

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



**Projet de Fin d'Etudes**

Licence Sciences & Techniques  
Sciences Biologiques Appliquées et Santé  
(LST - SBAS)

**L'incidence et l'évolution de la  
fréquence du cancer du sein au cours  
d'une année au Centre d'anatomie  
pathologique de Kenitra**

Présenté par : OUAZZANI TOUHAMI SOUMAYA

Encadré par : Pr .BENCHEIKH RACHID (FST Fès)

Dr JAHIDI RHAZALI LEILA (CENTRE D'ANAPATH DE KENITRA)

Soutenu le : mardi 11 juin 2019

Devant le jury composé de :

- Pr. BENCHEIKH RACHID
- Pr. SEFRIQUI SAMIRA
- Dr. RHAZALI JAHIDI LEILA

Stage effectué au Centre d'anatomie pathologique de Kenitra

Année universitaire 2018-2019

## *Remerciements*

Il m'est agréable de remercier les membres du jury, Monsieur Bencheikh, Madame Sefrioui et Madame Rhazali pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir accepté de juger mon travail, qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Au terme de mon stage de fin d'études, j'exprime mes remerciements à Monsieur Bencheikh pour son encadrement pédagogique et pour l'intérêt avec lequel il a suivi la progression de mon travail, pour ses conseils efficaces et ses directives tout au long de ma période de stage.

Ma gratitude s'adresse également à Mme Rhazali mon encadrant professionnel pour m'avoir donné l'opportunité de passer ce stage de fin d'études dans des conditions favorables et pour le temps qu'elle m'a consacré, sachant répondre à toutes mes interrogations.

Je remercie également les techniciens du laboratoire qui m'ont beaucoup soutenu à l'élaboration de ce rapport, j'ai aussi apprécié leur disponibilité et leur patience.

Merci à tous le corps professoral de la FST-Fès et à tous les agents du Centre d'anatomie pathologique de Kenitra qui ont contribué directement ou indirectement à l'aboutissement de mon projet.

Enfin, je ne peux pas clôturer cette page de remerciement sans évoquer mes parents, mes sœurs, mes amis, je leur suis très redevable.

MERCI

## Liste des figures

Figure 1 : Anatomie du sein .....	-4-
Figure 2 : Les ganglions lymphatiques.....	-4-
Figure 3 : Appareil de la circulation.....	-16-
Figure 4 : Une plaque chauffante.....	-16-
Figure 5 : Appareil d'inclusion dans la paraffine.....	-17-
Figure 6 : Appareil de refroidissement .....	-17-
Figure 7 : Microtome .....	-18-
Figure 8 : Lames montées et colorées.....	-20-
Figure 9 : Appareil de centrifugation.....	-22-
Figure 10: Répartition des tumeurs bénignes et tumeurs malignes en fonction du temps .....	-26-
Figure 11 : Pourcentage des tumeurs bénignes et tumeurs malignes durant toute l'année.....	-27-
Figure 12: Répartition des cas du cancer du sein en fonction de l'âge.....	-27-
Figure 13: Répartition des grades histologiques des tumeurs mammaires..	-28-
Figure 14: Répartition des cas selon le score de HER2.....	-29-
Figure 15: Résultats de Ki-67.....	-30-
Figure 16: Pourcentage des patientes présentant des récepteurs oestrogéniques .....	-30-

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau 1 : les notes d'évaluation des critères permettant de déterminer le grade SBR.....</b>	<b>-8-</b>
<b>Tableau 2 : les différents types des prélèvements mammaires .....</b>	<b>-14-</b>
<b>Tableau 3 : le score HER2 selon les recommandations de l'ASCO.....</b>	<b>-29-</b>

## **Liste des abréviations**

**CCIS : Carcinome canalaire in situ.**

**UICC : Union internationale contre le cancer**

**Système TNM : Tumeur Nodes Métastases (tumeur, ganglions, métastases).**

**SBR (EE): Scarff-Bloom-Richardson (Elston et Elis)**

**THS: Traitement hormonal substitutif**

**HPS: Hématéine, Phloxine, Safran**

**HER2: Human epidermal growth factor receptor 2.**

**ASCO: American society of clinical oncology**

**E.A 50: Eosine-Azur**

**IHC: Immunohistochimie**

**RO : Récepteur oestrogénique**

**RP : Récepteur progestatif**

**PBS : Phosphate buffered saline**

# Sommaire

<b><u>Introduction générale</u></b>	<b>1</b>
<b><u>Présentation de la structure d'accueil</u></b>	<b>2</b>
<b><u>Revue bibliographique</u></b>	<b>3</b>
<b>Le cancer du sein :</b>	<b>3</b>
1. Aperçu sur l'anatomie du sein.	3
2. Définition du cancer du sein.	4
3. Les tumeurs mammaires cancéreuses.	5
4. Les stades du cancer du sein.	6
5. Les grades histologiques du cancer du sein.	8
6. Les facteurs du risque.	9
7. Symptômes.	10
8. Diagnostic.	11
9. Traitement et prévention.	12
<b><u>Partie pratique</u></b>	<b>14</b>
<b>I. Les différents prélèvements mammaires reçus</b>	<b>14</b>
<b>II. Méthodes expérimentales</b>	<b>14</b>
1. Examen histologique sur tissu fixé	14
1.1 Fixation.	14
1.2 Etude macroscopique.	14
1.3 Circulation.	15
1.4 Inclusion.	16
1.5 Microtomie.	17
1.6 Coloration.	18
1.7 Montage.	20
2. Examen cytologique	21
3. Technique d'immunohistochimie	22
<b><u>Résultats et discussion :</u></b>	<b>26</b>
<b><u>A. Résultats :</u></b>	<b>26</b>
1. Evolution de l'incidence du cancer du sein chez les femmes au cours d'une année	26
2. Répartition des cas du cancer du sein en fonction de l'âge.	26
Répartition du cancer du sein en fonction des grades	

3. Répartition du cancer du sein en fonction des grades	27
4. Résultats de l'immunohistochimie.	28
4.1 Répartition selon le score de HER2	28
4.2 Résultats de Ki-67	29
4.3 Résultats des récepteurs Oestrogéniques (RO)	30
<b><u>B. Discussion</u></b>	<b>31</b>
<b><u>Conclusion</u></b>	<b>32</b>
<b><u>Références bibliographiques</u></b>	<b>33</b>

---

# *Introduction générale*

Le cancer du sein est, chez la femme, le plus fréquent des cancers et la principale cause de mortalité. Ceci fait de lui un vrai problème de santé publique.

L'incidence du cancer du sein croît avec l'âge. Elle est faible avant 35 ans, puis elle augmente jusqu'à 80 ans. Cette augmentation est plus importante entre 35 et 55 ans.

De nos jours, la stratégie thérapeutique s'est améliorée grâce à l'utilisation des traitements adjuvants : chirurgie, radiothérapie, hormonothérapie et chimiothérapie ; ce qui a permis d'augmenter le taux de guérison et de diminuer le risque de récurrences et de mortalité.

Un dépistage est recommandé lors de la détection d'un ou plusieurs facteurs de risque (âge, prédisposition héréditaire...) qui peuvent déclencher la maladie. Afin de diminuer la probabilité de la manifestation du cancer du sein, le dépistage se fait par une simple mammographie complétée par une échographie si le médecin a détecté une anomalie (lésions mammaires) .Dans ce cas un examen anatomopathologique est demandé pour pouvoir diagnostiquer la maladie et établir un meilleur pronostic.

Mon stage, réalisé au centre d'anatomie pathologique de Kenitra durant une période de 2 mois, a porté sur l'incidence et l'évolution de la fréquence du cancer du sein au cours d'une année. On s'est basé sur les cas reçus durant l'année 2018 pour avoir une idée générale sur l'incidence de ce cancer ainsi que l'évolution de sa fréquence selon le grade histologique et selon l'âge.

Ce stage m'a permis d'avoir un aperçu sur les diverses techniques effectuées au centre d'anatomie pathologique de Kenitra, depuis le recueil des prélèvements jusqu'aux résultats.

Ces techniques sont :

- L'examen macroscopique : c'est un examen à l'œil nu des différents prélèvements reçus au laboratoire d'anatomopathologie, permettant de donner une description de la tumeur (contour, taille, couleur, aspect...).



