

Table des matières

Liste des figures	5
Liste des tableaux	6
Liste des abréviations	7
Introduction.....	8
Première partie :Revue de la littérature	10
1.Embryologie-Histologie du sein.....	11
1.1.Embryologie.....	11
1.2.Anatomie.....	12
1.3.Histologie	13
1.3.1.Lobes et lobules	14
1.3.2.Canaux galactophores	14
1.3.3.Tubulo-alvéoles	15
2.Rappels sur les cancers du sein	19
2.1.Épidémiologie	19
2.2.Carcinogenèse mammaire	20
2.3.Circonstances de découverte et clinique	21
2.3.1.Histologie	21
2.3.2.Bilan d'extension	22
3.Classification moléculaire des cancers du sein	24
3.1.Bases de la classification.....	24
3.1.1.Récepteurs hormonaux(RH).....	24
3.1.1.1.Récepteurs aux œstrogènes (RE)	24
3.1.1.2.Récepteurs à la progestérone (RP).....	25
3.1.1.3.Statut Human Epidermal growth factor 2 (HER 2)	26
3.1.1.4.Ki67.....	27
3.1.2.Profil génomique et classification moléculaire proprement dite.....	28
3.2.Intérêt pronostique et thérapeutique	30
4.Techniques de détermination des récepteurs hormonaux	31
4.1.L'immunohistochimie.....	32
4.1.1.Principe général	32
4.1.2.Particularité dans la détermination du statut Her2.....	34
4.2.L'Hybridation fluorescente in situ (FISH).....	34
4.2.1.Principes	35
4.2.2.Avantages et inconvénients	35
4.3.La CISH	36
4.3.1.Principes.....	36

4.3.2.Avantages et inconvénients	36
4.4.Autres techniques	36
4.4.1.La méthode biochimique	36
4.4.1.1.Dosage par radioligand	36
4.4.1.2.Dosage par immunoenzymétrie	37
4.4.1.3.Dosage sérique de l'HER2	37
Deuxième partie :Notre Étude.....	38
1.Matériels et méthode.....	39
1.1.Cadre d'étude	39
1.2.Type d'étude.....	39
1.3.Matériel d'étude.....	39
1.4.Critères d'inclusion.....	39
1.5.Critères d'exclusion	39
1.7.Méthodes histologique et immunohistochimique.....	40
Étape macroscopique.....	40
Techniques histologiques.....	40
Technique de l'évaluation des RH et de HER2/ neu.....	40
2.Caractéristiques épidémiologiques de l'échantillon.....	43
2.1.Taille de l'échantillon,	43
2.2.Age.....	43
2.3.Ménopause	43
2.4.Gestité	43
3.Caractéristiques de la tumeur	43
3.1.Taille tumorale	43
3.2.Adénopathies axillaires	44
3.3.Métastases	44
4.Histologie	45
4.1.Type histologique	45
4.2.Grade SBR	46
4.3.Immunohistochimie	47
4.3.1.RE	47
4.3.2.RP	49
4.3.3.Statut HER2/neu	50
5.Classification moléculaire.....	52
TROISIEME PARTIE : DISCUSSION	53
1.Choix de l'immunohistochimie	54
2.Profil immunohistochimique.....	55

3.Évaluation des RH et du HER2/ neu en clinique	56
Conclusion	58
Références.....	60
Résumé	Error! Bookmark not defined.

Liste des figures

Figure 1: coupe sagittale de la glande mammaire	13
Figure 2: Lobule mammaire ; 1= canal intralobulaire 2 =acinus	14
Figure 3 : Détail d'un lobule d'une glande mammaire ; cercle bleu = tissu palléal, 1= acinus, 2= canal galactophore.....	15
Figure 4: histologie de la composante épithéliale d'un lobule mammaire ; cercle bleu= cellule cylindrique, 1= cellule myoépithéliale (5)	16
Figure 5: Stades de la cancérisation d'un épithélium canalaire mammaire (6) ..	20
Figure 6 : Immunomarquage des récepteurs aux œstrogènes : fort marquage nucléaire des cellules tumorales (RO +) (12).....	25
Figure 7: Immunomarquage de HER-2 : forte expression membranaire de HER-2 au niveau des cellules tumorales (3 +).....	27
Figure 8: Automate Benchmark Ventana.....	41
Figure 9: Répartition des patientes selon la présence ou non de métastases	45
Figure 10 : carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique	46
Figure 11: Répartition des patientes selon la présence ou non de RE.....	47
Figure 12: Carcinome canalaire de type non spécifique avec expression des RE a=X100 ,b=x400 (Image Dr Sarr, HPD)	48
Figure 13 : Répartition des patientes selon la présence ou non de RP	49
Figure 14: Carcinome canalaire de type non spécifique avec expression des RP a=X100,b=x400 (Image Dr Sarr, HPD)	50
Figure 15 : Carcinome canalaire de type non spécifique avec marquage nucléaire et cytoplasmique des HER2/neu a=X100. b=x400(Image Dr Sarr, HPD)	51

Liste des tableaux

Tableau I : Classification SBR	22
Tableau II: Classification TNM des cancers du sein.....	23
Tableau III:: Quick score d'Allred	26
Tableau IV : sous-type moléculaire des cancers du sein	30
Tableau V: Répartition des patientes selon la taille tumorale.....	44
Tableau VI :Répartition des patientes selon la présence ou non d'adénopathies axillaires.....	44
Tableau VII:: répartition des patientes selon le type histologique n=37	46
Tableau VIII: Répartition des patientes selon le grade SBR n=33	47
Tableau IX : Répartition des patientes selon le statut HER2/neu	50
Tableau X: Profil immunohistochimique.....	56

Liste des abréviations

ABC : avitine-biotine

ASE : antigène épithérial spécifique

BRCA :breast cancer

CK : cytokératine

FISH : Fluorescence in situ hybridization(Hybridation in situ en fluorescence)

HER2: Hormonal Epidermal growth factor Receptor 2

HES : hématoxyline-éosine-safran

HPD : hôpital Principal de Dakar

IHC : immunohistochimie

KI67= Kiel67

MRP :modulateurs spécifiques du récepteur de la progestérone

OMS :Organisation Mondiale de la Santé

PARP : poly (ADP-ribose) polymérase

RE: récepteurs aux œstrogènes

RH: récepteurs hormonaux

RP : récepteurs aux progestérones

RPPA : Reverse Phase Protein Assay

RT-PCR: Reverse transcriptase – polymerase chain reaction

SBR: Scarff Bloom Richardson

SERM: Steroid Estrogen Receptor Modulator

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

TGF α : Transforming Growth Factor de type α

TNM: Tumor Node Metastasis

UICC :Union Internationale Contre le Cancer (UICC)

UTDL :unité terminale ductulo-lobulaire

Introduction

Le cancer du sein est défini comme une prolifération maligne de cellules épithéliales bordant les canaux ou les lobules du sein appelés respectivement carcinomes canalaires ou lobulaires. Il est caractérisé par une grande hétérogénéité. Il est le cancer féminin le plus fréquent dans le monde. Au Sénégal, le cancer du sein occupe la deuxième place après le cancer du col de l'utérus [17]. Sur le plan anatomopathologique, on distingue les carcinomes canalaires infiltrants de type non spécifique, les carcinomes lobulaires infiltrants et les autres types plus rares (sarcomes, lymphomes) [31]. Cependant, cette classification ne cerne pas la grande hétérogénéité moléculaire inter-tumorale des cancers du sein. Ainsi, les classifications génomiques occupent une grande place. Elles ont été établies à partir du matériel génétique des tumeurs du sein ce qui a permis de classer les tumeurs en 3 groupes [21]:

- 1-les cancers du sein dits « luminaux » : luminal A et luminal B,
- 2-les cancers du sein dits « HER2 +++ »,
- 3-les cancers du sein de phénotype basal, n'exprimant ni les récepteurs hormonaux, ni l'oncoprotéine Her2 et sont souvent désignés par le terme « triple négatif ».

Cette détermination est capitale dans la survie de la patiente, car elle permet d'adapter le traitement reçu par rapport au profil génomique de la tumeur.

Il existe plusieurs techniques pour évaluer les récepteurs hormonaux (biochimie, RT-PCR) mais l'immunohistochimie est devenue la technique de première intention dans la détermination de l'expression des récepteurs hormonaux (RH), de l'Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER 2) et de l'antigène Ki67 qui fait partie des marqueurs de prolifération tumorale [29].

L'objectif de cette étude était d'une part de décrire les techniques d'immunohistochimie utilisées dans la détermination du profil moléculaire d'une série de cancers de sein et de déterminer d'autre part de positivité du statut Her2,

en vue d'évaluer l'opportunité de mettre en place la technique de FISH pour compléter le diagnostic moléculaire.

Première partie :Revue de la littérature

1. Embryologie-Histologie du sein [32]

1.1.Embryologie

Le tissu mammaire est issu embryologiquement de l'ectoderme. Il est visible très tôt sous la forme d'un épaississement longitudinal de l'ectoderme situé de chaque côté de la ligne médiane, sur la face ventrale de l'embryon. Au cours de la 6^e semaine du développement, les cellules épidermiques migrent dans le tissu mésenchymateux sous-jacent et forment des crêtes mammaires primitives (ou bourgeons mammaires). Ces crêtes s'étendent au départ, de l'aisselle à la base du bourgeon du membre inférieur. À partir de la 10^e semaine, ces bourgeons vont s'atrophier au niveau de leurs bordures supérieure et inférieure. Le mamelon et l'aréole recouvrent alors un bourgeon de tissu mammaire composé de 2 conduits mammaires primitifs et de stroma fibreux. Entre la 10^e et la 20^e semaine approximativement, 15 à 20 canaux principaux sont formés, constituant ainsi la base du système galactophorique. À ce stade, ces canaux n'ont que de petites vésicules à leur extrémité terminale. Aucun développement lobulaire n'est présent. Chaque canal principal s'ouvre séparément au niveau du mamelon. L'aréole se développe vers le 5e mois de gestation. Les interactions entre le stroma, le tissu conjonctif, le réseau vasculaire et les cellules adipeuses aboutissent au développement final de la glande mammaire. Le bourgeon mammaire n'est généralement pas palpable jusqu'à la 34e semaine de gestation. Il mesure environ 3 mm à 36 semaines et de 4 à 10 mm à 40 semaines.

1.2.Anatomie

Le sein est une glande annexée à la paroi antérieure du thorax. On le décrit chez la femme en période d'activité génitale. Ce tissu glandulaire existe aussi chez l'homme et chez l'enfant mais de façon réduite. Il est limité (figure 1):

- sur le plan profond par 3 muscles : le grand pectoral, le petit pectoral et le sous clavier;
- sur le plan superficiel : par le fascia superficialis et la peau;
- la 2^e ou 3^e côte en haut;
- la 6^e ou 7^e côte en bas.

Il a une forme générale variable, le plus souvent conique arrondie. L'aréole occupe le sommet de la glande mammaire. Le mamelon est la partie centrale et surélevée de l'aréole où l'on trouve l'ouverture microscopique de 10 à 15 canaux galactophores qui assurent en cas d'allaitement l'évacuation de la sécrétion lactée.

Les glandes de Morgagni sont des glandes cutanées et sébacées qui s'hypertrophient à la grossesse et prennent alors le nom de tubercule de Montgomery.

La glande mammaire est richement vascularisée. La vascularisation artérielle est assurée par les branches supérieures venant de l'artère subclavière. Le drainage veineux est parallèle au système artériel. Pour le drainage lymphatique, le sein est divisé en 4 quadrants :

- 2 quadrants externes vont être drainés vers le dehors. On trouve des lymphocentres le long de l'artère thoracique externe puis le courant remonte vers le creux axillaire pour finir dans le ganglion sus claviculaire;
- 2 quadrants internes sont drainés sous le sternum par ganglion intrathoracique annexés à l'artère thoracique interne.

L'innervation est assurée par les rameaux nerveux du plexus cervical superficiel et par les rameaux perforants des nerfs intercostaux.

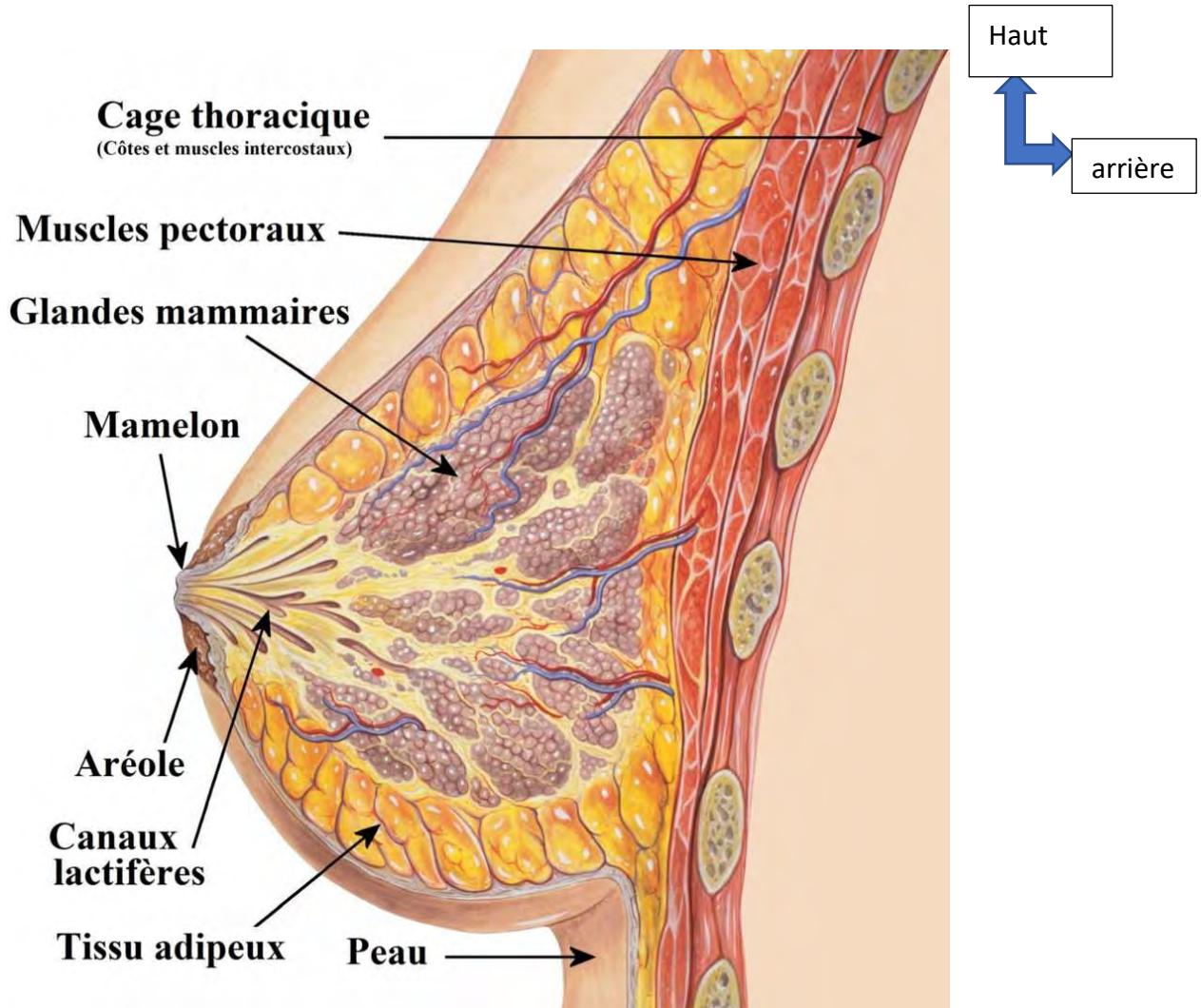


Figure 1: coupe sagittale de la glande mammaire

1.3.Histologie

La glande mammaire est une glande exocrine, tubulo-alvéolaire composée, sécrétant le lait.

