie canalaire : HE (A:Gx40;B : Gx25) Service anatomiepathologique/clinique des oasis(Original)	77
Photo22	Carcinome canalaire infiltrant non spécifique. HE (A : G x10) (B : G x25) ;(C:Gx40). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis(Original)	77
Photo23	Emboles vasculaires HE (Gx25) ; Service anatomie pathologique/ clinique des oasis(Original)	78
Photo24	Métastase ganglionnaire d'un carcinome canalaire infiltrant (AHEx10) B (HEx25). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis	78
Photo25	Immunomarquage : récepteur œstrogène marquage intense et diffus (GX25).. Service anatomie pathologique/ clinique des oasis(original)	79
Photo26	Immunomarquage : récepteur progestérone marquage intense et diffus marquage fort diffus (GX40). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis (original)	79
Photo27	Immunomarquage : HER2 (GX10et40) Service anatomie pathologique/ clinique des oasis (original)	80
Photo 28	Immunomarquage : De KI67, marquage nucléaire intense, pourcentage fort 60% (GX40). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis	

Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition de l'échantillon selon l'année.	66
Tableau 2: Répartition des cas en fonction de l'âge	67
Tableau 3 : la répartition des cas selon le type de prélèvement.....	68
Tableau 4 : Répartition des cas selon les types histologiques	69
Tableau 5 : La répartition de tumeurs selon le grade histologique	70
Tableau 6 : Répartition des patients selon les récepteurs progestatifs.....	74
Tableau 7 : Répartition des patients selon les récepteur ostrogéniques.....	75
Tableau 8 : la répartition selon les récepteur hormonaux.	71
Tableau 9 : Répartition des patients selon l'expression du HER2.....	72
Tableau 10 : Répartition des patientes selon l'expression du Ki67.	72
Tableau 11 : Répartition selon la classification moléculaire	73

A large, stylized pink awareness ribbon is centered on the page. The ribbon is rendered with a gradient from light pink to a darker magenta. It is set against a faint, light gray diamond-shaped grid pattern. The word "time" is printed vertically in a small, light pink font on several segments of the ribbon. The word "breast" is also visible on one of the lower segments.

Introduction

Introduction

Le cancer du sein se définit comme l'affection tumorale maligne de la glande mammaire. Il existe plusieurs type histopathologique, notre étude a porté sur les tumeurs épithéliales (carcinomes). C'est une prolifération néoplasique maligne des cellules épithéliales au niveau canalaire ou lobulaire. Les cellules malignes détruisent le tissu mammaire, peuvent envahir les tissus qui les entourent et se propager à d'autres parties du corps, on parle alors de métastase. Les ganglions lymphatique axillaires sont les premiers touchés, suivent le foie, le poumon, les os et le cerveau qui représentent respectivement les cibles métastatiques les plus courantes du cancer du sein (Tellai S, 2020 com. Pers.).

Son incidence ne cesse d'augmenter d'année en année malgré les multiples progrès de la science en matière du diagnostic et du traitements et aussi l'apparition des thérapies spécifiques (ciblées) (Tellai S, 2020 com. Pers.).

Au monde, environ 2,1 millions de nouveaux cas était enregistré en 2018 soit 11,6% de tous les cancers (Abdelaziz, 2019).

En Algérie, ce type du cancer occupe la première place et représente 50% des cancers gynécologiques, son incidence est de (88,4%) /100000 hab.L'âge moyen est de 51,4 et l'âge médian 50ans.La tranche d'âge ou le cancer du sein est le plus fréquent et [45-49] (Hammouda, et *al.*, 2017).

A Ghardaïa le cancer du sein occupe également la première place des cancers chez la femme en effet ,45% des cancers , avec une tranche d'âge [41 /48]. De par sa fréquence le cancer du sein constitue un problème de santé publique.

Les facteurs cliniques et pathologiques comme la taille tumorale, le type histologique, le grade histologique, les métastases ganglionnaires, la présence d'une composante in situ et l'âge peuvent servir comme facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse à une thérapie adjuvante, (Tavassoli ,et *al.*, 2004). Parmi ces facteurs les récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone et l'HER-2 dont l'expression est extrêmement importante dans la biologie du cancer du sein vu qu'elle apporte au clinicien une information d'ordre pronostique et thérapeutique : classification moléculaire (Almasri, et *al.*,2005).

Son diagnostic repose toujours sur le trépied histo-radio-clinique (les signes cliniques les critères radiologiques avec classification BIRADS, le type histologique et le profil immuno-histochimique permettent d'assoier le diagnostic et d'orienter la thérapeutique).Sa prise en charge doit absolument être multidisciplinaire (Tellai .S, 2020 com. Pers.).

Le présent travail est réalisé au service d'anatomie pathologique de l'établissement public Hospitalier "Dr. Tirichine Brahim- Ghardaïa" et du département anatomie pathologique de la clinique des Oasis. Il porte sur l'apport de l'étude histopathologique (les techniques histologiques et immunohistochimiques) dans le diagnostic et l'évaluation du profil hormonal des carcinomes mammaires (RE, RP) et de l'HER2 ki67.

Ces deux techniques sont les plus utilisées, principalement à cause de leur facilité d'application dans les laboratoires de pathologie et en raison de leurs précisions dans les diagnostics morphologiques des cellules tumorales.

En outre, cette étude permet la détermination du profil anatomo-pathologique des carcinomes mammaires et la mise en évidence des corrélations susceptibles d'exister entre les récepteurs hormonaux, l'HER2 et les facteurs pronostiques clinico-pathologiques dont l'âge, taille de la tumeur, type histologique, grade histologique, les embolies néoplasiques, l'infiltration ganglionnaire et le Ki67.

Le présent travail comporte trois chapitres; Le chapitre I, est consacré à une étude bibliographique sur le cancer du sein : généralités (embryologie, anatomie, histologie) histoire naturelle du cancer. Le matériel biologique et l'ensemble des protocoles utilisés au cours de l'expérimentation sont présentés dans le deuxième chapitre. Le troisième chapitre regroupe les résultats obtenus et leurs discussions. Le travail est terminé par une conclusion, qui est un ensemble de réflexions qui achève cette étude.

A large, stylized pink awareness ribbon is centered on the page. The ribbon is composed of several overlapping, semi-transparent segments that create a sense of depth and movement. The word "time" is printed vertically on the left side of the ribbon, and the word "dreams" is printed vertically on the right side. The ribbon is set against a light gray, diamond-shaped frame that is slightly offset from the center.

Chapitre I. Généralités sur les glandes mammaires

1.1 Embryologie

Les glandes mammaires dérivent des crêtes mammaires qui apparaissent vers la 6^{ème} semaine de vie intra-utérine. A la 8^{ème} semaine, il ne persiste qu'un petit épaissement : le bourgeon mammaire. Les cordons cellulaires s'enfoncent dans le mésenchyme et donnent naissance aux bourgeons primaires puis secondaires. Ces formations vont se canaliser vers le 8ème mois. Le tissu conjonctif fibreux et la graisse de la glande mammaire se développent à partir du mésenchyme. (Bourstyn, 2008).

1.2 Anatomie

Le sein est un organe pair et globuleux situé en avant et en haut du thorax. Il contient la glande mammaire (qui se développe au moment de la puberté) noyée dans du tissu graisseux. Le sein est constitué d'un mamelon, entouré d'une aréole et de peau péri-aréolaire (Netter,2007) (Figure1).

1.3 Description

Un sein normal pèse entre 250 et 400 g avec un diamètre de 10-12 cm et une épaisseur de 5-8cm. Situé entre la 2^{ème} et la 6^{ème} arcade costale. Anatomiquement, les seins sont constitués de tissu graisseux contenant les glandes mammaires proprement dites. Ils reposent sur une couche musculaire, le muscle pectoral, recouvrant lui-même le thorax (Netter, 2007).

L'aréole : Les seins présentent, dans les deux sexes, une zone pigmentée en leur centre, de coloration marron foncée et de forme circulaire située autour du mamelon, appelée l'aréole. Chez la femme, cette zone contient de petits orifices qui correspondent aux canaux excréteurs d'une vingtaine de lobes constitués de glandes destinées à fabriquer le lait. Ces canaux excréteurs (canaux galactophores) débouchent au niveau du mamelon. Le mamelon est la saillie, l'éminence en forme de cône qui constitue la pointe du sein de la femme ou de l'homme. Les tubercules de Montgomery sont des petits grains disséminés à la surface de l'aréole. Ils deviennent saillants vers la huitième semaine de grossesse (Drake, et al., 2015).

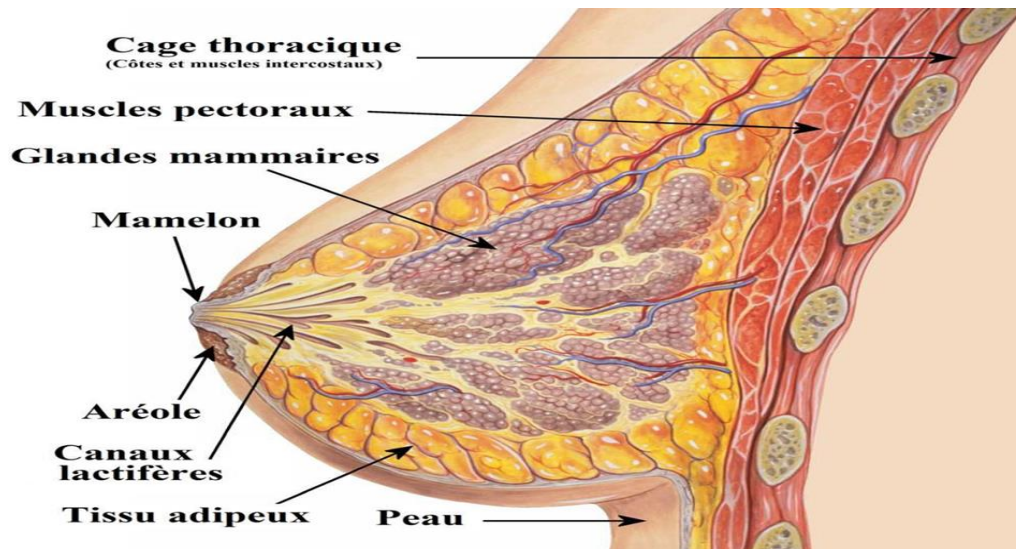


Figure 1: Représentation schématique d'une coupe sagittale au niveau d'une glande mammaire (Netter, 2007).

I.3.1 Vascolarisation artérielle

Elle est assurée par les deux branches de l'artère thoracique (interne et latérale) ainsi que par les artères intercostales ventrale et dorsale (Going, 2007) (Figure 2).

I.3.2 Vascolarisation veineuse

Le drainage veineux est fait par la veine cave supérieure, le canal thoracique, la veine thoracique interne, la veine thoracique latérale, et la veine axillaire (Netter, 2004).

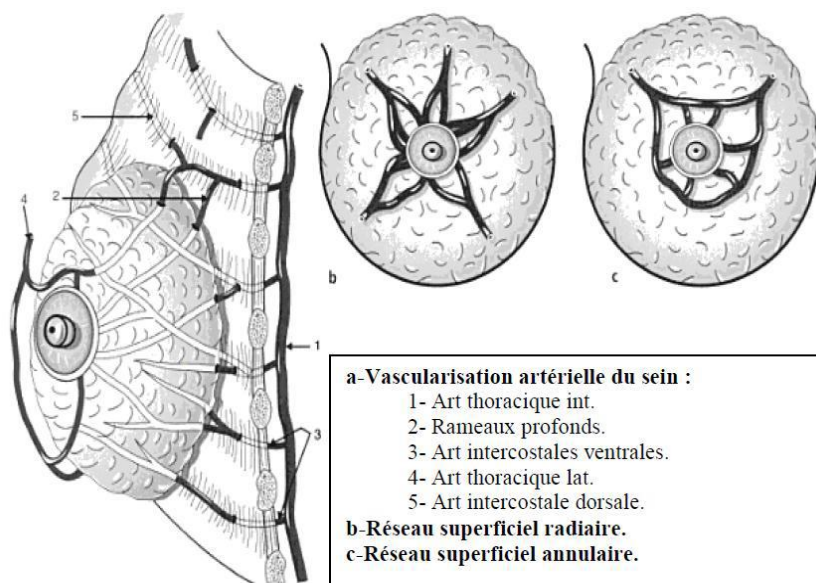


Figure 2 : Vascolarisation artérielle du sein (Going, 2007).

I.3.3 Réseau lymphatique

Le drainage lymphatique est constitué :

- D'un riche réseau cutané dans la couche profonde du derme ;
- D'un réseau glandulaire profond associé aux lobes ;
- D'un réseau péri-aréolaire (cercle de Sappey), sur lequel repose l'anastomose entre les deux premiers réseaux (Salmon, 2007);
- Du cercle péri-aréolaire partent quatre canaux collecteurs qui se dirigent vers l'aisselle, principalement vers le groupe ganglionnaire thoracique latéral. Les ganglions lymphatiques du sein convergent donc vers deux groupes essentiels : les ganglions axillaires et les ganglions para sternaux (Poli .2005). Les trois étages ganglionnaires classiques de Berg le niveau I en dessous du muscle pectoral, le niveau II en arrière, le niveau III au-dessus du tendon du petit pectoral ; gardent toute leur valeur pour le chirurgien. Les ganglions axillaires et para sternaux se jettent dans les ganglions de second niveau supra claviculaires. L'espace inter pectoral entre les muscles grand pectoral et petit pectoral est le siège des ganglions de Rotter (Salmon, 2007) (Figure 3).

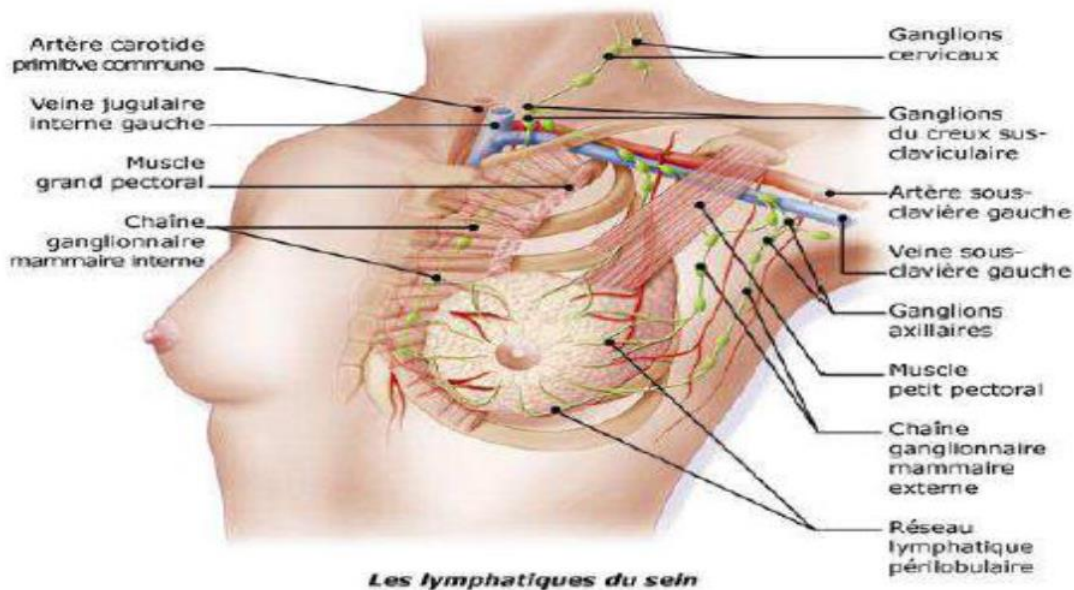


Figure 3 : Voies lymphatiques du sein (Salmon, 2007)

I.3.4 Innervation

Le sein possède une innervation somatique et une innervation végétative. C'est un organe érectile par son mamelon et fait partie des caractères secondaires sexuels de la femme.

L'innervation somatique est assurée par les 3^{ème}, 4^{ème}, et 5^{ème} nerfs intercostaux, et, pour l'aréole, par le plexus nerveux intradermique qui comprend le corpuscule du tact (corpuscule de Meissner) ainsi que le ménisque du tact (corpuscule de Merkel). L'innervation sensitive est assurée par les neurofibres afférentes (pour l'influx nociceptif) et par les neurofibres viscéro-motrices et sécrétoires (Drake R.2015) (Figure 4).

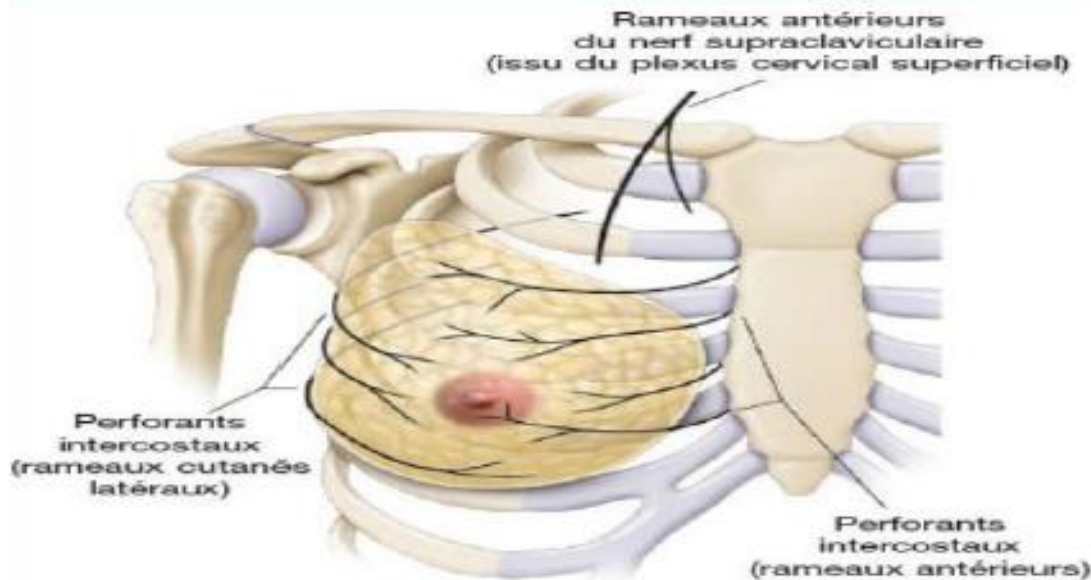


Figure 4 : Innervation du sein (Drake, 2015).

I.4 Nomenclature des quadrants

Le sein est divisé en 4 quadrants :

- ✓ Quadrant supéro- externe (QSE) ;
- ✓ Quadrant supéro- interne (QSI) ;
- ✓ Quadrant inféro- interne (QII) ;
- ✓ Quadrant inféro- externe (QIE) ;

Centrés sur la plaque aréole-mamelonnaire (PAM) ; le prolongement axillaire du sein est la zone frontière entre le quadrant supéro- externe et le creux axillaire (Razali, 2018) (Figure 5).

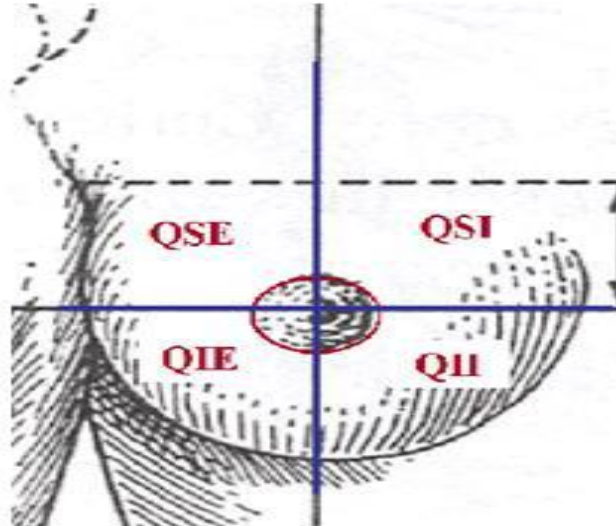


Figure 5 : Dénomination des quadrants du sein (Bourstyn, 2008).

I.5 Histologie

I.5.1 Structure générale

Schématiquement la glande mammaire est formée de 15 à 25 lobes (= unités glandulaires) disposés radialement, à différentes profondeurs, autour du mamelon. Chaque lobe est drainé par un canal galactophore collecteur qui après dilatation à la base du mamelon (sinus lactifère) va s'ouvrir à son sommet, s'abouchant à la peau. Un lobe correspond à un galactophore qui se divise par dichotomie en canaux de plus en plus étroits jusqu'à l'unité terminale ducto-lobulaire (UTDL). Une UTDL est constituée par un canalicule extra et intra-lobulaire se terminant par les acini (= canalicules terminaux, alvéoles) cernés par un tissu conjonctif palléal. Chaque UTDL est sensible aux variations hormonales. Depuis les travaux de Wellings (en 1975), il est admis que la plupart des lésions mammaires mastosiques et carcinomateuses se développent à partir de l'UTDL. Chacune des deux glandes mammaires est une glande exocrine, tubulo-alvéolaire composée, sécrétant le lait [(Razali, 2018) ; (Mills, 2007)] (Figure6 et figure 7).

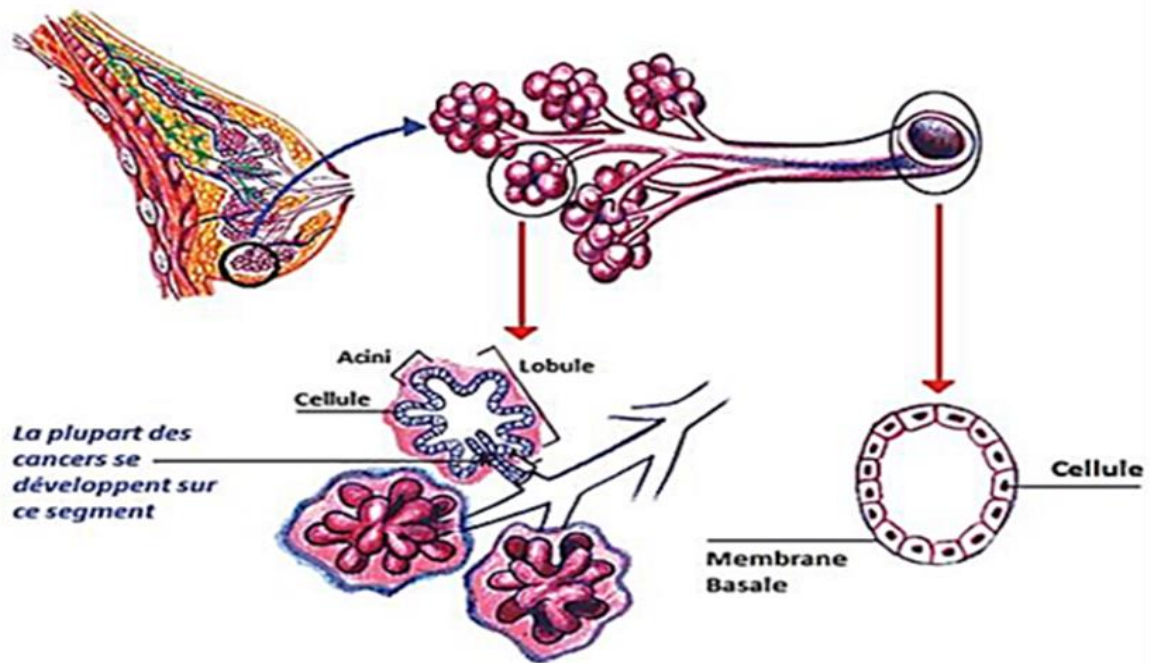


Figure 6: Structure de l'unité ducto-lobulaire. configuration interne du sein et aspect fonctionnel (Razali, 2018).