- L'examen histologique ou cytologique : c'est un examen réalisé au microscope permettant de déterminer le stade histologique de la tumeur.
- L'immunohistochimie : qui est une technique associant l'immunologie et l'histochemie, elle permet la localisation et l'identification des protéines (marqueurs biologiques du cancer) à partir de la réaction antigène anticorps. Elle joue un rôle important dans le diagnostic et le traitement du cancer du sein ainsi que d'autres cancers.

## Présentation de la structure d'accueil

Le centre d'anatomie pathologique de Kenitra a été inauguré par Dr. Leila Jahidi Rhazali en 1990 à Kenitra sous le nom de laboratoire Ghazali d'anatomopathologique. En 2014, il est devenu une association entre Dr Rhazali et Dr Harmouch d'où le changement de nom de laboratoire Ghazali au centre d'anatomie pathologique. Il se compose :

- D'une salle de réception
- De deux bureaux où les médecins lisent les lames.
- D'une salle de réalisation des comptes rendus.
- De trois salles techniques une d'histologie et l'autre de cytologie et la dernière d'immunohistochimie.
- De deux salles de macroscopie.
- D'une salle de réalisation des frottis et des colposcopies.

# Revue bibliographique

## Le cancer du sein

### 1. Anatomie du sein :

Le sein est un organe essentiellement féminin qui a comme fonction principale : la production et la sécrétion du lait. Puisque les seins chez l'homme sont dépourvus des glandes mammaires, ils demeurent immatures et non fonctionnelles.

Chaque sein est divisé en 15 à 20 compartiments appelés lobes et composés de lobules. Ces derniers sont reliés aux canaux galactophores qui se terminent sur le mamelon (figure 1).

Entre les lobules, existe le tissu adipeux qui repose sur les muscles pectoraux conférant aux seins leur forme ainsi que la peau et les structures fibreuses qui les soutiennent. Les glandes mammaires sont parcourues de vaisseaux sanguins, de vaisseaux lymphatiques et de nerfs. Le système lymphatique accorde aux seins la défense contre les l'infection et les débarrassent des débris (figure 2). Au niveau du sein les ganglions lymphatiques sont situés :

- ✓ Au niveau de l'aisselle (ganglions axillaires)
- ✓ Au-dessus de la clavicule (ganglions sus-claviculaires) ; sous la clavicule (ganglions sous-claviculaires ou infra-claviculaires)
- ✓ À l'intérieur du thorax, autour du sternum (ganglion mammaires internes)
- ✓ Au niveau du sein lui-même (ganglion intra-mammaires).

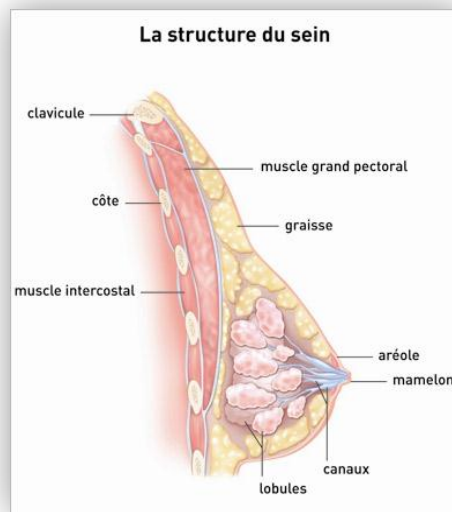


Figure 1 : Anatomie du sein [1]

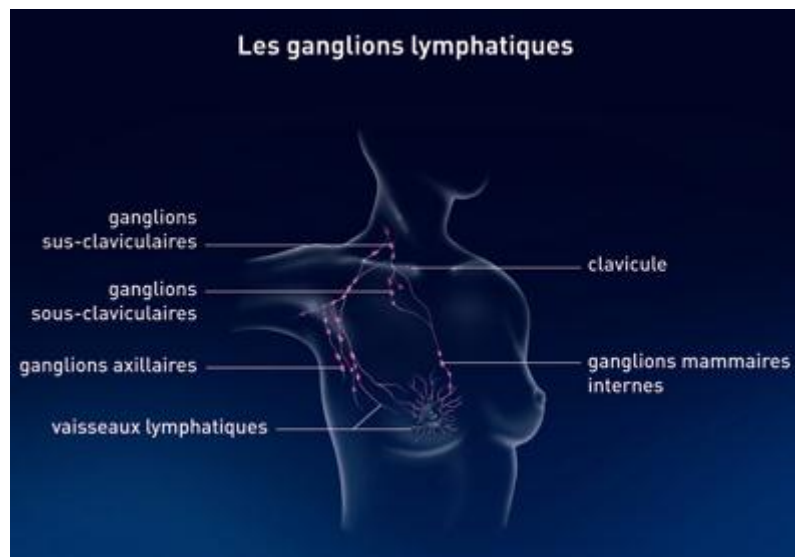


Figure 2 : Les ganglions lymphatiques [1]

## 2. Définition du cancer du sein :

Le cancer du sein est une tumeur maligne des glandes mammaires. Les cellules cancéreuses peuvent envahir et détruire le tissu voisin. Elles peuvent aussi se propager (métastases) à d'autres parties du corps. Ces cellules cancéreuses résultent d'une multiplication anormale de certaines cellules.

Le cancer du sein affecte généralement les femmes (99%) mais il touche aussi les hommes avec une fraction beaucoup plus faible (1%).

### 3. Les tumeurs mammaires cancéreuses :

Les cellules cancéreuses qui composent les tumeurs malignes présentent diverses anomalies par rapport à des cellules normales: forme et taille différentes contours irréguliers...On parle de cellules indifférenciées car elles ont perdu leurs caractéristique d'origine [1].

Il existe différents types de cancers du sein, les plus courants sont les adénocarcinomes. Ces tumeurs prennent naissance dans les cellules glandulaires. Les adénocarcinomes du sein les plus fréquents sont les suivants :

- Carcinome canalaire in situ (CCIS), qui prend naissance dans les canaux galactophores.
- Carcinome lobulaire, qui prend naissance dans les groupes de glandes qui produisent le lait (lobules).
- Autres types : les carcinomes tubuleux, muscineux, micropapillaires, adénoïdes, kystiques...

Ces tumeurs sont classées dans deux catégories :

- ✓ Non Infiltrant : signifie que les cellules cancéreuses ne se sont pas propagées au-delà du canal ou de la glande où elles ont pris naissance.
- ✓ Infiltrante : signifie que les cellules cancéreuses ont commencé à se propager dans le tissu voisin.

Les autres types de cancer du sein les moins répandus sont :

- Cancer inflammatoire du sein.
- Maladie de Paget du sein.
- Cancer du sein triple négatif.

Et les tumeurs rares du sein sont :

- Le lymphome diffus à grandes cellules B, qui est un type de lymphome non hodgkinien
- Le sarcome des tissus mous
- Le mélanome.

- Les tumeurs méraplasiques.
- Le carcinome adénoïde kystique.
- La tumeur phyllode.
- Le Carcinosarcome.
- Le cancer du sein de type basal.

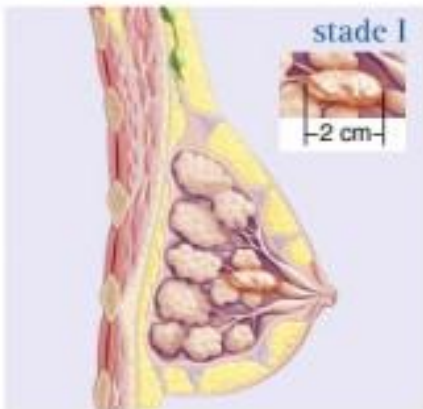
#### 4. Les stades du cancer du sein :

Les examens de diagnostic nous permettent de déterminer le stade du cancer (l'étendue de la maladie au moment du diagnostic).

Le système de stadification le plus souvent employé est la classification Tumeur Nodes Metastases (TNM) de l'Union internationale contre le cancer(UICC). Cette classification est basée sur trois critères : la taille et l'infiltration de la tumeur, l'atteinte ou non des ganglions lymphatiques et la présence ou non de métastases.

Il existe trois stades :

##### **Stade I:**



- La tumeur a 2cm de diamètre ou moins (figure au dessus).
- La tumeur ne semble pas s'être étendue au-delà des limites du sein.
- Aucun ganglion n'est touché.
- Il n'y a pas de métastase à distance [2].

### Stade II:



- La tumeur a plus de 2 cm de diamètre et moins de 5cm et/ou s'est étendue aux ganglions lymphatiques dans l'aisselle du même côté du cancer du sein (figure au dessus).
- Les ganglions lymphatiques ne sont pas collés (fixés) les uns aux autres [2].

