

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie



Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

Doctorat 3^{ème} cycle

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biologie de la Cellule Normale et Pathologique

Intitulé

Approche moléculaire du cancer du sein dans la région du nord-ouest de l'Algérie : dérégulation de la voie de signalisation PI3K/AKT dans l'oncogenèse des tumeurs TNBC et HER2-positive

Présentée par :

Mme BENDAOU BACHIR Amina

Soutenue le : 02 / 07 /2018

Présidente :	MOULESSEHOUL Soraya	Professeur	UDL Sidi Bel Abbès
Examineurs :	ARIBI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
	SAHRAOUI Toufik	Professeur	Université d'Oran
	HAOUD Khadidja	MCA	UDL Sidi Bel Abbès
Directrice de thèse :	KLOUCHE Lynda	MCA	UDL Sidi Bel Abbès

Remerciements

Le seul moyen de se délivrer d'une tentation, c'est d'y céder paraît-il ! Alors j'y cède en disant un grand merci aux personnes qui ont cru en moi et qui m'ont permis d'arriver au bout de cette thèse.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mon encadreur **Dr. Addou-Klouche Lynda** pour m'avoir fait l'honneur et le bonheur de diriger cette thèse, sa patience, sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris, j'espère encore apprendre beaucoup à vos cotés. Que cette thèse soit le témoignage de mon admiration pour vos qualités techniques et humaines.

A Madame **Pr. Moulessehoul Soraya**, qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ma thèse de doctorat, et d'avoir accepté l'évaluation de ce travail. Veuillez trouver l'expression de ma profonde gratitude.

A Monsieur **Pr. Aribi Mourad**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être membre de mon jury de thèse. Je tiens à l'assurer de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt qu'il porte à ce travail.

A Monsieur **Pr. Sahraoui Toufik**, pour l'honneur qu'il m'a fait pour sa participation à mon jury de thèse en qualité de rapporteur de mon travail, pour le temps consacré à la lecture de cette thèse.

A Madame **Dr. Haoud Khadidja**, d'avoir accepté de faire parti du jury de cette thèse. Je la remercie pour les conseils scientifiques et qu'elle trouve ici le témoignage de mon plus profond respect.

J'exprime tous mes remerciements à Monsieur **Dr. Kelkoul Belkacem** ancien chef du laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'hôpital militaire d'Oran pour avoir su m'accueillir et créer ma place au sein du Laboratoire, ainsi que pour son immense aide pour mener à bien ce travail.

Je remercie également **Pr. DJILALI-louafi** chef de service d'Oncologie médicale du CHU d'Oran et Monsieur le **Pr. Larbaoui Blaha** chef de service d'oncologie médicale, ainsi que **leur personnel**, pour leur accueil chaleureux et pour le climat sympathique dans lequel ils m'ont permis de travailler.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du Laboratoire d'Anatomie Pathologique **de l'hôpital militaire d'Oran**, pour leur aide technique et leur bonne humeur. Merci pour votre support et vos encouragements

Je tiens également à remercier l'ensemble des collègues du laboratoire d'analyse médicale (EHS Sidi Bel Abbés) et mes amis pour leur aide, soutien, et sympathie tout au long de cette aventure.

En fin je ne pourrais terminer ces remerciements sans une pensée à l'ensemble de mes enseignants qui sont l'origine de tout mon savoir.

Dédicace

Je rends grâce à dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études.

Je dédie ce travail, le fruit de mon long chemin d'étude :

A mes très chers parents qui ont été présents et ils m'ont soutenu depuis le jour de ma naissance jusqu'à l'instant et qui m'ont toujours encouragé, j'espère qu'ils seront fiers de moi.

A mes adorables frères : Mohammed , Yasser , Abedenour, Zinou et ma petite sœur Meriem Douaa, Je souhaite la réussite dans leur vie .

A mes chers grands parents : Jedo Zine Abedine et Mima Rejia que dieu vous prête une longue vie.

Mes beaux parents et mes belles sœurs Samia, Fatima et Mounia Pour leur accueil chaleureux, leurs encouragements et leur intérêt pour mon travail.

A tous les autres membres de la famille et à tous mes amis

A mon cher époux Amine, ton soutien quotidien, ta patience, ton amour, ton humour ont su me donner la force et le courage pour accomplir ce travail, Tu as su m'épauler dans les moments les plus difficiles .Trouve ici le témoignage de mon amour et de ma reconnaissance infinie.

A MA PETITE FILLE MOUNIA NOUR EL HOUDA

Avant même que mes yeux ne te voient ma chérie, mon amour et mon affection pour toi n'ont pas cessé de s'accroître de jour en jour. Ton sourire illumine ma vie et la rend plus joyeuse et pleine de sens. Tu as partagé avec moi cette aventure avant même ta naissance et tu continues à la vivre avec moi chaque instant. A toi ma chérie je dédie ce modeste travail en implorant DIEU le tout puissant de te garder pour tes parents qui t'adorent.

Je t'aime ma puce.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Introduction: Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène caractérisé par une activation de voies de signalisation intracellulaire. L'étude des voies de signalisation oncogéniques devrait contribuer à mieux comprendre la biologie tumorale, la progression et le développement de métastases inhérents à chaque sous-type moléculaire de cancer du sein mais aussi à identifier des cibles thérapeutiques potentielles. Dans ce contexte, nous nous sommes proposé d'étudier la voie phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) / AKT, fréquemment altérée dans le cancer du sein. Ainsi, nous avons évalué le niveau d'expression de PIK3CA et AKT et exploré les relations potentielles entre le niveau d'expression de ces deux marqueurs avec d'une part les caractéristiques clinicopathologiques de la tumeur et d'autre part avec les différents sous-types moléculaires de cancer du sein.

Matériel et Méthodes : Soixante-cinq échantillons tumoraux issues de cancer du sein ont été recueillis auprès du service de pathologie de l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO), entre janvier 2009 et décembre 2014. Nous avons évalué le statut protéique de PIK3CA et p-AKT par immunohistochimie sur des tissus tumoraux inclus en paraffine. Des corrélations entre l'expression de PIK3CA et p-AKT avec des variables clinicopathologiques et les sous-types moléculaires de cancer du sein ont été établies.

Résultats: Une expression positive de PIK3CA et p-AKT est retrouvée respectivement chez 50 (77%) et 18 (27,7%) patientes atteintes de cancer du sein. La surexpression de p-AKT est significativement associée à la surexpression de HER2, ER, à une absence d'expression de PR et au sous-type moléculaire HER2 positif ($p < 0,05$). Une association a été retrouvée entre la surexpression de PIK3CA et un score plus élevé de p-AKT ($p = 0,05$). La surexpression de PIK3CA est associée à des tumeurs agressives et à des caractéristiques clinopathologiques péjoratives, telles que le grade SBR élevé et les tumeurs n'exprimant pas les récepteurs hormonaux ER et PR ($p = 0,006$ et $p = 0,01$ respectivement). La surexpression de PIK3CA est associée au cancer du sein triple négatif (TNBC) et aux tumeurs HER2 positives ($p < 0,03$).

Conclusion: Notre étude a permis d'identifier PIK3CA et p-AKT comme cibles thérapeutiques potentielles impliquées dans les voies de signalisations oncogéniques spécifiquement associées aux sous-types moléculaires TNBC et HER2+. Ainsi, le ciblage de la voie PI3K / AKT par des inhibiteurs spécifiques pourrait permettre de sélectionner les patientes pouvant bénéficier de thérapies ciblées et améliorer ainsi leur prise en charge thérapeutique.

Mots clés : Cancer du sein, PIK3CA, pAKT, Immunohistochimie, Thérapie ciblée.

Abstract

Introduction: Breast cancer is a complex and heterogeneous disease characterized by activation of intracellular signaling pathways. . The study of oncogenic signaling pathways should contribute to a better understanding of the tumor biology, the progression and the development of metastases inherent to each breast cancer molecular subtypes but also to identify potential therapeutic targets. In this context, we propose to study the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) / AKT pathway, frequently impaired in breast cancer.

Thus, we evaluated the level expression of PIK3CA and AKT and explored the potential relations between the level expression of these two markers with on the one hand the clinicopathological characteristics of the tumor and on the other hand with the different breast cancer molecular subtypes.

Material and Methods: Sixty-five tumor samples from breast cancer were collected from the department of pathology at Oran Regional Military Hospital in western Algeria(HMRUO) between *January 2009* and *December 2014*. We evaluated the protein status of PIK3CA and p-AKT by immunohistochemistry on paraffin-embedded tumor tissue. Correlations between PIK3CA and p-AKT expression with clinicopathological variables and breast cancer molecular subtypes have been established.

Results: positive PIK3CA and p-AKT staining was found in 50 (77%) and 18 (27.7%) breast cancer patients. Overexpression of p-AKT was significantly associated with HER2 overexpression ,ER and PR negative, and HER2+ subtype ($p < 0.05$). An association was found between PIK3CA overexpression and a higher score of p-AKT ($p = 0.05$). PIK3CA overexpression was associated with aggressive tumors and clinicopathological pejorative features, such as high SBR grade and tumors not expressing ER and PR hormone receptors ($p = 0.006$ and $p = 0.01$, respectively). PIK3CA overexpression was associated with triple negative breast cancer (TNBC) and HER2 + subtype ($p < 0.03$).

Conclusion: Our study identified PIK3CA and p-AKT as potential therapeutic targets involved in oncogenic signaling pathways specifically associated with TNBC and HER2 + subtype. Thus, the targeting of the PI3K / AKT pathway by specific inhibitors could make it possible to select the patients who can benefit from targeted therapies and thus improve their therapeutic management.

Key words: Breast cancer, PIK3CA, pAKT, Immunohistochemistry, Therapeutic target

مُلخَص

مقدمة: سرطان الثدي هو مرض معقد وغير متجانس يتميز بتنشيط مسارات الإشارات داخل الخلايا. يجب أن تساهم دراسة مسارات الإشارات الأنكوجينية في فهم أفضل لبيولوجيا الورم ، والتقدم ، وتطوير الانبثاث المتأصل في كل نوع فرعي جزئي من سرطان الثدي ولكن أيضاً لتحديد الأهداف العلاجية المحتملة. في هذا السياق ، نقترح دراسة مسار فوسفاتيديلينوستول 3-كيناز (PI3K) / AKT) متكررة في سرطان الثدي وهكذا ، قمنا درسنا التعبير عن الروتينين PIK3CA و p-AKT في سرطان الثدي واستكشاف العلاقة بين مستوى التعبير عن PIK3CA و p-AKT والميزات إكلينيكية و أنواع فرعية الجزيئية لسرطان الثدي

المواد / طرق: تم جمع خمسة وستين عينة سرطان الثدي من قسم علم الأمراض من المستشفى العسكري الإقليمي وهران (HMRUO) ، المتواجد بغرب الجزائر، في الفترة الممتدة بين يناير 2009 وديسمبر 2014. ودرسنا التعبير عن الروتينين PIK3CA و p-AKT بواسطة تقنية الكيمومناعية على أنسجة الورم ثابتة في الفورمالين. تمت دراسة العلاقة بين التعبير عن PIK3CA و p-AKT مع المتغيرات إكلينيكية و أنواع فرعية الجزيئية لسرطان الثدي.