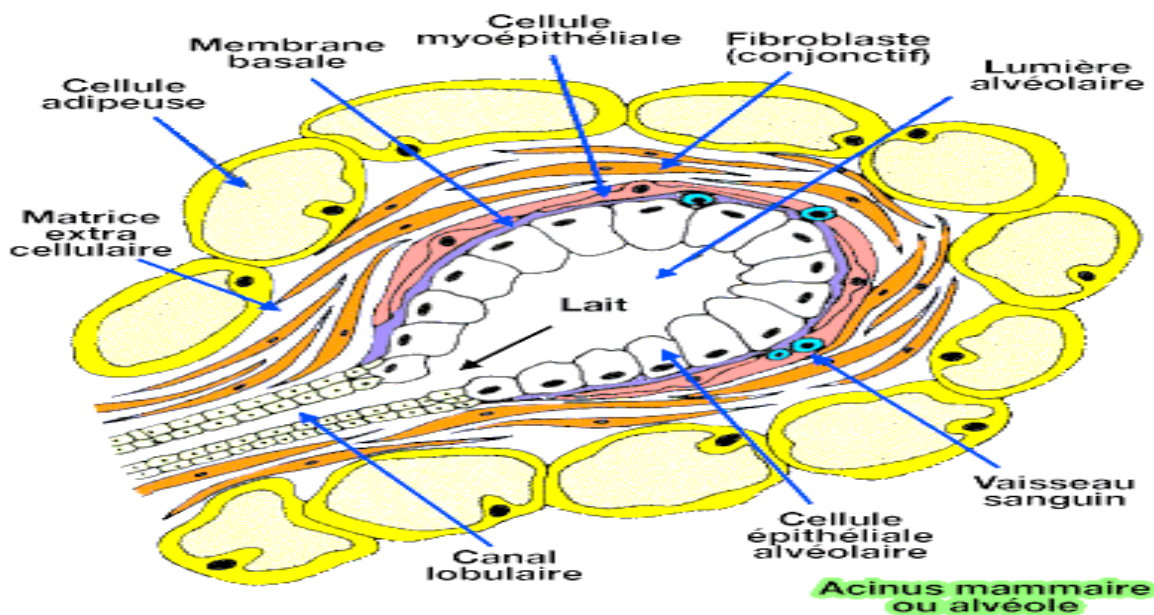


Figure 7 : Représentation schématique de la structure d'un acinus mammaire ou alvéole (Hue-Beauvais, 2014).

I.5.2 Aréole et le mamelon

Le sein est centré par l'aréole qui lui-même centré par le mamelon où se débouchent les canaux galactophoriques. Le mamelon est tapissé par un revêtement cutané mince pigmenté avec

de longues papilles dermiques. Le tissu conjonctif sous-jacent est riche en fibres élastiques et fibres musculaires lisses circulaires et radiales dont l'architecture permet l'érection du mamelon. L'aréole siège des glandes de Montgomery, ailleurs on note la présence au niveau de la zone périphérique des grosses glandes sudoripares et des glandes sébacées. L'innervation sensitive de la peau de l'aréole et du mamelon est richement développée (zone érogène)(Stevens A.2005).

I.5.3 Lobes et lobules

Son architecture est schématiquement superposable à celle des autres glandes exocrines composées. On y trouve un système ramifié de canaux excréteurs terminés en cul-de-sac par des portions sécrétrices tubulo-alvéolaires. Chaque glande mammaire est constituée de 10 à 20 lobes drainés par des canaux galactophores collecteurs « lactifères » s'ouvrant individuellement à la peau au niveau du mamelon. Chaque lobe est lui-même constitué de lobules, chaque lobule étant constitué de tubulo-alvéoles correspondant à la partie sécrétrice de la glande. Les lobes sont séparés par du tissu conjonctif dense et entourés par du tissu adipeux abondant, de même les lobules sont entourés par du tissu conjonctif dense alors que le tissu conjonctif intra lobulaire (tissu conjonctif palléal) est lâche (Mills, 2007) (Figure 8).

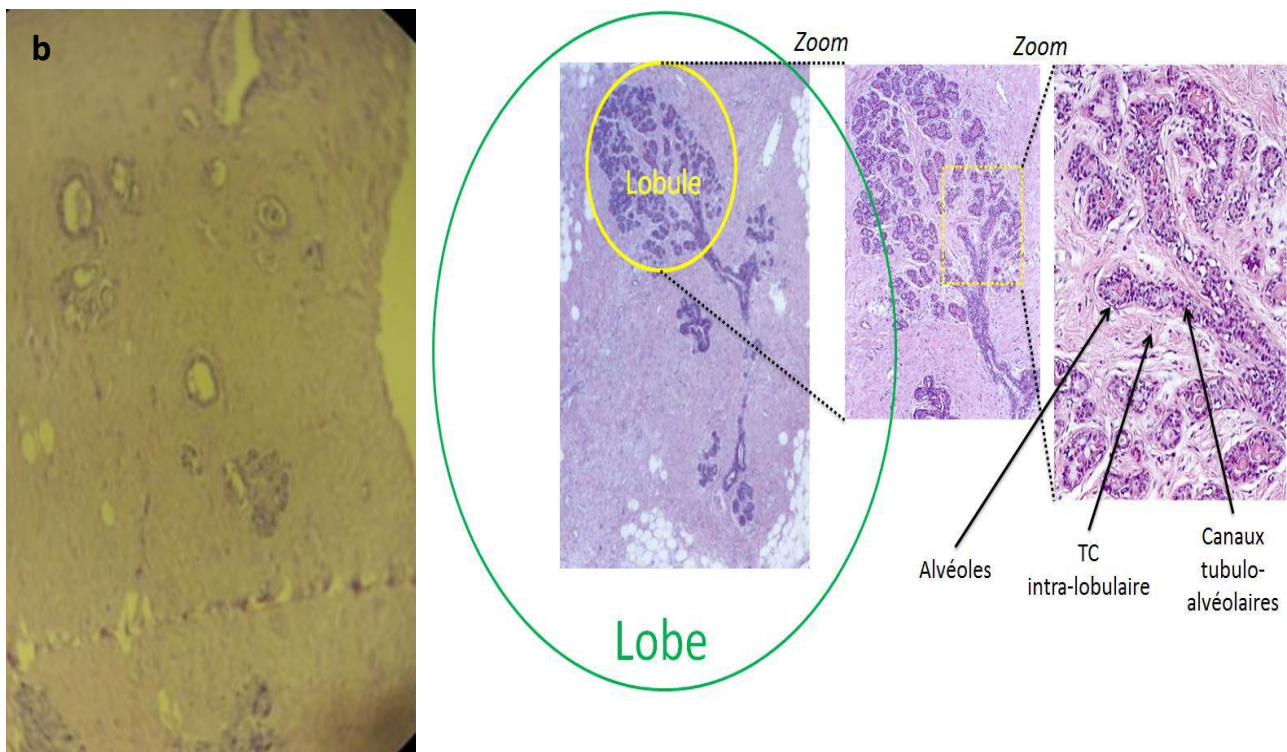


Figure 8 : (a) Histologie de lobe et lobule mammaire (TC : tissu conjonctif). (26)
 (b) Photo : Histologie lobe et lobule mammaire HE (Gx10) original

I.5.4 Canaux galactophores

Le système canalaire constitue la composante fonctionnelle de la glande mammaire. Le tissu fibreux (palléal) et graisseux entourant les canaux représente cependant la majeure partie du sein, exception faite du court segment des canaux collecteurs qui s'abouche à la peau au niveau du mamelon et qui est bordé par un revêtement de type malpighien, le système canalaire dans son ensemble est bordé par deux couches cellulaires : une couche interne de cellules épithéliales entourée par une couche externe discontinue de cellules myoépithéliales. Ces deux couches cellulaires sont délimitées par une membrane basale, elle-même cernée en périphérie par quelques fibroblastes (Mills, 2007).

Dans les canaux terminaux et les acini, les cellules épithéliales sont cubiques et les cellules myoépithéliales bien visibles, à cytoplasme clair. Dans les canaux extra lobulaires, les cellules épithéliales sont cylindriques et les cellules myoépithéliales aplaties à grand axe longitudinal.

Le tissu conjonctif intra-lobulaire (ou palléal) est un tissu " spécialisé " sans tissu adipeux, sensible aux variations hormonales, plus lâche et plus cellulaire que le tissu conjonctif interlobulaire. Les canaux extra lobulaires sont entourés par un manchon de fibres élastiques qui est inexistant autour des acini lobulaires (Mills, 2007).

I.5.5 Caractéristiques immunohistochimiques

Les cellules épithéliales et myoépithéliales présentent des caractéristiques immunohistochimiques distinctes (Kouchkar, 2014).

Les cellules épithéliales canalaire et lobulaire expriment, des cytokératines de faible poids moléculaire CK7 /8/18/19 (figure 9).

Les cellules myoépithéliales, à la différence des cellules épithéliales, expriment fortement l'actine-muscle lisse (AML), p63, les cytokératines de haut poids moléculaires CK5/6/14 et 17, la myosine, la vimentine, l'Ag CALLA, la GFAP, Caldesmone, calponine et la PS100 (figure 9). Mais en dehors de l'actine muscle lisse et la P63 qui sont utilisées en routine, les autres sont peu spécifiques ou alors nécessitent un fixateur autre que le formol (Kouchkar. A.2014).

Sur la membrane basale, la positivité des immunomarquages réalisés avec des anticorps anti-Laminine et anti-Collagène IV est caractéristique (Atkins K.2013). Les cellules épithéliales canalaire et lobulaire expriment à l'état normal RE-alpha, RE-beta et RP. Les cellules myoépithéliales, stromales et endothéliales expriment RE-beta. Durant la première phase du cycle (phase folliculaire), les cellules canalaire et lobulaire s'expriment fortement; contrairement à l'expression RE-beta et RP qui ne subit aucun changement durant le cycle (Jolicoeur, 2004). Le

niveau d'expression RE-alpha varie de 1% à 100% et généralement retrouvé dans 1% à 10% dans les cellules canalaire et dans 1% à 25% dans les cellules lobulaires (Perou, 2000), (Mac, 2009).

Les cellules épithéliales dans un sein normal n'expriment pas l'HER2 (Atkins, 2013).

L'acinus mammaire

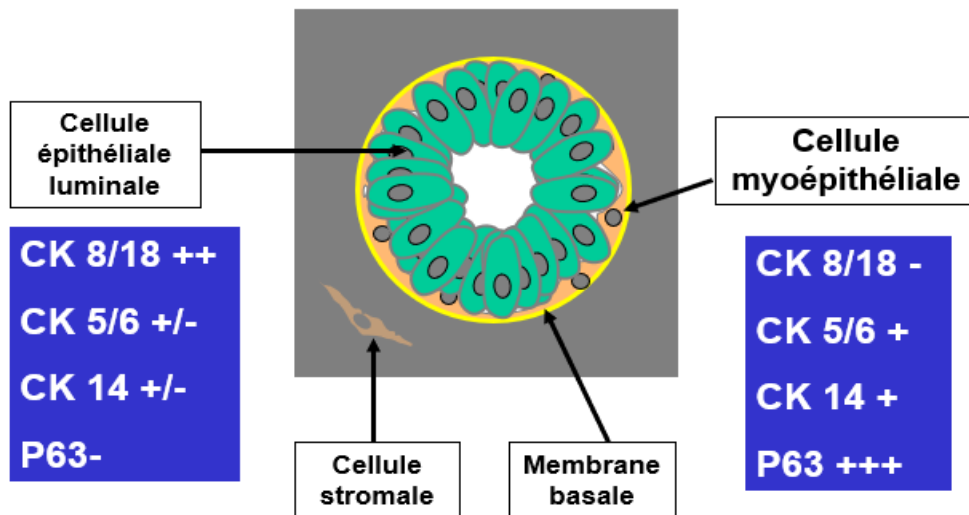


Figure 9: Immunohistochimie du sein (Mac, 2009).

I.6 Développement de la glande mammaire

Le sein se développe tout au long de la vie de la femme, du stade fœtal à la ménopause, sous l'influence des hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone) et d'un certain nombre de facteurs de croissance (Jolicoeur, 2004).

Son développement commence au cours de la vie fœtale, dès la quatrième semaine, à partir de l'ectoderme. C'est lors du troisième trimestre de la grossesse que les œstrogènes et la progestérone produite par la mère, provoquent une canalisation de l'épithélium mammaire. Une différenciation du parenchyme mammaire et la formation des canaux galactophores, ainsi que le développement du réseau lobulo-alvéolaire. Après la naissance et jusqu'à la puberté les modifications morphologiques et histologiques sont modestes. Durant l'étape pubertaire, les modifications morphologiques sont importantes mais essentiellement dues à une augmentation du tissu graisseux. Avec la mise en place des cycles menstruels, la glande mammaire est soumise à une alternance d'exposition aux œstrogènes (1ère moitié du cycle) et de la progestérone (2ème moitié du cycle). Ces changements d'équilibre hormonaux sont incapables d'induire le véritable développement de la glande mammaire.

Ce sont essentiellement les canaux qui vont se développer et se diviser pour former des bourgeons terminaux. Ces bourgeons terminaux sont à l'origine de nouvelles ramifications qui vont former des bourgeons alvéolaires, on parle alors de lobules de type 1 (Figure 10). Au cours de la maturation sexuelle, ces lobules évolueront en lobules de type 2 puis de type 3 et ce lentement jusqu'à l'âge de 35 ans. La différenciation totale de ces lobules ne pourra être atteinte si aucune gestation ne survient (Martinet, 1993). La gestation et la lactation entraînent des modifications importantes du sein. Les seins augmentent de volume, le mamelon devient saillant, l'aréole se pigmente comme le mamelon et prend un aspect grenu. Durant la grossesse, les ramifications terminales des canaux se multiplient et de nombreuses alvéoles se développent jusqu'à 80 alvéoles par lobule sous l'influence notamment des hormones œstrogènes/progestérone et de facteurs de croissance tels que le TGF- α (Tumor Growth Factor- α) (Houdebine, 1986). Les cellules sécrétrices sont totalement différenciées et on parle alors de lobules de type 4. Après l'accouchement, durant 2 à 3 jours, la sécrétion mammaire est fluide et jaunâtre c'est le colostrum. Au 3e jour, la sécrétion grasseuse augmente et le colostrum se transforme en lait humain. Ainsi la glande mammaire n'achève son développement qu'avec la première lactation. A la ménopause, le déclin des fonctions ovariennes provoque une régression des structures de la glande mammaire : les canaux galactophores sont maintenus, mais les alvéoles restantes ainsi que les lobules continuent de régresser avec l'âge.

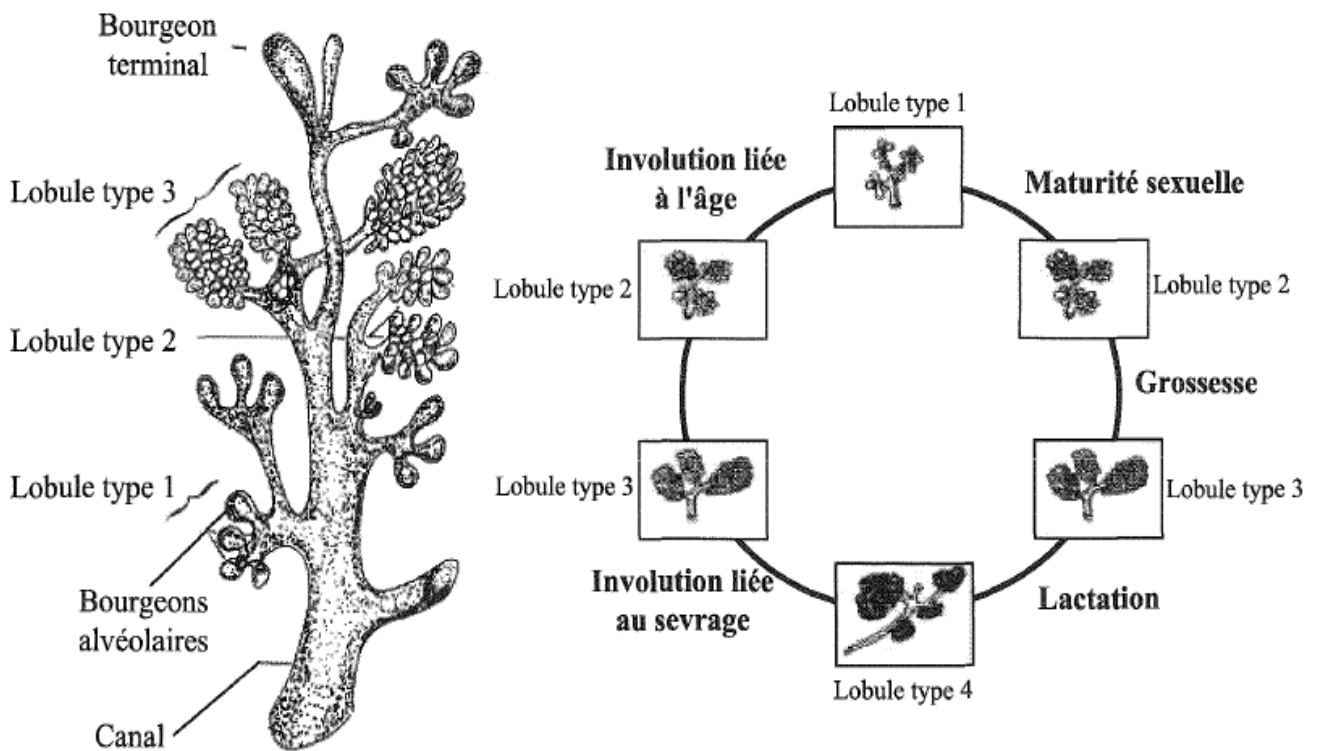


Figure 10: Structure et développement des lobules mammaires (Lasserre, 2016).

I.7 Carcinogénèse mammaire :(histoire naturelle du cancer du sein)

Le carcinome mammaire est une prolifération cellulaire, dite néoplasique des cellules épithéliales au niveau canalaire ou lobulaire (Tahari, 2008). Cette prolifération cellulaire peut envahir les tissus avoisinants et se propager à d'autre partie du corps, on parle alors de métastases. Le premier signe de cet envahissement est souvent l'apparition d'adénopathies axillaires (Tellai S, 2020 com. Pers.)

L'organisme humain est constitué de 10^{15} cellules et maintient son intégrité grâce à la régulation de la prolifération de ses cellules, de la mort cellulaire programmée (apoptose) et de la différenciation cellulaire (lois de l'homéostasie). Les cellules cancéreuses échappent à cette régulation par l'accumulation d'altérations génétiques qui sont liées à l'action de trois types de gènes : les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN (Kouchkar, 2014).

La cellule est régie par une multitude de gènes dont le rôle principal est de maintenir l'intégrité du génome et de contrôler la prolifération. La mutation de certains gènes entraine une instabilité génétique menant à la dysfonction de la cellule et à sa transformation en cellule tumorale. Plusieurs facteurs peuvent être impliqués dans le passage d'une cellule saine vers un état malin. On peut les regrouper en 6 catégories soit l'activation de signaux de croissance et des oncogènes, l'inhibition des signaux antiprolifératifs, l'inhibition de l'apoptose, l'immortalisation cellulaire, l'activation de l'angiogénèse et l'invasion des tissus par les métastases (Hanahan, D .2014).

La plupart des modifications génétiques sont acquises, et ne sont présentes que dans les cellules malignes, on parle alors de cancers du sein sporadiques. Dans seulement 10 % des cas, ces altérations génétiques sont héritées et prédisposent les individus à développer ce type de cancer (Hanahan, 2014).

I.8 Facteurs biologiques et moléculaires

I.8.1Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des petits peptides qui agissent sur la cellule par des liaisons avec des récepteurs spécifiques. A travers l'activation de leur récepteur, les facteurs de croissance ont des rôles variés : maintien de la viabilité cellulaire, stimulation de la multiplication, de la différenciation cellulaire, voire de l'apoptose (Tubiana, 2008). L'EGF (epidermal growth factor ou facteur de croissance épidermique) fait partie d'une famille d'une douzaine de facteurs de croissance impliqués dans le développement et le fonctionnement normal de différents organes (peau, sein, cœur...). L'action de ces facteurs de croissance est médiée par une famille de quatre

récepteurs membranaires ubiquitaires appelés ErbB (d'après leur analogie avec un oncogène d'un virus d'érythroblastose aviaire) ou HER (human EGF receptorrelated).

Dès 1987, il fut montré que la surexpression d'ErbB2 dans le cancer du sein est un facteur de mauvais pronostic (Hubert, 2007).

Les facteurs de croissance sont multifonctionnels et peuvent agir sur la prolifération comme sur la différenciation cellulaire (Sporn, 1988).

I.8.2 Oncogènes cellulaires

Isolés à partir de 1975, ils résultent de la modification ou de lésion de gènes cellulaires normaux appelés proto oncogènes, ces lésions sont des mutations à type de délétion, d'insertion, de substitution, ou d'amplification.

Globalement il existe deux types de modifications : des modifications quantitatives qui correspondent à des accumulations de la protéine produite par l'oncogène, et autres qualitatives à l'origine de production de protéines anormales. Les oncogènes impliqués dans le cancer du sein sont : le C-erbB1, ras, c-myc, cycd1, C-erbB2=HER2=Neu ; plusieurs chercheurs ont montré que le gène HER2 est parfois amplifié dans des cancers du sein

I.8.3 Gènes suppresseurs de cancer

Ce sont des antioncogènes qui existent à l'état normal dans le corps. L'inactivation ou la perte de ces gènes conduit également à la cancérisation. Le mécanisme d'oncogenèse implique l'inactivation des deux copies du gène placées sur chaque allèle, du fait de leur récessivité. Les gènes suppresseurs sont généralement impliqués dans les cancers familiaux. La perte d'activité des gènes suppresseurs est observée dans le cancer du sein au niveau du gène de la protéine p 53 et du gène du rétinoblastome Rb (Zilfou, 2009).

- Le gène de la P53 : les formes mutées sont retrouvées dans 50% des cancers invasifs du sein, L'hyper expression de p53 est un indice de mauvais pronostic et d'agressivité tumorale, le gène p53 est corrélé avec la surexpression de l'oncogène HER2, et avec l'absence de récepteurs hormonaux (Lee, E. et al. ,2012).
- Le gène Rb1 : des délétions ont été observées dans 10 à 15% des cancers du sein invasifs. (Lee et al., 2012)
- Le gène BRCA1 : il est impliqué dans la majorité des cancers familiaux du sein (chez la femme), ou associant cancer du sein et de l'ovaire ;
- Le gène BRCA2 : il est impliqué dans 50% des cancers familiaux (chez la femme et l'homme). Ce gène se situe à proximité du gène Rb1 ;
- Le gène TP53 : il est impliqué dans le rare syndrome de Li Fraumeni ;

- Le gène de l'ataxie télangiectasie (ATM) : la description de ce gène a confirmé la notion clinique du risque chez les femmes apparentées à un parent cancéreux ; ce gène pourrait être impliqué dans les cancers sporadiques.

Comprendre l'histoire naturelle des cancers du sein est fondamental pour essayer de comprendre les causes du cancer, prévenir la survenue du cancer, en détecter les formes précoces, définir un bilan d'extension conduisant à une stadification TNM, définir une stratégie thérapeutique et enfin estimer un pronostic (Walerych, 2012).

I.9 Données épidémiologiques

" L'épidémiologie est l'étude de la distribution et des déterminants d'une maladie dans des populations humaines, et application des résultats de cette étude dans la lutte contre cette maladie". d'après Mac Mahon (Akram et *al.*, 2017).