### Stade III:



- Soit la taille de la tumeur a plus de 5 cm de diamètre, soit la tumeur s'est étendu à des ganglions lymphatiques de l'aisselle qui sont collés les uns aux autres ou sont fixés aux tissus avoisinants (figure au dessus).
- La tumeur, quelque soit sa taille, s'est étendue à la peau, à la paroi du thorax ou aux ganglions lymphatiques mammaires internes (situés derrière le sternum).

- Il n'y a pas de signes d'extension aux organes à distance, ni aux ganglions lymphatiques éloignés du sein comme ceux situés sous la clavicule.
- Le cancer du sein inflammatoire est classé au stade III, sauf s'il s'est étendu aux organes à distance ou aux ganglions lymphatiques éloignés du sein [2].

#### **Stade IV:**

- Le cancer, sans considération de la taille de la tumeur, a métastasé dans des organes distants comme les os, les poumons ou les ganglions lymphatiques éloignés du sein [2].

### **5. Les grades histologiques du cancer du sein:**

Le système utilisé est le grade SBR (Scarff-Bloom-Richardson) dans son adaptation par ELSTON et ELIS : système SBR (EE). Ce système évalue le type exact de cancer et définit son grade selon 3 critères :

- ✓ L'architecture cellulaire.
- ✓ La forme du noyau.
- ✓ Le nombre de cellules en division (ou activité mitotique).

Chacun de ces 3 critères est évalué et une note allant de 1 à 3 est attribuée :

**Tableau 1 : les notes d'évaluation des critères permettant de déterminer le grade SBR**

<b>Note</b>	<b>Architecture</b>	<b>Atypies cytonucléaires</b>	<b>Nombre de mitoses</b>
1	La tumeur comprend que des tubes	Noyaux réguliers monomorphes	0 à 6 mitoses
2	Partiellement tubulaires	Atypies modérées	7 à 12
3	La tumeur ne comprend aucun tube	Noyaux pléomorphes avec atypies marquées	> 12

L'addition des trois critères permet de réaliser le grade :

- ✓ Grade I : (score : 3 ; 4 ou 5) → correspond aux tumeurs les moins agressives.

- ✓ Grade II : (score : 6 ou 7) → est un grade intermédiaire entre les grades 1 et 3.
- ✓ Grade III : (score : 8 ou 9) → correspond aux tumeurs les plus agressives.

## 6. les facteurs du risque :

Il existe plusieurs types des facteurs du risque qui influencent l'apparition et le développement du cancer du sein. Cependant une personne qui possède un ou plusieurs facteurs de risque peut ne jamais développer de cancer. Inversement, il est possible qu'une personne n'ayant aucun facteur de risque soit atteinte de ce cancer.

### ❖ *Facteurs hormonaux :*

L'effet de certaines hormones féminines, en particulier l'œstrogène qui favoriserait le développement de certains types de cancer du sein. Par conséquent, tous les éléments susceptibles d'augmenter la quantité d'œstrogène dans le corps, d'une part, ou d'augmenter la durée d'exposition à cette hormone, d'autre part, constituent des facteurs de risque qui sont les suivants :

- **Âge précoce des premières menstruations** : de nombreuses études montrent que la survenue des premières règles avant l'âge de 12ans augmente le risque de cancer du sein [3].
- **Ménopause tardive** : les femmes qui ont leur ménopause après 50ans présentent un risque accru de cancer du sein, en comparaison avec celles dont les menstruations cessent précocement [3].
- **Contraceptifs oraux** : le risque de cancer du sein est augmenté d'environ 25% chez les femmes utilisant couramment les contraceptifs oraux. Cependant, cet accroissement de risque chute dès l'arrêt de la consommation, de sorte que ,10 ans après l'arrêt de l'utilisation, aucune augmentation significative de risque n'est manifeste [3].
- **Traitement hormonal substitutif (THS)** : le THS de la ménopause est prescrit pour pallier la diminution du niveau des hormones ovariennes circulantes. Les femmes sous THS présentent un risque augmenté de cancer du sein, si on les



compare aux femmes qui ne l'ont jamais utilisé, le risque de cancer du sein augmente avec la durée d'utilisation [3].

### ❖ **Facteur génétique :**

La mutation génétique de deux gènes autosomiques dominants : BRCA1 et BRCA2 est responsable de l'apparition du cancer du sein 20 ans plus tôt, comparé aux femmes n'ayant pas de mutation de ces gènes. Les porteurs de BRCA1 et BRCA2 sont aussi susceptibles d'être touché par d'autres cancers, comme le cancer du colon, de la prostate, et du pancréas.

BRCA1 et BRCA2 agissent comme suppresseurs de tumeurs, et la perte de cette fonction confère le risque de malignité. Ils servent aussi de régulateurs de transcription et ils sont aussi très importants dans la réparation de l'ADN.

La susceptibilité génétique due aux autres gènes connus est moins fréquente et explique seulement 10% des cancers du sein héréditaire [4].

### ❖ **Autres facteurs :**

- **Âge** : près de 80% des cancers du sein se développent après 50 ans.
- **Premier accouchement** : les femmes qui ont leur premier enfant avant l'âge de 20 ans ont 50 % moins de risque que les femmes qui ont eu leur premier enfant à plus de 35 ans.
- **Obésité** : augmente le risque chez les femmes post ménopausées due à la synthèse d'œstrogène à partir des dépôts de graisse, mais cela diminue le risque chez les femmes jeunes de moins de 40ans car cela donne des cycles anovulaires.

### 7. symptômes:

De nos jours, le cas le plus fréquent c'est l'apparition du cancer du sein sans aucun signe surtout aux tout premiers stades de la maladie.

Les symptômes apparaissent quand la tumeur du sein est suffisamment grosse pour qu'on sente la masse au toucher ou quand le cancer s'est propagé aux tissus et organes voisins [5].

Le plus fréquent des symptômes du cancer du sein est la manifestation d'une masse ferme ou dure et très différente du reste de tissu mammaire voisin. Cette masse ne rétrécit pas ou ne disparaît pas et ne réapparaît pas au cours du cycle menstruel. Elle peut être sensible mais généralement pas douloureuse. La douleur caractérise souvent les tumeurs non cancéreuses.

Des fois le carcinome lobulaire ne forme aucune masse. On a plus l'impression que le tissu mammaire s'épaissit ou durcit.

Les autres symptômes du cancer du sein canalaire ou lobulaire peuvent être ceux-ci :

- ✓ Masse à l'aisselle (creux axillaire).
- ✓ Changement de la taille ou de la forme du sein.
- ✓ Changements mamelonnaires, comme un mamelon qui commence soudainement à pointer vers l'intérieur (mamelon inversé).
- ✓ Écoulement du mamelon sans qu'on le comprime ou qui est teinté de sang [5].

Lorsque la masse cancéreuse grossit et se propage à d'autres parties du corps, des signes et symptômes se manifestent :

- ✓ Douleur osseuse.
- ✓ Perte de poids.
- ✓ Nausées.
- ✓ Jaunisse.
- ✓ Faiblesse musculaire.
- ✓ Essoufflement.
- ✓ Toux.
- ✓ Perte d'appétit.
- ✓ Visible trouble.

## 8. Diagnostic :

Lors d'un examen de dépistage, si une personne présente un ou plusieurs des symptômes cités précédemment ou qu'une anomalie est décelée, certains examens doivent être réalisés afin d'établir un diagnostic. Ces examens sont les suivants :

- ⇒ La mammographie : est l'examen radiologique de base qui permet d'analyser la structure mammaire. Elle est indiquée devant toute anomalie clinique. Cette radiographie, associée à une échographie, permet en particulier de reconnaître immédiatement les kystes liquides [6].
- ⇒ L'échographie : est complémentaire, mais ne peut jamais remplacer la mammographie. Elle peut aider à localiser l'anomalie pour faciliter un prélèvement, ou à reconnaître un kyste liquidien [6].
- ⇒ Lorsqu'il s'agit d'un kyste, une ponction à l'aiguille fine peut permettre d'en vider le contenu et assurer ainsi sa régression. Si le nodule perçu est solide, l'aiguille peut ramener des cellules qui seront examinées au microscope. Il s'agit d'un cytodiagnostic [6].
- ⇒ Si l'ensemble de ces examens ne permet pas de s'assurer que l'anomalie est parfaitement bénigne, il est nécessaire d'envisager une biopsie. Ces prélèvements peuvent être réalisés sous anesthésie locale, sans hospitalisation [6].
- ⇒ Quelquefois, devant une petite tumeur solide, l'ablation chirurgicale s'impose, au cours de laquelle un examen histologique (microscopique) sera réalisé pour établir le diagnostic [6].

