UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques
Biologie & Santé

Cancer du Sein Luminal B

Présenté par :
ET-TOUIL Rajae
Encadré par :
Dr EL FATEMI Hinde
Pr MIKOU Karima

Soutenu le : 12/06/2014

Devant le jury composé de :

Pr MIKOU Karima : Président
Dr EL FATEMI Hinde : Encadrant
Pr SEFRIOUI Samira : Examinateur

Année Universitaire : 2013-2014

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES – SAISS
B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES
Ligne Directe : 212 (0)5 35 61 16 86 – Standard : 212 (0)5 35 60 82 14
Site web: http://www.fst-usmba.ac.ma

Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes très chers parents:

Aucun terme et aucune langue ne pourra exprimer mon amour et mes sentiments envers vous. Dieu seul capable de vous récompenser pour tout ce que vous avait fait pour moi

A mon cher frère et sœurs:

Merci pour tout

A mes formateurs:

S'il y a vraiment quelqu'un à remercier, ça sera vous. Merci pour vos efforts

A tous mes chers amis:

Je vous souhaite une vie pleine de joie et de réussite

A tous ceux qui m'aiment:

Qu'ils trouvent ici mon amour réciproque.

A tous les stagiaires de BS:

Je leur souhaite

Bonne chance

Bon avenir

Remerciements

- Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage et la bonne volonté pour réaliser ce travail.
- Mme **MIKOU Karima**, ma professeur et mon encadrant de la FST, pour ses précieux conseils, pour sa disponibilité, pour son aide ; sa rigueur et ses compétences exemplaires qui ont été pour moi un modèle à suivre au cours de ce projet. Je la remercie d'avoir accepté de m'encadrer et de suivre l'évolution de mon projet.
- Je tiens à remercier tout particulièrement Professeur **EL FATEMI Hinde**, Directeur du laboratoire d'anatomie pathologique, mon encadrant professionnelle, pour son accueil et la confiance qu'elle m'a accordée dès mon arrivée au laboratoire. Je la remercie, également pour le temps qu'elle m'a consacré et ses réponses à toutes mes interrogations, malgré ses multiples occupations.
- Je remercie également Docteur **LAMCHAHAB Meryem** pour l'aide et les conseils concernant toutes les activités du laboratoire, les missions qu'elle m'a apportées lors des différents suivis pour la réalisation du stage.
- Mes remerciements s'adressent également à Mme **SEFRIOUI Samira,** Professeur à la FST pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner ce projet de fin d'étude.
- Que Tous mes professeurs au sein de la FST soient remerciés.
- Je tiens à remercier l'ensemble de personnes grâce auxquelles ce stage a été une période enrichissante tant sur le plan de ma formation que sur le plan personnel.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyrubonucléïque

ANAPATH : anatomie pathologique

BRCA : Breast Cancer susceptibility gene

CCI : Carcinome canalaire infiltrant

CCIS : Carcinome Canalaire In Situ

CIS : Carcinome In Situ

CLI : Carcinome lobulaire infiltrant

CLIS : Carcinome Lobulaire In Situ

HER-2 : Human Epidermal growth factor Receptor 2

HES : Hématoxyline-Eosine-Safran

IHC : Immunohistochimie

Ki-67 : cell cycle related nuclear protein

OMS : Organisation mondiale de la santé

PBS : Phosphate Buffered Saline

RE ou RO : Récepteur OEstrogénique

RH : Recepteurs Hormonaux

RP : Récepteur Progestatif

SBR : Scarff Bloom et Richardson

TNM : Taille-Nodule-Métastase

UTDL : Unité Terminale Ductulo-Lobulaire

Avant-propos

Ce rapport est le fruit d'un stage de deux mois effectué au laboratoire d'analyses médicales de CHU Hassan II à Fès, au service ANAPATH. Ce stage, ayant eu lieu du 07 Avril 2014 au 31 Mai 2014, est réalisé dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude de la Licence en Biologie et Santé de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques, Fès.

Le thème retenu dans le cadre de ce stage est «Cancer du Sein Luminal B». Il avait pour objectif majeur l'évaluation des caractéristiques épidémiologiques, histologiques et évolutives du cancer du sein Luminal B au CHU HASSAN II du 2009 au 2014.

Ce stage m'a permis d'avoir une vision réaliste et dynamique de la discipline d'anatomie pathologique et de sa place cruciale dans la chaîne médicale.

Ce rapport de stage est composé de trois parties. Dans une première partie, nous aborderons des généralités concernant le cancer du sein, l'épidémiologie, ses facteurs de risques et sa classification. Dans une seconde partie, on exposera le matériel sur lequel nous avons travaillé ainsi que les méthodes employées. Nous rapportons les résultats d'étude rétrospective concernant les donnés épidémiologiques, histologiques, et évolutifs des patientes ayant un cancer du sein Luminal B dans une troisième partie.

Présentation du lieu de stage : CHU Hassan II

Le centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès est construit sur une superficie de 120.000 m^2 dont 78.102 m^2 couverts. Il comprend un hôpital des spécialités, un hôpital Mère enfant, un bloc opératoire, une salle de diagnostic, un pavillon de consultation externe et un laboratoire central.

Le laboratoire Central d'Analyses Médicales est situé au bâtiment J et considéré comme un pôle d'activité hospitalière comportant plusieurs spécialités d'analyses médicales. Il se compose de :

- Une salle de réception
- Des salles de prélèvements
- Plusieurs laboratoires à savoir :
    - Laboratoire de biochimie/pharmacotoxicologie
    - Laboratoire d'hématologie
    - Laboratoire de bactériologie/immunologie
    - Laboratoire de parasitologie
    - Laboratoire de génétique

    Laboratoire d'anatomie pathologique

Le but du laboratoire d'anatomie pathologique est de contribuer à :

- élaborer le diagnostic par la démarche anatomoclinique : les lésions sont analysées et décrites dans un compte-rendu, puis l'anatomopathologiste intègre l'ensemble des faits morphologiques et des renseignements cliniques pour, en conclusion du compte-rendu, affirmer un diagnostic ou proposer une hypothèse diagnostique ;
- préciser le pronostic en apportant des éléments utiles, en particulier dans le domaine de la pathologie tumorale ;
- évaluer l'effet des thérapeutiques : les examens anatomocytopathologiques sont renouvelés au cours d'un traitement afin de juger de la disparition, de la persistance ou de l'aggravation des lésions.

Dans le service de laboratoire d'anatomie pathologique il y a 4 salles :

- Salle de Macroscopie et congélation
- Salle Technique
- Salle d'Immunohistochimie
- Salle de Lecture

Sommaire

Introduction……..1

Première Partie :Etude Bibliographique ……..2

I. Généralités sur le cancer…….....3

1. Définition…….……3

2. Types de cancer…….....3

II. Le cancer du sein…….....3

1. Rappel anatomique et histologique du sein……...4

2. Epidémiologie du cancer du sein …….....6

3. Facteurs Etiologiques de cancer du sein…….....6

4. Diagnostic…….....7

5. Types histologiques du cancer de sein ……..7

6. les facteurs pronostiques dans les cancers infiltrants ……....8

7. Classification moléculaire du cancer du sein ...…….……..12

8. L'étude immunohistochimique dans la pathologie cancéreuse du sein……....13

III. Traitement du cancer du sein……..13

1. La Chirurgie du cancer du sein……13

2. La Chimiothérapie……..13

3. La Radiothérapie……....14

4. L'hormonothérapie…….……14

5. thérapies ciblées……..14

Deuxième Partie : Matériel et méthodes…….....15

I. Matériel..……...16

II. Méthodes……..16

1. Préparation des lames histologiques …….…….....16

2. Etude histologique …….....18

3. Etude immunohistochimique……...18

Troisième Partie : Résultats et discussion

…….....19

Résultats……...20

I .Répartition des tumeurs mammaires selon la classification moléculaire du cancer du sein…….20

1. Age moyen des sous types moléculaires……..20
2. Grade SBR des sous types moléculaires……..20
3. Association des sous types moléculaires avec un carcinome in situ……21
4. Répartition des différents sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire……21
5. Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec la taille tumorale de la classification TNM……...22
6. La réponse thérapeutique des différents sous types moléculaires……....22

II. Profil histologique du cancer du sein Luminal B…….23

Les facteurs pronostiques cliniques …….23

Les Facteurs histologiques ……...26

Les facteurs biologiques et moléculaires …….27

Discussion……28

Conclusion……30

Références Bibliographiques……31

Annexes……32

Listes des figures et des tableaux

Liste des figures :

Figure 1 : Représentation de la prolifération cellulaire pour le cancer canalaire in situ et infiltrant.

Figure 2 : Représentation schématique de la structure générale d'un sein

Figure 3 : Représentation de l'Unité Terminale Ductulo-Lobulaire (UTDL)

Figure 4 : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire du cancer du sein

Figure 5 : Répartition des malades (luminal B) selon les tranches d'âge

Figure 6 : Répartition des malades(luminal B) selon le type de prélèvement

Figure 7 : Répartition des malades (luminal B) selon la taille de la tumeur

Figure 8 : Répartition des malades (luminal B) selon la taille tumorale TNM

Figure 9: Répartition des malades (luminal B) selon l'envahissement ganglionnaire

Figure 10 : Répartition des malades (luminal B) selon le type histologique

Figure 11 : Répartition des malades (luminal B) selon le grade SBR

Figure 12.Répartition des malades (luminal B) selon l'expression des récepteurs hormonaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des tumeurs mammaires selon l'OMS 2003

Tableau 2 : La classification TNM concernant la taille tumoral (T).

Tableau 3 : Classification TNM concernant l'envahissement ganglionnaire (N).

Tableau 4 : Classification TNM concernant les métastases (M).