I.9.1 Epidémiologie descriptive

I.9.1.1 Incidence

I.9.1.1.1 Dans le monde

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes (24,2%, soit environ un sur quatre des nouveaux cas de cancer diagnostiqués chez les femmes dans le monde). Il est également considéré comme le cancer le plus répandu dans 154 des 185 pays inclus dans l'enquête Globocan. Le cancer du sein est diagnostiqué chez environ 2,1 millions de femmes en 2018, ce qui représente environ 11,6% du fardeau total de l'incidence du cancer (Globocan, 2018).

Le graphique ci-dessous résume les statistiques Globocan des 10 dernières années pour les pays où l'incidence du cancer du sein est la plus élevée et la plus faible. Sur les 52 pays indiqués ci-dessous, l'incidence du cancer du sein au cours des 4 dernières années a augmenté dans 31 pays et diminué dans 18 pays. (Globocan, 2018). (Figure 11)

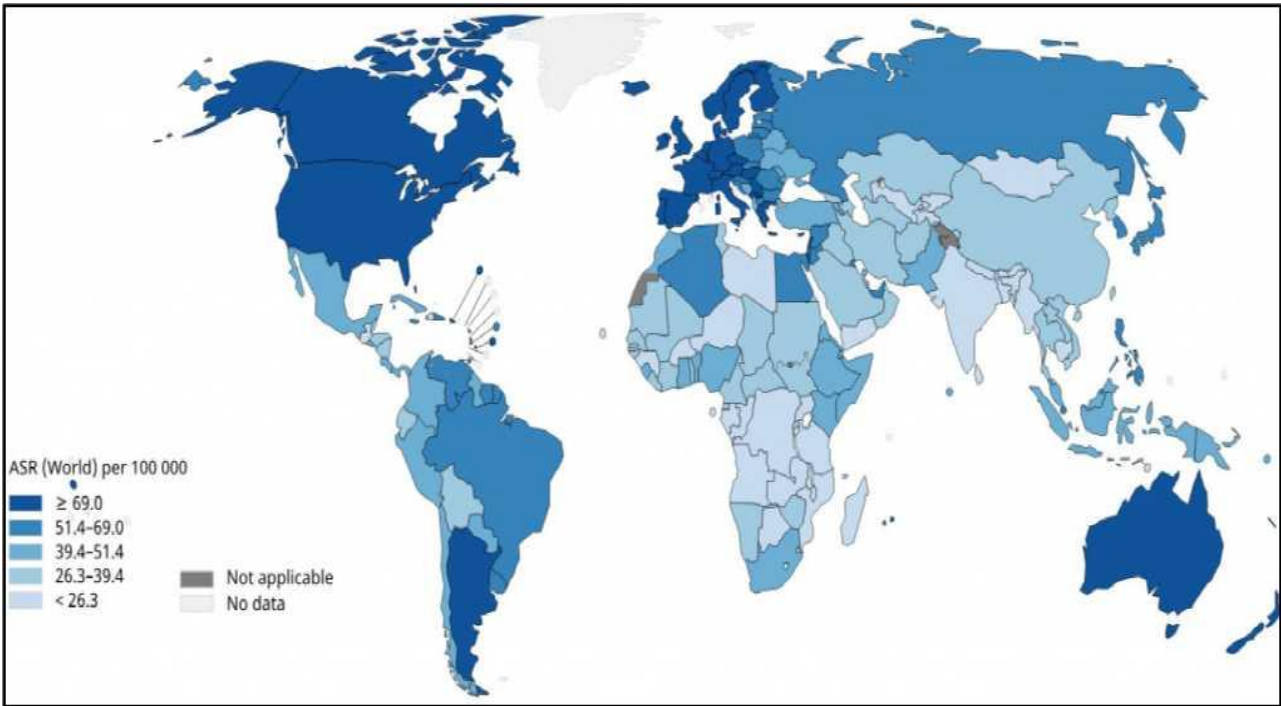


Figure 11: Taux d'incidence estimé et normalisé selon l'âge du cancer du sein dans le monde, en 2018. (Globocan, 2018).

I.9.1.2 En Algérie

En Algérie, ce type de cancer occupe la première place et représente 50% des cancers gynécologiques, son incidence est de (88,4%) /100000 habitants.. L'âge moyen est de 51,4 et l'âge médian 50ans. La tranche d'âge ou le cancer du sein est le plus fréquent est [45-49] selon le registre des tumeurs d'Alger (Hmouda, 2017).

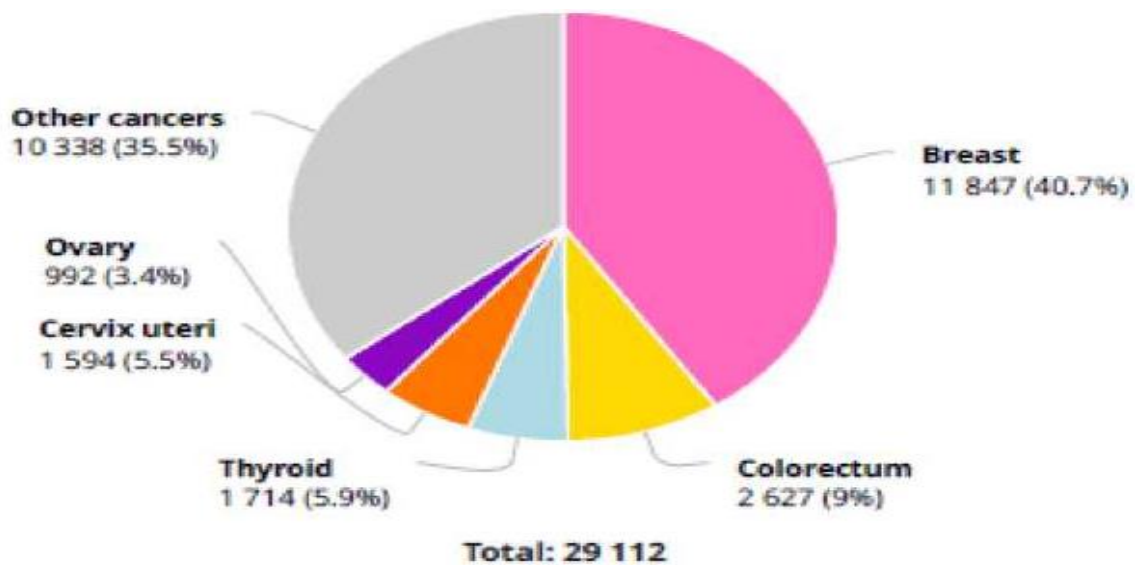


Figure 12: Les localisations cancéreuses les plus fréquentes chez la femme en Algérie en 2018 (Globocan, 2018).

I.10 Facteurs de risque du cancer du sein

I.10.1 Facteurs de risque internes (aggravant)

- **Le sexe** : Le fait d'être une femme est un facteur de risque principal d'apparition d'un cancer du sein. Il est également observé chez des hommes mais à un pourcentage faible (environ 1%) par rapport aux femmes (Fatscher, 2013 ; Bicar, 2018).
- **L'âge** : Le risque augmente avec l'âge. En effet, environ trois quarts des cas sont décelés chez les femmes âgées de plus de 50 ans (Medjdoub, 2013; Dialla, 2014).
- **Age des premières règles et de la ménopause** : L'apparition des règles à un âge précoce ou alors la ménopause tardive peut augmenter le risque de développer un cancer du sein (Fatscher, 2013; Bicar, 2018).
- **L'hérédité** : Entre 5 et 10% des cancers du sein sont liés à une prédisposition héréditaire. Il s'agit de la transmission d'une mutation génétique essentiellement au niveau des gènes BRCA1 et BRCA2 responsable du développement du cancer d'une génération à une autre (Mavaddat et al., 2010 ; Bicar, 2018) .
- **Les grossesses** : Le risque de développer un cancer du sein est multiplié par 2 lorsque la première grossesse arrive après la trentaine. L'absence de grossesse augmente aussi ce risque (Cullinane et al. 2005; Bicar, 2018).
- **L'Allaitement** : L'allaitement maternel aurait un rôle protecteur contre le cancer du sein. Chaque période de lactation de 12 mois réduit le risque de 4,3% (Fatscher, 2013 ; Elshmay, 2016).

I.10.2 Facteurs de risque externes

- **La prise de la pilule contraceptive** : Des études ont clairement montré que l'usage de la pilule contraceptive entre 20 et 49 ans pendant plus de 5 ans, augmente le risque du cancer du sein de 50%(Belhafiane, 2015 ; Bicar, 2018) .
- **L'obésité** : L'obésité accroît le risque de développer un cancer du sein, particulièrement chez des femmes âgées de plus 50 ans (Mombelli, 2014).
- **La consommation d'alcool** : L'alcool est une boisson qui accroît la synthèse d'œstrogène qui est responsable du développement du cancer du sein (Bicar, 2018).
- **Le tabac** : La fumée de tabac peut augmenter le risque de cancer du sein chez les femmes pré-ménopausées qui n'ont jamais fumé auparavant (Tahari, 2008).
- **Une mauvaise alimentation** : Une mauvaise consommation d'aliments joue un rôle important dans l'accélération du cancer du sein.(Geffroy, 2010; Bicar, 2018).

Produits cancérigènes : Les produits qui contiennent des conservateurs du type parabène, benzène... augmentent d'environ de 2 % les risques d'apparition du cancer du sein (Bicar, 2018).

I.11 Classification Histologique du cancer du sein

Selon la classification établie par l'OMS en 2003, on distingue les cancers *in situ* et les cancers infiltrants (Brahmi, 2014).

I.11.1 Carcinome non invasif (*in situ*) :

I.11.1.1 Le carcinome canalaire *in situ* (CCIS)

Est un carcinome des canaux galactophores qui n'infiltré pas le tissu conjonctif voisin (Brahmi, 2014). Il peut s'étendre aux lobules et à l'épiderme mamelonnaire. Il représente 20 % des cancers du sein (Fatscher, 2013) ;

I.11.1.2 Carcinome lobulaire *in situ* (CLIS)

Il représente une prolifération homogène de cellules épithéliales malignes au niveau des acini qui composent les lobules du sein. En effet, la croissance anormale reste à l'intérieur du lobule et ne se propage pas aux tissus environnants (Simpson *et al.*, 2003). Il est rare avec seulement 2.5% des carcinomes (Brahmi, 2014).

I.11.2 Carcinome invasif (infiltrant) (CI)

Les carcinomes deviennent infiltrant lorsque les cellules cancéreuses franchissent la membrane basale et envahissent le tissu conjonctif de soutien. Elles entrent alors en contact avec des vaisseaux sanguins et lymphatiques à l'origine d'une possible diffusion métastatique (Lecorgne, 2016). Il représente une large majorité des cancers du sein (98%) (Rodrigue, 2009).

I.11.2.1 Carcinome canalaire infiltrant (CCI)

Actuellement appelé carcinome invasif de type non spécifique Il prend naissance dans les canaux lactifères du sein et s'étend jusqu'à la paroi du canal, envahissant ainsi les tissus adipeux (Akram *et al.* 2006) ; représente 70 à 80% des cancers du sein (Brahmi, 2014) ;

I.11.2.2 Carcinome lobulaire infiltrant (CLI)

Il prend naissance dans les lobules du sein et représente 5 à 15 % des cancers du sein (Akram *et al.* ,2017) Ces carcinomes infiltrants donnent des métastases fréquentes aux ganglions ainsi qu'aux os, aux poumons au foie et au cerveau et aux méninges (Chahbouni, 2009).

I.11.3 Formes particulières

I.11.3.1 Carcinome tubuleux

C'est un type spécial de carcinomes mammaires. Il est composé de structures tubulaires bien différenciées, tapissées par une seule couche de cellules épithéliales (Chahbouni, 2009). Il représente 1 à 2 % des cancers du sein (Brahmi, 2014) ;

I.11.3.2 Carcinome papillaire

Il s'agit de carcinome infiltrant d'architecture papillaire, avec des axes conjonctifs arborisés bordé par des cellules épithéliales malignes sans cellules myoépithéliales (Tahari, 2008) ;

I.11.3.3 Carcinome mucineux

Encore appelé carcinome colloïde, il est défini par la présence de cellules tumorales malignes muco-sécrétées qui flottent dans le mucus. Il représente 1 à 4 % des cancers du sein (Naqoset. *al.*, 2016).

I.11.3.4 Carcinome médullaire

Il s'agit de carcinomes bien limités, constitués de cellules peu différenciées dans un stroma peu abondant, avec une intense infiltration lymphoïde. Il représente moins de 1% de toutes les tumeurs malignes du sein (Er-rachdi, 2008).

I.12 Classification moléculaire des sous-types de cancers du sein

Il s'agit d'un système de classification des tumeurs mammaires basé sur l'analyse de l'expression de quatre protéines (Ahmadaye. *et al.* 2016) à savoir:

I.12.1 Récepteurs hormonaux (RH)

Les RH sont des récepteurs nucléaires présents dans les cellules des lobules et des galactophores de la glande mammaire normale. Ils sont plus fortement exprimés dans les carcinomes lobulaires et canalaire bien différenciés (Mombelli, 2014). Les RH et plus particulièrement les RE sont les seuls marqueurs prédictifs établis dans le cancer du sein (Chand *et al.*, 2018). La présence de ces récepteurs est évaluée par immunohistochimie (IHC) (Aranda and Pascual, 2001) (Annexe n°3) ;

I.12.1 HER2

Le récepteur HER2 est une glycoprotéine transmembranaire à activité tyrosine kinase (Hélène, 2011) appartenant à la famille des récepteurs proto-oncogène qui code pour cette protéine (Zoure, 2017). L'activation de ce récepteur implique la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'inhibition de l'apoptose et la différenciation cellulaire (Brahmi, 2014). Une surexpression et une amplification du HER2 sont retrouvées dans 20 à 30 % des cancers du sein.

Cette sur expression est corrélée à une plus grande agressivité tumorale, à un potentiel métastatique plus important, à un risque accru de récurrence et à un mauvais pronostic (Zoure, 2017). Le principal test pour mesurer la surexpression de protéine de HER2 est l'IHC (Duffy *et al.*, 2017) (Annexe n°2) ;

I.12.2 Antigène Ki-67

Est un antigène nucléaire exprimé par les cellules en prolifération. L'index Ki-67 permet d'évaluer

le taux de prolifération des cellules tumorales qui se fait par une technique Immunohistochimique en comptant le pourcentage de cellules présentant un marquage positif de l'antigène Ki-67(Mombelli,2014) .

Le cancer du sein est classé en trois sous-types basés sur l'état des récepteurs hormonaux (RP, RE), l'oncogène ERBB2 (HER2) et le Ki67 dans les cellules cancéreuses du sein (Jin and Mu, 2015)

- **Le sous-groupe Luminal** : Caractérisé par l'expression du RE et de gènes associés à la voie du RE. Ces tumeurs sont classées en deux catégories A et B (Chahboun, 2009) :
- **Le sous-type Luminal A**: Il est caractérisé par un profil RE et/ou RP positifs, HER2 négatif, et Ki-67 faible (<20%). C'est le sous-type le plus commun, représentant approximativement 50 à 60% des cancers du sein (Adrienne *et al.* 2019) ;
- **Le sous-type Luminal B**: Il est caractérisé par un profil RE positifs, RP faibles ou négatifs, HER2 négatif, et Ki-67 élevé (>20%). Il représente 10% des tumeurs du sein (Mombelli, 2014) ;
- **ERBB2-positif** : Le cancer du sein ERBB2-positif (anciennement connu sous le nom d'HER2-positif) représente 15 à 20% des cas de cancer du sein. Il est caractérisé par des taux élevés de protéine ERBB2 sur les cellules cancéreuse (Waks *et al.* 2019)s. Leur pronostic est défavorable (Mathieu, 2007). (Annexe n°4) ;
- **Triple négatif** : Il représente 15% des cas de cancer du sein. Il n'exprime ni les RH (RE- /RP-), ni HER2 (Adrienne *et al.*, 2019).

I.13 Classification Tumeur Node Metastasis (TNM)

La classification du stade ou l'extension de la Tumeur suit un code standard international, représenté par la classification TNM (Tumeur Node Metastasis) (Brahmi, 2014). Cette classification est validée par l'union internationale contre le cancer. Elle n'est applicable qu'aux carcinomes (Fatscher, 2013)Les trois lettres symbolisent la propagation de la maladie sur le site des tumeurs primitives (T) dans les ganglions lymphatiques régionaux (Brahmi, 2014) ainsi qu'à distance pour d'éventuelles métastases. Chaque lettre est affectée d'un coefficient (Brahmi, 2014). (Annexe n°5). On distingue deux classifications TNM :

- La classification cTNM qui est une classification clinique pré-thérapeutique ;
- La classification pTNM qui correspond à une classification anatomopathologique post-chirurgicale et qui reflète l'atteinte métastatique ganglionnaire (Fatscher, 2013).

I.14 Grade histo pronostique

Il s'agit du grade (le grade de Scarff-Bloom et Richardson SBR corrigé par Elston et Elis

appelé grade de Nottingham) de la tumeur établi par l'anatomopathologiste. Ce grade est basé sur les caractéristiques des cellules tumorales. Il apprécie la capacité proliférative de la tumeur par un score (Tahari, 2008). La méthode du *grading* SBR consiste à évaluer trois paramètres morphologiques (Medjdoub, 2013). La formation des tubules, le pléomorphisme nucléaire, et la fréquence des mitoses. (Annexe n°6).

Un score allant de 1 à 3 puis on trouve score (3-5), score(6-7) et score(8-9).est attribué à chacun de ces paramètres ; les différents scores sont additionnés pour obtenir les grades histologiques global (Grade I, Grade II, Grade III).

I.15 Moyens diagnostiques

Le diagnostic du cancer du sein est basé sur le trépied, examen clinique, examen radiologique (mammographie, échographie) et la micro biopsie remplaçant de plus en plus la cytoponction à l'aiguille fine.

I.15.1 Diagnostic clinique

I.15.1.1 Auto-examen des seins (AES)

L'AES est une méthode simple, qui consiste à enseigner aux femmes un ensemble de manœuvres d'inspection et de palpation de leurs seins qu'elles doivent répéter régulièrement après leurs règles, dans le but de détecter une anomalie puis de consulter un médecin (Baxter, 2001).

I.15.2 Examen clinique

Il vise à démontrer l'apparition ou l'absence de manifestations indiquant une maladie du sein.

Il doit inclure :

- L'âge de la patiente lors de ses premières règles ;
- Son âge à la première grossesse ;
- Ses antécédents relatifs à la lactation et à l'allaitement ;
- Son âge à la ménopause ;
- Les antécédents familiaux de cancers du sein et de l'ovaire ;
- La prise ou non de contraceptifs oraux.

Ensuite, les deux seins doivent être inspectés visuellement de façon à détecter une tuméfaction, une grosseur, un changement de taille et d'aspect des seins, la présence de rides ou d'une rétraction, un épaissement de la peau, un nodule ou une ulcération cutanée, une asymétrie ou une rétraction de l'un des deux seins, un écoulement par le/les mamelon(s), un eczéma de l'aréole et du mamelon et la présence de ganglions dans la région axillaire et sus-claviculaire

(Akramet. al., 2017).

I.15.3 Examens d'imagerie

I.15.3.1 Mammographie

Une mammographie est une radiographie des seins. Elle permet d'obtenir des images de l'intérieur du sein et de détecter ainsi d'éventuelles anomalies. La mammographie est l'examen para clinique de référence pour le diagnostic du cancer du sein. Elle permet de mettre en évidence des cancers de petite taille, à un stade précoce, avant l'apparition de symptômes. Elle sera au mieux réalisée pendant la deuxième semaine du cycle (Gotzsche, 2013)

I.15.4 Echographie

L'échographie n'est pas un examen de première intention. Elle est souvent réalisée en complément de la mammographie. Elle peut être réalisée à n'importe quel moment du cycle (Fatscher, 2013). Elle montre la taille et la position de la tumeur, qu'elle soit remplie de liquide ou solide (Akramet al. 2017).

I.15.5 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Peut être demandée au cas de difficultés diagnostic.

I.15.6 Examen anatomopathologique

Il est indispensable pour confirmer le diagnostic de cancer du sein (Brahmi, 2014). Il existe de nombreux types de biopsies mammaires. En effet, trois techniques de prélèvements peuvent être utilisées : la cytoponction à l'aiguille fine, la micro biopsie transcutanée et la macro biopsie transcutanée (Akram. et al. 2017).

I.16 Traitements

I.16.1 Chirurgie

Elle consiste en l'exérèse complète de la tumeur (Tahari, 2008). Elle peut être :

- Conservatrice : tumorectomie (ablation de la tumeur elle-même) et zonectomie (l'exérèse d'une zone de sécurité péri tumorale), la quadrantectomie (large tumorectomie emportant le quart du sein) ;
- Non conservatrice ou radicale : mastectomie totale qui consiste en l'ablation du sein (Tahari, 2008).



Photo 1: pièce de mastectomie radicale pour néoplasie maligne largement ulcérée (originale).

I.16.2 Chimiothérapie

Elle est utilisée en tant que traitement adjuvant pour réduire le risque de développement des métastases. La chimiothérapie permet globalement d'empêcher la multiplication des cellules cancéreuses mais elle a des effets indésirables car elle détruit également des cellules saines (Joris *et al.* 2019).

- Elle peut être également néo adjuvante (prodigué avant le traitement chirurgical), dans certains cas.

I.16.3 Radiothérapie

Le principe de la radiothérapie repose sur l'irradiation des tissus. Les cellules tumorales et les cellules saines n'ont pas la même radiosensibilité, ce qui permet d'observer une régression du nombre de cellules tumorales au sein des tissus sains. (Guedouar, 2011); (Medjdoub, 2013).

I.16.4 Hormonothérapie

Près de 80% des cancers du sein sont hormonosensibles ,l'hormonothérapie est active sur les tumeurs positives pour ER et/ou PR (Geffroy, 2010). Le but de ce type de traitement est d'empêcher l'action stimulante des œstrogènes et des progestérones dans le développement du cancer du sein (Bicar, 2018).

I.16.5 Thérapie ciblée

Les anticorps anti-HER2 (herceptin) sont parmi les principales classes de thérapie ciblées utilisées pour inhiber la croissance tumorale. Cependant, ils ne sont efficaces que chez les patients dont la tumeur présente une quantité importante de récepteurs HER2 (They. *et al.* 2014)

A large, vibrant pink awareness ribbon is centered on the page. The ribbon is tied in a loop at the top and has two long tails hanging down. The ribbon has a slight gradient and a subtle texture. The text is overlaid on the center of the ribbon.

Chapitre II

Matériel et méthodes

L'étude réalisée c'est une étude descriptive, qui s'est déroulée au niveau du laboratoire d'anatomopathologie au Centre Hospitalier 'Dr Tirichine Brahim-Ghardaïa et la clinique des oasis. Dans la période de 10/03/2020 jusqu'au 15/09/2020.

II.1 La population étudiées

La population étudiée correspond à toute femme présentant un carcinome mammaire. Après réception des prélèvements (accompagnée du dossier : médical échographie et mammographie) des patientes, les échantillons mammaires sont étiquetés et examinés. Les échantillons proviennent généralement de:

- ✓ Service de gynécologie de l'EHS mère/enfants (Ghardaïa) Guedi Bakir ;
- ✓ Service de chirurgie générale (EPH Tirichine Ibrahim), d'autres wilayas de sud Algérie ;
- ✓ service de gynécologie et chirurgie EPH (Metlili, Guerrara, EL meniaa) ;
- ✓ Secteur privé de la wilaya de Ghardaïa (clinique chirurgicale de grande sud, cabinet de gynéco-obstétrique ; centre médicale de diagnostic de sud, clinique-el ksour...etc.) et d'autres wilayas de sud Algérie.