النتائج: قد لوحظ التعبير الموجب للروتينين PIK3CA و p-AKT في 50 (77%) و 18 (27.7%) من مرضى سرطان الثدي على التوالي. ولقد ارتبط التعبير المرتفع للروتينين p-AKT بشكل كبير مع التعبير المرتفع HER2، و التعبير السلبي ER و PR ، و النوع الفرعي HER2 الموجب ($P < 0.05$) .

ارتبط التعبير الموجب للروتينين PIK3CA مع الأورام العدوانية و الخصائص إكلينيكية مثل الصف SBR والأورام التي لا تعبر عن مستقبلات الهرمونيين ER و PR ($p = 0.007$ و $p = 0.009$ على التوالي) . ارتبط التعبير المرتفع للروتينين PIK3CA مع الأورام من الصنف الفرعي (TNBC) و الصنف HER2 الموجب ($P < 0.02$) . و النوع الفرعي Luminal أظهر تعبيراً منخفضاً من PIK3CA مقارنة بأنواع فرعية جزئية أخرى من سرطان الثدي. ترتبط أورام التي تعطي تعبيراً مرتفعاً للروتينين PIK3CA مع التعبير عن p-AKT

الاستنتاجات: البيانات المتوفرة لدينا تشير إلى أن تفعيل مسار PI3K / AKT هو علامة بيولوجية جينية ورمية و هو مرتبط بسوء التشخيص في سرطان الثدي على الرغم من أن التعبير الروتينين ل PIK3CA و AKT هو أكثر انتشاراً في الأورام TNBC و HER2 إيجابية وبالتالي استهداف المسار PI3K / AKT باستخدام مثبطات معينة قد يكون من المفيد لتحديد المرضى الذين سيستفيدون من الاستراتيجيات العلاجية المستهدفة الحالية.

الكلمات المفتاحية: PIK3CA ، p-AKT ، سرطان الثدي، الكيمومناعية، العلامات البيولوجية، العلاج الاستهدافي

Table des matières

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Table des matières	
Liste des figures	
Introduction.....	1
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I.1.LA GLANDE MAMMAIRE NORMALE.....	4
I.1.1.Anatomie et histologie.....	4
I.1.2. Facteurs contrôlant la glande mammaire.....	6
I.1.2.1. Facteurs de croissance.....	6
I.1.2.2. Hormones.....	7
I.2.LE CANCER DU SEIN.....	8
I.2.1. Définition.....	8
I.2.2.Épidémiologie.....	9
I.2.3.Facteurs pronostiques.....	11
I.2.3.1. Facteurs cliniques.....	11
I.2.3.1.1. La classification cTNM.....	11
I.2.3.1.2. L'âge.....	12
I.2.3.1.3. Le délai de prise en charge.....	12
I.2.3.2. Facteurs anatomopathologiques.....	13
I.2.3.2.1. Le type histologique.....	13
I.2.3.2.2. La taille tumorale.....	13
I.2.3.2.3.Le grade histopronostique SBR.....	13
I.2.3.2.4.L'envahissement ganglionnaire.....	14
I.2.3.3. Facteurs biologiques.....	14
I.2.3.3.1. Les récepteurs hormonaux.....	14
I.2.3.3.2. Les marqueurs de prolifération.....	14
I.2.3.3.3.Autres.....	15
I.2.4. Facteurs de risque génétiques.....	15
I.2.5. Facteurs de risque environnementaux.....	16
I.3.MÉCANISME CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE DE LA CANCÉROLOGIE MAMMAIRE.....	17
I.3.1.Une origine multifactorielle.....	17
I.3.2.Les anomalies génétiques.....	18
I.3.2.1. Amplification d'oncogènes.....	18
I.3.2.1.1. L'oncogène <i>MYC</i>	18
I.3.2.1.2. L'oncogène <i>CCDN1</i>	18
I.3.2.1.3. Le proto-oncogène <i>c-ERBB2</i>	19
I.3.2.2. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.....	20
I.3.2.2.1. Gène <i>p53</i>	20
I.3.2.2.2. Le gène <i>RB</i>	20
I.3.2.2.3. la <i>cadhérine E</i> et le <i>CD44</i>	21
I.3.2.2.4. Les protéines p16 et p27.....	21
I.3.2.2.5. Le gène <i>BRCA</i>	22
I.4. HÉTÉROGÉNÉITÉ MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN.....	23
I.4.1.CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN.....	23
I.4.2. Sous types Luminaux.....	24
I.4.2.1. Luminal A.....	24

I.4.2.2.Luminal B	25
I.4.3. le sous type triple négatif	26
I.4.4. le sous type HER2 positif	26
I.5. LES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES	27
I.5.1. La chirurgie.....	27
I.5.1.1. Mastectomie radicale	27
I.5.1.2. Chirurgie conservatrice	27
I.5.1.3. Chirurgie du creux axillaire : le curage axillaire	28
I.5.2. Chimiothérapie	28
I.5.3. Radiothérapie	29
I.5.4. Hormonothérapie	29
I.5.5. Thérapies ciblées.....	30
I.5.5.1. le Trastuzumab (Herceptin®)	30
I.5.5.2. Le Trastuzumab emtansine (T-DM1).....	30
I.5.5.3. Pertuzumab	30
I.5.5.4. Bevacizumab.....	30
I.5.5.5.Lapatinib	31
I.6. LA VOIE DE SIGNALISATION PI3K/AKT/mTOR.....	32
I.6.1. Les récepteurs tyrosine-kinase	32
I.6.2. La protéine PI3K.....	33
I.6.3. La Kinase AKT.....	34
I.6.4. Mécanisme d'activation de la voie PI3k/Akt dans la cellule normale	35
I.7. L'ALTÉRATION DE LA VOIE PI3K/Akt DANS LE CANCER DU SEIN.....	37
I.7.1. La dérégulation de la PI3K	37
I.7.2. Dérégulation de l'AKT	38
I.7.3. La perte de <i>PTEN</i>	38
I.8. LA VOIE PI3K/AKT ET LES SOUS TYPES DU CANCER DU SEIN	38
I.8.1. Sous types Luminaux	39
I.8.2. le sous type HER2 positif	40
I.8.3. le sous type triple négatif	40
I.9. CIBLAGE DE LA VOIE PI3K/AKT	41
I.9.1. Thérapies ciblées et la voie PI3K/Akt/mTOR	42
I.9.2. Inhibiteurs de PI3K de première génération	43
I.9.2.1. Rapamycine et ses analogues.....	43
I.9.3. Nouveaux inhibiteurs de la voie PI3K/Akt/mTOR	44
I.9.3.1. Inhibiteurs de PI3K de deuxième génération	44
I.9.3.2. Inhibiteurs d'Akt	45
I.9.3.3. Doubles inhibiteurs de mTORC1 et de mTORC2	45
I.9.3.4. Doubles inhibiteurs de PI3K et de mTOR	46
<i>PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS</i>	<i>47</i>
I.10. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS.....	48
I.10.1. Problématique	48
I.10.2. Objectifs.....	49
<i>CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE</i>	<i>50</i>
<i>MATERIELS ET METHODES</i>	<i>51</i>
II.1.1. MATERIELS ET METHODES	52
II.1.1.1. Etude épidémiologique	52
II.1.1.1.1. Population d'étude.....	52
II.1.1.1.2. Déroulement de l'étude	52
II.1.1.2. Etude immunohistochimique	52
II.1.1.2.1. Patientes.....	52

II.1.1.2.2. Prélèvements et traitements	53
II.1.1.2.3. Etude histologique	53
II.1.1.2.4. Immunohistochimie (IHC).....	54
II.1.1.2.5. Evaluation du statut immunohistochimique.....	56
II.1.1.3. La classification des sous types moléculaires	57
II.1.1.4. Analyse statistique.....	58
RÉSULTATS ET DISCUSSION	59
II.1.2 RESULTATS	60
II.1.2.1 Caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires des tumeurs mammaires	60
II.1.2.1.1 Répartition des patientes selon l'âge au diagnostic	61
II.1.2.1.2 Répartition des patientes selon la taille de la tumeur.....	62
II.1.2.1.3 Répartition des cancers du sein l'envahissement ganglionnaire axillaire	63
II.1.2.1.4 Répartition des cancers du sein selon le type histologique	64
II.1.2.1.5 Répartition des malades selon le grade SBR	64
II.1.2.1.6. Profil d'expression des récepteurs hormonaux ER et PR et du récepteur tyrosine kinase HER2	65
II.1.2.2. Classification moléculaire du cancer du sein : distribution des sous types moléculaires, caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires	67
II.1.2.2.1 Répartition des différents sous types moléculaires selon l'âge des patientes	68
II.1.2.2.2 Répartition des sous types moléculaires en fonction de la taille tumorale (TNM)	69
II.1.2.2.3 Répartition des sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire	69
II.1.2.2.4 Répartition des sous types moléculaires selon le grade SBR	70
II.1.2.3 Évaluation du statut immunohistochimique des protéines PIK3CA et AKT dans les cancers du sein	71
II.1.2.3.1 Les caractéristiques clinicopathologiques de tumeurs mammaires étudiées	71
II.1.2.3.2. Profils d'expression des récepteurs hormonaux (ER, PR) et de HER2	73
II.1.2.3.3. Corrélation entre l'expression de PIK3CA, p-AKT et les caractéristiques clinicopathologiques	73
II.1.2.3.4. Corrélation entre l'expression de PIK3CA et pAKT et les sous-types moléculaires du cancer du sein.....	76
II.1.3. DISCUSSION	81
II.1.3.1 Etude épidémiologique	81
II.1.3.2 Classification moléculaire du cancer du sein : distribution des sous types moléculaires, caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires	86
II.1.3.3 Évaluation du statut immunohistochimique des protéines PIK3CA et AKT dans les cancers du sein.....	90
II.1.3.3.1. Niveau d'expression de PIK3CA dans les sous types moléculaires du cancer du sein	91
II.1.3.3.2. Niveau d'expression p-Akt dans les sous types moléculaires du cancer du sein	94
CHAPITRE III : CONCLUSION	98
III. CONCLUSION	99
ARTICLE	101
CHAPITRE IV : RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	102