Tableau 5 : Grade de scraff -Bloom-Richardson – modification de Nottingham

Tableau 6 : Représentation des sous types moléculaires du cancer du sein

Tableau 7 : Age moyen des différents sous types moléculaires des cancers du sein

Tableau 8 : Répartition des différents sous types moléculaires selon le grade SBR

Tableau 9 : Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec carcinome *in situ*

Tableau10 : Répartition des différents sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire

Tableau 11 : Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec la taille tumorale de la classification TNM

Tableau 12 : Répartition des différents sous types moléculaires selon la réponse thérapeutique.

Introduction

Le cancer du sein est le premier cancer de la femme. Il est responsable de 11000 décès par an dans le monde et il reste, jusqu'à l'heure actuelle, un problème de santé publique particulièrement pour la femme jeune, moins de 35 ans, où il est agressif. Cependant, la stratégie thérapeutique de nos jours s'est améliorée grâce à l'utilisation des traitements adjuvants qui ont permis de réduire au maximum le risque de récidive, le taux de mortalité et la survie globale. Ces nouveaux traitements ont également augmenté la difficulté de déterminer avec précision le traitement adéquat. Pour cela, certains auteurs [1-2] ont analysé l'expression génique des tumeurs mammaires par microarray et ont pu mettre en évidence cinq groupes moléculaires : Luminal A, Luminal B, basal-like, Her2 et le groupe normal-like. Cependant, l'analyse par microarray n'est pas toujours possible vu son coût et les difficultés techniques pour la réaliser. Pour résoudre ce problème, plusieurs auteurs ont démontré que l'immunohistochimie peut servir d'alternative pour définir les sous types moléculaires de la classification des tumeurs [3]. On a ainsi reproduit par immunohistochimie l'expression protéique des tumeurs mammaires, en se basant sur l'expression des récepteurs oestrogéniques (RO), progestéroniques (RP), facteur de croissance Her2 , Ki-67 et d'autres bio marqueurs tels les cytokératines de haut et de bas poids moléculaires (CK8 /18, CK5/6 etc..). Cette technique a permis de mettre en évidence le groupe moléculaire des non-classés (tumeurs négatives à tous les biomarqueurs) à côté des groupes Luminal A, Luminal B, Her2 et basal-like.

Les cancers luminaux sont les formes les plus fréquentes des cancers du sein. Ces tumeurs sont appelées luminal car leurs gènes codent les protéines des cellules épithéliales de la lumière des canaux ou des lobules du sein. Ce sont des tumeurs caractérisées par une expression des récepteurs hormonaux œstrogènes (RO+) et/ou à la progestérone (PR+). De plus, le groupe des tumeurs Luminal B se distingue des tumeurs Luminal A par une forte prolifération mitotique détectée par l'anticorps Ki-67 et plus souvent, une surexpression du gène HER2 +. Ces tumeurs sont habituellement de haut grade histologique et de mauvais pronostic.

Le travail présenté ici a porté sur le cancer du sein Luminal B, il a consisté en une analyse de 378 cas colligés au CHU Hassan II entre 2009 et 2014.

Etude Bibliographique

I. Généralités sur le cancer :

1. Définition

Un cancer est la division anarchique, incontrôlable d'une cellule mutée. Les cellules prolifèrent d'abord localement, sans franchir la membrane basale : c'est un carcinome « *in situ* ». Puis elles se propagent dans le tissu avoisinant et commencent à se dédifférencier: c'est un cancer « infiltrant ». Quand les cellules cancéreuses sont néo-vascularisées et totalement dédifférenciées, elles ont la capacité de migrer à travers les vaisseaux sanguins et lymphatiques, par lesquels elles vont coloniser des tissus à distance : ce sont des « métastases ».

2. Types de cancer :

Il existe quatre grands types de cancer:

- Le carcinome est le type de cancer le plus fréquent. Les carcinomes peuvent prendre naissance dans la peau ou les tissus qui tapissent ou couvrent les organes internes.
- Les leucémies sont des cancers qui prennent naissance dans le tissu hématopoïétique.
- Les lymphomes et les myélomes multiples sont des cancers qui prennent naissance dans les cellules du système immunitaire. Les lymphomes sont des cancers du système lymphatique. Le myélome multiple est un cancer des cellules plasmatiques.
- Les sarcomes sont des cancers qui prennent naissance dans les muscles, la graisse, les vaisseaux sanguins, les os, le cartilage et d'autres tissus conjonctifs ou de soutien.

II. Le cancer du sein

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui se développe sur la partie glandulaire du sein et qui prend naissance à partir des cellules épithéliales qui tapissent l'unité terminale ductulo-lobulaire. On peut classer ce cancer comme carcinome invasif ou non invasif selon le franchissement ou non de la membrane basale. La figure 1 illustre les 2 types du cancer de sein.

- Néoplasies mammaires *in situ*:

Les néoplasies mammaires *in situ* regroupent toutes les proliférations néoplasiques cytologiquement malignes des cellules épithéliales luminales confinées dans les acini des lobules (carcinome intra lobulaire) et dans les canaux galactophoriques (carcinome intracanalaire) ; mais la membrane basale est toujours respectée.

- Carcinome infiltrant :

Le carcinome infiltrant est un cancer envahissant le tissu mammaire, évoluant localement puis métastasant. Le plus fréquent est le carcinome canalaire infiltrant (80 %), le carcinome lobulaire représente 5% à 15%. D'autres carcinomes qui sont classés en se basant sur ces caractéristiques, il s'agit du carcinome tubulaire, mucineux, médullaire, papillaire et le cribriforme.

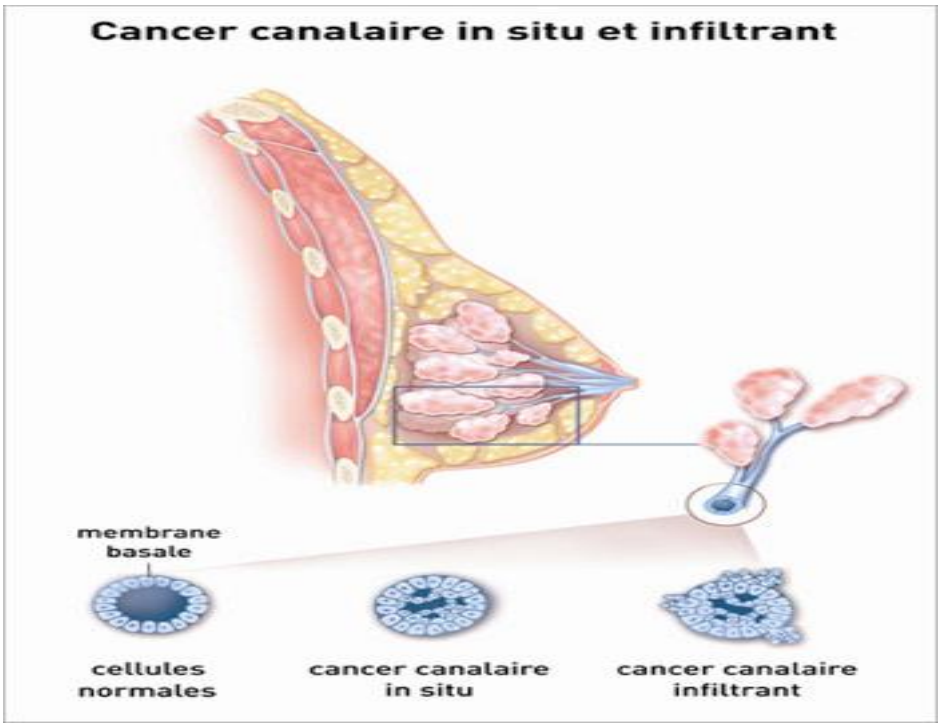

Figure 1. Représentation de la prolifération cellulaire pour le cancer canalaire *in situ* et infiltrant

Plusieurs études ont confirmé que le cancer de sein résulte d'une accumulation d'un grand nombre de mutations génétiques individuelles qui collectivement changent les éléments du système de signalisation complexe d'une cellule. C'est ainsi que le cancer du sein apparaît aujourd'hui comme une maladie complexe caractérisée par l'accumulation de multiples altérations moléculaires qui confèrent à chaque tumeur un phénotype et un potentiel évolutif propres. De ce fait la classification moléculaire des tumeurs est d'une grande importance ; (Pérou CM, Sorlie T, et al.2000) ont utilisé la technique de puces à ADN pour créer la nouvelle classification du cancer du sein [1-4]. Ils ont démontré que cette néoplasie peut être classée selon les profils d'expression génique en cinq groupes : (Luminal B, Luminal A, HER-2, Basal-like, et Normale-like).

1. Rappel anatomique et histologique du sein :

La glande mammaire est une glande à développement continu depuis le stade embryonnaire, à travers la puberté, les cycles menstruels et la grossesse, jusqu'à l'atrophie à travers la ménopause.

C’est une glande exocrine dont la fonction est la sécrétion lactée. Elle est incluse entièrement dans le pannicule adipeux sous cutané et rattachée à la peau par ses canaux excréteurs. Elle repose sur le fascia superficiel et des tractus fibreux unissant ce dernier à la peau et subdivisant le corps adipeux en lobes.