Toute pièce réceptionnée aux services d'anatomie pathologiques est accompagnée d'une fiche technique (annexe n°1).




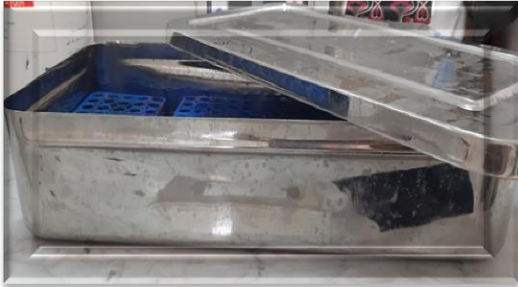
Pour cette étude, les cas traités sont uniquement les échantillons des carcinomes du sein primitif, récidivant et/ou métastatique féminine répertorié au sein de service d'anatomopathologie. Les autres types de cancer du sein de la femme : sarcome, lymphomes, le cancer du sein chez l'homme, ainsi que pièce de résection tumorale parvenue au service sans fixation (altération des récepteurs hormonaux) sont non inclus dans notre travail.

II.2 Matériels

Le matériel utilisé se compose de:

II.2.1 Appareillage

Matériel	Image
<p>1-Cassettes tissulaires. 2-Papier filtre 3-Moules d'inclusion en acier inoxydable 4-Planche. 5-Scalpel. 6-Pince. 7-Flacon ou pots de formol.</p>	
<p>8-Dako Pen. 9-Bec à alcool, xylène, eau distillée.</p>	
<p>- HistokinetteLeica TP1020 : Automate pour le traitement des tissus.</p>	

<p>-Distributeur de paraffine Leica EG1150 H.</p>	 A white Leica EG1150 H paraffin distributor. It features a digital display showing '10 0 1' and several control buttons. A paraffin reservoir is visible on the left side, and a dispensing mechanism is in the center.
<p>-Microtome Leica RM2125.</p>	 A Leica RM2125 microtome. It consists of a main unit with a black base and a white upper section, and a separate control unit on the right with a digital display and buttons. The microtome is used for cutting thin sections of tissue.
<p>-Appareil de refroidissement.</p>	 A Leica Aradial C cooling device. It is a white rectangular unit with a green power indicator light on the top right. The front panel is plain white.
<p>-chambre humide.</p>	 A stainless steel humidification chamber. It has a blue plastic tray inside and a clear plastic lid that is slightly ajar. The interior is reflective and appears to be used for maintaining humidity during tissue processing.



II.2.2 Réactif et produit

Réactif et produit

- Paraffine ;
 - Ethanol ;
 - Formol 10% de fixation ;
 - Eosine ;
 - Xylène ;
 - Hématoxyline ;
 - Anticorps anti-Ki67(Dako) ;
 - Anticorps anti-RP (Dako) ;
 - Anticorps anti-RE (Dako) ;
 - Anticorps anti-HER2(Dako)
-

N.B: (Pour notre étude nous avons utilisé essentiellement des anticorps Dako. Néanmoins il existe d'autres marques pour la même technique).

II. 3 Techniques de prise en charge des échantillons

Les échantillons sont été reçus au laboratoire.

II.3.1 Réception

La première étape correspond à une Identification, enregistrement et vérification des échantillons.

II. 4 Etude histopathologique

II.4.1 Etude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude anatomopathologique passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient lus et interprétés par le pathologiste responsable. La fixation des prélèvements au formol à 10% est indispensable. L'étude macroscopique peut se faire sur pièces fraîches. Les différentes étapes consistent:

- Mesurer dans les trois plans (longueur, largeur, épaisseur) et à peser des fragment(s) tissulaire(s) adressé(s) ;
- Préciser une éventuelle orientation de la pièce reçue ;
- Analyser macroscopiquement la pièce opératoire par la vue et la touche afin de choisir les sites de prélèvements.

II.4.1.1 Prélèvements

- Les biopsies sont en général incluses en totalité.
- Les pièces opératoires : (mastectomie radicale, tumorectomie, zonectomie et quadrantectomie) sont examinées par le pathologiste qui effectue des prélèvements dirigés selon l'aspect macroscopique.

A. Biopsie: Elle consiste à prélever un ou plusieurs échantillons de tissu mammaire sous anesthésie locale, à l'aide d'une aiguille spéciale. Lorsque l'anomalie est visible en échographie.

Pour préparer l'échantillon d'une biopsie, il est nécessaire de:

- ✓ Préciser le type de prélèvement (macro ou micro biopsie);
- ✓ Les fragments sont mesurés et examinés en totalité;
- ✓ Mettre dans une cassette tissulaire sous un papier filtre. (photo2)

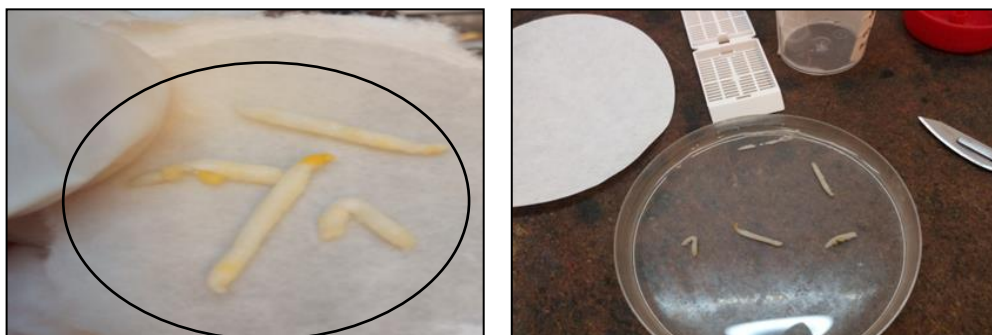


Photo2: Biopsie exérèse

B. Pièce opératoire:

- Mastectomie radicale : C'est le prélèvement de toute la glande mammaire en conservant en partie le revêtement cutané, mais en supprimant le mamelon et l'aréole. La cicatrice finale est oblique ou horizontale et se prolonge vers l'aisselle. **(Photo(A) 3)**
- Tumorectomie : c'est l'exérèse de la totalité de la tumeur ;
- Zonectomie : consiste en l'exérèse de la zone mammaire occupée par la tumeur ;
- Quadrantectomie : exérèse d'un quart de la glande mammaire emportant la tumeur.

Pour la préparation d'échantillons de la pièce opératoire, les étapes suivantes sont adoptées:

- ✓ Les zones à prélever sont sélectionnées, examinée, mesurée, pesée, palpée en utilisant une règle en acier inoxydable, bistouri, scalpel, et une pince. Pour l'étude microscopique, les zones prélevées sont lésées puis disséquée dans une cassette tissulaire numérotée à l'aide d'un crayon. **(Photo (C) 3).**

Toutes ces étapes se déroulent sous une hotte pour garantir les conditions sanitaires appropriées. **(Photo(B) 3).**

Les restes de la pièce opératoire sont conservés dans le formol à 10% pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir effectuer des prélèvements complémentaires en cas de nécessité.



Photo3: Etude macroscopique de la pièce, et sa dissection en petits fragments.

Vue antérieure d'une pièce de mastectomie avec mensuration à côté.

II.4.2 Technique histologique

Après l'étape d'étude macroscopique, les échantillons prélevés subissent un prétraitement spécifique pour l'analyse microscopique. Pour permettre cet examen, les étapes ci-après sont suivies:

Etape 1 : Fixation dans le formol

La fixation est indispensable pour conserver la morphologie cellulaire, elle doit être immédiate ou au moins très rapidement débutée après l'obtention du prélèvement, elle a pour but de s'opposer à la déshydratation prématurée des cellules et surtout à la putréfaction des tissus et garantir la conservation des structures et le durcissement des pièces pour garder le prélèvement dans un état proche de l'état vivant.

Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible (dessiccation et/ou autolyse du tissu). Détérioration des sites antigéniques empêchant une bonne étude Immunohistochimique.

- ✓ Le volume du fixateur doit représenter environ 10 fois le volume de la pièce.
- ✓ Le fixateur utilisé : est une solution de formol liquide à 10 % tamponné.

Encadré 1

Le formol ou formaline est peut-être le plus employé de tous les fixateurs. Quoiqu'il en soit, le formol ne s'emploie pas à l'état concentré initial. On le dilue dans l'eau distillée de façon qu'il varie entre 1/4 et 1/10, ce qui équivaut à une concentration finale en aldéhyde de 4% à 10%. Il s'agit d'un bon fixateur de routine.

Etape 2 : Circulation des tissus

Elle se fait manuellement ou à l'aide d'un automate à circulaire. Elle permet la solidification des tissus en remplaçant l'eau tissulaire par de la paraffine liquide afin de faciliter la découpe histologique. Cependant ces milieux ne sont pas miscibles entre eux (**photo4**). Cette opération s'effectue en trois étapes essentielles :

a) Déshydratation

L'échantillon est progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de concentrations croissantes (05 bains): (75%, 80%, 90%, 95%, et 100% pour 01h, 01h, 01h, 01h30, et 02h successivement) jusqu'à ce que toute l'eau (Des tissus et du milieu de fixation) ait été soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu.

b) Eclaircissement

L'alcool est ensuite remplacé par un solvant organique de la paraffine dans lequel peuvent se dissoudre à la fois l'alcool et la paraffine (la paraffine n'est pas soluble dans l'alcool). Donc l'alcool est chassé par 03 bains successives de xylène (pour: 01h, 01h30; puis 02h). Ce dernier va rendre le tissu transparent.

c) **Imprégnation dans la paraffine**

L'échantillon va être imprégner ou enrober dans la paraffine liquide (02 passages pendant 02h puis 03h successivement). Obtention d'une biopsie ou pièce qui ne contient ni eau, ni alcool, ni solvant intermédiaire. **(Photo5)**



Photo4: Etapes de préparation des échantillons pour les coupes histologiques au microtome(original) .



Photo5: Mise en place des fragments d'une pièce opératoire (2) ; biopsie(1) dans une cassette numérotée (originale).

Etape 3 : Enrobage (Inclusion en paraffine chauffée)

L'échantillon est ensuite immergé dans de la paraffine chauffée à une température dépassant juste son point de fusion, puisque celle-ci est solide à température ambiante.

Cette étape ne peut être réalisée sauf si la pièce est déshydratée convenablement et elle est réalisée grâce à un automate d'inclusion. **(Photo (A) 6)** qui se charge de la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à la coupe au microtome.

- ✓ La pièce est mise dans un moule en acier inoxydable déposé sous un robinet qui sert à verser de la paraffine liquide (à 70°C). Le moule est mis au même temps sur une chambre froide (-0°C) pour que la paraffine se solidifie rapidement et la pièce sera incluse parfaitement là-dedans ; **(Photo (C) 6)**
- ✓ Il faut bien appuyer sur la pièce ou la biopsie pour la fixer dans le fond du moule et pour qu'elle soit couverte complètement par la paraffine ; **(Photo(B) 6)**
- ✓ Puis, en va remettre le couvercle de la cassette sur le moule, avant que la paraffine ne soit complètement refroidie.

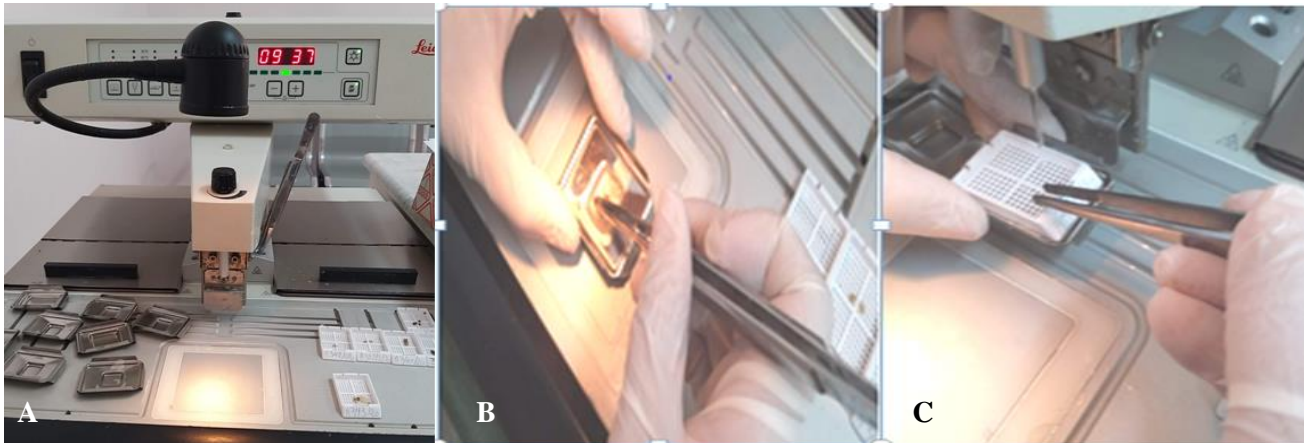


Photo6 : Inclusion en paraffine : Réalisation des blocs (original).

a) Refroidissement

Une fois l'échantillon est bien imprégné, on le laisse refroidir dans un appareil de refroidissement pour quelques minutes (-60°C). **(photo7)**



Photo7: Refroidissement des blocs

Etape 4. : Réalisation des coupes

Les coupes à la paraffine doivent être minces, d'épaisseur uniforme en tous leurs points, égales les unes aux autres en épaisseur.

a) Microtomie

Le microtome comporte deux éléments principaux : un porte-objet, sur lequel est assujettie la pièce à couper, et un couteau. Toutefois le porte-objet est monté sur une vis micrométrique qui le fait avancer selon son axe d'une quantité connue et réglable à volonté. Nous l'avons réglé pour nos coupes à 4 μ m. Le mouvement qui produit les coupes s'accomplit suivant un plan parallèle au tranchant du couteau et perpendiculaire à l'axe de la vis micrométrique, le plan de coupe. (photo8)



Photo8: Les coupes au microtome et l'obtention des coupes sous forme d'un ruban (original).

b) Technique des coupes à la paraffine

Les blocs de paraffines préalablement préparés sont coupés pour éliminer tout excès de paraffine. Ensuite, le bloc est placé au porte-objet du microtome. Avant d'exécuter les coupes de 4µm d'épaisseur, nous avons placé à la portée de la main les instruments nécessaires pour les manipuler et les recueillir : une pince plate fine pour recueillir les petites coupes, une large spatule à bord rectiligne pour recevoir les grandes, et un scalpel bien tranchant pour couper les rubans s'il y a lieu. Avant d'étaler la coupe sur la lame, le ruban est étalé sur de l'eau chaude dans un bain Marie. Les coupes sont recueillies sur lames de verre. Ces dernières sont numérotées et mises dans l'étuve réglée à une température de 57°C pendant 1h30 Min pour confirmer la fixation des coupes sur la lame et les déparaffiner.

(Photo9)

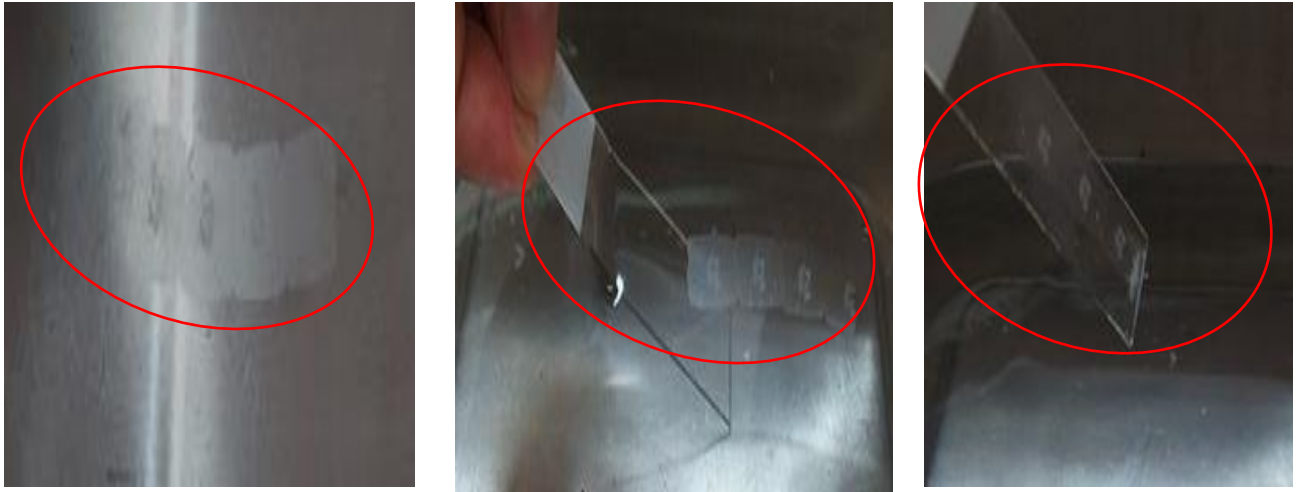


Photo9: Etalement des coupes sur la lame (original).

Etape 5 : Coloration des coupes à l'Hématoxyline-Eosine (HE)

Le protocole de coloration adopté est une coloration bichromique. Les tissus de l'organisme ne sont pas spontanément colorés, ce qui rend les observations difficiles. Les colorants utilisés en histologie sont plus ou moins sélectifs ; elle permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires, la plupart sont des composants acides ou basiques en milieu aqueux qui forment des sels avec les radicaux ionisés des tissus. Des composants acides sont utilisés pour les zones tissulaires acidophiles et des composants basiques sont utilisés pour les zones tissulaires basophiles.

La coloration usuelle associe toujours un colorant nucléaire, la plus utilisée est **HE**. L'**H**ématoxyline est une substance basique, qui colore les noyaux en violet. L'**E**osine est une substance acide qui colore les cytoplasmes en rose.

a) Réhydratation et coloration

Pour qu'on puisse utiliser un colorant, la paraffine doit être éliminée. On procède donc à une étape de déparaffinage, qui consiste à passer les lames dans des bains de xylène afin de dissoudre la paraffine. On effectue ensuite une réhydratation dans une solution hydro-alcoolique et le xylène. Les lames sont passées dans des bains d'alcool de degré décroissant soit de 100°, 95°, 90°, 80°, 75°C successivement.

Les étapes de réhydratation et de coloration vont être réalisées par une batterie de coloration, et les étapes sont les suivantes :

- ✓ On met les lames dans un bain de xylène pur deux fois (18 min) pour éliminer la paraffine (La paraffine est insoluble dans l'eau et l'alcool, mais soluble dans les hydrocarbures tels que le toluène, xylène) ;
- ✓ Puis dans l'éthanol à degré décroissant, deux fois (18 min) pour la réhydratation ;
- ✓ Puis un lavage avec de l'eau distillée;
- ✓ Puis un bain dans l'hématoxyline (06 min) pour colorer le noyau;
- ✓ Lavage avec de l'eau distillée ;
- ✓ Puis un bain dans le carbonate de lithium ; juste un passage pour différenciation de l'hématoxyline ;
- ✓ Puis un bain dans l'éosine (02 min) pour colorer le cytoplasme ;
 - ✓ Lavage avec l'eau distillée (**figure13**).

Deparaffinage des lames



Rehydratation des coupes



Coloration des coupes

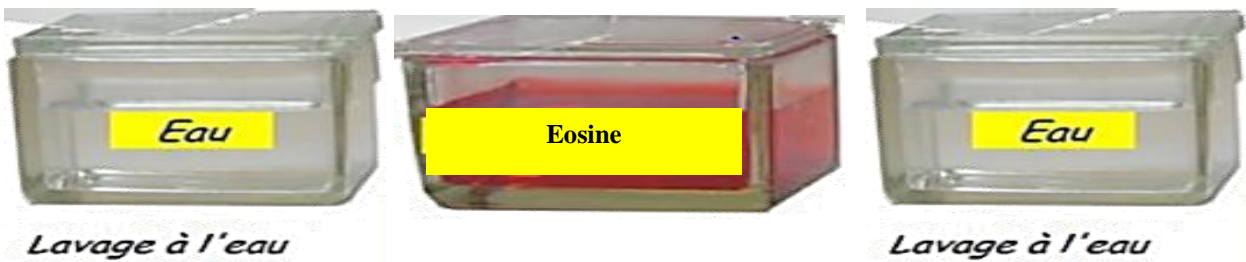


Figure 13: Différentes étapes de la coloration histologique

b) Séchage des lames après coloration



Photo10: Séchage des lames (originale).

Etape 6. : Montage

Après séchage des lames, ces dernières sont montées entre lame et lamelle avec résine synthétique l'Eukitt dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. Ces lames sont numérotées et prêtes à être observer à l'aide du microscope optique. **(Photo 11)**

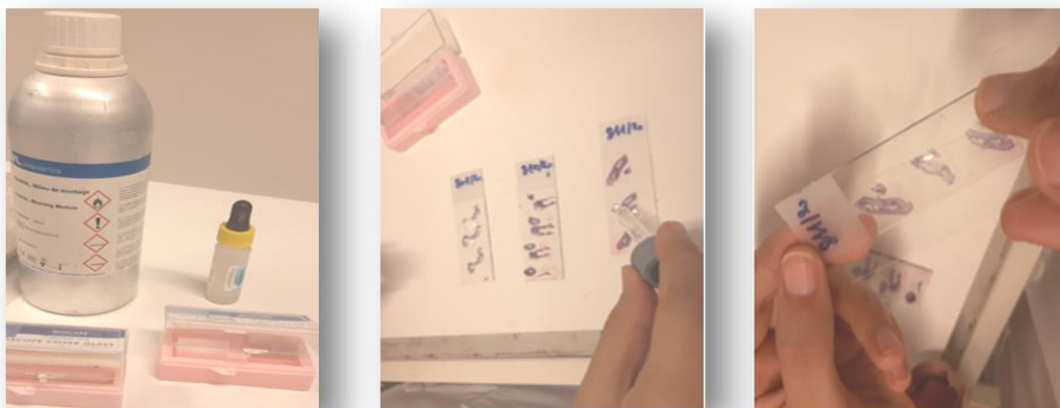


Photo 11: Etapes de montage des lames (original)

Etape 7 : Observation au microscope optique

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse. afin de localiser les carcinomes pour lesquels seront précisés les paramètres histopathologiques. **(Photo12)**



Photo12: Observation des coupes colorées par microscope photonique double tête (original).

II.5 Etude Immunohistochimique(IHC)

II.5.1 Principe

Il est basé sur l'utilisation d'un anticorps (AC) primaire dirigé contre l'antigène cible permettant d'identifier les antigènes recherchés dans la cellule. Un AC secondaire marqué à la peroxydase de Raifort (HRP) anti-fragment constante de l'anticorps primaire est ensuite utilisé. La réaction catalysée par l'enzyme à partir du substrat : peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), oxyde le DAB et donne un précipité brun dans le milieu de réaction. Une contre coloration à l'hématoxyline de Mayer colore les noyaux en bleu et rend possible la détermination topographique du marquage **(Figure 14)**.

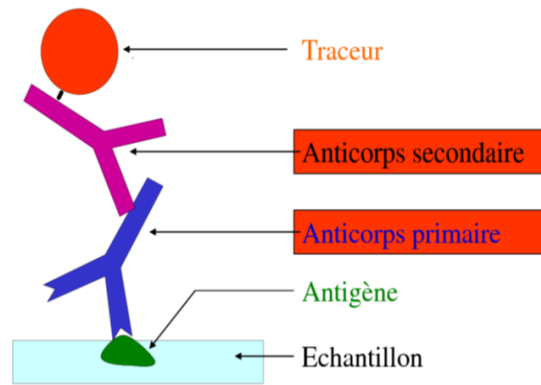


Figure 14: Principe d'immunoréactions indirecte

II.5.2 Témoins internes et externes

Le choix des témoins est indispensable pour s'assurer de la qualité de la technique IHC. Ces témoins peuvent être internes ou externes. Pour chaque anticorps utilisé, un témoin interne a permis de valider la technique. Les RE et les PR sont exprimés par le tissu mammaire normal (marquage nucléaire) et représentent un bon témoin interne positif. Chaque fois que cela est possible, nous avons choisi un fragment de tumeur où il persiste des structures bénignes de façon à disposer pour chaque tumeur d'un témoin interne intégré. C'est le marquage de ce témoin qui permettra de valider la technique en cas de négativité de la composante carcinomateuse infiltrant.