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique complémentaire

AKT : Protéine kinase B

AR : Androgène

ARN : Acide Ribonucléique messenger

BC : Breast Cancer(cancer du sein)

Bcl : B Cell Lymphoma

BRCA : Breast Cancer susceptibility

CCI : Carcinome Canalaire Infiltrant

CCIS : Carcinome Canalaire In Situ

CCNE1 : Cycline E1

CCND : Gène codant pour cycline D

CDH : Cadhérine

c-erbB-2 : Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2

CGH : Comparative Genomic Hybridization

CIS : Carcinome In Situ

CK : Cytokératine

cKit : Tyrosine-protein kinase

CLI : Carcinome Lobulaire Infiltrant

DAB : Chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride

EGF : Epidermal Growth Factor

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

ER : Estrogen Receptor

ErbB : Famille de proteines contenant quatre recepteurs tyrosine kinases

ERE : Estrogen response element

ERK : Extracellular signal-regulated kinases

FGF : Fibroblast growth factor

FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptors

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization

GAP : GTPase-Activating Proteins

GATA3 : GATA Binding Protein 3

GEF : Guanine nucleotide Exchange Factor

Grb2 :Growth factor receptor-bound protein 2

GTP : Trimeric G-proteins

HER2 : Human Epithelial growth factor Receptor2

HES : Hématoxyline-Eosine-Safran

HRP : Peroxydase de raifort

IGF-1 : Insulin-like growth factor-1

IGFs : Insulin-like growth factor

IGFBPs : Insulin-like growth factor binding proteins

IHC : Immunohistochimie

IRS : Insulin receptor substrate

JAK : Janus kinase

Ki-67 : Index de prolifération mitotique

kDa : Kilodalton

KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

LAPTMB4: Lysosome-associated transmembrane protein 4-beta

MAPK : Mitogen-activated protein kinase

MIB-1 : Mindbomb Homolog 1

mTOR : Mammalian target of rapamycin

mTORC : Mammalian Target of Rapamycin Complex

MYB : V-Myb Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog

NSEP1 : Nuclease sensitive element binding protein 1

OMS : Organisation Mondiale de la santé

P : protéine

P53 : Cellular tumor antigen

PBS : prefabricated bituminous surfacing

PDGF : Platelet-derived growth factor

PGE2 : Prostaglandine E2

PI3K : phosphoinositide 3-kinase

PIAS : Protein inhibitor of activated STAT

PIP : Phosphatidylinositolphosphate

PKB : Protein kinase B

PRE : Endosome de recyclage périnucléaire

PRL : Prolactine

PTEN : Phosphate and tensin homolog

RB : Rétinoblastome

RE : Récepteur à l'oestrogène

RP : Récepteur de la progestérone

RH : Recepteurs Hormonaux

RTK : récepteur à activité tyrosine kinase

RT-PCR : Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction

SBR : Scarff Bloom et Richardson

SH : Src homology

STAT3 : Signal Transducers and Activators of Transcription

TGFβ : Transforming growth factor

TNBC : Triple Negatif Breast Cancer

TNF : Facteur de Nécrose Tumoral

TNM :Tumor Node Metastasis

UICC : Union for International Cancer Control

VEGF : Vascular Endothelial Growth factor

VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor

Liste des figures

Figure 1: Sein coupe sagittale. In Yale University School of Medicine	4
Figure 2: Sein. Coupe sagittale et frontale.....	5
Figure 3: Taux d'incidence du cancer du sein dans le monde	11
Figure 4: Les six étapes fondamentales de la cancérogenèse	17
Figure 5: Schéma hypothétique des anomalies génétiques au cours de la cancérogenèse mammaire	19
Figure 6: Classification moléculaire du cancer du sein.....	24
Figure 7: Schéma des différentes stratégies thérapeutiques du cancer du sein	31
Figure 8: Schéma représentatif des différentes classes de PI3K	34
Figure 9: structure schématique des isoformes d'Akt	35
Figure 10: Activation de la voie PI3K/Akt/mTOR	36
Figure 11 : The PI3K/AKT/mTOR signaling network regulates cell survival	42
Figure 12: Cibles des inhibiteurs de la voie PI3K/Akt/mTOR en cours de développement clinique	44
Figure 13 : Répartition des cancers du sein selon l'âge des patientes	61
Figure 14: Distribution de la fréquence de cancer du sein selon les tranches d'âge	61
Figure 15: Répartition des cancers du sein selon la taille de la tumeur (en cm)	62
Figure 16: Répartition des cancers du sein selon la classification clinique de la taille tumorale	63
Figure 17: Répartition des cancers du sein selon l'envahissement ganglionnaire axillaire	63
Figure 18: Répartition des cancers du sein selon le type histologique.....	64
Figure 19: Répartition des cancers du sein selon le grade SBR.....	65
Figure 20: Répartition des cancers du sein selon le profil d'expression des récepteurs hormonaux (ER et PR) et du récepteur HER2.....	65
Figure 21: Répartition des cancers du sein selon la conduite thérapeutique.....	66
Figure 22: Distribution des cancers du sein selon le sous type moléculaire.....	68
Figure 23: Répartition des sous types moléculaires selon l'âge des patientes.....	68
Figure 24: Répartition des sous types moléculaires selon la taille tumorale pT (TNM).....	69
Figure 25: Répartition des sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire.....	70
Figure 26: Répartition des sous types moléculaires selon le grade SBR.....	71

Figure27: Corrélation entre l'expression de PIK3CA et les sous-types moléculaires.....	77
Figure28: Expression de PIK3CA dans les sous-types Luminal A et Luminal B.....	78
Figure29: la corrélation entre l'expression de p-Akt et les sous-types moléculaires.....	78
Figure30: statut immunohistochimique du niveau d'expression de PIK3CA dans le cancer du sein.....	79
Figure31: statut immunohistochimique du niveau d'expression de p-AKT dans le cancer du sein.....	80

Liste des tableaux

Tableau 1:Principaux facteurs de croissance agissant sur les cellules épithéliales mammaires.....	6
Tableau 2: Classification histologique des carcinomes mammaires selon l’OMS.....	9
Tableau 3:La classification des sous types moléculaire selon le statut immunohistochimique de ER, PR et HER2.....	57
Tableau 4:Caractéristiques clinicopathologiques des 850 patientes atteintes de cancer du sein.....	60
Tableau 5:Corrélation entre les sous types moléculaire de cancer du sein et les paramètres clinicopathologiques	67
Tableau 6:Caractéristiques clinico-pathologiques de 65 patientes atteintes de cancer du sein.....	72
Tableau 7: Corrélation entre l'expression de PIK3CA et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes	74
Tableau8:Corrélation entre l'expression de p-Akt et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes.....	75

Introduction

Le cancer du sein représente la première cause de mortalité parmi les cancers gynécologiques, c'est le cancer qui touche plus d'un million de nouveaux cas par an, et il est responsable de plus de 400 000 décès dans le monde, il reste jusqu'à l'heure actuelle un problème de santé publique avec la particularité d'affecter fréquemment une femme sur dix (**Carol et al., 2016**).

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène et a été classé dans trois groupes thérapeutiques principaux: (i) les tumeurs du sein positives au récepteurs hormonaux ou (luminaux) répondant aux thérapies hormonales; (ii) les tumeurs HER positif (human epidermal growth factor receptor 2, Ayant un bénéfice clinique significatif des traitements anti-HER2; Et (iii) le cancer du sein triple négatif (absence d'expression de l'ER, PR et HER2) et pour lequel aucune thérapie ciblée n'existe encore (**Lips et al., 2013**)

Le cancer du sein se manifeste souvent par de multiples altérations moléculaires (**Guille et al., 2013**), qui modifient diverses voies de signalisation (**Elizabeth et al., 2015 ; Cynthia et al., 2015**). Parmi ceux-ci, la voie de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K / AKT), elle est fréquemment dérégulée dans les tumeurs solides humaines, y compris le cancer du sein (**Liu et al., 2009 ; Massacesi et al., 2015**). Des études antérieures sur la voie PI3K / Akt dans le cancer du sein ont révélé que l'amplification du gène *PIK3CA* a été trouvée dans environ 18% -40% de cancer du sein (**Mukohara et al., 2015 ; Elisavet et al., 2014**).

Les mutations somatiques dans le gène *PIK3CA* aboutissent souvent à une augmentation de l'activité de PIK3CA (**Wu et al., 2005**) . Ce qui provoque la phosphorylation et l'activation d'Akt, cette dernière est responsable de l'activation de différentes protéines qui augmentent la survie et la prolifération cellulaire (**Gonzalez-Angulo et al., 2013**).

Dans le cancer du sein *PIK3CA* est un oncogène de mauvais pronostic (**Baselga et al., 2011 ; Jensen et al., 2012**). Des études récentes suggèrent que la surexpression des

protéines PIK3CA et pAKT est principalement associée aux tumeurs HER2 positives et les TNBC, cette association semble refléter les caractéristiques du mauvais pronostic de ces deux sous-types moléculaires (**Arsenic *et al.*, 2014 ; Cizkova *et al.*, 2013 ; Tokunaga *et al.*, 2006**).

Une meilleure caractérisation de composants de la voie de leurs interactions pourrait conduire au développement de nouveaux agents anticancéreux (**Liu *et al.*, 2009 ; Massacesi *et al.*, 2015**). L'inhibition de la voie PI3K / Akt est maintenant considérée comme une stratégie prometteuse pour améliorer l'effet des thérapies pour le cancer du sein (**Mayer *et al.*, 2016 ; Ciruelos *et al.*, 2014**).

Afin d'introduire les travaux réalisés au cours de notre thèse, nous décrirons tout d'abord le cancer du sein, quelques données épidémiologiques, classification moléculaire du cancer du sein, et ensuite le mode d'activation de la voie PI3K/Akt dans le cancer du sein et ces différents sous types moléculaire et en fin nous ferons le point sur les données actuelles concernant le ciblage de la voie PI3K/Akt.

Nous nous sommes intéressés au cours de nos travaux à étudier le profil d'expression de la protéine PIK3CA et pAKT dans les carcinomes de sein invasifs de patientes de l'Ouest Algérien et en corrélant les résultats avec les paramètres cliniques et différents sous-types moléculaires de cancer du sein.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.LA GLANDE MAMMAIRE NORMALE

I.1.1.Anatomie et histologie

La glande mammaire est une glande exocrine dont la fonction est la sécrétion lactée. C'est une glande cutanée au même titre que les glandes sudoripares et sébacées. Elle est incluse entièrement dans le pannicule adipeux sous-cutané et rattachée à la peau par ses seuls canaux excréteurs. Elle repose sur le *fascia superficialis* et des tractus fibreux unissant ce dernier à la peau subdivisent le corps adipeux en loges (**Brette, 2007**) (**Figure 1**).