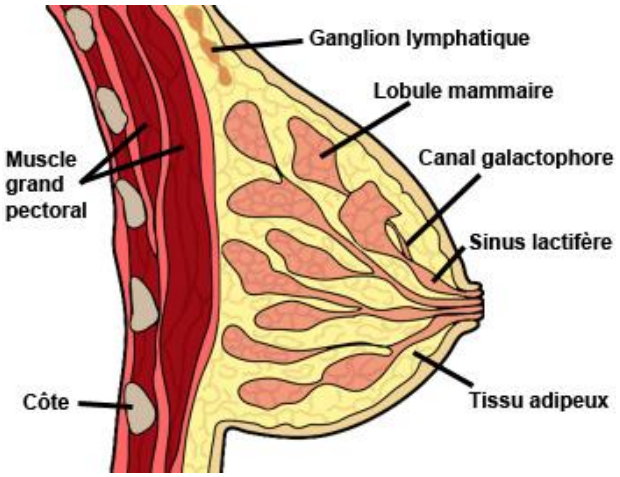

Figure 2. Représentation schématique de la structure générale d'un sein

Le sein est constitué par des canaux et lobules ramifiés, regroupés en petites unités appelées « unités terminales ductulo-lobulaire », qui sont drainés par des canaux de grand calibre s’abouchant au niveau du mamelon. Le sein est également composé de tissu conjonctif dense qui entoure les canaux et les lobes, dans lequel cheminent des vaisseaux sanguins. La figure 3 montre l’unité terminale ductulo – lobulaire. Elle illustre également les types cellulaires qui composent le sein.

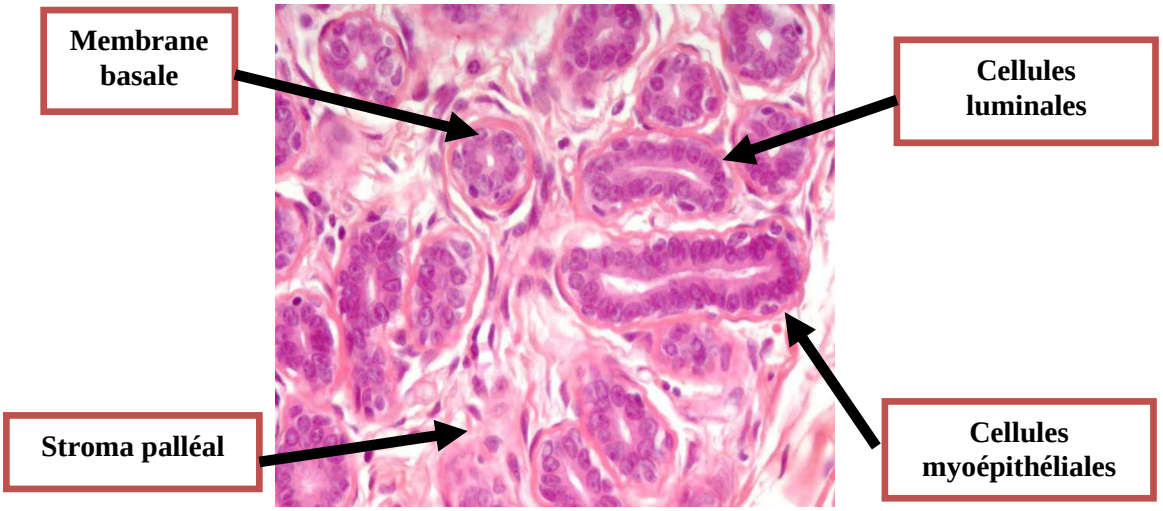

Figure 3. Représentation de l’Unité Terminale Ductulo-Lobulaire (UTDL)

Sur le plan histologique, le sein est formé d’au moins quatre types cellulaires, on distingue les cellules épithéliales cylindriques ou luminales qui forment les alvéoles et les canaux qui sécrètent le lait mammaire. Ces cellules sont ceinturées par les cellules myoépithéliales de forme allongée, et qui évacuent le lait en se contractant. Dans le mésenchyme ou stroma on trouve les adipocytes. À proximité des cellules épithéliales se trouvent les fibroblastes et les myofibroblastes qui sont

importants pour la formation et la différenciation de l'épithélium mammaire. Le tissu mammaire comprend également d'autre types cellulaires telles que les cellules immunitaires (dendritiques, macrophages) ou les cellules des vaisseaux sanguins et lymphatiques (plaquettes, péricytes) [5].

2. Epidémiologie du cancer du sein:

Le cancer du sein est la première cause de mortalité chez la femme en Europe. C'est un cancer qui touche plus de 37000 nouveaux cas par an en France et il est responsable de plus de 11 000 décès estimes en 2000 [6]. Il est également considère comme étant le premier cancer de la femme au Maroc avec la particularité d'affecter fréquemment la femme jeune (âge médian de 45 ans). Ainsi, le Maroc rejoint la plupart des pays occidentaux puisque la fréquence du cancer du sein est en augmentation régulière depuis la dernière décennie, et représente un problème majeur de santé publique. L'âge jeune -moins de 40 ans - est considère comme l'un des principaux facteurs de mauvais pronostic [6].

3. Facteurs Etiologiques de cancer du sein :

Plusieurs facteurs de risque du cancer du sein ont été clairement mis en évidence. Toutefois, pour la majorité des femmes présentant un cancer du sein, il n'est pas possible d'identifier des facteurs de risque particuliers. Les principaux facteurs de risque du cancer du sein sont :

- **L'âge** : le nombre de cancers du sein augmente régulièrement à partir de 30 ans.
- **Le sexe** : le cancer du sein est presque exclusivement féminin.
- **Les antécédents familiaux** : le risque augmente si une parente du premier degré (mère, sœur, fille) a déjà eu un cancer du sein et plus particulièrement avant la ménopause.
- **les facteurs génétiques** en rapport avec des gènes connus BRCA 1, 2 ou 3 (BRCA de Breast Cancer) portés par les femmes ou les hommes susceptibles de les transmettre à leurs filles.
- **Les facteurs hormonaux :** règles précoces (avant 12 ans), ménopause tardive (après 50 ans), absence de grossesse ou grossesse tardive (après 35 ans), absence d'allaitement.
- **La densité mammaire** : plus le sein est dense, plus le risque est élevé.
- **Les contraceptifs oraux** et les traitements hormonaux de la ménopause
- **Le surpoids et l'obésité** : le cancer du sein peut notamment toucher les femmes qui souffrent de surpoids ou d'obésité.
- **Le tabac et/ou l'alcool** : une consommation régulière augmente les risques de cancer du sein**.**

4. Diagnostic

a. Clinique

La palpation du sein fait partie de l'examen gynécologique annuel que devrait faire pratiquer toute femme dès le début de l'activité sexuelle. Lors de la palpation, la suspicion se fait à partir de la découverte d'un nodule, que l'on peut détecter par palpation à partir de 1 cm de diamètre environ. D'autres irrégularités peuvent nécessiter une consultation telle une déformation ou un aspect eczémateux du mamelon, fossette a la surface du sein, et écoulement mamelonaire. Cependant, tous ces signes ne se rencontrent pas seulement dans le cas des cancers. Un nodule peut être de nature bénigne surtout lorsqu'il est de consistance solide (adénofibrome), ou lorsqu'il est de nature liquidienne (kyste).

b. Mammographie

La mammographie, pratiquée régulièrement et dans le cadre des programmes de dépistage, permet de diagnostiquer la maladie à un stade suffisamment précoce pour que le traitement soit le plus conservateur possible et en même temps efficace.

c. Biopsie

Un prélèvement réalisé le plus souvent par une grosse aiguille (trocart) sous guide d'échographie ou de radiologie. Le diagnostic de certitude se fera par la suite par l'étude anatomo-pathologique de l'échantillon prélevé.

d. Recherche de métastases

La recherche de métastases est fondamentale dans la stratégie du traitement du cancer du sein. Ceci se fait par une radiographie thoracique, une échographie hépatique et une scintigraphie osseuse. Cependant pour les tumeurs de très petite taille, ce bilan peut être facultatif. En revanche, pour les tumeurs évoluées (tumeurs inflammatoires, multifocales, envahissement ganglionnaire important), le risque métastatique initial est élevé et peut justifier un bilan plus poussé.

5. Types histologiques du cancer de sein :

Le type histologique des cancers est un élément important pour la conduite thérapeutique et le pronostic. Les tumeurs malignes du sein les plus fréquentes sont des adénocarcinomes développés à partir des canaux galactophores et des lobules. Ils représentent 98 % des tumeurs malignes du sein. De nombreuses classifications ont été proposées et actuellement c'est la classification de l'OMS (2003) qui est le plus souvent utilisée et qui est représentée dans le tableau 1

Tableau 1. Classification des tumeurs mammaires selon l'OMS 2003.

Classification histologique des carcinomes mammaires de l'OMS
Tumeurs épithéliales non infiltrantes
Carcinome canalaire in situ (intracanalaire) (CCIS)
Carcinome lobulaire in situ (CLIS)
Tumeurs épithéliales infiltrantes
Carcinome canalaire infiltrant SAI (sans autre indication)
Carcinome canalaire infiltrant avec composante intracanalaire prédominante
Carcinome lobulaire infiltrant
Carcinome mucineux (colloïde)
Carcinome médullaire
Carcinome papillaire
Carcinome tubuleux
Carcinome adénoïde kystique
Carcinome sécrétant juvénile
Carcinome apocrine
Carcinome métaplasique de type épidermoïde
Carcinome métaplasique de type à cellules fusiformes
Carcinome métaplasique de type chondroïde et osseux
Carcinome métaplasique de type mixte
Maladie de Paget du mamelon

6. Les facteurs pronostiques dans les cancers infiltrants

On peut les diviser en 3 classes : les facteurs cliniques, les facteurs histologiques, et les facteurs biologiques et moléculaires.

6.1 Les facteurs pronostiques cliniques :

- **L'âge :**

L'âge constitue un facteur pronostique aussi bien pour les récidives locales que pour l'évolution métastasique. Les jeunes femmes de moins de 35 ans ont un risque 4 fois plus élevé de récidive locale que les femmes de plus de 55 ans pour les cancers de sein traité d'une façon conservatrice.

- **Le stade TNM :**

L'indice TNM résume les stades de la maladie. La lettre T fait référence à la taille de la tumeur primaire, la lettre N aux adénopathies, c'est-à-dire aux anomalies des ganglions, et la lettre M à la présence ou non de métastases.