Pour le contrôle du marquage HER2 nous avons utilisé des témoins externes .Le témoin interne positif est représenté par un carcinome in situ de haut grade et/ou une maladie de Paget. Pour le Ki67 le témoin interne positif est représenté par les cellules lymphoïdes.

Procédure

La technique utilisée dans laboratoire anatomopathologies est manuelle (automate PT Link non disponible) pour réaliser cette technique IHC. Doit utiliser la méthode d'immunomarquage retenue pour cette étude est la technique d'immunoperoxydase en trois couches utilisant un kit DAKO- (En **Vision™ Flex System**) avec révélation par le DAB (3,3'-diaminobenzidine). (**Figure 15**) (**annex7**)

II.5.3 Méthode

Pour réaliser la technique d'immunohistochimie, on doit passer par les mêmes étapes d'histologie jusqu'à l'obtention d'une coupe étalée sur une lame, sauf que les coupes cette fois ci sont de 1,5µm d'épaisseur. Non colorée par hématoxyline.

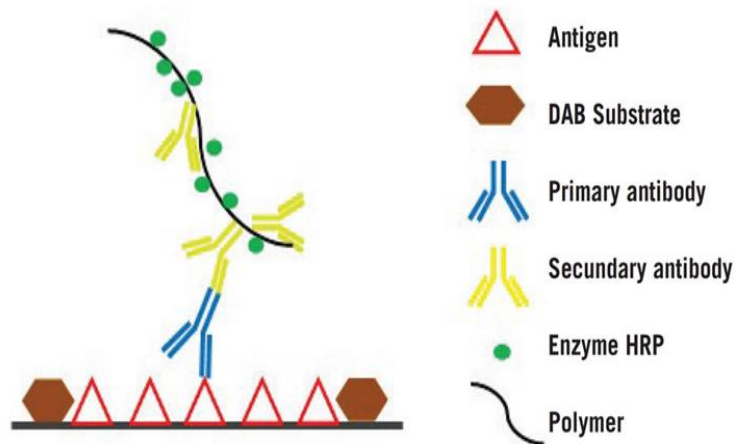


Figure 15: Procédure Du Protocol Manuel En Vision™ Flex System Dako

Les étapes d'IHC commencent sur des lames silanisées .Il est réalisable qu'après plusieurs étapes:

Étape 1 : Déparaffinage ; La Réhydratation

Le déparaffinage, la réhydratation induit par la chaleur (Heat-Induced Epitope Retrieval) (HIER) peuvent être réalisés sur des coupes de tissus fixées au formol et incluses dans l'aparaïne en utilisant la procédure 3 en 1. La chaleur pouvait au contraire être un moyen d'en augmenter l'intensité. Loin de supprimer les immuno-réactions. Depuis l'utilité de l'étuve à température du 75°C a été suggérée à toutes les étapes de la préparation et du marquage des échantillons. **(Photo13)**



Photo13: déparaffinage les lames sont mises dans l'étuve à température du (75°C pendant 24h)

Etape 2 : Démasquage antigénique

Le but de cette étape est de permettre aux Acs d'entrer en contact avec les Ags et de libérer les sites antigéniques en coupant les liaisons covalentes inter et intra moléculaires entre les protéines et les glycoprotéines. Le démasquage par la chaleur (HIER) pour donner des bons résultats, mais demande une grande précision pour ce qui est de la température, et la durée d'incubation et du pH des tampons utilisés, qui peuvent varier selon l'anticorps RE. RP. HRE2. KI67.

- ✓ Le bain marie est préchauffer à 93°C ;
- ✓ Ensuite séparé les lames on deux bacs de solution **TRS** de pH acide et pH basic ;
- ✓ Pour la mise en évidence des RE/RP on utilise la solution Dako **Target Retrieval Solution TRS, High pH ; (Photo (A) 14)**
- ✓ Pour la mise en évidence des HRE2 et KI67 : on utilise la solution Dako **Target Retrieval Solution TRS, Low pH ; (annexe8)**
 - ✓ Les lames sont mises ensuite dans les bacs à solution de démasquage et remises dans le bain marie à (96°C pendant 45min). **(Photo (B) 14).**

NB: La préparation des solutions de **TRS** et **TBS** et les anticorps diluée voir (annexe 8).

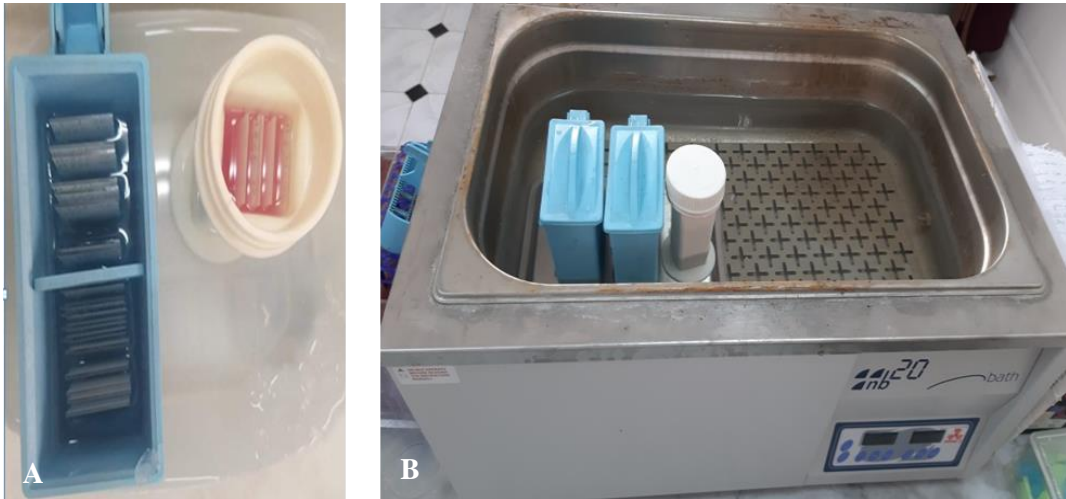


Photo14: Bacs à solution de démasquage avec les lames sont dans le bain marie.

- ✓ Les bacs sont retirés ensuite, et laissés pour refroidir (10 min).avant de commencer l'immunomarquage ;
- ✓ Lavage en TBS. (05 min) ;
- ✓ Après séchage des lames, un cercle est dessiné autour de la zone fixée sur la lame avec le crayon hydrophobe pour faciliter le dépôt de l'AC primaire et pour éviter le gaspillage de l'AC. (**Photo15**)

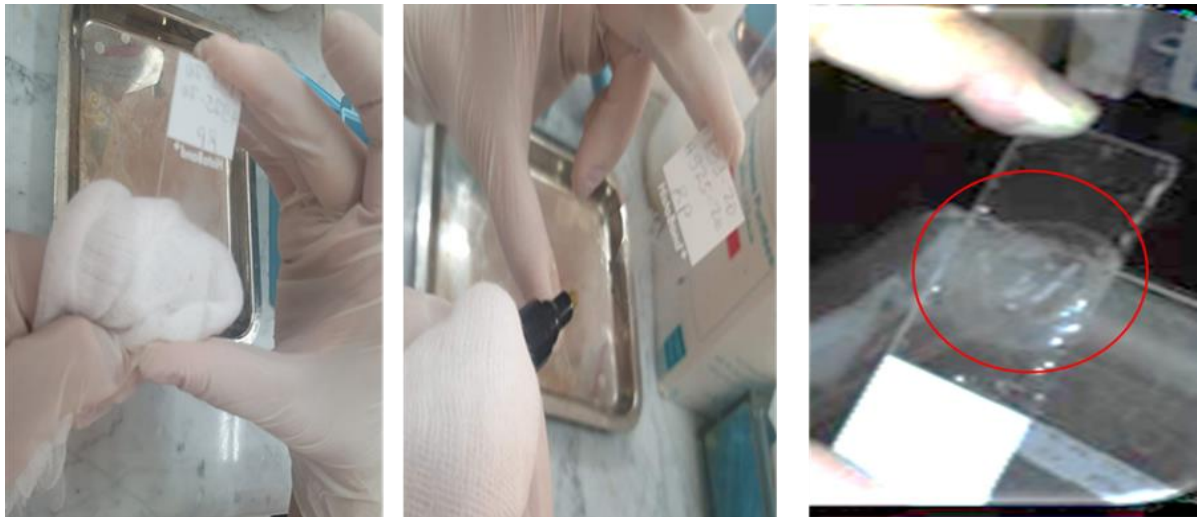


Photo15: Traçage avec le Dako Pen et le dépôt de l'AC primaire (Flèches et cercle rouge)

Etape 3 : Blocage des peroxydases endogènes

Pour réduire la coloration de fond indésirable dans l'IHC causée par l'activité de la peroxydase endogène, la solution de blocage (Peroxyde Block) est appliquée sur la coupe

tissulaire dans la chambre humide.(**Photo(B) 16**) . Ce n'est pas fait avant l'incubation avec l'anticorps primaire :

- ✓ L'ajout de la solution de blocage "Peroxyde Block" : (peroxydase+ eau oxygénée (H₂O₂) sur la zone limitée par le Dako Pen (10-15min) où le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) contenu dans la solution inactive ou empêche l'activité de la peroxydase endogène ;
(Phot(A) 16).
- ✓ Lavage deux fois en TBS (05 min).(**Photo (C) 16**).



Photo16 : Dépôt de la solution de blocage

Etape 4 : Application de l'anticorps primaire

- ✓ L'ajout d'une à deux gouttes de l'anticorps primaire est déposée dans les limites du marquage (antiHER2, RE, RO, KI67) puis l'incubation des lames avec ces anticorps primaire pendant 1 heure dans une chambre humide à une température ambiante de 18 à 25°C ;(**Photo 17**)

Le choix de l'anticorps pré dilué ou concentré ; la durée d'incubation de l'anticorps primaire.

Pour les récepteurs nucléaires, les anticorps primaires sont pré dilués et prêts à l'utilisation:

- RE: FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human estrogène Récepteur Clone EP1 ;
- RP: FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Progestérone Receptor Clone PgR 636.

Pour le récepteur membranaire, l'anticorps est commercialisé et livré par **Dako**.

- HER2 : polyclonal Rabbit anti-humen C-erbB2. (annexe 8).

Pour les récepteurs cytoplasmiques, l'anticorps est prédilué et prêt à l'utilisation:

- KI67 : FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human ki67 antigen clone MB-1.

- ✓ Rinçage par le TBS. 3 fois (5minutes) avec un tapotage pour éliminer l'excès. (05min).



Photo17: incubation de l'anticorps primaire. Dans la chambre humide à une température ambiante de 18 à 25°C

Etape 5: Incubation avec l'anticorps secondaire

La réaction dans la chambre humide à une température ambiante de 18 à 25°C, avec l'anticorps secondaire l'incubation durera 30 minutes à lieu.

- ✓ L'ajout d'une goutte de l'anticorps secondaire du **HRP / RTU (EnVision FLEX HRP SM802)** sur la zone délimitée de chaque lame. (**Photo 18**) ;
- ✓ Trempage dans deux bains de TBS pendant 5 minutes chacun.



Photo18 : dépôt de l'AC secondaire couplé à la peroxydase (HRP rabbit/mouse)

Etape 6 : Révélation du complexe (AC-Ag) DAB

- ✓ La solution DAB est préparée d'un ml du diluant « Substrat Buffer ») avec (20µl) du concentré « Chromogène DAB») (**Photo (A) 19**) (annexe 8) ;

- ✓ Une goutte de DAB est ajoutée sur chaque lame (05-08min) ; **(photo(B) 19)**
- ✓ La révélation est faite dans une chambre noire. La réaction est pratiquement instantanée pour éviter une trop forte coloration ;
- ✓ Trempage dans deux bains de TBS de 05 minutes chacun ;
- ✓ Séchage des lames est obligatoire après chaque étapes ;

L'activation enzymatique du chromogène génère un produit de réaction visible au niveau du site antigénique (apparition des taches marrons). **(Photo(C) 19)**



Photo 19: Préparation puis application du DAB sur les lames et apparition des taches

Etape 7:Contre coloration

- ✓ Les lames sont placées dans un plateau port lames ;
- ✓ Une goutte de la solution aqueuse d'hématoxyline pré-préparée est ajoutée sur chaque lame à l'aide d'une pipette gradué. Cette opération d'une durée d'environ 03min (HE colore les noyaux en bleu, afin de repérer le profil de l'immunomarquage.), (photo 20) ;
- ✓ Rincées les lames à l'eau distillée ;
- ✓ Les lames sont lavées au TBS ;
- ✓ Rincées les lames à l'eau distillée.



Photo 20: Application du l'Hématoxyline sur les lame

Etape 8 : Montage

Cette étape est réalisée par l'ajout de Dako Cytomation Glycerogel Monting Medim sur les lames, ces dernières sont couvertes avec une lamelle. De ce fait, les lames sont prêtes à l'observation sous microscopique.

Etape 9 : Prise des images et lecture des lames

La prise des photos et la lecture des lames sont réalisées par le docteur Tellai S; anatomopathologiste et chef de service d'anatomopathologie à L'EPH Tirichine Brahim et la clinique d'oasis.

A pink awareness ribbon is positioned diagonally across the page, starting from the top left and ending at the bottom right. The ribbon has a slight 3D effect with shadows and highlights. The text is centered over the ribbon.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1-Résultat d'étude épidémiologique

III.1.1 Répartition de l'échantillon selon les années

Nous avons étudié 222 cas du cancer de seins pendant les quatre dernières années, l'étude a concerné tous les cas du cancer du sein diagnostiqués chez les femmes.

Tableau 1 : Répartition de l'échantillon selon l'année.

Année	2017	2018	2019	2020 (06 mois)
Effectif	48	37	94	43

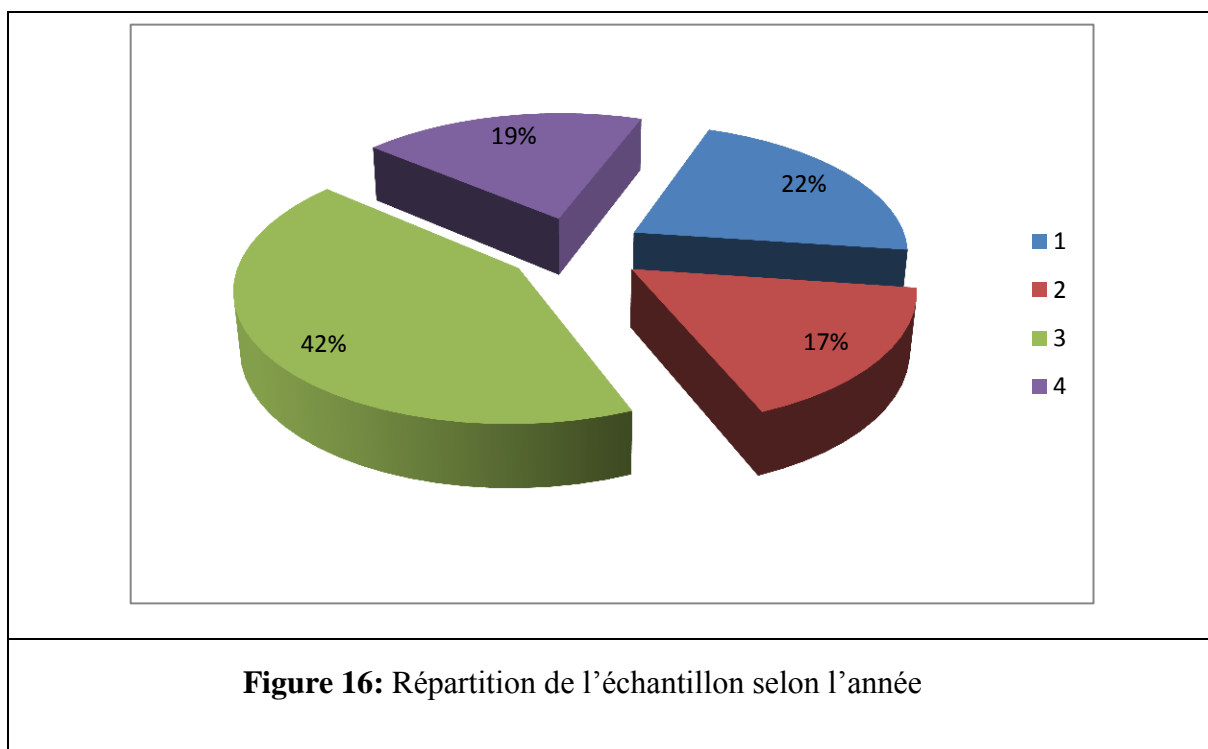


Figure 16: Répartition de l'échantillon selon l'année

La répartition de l'échantillon selon l'année représentée par la figure 16 nous montre que :

- L'année 2019 vient en premier avec 94 cas (42%), suivie par l'année 2017 avec 48 cas (22%), 2020 avec 43 cas (19%), 2018 avec 37 cas (17%). Ce graphe montre aussi que les cas augmentent d'année en année sauf pour l'année 2018. (Manque de réactif d IHC).

III.1.2 Répartition en fonction de l'âge

Ce tableau met en évidence tous les groupes d'âge qui ont été touchés par le cancer du sein à partir de 2017 jusqu'à le premier trimestre de 2020.

Tableau 2: Répartition des cas en fonction de l'âge

Tranche d'Age	Effectif	pourcentage%
[23-33]	24	10.8%
[34-40]	33	14.86%
[41-48]	60	27.02%
[49-55]	42	19.09%
[56-62]	43	19.54%
[63-70]	17	7.65%
[71-78]	05	2.25%
[79-85]	07	3.15%

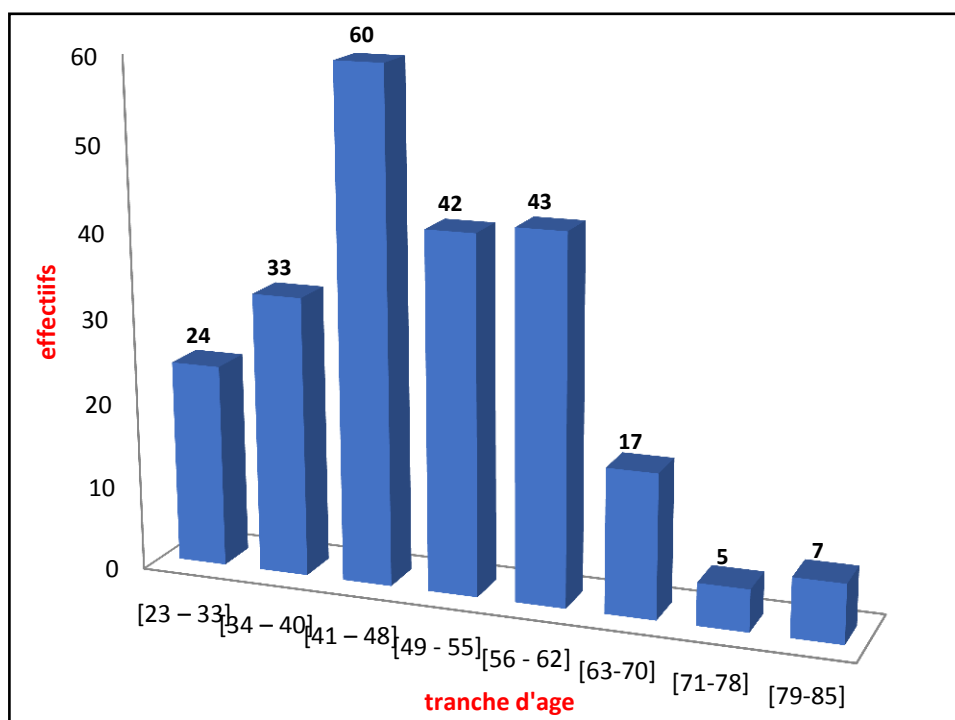


Figure 17: Répartition des cas selon les tranches d'âge.

La répartition de l'échantillon selon les tranches d'âge montre les résultats suivants :

- ✓ On remarque un pic de fréquence chez la population âgée de [41 – 48] ans (27.02%) soit 60 cas, on conclue que le cancer de sein est fréquent chez cette tranche d'âge ;
- ✓ Les femmes âgées de [23 ; 33] ans représente (10,80%) soit 24cas ;
- ✓ Les femmes âgées de [34 ; 40] ans représente (14,86%) soit 33 cas ;

- ✓ Les femmes âgées de [49; 55] ans représente (19,09%) soit 42 cas ;
- ✓ Les femmes âgées de [56; 62] ans représente (19,54%) soit 43cas ;
- ✓ Les femmes âgées de [63; 70] ans représente (7,65%) soit 17 cas.
- ✓ Les femmes âgées de [71 ; 78] et de [79; 85] ans ne représentent que (2,25%) soit 05 cas.

III.1.3 Répartition selon le type de prélèvement

Le service reçoit deux types de prélèvement (Biopsie, Pièce opératoires) distribués comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 3 : la répartition des cas selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	Biopsie	Pièce opératoires
Effectif	186	36
%	83,78%	16,22%

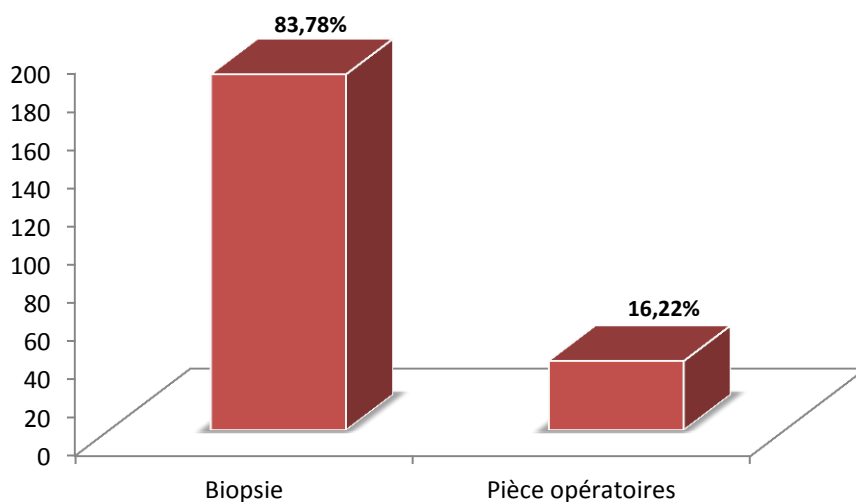


Figure 18: Répartition de cancer de sein selon le type de prélèvement

L'observation de la répartition des échantillons montrer par l'histogramme indique que la majorité des prélèvements sont des micro-biopsies et biopsique (83,78%) réalisées au sein de service. Les pièces opératoires de mastectomies représentent (16,22%) de total.