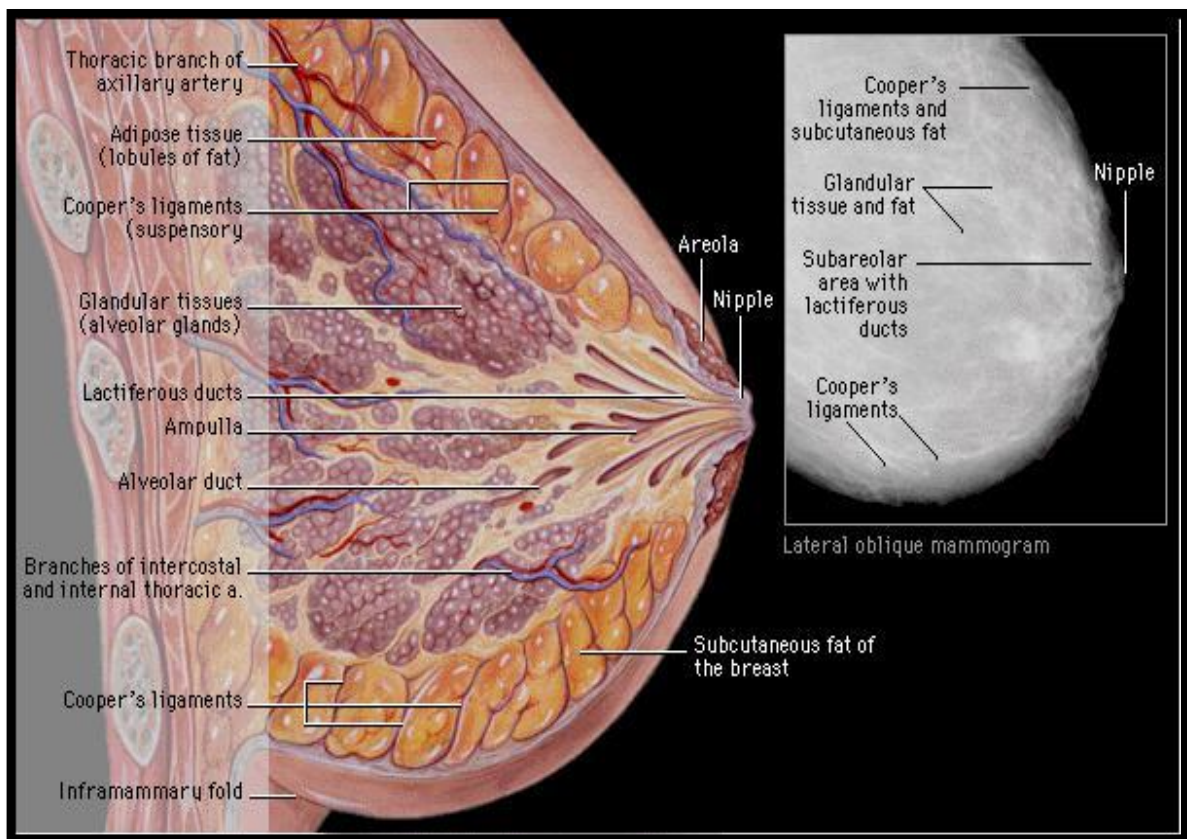


Figure 1:Sein coupe sagittale. In Yale University School of Medicine. Breast Anatomy (Staub, 2006).

La glande mammaire est constituée de lobes et de canaux galactophoriques entourés de tissu conjonctif dense dans lequel cheminent des vaisseaux sanguins. Les acini sont groupés de façon très dense autour d'un canalicule intra-lobulaire (ou canal alvéolaire) (**Drake, 2010**).

Plusieurs canaux alvéolaires se réunissent pour former un canal lobulaire (ou canalicule extra-lobulaire). Cette petite structure forme un lobule. Plusieurs canaux lobulaires se réunissent pour donner un canal galactophore et l'ensemble des lobules qu'il draine forme un lobe glandulaire (Netter, 2007). La glande mammaire est donc une glande tubulo-acineuse de type composée puisqu'elle est formée de 15 à 20 unités glandulaires indépendantes (lobes) qui sont séparées par du tissu conjonctif dense chaque lobe ayant son propre canal galactophore qui s'ouvre à l'extérieur au niveau du mamelon après s'être élargi en un sinus galactophorique (Drake, 2010) (Figure 2).

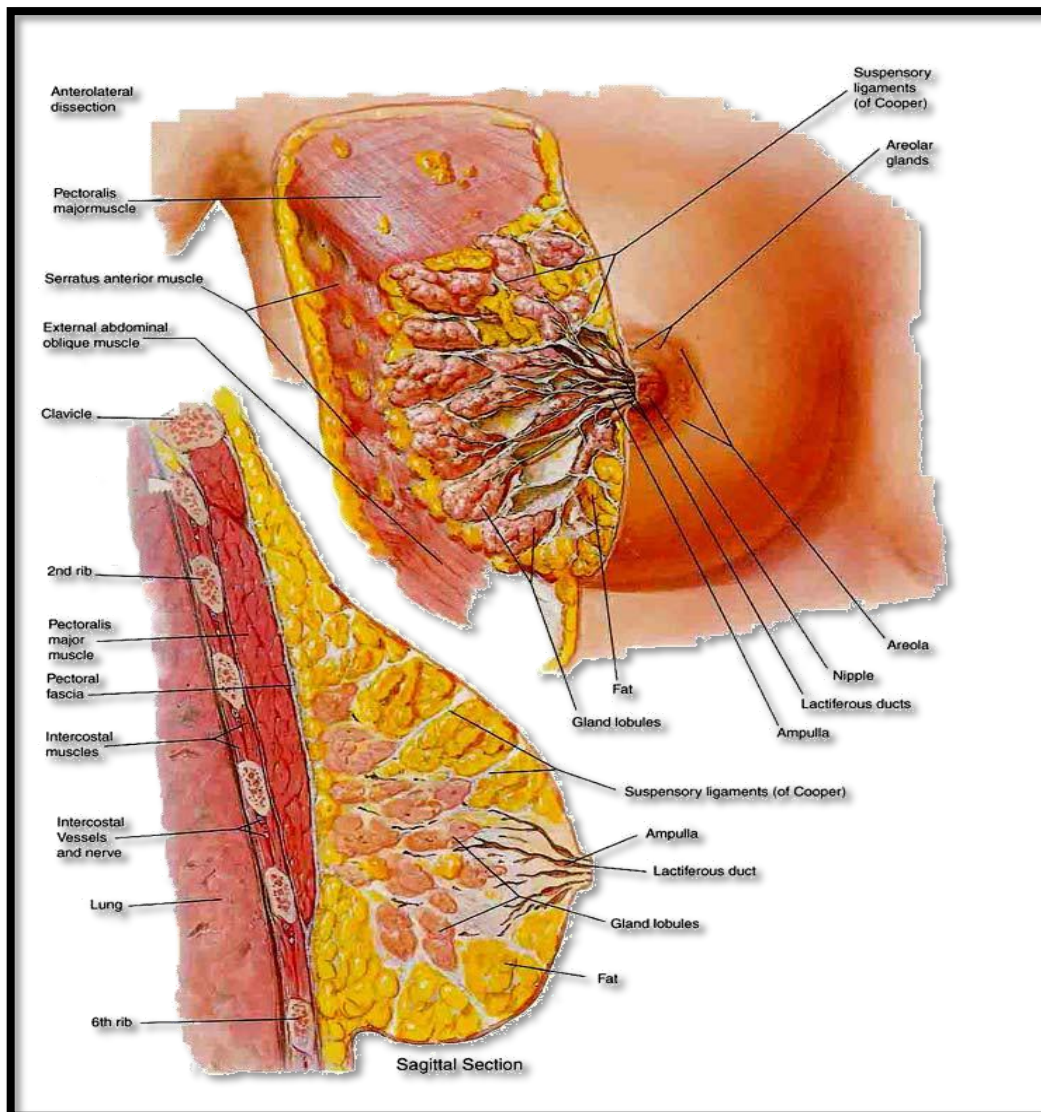


Figure 2: Sein. Coupe sagittale et frontale (Netter, 2007).

I.1.2. Facteurs contrôlant la glande mammaire

Le tissu sécréteur mammaire n'a qu'une existence transitoire et cyclique. Ce cycle est finement contrôlé par une balance entre facteurs stimulateurs et inhibiteurs de prolifération et de l'apoptose. Ces facteurs peuvent être des interactions cellules-cellules, cellules-matrice extracellulaire et des messagers diffusibles (hormones, facteurs de croissance). Enfin, la matrice extracellulaire est également essentielle à la croissance, à l'activité et à l'involution de la glande mammaire (Margan *et al.*, 2016). C'est le dérèglement de cette homéostasie qui est à l'origine de la cancérogenèse mammaire.

I.1.2.1. Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance régulent finement l'homéostasie de la glande mammaire normale. Ces facteurs jouant un rôle important au cours de la progression tumorale (Tableau 1).

Tableau 1: Principaux facteurs de croissance agissant sur les cellules épithéliales mammaires. Les IGF-BPs capables de moduler la disponibilité des IGFs ont été classés ici avec les facteurs de croissance.

Nom du facteur	Cellule productrice	Effet
Epidermal Growth Factor	cellule épithéliale	stimulateur de la prolifération
Insulin-like Growth Factor-I	cellule (myo) épithéliale	stimulateur de la prolifération
Transforming Growth Factor- α	cellule épithéliale	stimulateur de la prolifération
Fibroblaste Growth Factors	Cellule myoépithéliale, épithéliale et fibroblaste	stimulateur de la prolifération
Mammary Derived Growth Factor-1	cellule épithéliale	stimulateur de la prolifération
Transforming Growth Factor- β	cellule épithéliale	inhibiteur de la prolifération
Insulin-like Growth Factor Binding Proteins	cellule épithéliale	régulateurs négatifs de l'effet de l'IGF-I

I.1.2.2.Hormones

Les oestrogènes sont impliqués dans la stimulation de la croissance mammaire à la puberté et pendant la grossesse en stimulant la croissance des canaux et en augmentant les récepteurs à la progestérone (**Hansen et Bissell, 2000 ; Russo et al., 2006**). L'oestradiol active la transcription de plusieurs gènes précoces dont *FOS*, *JUN*, *MYC*, *MYB* qui, à leur tour, vont permettre de réguler la transcription d'autres gènes (**Roy et Vadlamudi, 2012**). Cette signalisation hormonale passe par les récepteurs aux oestrogènes (RE): le RE α (**Barnes et al.,2004 ; Kumar et al., 2005**) et le RE β (**Haldosén et al., 2014 ; Eygue and Murphy, 2013**).