## 9. Traitement et prévention :

Après avoir établi le diagnostic, le stade et le grade du cancer du sein. Le médecin spécialisé détermine et précise le plan de traitement convenable au patient en prenant en considération les éléments suivants :

- Le stade du cancer.
- La ménopause.
- Le statut des récepteurs hormonaux du cancer.
- Le statut de récepteur HER2 du cancer.
- Le risque de réapparition, ou récurrence, du cancer (pour les cancers de stade précoce).

- L'état de la santé globale de la personne

Il existe plusieurs options de traitement :

**+ Chirurgie :**

1. Mammaire locale : elle repose sur l'exérèse tumorale complète
2. Ganglionnaire régionale : elle est systématique en cas de cancer infiltrant [4].

**+ Radiothérapie :**

Elle a pour but d'éviter des récurrences locorégionales du cancer du sein [4].

**+ Chimiothérapie :**

Elle est indiquée en cas de métastase.

Exemple : le trastuzumab est un anticorps monoclonal qui inhibe la prolifération des cellules tumorales humaines surexprimant HER2 [4].

**+ Hormonothérapie :**

Elle a pour objectif d'empêcher la stimulation des cellules tumorales par les œstrogènes.

Elle est bénéfique si la tumeur est hormonosensible.

Exemple : tamoxifène (anti-œstrogènes).

Exemple : anastrozole (anti-aromatase) [4].

Dans la plupart des cas, on a recours à une combinaison de ces techniques.

# Partie pratique

## I. Les différents types des prélèvements mammaires :

Les prélèvements mammaires destinés aux laboratoires d'anatomie pathologique sont de nature tissulaire : obtenus par exérèse chirurgicale de la lésion mammaire (tumorectomie, mastectomie, biopsie) ou bien de nature cytologique : obtenus par le recueil des liquides spontanément émis ou cytoponction.

Tableau 2 : les différents types des prélèvements mammaires

Prélèvements mammaires tissulaire	Prélèvements mammaires cytologiques
Nodule du sein	Écoulement mammaire
Sein entier	Cytoponction à l'aiguille fine
Curage ganglionnaire	
Microbiopsie	

## II. Matériel et méthodes:

### 1. Examen histologique sur tissu fixé :

#### **1.1 La fixation :**

Pour réaliser la fixation, on met les prélèvements reçus dans des flacons puis on ajoute du formol à 10% jusqu'au recouvrement du tissu par ce fixateur. Ensuite, on les laisse pendant 2h ou plus ça dépend de la nature et la taille du prélèvement.

#### **1.2 L'étude macroscopique:**

La description macroscopique d'un spécimen est une étape très importante en anatomopathologie. Elle doit être faite avec beaucoup d'attention et de soin.

Cette description se fait après fixation des spécimens. Tout d'abord ces derniers sont mesurés dans leurs trois dimensions (exemple : nodule du sein ; sein ;...). Puis on

sélectionne les territoires à prélever (zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse).

Après le choix des prélèvements destinés à l'analyse microscopique, les restes de la pièce opératoire sont conservés pendant quelques jours ou semaines afin de pouvoir en cas de nécessité effectuer des prélèvements complémentaires.

### **1.3 La circulation:**

La circulation consiste à séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires. Les différentes phases de la circulation sont :

- ✓ **Fixation:** par deux bains de formol % (30min x 2)
- ✓ **Déshydratation par l'alcool :** elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient (puisque la plupart des fixateurs sont des mélanges aqueux). idéalement, un agent déshydratant devrait être miscible en même temps à l'eau et à la paraffine. Elle se fait dans 5 bains d'alcool de degré croissant 75%, 80%, 90%, 95%, et absolu (1h x 3, 1h30 et 2h)
- ✓ **Eclaircissement par le toluène :** elle consiste à remplacer l'alcool dans le tissu par un solvant de la paraffine. Elle se fait par le passage dans trois bains successifs de toluène
- ✓ **L'imprégnation :** est l'étape terminale de la circulation, en fait, les deux autres étapes n'existent que dans la mesure où elles préparent le tissu à subir l'imprégnation. Elle se réalise par le passage du tissu dans deux bains de la paraffine liquide (2h et 3h)



Figure 3 : Appareil de la circulation

#### **1.4 L'inclusion :**

L'étape de l'inclusion suit celle de la circulation. Elle consiste à inclure le tissu imprégné dans un bloc fait de milieu d'inclusion (la paraffine). Ce bloc est plus facile à manipuler que le tissu seul : on peut l'attacher à la pince porte-objet du microtome sans briser la pièce ; y inscrire lisiblement le numéro d'identification de la pièce ; enfin, l'entreposer.

Finalement, après la coupe, on peut manipuler le tissu sans avoir à le toucher directement (puisque'il est entouré de paraffine).

L'inclusion se fait selon ces étapes :

- ✓ Après la circulation, on met les blocs dans une plaque chauffante (figure4) pour dissoudre la paraffine afin de pouvoir facilement manipuler les blocs.
- ✓ Puis ,on inclut les fragments dans la paraffine à l'aide des moules (figure5).
- ✓ Enfin , on les refroidit pour qu'ils deviennent dures et simples à manipuler (figure6).



Figure 4 : Une plaque chauffante



Figure 5 : Appareil d'inclusion dans la paraffine



Figure 6: Appareil de refroidissement

### **1.5 La microtomie:**

Une fois que le tissu est inclus dans un bloc homogène, il faut en faire des coupes minces pour visualiser sur microscope. Cela est réalisé à l'aide du microtome selon ces étapes :

- On monte le bloc dans le porte-bloc du microtome (réglé à 5 $\mu$ m)
- Réalisation des rubans (figure 7)
- Puis, les coupes sont immergées dans un bain chaud d'eau distillée



- Ensuite, étalement des coupes en les dépliant sur la lame par flottation à la surface du bain.



Figure 7 : Microtome [7].

### **1.6 Coloration des coupes mince:**

La coloration histologique sert surtout à mettre en évidence les structures tissulaires, tel que le noyau, les mitochondries ou encore, les diverses variétés de fibres conjonctives.

Il existe des étapes préparatoires à la coloration tel que le déparaffinage et l'hydratation.

**Le déparaffinage** sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer et le colorer. Pour cela les lames sont mises dans l'étuve à 70°C pendant une demi-heure, puis plongées dans le toluène.

**L'hydratation** sert à retirer le toluène du tissu et de le remplacer par de l'eau. Le toluène et l'eau n'étant pas miscibles, le toluène est d'abord remplacé par l'alcool, puis les lames sont passées dans un bain d'eau courante, permettant d remplacer l'alcool par l'eau.

La coloration de routine utilisée est la coloration hématoxyline, phloxine, safran (HPS) selon le protocole suivant :

Toluène I : 3 minutes  
Toluène II : 3 minutes

} **Déparaffinage**

Alcool absolu : 10 plongées  
Alcool 96% : 10 plongées  
Alcool 70% : 10 plongées

} **Hydratation**

Eau de robinet : 3 minutes (blanchissement)

Hématéine : selon la force du colorant (coloration du noyau)

Eau de robinet : laver les coupes

Alcool ammoniacale : 1 plongé

Phloxine : selon la force du colorant (coloration du cytoplasme)

Eau de robinet : laver les coupes

Alcool 70% : 10 plongées  
Alcool 96% : 10 plongées  
Alcool absolu : 15 plongés

} **Déshydratation**

Safran : selon la force du colorant (coloration des fibres de collagène)

Alcool absolu I : 10 secondes  
Alcool absolu II : 20 secondes  
Alcool absolu III : 30 secondes

**Finir la déshydratation**

Toluène I : 2 plongées  
Toluène II : montage

**Eclaircissement**

### **1.7 Le montage :**

Le montage consiste, une fois la coloration terminée, à fixer à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre sur la coupe tissulaire.

Cette étape a trois raisons d'être :

- Protection mécanique des coupes tissulaires
- Protection chimique des colorants
- Production d'un spécimen à indice de réfraction homogène (le milieu de montage a un indice de réfraction très voisin de celui de la lame et de la lamelle de verre).