III.2 Etude histologique

III.2.1 Répartition selon les types histologiques

Le cancer de sein possèdent différentes type parmi ses types trouvent dans notre étude sont présentent dans le tableau au- dessus

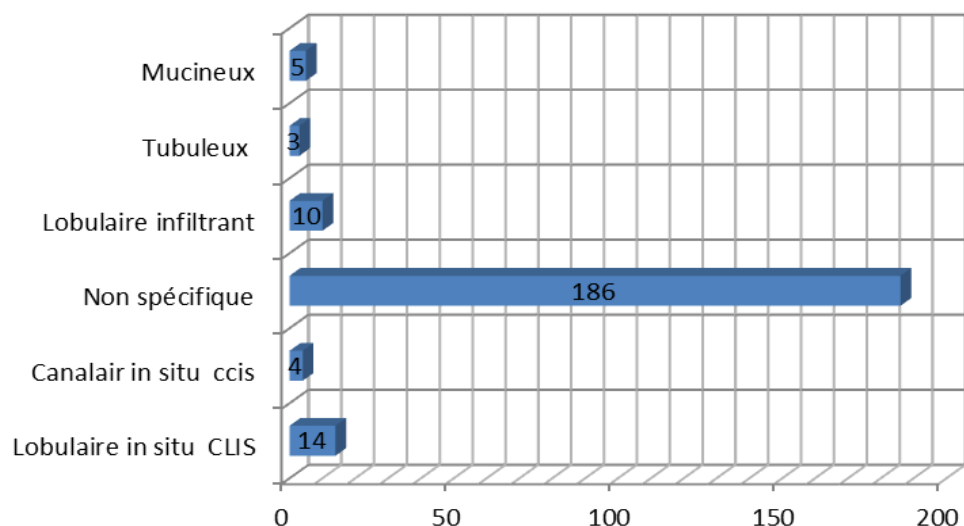


Figure 19 : Répartition des cas selon le type histologique

Tableau 4 : Répartition des cas selon les types histologiques

Types histologiques	Classement	Effectif	Pourcentage%
Carcinome non infiltrant	Lobulaire in situ CLIS	14	6,31
	Canalair in situ CCIS	04	1,81
Carcinome infiltrant CI	Non spécifique	186	83,78
	Lobulaire infiltrant	10	4,50
Autres types	Tubuleux	03	1,35
	Mucineux	05	2,25

L'examen histologique des prélèvements effectués montre :

- ✓ Une nette prédominance de la tumeur carcinome infiltrant non spécifique avec 186 cas, soit 83,78% ;
- ✓ Et seulement 18 cas de carcinome non infiltrant ;
- ✓ Les autres tumeurs comportent : le carcinome Tubuleux 03 cas et mucineux 05cas.

III.2.2 La répartition selon les grades histologiques

Les tumeurs de grade histologiques II Nottingham (SBR) étaient majoritaires représentant 74,51% des cas(132). Les grades III et I représentent respectivement 23,72% (42) et 1,69% (03)

Tableau 5 : Répartition de tumeurs selon le grade histologique

Grade	Effectif
I	03
II	132
III	42

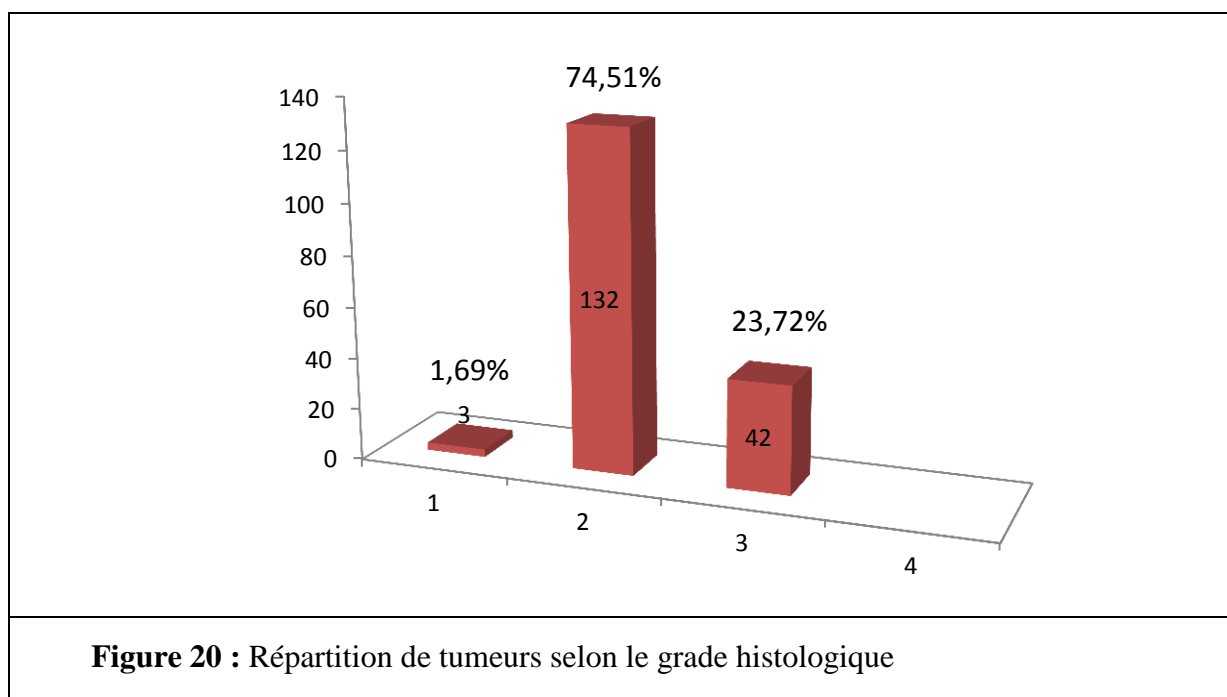


Figure 20 : Répartition de tumeurs selon le grade histologique

III.3 Résultats d'étude Immunohistochimique IHC (Moléculaire)

Le pourcentage a été utilisée dans cet étude et chez 52 patientes.de l'année 2019 jusqu'à le premier trimestre de 2020.

III.1.1 Répartition selon les récepteurs hormonaux (RH)

Dans notre étude, 40 cas sont RO positifs soit 76,92% (Tableau 7). Par ailleurs, 36 cas sont RP positifs soit 69,23%. (Tableau 6)

Tableau 6: Répartition des patients selon les récepteurs progestatifs.

RP	Positif	Négatif
Effectif	36	16
Pourcentage %	69,23%	30,77%

Tableau 7 : Répartition des patients selon les récepteur ostrogéniques

RO	Positif	Négatif
Effectif	40	12
Pourcentage %	76,92%	23,08%

La méthode du pourcentage a été utilisée chez toutes les patientes. Le seuil de positivité est de 1% des cellules marquées. (Annexe 2).

Tableau 8 : la répartition selon les récepteurs hormonaux positifs et négatifs.

Récepteur hormonal	Effectif	Pourcentage %
RO+/RP+	34	65 .38%
RO+/RP-	06	11 .54%
RO-/RP+	02	3.85%
RP-RO-	10	19 .23%

✓ 44 tumeurs, soit 84,61%, sont récepteurs hormonaux positifs dont :

- 34 tumeurs (65,38%), sont de phénotype RO+/RP+ ;
- 06 tumeurs (11,54%), de phénotype RO+/RP ;
- 02 tumeurs (3,85%) de phénotype RO-/RP+ ;

✓ Les récepteurs négatifs notés chez 08patientes représentent 19,23%.

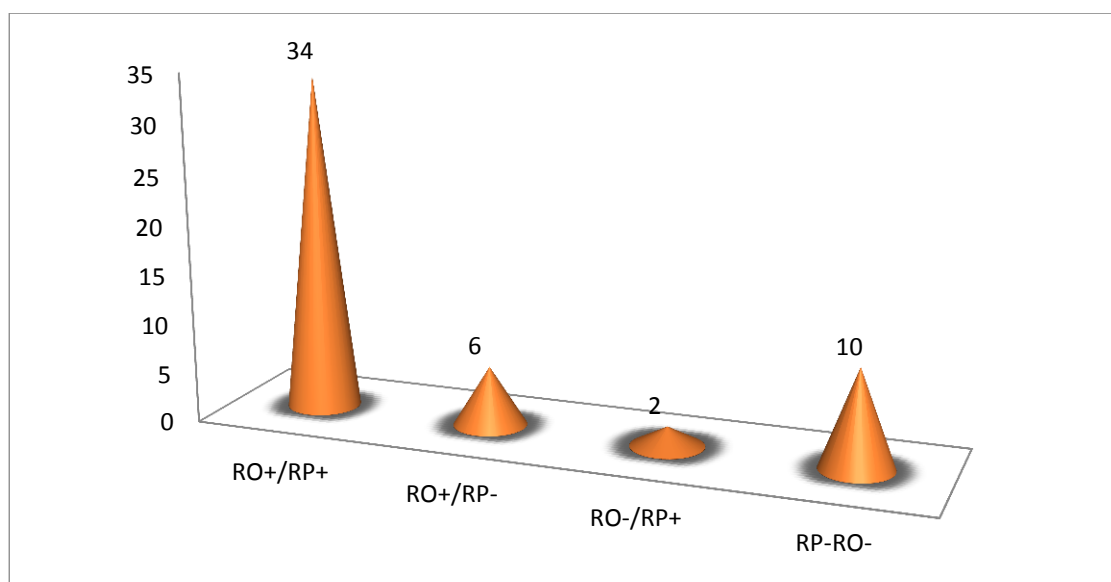


Figure 21: Répartition des cas selon les récepteurs hormonaux positifs et négatifs.

III.3.2 Répartition de HER2 :

La méthode du pourcentage a été utilisée chez toutes les patientes. Le seuil de positivité est de 1% des cellules marquées (Recommandations de l'ASCO) (annexe 2).

La majorité des cas de nos patients ont un HER2 négatif soit 65% (34 cas). Par ailleurs, 35% des cas sont des HER2 positif. (Tableau 9)

Tableau 9 : Répartition des patients selon l'expression du HER2

HER	Positif	Négatif
Effectif	18	34
Pourcentage %	35%	65%

NB : les scores +0 et +1 considérés comme des scores négatifs

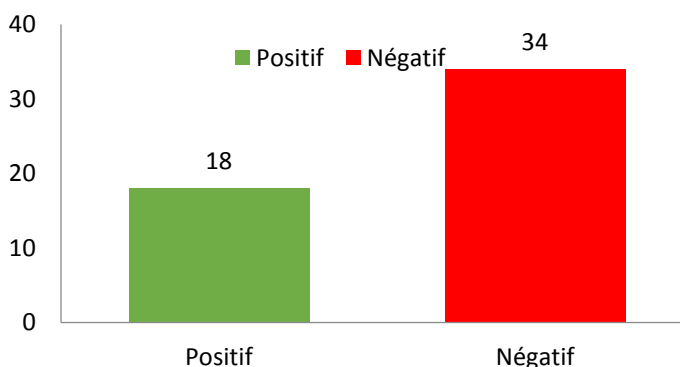


Figure 22 : Répartition des patientes selon l'expression du HER2.

III.3.3 Expression de Ki-67

L'expression de l'antigène Ki-67 qui est un indice de prolifération a été recherché chez les patientes.

Tableau 10 : Répartition des patientes selon l'expression du Ki67.

Pourcentage d'estimation KI67	Effectif	Pourcentage %
[05% ; 25%]	26	50%
[30% ; 45%]	08	15,38%
[50% ; 70%]	18	34,61%

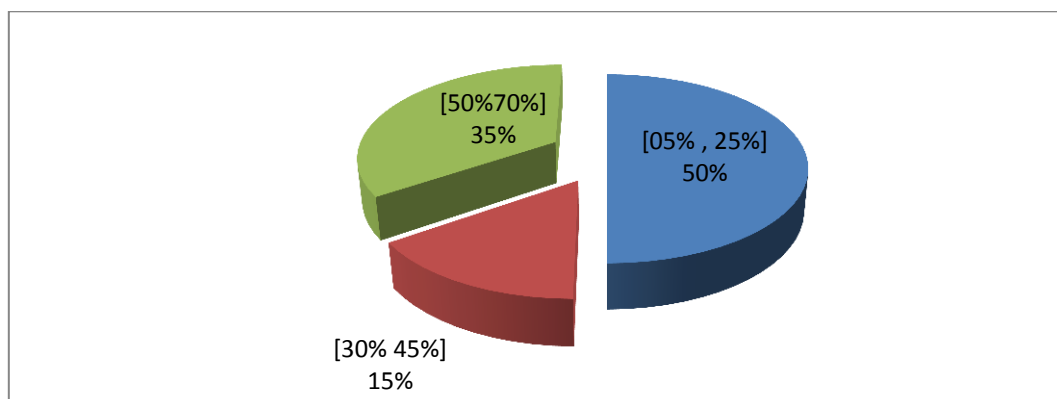


Figure 23 : Répartition des patients selon l'expression du Ki67.

III.4 Classification moléculaire (les sous types Luminal)

La classification des données montre que : Le type Luminal A est le sous type le plus fréquent avec 26 cas soit 50%, suivi du type HER2 avec 10 cas soit 19,24 % ; Puis le sous type Luminal B et triple négatifs avec 8 cas soit 15,38%.(Tableau 11)

Tableau 11 : Répartition selon la classification moléculaire

Sous Types	Effectif	Pourcentage %
Luminal A	26	50%
Luminal B	08	15,38%
HER2	10	19,24%
Triple négatif	08	15,38%

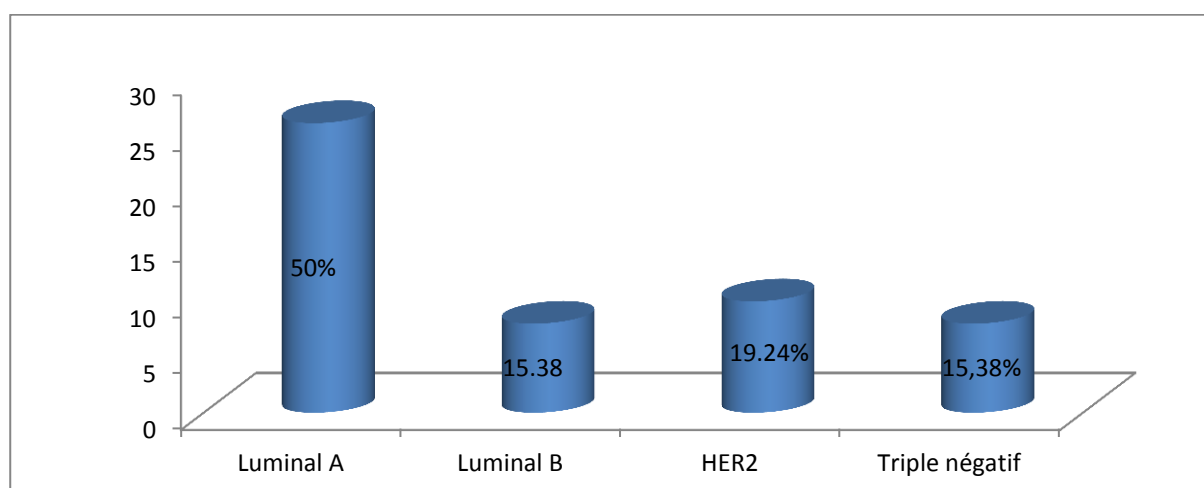


Figure 24 : Répartition selon la classification moléculaire

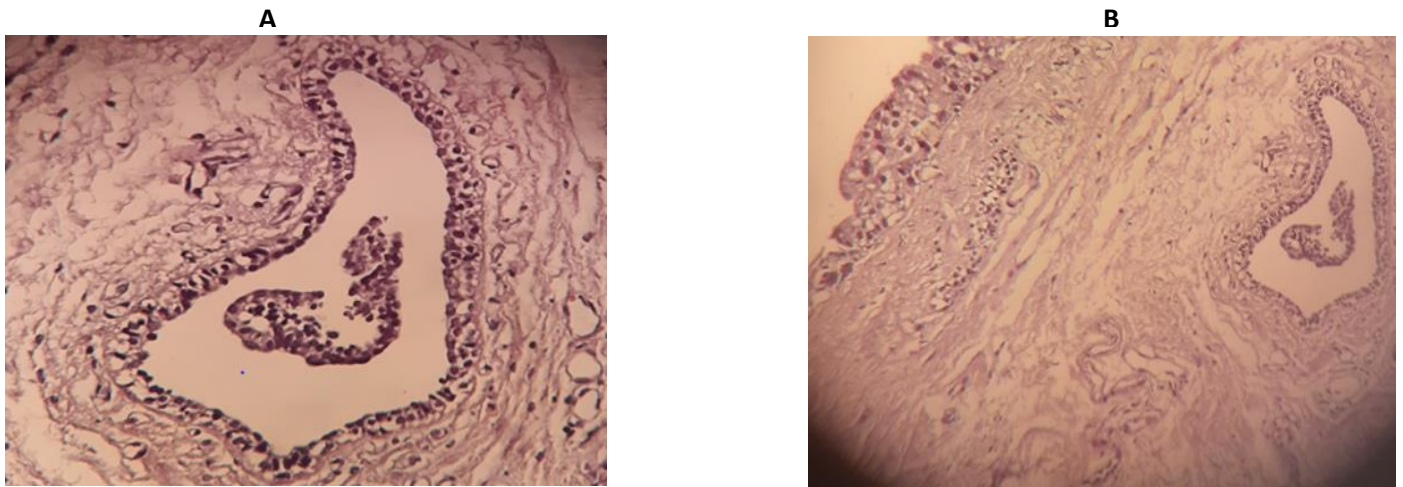


Photo 21 : Hyperplasie canalaire : HE (A:Gx40;B : Gx25) Service anatomie pathologique/clinique des oasis (Original)

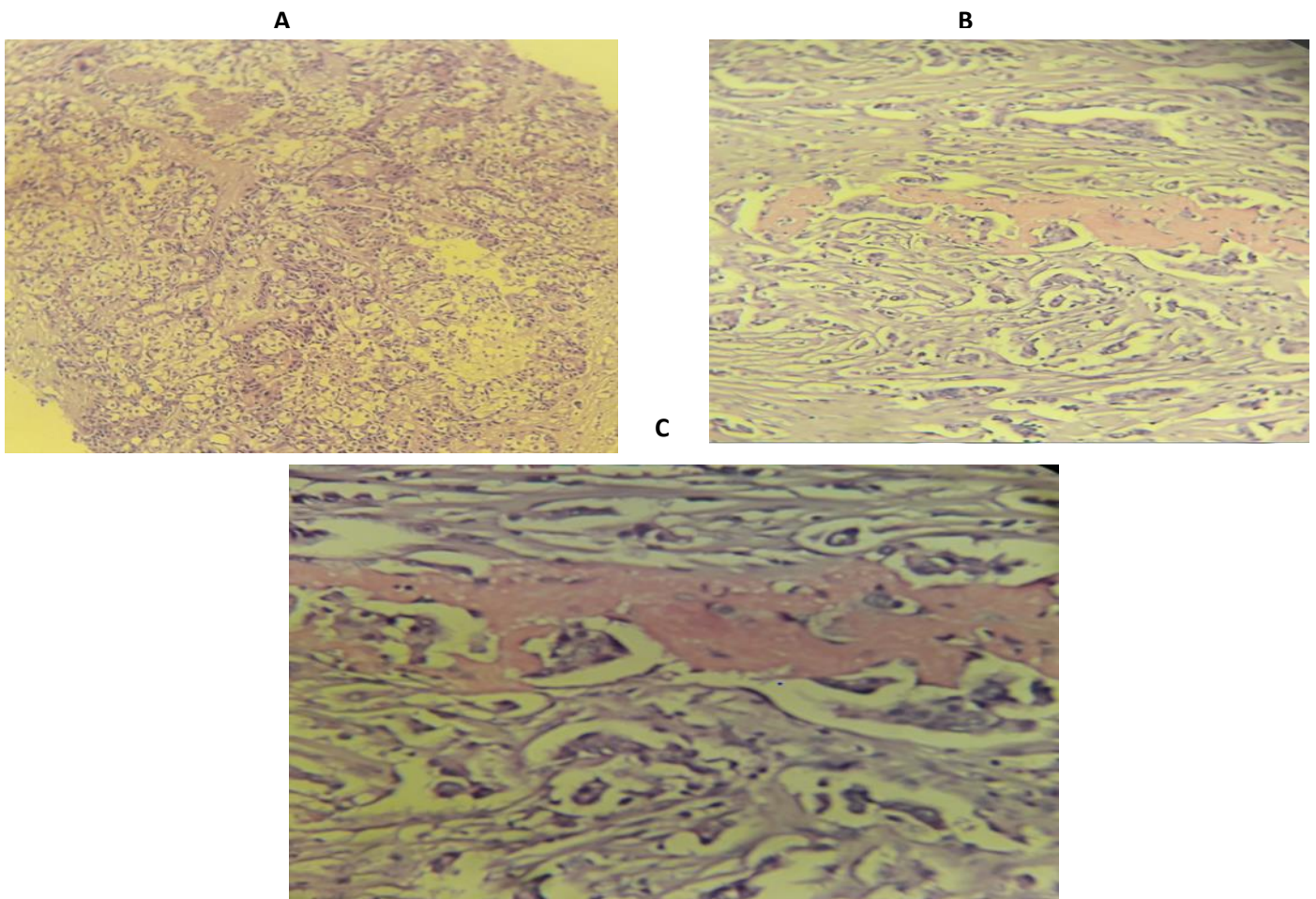


Photo 22: Carcinome canalaire infiltrant non spécifique. HE (A : G x10 ; B : G x25 ; C : Gx40). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis(Original)

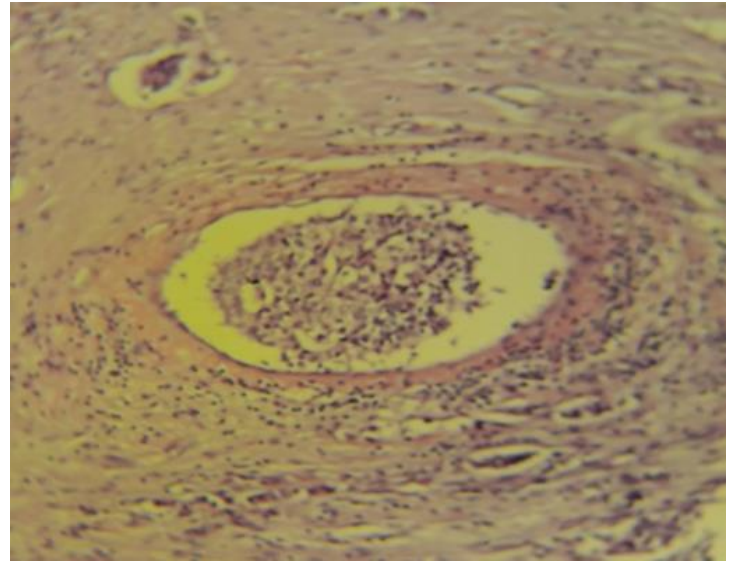
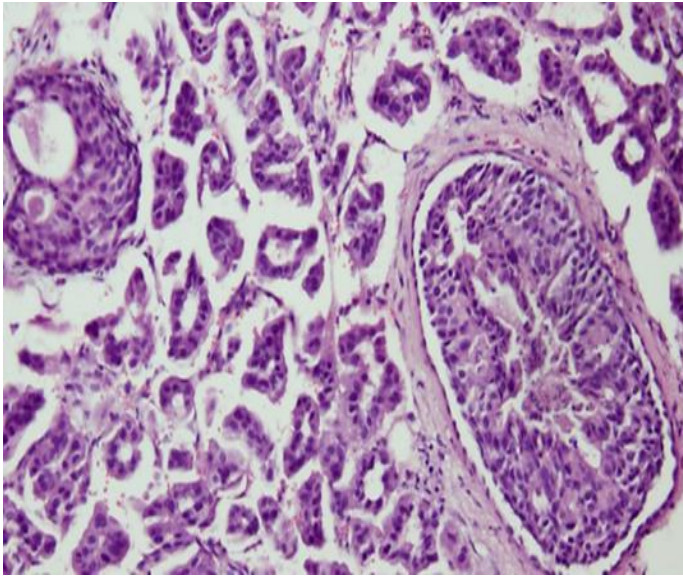