Ces récepteurs sont des membres de la superfamille des récepteurs nucléaires et ont des structures fortement homologues mais activent des gènes différents (**Thomas et al., 2004**). Après liaison des oestrogènes, ces récepteurs sont capables de former des homodimères ou des hétérodimères qui activent la transcription de gènes cibles *via* leurs liaisons aux ERE (éléments de réponse aux oestrogènes) (**Zhang et al., 2013**).. Le rapport RE α / RE β semble plus élevé dans le tissu tumoral mammaire que dans le tissu normal (**Bozkurt et Kapucuoglu, 2012**).

A côté des oestrogènes, la prolactine (ou PRL) a également un puissant pouvoir mitogène sur les cellules épithéliales mammaires décuplé par les oestrogènes. On retrouve les récepteurs de la prolactine sur des membranes de cellules de cancer du sein dans environ 40% des cas, sans incidence pronostique (**Clevenger 2003 ; Soysal et al., 2006**).

Enfin, l'insuline stimule aussi la prolifération des cellules épithéliales mammaires par l'intermédiaire des récepteurs aux IGFs (**Frasca et al. 2003 ; Dioro et al., 2008**).

I.2.LE CANCER DU SEIN

I.2.1. Définition

La notion de « cancer du sein » relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif (**Bombonat, 2011**).

Le terme de « cancer du sein » ne désigne que les tumeurs malignes, potentiellement agressives du sein tandis que le terme de « tumeur du sein » désigne à la fois les tumeurs malignes et bénignes. Le terme « carcinome » ou « épithélioma » est parfois utilisé, comme synonyme de « cancer » (**Bombonat, 2011**). En réalité le carcinome est un terme spécifique de morphologie microscopique (histologique) qui désigne les types les plus fréquents du cancer du sein d'origine épithéliale (**Morimoto et al., 2004**).

La plupart des tumeurs malignes du sein sont des adénocarcinomes développés soit à partir des cellules épithéliales des lobules glandulaires (carcinomes lobulaires) soit à partir des cellules épithéliales des canaux galactophores (carcinomes canaux) et représentent environ 98% des carcinomes mammaires. Dans des cas rares, les cellules cancéreuses mammaires prolifèrent en carcinome in situ sans rupture de la lame basale, par opposition au carcinome infiltrant (**Tavassoli, 2003**).

le carcinome est souvent infiltrant, ses formes les plus fréquentes sont le carcinome canalaire infiltrant (85%) et le carcinome lobulaire infiltrant (5%) (**Oyama et al., 2000**). Mais il existe d'autres formes rares de carcinomes infiltrants, tels que les carcinomes médullaires, les carcinomes mucineux (ou colloïdes), les carcinomes tubuleux, les carcinomes apocrines et la maladie de Paget (tumeur du mamelon (**Rakha et al., 2006**). Le **Tableau 2** montre la

classification histologique des cancers mammaires préconisée par l'Organisation Mondiale de la Santé (**Tavassoli, 2003**).

Tableau 2: Classification histologique des carcinomes mammaires selon l'OMS (Tavassoli *et al.*, 2003).

Tumeurs épithéliales non infiltrantes
Carcinome canalaire in situ (intra-canalaire) (CCIS)
Carcinome lobulaire in situ (CLIS)
Tumeurs épithéliales infiltrantes
Carcinome canalaire infiltrant de forme commune
Carcinome canalaire infiltrant avec composante intra-canalaire prédominante
Carcinome lobulaire infiltrant
Carcinome mucineux
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

I.2.2.Épidémiologie

Selon l'OMS, l'incidence du cancer du sein est en augmentation quelque soit le pays où il est diagnostiqué avec 1.38 million de nouveaux cas par an dans le monde (**OMS, 2016**). Il est le premier cancer chez la femme. Son incidence est variable d'un pays à l'autre selon son appartenance au groupe développé ou en voie de développement avec 690.000 nouveau cas pour chaque groupe (**Tardivon, 2009**) (**Figure 3**).

Son incidence varie de 19.3 pour 100.000 femme en l'Afrique de l'est (**Desantis et al., 2016**) , à 89.7 pour 100.000 femmes pour l'Europe de l'ouest(**Ganiy et Ganiyu, 2012**), et > 80 pour 100.000 dans les pays développés du monde, à l'exception du Japon, et < 40 pour 100.000 dans la plupart des pays en voie de développement(**Betsy et al., 2015**) .

Pour les USA 231 840 nouveau diagnostiqués et 40 290 décès liés au cancer du sein en 2015 son incidence est de 105 pour 100.000 femme par an, il représente 28% de tous les cancers (**Ward et al., 2015**). En France 48 763 nouveaux cas de cancer du sein estimés en 2012 en France avec un taux d'incidence de 88,0/100 000 femmes et 11 886 décès durant la même année (**Institut national du cancer, 2015**).

Pour l'Algérie le cancer du sein occupe la première place des cancers chez la femme. La prévalence du cancer du sein sur 5 ans est de 15 160 de 2003 a 2008 avec un taux d'incidence de 28.8 pour 100.000 femme le nombre de nouveau cas est estimé à 4170 (**Abid, 2009**).

Alors que l'enquête nationale du comité cancer 2005 a annoncée 6000 cas et 9000 cas de cancer du sein dont l'âge moyen est de 45 ans ont été détectés au courant de l'année 2009. Dans les 3 principaux registres Algériens. L'incidence standardisée selon l'âge est de 21,6, 17,03 Et 34,49 pour 105 femmes pour les registres d'Alger, Sétif et Oran, respectivement (**Belkacémi et al., 2010**).



Figure 3: Taux d'incidence du cancer du sein dans le monde (Jemal *et al.*, 2010)

Le nombre de décès par cancer du sein dans le monde est de 458 000. Il est toujours la première cause de mortalité féminine que ce soit dans les pays développés (269000) ou en voie de développement (189 000) avec un taux de mortalité compris entre 6-19 pour 100000 femmes (Betsy *et al.*, 2015). En Algérie le taux de mortalité est de 15.6 pour 100 000 femmes avec une mortalité dont 2197 cas par an (Corbex *et al.*, 2014).

I.2.3.Facteurs pronostiques

Les éléments de pronostic du cancer du sein sont de plusieurs ordres : cliniques, histologiques et biologiques.

I.2.3.1. Facteurs cliniques

I.2.3.1.1. La classification cTNM

Plus la connaissance des tumeurs s'améliore, plus l'hétérogénéité s'accroît. Il est nécessaire de pouvoir regrouper les tumeurs en groupes homogènes sur un plan pronostique et

thérapeutique. La classification TNM proposée par Pierre Denoix a le mérite de répondre à ces exigences. Elle a été retenue comme base de classification par le comité de nomenclature et de statistique de l'UICC (Union Internationale Contre le Cancer) (**Broeders *et al.*, 2000**).

Elle est basée sur le principe de l'extension anatomique déterminé par la clinique et l'histopathologie. A la base du système T (tumor-tumeur), N (nodes-ganglions), M(metastasis-métastases) il y a l'idée de coder l'extension locale, régionale et générale d'une façon générale, on associe à ces trois lettres des chiffres (dont la valeur augmente quand augmente la gravité) qui varie de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et soit 0 soit 1 pour le M. Cela conduit à un grand nombre de possibilités TNM (**Sobin et Wittekind, 2009**)

I.2.3.1.2. L'âge

L'âge est le facteur de risque le plus important du cancer du sein, avec une courbe d'incidence augmentant de 30 à 70 ans. Les cancers survenant avant 50 ans représentent 15 à 20% des cancers du sein. L'âge moyen de survenue du cancer du sein est de 55 ans. le cancer du sein est beaucoup plus agressif chez une femme jeune que chez une femme ménopausée (**Hill *et al.*, 2003**).

I.2.3.1.3. Le délai de prise en charge

Le retard de prise en charge thérapeutique assombrit nettement le pronostic. Une métaanalyse de 87 études, a révélé que les patientes pour les quelles ce délai était supérieur à 3mois avaient un taux de survie de 12 % inférieur à celui des femmes prises en charge plus rapidement (**Edge *et al.*, 2009**).

Il faut souligner la fréquence du diagnostic tardif dans notre pays, en effet une grande proportion des cancers diagnostiqués sont des formes localement évoluées (T3, T4), avec une taille moyenne de 50 mm et une patiente sur cinq présente des métastases lors du diagnostic (**Edge *et al.*, 2009**).

I.2.3.2. Facteurs anatomopathologiques

I.2.3.2.1. Le type histologique

En général, le type histologique n'est pas un critère utilisé en pratique, même si il est reconnu que certains types histologiques distingués par l'OMS 2012 sont de meilleurs pronostics tels que : les carcinomes lobulaires, mucineux (colloïdes) et médullaires.

I.2.3.2.2. La taille tumorale

Elle est liée à l'envahissement ganglionnaire même si à statut ganglionnaire identique l'augmentation de la taille tumorale est associée à un pronostic défavorable. Une taille tumorale supérieure à 2 cm représente un facteur de mauvais pronostic (**Michaelson et al., 2003**).

I.2.3.2.3. Le grade histopronostique SBR

L'évolution d'un cancer est liée à son degré d'anaplasie par rapport au tissu d'origine. En effet, plus une tumeur est anaplasique plus l'évolution est péjorative. La classification histopronostique la plus utilisée actuellement est le grade de « Scarff, Bloom and Richardson » (SBR) (**Bloom and Richardson, 1957**), revu par le groupe de Nottingham (**Amat et al., 2002**), repris par l'European Community Working group for Breast Pathology et préconisé par l'OMS.

La méthode du *grading* **SBR** consiste à évaluer trois paramètres morphologiques:

- La formation de tubules ou degré de différenciation
- Le pléomorphisme nucléaire ou degré d'anisonucléose
- La fréquence des mitoses.

Un score allant de 1 à 3 est attribué à chacun de ces paramètres. Les différents scores sont additionnés pour obtenir le grade histologique global :

- Grade I = score 3-5 (pronostic favorable)
- Grade II = score 6-7 (pronostic intermédiaire)
- Grade III = score 8-9 (pronostic sombre)

Les cancers de grade I sont mieux différenciés, tandis que les cancers de grade III le sont moins. Les cancers indifférenciés ont habituellement une évolution plus grave et plus rapide que les cancers différenciés (**Amat *et al.*, 2002**).

I.2.3.2.4. L'envahissement ganglionnaire

Le cancer du sein est très lymphophile. L'envahissement ganglionnaire est habituellement considéré comme le plus important des facteurs pronostiques. Sa présence est corrélée à la taille de la tumeur et au grade SBR. D'autres éléments tels que la taille ganglionnaire, l'importance de l'envahissement et la rupture capsulaire sont également discutés. Actuellement, beaucoup d'équipes s'intéressent au caractère micro métastatique de l'envahissement déterminé par immuno-marquage (**Vinh-Hung *et al.*, 2003**).