1.3.1. Lobes et lobules

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. Un lobule(Figure) est formé 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 intralobulaire (tissu conjonctif palléal) est lâche.

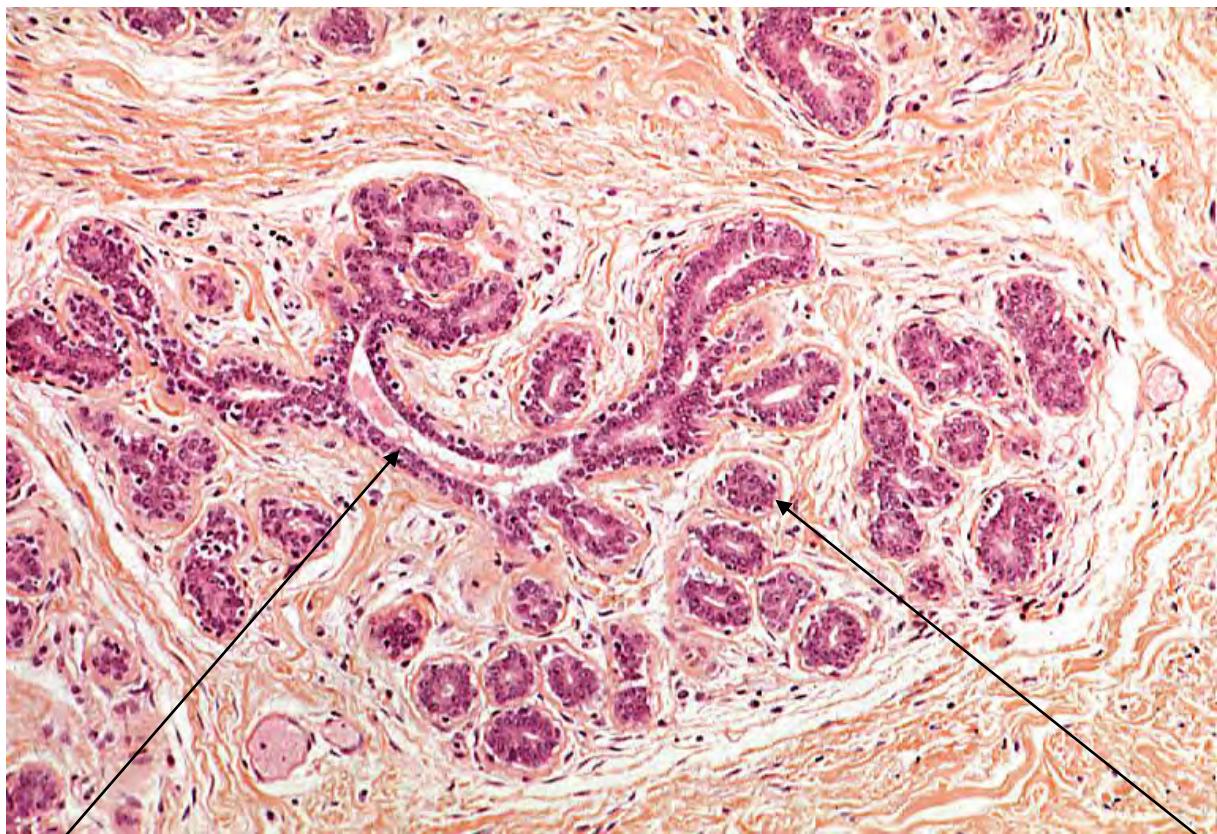


Figure 2: (HES) X100 Lobule mammaire : 1-canal intralobulaire 2 -acinus

1.3.2. Canaux galactophores

Les canaux excréteurs (ou canaux galactophores) sont d'abord intralobulaires (épithélium cubique avec présence de cellules myoépithéliales) et enfin interlobaires (épithélium pavimenteux stratifié).



Figure 2 (HES) X400 : Détail d'un lobule d'une glande mammaire ; cercle bleu = tissu palléal, 1-acinus, 2-canal galactophage

1

2

1.3.3. Tubulo-alvéoles

Les tubulo-alvéoles de la glande mammaire au repos sont constituées de cellules cylindriques disposées sur deux couches sécrétrices, au contact de la lumière et de cellules myoépithéliales externes apparaissant parfois très claires car riches en glycogène (selon la phase du cycle).

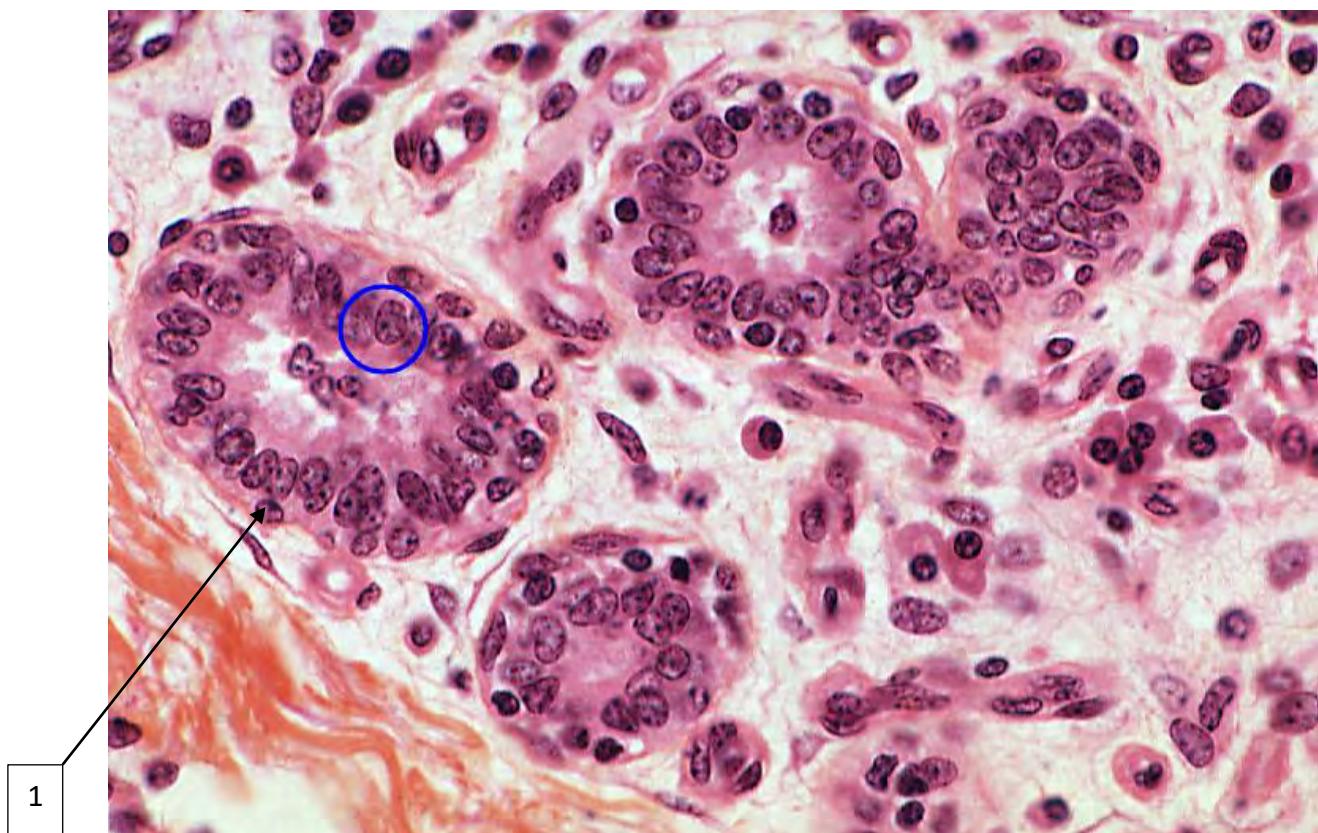


Figure 3:(HES) x 400 histologie de la composante épithéliale d'un lobule mammaire ; cercle bleu= cellule cylindrique, 1-cellule myoépithéliale [32]

1.3.4. La cellule épithéliale

Elle est le point de départ de la très grande majorité des carcinomes mammaires. Dans au moins 98% des cas le cancer du sein est un adénocarcinome développé à partir de l'épithélium glandulaire.

- Aspect immunohistochimique

Les cellules épithéliales ou luminales expriment des marqueurs associés aux récepteurs hormonaux (récepteurs des œstrogènes et de la progestérone) [8,9] (figure 4), certaines cytokératines (CK8, CK14, CK18) ainsi que des facteurs de transcription spécifiques comme GATA3 et FOXA1 [10, 11,14].

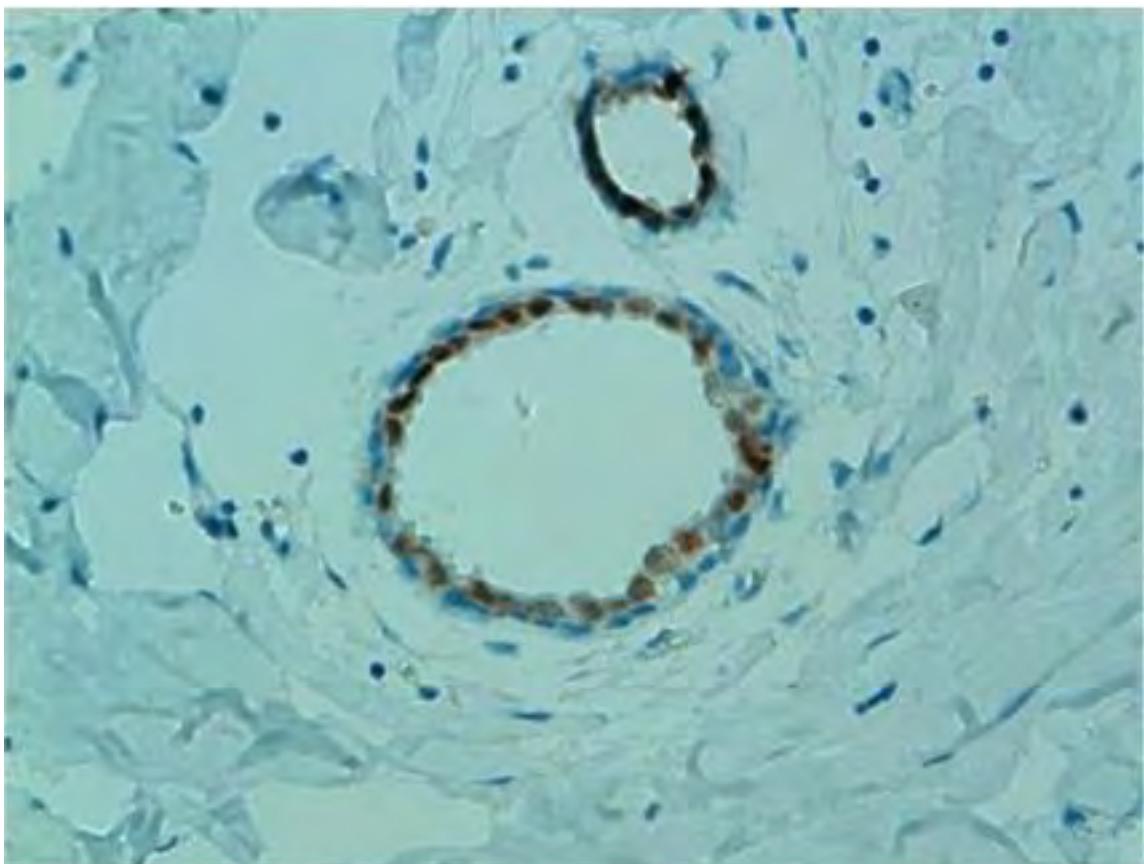


Figure 4: expression des RE par les cellules luminales des canaux normaux

1.3.5. La cellule myoépithéliale (basale)

Cette cellule n'est pas spécifique du sein puisqu'on la retrouve également dans les glandes salivaires et sudorales. Elle est située entre les cellules épithéliales et la membrane basale. La cellule myoépithéliale participe à l'élaboration de la membrane basale et a des propriétés contractiles qui favorisent l'éjection du lait et l'apparition d'espaces intercellulaires permettant de meilleurs échanges entre l'épithélium et le tissu palléal. Elle est absente dans les carcinomes mammaires infiltrants.

- Aspect morphologique

Les cellules myoépithéliales (basales) sont morphologiquement hétérogènes, elles sont soit fusiformes ou cubiques, selon leur endroit dans le système canalaire du sein et selon le statut hormonal du tissu [15].

Les cellules myoépithéliales situées à la périphérie des canaux ont typiquement des hémidesmosomes, des filaments cytoplasmiques avec des densités focales et des vésicules de pinocytose le long de la membrane plasmique.

- Profil immunohistochimique

Les cellules myoépithéliales sont le plus souvent définies par l'expression de l'actine muscle lisse, la vimentine, la glial fibrillary acid protein, le CD 10, la protéine 63, la myosine muscle lisse et la protéine S100. La calponine et le caldesmon peuvent aussi définir les cellules myoépithéliales [16]. En ce qui concerne les cytokératines, les cellules myoépithéliales possèdent des profils différents qui diffèrent de celui des cellules luminales. Elles expriment en général les cytokératines 5/6, 14 et 17 [11, 14,17].