Photo23 : Emboles vasculaires HE (Gx25) ; Service anatomie pathologique/ clinique des oasis(Original)

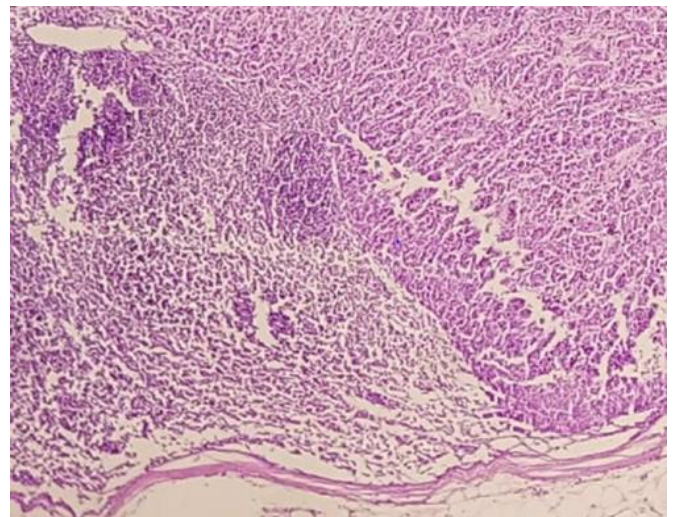
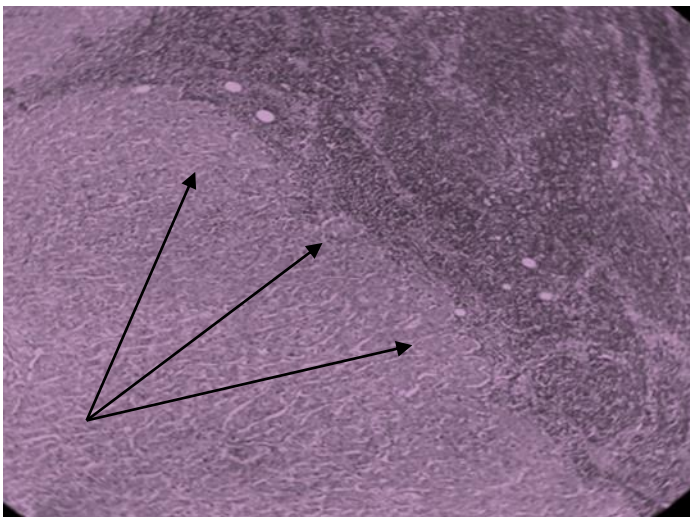


Photo24: Métastase ganglionnaire d'un carcinome canalaire infiltrant A(HEx10) B (HEx25). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis

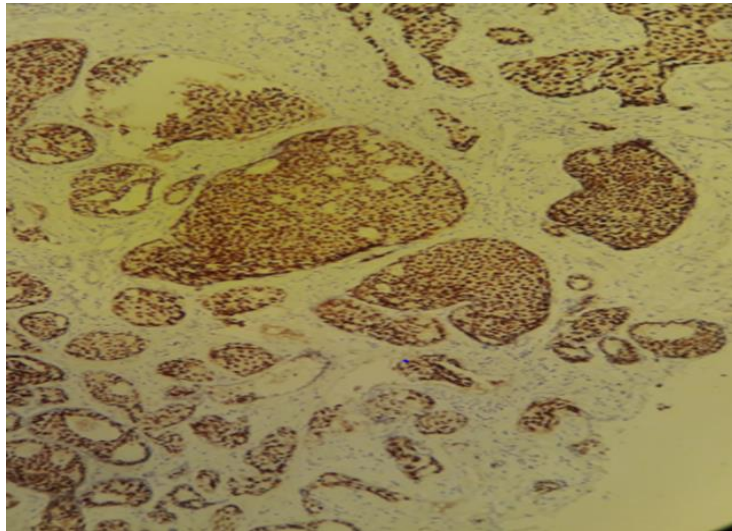


Photo25: Immunomarquage : récepteur œstrogène marquage intense et diffus (GX25)..
Service anatomie pathologique/ clinique des oasis (original)

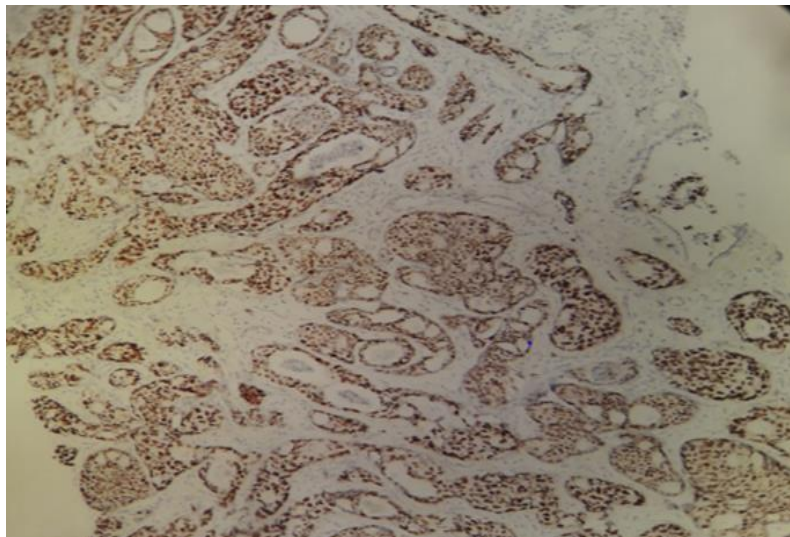


Photo26: Immunomarquage : récepteur progestérone marquage intense et diffus marquage fort diffus (GX40). Service anatomie pathologique/ clinique des oasis (original)

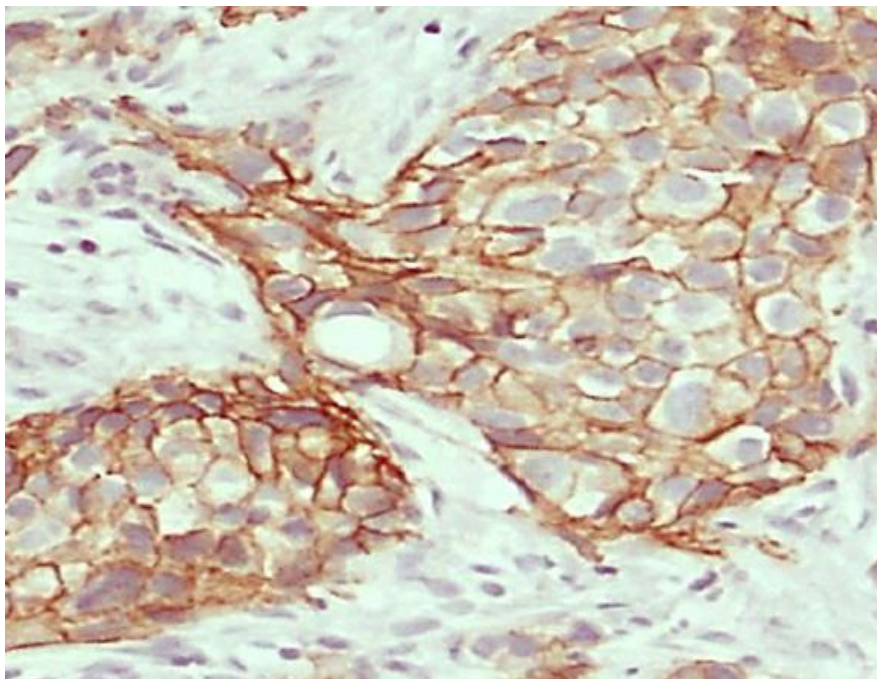
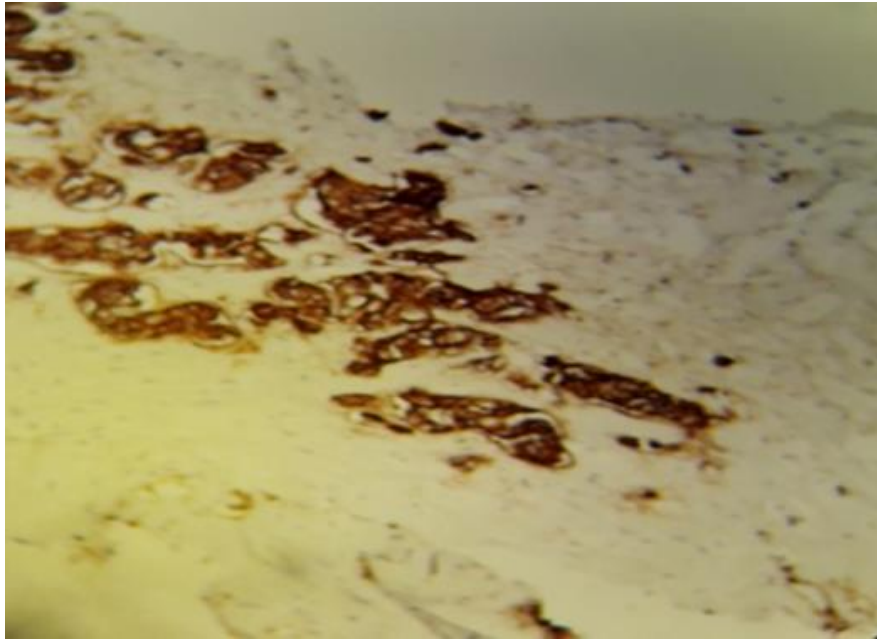


Photo27 : Immunomarquage : HER2 (GX10et40) Service anatomie pathologique/ clinique des oasis (original)

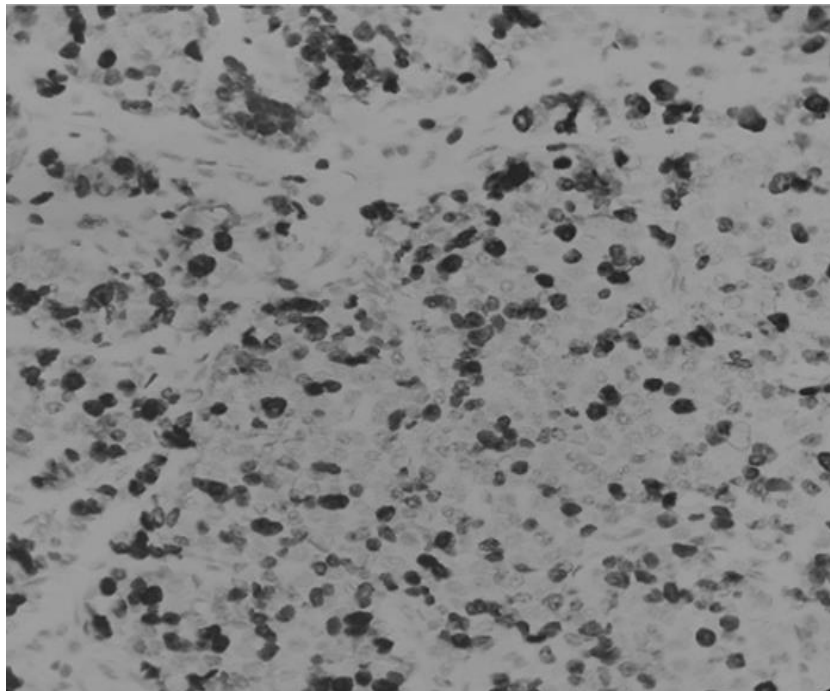
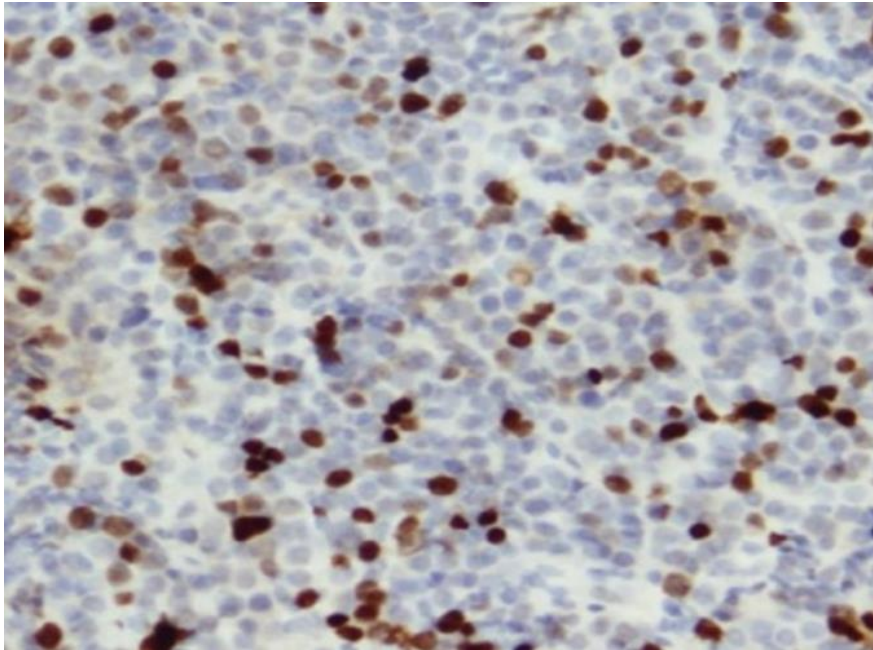


Photo 28: Immunomarquage : De KI67, marquage nucléaire intense, pourcentage fort 60% (GX40).Service anatomie pathologique/ clinique des oasis

IV Discussions

Le cancer constitue un fléau avec une incidence en croissance d'année en année, qui nécessite des moyens techniques et thérapeutiques pour le diagnostic et la prise en charge. Dans la Wilaya de Ghardaïa les efforts consentis par l'état au niveau central et local ont permis d'améliorer la prise en charge de cette pathologie.

La création du service d'anatomopathologie de l'EPH Dr Tirichine Brahim de Ghardaïa rentre dans cette perspective et a vu le nombre de malades cancéreux augmenter depuis.

En 2020, près de la moitié des malades diagnostiqués l'étaient pour une pathologie néoplasique. Le cancer du sein représente la tumeur la plus fréquente dans la Wilaya de Ghardaïa à l'instar des autres Wilaya et également dans le monde. Ce qui a motivé le choix du sujet de notre travail, réalisé dans le cadre d'un stage de fin d'étude. Il a porté sur 222 cas de néoplasie mammaire type carcinome survenu chez des patientes entre l'année 2017 et 2020 (1^{er} trimestre). Ce travail a porté sur l'aspect anatomo- pathologique (techniques histologiques et immunohistochimiques des cas de cancer du sein recrutés aux laboratoires d'anatomie pathologique de l'EPH Dr Tirichine Brahim et de la clinique des Oasis pendant la période du stage. Le suivi des patientes n'a pas été abordé dans cette étude, celles-ci étant souvent suivies dans des services hospitaliers (centre anti cancer) d'autres Wilaya selon leur ville d'origine (service d'oncologie médicale, service de radiothérapies et de chirurgie. Ce travail présente cependant certaines limites : exclusion des cas de cancer mammaire chez l'homme, les autres types de cancer mammaire autres que les carcinomes et les prélèvements mal préservés .Sur le plan IHC la technique est plutôt qualitative que quantitative, et présente certains avantages. La fiabilité de la technique dans chaque laboratoire doit reposer sur des règles des bonnes pratiques techniques. Elle est conditionnée, en particulier, par l'observation d'un protocole optimisé et par une utilisation rigoureuse des témoins internes et externes.

Cette étude menée de 03 mars 2020 jusqu'au 15 septembre 2020 a permis de colliger 222 cas de cancer du sein (carcinome) chez la femme entre l'année 2017 et le premier semestre de l'année 2020 (06 mois) diagnostiqués dans les services d'anatomie pathologique de l'EPH Dr Tirichine Brahim Ghardaïa et de la clinique des oasis.

Notre série est principalement constituée des prélèvements recueillis par micro biopsie et des pièces opératoires acheminées au sein des services d'anatomie pathologique en provenance des centres de radiologies et des services de chirurgie. Elle regroupe 186 cas (83.78%) de biopsies, et 36 cas (16.22%) pièces opératoires.

La majorité des cas, ont été diagnostiqués par micro biopsie 186 cas technique employée de réels avantages permettant le diagnostic et l'orientation de la thérapeutique (Etude Immunohistochimique) ce qui montrant encore une fois l'intérêt d'un dépistage précoce pouvant éviter le recours à des traitements lourds. Le nombre des pièces opératoires a cependant évolué au fil des années avec l'amélioration de la prise en charge chirurgicale.

L'étude épidémiologique indique que l'âge moyen au diagnostic est 55,4 ans, la tranche d'âge la plus représentée est [41 – 48] ans (27.02%). Avec des extrêmes de 23 à 85 ans ; (10.8%) des cas sont diagnostiqués avant l'âge de 41 ans. Ces résultats se rapprochent de ceux du registre des tumeurs d'Alger II représente 38, 4% des cancers du sein de la femme en 2018. L'âge moyen est de 51,4 et l'âge médian 50ans dans notre étude. La tranche d'âge ou le cancer du sein est le plus fréquent et [45-49]. Contrairement aux pays occidentaux, le cancer du sein en Afrique du nord semble être une maladie de la femme plus jeune. Dans notre étude les patientes de moins de 25 ans représentent (10,8%) .En réalité, le risque augmente tout au long de la vie à partir de 25 ans.

Le cancer du sein après 70 ans représente (5.4%) des cas selon nos résultats. Les femmes âgées de plus de 70 ans en Afrique du nord présentent moins de facteurs de risques de cancer du sein (âge de la première grossesse précoce, parité élevée, allaitement prolongé) que celles âgées de moins de 40 ans. L'âge de survenue du cancer du sein permettra d'adapter la stratégie de dépistage. (Dr. Baba hamed.2018). L'étude histologique a montré qu'une nette prédominance du carcinome infiltrant de type non spécifique (NST) anciennement appelée carcinome canalaire infiltrant (CCI) avec 186 cas 83,78%. Les carcinomes lobulaires infiltrant arrivent en seconde position, avec 10 patientes soit 4.50%.

- 14 cas de carcinomes lobulaires in situ CLIS soit (6.31%) ;
- 04 cas de carcinome canalaire in situ CCIS soit (1.81%) ;
- Les autres tumeurs plus rares comportent : le carcinome tubuleux soit de (1.35%) et carcinome mucineux soit de (2.25%) ; nos résultats concordent avec ceux de la littérature (welter et al. 2008; zidan et al. 2015 ; gogia et al. 2019) ; Le carcinome canalaire infiltrant représente 80 % des cancers invasifs du sein (370, 386) cas ; Le carcinome lobulaire infiltrant représente environ 5 à 15 % de tous les cancers du sein.

Les fréquences des différentes formes tumorales obtenues dans notre travail vont dans le même sens que celles retrouvées dans les études sus citées.

Nous avons également noté que les tumeurs de grade histologiques II (SBR corrigé (Nottingham) étaient prépondérantes représentant 132 des cas (74.51%). Les grades III et I représentent respectivement (23.72%) et (1.69%) (Figure 20). Les tumeurs de grade II sont les plus fréquentes, mais de façon plus marquée dans notre étude 74.51%, par rapport au Maroc 55,5%, en Egypte 58%

ou en Europe 42 %. Par ailleurs, le pourcentage des tumeurs grade I et III au moment du diagnostic est faible. 23.72% et 1.69% contre 14% et 30,5% au Maroc, 12,4% et 29,6% en Egypte et 30% en Europe pour les deux grades (Terki, et al. 2007).

L'étude Immunohistochimique de l'expression du HER2 a révélé que la majorité des cas dans notre cohorte ont un statut HER2 négatifs 34cas (65 %), et positive 18 cas(35%) respectivement. (figure 22). Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de (Koo, et al. En 2010) qui ont démontré que (73,3 %) des cas avaient un profil HER2 négatif. Par ailleurs, la majorité de nos patientes expriment les récepteurs aux œstrogènes 34 cas (65.38%) des tumeurs tandis que les récepteurs à la Progestérone RP sont exprimés dans 18 cas (34.61%) (Ces résultats sont assez proches de ceux de la littérature. (Terki, et al. 2007). (406) cas montrent que les récepteurs aux œstrogènes (RE) étaient présents dans 67,40% des cas et que les récepteurs à la progestérone (RP) étaient présents chez 62,30% des patientes. Selon une étude menée au nord de l'Iraq les récepteurs hormonaux sont exprimés dans 63,3% des cas. Sofign étude asiatique intéressant 132 patientes montre Ro positif dans 66,3% et Rp positif dans 63,4%. (Babhamed , 2018).

Ces résultats montrent que la grande majorité des cas était représenté par le grade II avec un profil hormonal Ro/Rp positif ce qui permet une amélioration du pronostic avec l'hormonothérapie. La thérapie ciblée anti Her2 a aussi considérablement amélioré le pronostic dans les cas surexprimés. Concernant le Sous-type Moléculaire, nos résultats ont révélé que le phénotype le plus fréquent est caractérisé par le sous-type Luminal A de 26 cas (50%). Le Luminal B, et HER2 ; les triples négatifs sont présents respectivement, 15.38%, 19.24 %, 15.38% des cas. Ces résultats sont assez proches de ceux des autres études avec quelques variations pour certains sous-groupes. Le sous type Luminal A étant le moins agressif et le plus fréquent rend sa prise en charge plus favorable notamment avec l'hormonothérapie.

Afin d'évaluer l'état prolifératif des cellules cancéreuses, l'expression du ki67 a été recherchée. Nos résultats montrent une expression élevée chez la pluparts de nos patients atteints de carcinome primitive et métastatiques de (70% ; 65% ; 50% respectivement) (figure 23). Ce constat est en accord avec l'étude de (zekely, et al. 2016).

Néanmoins il est moins élevé dans le sous type Luminal A ce qui rend son pronostic plus favorable.

A graphic of a pink ribbon, symbolizing breast cancer awareness, is positioned behind the text. The ribbon is a vibrant pink color and is shown in a looped, flowing manner, with some parts overlapping the text.

Conclusion

Conclusion

Le cancer du sein constitue une préoccupation majeure de santé publique en raison de l'augmentation de son incidence. Ils demeurent le premier cancer de la femme en Algérie et à Ghardaïa malgré les progrès des traitements, par contre nettement mieux pris en charge ayant bénéficié d'un ciblage thérapeutique et de l'hormonothérapie avec les récepteurs hormonaux (RH) et HER2.

Cette étude portant sur 222 patientes atteintes de cancer du sein sur une durée de 07 MOIS (mars 2020 à 15 Septembre 2020) nous a permis de distinguer les différentes particularités épidémiologiques, anatomo-pathologiques et immunohistochimiques.

L'âge moyen est de 41 ans avec des extrêmes allant de 23 ans à 85 ans. La survenue de cas plus jeunes mérite une approche d'étude scientifique afin de les dépister et mettre en évidence d'éventuelle cause permettant une meilleure prise en charge.

Pour améliorer la prise en charge des patientes traitées du cancer du sein doit être encore suivis par l'établissement de réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) afin d'orienter la stratégie thérapeutique et ceci dans le but d'assurer aux patientes le maximum de chance de survie notamment pour les sujets jeunes avec la meilleure qualité de vie possible .

Sur le plan technique les indications de l'immunohistochimie sur coupes à congélation tendent à diminuer, d'une part en raison de la fabrication de nouveaux anticorps reconnaissant des épitopes résistants à la fixation, d'autres part grâce aux techniques de démasquage antigénique (micro-ondes, bain-marie) et aux systèmes de révélation ultrasensibles.

Chaque laboratoire effectuant les dosages des RH et HER2, ki67 et d'autre anticorps par immunohistochimie doit impérativement participer à des contrôles de qualité internes ou externes. Cette qualité est possible dans chaque laboratoire par une analyse du suivi des protocoles et une analyse critique par au moins deux pathologistes du service.