I.2.3.3. Facteurs biologiques

I.2.3.3.1. Les récepteurs hormonaux

Il existe 2 types de récepteurs hormonaux : les récepteurs à l'œstrogène (RE) et à la progestérone (RP). La première étude de la valeur pronostique des récepteurs aux œstrogènes publiée par Knight en 1977 indiquait une fréquence de récurrence nettement plus importante pour les patientes RE- que pour les malades RE+. Il existe plusieurs méthodes de dosage de ces récepteurs, la référence étant la méthode de dosage immunohistochimique (**Hammond *et al.*, 2010**).

Il est classique de distinguer les tumeurs de bon pronostic RE+RP+ de celles de mauvais pronostic RE- RP-. Les carcinomes mammaires sont plus ou moins sensibles à l'hormonothérapie en fonction de l'état de ces récepteurs hormonaux (**Jensen *et al.*, 2004**).

I.2.3.3.2. Les marqueurs de prolifération

À côté de l'activité mitotique qui doit impérativement être évaluée pour établir le grade SBR, des marqueurs de prolifération peuvent être utilisés, tels que l'analyse de

l'expression de Ki67 par immunohistochimie ou la détermination du pourcentage de cellules en phase S (synthétisant l'ADN) (**Romero et al., 2014**). Il a été démontré que l'expression de Ki67 dans les carcinomes mammaires est associée à un mauvais pronostic (**Inwald et al., 2013**).

I.2.3.3. Autres

L'expression de *bcl-2* serait un marqueur de bon pronostic (**Yu et al., 2010**). Elle est associée à l'expression des récepteurs à l'oestrogène et s'accompagnerait d'une survie sans rechute plus longue et d'une meilleure réponse au tamoxifène (**Yu et al., 2010**).

La *cathepsine D*, qui est une enzyme lysosomiale, serait surexprimée dans les cancers du sein de mauvais pronostic : grade histologique élevé, taille importante, envahissement ganglionnaire). Elle est associée à un risque accru de rechute et à une diminution de la survie sans récurrence. Cependant, l'expression de la cathepsine D par les cellules tumorales ne semble pas représenter un facteur pronostique indépendant (**Fitzgibbons et al., 2000**).

La surexpression de l'EGFR a été démontrée dans certains carcinomes mammaires n'exprimant pas le récepteur aux oestrogènes. Elle serait associée à une mauvaise réponse au tamoxifène, mais actuellement aucun consensus quant à la relation entre la surexpression du récepteur à l'EGF et la survie sans récurrence n'a été établi (**Fageng et al., 2013**).

I.2.4. Facteurs de risque génétiques

Le risque relatif est multiplié par 4 pour une femme ayant un parent de premier degré ayant développé un cancer du sein. Les antécédents familiaux de cancer du sein sont notés dans 14% des cas, le lien de parenté étant de premier degré (mère et/ou sœur) dans 64% des cas (**Antoniou et al., 2003**). Plus le lien de parenté est étroit, plus le facteur de risque est élevé. Une transmission héréditaire pourrait être à l'origine de 5 à 10% des cancers du sein.

Le risque cumulé au cours de la vie d'une femme de développer un cancer du sein sporadique est de 8 à 10% (soit une femme sur 10 ou 12) (**Barcenas *et al.*, 2006**).

I.2.5. Facteurs de risque environnementaux

- Le rôle des facteurs alimentaires avec excès de graisse animale, souvent source d'obésité, est discuté et expliquerait l'incidence croisée avec le cancer de l'endomètre. L'obésité après 50 ans augmente le risque de cancer du sein d'environ 20% (**Kelsey *et al.*, 1996**).

- Le rôle de l'irradiation a été prouvé par les explosions atomiques d'Hiroshima, ainsi que les expositions professionnelles aux polluants environnementaux et les agents chimiques (**Krajinovic *et al.*, 2001**).

- Le niveau socio-économique : il est mis en évidence par la plupart des études que les femmes qui ont un niveau de vie élevée ont un risque multiplié par 2.

- Le tabagisme et la consommation d'alcool augmenterait le risque de 200% (**Hamajima *et al.*, 2002**).

- Le facteur viral : de multiples études sont en cours dans ce domaine étant donné qu'une implication virale a déjà été prouvée pour plusieurs tumeurs . les virus ont la faculté d'intégrer leur génome dans l'ADN des cellules hôtes. On peut donc comprendre dans quelle mesure, ils peuvent être impliqués dans cette pathologie, puisqu'ils pourraient générer des mutations génétiques engendrant le cancer.

I.3.MÉCANISME CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE DE LA CANCÉROLOGIE MAMMAIRE

I.3.1.Une origine multifactorielle

La cancérogénèse mammaire est un phénomène multifactoriel, impliquant plusieurs gènes, dans les formes héréditaires (anomalies génétiques constitutionnelles) comme dans les formes sporadiques (anomalies génétiques somatiques) (**Figure 4**). Les modifications les plus fréquemment décrites dans le cancer du sein sont des amplifications d'oncogènes, et des mutations ou délétions de suppresseurs de tumeurs (**Russnes *et al.* 2011**). Comme toute tumeur solide, l'hétérogénéité des cancers du sein implique qu'il existe plusieurs voies menant à la carcinogénèse mammaire avec des étapes différentes. Le cancer solide n'est pas un état statique, mais un processus pathologique évolutif dans lequel les cellules cancéreuses en mutation ne prennent l'ascendant sur les autres que si leur modification leur confère un avantage sélectif (**Karina *et al.*, 2014**).

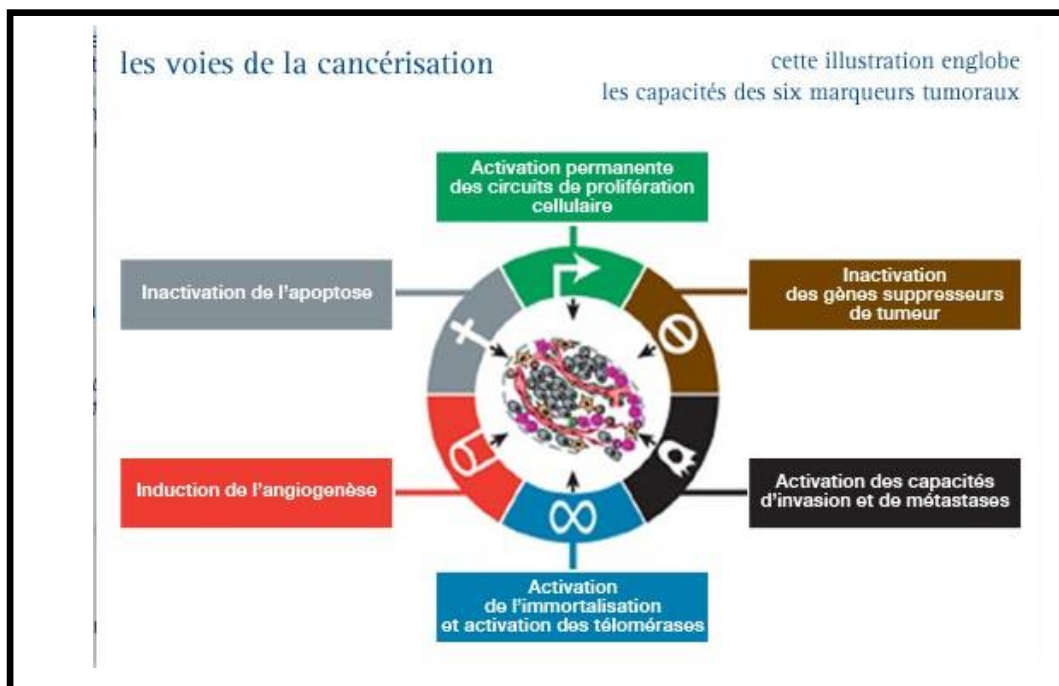


Figure 4: Les six étapes fondamentales de la cancérogénèse (Hanahan et Weinberg, 2000)

I.3.2. Les anomalies génétiques

L'étiologie des cancers du sein n'est pas totalement élucidée mais probablement multiple, c'est un cancer multigénique, multifactoriel, hétérogène à l'arrivée du fait de l'instabilité génique. Le fait d'avoir le même environnement, le même style de vie et un patrimoine génétique commun, ajouté à l'instabilité génomique en rapport avec les mutations, expliquerait en partie le risque accru de cancer du sein associé à l'agrégation familiale et aux mutations génétiques (**Caron, 2014**)

I.3.2.1. Amplification d'oncogènes

Les altérations génétiques peuvent concerner la partie régulatrice ou la partie codante du gène. Dans les cancers du sein, l'activation des oncogènes par amplification génique a été fréquemment décrite ; les mutations ponctuelles, les insertions ou les réarrangements géniques ont été moins observés (**Osborne *et al.*, 2004**). Les amplifications les plus fréquentes concernent trois oncogènes (**Figure 5**).

I.3.2.1.1. L'oncogène *MYC* est l'un des premiers proto-oncogène étudié. Il est localisé en 8q24, et code pour un facteur de transcription impliqué à la fois dans la croissance, la différenciation et l'apoptose (**Eilers et Eisenman, 2008**). Sa fréquence d'amplification semble plus fréquente en cas d'atteinte ganglionnaire axillaire, ou de grade histopronostique élevé. Cependant, il semble que des événements additionnels à l'amplification de *myc* soient nécessaires à la tumorigénèse mammaire (**Todorovic *et al.*, 2012 ; Singhi *et al.*, 2012**).

I.3.2.1.2. L'oncogène *CCND1*

Un oncogène souvent amplifié dans les tumeurs mammaires est *CCND1* (11q13). Ce gène code la cycline D1 qui régule le passage G1/S ou G2/M. Ce gène est amplifié dans 13 à 20% des carcinomes mammaires (**Arnold et Papanikolaou, 2005**). Comme *myc*, la surexpression de la cycline D1 seule n'a pas un fort pouvoir oncogénique mais est une des premières étapes de l'oncogénèse mammaire (**Elsheikh *et al.*, 2008**).

I.3.2.1.3. Le proto-oncogène *c-ERBB2*

Le proto-oncogène *c-ERBB2* (ou encore *HER2*) localisé en 17q21-22 est l'homologue humain du gène *neu* isolé de cellules de neuroblastomes induites chez le rat, et représente le troisième oncogène le plus fréquemment amplifié dans les tumeurs mammaires. Il fait partie de la famille des gènes des récepteurs de facteurs de croissance de type I à laquelle appartient le récepteur de l'EGF (Erb-B1). Il est amplifié et ou surexprimé dans 10 à 46% des cas (Jacobs *et al.*, 2000). Les études ont montré que cette amplification était corrélée à des paramètres histologiques ou biologiques d'agressivité, tels qu'un grade histologique élevé, l'absence de récepteurs à l'estradiol. Cette amplification semble plus fréquente dans les cancers canaux (42-45%) par contre elle n'existe pratiquement jamais en cas de forme lobulaire (Tan et Yu, 2007).