- **La taille tumorale (T):**

La taille de la tumeur est mesurée dans les 3 plans de l'espace à l'état frais (mesure macroscopique). Cette taille est remesurée sur lame, en ne tenant compte que de la composante infiltrante. La taille est corrélée à l'envahissement des ganglions axillaires.

Tableau 2 : La classification TNM concernant la taille tumoral (T) [7].

pTx	Détermination de la tumeur primitive impossible
pT0	Pas de signe de tumeur primitive
p T1	Tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
pT2	Tumeur 2 cm < T ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension
p T3	Tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension
p T4	Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique et/ou à la peau.

- **L'envahissement ganglionnaire (N) :**

Il constitue pour l'instant le facteur pronostique le plus important pour prédire les rechutes métastatiques et la survie des patientes. Un nombre minimum de 10 ganglions axillaires est prélevé, et les ganglions envahis et non envahis sont examinés.

Tableau 3 : Classification TNM concernant l'envahissement ganglionnaire (N) [7].

PNx	les adénopathies régionales ne peuvent être évaluées
Pn0	pas d'adénopathie régionale métastatique histologiquement démontrée
Pn1	métastases atteignant 1 à 3 ganglions axillaires
PN2	métastases atteignant 4 à 9 ganglions axillaires
Pn3	métastases atteignant au moins 10 ganglions axillaires

- **Métastases à distance (M) :**

Tableau 4 : Classification TNM concernant les métastases (M) [7].

Mx	les métastases à distance ne peuvent être évaluées
M0	absence de métastases à distance
M1	existence de métastases à distance

6.2 Facteurs histologiques :

- **Grade SBR :**

Le grade de Scarff Bloom et Richardson est actuellement le plus utilisé. Il prend en compte trois critères histologiques cotés de 1 à 3: La différenciation tubulo-glandulaire de la tumeur, le pléomorphisme nucléaire et le compte des mitoses.

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

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

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

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

- Le pléomorphisme nucléaire : Les atypies nucléaires sont jugées sur la population cellulaire prédominante.

  Score 1 : noyaux réguliers et dont la taille est inférieure à 2 fois la taille des noyaux des cellules normales.

  Score 3 : noyaux : réguliers ou irréguliers dont la taille est supérieure à 3 fois celle des noyaux des cellules normales.

  Score 2 : tout ce qui n'est ni 1 ni 3. Les noyaux sont de taille moyenne à grande, mais leur taille et leur forme sont plutôt les mêmes.

- Les mitoses **:** Cette étape consiste à un comptage des cellules en mitose. On définit par la suite les scores suivants :

  Score1 : Les cellules tumorales se divisent lentement.

  Score 2 : Les cellules tumorales se divisent à une vitesse moyenne.

  Score 3 : Les cellules tumorales se divisent rapidement.

On additionne ensuite chacun de ces scores et le total ainsi obtenu, qui varie entre 3 et 9, permet de déterminer le grade de la tumeur qui est présenté dans le tableau 5.

Tableau 5 : Grade de scraff -Bloom-Richardson – modification de Nottingham

Grade	Score total	Description
I	3 à 5	Tumeur de bas grade (bien différenciée) qui ne semble pas se développer rapidement et qui est peu susceptible de se propager
II	6 à 7	Tumeur de grade intermédiaire (modérément différenciée) dont les caractéristiques varient entre celles des tumeurs de grade 1 et de grade 3
III	8 à 9	Tumeur de haut grade (peu différenciée) qui a tendance à se développer rapidement et qui est susceptible de se propager

- **Les emboles vasculaires péri tumoraux :**

Les emboles vasculaires sont définies par la présence de structures carcinomateuses dans les lumières de vaisseaux lymphatiques ou sanguins péri tumoraux.

La présence d'emboles vasculaires péri tumoraux est un facteur pronostique important. Ils doivent être pris en considération pour le choix d'une thérapeutique adjuvante.

6.3 Facteurs biologiques et moléculaires :

La détermination de statut de récepteurs aux œstrogènes (RO), des récepteurs à la progestérone (RP) et des récepteurs Her2 est aujourd'hui primordiale. L'expression des récepteurs à l'œstrogène et Her2 sont deux marqueurs permettant une appréciation de l'agressivité tumorale. Ces deux marqueurs permettent une évaluation approximative des sous-classes tumorales. Ces récepteurs sont validés comme facteurs prédictifs à la réponse aux traitements. D'autres facteurs prédictifs de réponse aux traitements ont été également proposés : c'est l'index mitotique évalué par l'anticorps Ki67.

Les marqueurs RO, RP, Her2 et Ki67 sont actuellement intégrés dans des scores multiprotéines qui pourraient permettre d'améliorer les performances individuelles de chaque marqueur.

- **Les récepteurs hormonaux :**

Deux types de récepteurs hormonaux sont étudiés dans le cancer du sein : les récepteurs aux œstrogènes et aux progestérones. Les tumeurs RO+RP+ sont de bon pronostic alors que les tumeurs RO-RP- sont de mauvais pronostic. Il existe plusieurs méthodes de dosage des récepteurs hormonaux, mais la méthode de référence est le dosage immunohistochimique où le pourcentage de cellules tumorales marquées et l'intensité de marquage sont évolués.

- **Score Her2 :**

La protéine HER2 est un récepteur membranaire situé à la surface de la cellule. Le gène Her2 influence la façon dont les cellules poussent, se divisent et se réparent. Chaque cellule normale constituant la glande mammaire contient deux copies du gène Her2 qui contribue aux fonctions cellulaires normales par l'intermédiaire de la protéine ou récepteur HER2. Dans une cellule cancéreuse, il peut se produire une surexpression du gène Her2.Cependant, les récepteurs HER2 peuvent être inhibés spécifiquement par un traitement ciblé. A l'aide d'un anticorps monoclonal. Il apparaît donc fondamental de connaître le statut Her2 (positif ou négatif) d'une patiente atteinte d'un cancer du sein, afin de la traiter de façon plus optimale.

- **Index de prolifération ki67 :**

A coté de l'activité mitotique qui doit être évaluée impérativement pour établir le grade SBR, des marqueurs de prolifération peuvent être utilisés, tel que l'analyse de l'expression de ki67 par immunohistochimie.

Le ki67 est un antigène nucléaire exprimé dans les cellules au cours des phases proliferatives du cycle cellulaire. Son expression dans les carcinomes mammaires est associée à un mauvais pronostic.

Plus récemment, des études de corrélation ont suggéré que le Ki67 pouvait permettre de différencier les cancers de type Luminal A et B. C'est le type luminal B qui présente le Ki67 le plus important.

7. Classification moléculaire du cancer du sein :

Les travaux de (Pérou CM, Sorlie T, et al.2000) basés sur l'expression génique puis sur le profil protéique ont permis d'identifier cinq sous types moléculaires de cancer du sein : Luminal A, Luminal B, Her2, normal-like et Basal-like [1-4].

Le sous type Luminal exprimant le gène des récepteurs aux œstrogènes et les gènes qu'il régule. Ces tumeurs sont classées en deux catégories A et B, qui diffèrent par l'expression plus élevée de récepteurs aux œstrogènes et une prolifération plus faible pour les luminales A.

Le sous type HER2 dont les tumeurs sur expriment l'oncogène HER2 et les gènes liés plus ou moins aux récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone.

Le sous type basal-like où les tumeurs sont « triple-négatifs » c'est-à-dire qu'ils n'expriment ni les récepteurs aux œstrogènes ni ceux à la progestérone, ni HER2.

Enfin, le cinquième phénotype est celui des tumeurs dites normal-like, provenant de la contamination des échantillons tumoraux par les tissus mammaires normaux, il n'est donc pas utilisé en clinique. La combinaison du statut des récepteurs hormonaux, du statut HER2 et de l'indice Ki67 permet de classer les cancers du sein en 5 sous-types. Cette classification est importante pour déterminer le traitement le plus efficace possible. Les 5 sous-groupes sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6. Représentation des sous types moléculaires du cancer du sein :

Sous-type de cancer du sein	**Statut des RH**	**Statut HER2**	**Statut Ki-67**
Luminal A	ER+ et/ou PR+	HER2 négatif	Faible (inf. à 14 %)
Luminal B HER2 négatif	ER+ et/ou PR+	HER2 négatif	Élevé
Luminal B HER2 positif	ER+ et/ou PR+	HER2 positif	Quel qu'il soit
HER2 positif non Luminal	ER- et PR-	HER2 positif	Quel qu'il soit
Triple négatif	ER- et PR-	HER2 négatif	Quel qu'il soit

8- L'étude immunohistochimique dans la pathologie cancéreuse du sein

L'immunohistochimie permet de localiser dans les structures biologiques tissulaires ou cellulaires des motifs structuraux de nature protéique ou glycoprotéique ayant la valeur de motif antigénique. Le réactif principal est un anticorps, spécifiquement dirigé contre ce motif. Un traceur fixé directement ou indirectement sur l'anticorps permet de détecter la liaison entre l'anticorps et sa cible. Il permet de visualiser les récepteurs hormonaux (RH), *in situ* sur les échantillons tissulaires congelés ou fixés mais aussi sur des prélèvements cytologiques congelés, séchés ou fixés. L'évaluation des RH par immunohistochimie peut être réalisée par lecture visuelle directe au microscope ou par analyseur d'images. Cette technique est utilisée pour déterminer le sous classe moléculaire des tumeurs. Dans le cas du cancer du sein, les anticorps utilisés sont : anti-RO, anti-RP, anti-Her2, anti-Ki67, anti-CK5/6 et anti-CK8/18.