1.3.6. La membrane basale

Il s'agit d'une structure membranaire soutenant l'épithélium, synthétisée par les cellules myoépithéliales. La membrane basale est une zone d'échange et de contact entre les structures épithéliales et le tissu conjonctif. En cancérologie, la membrane basale s'oppose au passage des cellules cancéreuses et son respect par les cellules néoplasiques a permis de définir le concept de carcinome *in situ*. En immunohistochimie, la membrane basale exprime la laminine ou le collagène de type IV [12].

1.3.7. Le tissu palléal

Il s'agit d'un tissu conjonctif très vascularisé enveloppant les ductules terminaux et généralement bien séparé du tissu conjonctif inter-lobulaire environnant qui est plus dense [12,13]. Sa densité est variable, en fonction du cycle hormonal ou de l'âge.

2. Rappels sur les cancers du sein

2.1. Épidémiologie

Le cancer du sein est devenu un problème majeur de santé publique.

Le risque de développer un cancer mammaire peut être influencé par différents facteurs : génétiques, hormonaux et environnementaux. Dans 6 à 10% des cas, il y'a des prédispositions génétiques associées. Une incidence accrue dans certaines familles a permis de mettre en évidence la présence de mutations d'un petit nombre de gènes. Les principaux sont BRCA1 et 2 (BRCA), p53. Le plus connu des facteurs de risque est une exposition prolongée aux œstrogènes. Ces derniers jouent un rôle important dans le développement normal de la glande mammaire et ils pourraient agir notamment en stimulant la croissance des tumeurs préexistantes. Ainsi une ménarche précoce est associée à un risque accru de cancers mammaires. De plus, un lien entre apport d'œstrogènes exogènes et apparition de cancer est évoqué de manière récurrente. Les œstrogènes se fixent sur leurs récepteurs nucléaires qui agissent comme des facteurs de transcription inductibles. Les facteurs environnementaux sont également impliqués dans le développement de ce type de cancer. Ainsi, une consommation élevée d'acides gras augmente le risque de développer un cancer du sein. De même, une consommation journalière d'alcool provoque une augmentation du risque de 10%. L'exposition prolongée à des polluants agissant souvent en tant que perturbateurs endocriniens augmente aussi le risque de développer un cancer mammaire. L'effet de différents types de polluants a été décrit, par exemple l'insecticide (dichlorodiphényltrichloroéthane), ou encore des constituants du plastique tels que le 4-nonylphénol, le bisphénol A et les phtalates [17] [9].

2.2.Carcinogenèse mammaire

La cancérogenèse est un processus qui conduit à la transformation progressive de cellules normales en cellules malignes (Figure). Les modifications génétiques associées à cette transformation maligne sont souvent des mutations qui produisent une augmentation de la fonction du gène (oncogène) ou une perte de fonction (anti-oncogènes ou suppresseur de tumeur). Les hormones jouent un rôle dans le développement du cancer. Ainsi, les œstrogènes permettent la prolifération des galactophores et un œdème du stroma. La progestérone freine la croissance des galactophores et diminue la perméabilité capillaire. Sous l'influence de divers signaux, les cellules épithéliales prolifèrent de façon anarchique jusqu'au stade d'hyperplasie atypique. Il y'a la formation d'un carcinome *in situ* par des modifications génétiques. Les cellules traversent la membrane basale donnant un cancer invasif et métastatique[9].

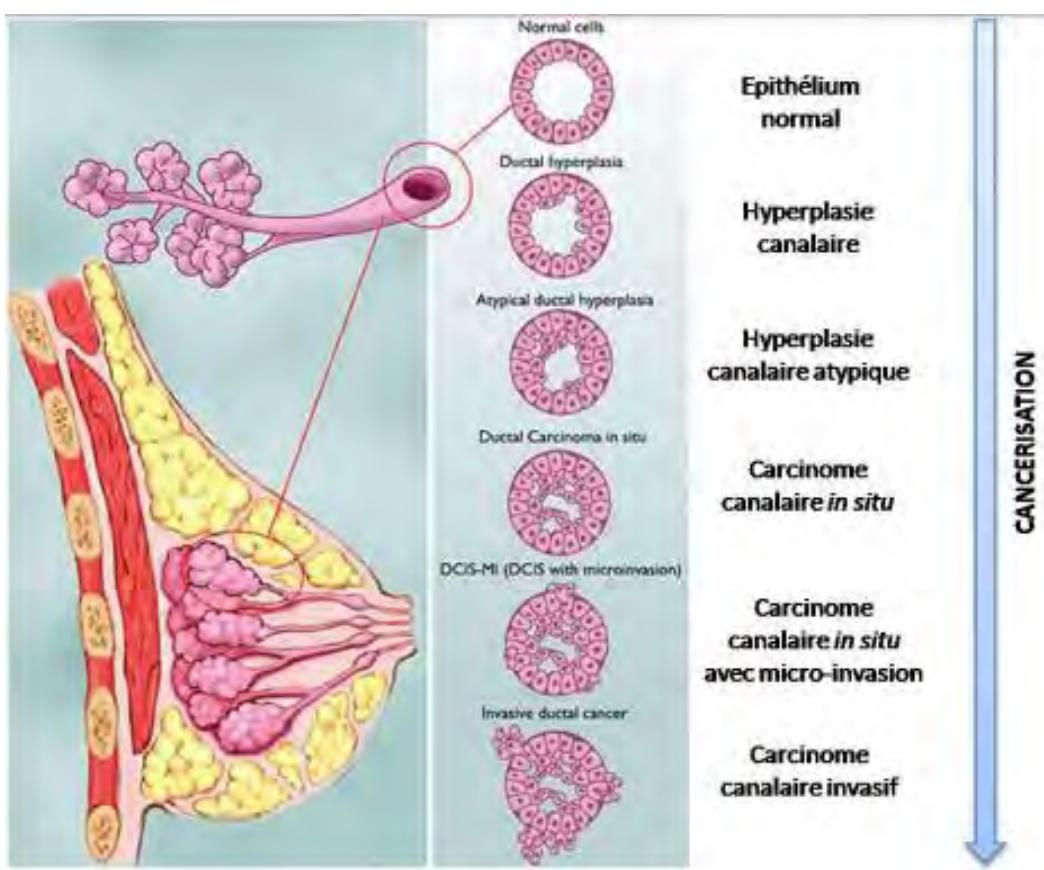


Figure 5: Stades de la cancérisation d'un épithélium canalaire mammaire [9]

2.3.Circonstances de découverte et clinique

Le cancer peut être asymptomatique au début. La découverte peut être fortuite lors d'une autopalpation par le patient, devant des signes cliniques ou après réalisation à la mammographie. Quand la tumeur est suffisamment grosse, elle devient palpable. Parfois, en regard de la tumeur, la peau change d'aspect : peau d'orange, ridée ou d'allure inflammatoire. Le mamelon peut aussi être déformé, rétracté, avoir un aspect croûteux et être le siège d'un écoulement. Une douleur persistante au sein peut dans certains cas apparaître. Il est aussi possible de découvrir des ganglions dans le creux axillaire. La découverte peut se faire au stade de métastases [3].

2.3.1. Histologie

Les tumeurs malignes les plus fréquentes sont les adénocarcinomes (98%). Pour ce type de tumeurs, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a proposé une classification basée sur leur aspect morphologique [26]. Elle classe donc les tumeurs en deux types distincts en fonction de leur nature anatomopathologique.

1. Les carcinomes non infiltrants

Ces tumeurs épithéliales non infiltrantes peuvent envahir les canaux (carcinome intracanalaire ou canalaire) ou les lobules (carcinome lobulaire). Le premier représente 4% des cancers et montre le plus souvent des microcalcifications mammographiques et une multicentricité. Le second correspond à une prolifération de cellules de petite taille au niveau des canalicles intra-lobulaires. Il représente environ 2,5% des cancers et se caractérise par son caractère multicentrique et sa tendance à la bilatéralisation. Ces deux carcinomes non infiltrants sont caractérisés par un non-envahissement du tissu conjonctif voisin.

2. Les carcinomes infiltrants

Contrairement aux précédents, ce type de carcinome se distingue par la capacité des cellules cancéreuses à envahir le tissu conjonctif voisin. Ce groupe est

constitué de plusieurs entités. Le premier type est le carcinome canalaire infiltrant. Il est le plus fréquent des tumeurs malignes soit environ 70% des cancers du sein. L'autre type est le carcinome lobulaire infiltrant représentant 5 à 15% des cancers. De nombreux autres carcinomes plus rares sont également décrits.

L'examen anatomo-pathologique permet de faire la classification en grade de Scarff, Bloom et Richardson (SBR) [10]. Ce grade permet, en donnant un score entre 1 et 3 à trois éléments histologiques d'un cancer infiltrant, d'en déterminer le grade qui est établi entre I et III. Plus le grade est élevé, plus la tumeur est agressive et de mauvais pronostic (*Tableau I*).

Tableau I : Classification SBR

Pauvreté en structures glandulaires bien définies	Score 1, 2 ou 3
Irrégularité des noyaux	Score 1, 2 ou 3
Richesse des noyaux	Score 1, 2 ou 3
Grade	Score total
I	3 à 5
II	6 et 7
III	8 et 9

2.3.2. Bilan d'extension

Le bilan d'extension local et régional d'un cancer du sein comprend la mammographie, l'échographie et selon les indications l'imagerie par résonance magnétique. Le bilan permet de préciser la taille tumorale et de détecter d'éventuelles lésions additionnelles [12].

À l'issue de ce bilan une classification TNM prenant en compte la taille de la tumeur (T), l'envahissement ganglionnaire (N) et la présence de métastases à distance (M) (*Tableau II*) est établi. Chaque critère est associé à un chiffre dont la valeur augmente avec la gravité. Lorsque la détermination est impossible, la lettre X est associée au critère TNM. Ces tumeurs ainsi caractérisées sont ensuite regroupées par stade : du stade 0 pour les cancers *in situ* au stade IV pour les cancers métastatiques.

Tableau II: Classification TNM des cancers du sein

T Extension locale

TX: Détermination de la tumeur primitive impossible

T0 : Pas de signe de tumeur visible

Tis : Carcinome *in situ*

T1 : Carcinome Taille<2 cm

T2 : Carcinome avec taille entre 2 et 5 cm

T3 : Carcinome avec une taille> 5 cm

T4 : Tumeur de toute taille avec une extension à la paroi thoracique ou la peau

N Envahissement des ganglions

NX : Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire

N0 : Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional

N1 : Ganglions cliniquement suspects homolatéraux mobiles

N2 : Ganglions cliniquement suspects homolatéraux fixés

N3 : Ganglions mammaires internes homolatéraux

M Développement des métastases

Mx : Détermination impossible de l'extension métastatique

M0 : Absence de métastases à distance

M1 : Présence de métastases à distance

3. Classification moléculaire des cancers du sein

3.1.Bases de la classification

3.1.1. Récepteurs hormonaux(RH)

3.1.1.1. Récepteurs aux œstrogènes (RE)

Les RE interagissent avec les œstrogènes (phytoœstrogènes, xénoœstrogènes) ou les molécules à potentiel œstrogénique Steroid Estrogen Receptor Modulator (SERM). Il existe 3 isoformes de RE : Er α , Er β , GPR-30 [10]. Ces récepteurs peuvent être détectés dans un grand nombre de tissus, avec toutefois des proportions variables. Ainsi, le Er α est essentiellement exprimé dans les organes génitaux féminins (ovaire, utérus) ainsi que dans la glande mammaire, alors que le Er β semble avoir une distribution plus large dans l'organisme. Il est admis que la liaison de l'œstradiol sur le Er α intervient dans la prolifération des cellules tumorales. En revanche, l'isotype Er β semble posséder une action antiproliférative. En effet, il y'aurait une prédominance de l'expression de Er β dans le tissu mammaire normal, alors que dans le cas d'une tumeur maligne mammaire, c'est le récepteur Er α qui prédomine(**Error! Reference source not found.**). Le récepteur Er β est considéré comme un modulateur de la prolifération et de l'invasion des cellules cancéreuses [18]. Cependant, l'isotype β du récepteur œstrogénique n'est pas systématiquement présent dans les cellules cancéreuses mammaires. Malgré les nombreuses recherches réalisées ces dernières années, la réelle signification du Er β n'est donc pas encore clairement établie.

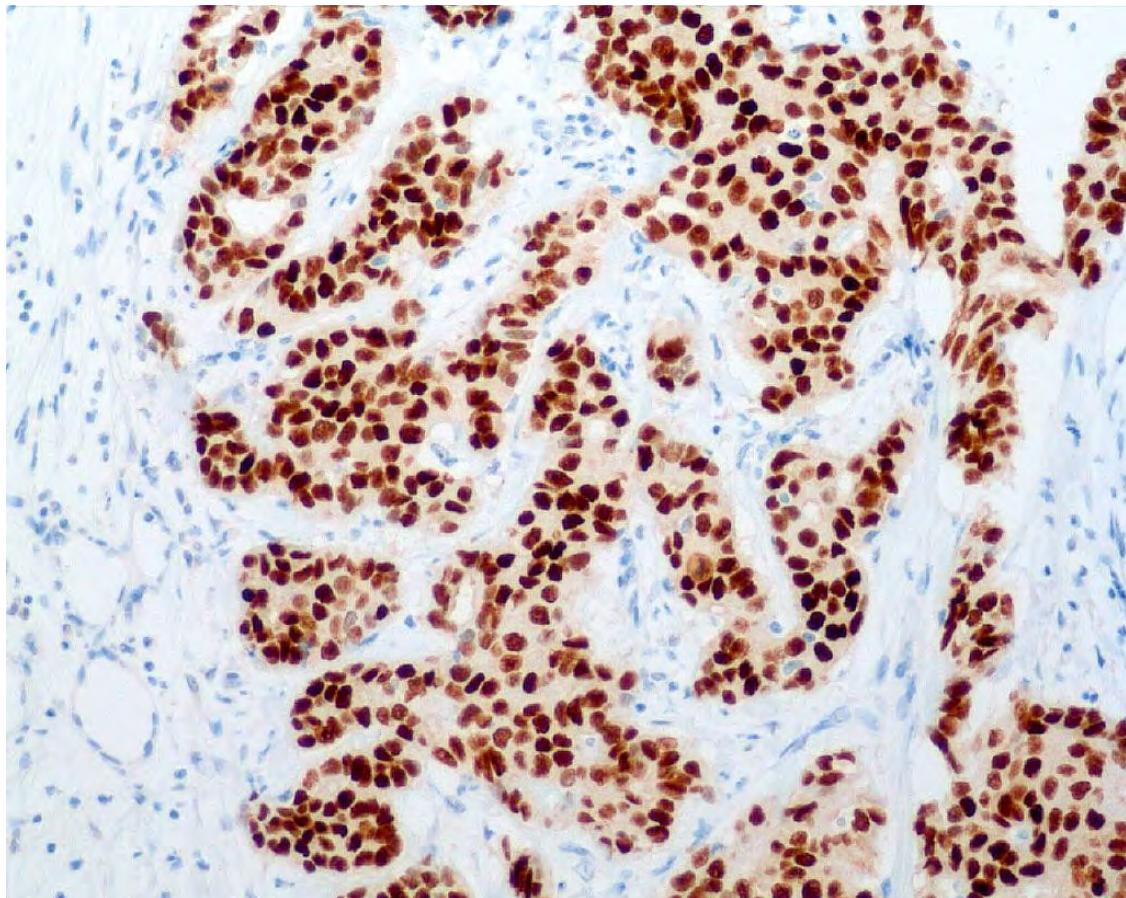


Figure 6 : Immunomarquage des récepteurs aux œstrogènes : fort marquage nucléaire des cellules tumorales (RO +) [33]

3.1.1.2. Récepteurs à la progestérone (RP)

Les RP appartiennent à une superfamille de 49 protéines nucléaires qui sont des facteurs de régulation de l'expression des gènes (régulateurs transcriptionnels). Les ligands des RP, nucléaires ou membranaires, sont la progestérone, les progestatifs de synthèse et les modulateurs spécifiques du récepteur de la progestérone (MRP). Les RP sont au nombre de 3 (RP-A, RP-B et RP-C) et proviennent du même gène (figure 1) situé sur le chromosome 11 [24]. Bien qu'il n'y ait pas de consensus internationalement accepté de système de scoring, de plus en plus de centres appliquent le Quick Score selon Allred (tableau III). Il est basé sur la somme d'un premier score de proportion de cellules marquées et d'un score d'intensité de marquage. Le maximum obtenu est de 8; un total de 2 ou moins étant considéré comme signant l'absence de récepteurs [16] .