**Figure 8 : Lames montées et colorées [8]**

## 2. Examen cytologique:

L'examen cytologique joue un rôle important dans le dépistage du cancer du sein ainsi que plusieurs d'autres cancer (cancer du col utérin ; cancer du poumon ..... ) en détectant la présence de cellules anormales. Ce qui permet un diagnostic précoce du cancer.

La technique utilisée dans l'examen cytologiques des prélèvements mammaires ce fait selon ce protocole :

- ✚ Recueil des prélèvements (écoulements mammaires ; cytoponction à l'aiguille fine)
- ✚ Centrifugation du liquide (figure 9)
- ✚ Récupération du culot après centrifugation
- ✚ Etalement du culot (contient les cellules à examiner) sur des lames de verre
- ✚ Fixation des étalements en appliquant de la laque
- ✚ La coloration cytologique Papanicolaou des lames étalées selon ces étapes :

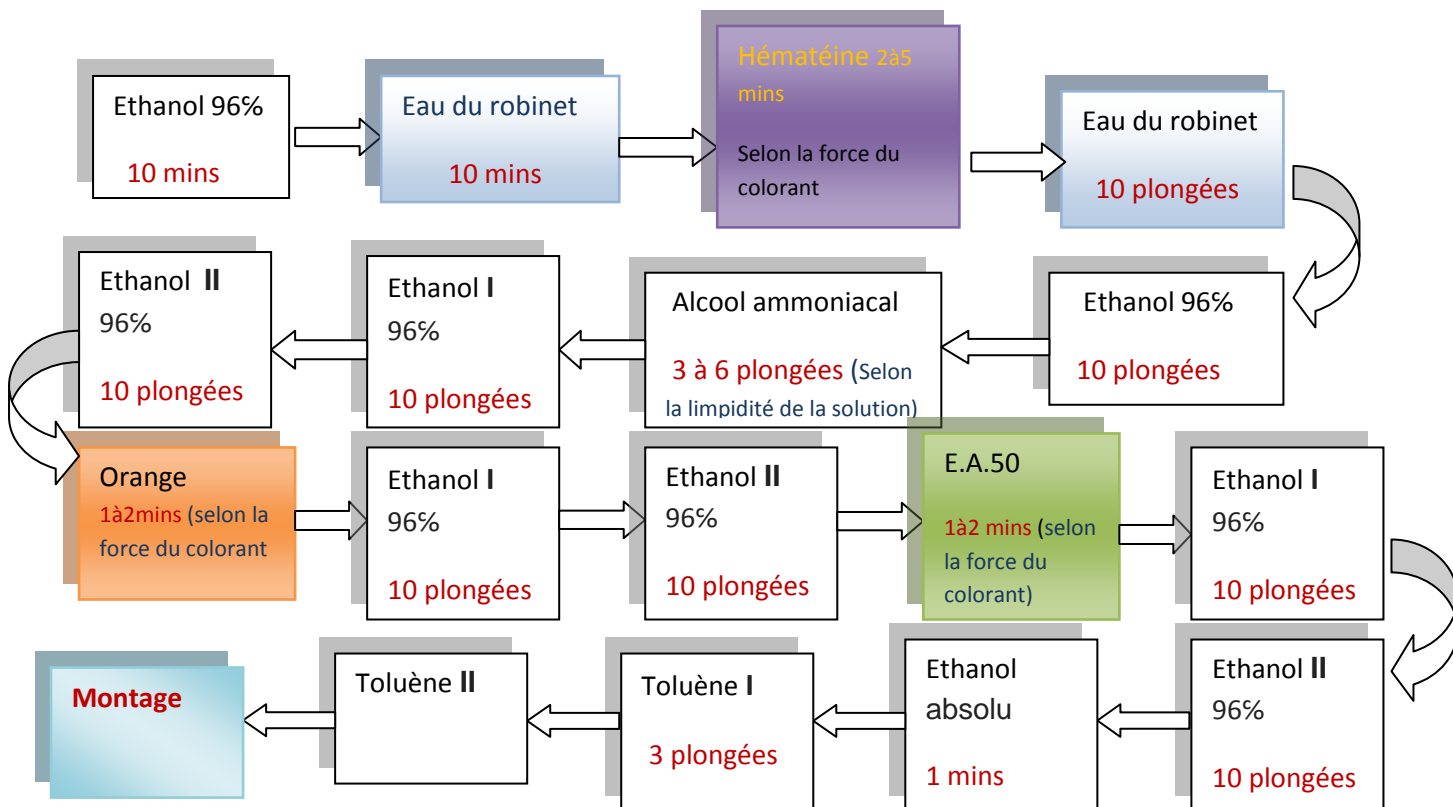


Schéma démonstratif des différentes étapes de la coloration Papanicolaou



Figure9: Appareil de centrifugation

### 3. Technique d'immunohistochimie:

L'immunohistochimie est une combinaison de deux sciences : l'immunologie et l'histochimie. Le but de l'immunohistochimie est le même que celui de l'histochimie, soit la mise en évidence précise d'une substance dans le tissu. Cependant, au lieu d'utiliser les propriétés chimiques de la substance, on se sert de ses propriétés antigéniques. Avant l'avènement de l'immunohistochimie, il était quasi impossible de localiser une protéine non enzymatique (par exemple, une hormone peptidique) au moyen des techniques histochimiques. L'apport de l'immunologie à l'histochimie a permis d'effectuer la localisation de plusieurs types de substances dans les tissus, dans les cellules et dans les organites intracellulaires. Les critères auxquels doit correspondre une substance pour être localisée immunohistochimiquement sont :

- ✓ La disponibilité de l'antigène dans une forme relativement pure (pour permettre la fabrication d'anticorps spécifiques).
  - ✓ La rétention, du moins partielle, de l'antigénicité de la substance à localiser durant les manipulations histologiques ou immunohistochimiques.
- Lorsque ces deux conditions sont respectées, l'une ou l'autre des techniques immunohistochimiques peut être employée.

L'immunohistochimie est largement utilisée pour le diagnostic et le suivi du cancer du sein par détection des cellules anormales.

Puisque certaines cellules cancéreuses expriment à leur surface des récepteurs hormonaux spécifiques (RO : pour l'œstradiol, RP : pour la progestérone, HER2..), l'immunohistochimie permet de détecter l'existence de ces récepteurs au niveau de la surface cellulaire des cellules anormales et de déterminer le pourcentage de leur expression à l'aide de la réaction antigène anticorps. A partir de ces résultats, les médecins concluent si le patient peut suivre une hormonothérapie ou pas.

Les anticorps utilisés dans le cas du cancer du sein sont :

➤ **Récepteurs hormonaux : RO/RP :**

Les hormones stéroïdiennes œstradiol et progestérone sont impliquées dans la croissance des cellules mammaires par stimulation de la multiplication cellulaire. Certaines cellules cancéreuses peuvent garder l'expression des récepteurs de ces hormones (RO, RP) ce qui stimule leur croissance et leur amplification. Les patientes avec RO+ sont sensibles aux médicaments antiostrogènes comme le tamoxifène. Les patientes peuvent suivre une hormonothérapie.

➤ **Le HER2 (c-erb B2) :**

C'est une protéine naturellement présente dans l'organisme. Il s'agit d'un récepteur transmembranaire pour les facteurs de croissance. Il est recherché dans le cas du cancer du sein car il peut arriver que le nombre de récepteurs (HER2) présents à la surface augmente anormalement ce qui favorise la croissance des cellules cancéreuses. Ces cellules peuvent surexprimer HER2 ou bien être HER2 positives.

➤ **Ki67 :**

C'est un marqueur de prolifération des cellules cancéreuses. Un index élevé de ki67 indique que les cellules cancéreuses se divisent rapidement et il est évalué selon la proportion estimée du marquage nucléaire puisque l'antigène ki67 est présent au niveau du noyau des cellules prolifératives. Ce test permet de prévoir la sensibilité d'une tumeur aux agents cytotoxiques particulièrement dans le cancer du sein.

**La détection de ces récepteurs se fait par la technique d'immunohistochimie (IHC) selon ces étapes principales :**

- Le dépôt de l'anticorps primaire directement sur le tissu qui va reconnaître, s'il existe, le récepteur antigénique recherché
- Application d'un deuxième anticorps susceptible de se fixer à l'anticorps primaire et complexé à un système avidine-biotine- peroxydase permettant la révélation.
- Enfin, une contre-coloration douce avec l'hématoxyline recolore le tissu et rend possible une détermination topographique du marquage.