III. Traitement du cancer du sein

1. La Chirurgie du cancer du sein:

La chirurgie est le plus souvent, le traitement de première intention des cancers du sein. Quand le diagnostic est suffisamment précoce, l'acte chirurgical peut se limiter à enlever la tumeur en préservant le sein (chirurgie conservatrice : tumorectomie). Sinon, il peut être nécessaire de retirer complètement le sein (chirurgie radicale : mastectomie). Pour les cancers invasifs, l'ablation de la tumeur est associée à l'exérèse ou ablation des ganglions axillaires.

2. La Chimiothérapie :

La chimiothérapie est un traitement à base de médicaments. Les médicaments de chimiothérapie agissent sur les mécanismes de la division cellulaire.

C'est un traitement général (appelé traitement systémique), qui agit dans l'ensemble du corps et permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation dans le corps. Il existe deux séquences de traitement :

- **La chimiothérapie néo adjuvante :** C'est la chimiothérapie avant le traitement chirurgical. Elle a pour but de réduire le risque de rechute mais aussi de diminuer la taille de la tumeur afin de réaliser une conservation mammaire lors de la chirurgie.
- **La chimiothérapie adjuvante :** Elle a pour but de diminuer le risque de rechute Elle est recommandée après le traitement chirurgical quand il existe au moins l'un des facteurs péjoratifs suivants :
    - Une atteinte métastasique ganglionnaire axillaire

- Une taille tumorale supérieure ou égale à 2 cm
- Un grade histologique élevé
- L'absence d'expression des récepteurs hormonaux
- Un âge au diagnostic de moins de 35 ans

3. La radiothérapie :

Dans le cancer du sein, la radiothérapie complète souvent la chirurgie. Il s'agit d'un traitement par rayons X de haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses.

4. L'hormonothérapie :

L'hormonothérapie est un traitement par médicament, préconisé uniquement chez les femmes qui souffrent d'un cancer du sein à récepteurs d'œstrogènes positifs. L'hormone œstrogène, naturellement présente dans le corps, a alors tendance à faciliter la croissance des cellules cancéreuses. Le traitement par hormonothérapie consiste donc à neutraliser l'effet des œstrogènes.

5. Thérapie ciblée :

Les traitements ciblés interviennent en complément de la radiothérapie et de la chimiothérapie. Ils freinent le développement des cellules cancéreuses en empêchant leur multiplication ou le développement des vaisseaux sanguins qui les nourrissent. Issus des nouvelles technologies de biotechnologie, leur action vise de façon spécifique une cible (ou récepteur) présente en nombre anormalement élevé à la surface des cellules cancéreuses. Dans ce sens on peu citer la thérapie ciblée anti Her2. Les anticorps anti-Her2 bloquent le site de fixation du récepteur Her2 qui se trouve à la surface des cellules et par conséquent empêchent leur prolifération.

Matériel et Méthodes

I. Matériel :

L'étude menée ici est une étude rétrospective sur 676 cas du cancer de sein colligés dans le service d'Anatomie pathologique du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès entre Janvier 2009 et Mars 2014.

Cette étude avait pour but de déterminer le pourcentage du cancer de sein Luminal B et de dégager les caractéristiques de ce type du cancer.

Pendant ce stage, nous avons également pu suivre les différentes étapes de la préparation des lames depuis l'arrivée de prélèvement jusqu'au montage.

II. Méthodes expérimentales :

1. Préparation des lames histologiques :

Les échantillons destinés au laboratoire d'anatomopathologie sont rapidement placés dans le formol à 10% dans un délai moins d'une heure et avec une quantité suffisante d'au moins dix fois le volume de la pièce chirurgicale. Une analyse macroscopique de la pièce par la vue et le toucher est réalisée. On mesure la taille de la tumeur et on la décrit avant de l'incuber dans des cassettes en plastique, portant le numéro d'examen, l'année et le numéro de série.

Les différents échantillons passent par une série d'étapes avant d'être lus et interprétés par le pathologiste responsable. Ces étapes, au nombre de 5, sont :

- La fixation
- L'inclusion
- La microtomie
- La coloration
- Le montage

1.1. La Fixation :

Etape essentielle dans la préparation tissulaire pour garantir la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle est réalisée par une solution de formol à 10 %, qui permet une bonne étude immunohistochimique et de biologie moléculaire.

Cette étape se fait dans l'Histokinette. L'échantillon tissulaire fixé est progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées jusqu'à ce que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu. L'alcool est ensuite remplacé par le toluène.

1.2. L'inclusion :

Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltre. Les échantillons acquièrent ainsi une consistance permettant d'obtenir des coupes minces au microtome. L'échantillon est inclus dans de la paraffine chauffée à une température de 60 °C.
Une fois l'échantillon bien imprégné, on le laisse refroidir dans un moule rempli de paraffine qui se solidifie pendant 10 min.

1.3. Microtomie :

Les blocs sont coupés à l'aide de microtome, à des épaisseurs allons de 3 à 5 microns. Les lames sont par la suite traitées par de l'alcool, et puis par de la gélatine qui colle les coupes sur les lames. Elles sont enfin mises dans l'étuve à 70°C pour le déparaffinage. Les lames sont, par la suite, réhydratées par des bains successifs d'alcools de plus en plus dilués puis plongées dans l'eau distillée. Quand la réhydratation est achevée, les coupes sont colorées.

1.4. La coloration des coupes par Hématéine-Eosine-Safran (HES) :

La coloration utilisée est de type H.E.S qui a pour but la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme des cellules ainsi que les fibres de collagène.
Les étapes de cette coloration sont :

- Coloration par l'hématéine pendant 5 à 7 min (teintant les noyaux en bleu ou en noir)
- Rinçage à l'eau courante puis à l'eau distillée
- Coloration dans une solution d'éosine à 1% pendant 2 min (teintant le cytoplasme en rose ou Rouge).
- Rinçage rapide à l'eau courante
- Déshydratation dans l'alcool à 100°
- Coloration dans le safran alcoolique pendant 1 min (se fixe sur le tissu conjonctif).
- Déshydratation dans l'alcool et passage dans le toluène.

1.5. Montages des lames:

Il permet une protection mécanique des coupes ainsi qu'une protection chimique des colorants. Après le montage, les lames sont classées dans des portoirs accompagnées de leurs fiches d'identification. Elles sont prêtes à l'examen au microscope par les pathologistes responsables.

2. Etude histologique :

Réalisée sur des lames déjà préparées et permet la détermination de la classification histologique de l'OMS et du grade SBR.

3. Etude immunohistochimique :

Dans le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Hassan II, l'immunohistochimie se fait à l'aide d'un automate nommé **ventana benchmark LT**. Cet appareil se charge d'effectuer toutes les étapes nécessaires à la réalisation de l'IHC, et permet ainsi de gagner du temps et de commettre moins d'erreurs lors de la technique. Les étapes de la technique sont données en annexe 1(page 32).

Résultats et Discussion

Résultats

I. Répartition des tumeurs mammaires selon la classification moléculaire du cancer du sein.

Des 676 tumeurs analysées au service d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de Fès, 378 cas sont de sous type Luminal B. dans notre série la classification moléculaire était dominée par le type Luminal B (56%), suivie du type Luminal A (26,7%), puis le type Her-2 (7,3%), et enfin le type basal (10%).

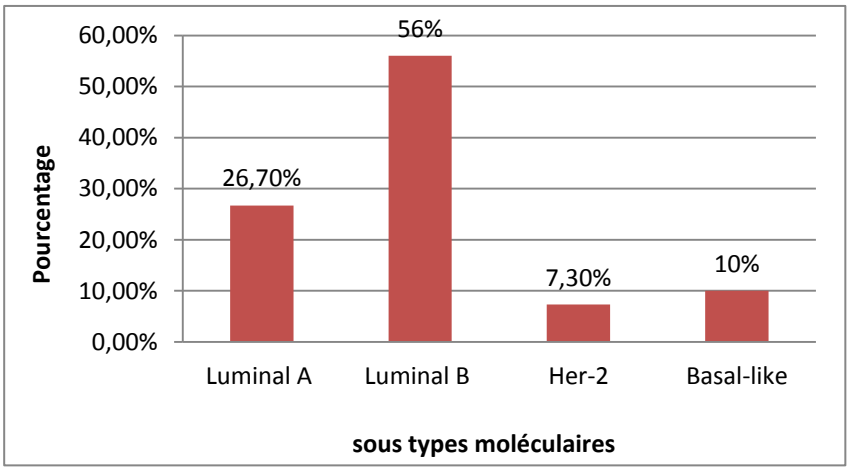

Figure 4 Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire du cancer du sein

1. Age moyen des sous types moléculaires :

Le tableau 7 illustrant l'âge moyen des différents sous types moléculaires des cancers du sein. On constate qu'il n'y a pas une grande différence entre les sous types moléculaires concernant l'âge moyen, et que les patientes ayant un cancer du sein luminal B ont un âge moyen de 49 ans légèrement supérieur aux autres types moléculaires.

Tableau 7 **Age moyen des différents sous types moléculaires des cancers du sein**

Sous types moleculaire	Luminal B	Luminal A	Her-2	Basal-like
Age moyen	49 ans	48 ans	47ans	46 ans

2. Grade SBR des sous types moléculaires :

On a noté que les sous types moléculaires présentaient une différence selon le grade SBR. Les tumeurs basales se caractérisaient par le grade histologique le plus haut (Grade III), contrairement aux tumeurs luminales (A et B) qui se caractérisent par le deuxième grade SBR.