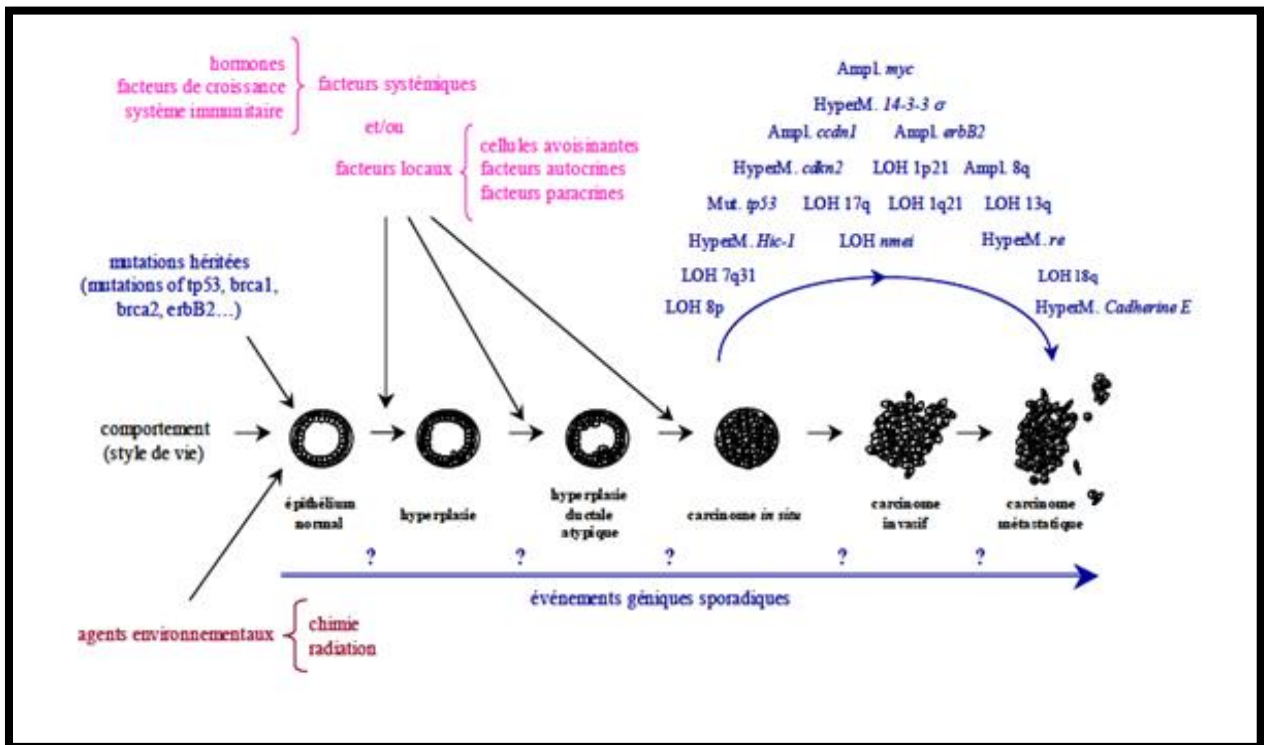


Figure 5: Schéma hypothétique des anomalies génétiques au cours de la cancérogenèse mammaire. (Bièche et Lidereau, 2000)
(HyperM. : hyperméthylation ; Ampl. : amplification ; LOH : loss of heterozygoty).

I.3.2.2. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs

Les gènes suppresseurs de tumeurs agissent à différents niveaux de la vie de la cellule. Communément, on les subdivise en garants de la stabilité du génome. Les mutations des gènes répresseurs comme le gène *RB* (retinoblastoma), ou le gène *p53* agissent de manière récessive puisque l'inactivation du répresseur nécessite l'altération des deux allèles du gène répresseur (**Rushika et al., 2012**). Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de cette inactivation. Actuellement, les pertes d'hétérozygotie (ou pertes d'allèles), les mutations et les altérations épigénétiques représentent les 3 événements les plus observés dans le cancer du sein lors de l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. (**Lee et al., 2010**).

I.3.2.2.1. Gène *p53*

Des mutations ponctuelles sont également impliquées dans le processus de cancérisation. Ainsi des mutations du gène *p53* (localisé dans la région 17q13), considéré comme l'un des gardiens du génome, sont retrouvées dans environ 15 à 60% des cancers du sein (**Gasco et al., 2002 ; Hussain et al., 2006**). Cette protéine joue un rôle majeur dans le contrôle du cycle cellulaire, de la réparation et de la synthèse de l'ADN, de la différenciation et de la mort programmée. Son inactivation peut augmenter le pool de cellules en phase de prolifération ainsi que la probabilité de leur transformation maligne par inhibition du processus de l'apoptose. La transfection du gène *p53* normal dans des cellules cancéreuses mammaires, inhibe leurs divisions, démontrant son rôle suppresseur (**Greenblatt et al., 2001**).

I.3.2.2.2. Le gène *RB*

Le gène *RB* (localisé au niveau de la région 13q14), premier gène suppresseur de tumeur découvert, est impliqué dans le rétinoblastome de l'enfant. Il code une protéine de 105 à 110 kDa, impliquée dans le contrôle de la croissance cellulaire et du cycle cellulaire et qui peut se lier à différentes protéines cellulaires, dont les cyclines D (**Witkiewicz et Knudsen, 2014**). On retrouve une perte d'hétérozygotie au niveau de la région 13q14 ou au niveau du

gène *RB* lui-même dans environ 30% des cas. Dans environ 20% des cas, on retrouve une anomalie structurale du gène, De plus, une perte d'expression de la protéine dans 15 à 30% des cas est également constatée (**Erte et al., 2010**).

I.3.2.2.3. la cadhérine E et le CD44

la *cadhérine E* et le *CD44* sont les exemples les plus couramment mutés. *CD44* est impliquée dans de nombreux processus de signalisation et présente de hauts taux d'expression dans de nombreuses cellules tumorales (**Fillmore et Kuperwasser, 2007**). En effet, la *E-cadhérine* régule négativement l'activité de récepteurs à activité tyrosine kinase comme l'EGFR (**Qian et al., 2004**). L'*E-cadhérine* a aussi une capacité de signalisation en stimulant, indépendamment de l'adhérence cellulaire, l'activité de la β -caténine, composant de la voie Wnt (**Ireton et al., 2002**). Ce gène est localisé en 16q22, région qui présente assez fréquemment des pertes d'hétérozygotie . En particulier, la perte d'*E-cadhérine* est impliquée dans la transition épithélio-mésenchymateuse observée dans le cancer du sein. On peut ainsi considérer l'*E-cadhérine* comme un suppresseur de tumeur et un suppresseur de métastase (**Cowin et al., 2005**).

I.3.2.2.4. Les protéines p16 et p27

Les protéines p16 et p27, dont les gènes sont localisé en 9p21 et 12p12 respectivement, sont des inhibiteurs spécifiques de kinases dépendantes des cyclines et sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire faisant ainsi partie des *gate-keepers* (**Sandhu et al., 2000**). Il existe des délétions du gène *p16* dans 46% des lignées étudiées (**Wong et al., 2001**) de même pour le gène *p27*.

I.3.2.2.5. Le gène *BRCA*

BRCA1 (breast cancer susceptibility 1, 17q21) et *BRCA2* (13q12) sont des gènes suppresseurs tumeurs dont la mutation prédispose aux cancers du sein mais aussi de l'ovaire, du pancréas et de la prostate (**Shapira *et al.*, 2011**). Bien que les mutations de *BRCA1* semblent être retrouvées dans 45% des formes familiales de cancers du sein (**Senst *et al.*, 2013**), une mutation de *BRCA* est rarement retrouvée dans les formes sporadiques de cancers du sein (**Shapira *et al.*, 2011**). Les protéines BRCA sont impliquées dans la réparation de l'ADN, l'activation transcriptionnelle d'autres suppresseurs et le contrôle du cycle cellulaire grâce à leur interaction avec rad51 (enzyme de réparation de l'ADN), p53, l'ARN polymérase II (**Vanstone *et al.*, 2012**).

I.4. HÉTÉROGÉNÉITÉ MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN

Le cancer du sein apparaît aujourd'hui comme une maladie génétique complexe caractérisée par l'accumulation et la combinaison de multiples altérations moléculaires (Carey *et al.*, 2006). La connaissance de certaines de ces anomalies a déjà permis des avancées majeures sur les plans du diagnostic, du pronostic et de la thérapeutique (Franche *et al.*, 2015).

Aujourd'hui, les nouvelles technologies d'analyse moléculaire à grande échelle qui étudient plusieurs milliers de molécules simultanément dans un échantillon en une seule expérience permettent pour la première fois d'aborder la complexité moléculaire des cancers. Les retombées attendues devraient être importantes sur l'amélioration de la prise en charge des patients (Yersal et Barutca, 2014).

I.4.1. CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN

Sorlie et Pérou ont proposé la première taxonomie moléculaire des cancers du sein, en utilisant cette liste de gènes pour réaliser un clustering hiérarchique (Perou *et al.*, 2000), il a permis de classer la population en cinq sous-types moléculaires : Luminal A, Luminal B, HER2, Triple Négatif et Normal Like. Ce dernier type fut ensuite écarté car il correspondait à un biais de sélection de certaines tumeurs contaminées par du tissu mammaires non cancéreux (Naderi *et al.*, 2007) (Figure 6).

Cette classification a ensuite été validée par plusieurs plateformes d'analyse transcriptionnelle, pour différentes populations de patientes et sur différentes formes anatomocliniques de la maladie. Elle permet de dégager des groupes de pronostic différent. combinée à la classification histoclinique classique (Vuong *et al.*, 2014), elle représente une base nosologique, et confirmé l'intérêt de l'analyse transcriptionnelle. La classification des

tumeurs du sein dans ces différents groupes a été validée et a montré sa valeur pronostique (Vuong *et al.*, 2014).