Hautement spécifique, la FISH et CISH, SISH ces des méthodes d'hybridation in situ est cruciale pour visualiser l'amplification génique du chromosome 17. Son utilisation dans les cas douteux (score 2+) est indispensable pour orienter la stratégie thérapeutique. Il est indispensable d'inclure ces technique dans nos laboratoires afin d'assurer une mise à niveau

Conclusion

Le dépistage organisé de cette affection est à l'heure actuelle, la seule arme, ayant pour objectif principal, fixé par le plan cancer 2015-2019, la réduction de la mortalité, l'amélioration des mesures de prévention ainsi que la qualité de vie pendant et après le traitement. Cependant ce dernier doit être adapté aux caractéristiques de notre population en fonction des résultats retrouvés. Par sa fréquence le cancer de sein doit bénéficier d'un programme national permettant d'organiser sa prise en charge à la fois sur le plan préventif, diagnostique et thérapeutique

. Les techniques histopathologique, immunohistochimiques et de biologie moléculaire constituent un maillon important de la chaîne méritant d'être amélioré dans nos laboratoires.

Le mois d'octobre mois rose est une occasion à saisir pour mettre en œuvre les efforts dans ce sens.

Références

- Aggour, I. 2016. La prise en charge thérapeutique des femmes atteintes d'un cancer du sein avec une ablation Cas pratique : Hôpital Benmerad El Mekki .Amizour. Université abderrahmane mira. Bejaia.
- Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A. U. (2017). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, 50(1).
- Atkins, A. Kong, S. 2013. *Practical breast pathology, a diagnostic approach*. Philadelphia.
- Battersby, S. Robertson, B. Anderson, T. King, R. 1992. Influence of menstrual cycle parity and oral contraceptive use on steroid hormone receptors in normal breast. *British journal of cancer*. 65:7-60.
- Belhafiane, S. (2015). *Cancer du sein chez la femme jeune de moins de 40 ans*. Université Cadi Ayyad.
- Bicar, Ayse. *Le cancer du sein chez la jeune femme et sa prise en charge* these d'exercice 2018. universite de limoges.
- Brahmi, K. (2014). *Le cancer du sein (n 5549)*. Place centrale-Ben Aknoun- ALGER: OPU.
- Going, J. Moffat, D. 2004, 13, April. *Clinical and biological aspects of human mammary*.
- Guillot, E. Couturand, B. Rey, F. Curnier, A. Ravinet, J. Laé, M., 2011. *Management of phyllodes breast tumors*. *The breast journal*. 129-137.
- Hammar, K. 2007. *Implication de l'immunohistochimie au pronostic des tumeurs mammaires et à la prise en charge thérapeutique* Mémoire de magister. Faculté des sciences département de biologie, Sidi bel abbes.
- Hanahan, D. Weinberg, A. 2000, *The hallmarks of cancer* *Cell*. 100:57-70.
- Houdebine, L. 1986. *Contrôle hormonal du développement et de l'activité de la glande mammaire*. *Reproduction Nutrition Développement*: 523-41.
- Hubert, P. 2007. *Les facteurs de croissance de la famille de l'EGF et leurs récepteurs*.
- JElShamy, W. 2016. *The protective effect of long duration of breastfeeding against pregnancy-associated triple negative breast cancer*. *Oncotarget*, 7(33).
- Jolicoeur, F. 2004. *Caractérisation de la cellule myoépithéliale du sein foetal, adulte normal et pathologique*.
- Kamel bouzid. Amoukran. d ramaten chorfi .malika gamaz bensaou .les cancers .volume 1 1ere Edition page 90 cipla juillet 2017.
- Kouchkar, A., 2014. *Caractéristiques biologiques et réponses histologiques du cancer du sein en situation de chimiothérapie néo adjuvante* .Thèse de doctorat en sciences médicales. Université d'Alger faculté de médecine .Alger.
- Lee, Y. Muller, J. 2010. *Oncogenes and tumor suppressor genes*. Cold Spring Harbor perspectives in biology.
- Mac Grogan, G. Penault-Llorca, F. 2009. *immunohistochimie en pathologie mammaire*.
- Martinet, J. Houdebine, L. 1993. *Glande mammaire, mammogenèse, facteurs de croissance, lactogenèse*. *Biologie de la lactation* Versailles .29.
- Medjdoub, A. 2013. *Facteurs de risques et études de quelques marqueurs biologiques circulants dans le cancer du sein dans l'Ouest Algérien*. Université d'Oran.
- Mombelli, S. (2014). *cancers du sein et immunité anti-tumorale*. Thèse de doctorat.
- Netter, F. 2007. *Atlas d'anatomie humaine*, 4^{ème} éd., Elsevier Masson, Paris, p.548.
- Perou, M. Sørlie, T. Eisen, B. van de Rijn, M. Jeffrey, S. Rees, A. 2000. *Molecular portraits of human breast tumors*. *J.Nature*. 406:52-747.
- Poli-Mérol, M-L. Souchon P-F, M. Lawane, F. Lefebvre, S. Daoud, 2005. *Pathologie mammaire de l'enfant*. EMC-Pédiatrie. 187-195.
- Razali, S. 2018. *Cancer du sein suivi d'une population sous chimiothérapie*. Université Abdelhamid ibn Badis-Mostaganem faculté des sciences de la nature et de la vie.
- Recht, A. Houlihan, M. D. Mary, J. 1995. *Axillary lymph nodes and breast cancer*. *J.ACS*. 76 :9.

Références

- Revillion, F. Bonneterre, J. Peyrat, J. 1998 .ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *European Journal of Cancer*.791-808.
- Richard, L. Drake, A. Mitchell, A ,2015 .Gray's Anatomie pour les étudiants ,2^{ème} éd. Elsevier Masson.
- Rodriguez-Castillo, J. A., Pérez, D. B., Ntokou, A., Seeger, W., Morty, R. E., Ahlbrecht, K. (2018). Understanding alveolarization to induce lung regeneration. *Respiratory Research*, 19(1).
- Salmon, S. Montemagno, S. Laki, S. Alran, H. Charitansky, V. Fourchette, M. 2007, Janvier. Réseaux lymphatiques de la glande mammaire: l'identification du ganglion sentinelle revue à la lumière des anciens anatomistes. *Journal de Chirurgie*. 72-4.
- Stacey, ME. 2012 .Histology for pathologists, 4^{ème} éd. Philadelphia.
- Stevens, A. Lowe, S, 2014. Human Histology ,4^{ème} éd. Philadelphia.
- Tahari, Z. ,2008. Etude histologique et immunohistochimique des cancers mammaires A propos de 50 cas. Université d'Oran ES-SENIA.
- Tellai S, 2020 com. Pers.
- Tubiana, M. 2008 .Généralités sur la cancérogenèse. *Comptes rendus biologies*.331:25-114.
- Venter, D. Kumar, S. Tuzi, N. Gullick, W. 1987. Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: immunohistological assessment correlate with gene amplification. *The Lancet*.330:69-72.
- Zilfou, T. Lowe, W. 2009. Tumor suppressive functions Cold Spring Harbor perspectives in biology.

Références

Annexe

Annexe 01 : fiche technique standardisée des tumeurs malignes du sein

Fiche technique standardisée de service d'anatomopathologie EPH Ghardaïa



FICHE STANDARDISÉE DES TUMEURS MALIGNES DU SEIN

N° :

Nom :

Prénom :

Date de naissance : .../.../.....

Date du dg pathologique : .../.../.....

Origine :

Service :

Age :ans

NP :

Tél :

État civil : célibataire mariée

Profession :

ATCD personnel : Ménarchieans durée du cyclejours, régulier oui non

Ménopause oui (...ans) non

Contraception orale oui (...ans) non

G... P... âge de la 1^{re} grossesseans.

Pathologie gynécologique antérieure :

ATCD familiaux de pathologie mammaire maligne oui non

Mammographie : aspect et taille :

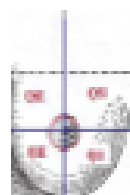
ACR :

Cytologie antérieure : bénin suspect malin non faite

Sein : droit gauche

Localisation dans l'organe :

- QSE
- QIE
- QSI
- QII
- Prolongement axillaire
- Sillon sous mammaire
- Mamelon
- Autre



Examen extemporané :

oui

non

Ganglion sentinelle

fait

non fait

Annexes

Etude immunohistochimique

	Positif	Négatif
Kératine 5/6	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
P63	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
SMA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
E-cadhérine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Protéine S100	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Collagène IV	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Récepteurs hormonaux :

Méthode : Manuelle automate

Ac utilisés :

Références :

RO :%

RP :%

Faible

Faible

Modéré

Modéré

Fort

Fort

Statut HER 2 : Fait Non fait

Si oui préciser méthode de l'IHC

Manuelle Automate

Anticorps utilisés :

Références :

Score :

+1 +2 +3

Score +2

Technique d'hybridation in-situ : oui non

Si oui préciser la méthode :

FISH SISH CISH DISH

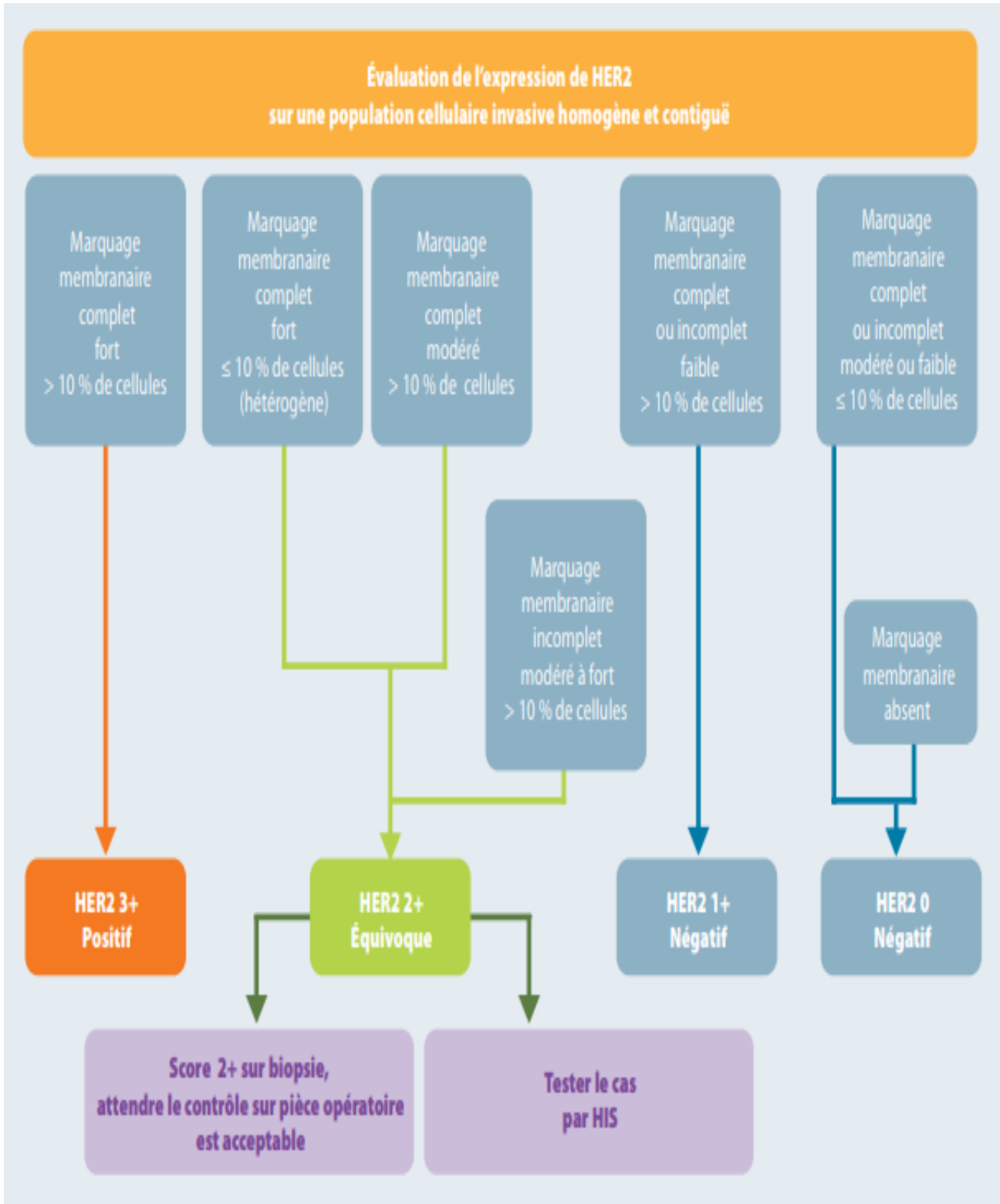
Résultat : amplifié non amplifié

Autres facteurs pronostic étudiés :

Ki67 : oui non Si oui préciser le résultat :%

pTNM T N M

Annexe 2 : Critères d'interprétation du marquage immunohistochimique d'HER2 selon les recommandations de l'ASCO 2013 et GEPFICS



Annexes

Annexe 03 : Classification moléculaire

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

Annexes

Annexe 4: Classification moléculaire, profil Immunohistochimique des différents sous-groupes

Caractérisation des cancers du sein par les marqueurs moléculaires.

Outils moléculaires	Rôle dans la caractérisation des CS	Interprétation du résultat en IHC	Classes moléculaires des CS selon les marqueurs en IHC
RO	Marqueur pronostique et prédictif : corrélé à la survie globale, survie sans récurrence ; corrélé à la réponse à l'hormonothérapie	RO- si < 10 % de cellules marquées RO+ si ≥ 10 % de cellules marquées	<i>Luminal A</i> RO+, RP+ (≥ 20 %)
RP	Marqueur pronostique et prédictif : corrélé à la survie globale, survie sans récurrence ; corrélé à la réponse à l'hormonothérapie	RP- si < 10 % de cellules marquées RP+ si ≥ 10 % de cellules marquées	HER2- Ki67 ≤ 14-20 % Évolution lente, grande sensibilité à l'hormonothérapie <i>Luminal B</i>
HER2	Marqueur pronostique et prédictif : surexpression inversement corrélée à la survie globale, survie sans récurrence ; corrélé à la réponse aux thérapies ciblées	Score évalué selon le pourcentage de cellules marquées et l'intensité du marquage (en cas de score 2+ : complément d'analyse par hybridation in situ) HER2- si score 0, 1+ ou 2+ sans amplification en HIS HER2+ si score 2+ avec amplification en HIS ou 3+	RO+, RP+ (< 20 %) et/ou Ki67 > 14-20 % HER2 variable <i>Luminal B HER2^a</i> RO+, HER2+, Ki67 variable <i>Luminal B HER2-</i> RO+, HER2- Réponse variable à l'hormonothérapie <i>HER2+</i>
Ki67	Marqueur pronostique : taux inversement corrélé à un pronostic favorable Marqueur prédictif flou : en néoadjuvant, taux corrélé à une réponse clinique ou histologique complète ; valeur floue en situation adjuvante. Intérêt dans la distinction entre les CS luminal A et luminal B	Seuil fixé à 14 % en 2011 puis à 20 % en 2013 (Saint-Gallen) Valeur à confronter à la médiane observée dans le laboratoire	HER2 score 2+ avec amplification en HIS ou 3+ RO- et RP- Évolution naturelle agressive, bonne réponse aux thérapies ciblant HER2 <i>Triple négatif</i> RO-, RP- et HER2- Ki67 quel qu'il soit Évolution agressive, pas de thérapeutique spécifique ^b

HER2 : *human epidermal growth factor 2* ; HIS : *hybridation in situ* ; RO : récepteur aux estrogènes ; RP : récepteur à la progestérone.

^a Traitement systématique par chimiothérapie, et hormonothérapie.

^b Cas de triples négatifs de bon pronostic : carcinome adénoïde kystique ; carcinome adénoïde sécrétant juvénile ; carcinome médullaire.

Annexe 5: Classification TNM du cancer du sein, 7eme édition 2010

Le système TNM distingue le stade clinique pré-thérapeutique noté "cTNM" et le stade anatomopathologique post chirurgical noté "pTNM".

Tumeur Primaire T

Tx: la tumeur primitive ne peut pas être évaluée

T0 : la tumeur primitive n'est pas palpable

- Tis : carcinome in situ
- Tis (DCIS) : carcinome canalaire *in situ*
- Tis (CLIS) : carcinome lobulaire *in situ*
- 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
- **T1** : tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
- **T1mic** : micro-invasion ≤ 1 mm dans sa plus grande dimension
- 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
- **T2** : 2 cm < tumeur ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension
- **T3** : tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension
- **T4** : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b)
- T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral
- T4b : oedème (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
- T4d : cancer inflammatoire

Ganglions lymphatiques régionaux pN

- **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)

N0 : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées

- N0(i-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude immunohistochimie négative
- N0(i+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, IHC positive, avec des amas cellulaires ≤ 0,2 mm (considéré comme sans métastase ganglionnaire)

Annexes

- N0(mol-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire négative
- (RT-PCR : reverse transcriptase polymerase chain reaction)
- N0(mol+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire positive (RT-PCR)

N1mi : micrométastases > 0,2 mm et ≤ 2 mm

N1 : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique

- 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)
- **N2** : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire
- 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

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

- 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)

- Mx : renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance
- M0 : absence de métastases à distance
- M1 : présence de métastase(s) à distance

Annexe 6 : Classification par stade UICC

Stade 0 : Tis N0 M0

Stade I : T1 N0 M0

Stade IIA : T0 N1 M0 ; T1 N1 M0 ; T2 N0 M0 ;

Stade IIB : T2 N1 M0 ; T3 N0 M0

Stade IIIA : T0 N2 M0 ; T1* N2 M0 ; T2 N2 M0 ; T3 N1 M0 ; T3 N2 M0

Stade IIIB : T4 N0 M0 ; T4 N1 M0 ; T4 N2 M0

Stade IIIC : Tous T N3 M0

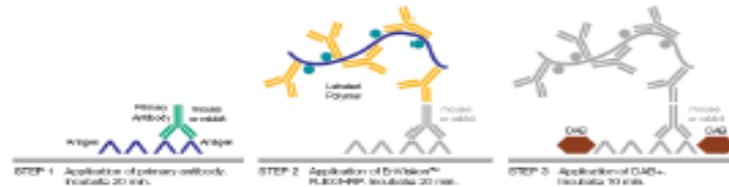
Stade IV : Tous T Tous N M1

T1* inclus T1mi

Annexe 07: Protocole Manuel D'IHCpar En Vision FLEX HRP Magenta, (DakoOmnis)



EnVision™ FLEX System – Manual protocol



1. Rinse Wash Buffer
2. **EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking Reagent (RTU)** 100 µL 5 min
3. Rinse Wash Buffer
4. **Primary Antibody – FLEX RTU or diluted concentrated** 100 µL 20 min
5. Rinse Wash Buffer
6. **EnVision™ FLEX /HRP (RTU)** 100 µL 20 min
7. Rinse Wash Buffer
8. Rinse Wash Buffer 5 min
9. **Envision™ FLEX Substrate Working Solution** 200 µL 10 min
10. Rinse Wash Buffer
11. **EnVision™ FLEX Hematoxylin (RTU)** 100 µL 5 min
12. Rinse DI Water
13. Rinse Wash Buffer 5 min
14. Rinse DI Water
15. Dehydrate
16. Coverslip with Mounting medium

Reagent preparation:

EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x)

Dilution: 1:20: E.g. 1 L: 950 mL distilled or deionized water + 50 mL Wash Buffer (20x)

EnVision™ FLEX Substrate Working Solution

1 mL EnVision™ FLEX Substrate Buffer + 1 drop EnVision™ FLEX DAB+ Chromogen

Use within 5 days. Storage when not used: Dark and cold (2 °C – 8 °C)

Concentrated Primary Antibody

Dilute with EnVision™ FLEX Antibody Diluent (K8006)



Annexe 8: Préparation des réactifs

A.1 En Vision FLEX Target Retrieval Solution(TRS), High pH (50x) (DM828, réf.K8004)

Diluer une quantité suffisante de En Vision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) au 1:50^{ème} pour la procédure de coloration prévue IHC.

- ✓ Dans un bécher à une quantité mesurée de 1000 ml de l'eau distillée ou déionisée, en ajoute 100 ml de TRS de
- ✓ solution de démasquage de ph acide (**50x**). (photo 1).



Photo 01 : Préparation de solution démasquage En Vision FLEX Target Retrieval Solution(TRS), High pH (50x) (DM829, réf. K8005)

A.2 En Vision FLEX Target Retrieval Solution(TRS), Low pH (50x) (DM829, réf. K8005)

Diluer une quantité suffisante de En Vision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) au 1:50^{ème} pour la procédure de coloration prévue IHC

- ✓ Dans un bécher à une quantité mesurée de 1000 ml de l'eau distillée ou dé ionisée, en ajoute 100 ml de TRS de solution de démasquage de ph basic (**50x**). (photo 2)



Photo 02 : préparation de solution démasquage En Vision FLEX Target Retrieval Solution(TRS), Low pH (50x) (DM829, réf. K8005)

Annexes

Ces deux solutions dilués non utilisés peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant un mois. Et ont peuvent réutilisés 3 fois sur une période de 5 jours. si elle est conservés à température ambiante. Ont le Jeter les deux solution si elle semble trouble.

A.3 En Vision FLEX Wash Buffer (TBS) (20x) (DM831, réf. K8007)

Diluer une quantité suffisante de En Vision FLEX Wash Buffer (20x) au 1:20^{ème} pour la procédure de coloration prévue IHC.

- ✓ Dans un bécher à une quantité pré-mesurée de 1900 ml d'eau distillée ou dé ionisée, en ajoutant 100ml de tampon de lavage (**TBS DM831**) concentré afin de minimiser la formation de mousse.
- ✓ Mélanger doucement jusqu'à ce que la solution diluée apparaisse homogène. (photo3)



Photo 03: préparation du tampon de lavage En Vision FLEX Target Retrieval Solution(TBS), Low pH (50x) (DM829, réf.K8005

Cette solution de TBS diluée peut être réutilisée 3 fois sur une période de 5 jours .si elle est conservée à température ambiante peut être conservée entre 2 et 8°C pendant un mois.

A.4 En Vision FLEX Substrat Working Solution DAB

- ✓ prendre une goutte d'En Vision FLEX Substrat Working Solution DAB dans un tube à essai(1)
- ✓ ajouter 100µL par une micropipette d'En Vision FLEX Substrat Buffer (SM803).....(2)
- ✓ mélanger la solution de DAB avec 100 µL de substrat buffer (1) +(2) vigoureusement Jusqu'à l'obtention d'un mélange de couleur rouge brique (photo4).

Annexes

- ✓ mélanger la solution de DAB avec 100 μ L de substrat buffer (1)+(2) vigoureusement jusqu'à l'obtention d'un mélange de couleur rouge brique (photo).



Photo 4 : préparation En Vision FLEX Substrate Working Solution DAB

Cette solution En Vision FLEX Substrat Working Solution **DAB** peut être utilisée dans les 5 jours (conserver dans l'obscurité entre 2 et 8°C).

A.5 Poly clonal Rabbit Anti-Humen C-ErbB2 Oncoprotéine

- ✓ prendre une goutte d'anticorps primaire Poly clonal Rabbit Anti-Humen C-ErbB2 Oncoprotéine dans un tube à essai(1)
- ✓ ajouter 200 μ L par une micropipette d'En Vision Flex Antibody Diluent (Dm 830).....(2)
- ✓ mélanger (1)+(2) vigoureusement jusqu'à l'obtention d'un mélange de couleur verre pistache (**photo 5**)



Photo 5: préparation Poly clonal Rabbit Anti-Humen C-ErbB2 Oncoprotéine