Tableau 8. Répartition des différents sous types moléculaires selon le grade SBR

Sous types	Luminal B	Luminal A	Her-2	Basal-like
Grade I	11%	33,7 %	10,7 %	5,7 %
Grade II	57%	56 %	53,6 %	29,6 %
Grade III	32%	10,3 %	35,7 %	63,7%

3. Association des sous types moléculaires avec un carcinome in situ

Le tableau 9 illustre la répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec un carcinome *in situ***.** On constate que les tumeurs basales sont caractérisées par un faible pourcentage (29,81 %) de présence de carcinome *in situ.* Ce sont les sous type luminal A qui ont un grand pourcentage (54,95%) de présence de carcinome *in situ.* Les luminal B présentent une association avec un carcinome *in situ* avec un pourcentage de 48,15%.

Tableau 9.Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec carcinome *in situ*.

Carcinome *in situ*	Luminal B	Luminal A	Her-2	Basal-like
Présence	48,15%	54,95%	38,12 %	29,81 %
Absence	51,85%	45,05%	63,88 %	70,19 %

4. Répartition des différents sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire

Le tableau 10 montre que les sous types moléculaires présentent un pourcentage élevé de métastases ganglionnaires, avec prédominance de la classe N1 chez tous les sous types moléculaires. C'est le Basal- like qui présente le fort pourcentage (53,5 %).

Tableau10. Répartition des différents sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire

Sous types	Luminal B	Luminal A	Her-2	Basal-like
N0	25,70%	38,37%	33,33 %	36 %
N1	41,60 %	44,18 %	41,66 %	53,5 %
N2	23 %	13,97 %	25 %	10,5 %
N3	9,7 %	3,48 %	0 %	0 %

5. Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec la taille tumorale de la classification TNM

Les sous types moléculaires présentaient une différence selon la taille tumorale. Pour les différents sous types c'est la T2 qui domine. Le tableau 11 montre également que le pourcentage de la taille T2 le plus grand est présent chez 53% des cas de Luminal B.

Tableau 11.Répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec la taille tumorale de la classification TNM

Sous types	Luminal B	Luminal A	Her-2	Basal-like
T1	26%	34 %	31,25%	16,35 %
T2	53%	42,45 %	50 %	42,85 %
T3	15%	11,3 %	12,5 %	18,36 %
T4	6%	12,25 %	6,25 %	22,44 %

6. La réponse thérapeutique des différents sous types moléculaires :

L'évaluation de la réponse chez les patientes qui ont subi une chimiothérapie néo- adjuvante est réalisée selon le grade Sataloff T, G et selon le grade Chevalier. Le tableau 12 rapporte cette réponse thérapeutique. On constate que le pourcentage des patientes classées TA est de 0%. D'autre part, pour les sous types moléculaires Luminal A, Luminal B et Her2, la réponse thérapeutique est inférieure à 50% ; elle est supérieure à 50% pour les Basal like. Le cancer luminal B a un TD (pas d'effet thérapeutique) très important de 38%, alors que le TD est de 0% pour le Her2 et la basal – like. Le sous type moléculaire luminal B a également un ND très élevé (67%) par rapport aux autres sous types. Selon le grade chevalier, 54% des luminal B ont un grade 3 c'est- à-dire ce sont des tumeurs caractérisées par la présence de carcinome infiltrant avec altérations stromales.

- **Sataloff T :**

  TA : effet thérapeutique total

  TB : effet thérapeutique > 50%

  TC : effet thérapeutique < 50%

  TD : pas d'effet thérapeutique

- **Sataloff G**

  NA : effet thérapeutique et pas de maladie métastasique

  NB: sans métastase ou effet thérapeutique

  NC : effet thérapeutique mais métastase présente

  ND : une maladie métastasique variable et pas d'effet thérapeutique

- **Le grade Chevalier :**

Grade 1 : disparition de toute cellule tumorale

Grade 2 : présence de carcinome *in situ*, sans métastases

Grade 3 : présence de carcinome infiltrant avec altérations stromales

Grade 4 : rares altérations ou absence d'altération des cellules tumorales

Tableau 12. Répartition des différents sous types moléculaires selon la réponse thérapeutique.

Sous type moléculaire	Sataloff T				Sataloff G				Chevalier			
	TA	TB	TC	TD	NA	NB	NC	ND	1	2	3	4
Luminal B	0%	25%	37%	38%	6%	0%	27%	67%	0%	15%	54%	31%
Luminal A	0%	25%	62,5%	12,5%	0%	20%	40%	40%	0%	0%	87,5%	12,5%
Her2	0%	50%	50%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	100%
Basal-like	0%	66,66%	33,34%	0%	25%	25%	50%	0%	0%	0%	100%	0%

Pour la suite du travail, c'est le sous type Luminal B qui sera traité selon tous les facteurs pronostiques cliniques, histologiques et moléculaires.

II. Profil histologique du cancer du sein Luminal B

1. Les facteurs pronostiques cliniques :

1.1 Répartition des malades selon les tranches d'âge

Sur les 676 patientes présentées au service d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de Fès entre 2009 et 2014 et ayant une tumeur de sein, 378 patientes présentaient un cancer luminal B, L'âge moyen des patientes était de 49 ans avec une médiane de 46 ans et des extrêmes de 23 à 99 ans. La distribution de la population en fonction de la tranche l'âge est représentée par la figure 5 qui montre que c'est entre 40 et 49 que le nombre des cas est le plus important.

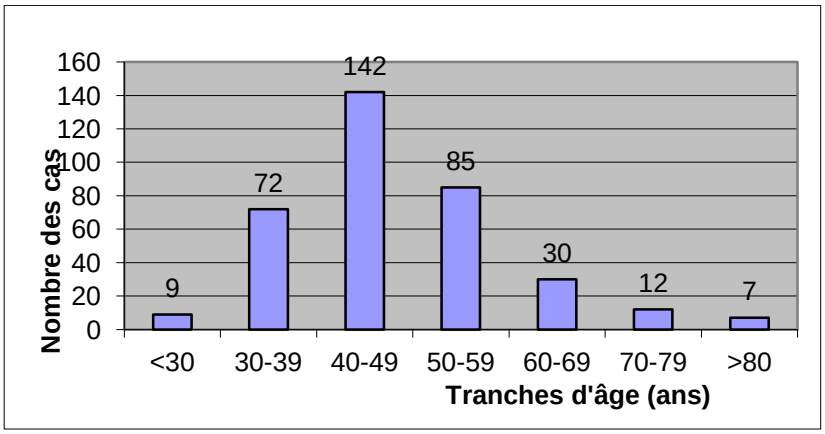

Figure 5 : Répartition des malades (luminal B) selon les tranches d'âge

1.2 Répartition des malades selon le type de prélèvement

La moitié des diagnostics a porté sur des biopsies représentant 48% des cas, suivis par pièces de mastectomie qui représentaient 41% des cas. Le traitement conservateur à été réalisé chez 11% des cas seulement (Figure 6).

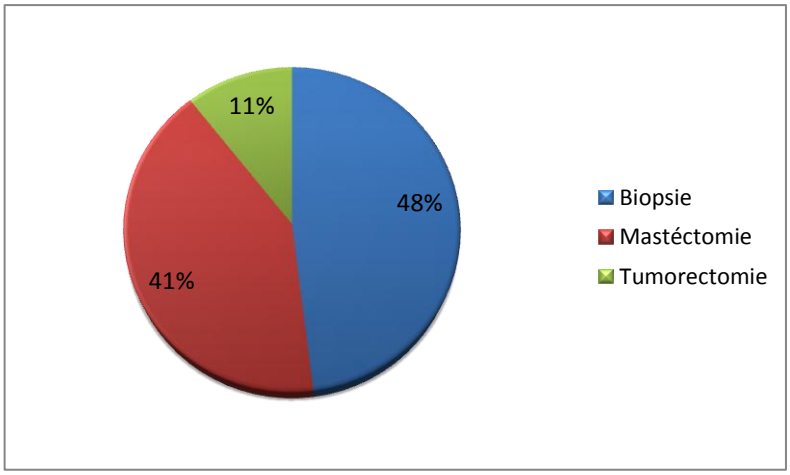

Figure 6 : Répartition des malades (luminal B) selon le type de prélèvement

1.3 Répartition des malades selon la taille de la tumeur

La taille moyenne était de 33 mm avec une médiane de 30 mm et des extrêmes allant de 5mm à 120 mm. La figure 7 montre que seulement 20,28 % des patientes avaient un diamètre inférieur à 20 mm, la majorité des tumeurs soit 49,65 % avait un diamètre entre 20 et 40 mm et 2,80 % des patientes ont des tumeurs dont la taille dépasse 80 mm de diamètre.

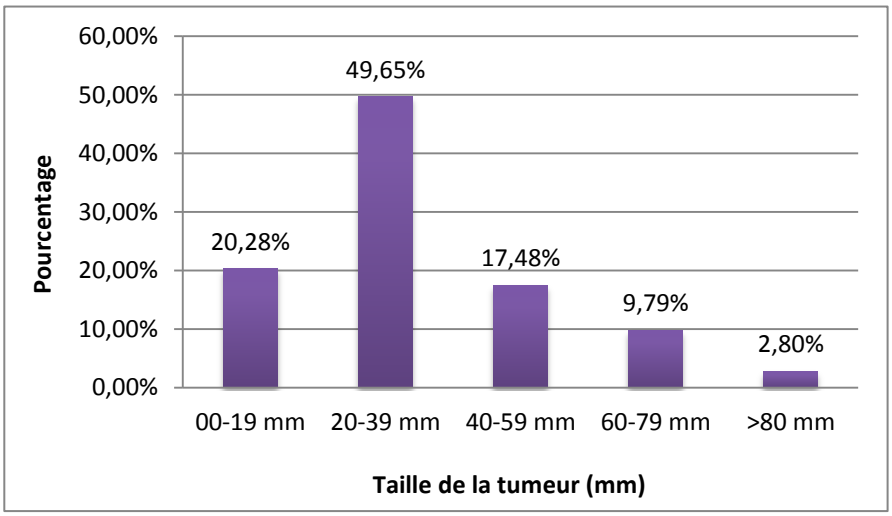

Figure 7 : Répartition des malades (luminal B) selon la taille de la tumeur

1.4 Répartition des malades selon la taille tumorale TNM

Dans cette étude, on a noté un pourcentage élevé des tumeurs classées en T2 (53 %), suivi par les tumeurs classées en T1 (26 %). Les classes T3 et T4 viennent en troisième position avec un taux de 15 % et 6 % respectivement.