Tableau III:: *Quick score d'Allred*

Score de proportion (SP)	Score d'intensité (SI)
0 = Pas de marquage	0 = Pas de marquage
1= < 1 % de noyaux marqués	1 = Intensité faible
2= 1—10 % de noyaux marqués	2 = Intensité modérée
3= > 10—1/3 de noyaux marqués	3 = Intensité forte
4= < 1/3—2/3 de noyaux marqués	
5= < 2/3 % de noyaux marqués	

3.1.1.3. Statut Human Epidermal growth factor 2 (HER 2)

HER2/neu (c-erbB2) appartient à la famille des récepteurs aux facteurs de croissance épidermiques [10]. Il existe un score semi-quantitatif permettant de classer le statut HER2 en quatre catégories : 0, 1+, 2+ ou 3+. Dans les tissus mammaires sains, on compte environ 20000 récepteurs Her2 par cellule. Dans les cancers de sein présentant une amplification du gène Her2, on dénombre jusqu'à 100 fois plus de récepteurs par cellule (**Error! Reference source not found.**). La surexpression de l'Her2, est rapportée dans approximativement 30% des cancers mammaires invasifs mais aussi dans 60 à 70% des carcinomes canalaires in situ, principalement peu différenciés, de haut grade histologique, de type comédocarcinome.

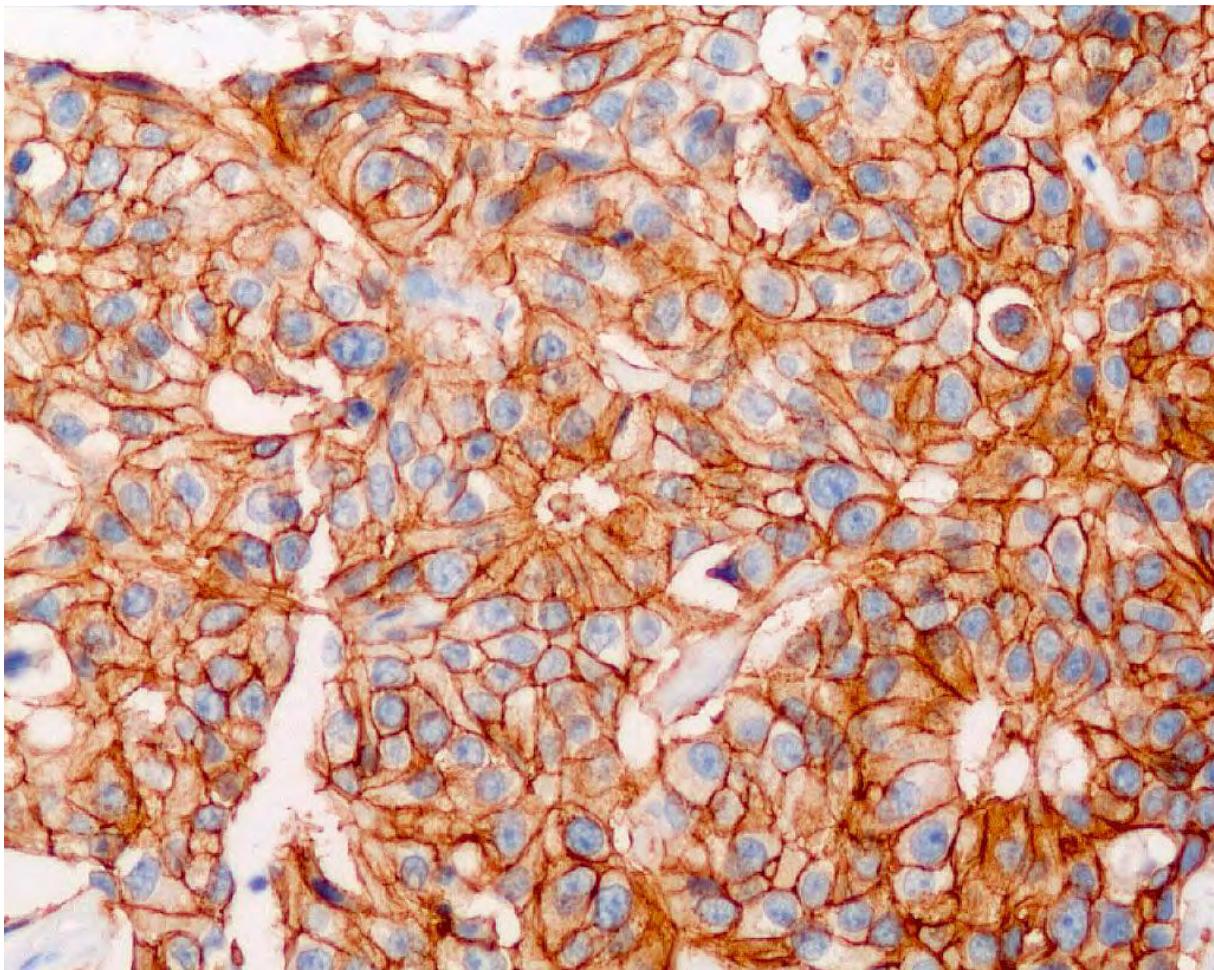


Figure 7: Immunomarquage de HER-2 : forte expression membranaire de HER-2 au niveau des cellules tumorales (3 +)

3.1.1.4. Ki67

Le Ki67 est une protéine nucléaire exprimée durant les phases G1, S, G2 et M du cycle cellulaire mais pas durant la phase de quiescence G0 [21]. Son niveau d'expression peut être évalué par le pourcentage de cellules tumorales marquées par un anticorps anti-Ki67 en IHC. En effet, son niveau d'expression est directement corrélé à l'index mitotique et la prolifération tumorale dans un CS [11]. Il persiste toutefois des difficultés concernant la standardisation des techniques d'IHC, ainsi que la définition d'un seuil de Ki67 du fait de sa variabilité avec une hétérogénéité intra-tumorale spatiale et temporelle et une

variabilité de son analyse IHC intra- et inter-observateur et inter-laboratoire. Dans ce contexte, le seuil de 20 % au niveau médian de Ki67 a été adopté.

3.1.2. Profil génomique et classification moléculaire proprement dite [14],[23]

Les cancers du sein peuvent être séparés en deux grandes catégories : les tumeurs qui expriment les RE (tumeurs dites luminales ou RE+) et celles qui ne l'expriment pas (tumeurs RE-), qui correspondent à des entités bien distinctes en terme de biologie tumorale, d'évolution clinique et de réponse au traitement. (Figure 13)

En effet, le groupe des cancers du sein RE- comprend lui aussi des entités très distinctes :

1-les tumeurs HER2+ (caractérisées par une surexpression et une amplification du gène HER2) qui, bien que de mauvais pronostic, peuvent bénéficier d'un traitement ciblé,

2-les tumeurs HER2- parmi lesquelles se trouve le sous-type des cancers dits « triple-négatifs»(RE-, RP -, HER2-) qui représente un groupe de tumeurs particulièrement agressives non accessibles à aucune thérapeutique ciblée à l'heure actuelle.

Au début des années 2000, des travaux ont montré que les cancers du sein pouvaient être classés en sous-groupes moléculaires définis par leur profil d'expression génique. Ainsi, 4 sous-types moléculaires ont été définis :

1-le sous-groupe luminal, caractérisé par l'expression du RE et de gènes associés à la voie du RE. Ce sous-groupe peut être subdivisé en au moins deux sous-groupes de pronostics différents : luminal A (bon pronostic) et luminal

B (mauvais pronostic, incluant aussi des tumeurs RE+HER2+). Les tumeurs luminales A n’expriment pas HER2. Les tumeurs luminales du groupe B se distinguent par une expression plus faible du récepteur Erα et une prolifération plus forte. Le profil luminal est caractérisé par une forte réceptivité aux hormones corrélée avec une forte expression du récepteur Erα. Il possède également une expression relativement forte de nombreux gènes des cellules luminales telles que les cytokératines 8, 18 et 19 ainsi que GATA3, un gène impliqué dans le développement et la différenciation des tumeurs ER+.

2-le groupe HER2-like caractérisé, par la surexpression et l’amplification du gène HER2 sur le chromosome 17q12. Le profil tumoral HER2+ est diagnostiqué dans 10 à 15% des cancers du sein. Il montre une amplification du gène HER2 (erb-B2) ainsi qu’une prolifération forte (forte expression du Ki67). HER2 est un récepteur du facteur de croissance épidermique et joue un rôle dans la stimulation des cellules à se diviser de manière incontrôlable. Ces tumeurs peuvent aussi exprimer faiblement le récepteur hormonal Erα. Elles présentent également l’expression de marqueurs de cellules basales comme les cytokératines 5/6, 17 et 14, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), c-kit, la myosine , la caveoline,

3-les tumeurs basal-like, qui n’expriment ni les récepteurs hormonaux (RE-/RP), ni HER2, mais expriment un certain nombre de gènes des cellules basales de l’épithélium. Elles correspondent à des tumeurs dites « triple négative » c'est-à-dire qui n’expriment pas les trois marqueurs ERα, PR et HER2. Ce type de tumeurs est le plus agressif et présente un phénotype invasif. Ces tumeurs expriment les marqueurs des cellules épithéliales basales comme les tumeurs de type HER2+,

4-Le groupe normal breast-like, caractérisé par un profil triple négatif et par l’expression de gènes observés dans le tissu mammaire normal et de tissu adipeux[28].

Le Tableau *IV* est un récapitulatif des profils moléculaires des tumeurs mammaire. La deuxième colonne montre leurs statuts RE, RP, HER2 et Ki67.

Tableau IV : sous-type moléculaire des cancers du sein

Luminal A	RE +	RP +	HER2-	Ki67 <15-20%
Luminal B	RE +/-	RP +/-	HER2 +/-	Ki67 >15-20%
HER2	RE -	RP -	HER2+	Ki67 variable
Basal-like	RE -	RP -	HER2-	
Normal-like	RE +/-	RP -	HER2-	

3.2. Intérêt pronostique et thérapeutique

La présence de ces récepteurs hormonaux permet la mise en route d'une hormonothérapie et prédit la réponse à ce traitement [25]. En effet, il existe une étroite corrélation entre la présence de récepteurs et la réponse à

l'hormonothérapie, de même la durée de réponse à ces thérapeutiques est corrélée aux taux des récepteurs [28]. Elle est la première des thérapies ciblées, elle s'adresse à des cancers hormonodépendants. Elle a cependant été développée avant même la découverte des œstrogènes. Ce traitement est donc devenu une thérapie ciblée à posteriori. L'hormonothérapie est notamment prescrite pour les carcinomes infiltrants et métastatiques hormono-sensibles, et est souvent associée à la chirurgie et à la chimiothérapie.

Le trastuzumab, anticorps monoclonal murin humanisé, a démontré en 2001 son efficacité en situation métastatique avec un bénéfice important en survie globale puis, en situation adjuvante pour les CS surexprimant l'HER2. L'HER2 est de ce fait prédictif d'une réponse à un traitement ciblé anti-HER2, de même que d'autres molécules anti-HER2, apparues depuis peu [27].

L'expression des RH est un marqueur de bon pronostic. En effet, la présence de ces récepteurs caractérise généralement une tumeur de petite taille, sans envahissement ganglionnaire et à prolifération cellulaire lente. La rechute des cancers hormonosensibles est aussi plus tardive [18].

L'anticorps Ki 67 est un des marqueurs de prolifération tumorale permettant de prédire la sensibilité de la tumeur aux agents cytotoxiques. Des études récentes concordent pour montrer la valeur pronostique défavorable d'un taux élevé de cellules marquées par Ki 67 [12] [5]. Toutefois, la valeur pronostique du Ki 67 par rapport à celle de l'index mitotique est encore mal définie. Des procédures de standardisation de lecture et du seuil de positivité restent à réaliser pour définir la place exacte de ce marqueur.

4. Techniques de détermination des récepteurs hormonaux [4] [6]

Ces récepteurs sont le plus souvent recherchés, à l'heure actuelle, par une technique immunohistochimique sur des coupes histologiques de tumeur fixée et plus rarement par une méthode biochimique sur des fragments congelés de tumeur.

4.1.L'immunohistochimie

L'avènement des techniques de démasquage a permis le développement de l'évaluation immunohistochimique des RH sur coupes en paraffine.

4.1.1. Principe général

- Prélèvements**

La recherche de RH par immunohistochimie peut se faire sur les biopsies sur une pièce de tumorectomie ou sur une pièce opératoire. L'échantillon utilisé doit être représentatif de la tumeur et de ses diverses composantes lorsque cela est nécessaire. Il est idéalement accompagné de tissu non tumoral pour servir de témoin. Sauf impossibilité, la technique immunohistochimique ne doit pas être réalisée sur le fragment congelé pour l'examen extemporané, car les résultats peuvent être aléatoires.