Le protocole expérimental utilisé pour effectuer cette technique est le suivant :

✚ Pendant la veille :

- ✓ La coupe des blocs paraffinés contenant le prélèvement (3 à 4 microns)
- ✓ Etalement des rubans sur lames silanisées
- ✓ Mettre les lames dans l'étuve à 60° pendant une heure puis toute la nuit à 37°

✚ Le lendemain :

- ✓ Restauration antigénique
  - Etuve pendant 10min à 60°
  - Mettre les lames dans des pots contenant la solution de démasquage (ENVISION™ FLEX PEROXIDASE-BLOCKING REAGENT), porter en bain marie pendant 30 min à 98°
  - Laisser les lames refroidir pendant 20min à température ambiante
  - Puis les mettre dans le Wash buffer (PBS : solution, saline tamponnée au phosphate) pendant 5min
  - Appliquer Ultravision hydrogen peroxide block → 10min
  - Rinçage par le Wash buffer (PBS) → 5min
  - Appliquer Ultravision hydrogen protein block → 5-10min
  - Tapoter les lames
  - Appliquer les anticorps (anti-Ki-67, anti-RO ou anti-HER2)
  - Rinçage par le Wash buffer (PBS) → 5min
  - Appliquer Primary antibody amplifier quanto → 10min
  - Rinçage par le Wash buffer (PBS) → 5min

- Appliquer l'antigène secondaire (HRP polymer quanto) →10min
  - Rinçage par le Wash buffer (PBS) → 5mins
  - Appliquer le révélateur de la réaction antigène-anticorps (DAB quanto chromogène) cette révélation se fait par l'apparition d'une coloration brune → 5min
  - Rinçage par le Wash buffer (PBS) → 5mins
- ✓ Coloration des lames :
- Plonger les lames dans l'hématoxyline →2min
  - Rinçage des lames par le Wash buffer (PBS) puis par l'eau courante
  - Déshydratation des lames puis montage



# Résultats et discussion

## A. Résultats:

### 1. Evolution de l'incidence du cancer du sein chez les femmes au cours de l'année 2018 :

Notre étude était focalisée sur les cas traités durant l'année 2018 (313 cas) et dans la série des patientes sur lesquels ce travail a été effectué, la figure 10 montre la répartition du pourcentage des tumeurs bénignes et les tumeurs malignes en fonction des mois.

D'après les résultats illustrés dans la figure 10, on constate en général et ce sur toute la durée de l'étude que les tumeurs malignes sont plus fréquentes que les tumeurs bénignes. Cette différence est très remarquable (figure 11) 58% des tumeurs malignes et 42% des tumeurs bénignes durant toute l'année.

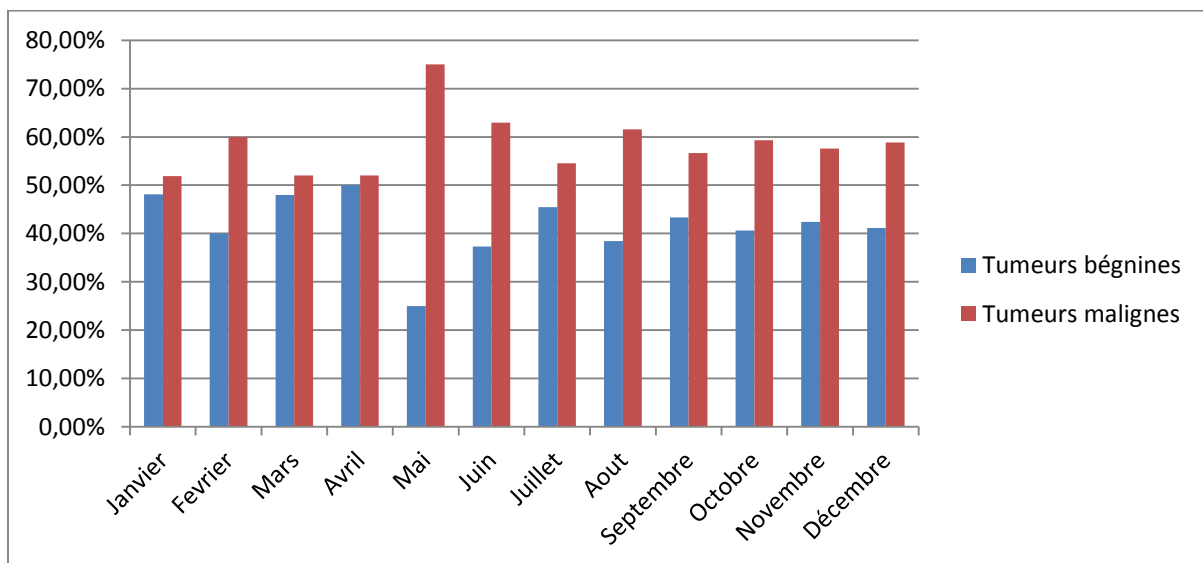


Figure 10: Répartition des tumeurs bénignes et tumeurs malignes en fonction de temps

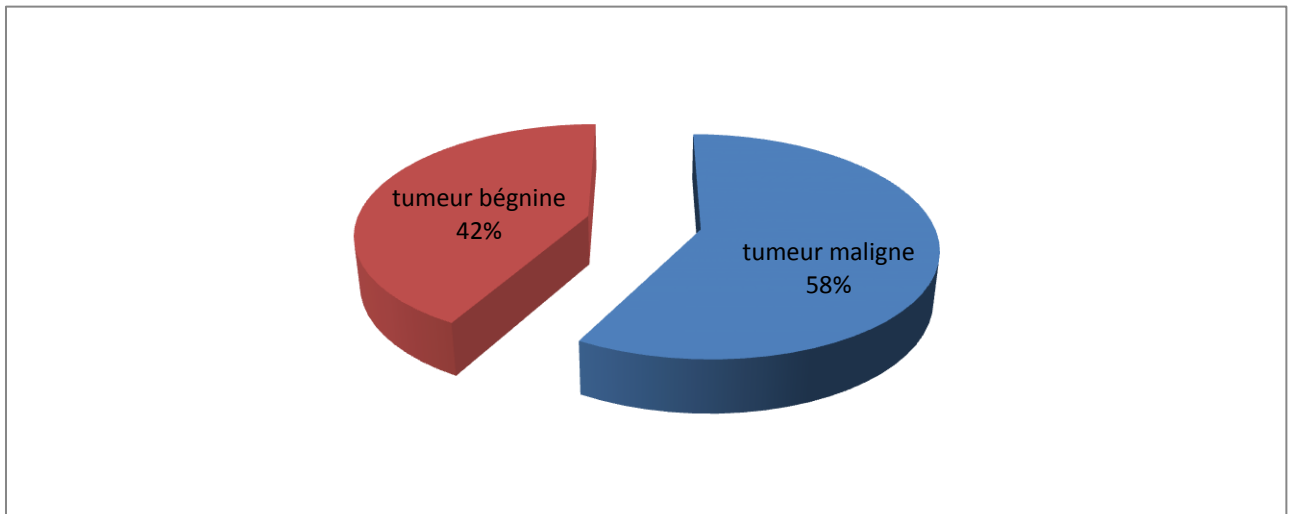


Figure 11 : Pourcentage des tumeurs bénignes et tumeurs malignes durant toute l'année

**2. Répartition des cas du cancer du sein en fonction de l'âge :**

L'âge moyen des patientes présentant un cancer du sein est de 49 ans. Les extrêmes d'âge sont de 30 ans et 84 ans. La figure 12 illustre le pourcentage des cas de cancer en fonction de la tranche d'âge des patientes. C'est entre 50 ans et 60 ans que cette pathologie est la plus dominante avec un pourcentage de 30%.