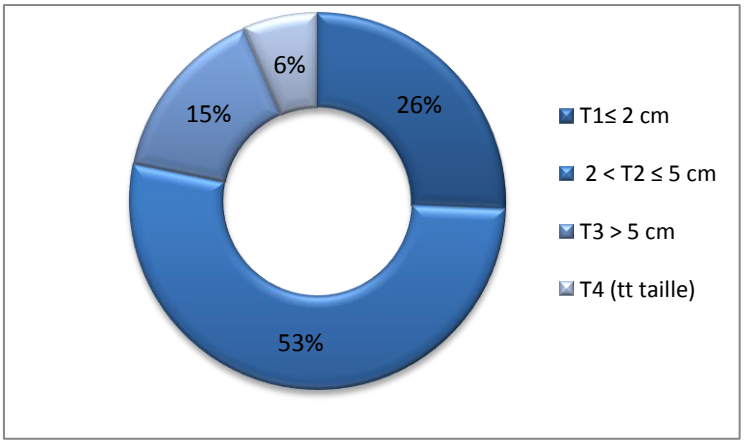

Figure 8 : Répartition des malades (luminal B) selon la taille tumorale TNM

1.5 Répartition des malades selon l'envahissement ganglionnaire

Le curage ganglionnaire a été réalisé chez 41,01 % des cas soit 155 patientes / 378. Les métastases ganglionnaires étaient présentes chez presque 75 % des cas (figure 9). Ces métastases étaient classées en N1 chez la majorité des patientes, soit 41,60 %. La classe N0 est relevée chez 25,70 % des cas, La classe N2 chez 23 % des cas et la classe N3 ne représente que 9,70 % des cas.

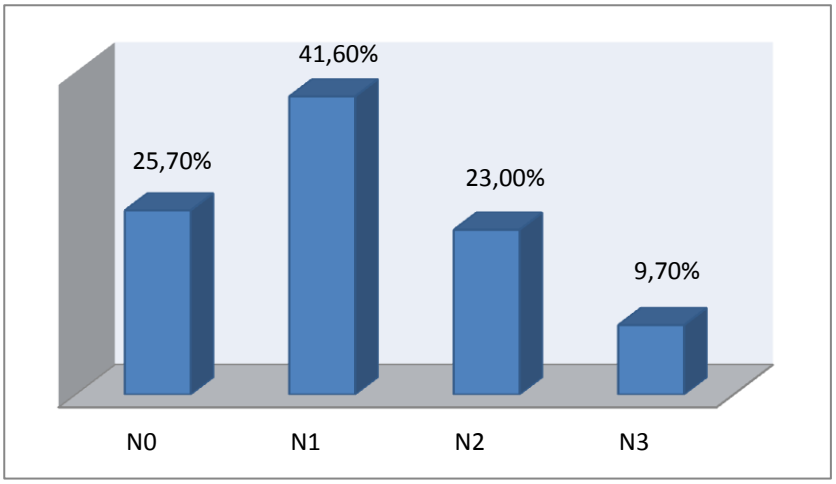

Figure 9: Répartition des malades (luminal B) selon l'envahissement ganglionnaire

2. Les Facteurs histologiques :

2.1 Répartition des malades luminal B selon le type histologique

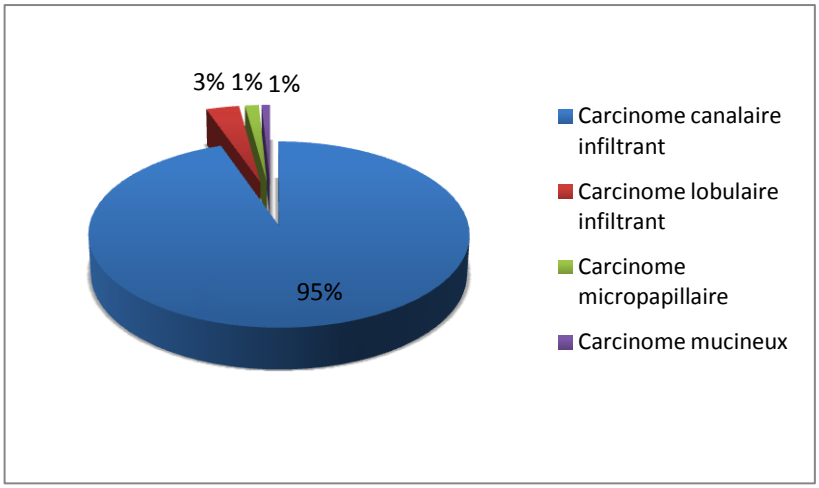

Figure 10 : Répartition des malades (luminal B) selon le type histologique

Sur le plan histologique, pour le sous type Luminal B on a le carcinome canalaire infiltrant qui est prédominant avec un pourcentage de 95%, suivi par le carcinome lobulaire infiltrant 3 %. Enfin, le carcinome micro papillaire et le carcinome mucineux représentent 2% des cas.

2.2 Répartition des malades selon Le grade SBR :

Selon la présente série, 32 % des cas étaient de grade III. Les tumeurs de grade II étaient majoritaires, elles représentaient 57 %. Les tumeurs de grade I ne représentaient que 11 % des cas.

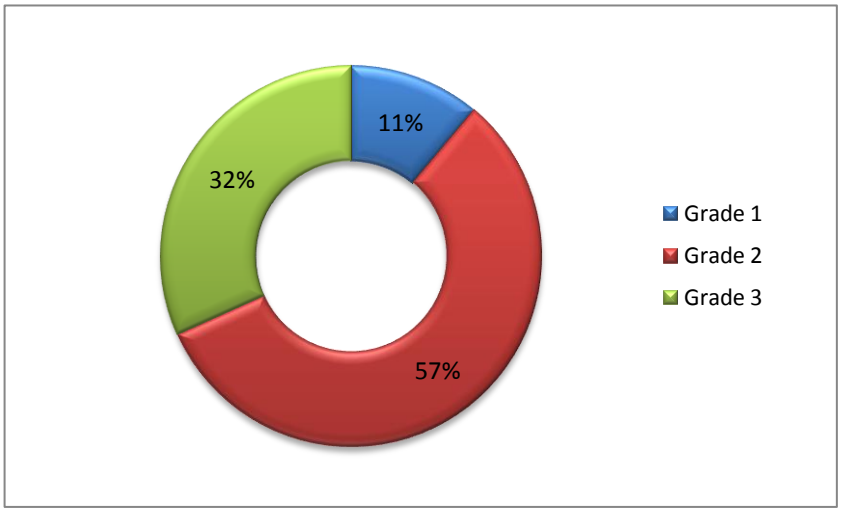

Figure 11 : Répartition des malades (luminal B) selon le grade SBR

3. Les facteurs biologiques et moléculaires :

3.1 Profils d'expression des récepteurs hormonaux **:**

La figure 12 montre la répartition des malades selon l'expression des récepteurs hormonaux. On constate que 86,02 % sont RE +, c'est-à-dire que les récepteurs oestrogéniques (RE) présentent un marquage nucléaire des cellules tumorales supérieur au seuil qui est plus de 1 %; alors que 89,36 % sont RP +.

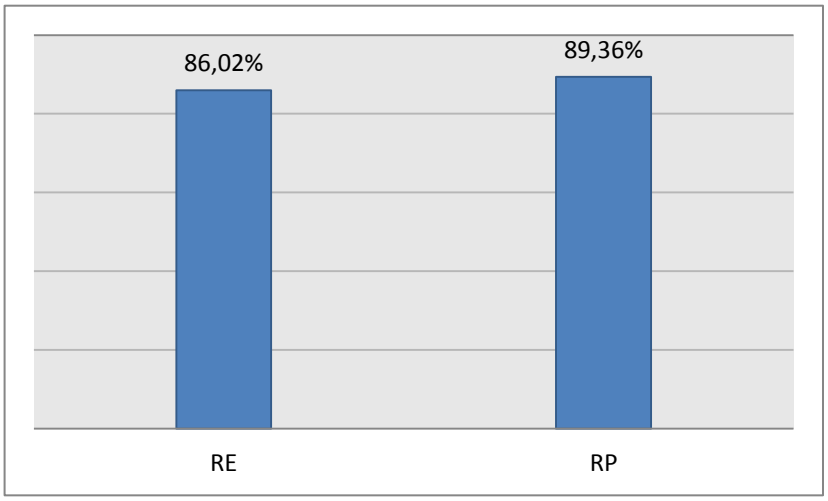

Figure 12 : Répartition des malades (luminal B) selon l'expression des récepteurs hormonaux

Discussion

L'objectif de cette étude rétrospective étalée sur une période de 5 ans et 3 mois (janvier 2009 - Mars 2014), réalisée sur des cas de cancer de sein colligés dans le laboratoire d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de Fès, était d'abord d'évaluer le profil épidémiologique, histologique et évolutif du cancer du sein Luminal B dans cette région, puis de déterminer les facteurs pronostiques caractéristiques de cette tumeur.

L'étude des profils protéiques par IHC a révélé la présence de quatre groupes moléculaires dont le prédominant est le groupe Luminal B (56%). Ce groupe est suivi du Luminal A (26,7 %), basal-like avec 10%, et puis Her-2 avec 7,3%.