- Fixation - Imprégnation en paraffine**

La fixation doit se faire dans un volume de fixateur suffisant correspondant à 10 fois le volume de la pièce opératoire. Le délai avant la fixation doit être le plus court possible. La tumeur doit être tranchée pour permettre une bonne pénétration du fixateur dans le tissu. Le temps de fixation idéal avec le formol tamponné est de 24 heures. L'utilisation d'une durée de fixation standardisée améliore la reproductibilité. Une fixation prolongée augmente la protéolyse ce qui entraîne une perte de l'immunoréactivité, mais elle est sans conséquence sur la production d'un signal immunohistochimique correct lorsque la restauration antigénique est adaptée, alors qu'une fixation incomplète donne des résultats médiocres et ses effets sur la recherche des RE sont plus délétères que les effets de la surfixation.

- Étalement des coupes**

Les coupes doivent être étalées sur des lames recouvertes d'un adhésif performant et séchées pendant au moins une heure à 56-58°C et/ou toute la nuit à 37°C. Une baisse de l'intensité du signal immunohistochimique a été notée dans certains protocoles, lorsque le séchage des coupes est effectué à 56-58°C pendant plus d'une heure. La finesse des coupes (2-3 microns) favorise une meilleure adhérence.

- **Restauration antigénique par la chaleur**

Cette étape est essentielle et indispensable avec la majorité des anticorps. Elle peut être effectuée dans un four à micro-ondes, un autocuiseur, un autoclave, une étuve, un bain-marie ou un dispositif de cuisson à la vapeur. Les tampons les plus utilisés sont le citrate 0,01 M, pH6 ou l'EDTA 1 mM, pH8. Chaque laboratoire doit effectuer un calibrage de son temps de restauration antigénique. L'utilisation d'un temps de restauration antigénique long peut entraîner des phénomènes de décollement. Les protocoles utilisant une restauration antigénique à des températures inférieures à 100° produisent moins d'artefacts. Leur contrepartie est un allongement du temps technique.

- **Anticorps primaires**

Sur coupes de tissus fixés et inclus en paraffine, les anticorps donnant des résultats corrélés.

- **Systèmes révélateurs**

Les systèmes révélateurs (principalement systèmes avidine-biotine ou streptavidine-biotine), les marqueurs enzymatiques (peroxydase de raifort et plus rarement phosphatase alcaline), et les chromogènes (pour la peroxydase, diaminobenzidine ou amino-ethyl-carbazole) qui sont couramment utilisés permettent d'obtenir de bons résultats.

- **Contre-coloration à l'hématoxyline éosine**
- **Automatisation**

Les automates ne produisent pas forcément des résultats supérieurs à la technique manuelle mais peuvent améliorer la reproductibilité interne. Pour certains anticorps primaires ont été décrits des effets délétères dûs à certains additifs rentrant dans la composition des tampons utilisés dans les automates.

Ainsi les principes généraux de l'immunohistochimie sont utilisés pour déterminer le statut des récepteurs hormonaux pour l'œstrogène RE, la progestérone PR et la détermination de marqueurs de prolifération tumorale tel que le Ki 67. La détermination du statut de l'oncogène HER2 est plus particulière et fait l'objet du chapitre suivant.

4.1.2. Particularité dans la détermination du statut Her2

Le but de la technique IHC va être de ne détecter que les cellules tumorales qui surexpriment fortement l'Her2. Son optimisation passe par la mise au point d'une technique correcte et d'un apprentissage de l'interprétation de l'Immunomarquage. En effet, Cette technique est semi-quantitative et se base sur l'intensité et le pourcentage de cellules positives. L'Her2 est présent en faible quantité à la surface de toutes les cellules épithéliales mammaires bénignes et les cellules cancéreuses.

4.2.L'Hybridation fluorescente in situ (FISH)

La FISH est une technique d'étude de l'ADN qui utilise la propriété de reconnaissance et d'appariement spécifiques de brins complémentaires d'acides nucléiques. Elle permet l'identification et la localisation microscopique d'aberrations chromosomiques dans la cellule en métaphase et/ou en interphase. Elle est la technique de référence pour détecter une amplification génique de l'Her2. La FISH est utilisée pour l'évaluation des cas 2+.

4.2.1. Principes

La technique FISH va permettre la quantification du nombre de copies du gène d'HER2 par noyau de cellule tumorale, sur une coupe histologique grâce à l'emploi d'une sonde fluorescente spécifique. La détection du signal fluorescent se fait, sur coupes tissulaires congelées ou fixées. Les coupes tissulaires doivent être effectuées sur des lames sialinisées afin d'éviter le décollement. Une détermination simultanée du nombre de copies du gène d'HER2 et du centromère du chromosome 17 peut être effectuée. Les nombres moyens de copies d'HER2 et du centromère du chromosome 17 sont établis à partir de 40 noyaux de cellules carcinomateuses invasives dans deux territoires tumoraux distincts.

- **Score de positivité**

Les recommandations pour la détermination du statut HER2 par technique FISH donnent les critères suivants pour définir la présence ou l'absence d'une amplification :

- amplification de HER 2: $\text{HER2} > 6$ copies ;
- résultat ambigu : $4 < \text{HER2} < 6$;
- Absence d'amplification d'HER2: $\text{HER2} < 4$.

4.2.2. Avantages et inconvénients

La FISH est quantitativement plus précise avec un scoring simple. Elle est plus coûteuse, demande plus de temps et est techniquement exigeante. Elle nécessite un microscope à fluorescence. Elle ne permet pas de visualiser les caractéristiques morphologiques.

4.3.La CISH

La CISH, dans laquelle les copies du gène HER2, sont détectées au moyen d'une réaction à la peroxydase, a récemment été introduite comme une alternative à la FISH. La CISH permet de calibrer la technique immunohistochimique ou servir de contrôle de qualité.

4.3.1. Principes

Le principe général de la CISH repose sur l'hybridation d'une séquence d'ADN spécifique avec les gènes HER2 des cellules tumorales. Son originalité tient au mode de révélation qui met en jeu, comme en immunohistochimie, un chromogène. Pour la CISH, la sonde est marquée à la digoxygénine et pourra être révélée par une cascade de réactions antigène anticorps.

4.3.2. Avantages et inconvénients

Les avantages de la CISH sont : son moindre coût, son évaluation par les microscopes optiques classiques, l'analyse histologique similaire au marquage immunohistochimique, et sa facilité d'interprétations. Toutefois l'utilisation de la CISH seule est controversée à cause de la possibilité de faux positifs secondaires à la présence d'une polysomie pour le chromosome 17.

4.4.Autres techniques

4.4.1. La méthode biochimique

Le dosage biochimique peut être effectué selon deux techniques.

4.4.1.1. Dosage par radioligand

Elle fait intervenir la liaison spécifique entre le récepteur et son ligand. Le dosage doit être envisagé sur un tissu rapidement congelé dans l'azote liquide et dans une température de 4° afin d'éviter toute détérioration des récepteurs par la chaleur. Le résultat est mentionné en nombre de sites de liaison, exprimé en femtomoles

par milligramme (fmol/mg) de protéines (cytosoliques). Le seuil de positivité est de 10 fmol/mg protéines.

4.4.1.2. Dosage par immunoenzymétrie

Il permet un dosage quantitatif. Il s'agit de molécules radiomarquées qui se lient avec une très haute affinité aux RH en reconnaissant un épitope précis de la protéine. La fiabilité de cette technique, applicable en clinique, a été largement validée. Tous les types de prélèvements (pièce opératoire, biopsie, cytoponction) sont utilisables.

4.4.1.3. Dosage sérique de l'HER2

La partie extracellulaire de l'HER2/neu ou Her2 sérique se trouve sous forme libre dans la circulation et peut être dosée. Elle peut être évaluée de façon manuelle ou automatique. Le niveau sérique de l'HER-2/neu est corrélé avec le stade tumoral, le grade et le statut ganglionnaire. La plupart des études (référence ?) ne trouvent pas de corrélation entre l'ELISA d'une part et l'immunohistochimie et la FISH d'autre part. D'autres études,(référence) par contre, trouvent une corrélation entre ces différentes techniques. La technique ELISA a plusieurs avantages, c'est une technique standardisée, non invasive, utilisée en routine et il n'y a pas variations inter observateurs.

Ainsi, le but de notre travail était :

d'établir le profil des récepteurs hormonaux d'une série de masses tumorales cancéreuses au niveau du sein grâce à l'immunohistochimie

d'évaluer la part des échantillons HER2 2+, en vue d'évaluer l'opportunité de mettre en place une analyse complémentaire par hybridation in situ par fluorescence

Deuxième partie :Notre Étude

1. Matériels et méthode

1.1.Cadre d'étude

Notre étude a été réalisée à l'institut Joliot-Curie de Dakar situé au sein du centre hospitalier universitaire Aristide Le Dantec en collaboration avec le laboratoire d'anatomie-pathologie de l'hôpital Principal de Dakar (HPD).L'Institut Curie est un centre de référence de prise en charge des cancers qui comprend 3 unités dont une unité chirurgicale, une unité de radiothérapie et une unité de chimiothérapie. Il a pour objectif la prise en charge globale des patients atteints.

1.2.Type d'étude

Nous avons mené une étude rétrospective descriptive sur une période d'une année allant de Janvier à Décembre 2017 à l'institut Joliot Curie de Dakar.

1.3.Matériel d'étude

Le recueil des données s'est fait à l'aide des dossiers des patientes. Ces données étaient ensuite consignées dans une fiche technique validée à cet effet pour notre étude. Les données étudiées étaient :

1. sociodémographiques : age, gestité, parité ;
2. cliniques : TNM ;
3. histologiques : type histologique, grade SBR, intensité et pourcentage d'expression des récepteurs hormonaux et score de l'Her-2.

1.4.Critères d'inclusion

Étaient incluses dans notre étude les patientes présentant un cancer du sein confirmé par un examen anatomopathologique chez qui nous avons réalisé une étude immunohistochimique à la recherche des récepteurs hormonaux(RE, RP) , du statut HER 2.

1.5.Critères d'exclusion

Les patients ayant un dossier incomplet ont été exclus de l'étude.

1.6.Analyse des données statistiques

L’analyse des données est faite par le logiciel SPSS 23.0.

1.7.Méthodes histologique et immunohistochimique

Étape macroscopique

Le traitement des prélèvements était différent selon leur nature. Pour les biopsies, tous les fragments sont mesurés et inclus en totalité. Pour les pièces de mastectomie avec curage ganglionnaire: après orientation et mesures de la pièce et du lambeau cutané, elle est pré découpée en tranches qui restent reliées entre elles par le lambeau cutané. Les lésions sont ensuite repérées, ouvertes et décrites (taille, situation, distance par rapport aux limites de résection). Après fixation de la pièce, des prélèvements sont réalisés au niveau de la tumeur (au moins trois prélèvements), des limites, du lit de tumorectomie antérieure, des zones cicatricielles, du quadrant initialement atteint en cas de traitement néo-adjuvant, du mamelon, des quadrants et des ganglions (tous les ganglions avec un ganglion par cassette). Tous les prélèvements adressés sont fixés au formol à 10%.

Techniques histologiques

Les différentes étapes de l’étude microscopique sont :

- la déshydratation :
- l’inclusion en paraffine
- les coupes et la coloration par l’hématoxyline-éosine-safran (HES).

Technique de l’évaluation des RH et de HER2/ neu

L’évaluation des RH a été effectuée de manière manuelle ou par un automate. L’appareil utilisé (Figure 8), effectue les différentes étapes en 2 heures alors que la méthode manuelle nécessite 48 h.



Figure 8: Automate Benchmark Ventana

La mise en évidence des récepteurs hormonaux se déroule en 5 étapes.

Étape 1: Déparaffinage, démasquage antigénique et blocage des peroxydases endogènes

Le déparaffinage se réalise en incubant les lames une nuit à l'étuve (37°C) et le reste de la paraffine est éliminé par 2 bains de toluène.

Le démasquage antigénique est réalisé en les chauffant dans une solution de tampon citrate bouillant (pH=6) dans un autocuiseur. On dispose les lames dans une chambre avec compresses imbibées d'eau (chambre humide).

Pour bloquer les peroxydases endogènes, on met 1 à 2 gouttes de la protéine bloquante pendant 15 minutes pour bloquer les sites non spécifiques.

Étape 2 : Application des anticorps primaires

On applique suffisamment de solution d'anticorps primaire pour couvrir l'échantillon et on incube pendant 1h 20min dans une chambre humide pour éviter la déshydratation des tissus. On égoutte les lames et on les met dans un panier. On procède au rinçage dans 2 bains de Phosphate Buffered Saline (PBS) pendant 5 minutes chacun.

Étape 3 : Application des anticorps secondaires

On applique l'anticorps secondaire (anticorps biotinylé) et on incube dans une chambre humide pendant 20 minutes. On couvre les lames par un plateau pour qu'elles ne sèchent pas. On égoutte les lames et on les met dans un panier pour les rincer dans 2 bains du PBS. On applique une solution de peroxydase-streptavidine pendant 20 minutes (la streptavidine se fixe sur la biotine de l'anticorps secondaire). On rince dans 2 bains du PBS et on égoutte les lames.

Étape 4 : Coloration des lames

On prépare extemporanément un réactif de coloration à base d'amino-ethyl-carbazole (AEC). On couvre l'échantillon par le réactif de la coloration et on incube pendant exactement 20 minutes. On rince à l'eau courante, on égoutte les lames et on incube les lames dans un bain d'hématoxyline puis on rince à l'eau du robinet. On fait un passage rapide dans du carbonate de lithium saturé puis on rince à l'eau courante.

Étape 5 : Montage à l'eau entre lame et lamelle

2. Caractéristiques épidémiologiques de l'échantillon

2.1.Taille de l'échantillon,

Le nombre de patients était de 37.

2.2.Age

L'âge moyen des patientes étaient de 47,18 ans+/- 12,96 avec des extrêmes de 24 et 70 ans.

2.3.Ménopause

Sur les 37 patientes, 17 étaient ménopausées.

2.4.Gestité

La gestité moyenne était de 3,34 avec des extrêmes de 0 et 11.

3. Caractéristiques de la tumeur

3.1.Taille tumorale

La taille tumorale était supérieure à 5 cm chez la majorité des patientes (n=25 soit 67,6%). Le tableau V représente la taille tumorale en 3 classes (< 2 cm, entre 2 et 5 cm,> 5 cm).

Tableau V: Répartition des patientes selon la taille tumorale

Taille tumorale	Fréquences absolues (n)	Fréquences relatives (%)
≤2cm	5	13,5
2-5cm	7	18,9
>5cm	25	67,6
Total	37	100

3.2.Adénopathies axillaires

Il y'avait des adénopathies axillaires chez 32 patientes. Ces adénopathies étaient classées N1 dans 21 cas et fixées dans 11 cas (tableau VI).