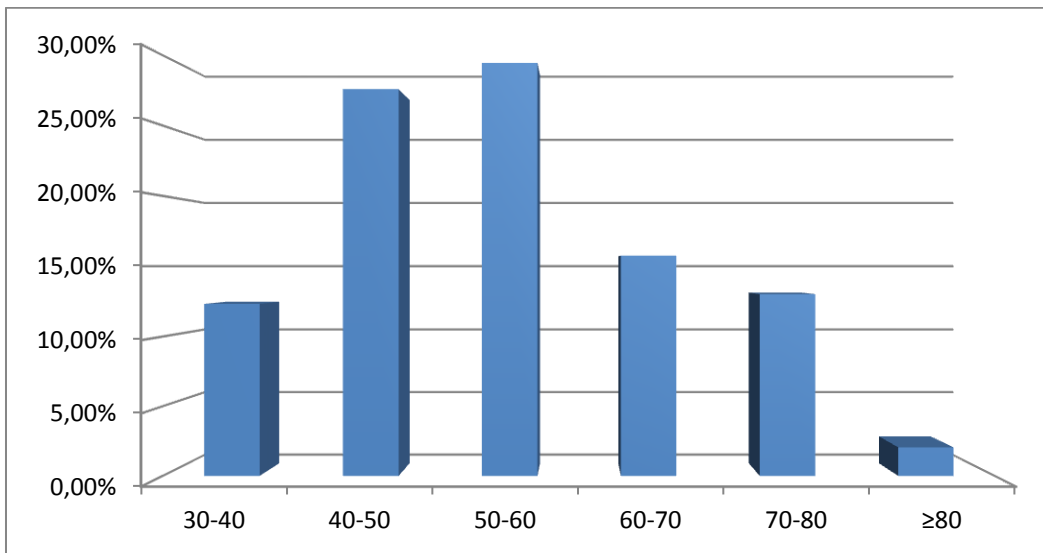


Figure 12: Répartition des cas du cancer du sein en fonction de l'âge.

### **3. Répartition des grades du cancer du sein :**

La figure 13 montre la répartition des grades histologiques des tumeurs mammaires sur 140 cas examinés au centre d'anatomopathologie (mon lieu de stage) durant l'année 2018.

Le grade II représente le pourcentage le plus élevé (61,87%) suivi par le grade I qui représente 23,02% de l'ensemble des cas. En troisième position vient le grade III par une fraction de 15,10%.

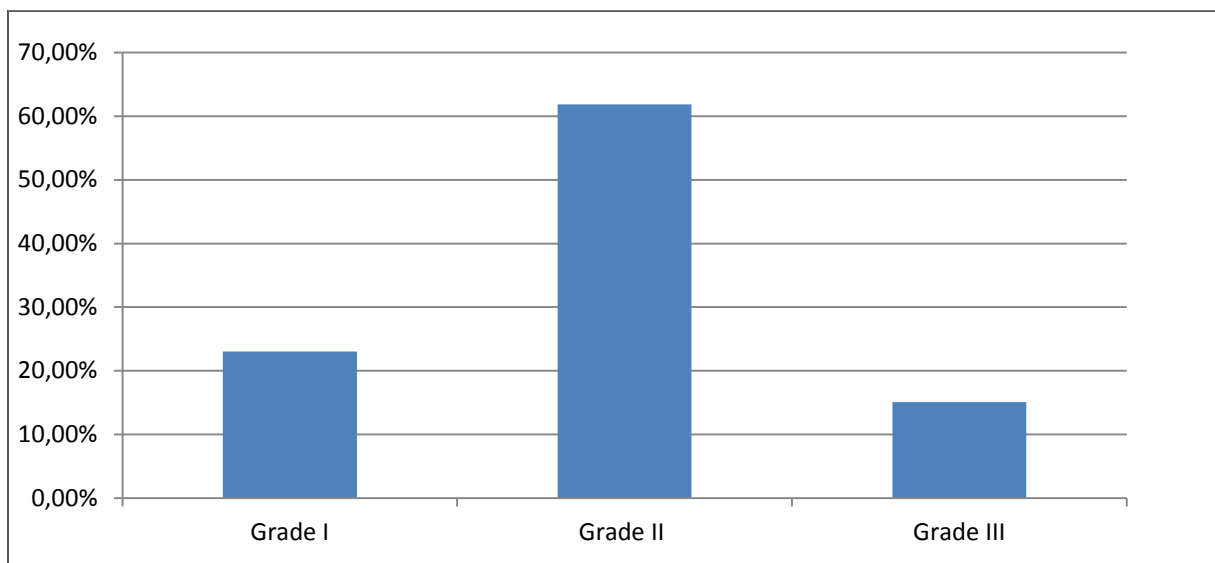


Figure 13: Répartition des grades histologiques des tumeurs mammaires

### **4. Résultats de l'immunohistochimie :**

#### **4.1 Répartition selon le score de HER2 :**

Le tableau 3 montre le score HER2 selon les recommandations de l'ASCO. Il varie du score 0 au score 3+. Pour les tumeurs ayant un score 2+, considéré comme un cas douteux, une étude complémentaire par FISH (hybridation in situ par fluorescence) est nécessaire.

La répartition des scores HER2 a été faite sur 96 cas examinés. La figure 14 montre que les cas négatifs représentés par le score 0 et le score 1 sont prédominants avec un pourcentage de 46,88% (28,13% pour le score 0 et 18,75% pour le score 1). Ensuite viennent les cas douteux représentés par le score 2 avec un pourcentage de 31,25%. En dernière position on trouve le score 3 qui représente les cas positifs avec un pourcentage de 21,88 %

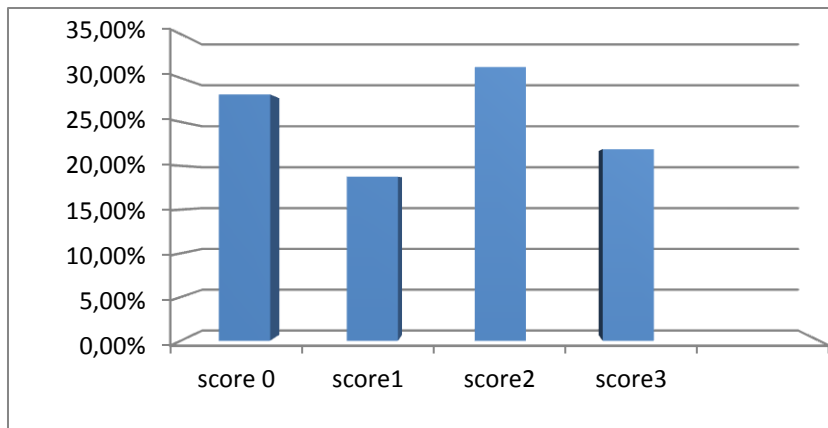


Figure 14: Répartition des cas selon le score de HER2

Score	Marquage	Interprétations
0	Absence de marquage membranaire ou marquage membranaire faible <10%	Négatif
1+	Marquage membranaire faible et incomplet >10%	Négatif
2+	Marquage membranaire modéré et complet > 10% ; marquage complet et intense < 30%	Cas douteux
3+	Marquage membranaire fort et complet >30%	Positif

Tableau 3 : Le score HER2 selon les recommandations de l'ASCO [9]

#### **4.2 Résultats de Ki-67 :**

L'expression de l'index de prolifération l'antigène Ki-67 a été recherché chez 19 cas parmi 96 cas examinés au totale par l'immunohistochimie durant l'année 2018 au centre d'anatomopathologique de Kenitra.

La figure 15 illustre les résultats obtenus, elle montre que 15.78% des patientes ont un Ki-67 négatif et 84.21% des cas ont un Ki-67 positif. Notant que les tumeurs ayant un Ki-67>14% sont des tumeurs positives et prolifératives. Ce sont des tumeurs de mauvais pronostic.

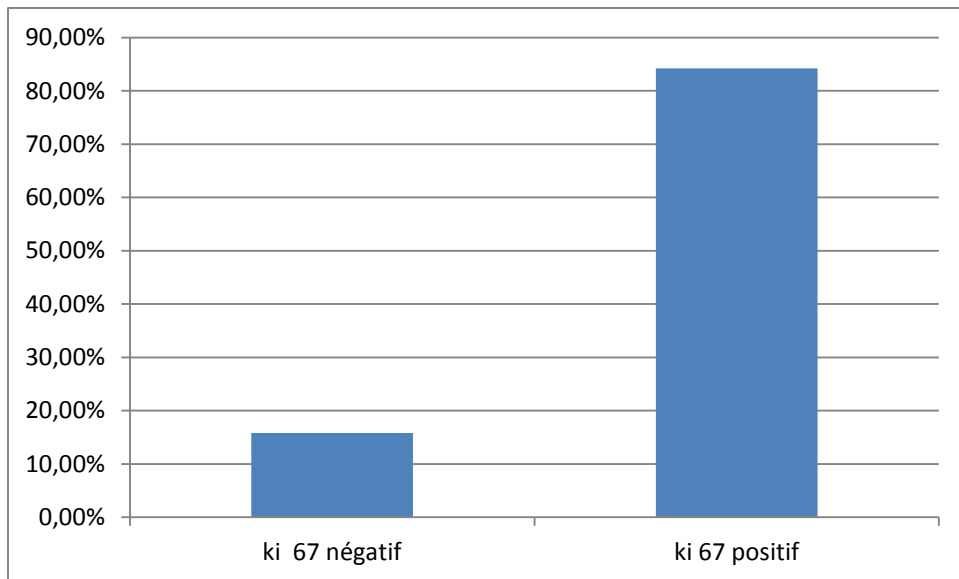


Figure 15 : Résultats de Ki-67.