Il est vrai que le cancer du sein est une maladie très hétérogène et que le type luminal (A, et B) sont les formes les plus fréquentes de cancers du sein. Cependant on a fréquemment rapporté la prédominance du luminal A par rapport au luminal B qui est un cancer des plus agressifs.

On remarque donc que nos résultats discordent avec les résultats de (Maggie C, et al. 2009) [8], qui ont rapporté une prédominance du sous type Luminal A. ceci pourrait s'expliquer par un diagnostic tardif des patientes dans notre contexte.

Concernant La population étudiée, le Luminal B est caractérisé par un âge médian de 46 ans du même ordre que celui retrouvé dans la population jordanienne [9], la tranche d'âge la plus représentée est comprise entre [40-49 ans], ce qui est un âge relativement jeune par rapport à celui rapporté par (Maggie C, et al. 2009), où les patientes sont plus âgées et ont un âge supérieur à 60 ans pour la plupart des patientes.

Sur le plan histologique, pour le sous type Luminal B, le carcinome canalaire infiltrant est prédominant représentant (95%), ce qui est concordant avec (Maggie C, et al. 2009), Ce sous-type moléculaire est également associé avec un carcinome *in situ.*

Concernant le stade histologique SBR, nos résultats ont montré une prédominance du grade histologique II (57%) suivi du grade III (32%). Ces différentes tumeurs sont accompagnées d'emboles vasculaires et de métastases ganglionnaires dans la plupart des cas. Toutes ces caractéristiques témoignant d'un mauvais pronostic bien qu'elles soient concordantes avec des résultats déjà signalés avec d'autres auteurs [8], sont très différents de ceux publiés dans les pays occidentaux [3]. Ceci montre l'intérêt qu'il y a à multiplier les campagnes de sensibilisation pour un dépistage précoce.

Les tumeurs Luminal B sont également des tumeurs hormonosensibles, en effet nos résultats ont montré la présence de récepteurs aux œstrogènes et aux progestérones avec des pourcentages très élevés de l'ordre de 89,36% pour les RP+, et 86,02% pour les RE+. Or, une tumeur à récepteurs hormonaux positifs est considérée de meilleur pronostic par rapport à une tumeur à récepteurs hormonaux négatifs du fait que les patientes peuvent bénéficier d'une hormonothérapie visant à inhiber la sécrétion d'hormones qui ont un effet sur la croissance cellulaire dont les cellules tumorales.

Par ailleurs, en considérant le type de prélèvement, on a pu constater que la mastectomie était appliquée dans la majorité des cas (41 %) ; 11% seulement de patientes ont pu bénéficier d'une tumorectomie. Ceci montre d'une part le dépistage tardif de la maladie et explique d'autre part le caractère évolutif du cancer diagnostiqué, les facteurs pronostiques recherchés étaient pour la plupart de pronostic péjoratif.

Après avoir déterminé les caractéristiques du cancer sous type moléculaire luminal B, une comparaison avec les autres sous types moléculaires a été réalisée dans le but d'apprécier le degré d'agressivité de ce type. Cette étude a montré qu'il n' ya pas de différence dans l'âge moyen des différents groupes situé dans la tranche [40-49 ans]. En outre, la taille tumorale est élevée quelque soit le groupe moléculaire et elle est comprise entre 2 et 5 cm dans la plupart des cas.

Sur le plan histologique, nous avons pu constater que le basal-like présente un grade III (SBR) très élevé (63.7%), alors que le groupe moléculaire Luminal A est associé avec la plus faible proportion de grade histologique III (10,3%). Ceci concorde avec (Maggie C, et al. 2009), cependant c'est ce même sous groupe moléculaire qui est associé avec le carcinome *in situ*, avec un pourcentage élevé (54,95%).

Enfin, en considérant la réponse thérapeutique à une chimiothérapie néo- adjuvante pratiquée sur 32 patientes (soit 5% de la population totale) on a pu remarquer que la réponse thérapeutique totale est nulle (TA = 0 %) pour les 4 sous types moléculaires. Dans la plus part des cas, Luminal B, Luminal A, et Her2, la réponse thérapeutique est inférieure à 50% ; mais pour Basal-like cette réponse est supérieure à 50%. Or, c'est ce même sous type moléculaire qui avait un grade histologique III dominant et qui est jugé parmi les types les plus agressifs. On, peut donc dire que l'analyse d'un seul facteur n'est pas suffisante pour juger de l'agressivté d'un sous type moléculaire. De plus, ces différentes résultats regroupés soulignent l'hétérogénéité de cette pathologie et des recherches supplémentaires sur cette maladie seraient d'une grande importance pour la détermination d'autres marqueurs.

Conclusion

Le travail présenté ici est le fruit des résultats du stage de fin d'études réalisé au laboratoire d'anatomopathologie du CHU Hassan II de Fès. Ce stage a consisté en une étude rétrospective réalisée sur 676 cas de cancer de sein. Notre objectif était d'identifier les différents sous groupes moléculaires du cancer du sein, de dégager les caractéristiques du cancer Luminal B et de comparer ce type aux autres sous types moléculaires qui sont le luminal A, le Her2, et la basal-like. Pour se faire les facteurs pris en considération sont les facteurs cliniques, histologiques et biologiques ces derniers ont été étudiées grâce à la technique immunohistochimique (IHC).

La détermination des groupes moléculaires est actuellement indispensable pour une meilleure stratégie thérapeutique des patientes selon le profil génique ou protéique des tumeurs. L'IHC est indispensable pour définir les sous types moléculaires. Notre étude a montré que le groupe Luminal B est prédominant chez la population étudiée. Ce sous- type est de pronostic péjoratif. En ce qui concerne la taille tumorale, le grade histologique et la réponse thérapeutique. Ceci peut être expliqué par le diagnostic tardif des patientes.

À l'heure actuelle, le cancer du sein Luminal B est systématiquement traité comme une maladie hormono-sensible ER +. En effet, notre étude a confirmé ceci, elle a montré un pourcentage élevé de patientes ayant des récepteurs hormonaux (RP et RE) positifs ceci peut être considéré comme un signe positif, ces patientes pourront bénéficier d'une hormonothérapie.

Dans un futur proche, la classification moléculaire du cancer du sein va permettre de donner une nouvelle vue dans la prise en charge des cancers du sein. Des études multicentriques sont en cours pour valider le profil génomique comme facteur prédictif d'évolution et de réponse thérapeutique.

Références Bibliographiques

1. Perou CM, Sorlie T, Elisen MB, Van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA. Molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2000; 406: 747-752.
2. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. BMC Genomics. 2006;7:96.
3. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. Jama. 2006; 295:2492-2502.
4. Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA 2001;98:10869-10874.108
5. Trojani M et Coll, 1998. Bertheau P. De Roquancourt 2001, histologie du sein et méthodologie en histologie mammaire in ESPIEM, GORINS editors, le sein du normal au pathologique Parie Eska 61-69.
6. Molinié F. Incidence et facteurs pronostiques des cancers du sein découverts au cours et en dehors du programme de dépistage organisé en Loire-Atlantique (1991-2002) [Incidence and prognostic factors of breast cancer diagnosed within andoutside the organised screening program in the departmentof Loire-Atlantique (1991-2002)]. Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique, 2008, 56:41–49.
7. Singletary SE, Allred C, Ashley P, Bassett LW, Berry D, Bland KI Revision of the American Joint Committee on Cancer staging system for breast cancer. J Clin Oncol 2003 ; 20 : 3628-36.
8. Maggie C, U. Cheang, Stephen K. Chia, David Voduc, Dongxia Gao, Samuel Leung. J. Natk Cancer Inst 2009 ; 101 : 736 - 750.
9. Abalkail AA, Zahawi HM, Almasri NM, Hameed OK. The role of young population structure in determining age distribution of breast cancer in Jordan. J Bahrain Med Society. 2003; 15: 28-33.

Annexes

Annexe 1 : Protocole expérimentale de l'immunohistochimie :

- Déparaffinage des lames au moins une heure à 56-58°C et/ou toute la nuit à 37°C.
- Déparaffinage des lames grâce à deux bains de toluène (5 min chacun), et trois bains de l'alcool à concentration décroissantes (5 min chacun).
- Réhydratation par un rinçage à l'eau courante puis à H_2O distillée (10min).
- Incubation des lames dans une solution de peroxyde d'hydrogène à (H_2O_2) 0,4% pendant 15min pour inhiber les peroxydases.
- Rinçage avec le tampon PBS (phosphate buffered saline) pendant 5min, ensuite à l'eau courante puis à H_2O distillée.
- Démasquage antigénique par le tampon citrate bouillant pendant 2 min dans une cocotte, il permet aux anticorps d'accéder aux antigènes en coupant les liaisons covalentes et intramoléculaires entre les protéines.
- Rinçage à l'eau distillée, puis avec du PBS pendant 5 min.
- Neutralisation des protéines qui peuvent entrer en réaction avec le réactif avec une protéine bloquant pendant 10 min.
- Application d'un anticorps primaire pendant 1h.
- Rinçage 3 fois 5 min dans du PBS.
- Application d'un anticorps secondaire pendant 15 min.
- Rinçage dans du PBS 3 bains de 5 min chacun.
- Application de peroxydase pendant 15 min.
- Rinçage dans du PBS 3 fois 5 min.
- Application de substrat chromogène pendant 4 à 15 min.
- Rinçage à l'eau courante pendant 10 min.
- Application de l'hématoxyline pendant 3 min afin de colorer les noyaux.
- Rinçage à l'eau de robinet puis à l'eau distillée.
- Montage des lames se fait finalement à l'eau

Annexe 2 : Appareils utilisés au laboratoire d'anatomopathologie :

1. **Histokinette**

2. L'appareil d'inclusion : Tissue-Tek. TEC

3. Le Microtome rotatif

4. L'appareil de coloration

5.L'appareil immunohistochimique