Tableau VI :Répartition des patientes selon la présence ou non d'adénopathies axillaires

Adénopathies axillaires	Fréquences absolues (n)	Fréquences relatives (%)
Absentes N0	5	13,5
Mobiles N1	21	56,8
Fixées N2	11	29,7
Total	37	100

3.3.Métastases

La présence de métastases était précisée chez 35 patientes. Il n'y' avait pas de métastases chez 16 patientes (figure 9). Chez 4 patientes, on notait des métastases hépatiques. Ces métastases étaient localisées aux poumons dans 8 cas et 7 au niveau des os.

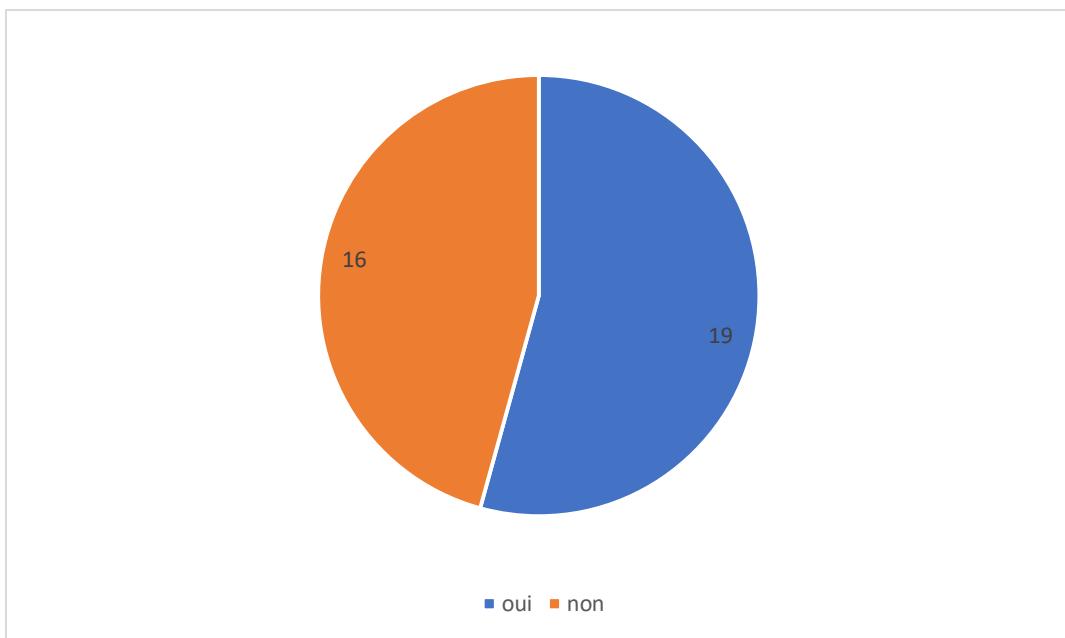


Figure 9: Répartition des patientes selon la présence ou non de métastases

4. Histologie

4.1. Type histologique

Le carcinome canalaire non spécifique (figure 10) était le type anatomopathologique le plus représenté (84,61%). Le carcinome lobulaire arrivait en deuxième position (10,25%). Le tableau VII résume la répartition des patientes selon le type histologique.

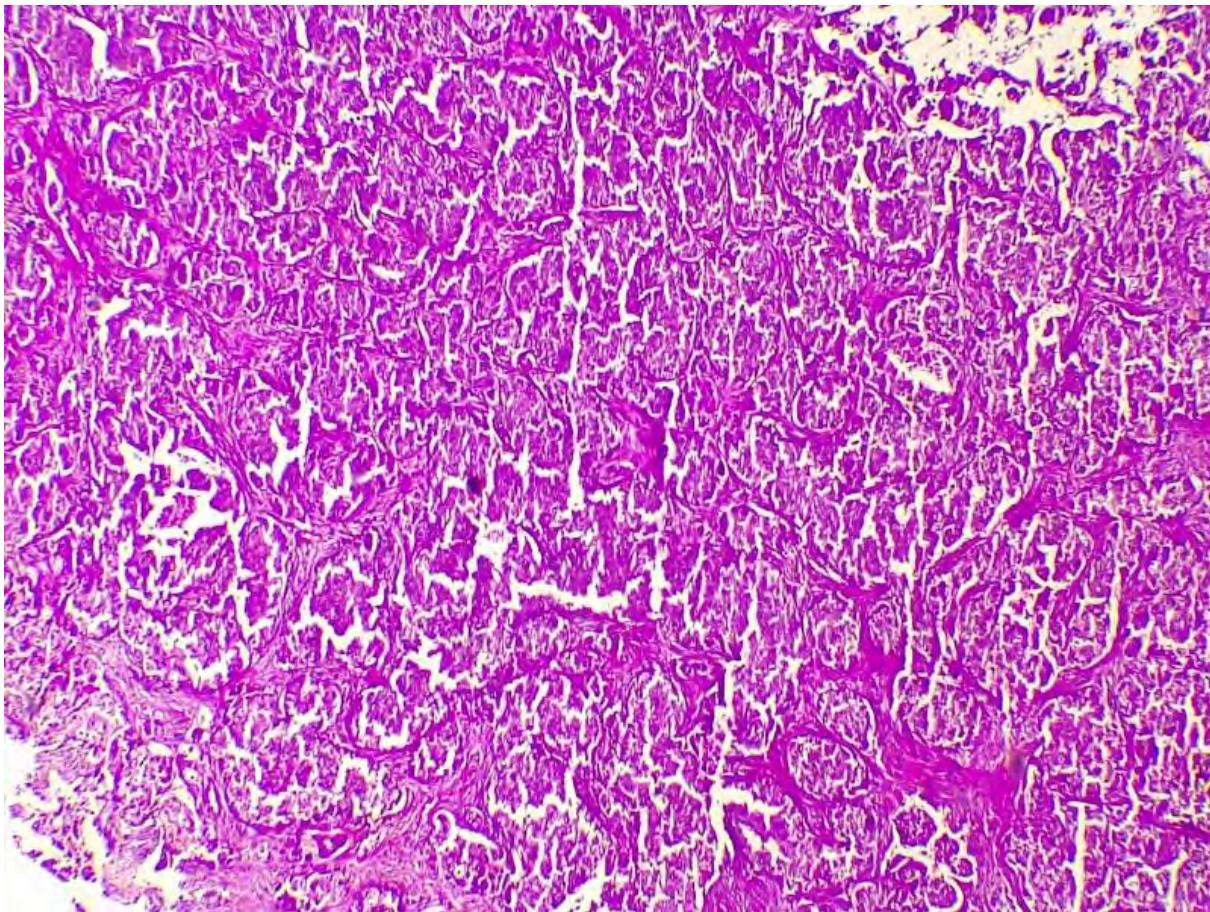


Figure 10 : carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique

Tableau VII:: répartition des patientes selon le type histologique n=37

Type histologique	Fréquences absolues (n)	Fréquences relatives (%)
Carcinome mucineux	1	2,6
Carcinome non spécifique	33	84,61
Carcinome lobulaire	1	2,6
Carcinome peu différencié	2	5,4
Total	37	100

4.2.Grade SBR

Le grade SBR II concernait 35,9 % de l'échantillon (n=13). Le grade III représentait 11 cas. Le tableau VIII représente la répartition des patientes selon le grade SBR.

Tableau VIII: Répartition des patientes selon le grade SBR n=33

Grade SBR	Fréquences absolues (n)	Fréquences relatives (%)
I	9	27,3
II	13	39,4
III	11	33,3
Total	33	100

4.3.Immunohistochimie

4.3.1. RE

Les récepteurs étaient positifs chez 21 patientes soit dans 53,8% des cas . Il n'y'avait pas de RE chez 16 patientes. La figure 11 représente la répartition des patientes selon la présence de RE.

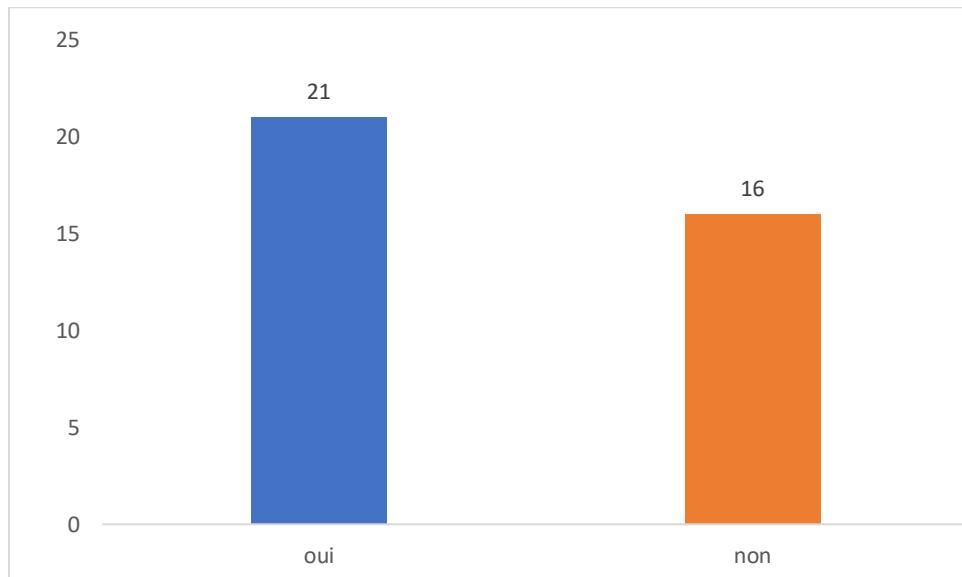
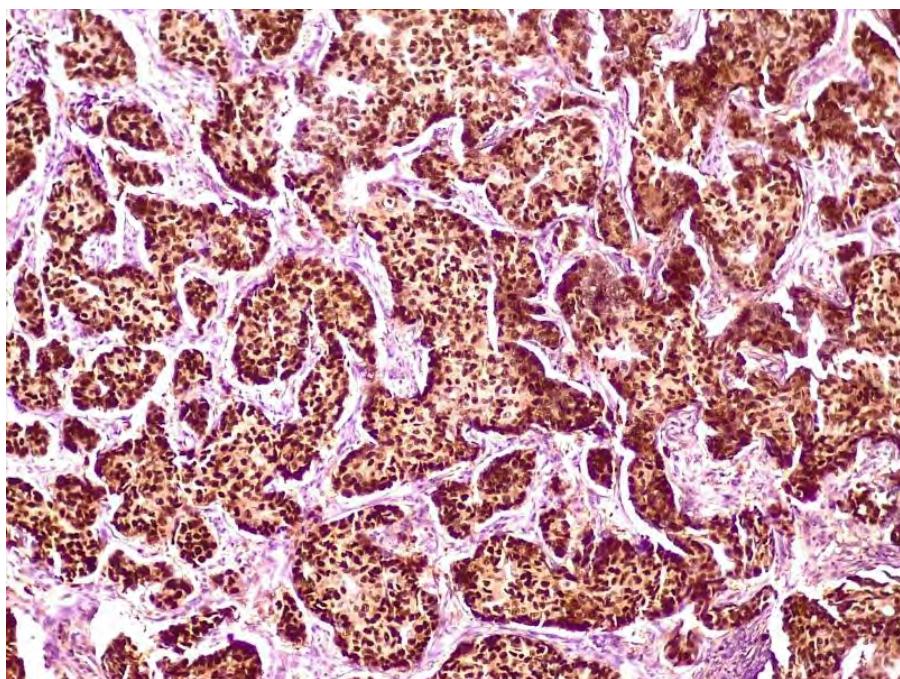


Figure 3: Répartition des patientes selon la présence ou non de RE

a



b

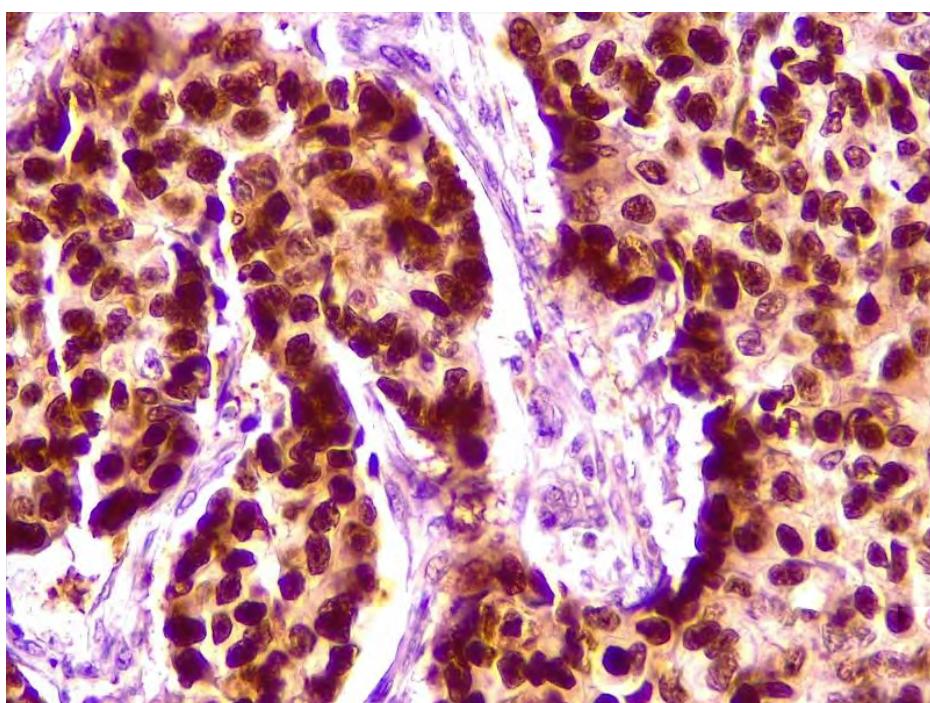


Figure 4: Carcinome canalaire de type non spécifique avec expression des RE
a=X100 ,b=x400 (Image Dr Sarr, HPD)

4.3.2. RP

Ils étaient positifs chez 13 patientes (33,3% des cas) (figure 13, figure 14)