#### **4.3 Résultats des récepteurs oestrogéniques (RO) :**

Un RO est positif lorsque plus de 10% des noyaux des cellules tumorales sont marqués.

La figure 16 montre le résultat obtenu des 96 cas examinés : on remarque que 62,50% de la population ont un RO positif, alors que 37,50% de la population ont un RO négatif.

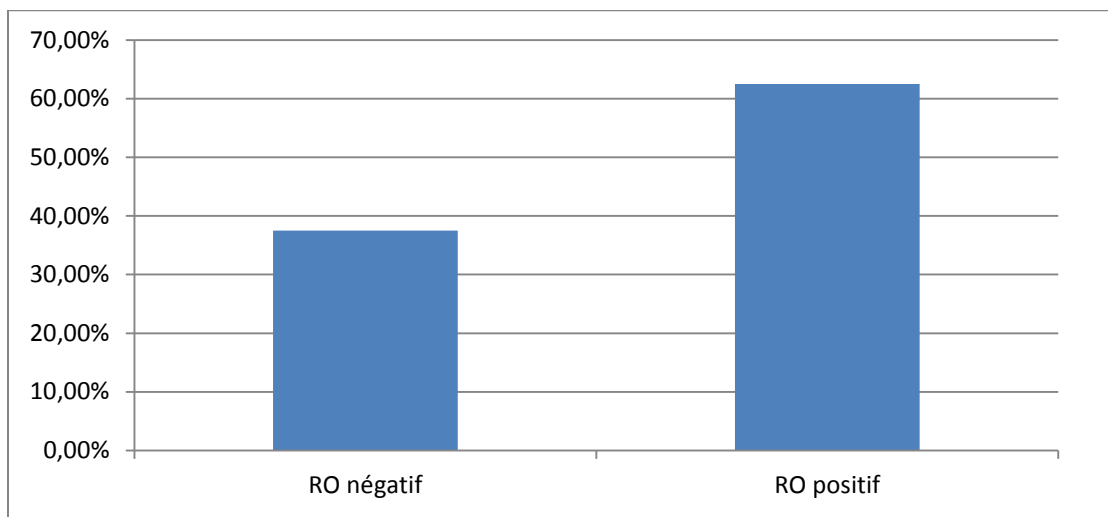


Figure 16: Pourcentage des patientes présentant des récepteurs oestrogéniques.

## **B. Discussion:**

Au Maroc, chaque année, 40.000 nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués et parmi ces cancers c'est celui du sein qui arrive toujours en premier avec un pourcentage de 36%.

Malgré que notre étude s'est intéressée seulement à une année et elle concerne uniquement les cas diagnostiqués au centre d'anatomopathologie de Kenitra, les résultats obtenus nous ont permis d'avoir une idée générale sur les points suivants: l'incidence du cancer du sein, la relation qui existe entre le déclenchement de la maladie et l'âge de la femme, le grade le plus élevé du cancer du sein et ainsi que l'apport de l'étude anatomopathologique et immunohistochimique dans le diagnostic et le traitement de la maladie.

En ce qui concerne l'incidence du cancer du sein : la répartition des tumeurs diagnostiquées malignes et celles diagnostiquées bénignes en fonction du temps nous révèle que les cas cancéreux étaient plus abondants par un pourcentage de 58,50% de nouveaux cas durant toute l'année 2018. Ceci confirme le fait que le cancer du sein a une incidence élevée et remarquable. À propos de la répartition du cancer du sein en fonction de l'âge, on remarque que la prédominance est chez la tranche d'âge entre 50 et 60 ans et ces résultats sont similaires aux données du registre du grand Casablanca [10]. Concernant les statistiques liées aux grades histologiques du cancer du sein, une prédominance du grade II a été remarquée, suivi par le grade I et III. Puisque le grade II est plus agressif et de mauvais pronostic que le grade I, on constate que la plupart des sujets ont réalisé un dépistage un peu tardif cela tient à l'ignorance et le manque de la sensibilisation.

Les résultats de l'oncoprotéine HER2 montrent que les patientes avec un HER2 positif sont le moins nombreuses que celles ayant un HER2 négatif. Les tumeurs surexprimant le HER2 (HER2 positif) sont plus agressives et plus prolifératives puisque les protéines HER2 influent et favorisent leur croissance. Ces tumeurs HER2 positives sont souvent mal pronostiquées car leur caractère prolifératif agressif les rend résistantes aux thérapeutiques conventionnelles d'où l'importance du test HER2 dans la description d'un traitement spécifique ciblant directement les cellules surexprimant le HER2.

Pour l'indice de prolifération mitotique Ki-67. Nos résultats obtenus, sur 19 patientes, ont montré que 84,21% des tumeurs ont un Ki-67 positif et donc ce sont des tumeurs prolifératives. Cette abondance de Ki-67 positif est normale puisque le grade histologique le plus abondant est le grade II.

En ce qui concerne les récepteurs oestrogéniques, 62,50% des cancers du sein sur lesquels nous avons réalisé le marquage immunohistochimique présente des récepteurs d'œstrogène positifs. Ce sont donc des tumeurs sensibles à l'hormonothérapie. Œstrogène et progestérone agissent sur les seins (développement, préparation à la lactation) en se liant à des récepteurs hormonaux présents à la surface de certaines cellules du sein qui deviennent cancéreuses peuvent conserver leurs récepteurs hormonaux et être donc stimulées dans la croissance par les hormones sexuelles féminines. Pour cela, connaître le statut des récepteurs hormonaux de la tumeur aide les médecins à prévoir si la le cancer répondra à l'hormonothérapie ou non.

## Conclusion

En conclusion, nous constatons que malgré la progression des différents traitements contre le cancer du sein, l'incidence de ce cancer reste toujours très élevée et constitue un vrai problème de santé publique dans le monde entier.

Notre étude a été effectuée au Centre d'anatomie pathologique de Kenitra. Elle a été menée sur 313 cas reçus durant l'année 2018. Les résultats de cette étude nous ont montré que la fréquence du cancer du sein évolue d'une manière frappante ; ce qui nous laisse penser à augmenter la sensibilisation des femmes à la gravité de ce cancer et à l'importance de la réalisation de dépistage, afin d'augmenter les chances de guérison et diminuer le taux de l'apparition des métastases.

Enfin, ce stage nous a permis d'acquérir les différentes techniques qui jouent un rôle majeur dans le diagnostic et le pronostic du cancer du sein ainsi que d'autres cancers.

## Références bibliographiques

- [1] : [www.e-cancer.fr /Patients-et-proches/les cancers/cancer-du-sein](http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/les-cancers/cancer-du-sein).
- [2] : [www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/formes-de-la-maladie/la-stadification.html/](http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/formes-de-la-maladie/la-stadification.html/).
- [3]:[www.medicinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2005/02/medsci2005212p175/medsci2005212p175.html](http://www.medicinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2005/02/medsci2005212p175/medsci2005212p175.html)
- [4]: rapport d'immersion en communauté 2009 -implication des patientes dans la recherche sur le cancer – Pr : Christine Bouchardy.
- [5]: [www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/signs-and-symptoms](http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/signs-and-symptoms)
- [6] : [www.ligue-cancer.net/article/26094\\_cancer-du-sein](http://www.ligue-cancer.net/article/26094_cancer-du-sein).
- [7] : [www.leicabiosystems.com:\(/histology-equipment/sliding-and-vibrating-blade-microtomes/vibrating-blade-microtome/products/leica-vt1000-s/application/\)](http://www.leicabiosystems.com/(/histology-equipment/sliding-and-vibrating-blade-microtomes/vibrating-blade-microtome/products/leica-vt1000-s/application/).
- [8] :[www.slideplayer.fr](http://www.slideplayer.fr)
- [9] : [www.ascopost.com/News/58977](http://www.ascopost.com/News/58977)
- [10] : [www.contrelecancer.ma/site\\_media/uploaded\\_files/RCRGC.pdf](http://www.contrelecancer.ma/site_media/uploaded_files/RCRGC.pdf)