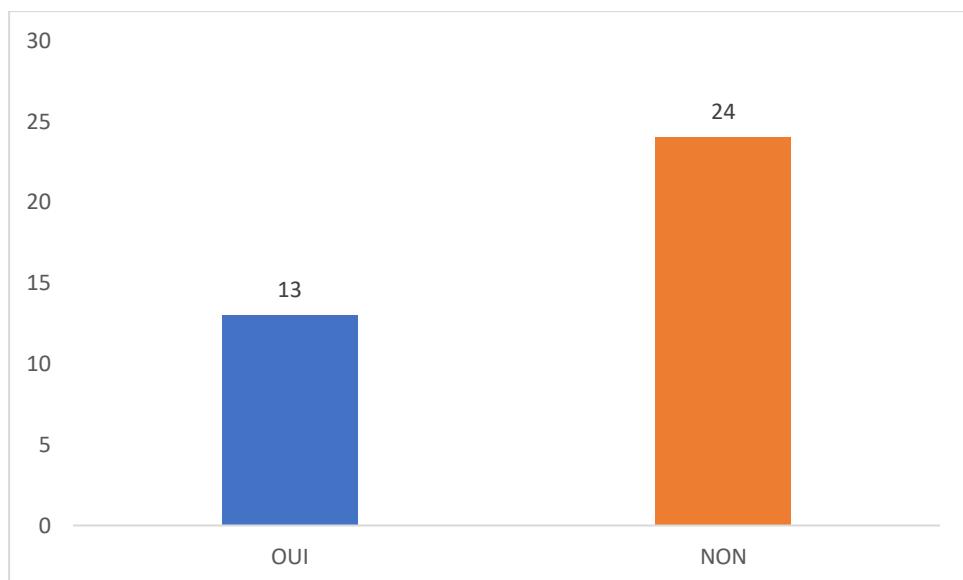
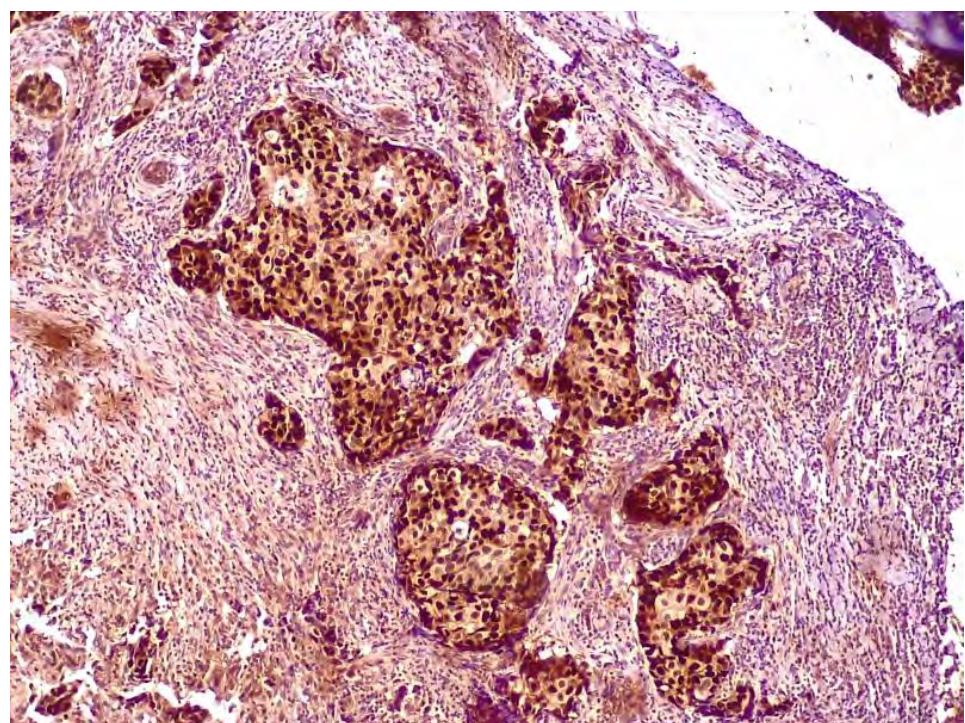


Figure 13 : Répartition des patientes selon la présence ou non de RP

a



b

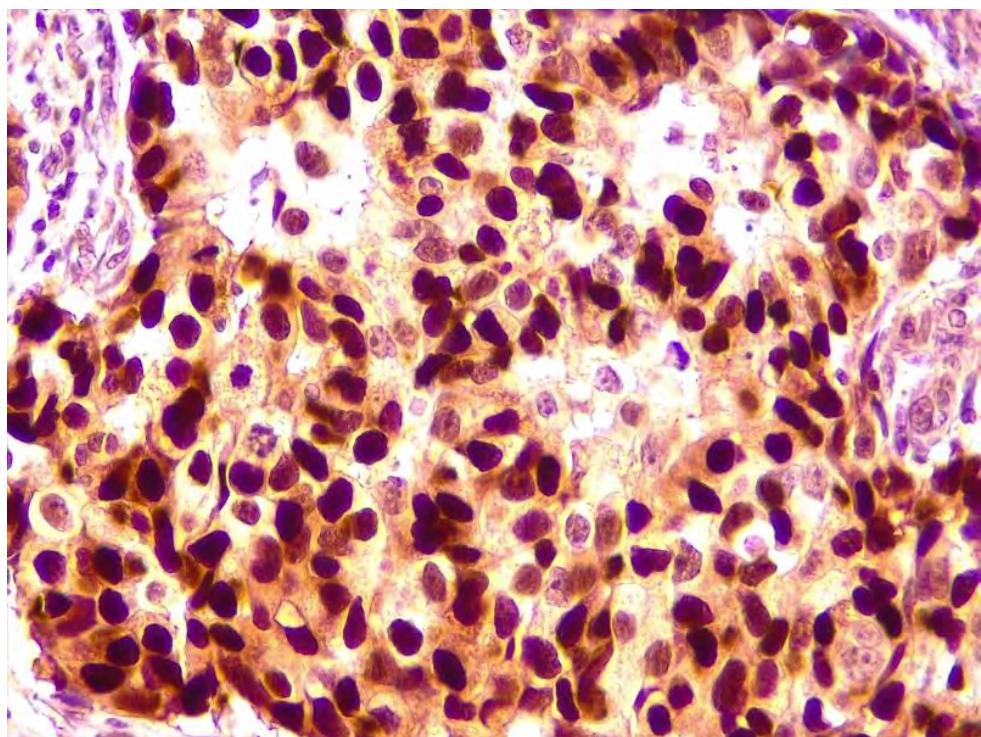


Figure 5: Carcinome canalaire de type non spécifique avec expression des RP
a=X100,b=x400 (Image Dr Sarr, HPD)

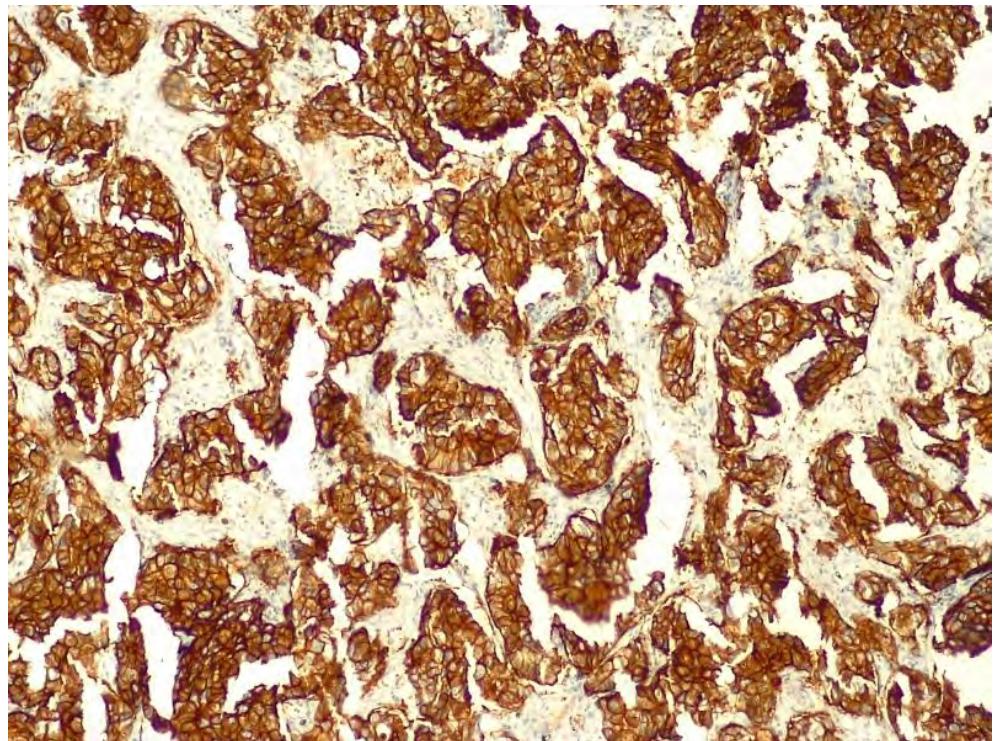
4.3.3. Statut HER2/neu

Le statut HER/neu était positif ($> +2$) chez 11 patientes. Le **Error! Reference source not found.** résume la répartition des patientes selon le statut HER2/neu. La figure 15 montre un marquage nucléaire et cytoplasmique du HER2/ neu.

Tableau IX : Répartition des patientes selon le statut HER2/neu

Statut HER2/neu	Fréquences absolues (n)	Fréquences relatives (%)
Oui	14	37,8
Non	23	62,2
Total	37	100,0

a



b

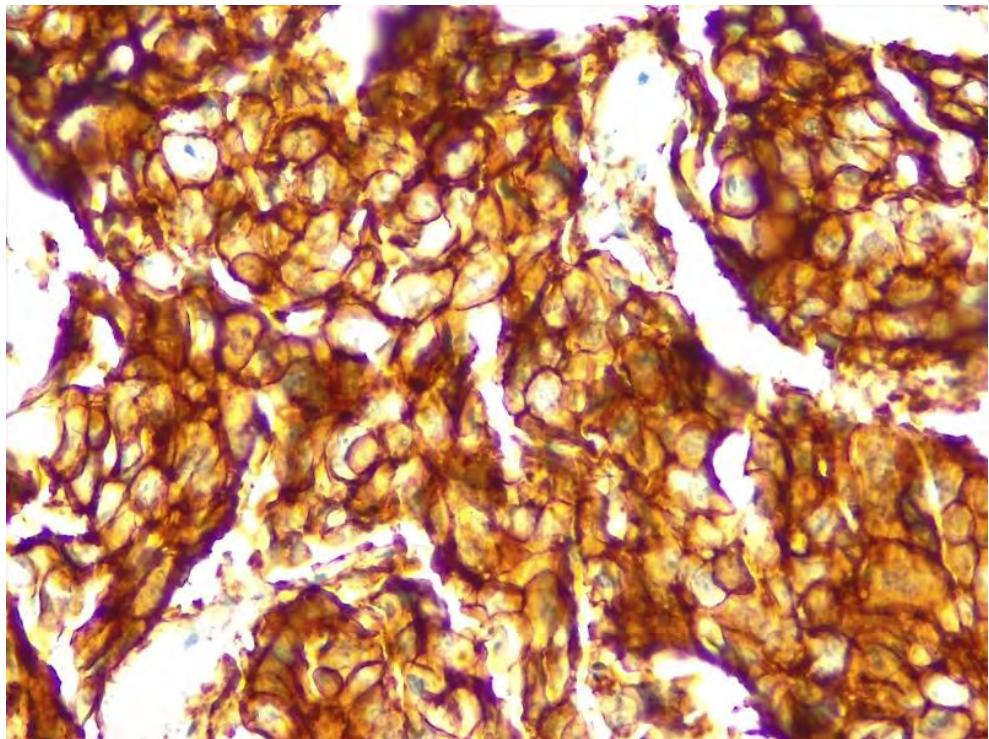


Figure 6 : Carcinome canalaire de type non spécifique avec marquage nucléaire et cytoplasmique des HER2/neu a=X100. b=x400(Image Dr Sarr, HPD)

5. Classification moléculaire

Le sous-groupe Luminal A représentait (37,8%) de l'échantillon (n = 14). Le profil immunohistochimique des patientes atteintes de cancers de sein est représenté au niveau de la figure 16.

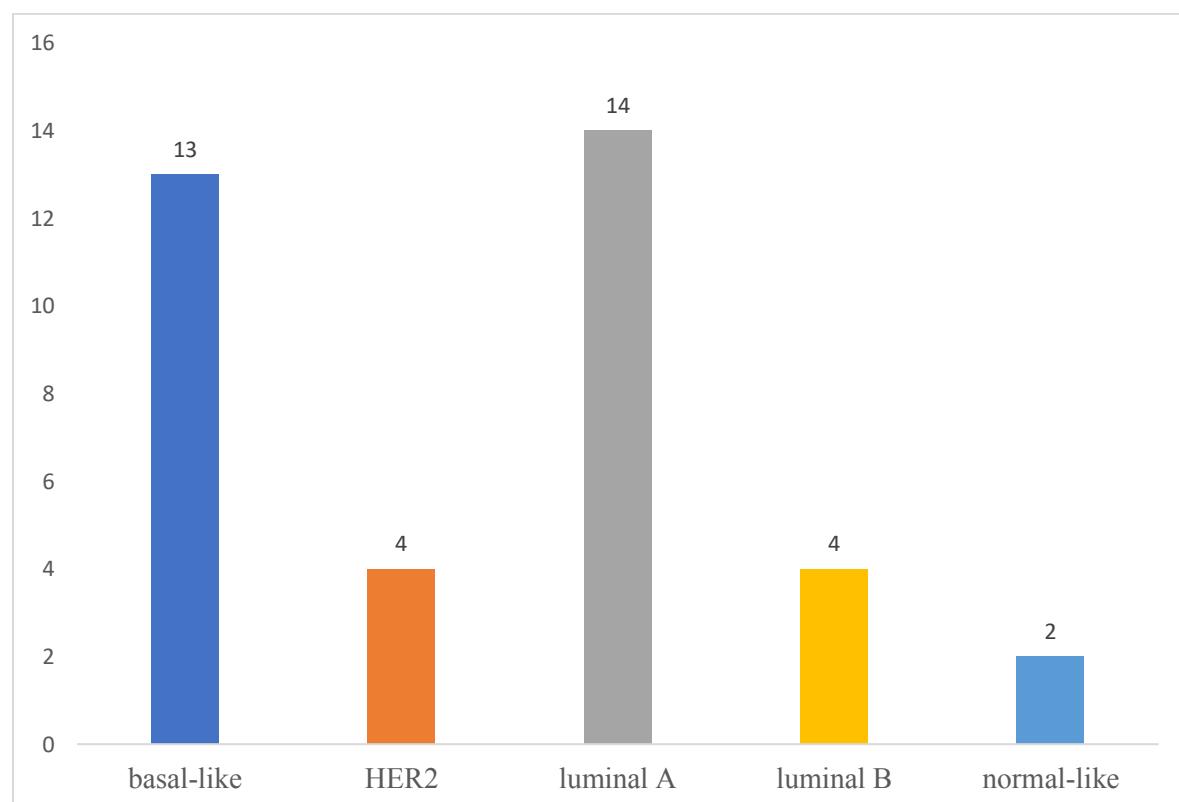


Figure 16 : Profil immunohistochimique des patientes

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION

Le cancer du sein est caractérisée par une grande hétérogénéité clinique et anatomopathologique [15]. Le cancer du sein est le premier cancer de la femme avec une importante mortalité [17]. Plusieurs facteurs pronostics sont identifiés. Il s'agit principalement du stade TNM, du grade SBR, du type histologique, des récepteurs hormonaux [1]. L'évaluation de ces derniers est essentielle dans la prise en charge des cancers du sein. En effet, ils présentent également un intérêt thérapeutique [27]. Il existe plusieurs techniques pour rechercher les récepteurs hormonaux.

1. Choix de l'immunohistochimie

L'immunohistochimie est une méthode de choix de par ses avantages et inconvénients [6]. Ses avantages sont multiples. En effet, cette technique est disponible en routine et donne des résultats rapidement. Les analyses peuvent se faire sur des prélèvements aussi bien inclus dans la paraffine que congelés. Sa sensibilité est élevée. Elle permet la détection directe de l'expression protéique tout en conservant l'architecture tissulaire. Ces inconvénients sont liés aux difficultés d'interprétation dues à la variabilités des protocoles de fixation [7].

En ce qui concerne le statut HER 2/neu, la FISH est obligatoire pour rechercher une amplification du gène dans les cas où le score est 2+[16]. Dans notre étude, la FISH n'a pas été utilisée car elle est indisponible. La FISH est la technique de référence pour la détermination de HER2/neu, cependant d'autres méthodes comme la CISH comporte une bonne concordance de résultats avec l'immunohistochimie.

Dans la littérature, le taux de concordance entre IHC et FISH va de 79% à 100% pour les cas 3 + et il est entre 6% et 36% pour les cas 2+[2].

Une proportion variable selon les séries des cas 2+ à l'IHC n'est pas amplifiée à la FISH. Plusieurs études ont montré une excellente corrélation entre l'immunohistochimie et la CISH.

2. Profil immunohistochimique

Dans notre étude, le sous-type luminal A était le plus représentatif (37,8%). Ce qui concorde avec les données de la littérature [14] [8] notamment dans des sous-groupes de populations afro américaines [19] (**Error! Reference source not found.**).

Par contre, dans une étude réalisée précédemment au Sénégal et portant sur 522 cas, le sous-groupe triple négatif était le plus fréquemment observé [13]. Cette entité était tout de même, le 2^{ème} sous-groupe le plus représentatif de notre échantillon avec 35,1% de cas et la différence de prévalence pourrait s'expliquer par les différences de taille des deux échantillons.

Le sous-type luminal A est de meilleur pronostic comparé au luminal B [23]. Le sous-type basal-like communément appelé triple négatif est particulièrement de mauvais pronostic. Les tumeurs « triple-négatif » présentent d'une part une forte instabilité génétique et seraient sensibles à des drogues provoquant des cassures de l'ADN comme les agents alkylants, les sels de platine et empêchant la recombinaison homologue comme les inhibiteurs de PARP [20].

Tableau X: Profil immunohistochimique

	Luminal A	Luminal B	HER2+	Basal-like
Notre étude	37,8%	10,8%	10,8%	35,1%
Fouad et al [14]	54,3%	16%	11,3%	11,3%
Ihemelandu et al [19]	55,4%	11,8%	11,6%	21,2%
Bhargava et al [8]	55%	17%	15%	15%
Fitzpatrick et al [13]	38,6%	4,6%	10,1%	46,7%

3. Évaluation des RH et du HER2/ neu en clinique

La recherche des RH et du HER 2/neu est primordiale dans les cancers du sein. En effet, elle a un intérêt thérapeutique, pronostique. La détection des RH permet de prédire la réponse à l'hormonothérapie[22]. La surexpression de l'HER2 est associée à une mauvaise réponse à la chimiothérapie. Cependant, le trastuzumab (Herceptin®) a une efficacité prouvée chez des patientes ayant un carcinome mammaire surexprimant la protéine HER2/neu. Ce traitement consiste à l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre le domaine extracellulaire p185 de la protéine ERB-2 [16].

La surexpression est considérée comme un facteur de mauvais pronostic ainsi que l'absence d'expression de RH. Il existe également une forte corrélation entre l'expression de Ki67 et la survie [30].

Concernant l'intérêt du dosage sérique de l'HER-2 au moment de la décision thérapeutique, les résultats de la littérature sont contradictoires. Certaines études (référence) n'ont pas trouvé d'association entre ce dosage et la réponse à la chimiothérapie néo-adjuvante et au Trastuzumab. Une autre étude (référence) par contre trouve qu'un niveau pré-thérapeutique élevé de l'HER-2 est un facteur prédictif de la réponse au Trastuzumab.

Conclusion

Le cancer du sein est une pathologie fréquente et responsable d'une grande cause de mortalité dans le monde. Ce cancer est caractérisée par une grande hétérogénéité. La recherche des récepteurs hormonaux est essentielle dans la prise en charge des cancers du sein. Les RE étaient présents 21 patientes et leur détermination a permis d'établir un profil moléculaire des tumeurs analysées. Ainsi les deux sous-groupes les plus représentatifs de notre échantillon concernaient le sous-groupe Luminal (37,8%). Le sous-groupe basal-like ou triple négatif (35,8%) .

La détection des RH et du HER2 a un intérêt diagnostique et thérapeutique essentiel. Un plaidoyer doit être réalisé pour rendre cette technique plus accessible au Chu car elle n'est pour l'instant disponible que dans une seule structure publique au Sénégal, avec un coût relativement élevé (57 000)F CFA.

Références

1. Ahmed SB, Aloulou S, Bibi M, Landolsi A, Nouira M, Fatma LB, et al.
Pronostic du cancer du sein chez les femmes tunisiennes : analyse d'une série hospitalière de 729 patientes. Sante Publique (Bucur). 2002;Vol. 14:231-41.

2. Akhdar A, Bronsard M, Lemieux R, Geha S.

Détermination de l'amplification de l'oncogène HER-2 dans le cancer du sein invasif par hybridation chromogénique in situ double couleur (dc-CISH) : étude comparative avec l'hybridation fluorescente in situ (FISH). Annales de Pathologie. Volume 31, n° 6 pages 472-479 (décembre 2011)

3. Alleman I, Couvert-Mullot H, Béranger C, Gisserot O.

Prise en charge du cancer du sein en cas de récepteurs hormonaux négatifs. Pharm Hosp. 2010;45:25-32.

4. Arnould L, Denoux Y, MacGrogan G, Penault-Llorca F, Fiche M, Treilleux I, et al.

Agreement between chromogenic in situ hybridisation (CISH) and FISH in the determination of HER2 status in breast cancer. Br J Cancer. 2003;88:1587-91.

5. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al.

Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. Br J Cancer. 2007;96:1504-13.

6. Balaton A e, Le Doussal V, Arnould L, Barlier C, Bellocq JP, Ettore F, et al.

Recommandations pour l'évaluation immunohistochimique des récepteurs hormonaux sur coupes en paraffine dans les carcinomes mammaires Mise à jour 1999. 2008;

7. Bartlett J, Mallon E, Cooke T.

The clinical evaluation of HER-2 status: which test to use? J Pathol. 2003;199:411-7.

8. Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G, et al.

Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. Int J Clin Exp Pathol. 2009;2:444-55.

9. Cabarrot E.

Histoire naturelle des cancers du sein. Encycl Med Chir Gynécologie. 2000;

10. Carmeci C, Thompson DA, Ring HZ, Francke U, Weigel RJ.

Identification of a Gene (GPR30) with Homology to the G-Protein-Coupled Receptor Superfamily Associated with Estrogen Receptor Expression in Breast Cancer. Genomics. 1997;45:607-17.

11. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al.

Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst. 2009;101:736-50.

12. Colleoni M, Rotmensz N, Peruzzotti G, Maisonneuve P, Viale G, Renne G, et al.

Minimal and small size invasive breast cancer with no axillary lymph node involvement: the need for tailored adjuvant therapies. Ann Oncol. 2004;15:1633-9.

13. Fitzpatrick MB, Rendi MH, Kiviat NB, Toure P, Dem A, Sow PS, et al.
Pathology of Senegalese breast cancers. Pan Afr Med J. 2019;34.

14. Fouad A, Yousra A, Kaoutar Z, Omar EM, Afaf A, Sanae B.

Classification moléculaire du cancer du sein au Maroc. Pan Afr Med J. 2012;13.

15. Franchet C, Duprez-Paumier R, Lacroix-Triki M.

Cancer du sein luminal et apport des classifications intrinsèques moléculaires : comment identifier les tumeurs luminales A et B en 2015 ? Bull Cancer (Paris). 2015;102:S34-46.

16. Galant C, Berlière M, Leconte I, Marbaix E.

Nouveautés dans les facteurs histopronostiques des cancers du sein. Imag Femme. 2010;20:9-17.

17. Gueye SMK, Gueye M, Coulbary SA, Diouf A, Moreau JC.

Problématique de la prise en charge des cancers du sein au Sénégal: une approche transversale. Pan Afr Med J. 2016;25.

18. Haldosén L-A, Zhao C, Dahlman-Wright K.

Estrogen receptor beta in breast cancer. Mol Cell Endocrinol. 2014;382:665-72.

19. Ihemelandu CU, Leffall LD, Dewitty RL, Naab TJ, Mezghebe HM, Makambi KH, et al.

Molecular breast cancer subtypes in premenopausal and postmenopausal African-American women: age-specific prevalence and survival. J Surg Res. 2007;143:109-18.

20. Khalil AI, Bendahhou K, Mestaghanmi H, Saile R, Benider A.

Cancer du sein au Maroc: profil phénotypique des tumeurs. Pan Afr Med J .2016;25.

21. Lamy P-J, Romieu G, Rouanet P, Jacot W.

Classification moléculaire des cancers du sein : utilité en clinique. Médecine Nucl. 2010;34:32-43.

22. Leclercq G, Paridaens R, Heuson J-C.

Relation entre les récepteurs d'oestrogènes et de progestérone et la réponse à l'hormonothérapie. Pathol Biol. 1983;31:793-800.

23. Mathieu MC.

Les sous-types moléculaires des cancers du sein – Molecular subtypes of breast cancer. M Ise Au Point. :2.

24. Maudelonde T.

Les récepteurs de la progestérone – Progesterone receptors. La Lettre du sénologue. 2008(41).

25. MCGUIRE WL.

Steroid hormone receptors in breast cancer treatment strategy. Proc 1979 Laurent Horm Conf. Elsevier; 1980. p. 135–156.

26. Netgen.

Cancer du sein : la pathologie, pierre angulaire de la décision thérapeutique. Rev. Médicale Suisse.

27. Netgen.

Valeur prédictive de la surexpression/amplification de Her2/neu pour un traitement ciblé du cancer du sein [Internet]. Rev. Médicale Suisse.

28. Prat A, Cheang MCU, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al.

Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2013;31:203-9.

29. Senkus E, Kyriakides S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Thompson A, Zackrisson S, et al.

Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2013;24 Suppl 6:vi7-23.

30. Spyratos F, Ferrero-Poüs M, Trassard M, Hacène K, Phillips E, Tubiana-Hulin M, et al.

Correlation between MIB-1 and other proliferation markers. Cancer. 2002;94:2151-9.

31. **Zemmouri Y, De Croze D, Vincent Salomon A, Rouzier R, Bonneau C.**
Caractérisation moléculaire des cancers du sein en pratique clinique. Gynécologie
Obstétrique Fertil. 2016;44:285-92.

32. www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/sein.html#ID-69 consulté le
02/11/2019 à 19H43min.

33. www.campus.cerimes.fr/anatomiepathologique/enseignement/anapath_32/site/html/8.html consulté le 02/11/2019 à 19H43min.

Apport de l'Immunohistochimie dans la détermination du profil moléculaire des cancers du sein

But : Décrire l'apport de l'immunohistochimie dans la détermination du profil moléculaire des cancers du sein

Patients et méthode : Nous avons réalisé une étude rétrospective, descriptive sur la période d'une année (du 01 Janvier au 31 Décembre 2016.) à l'institut Joliot Curie de l'hôpital Aristide le Dantec en collaboration avec le laboratoire d'anatomie-pathologie de l'hôpital Principal de Dakar.

Résultats : Nous avons colligé 37 dossiers de patients ayant un cancer du sein confirmé à l'anatomie pathologie ayant bénéficié d'une analyse immunohistochimique à la recherche de l'expression des récepteurs hormonaux (RE, RP), du statut HER 2. L'âge moyen des patientes étaient de 47,18 ans +/- 12,96 avec des extrêmes de 24 et 70 ans. Sur les 37 patientes, 17 étaient ménopausées. La taille tumorale était supérieure à 5 cm chez la majorité des patientes (n=25 soit 67,6 %). Il y avait des adénopathies axillaires chez 32 patientes. Ces adénopathies étaient classées N1 dans 21 cas et fixées dans 11 cas. La présence de métastases était constatée chez 19 patientes. Le carcinome canalaire non spécifique était le type anatomopathologique le plus représenté (84,61%). Le carcinome lobulaire arrivait en deuxième position (10,25%). Le grade SBR II concernait 35,9 % de l'échantillon (n=14). Le grade III représentait 12 cas. Les RE étaient présents chez 39 patientes. Ces récepteurs étaient positifs chez 21 patientes soit dans 53,8% des cas. Il n'y avait pas de RE chez 16 patientes. Les RP étaient présents chez 39 patientes. Ils étaient positifs chez 13 patientes (33,3% des cas). Le statut HER/neu était positif (> +2) chez 11 patientes. L'index Ki 67 a été évaluée chez 6 patientes. Il était supérieur à 20% dans 2 cas. Ces différentes données nous ont permis d'établir un profil moléculaire des tumeurs analysées. Ainsi les deux sous-groupes les plus représentatifs de notre échantillon concernaient le sous-groupe Luminal (37,8%), le sous-groupe basal-like ou triple négatif (35,8%).

Conclusion : Le cancer du sein est une pathologie fréquente et responsable d'une grande cause de mortalité dans le monde. La détection des RH et du HER2 a un intérêt diagnostique et thérapeutique essentiel.

Mots-clés : cancer du sein, classification moléculaire, immunohistochimie, Sénégal.

Adja Coumba Diallo, coumbisadja@yahoo.fr, 771480197 FMPO - UCAD 2020