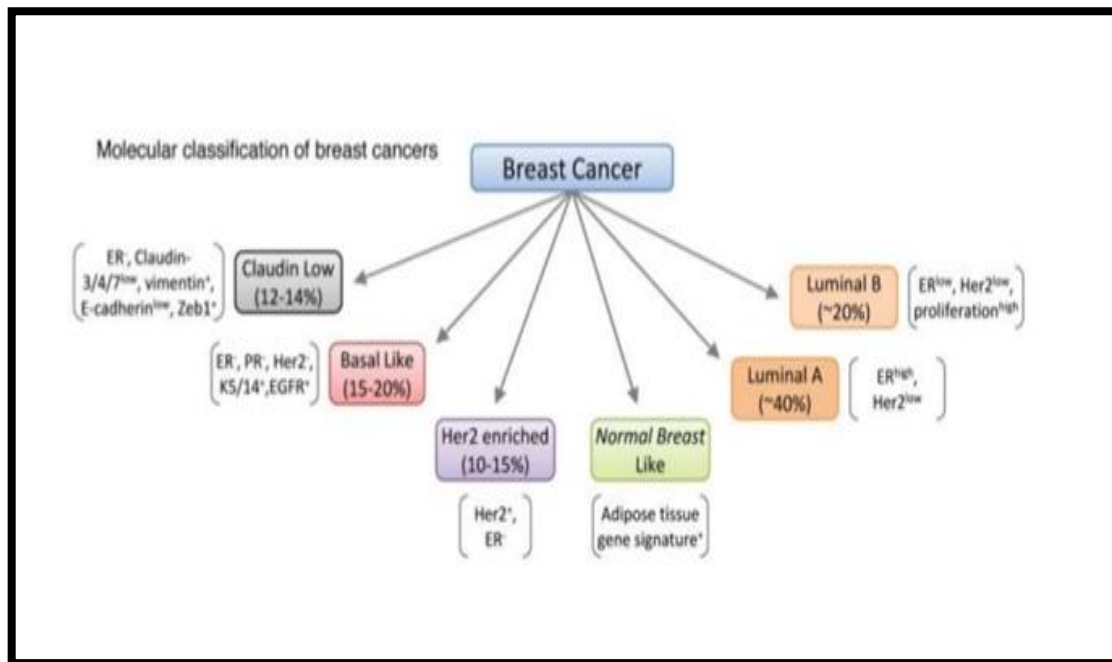


Figure 6: Classification moléculaire du cancer du sein (Adoire , 2010)

I.4.2. Sous types Luminaux

Dans la classification moléculaire décrite par Perou et al., elles correspondent aux tumeurs dites Luminales qui expriment principalement des gènes exprimés dans les cellules épithéliales mammaires bien différenciées présentes dans la lumière des canaux galactophores (Habashy *et al.*, 2012). Ce groupe de tumeur a une évolution clinique plus lente que les deux autres groupes.

Ce sont les formes les plus fréquentes des cancers du sein avec près des deux tiers des cas. Elles comprennent deux sous-groupes A et B selon qu'elles expriment fortement, Luminal A ou faiblement, Luminal B (Inic *et al.*, 2014).

I.4.2.1. Luminal A

Le Luminal-A est le sous-type le plus courant et représente 50% à 60% de tous les cancers du sein. Ces tumeurs ont souvent un faible grade histologique, un faible degré

pleomorphisme nucléaire, faible activité mitotique et des types histologiques particuliers (c'est-à-dire des formes tubulaires, invasives, mucineux et lobulaires) avec un bon pronostic . Par immunohistochimie Le sous-type Luminal-A est défini comme ER-positif Et / ou PR-positives avec HER2 négatif et Ki67 faible (antigène nucléaire à cellules proliférantes) (**Carey et al., 2006**).

Les patients atteints d'un cancer du sein luminal-A ont un bon pronostic; Le taux de rechute est significativement inférieur à d'autres sous-types. La récurrence est fréquente dans l'os, alors que métastases du foie, du poumon et du système nerveux central se représentent dans moins de 10% des patients, et le traitement est principalement basé Sur l'hormonothérapie (**Kennecke et al., 2010 ; Guarneri et al., 2009**).

I.4.2.2.Luminal B

Les tumeurs Luminal-B comprennent 15% à 20% des cancers du sein Et ont un phénotype plus agressif, Grade histologique et un indice prolifératif plus élevés ,se sont des tumeurs de mauvais pronostic (**Creighton et al., 2012**). Ce sous-type présente un taux de récurrence plus élevé et une survie plus faible par rapport au sous-type luminal-A (**Ellis et al., 2008**).

La principale différence entre les deux sous-groupes luminaux Est l'expression accrue de gènes liés à la prolifération tels que comme l'homologue d'oncogène viral de myéloblastose aviaire (v-MYB), Gamma Glutamyl hydrolase (GGH), la transmembranaire associée au lysosome Protéine 4-bêta (LAPTMB4), liaison d'élément sensible à la nucléase La protéine 1 (NSEP1) et la cycline E1 (CCNE1) (**Reis-Filho et al., 2010**).

Du point de vue immunohistochimique, Le sous-type B est défini comme ER-positif Et / ou PR-positives avec HER2 positif et Ki67 plus élevé.

I.4.3. le sous type triple négatif

Le sous-type basal représente de 8% à 37% de tous les cancers du sein (**Rakha et al., 2009**), forme un groupe de tumeurs du sein présentant des caractéristiques agressives avec un grade SBR 3 dans 85 à 100% des cas ,un index mitotique élevé ,des atypies nucléaires marquées (**Masuda et al., 2013**).

Les tumeurs appartenant au sous-groupe basal représentent des niveaux élevés de marqueurs myoépithéliaux basaux, tels que CK5/6, CK 14, CK 17 et la laminine,. Ils surexpriment aussi P-cadhérine, fascin, caveolins 1 et 2, alphabeta Cristallin et le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) (**Chen et al., 2012**). Les cancers de type basal présentent des mutations germinales délétères *BRCA1* , et des mutations dans le gène de la protéine tumorale 53 (*TP53*) (**Tutt et al., 2014**).

Il est important de préciser que les termes triple négatif et basal-like ne représentent pas le même synonymes , Le terme «triple négatif» désigne les tumeurs qui n'expriment pas en immunohistochimie ni le récepteurs aux œstrogènes RE , ni le récepteur à la progestérone RP, ni la protéine Her2 codée par l'oncogène *ERBB2* , alors que le sous-type basal est défini via une analyse d'expression génique par microarray (**Masuda et al., 2013**).

I.4.4. le sous type HER2 positif

Ce sous-type de tumeurs identifié par analyse génomique présente une amplification de l'oncogène *ERBB2* (**Moasser et al., 2007**). Il est défini en immunohistochimie par un score Her2 3+ (marquage membranaire complet de plus de 10% des cellules tumorales en immunohistochimie) ou une amplification en FISH du gène (nombre de copies / nombre de centromères 17 > 2.2) (**Gutierrez et al., 2011**). Le groupe de tumeur défini par la classification moléculaire de Perou et al. peut être identifié par le marquage immunohistochimique Her2 score 3+. La positivité du marquage pour le récepteur aux œstrogènes est débattue (**Staaf et al., 2010**).

Ces tumeurs représentent 15 à 20% des cancers du sein. Elles présentent des caractéristiques agressives avec une survie sans récurrence diminuée, un risque de récurrence élevé et un risque accru de métastase cérébrales (**Gutierrez *et al.*, 2011**).

La protéine Her2 appartient à une famille de récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase ayant un rôle important dans la croissance, la survie et la différenciation cellulaire. Un anticorps monoclonal humanisé, la trastuzumab, est dirigé contre Her2 et inhibe son fonctionnement. Ce traitement ciblé a fait la preuve de son efficacité en combinaison avec des taxanes dans les cancers du sein surexprimant Her2 métastatiques (**Prat *et al.*, 2011**).

I.5. LES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES

I.5.1. La chirurgie

Le principe de la chirurgie est de réaliser l'exérèse (de tissus ou ganglions tumoraux) en passant au large pour disposer d'une marge de sécurité suffisante. Cette exérèse permet de disposer d'un diagnostic précis, d'une histologie et de facteurs pronostics. Elle participe au traitement local de façon efficace (**Salmon , 2004**)

I.5.1.1. Mastectomie radicale

les indications de la mastectomie sont l'existence d'une lésion étendue, un cancer intra – canalaire étendu à plus de 3 cm, une lésion multi – focale, multicentrique. La limite classique de 3 cm varie selon la taille du sein et selon le résultat esthétique prévisible elle est la technique de référence en cas de récurrence ou dans les cas où la radiothérapie est impossible, rendant le traitement conservateur insuffisant (irradiation après hodgkin, maladies auto-immunes, etc.) (**Clough *et al.*, 2003**)

I.5.1.2. Chirurgie conservatrice

Il est devenu le traitement de référence pour les tumeurs de moins de 2 cm ou plus, si le volume du sein le permet et cela sans préjudice esthétique, ainsi que les foyers de micro calcifications limités à 3 cm. La tumorectomie est réalisée au large de la tumeur, avec des

marges d'exérèse macroscopiques saines qui sont fonction de la taille de la tumeur et surtout de son siège dans le sein (**Fitzal et al., 2006**).

I.5.1.3. Chirurgie du creux axillaire : le curage axillaire

L'envahissement ganglionnaire garde une valeur significative absolue sur la survie. La réalisation d'un curage axillaire (ou plus récemment du ganglion sentinelle, tumeur de petite taille 15 à 20 mm) doit être systématique pour toutes les tumeurs infiltrantes du sein, car il participe au contrôle local de la maladie. Il se fait d'abord au niveau axillaire ensuite mammaire interne puis sus claviculaire fait exceptionnellement (**Salmon , 2004**).

Le ganglion sentinelle est la recherche et prélèvement du ou des premiers ganglions drainant la tumeur primitive avec pour rechercher une atteinte métastatique axillaire et éviter le curage axillaire si ganglion sentinelle est négatif (**Porée et al., 2010**).

I.5.2. Chimiothérapie

Initialement, la chimiothérapie était réservée au traitement palliatif, en particulier des formes métastatiques. Aujourd'hui elle est très souvent utilisée dans des formes beaucoup moins avancées et de façon curative. La chimiothérapie doit être conduite par des spécialistes disposant des moyens de traitements et de surveillance suffisants. Les produits les plus utilisés sont schématiquement les suivants : les anthracyclines ; les taxanes ; les alkylants, en particulier le Cyclophosphamide ; les anti – métabolites, en particulier le 5 fluoro- uracile (**Shet et al., 2007**).

La chimiothérapie peut être néoadjuvante, elle est indiquée en cas de poussée évolutive (pev) pour toutes les équipes. Dans les autres cas, l'objectif est de pouvoir réaliser un traitement conservateur chez des patientes présentant des lésions de plus de 30 mm qui pourraient conduire alors à une mastectomie d'emblée. La chimiothérapie peut être palliative, elle est indiquée en cas de métastase (**Thompson et al., 2012**).

La chimiothérapie peut être adjuvante ; réservée qu'aux lésions invasives. Dans les cas suivants, son indication est consensuelle : lésions invasives de plus de 20 mm, SBR III, âge inférieur à 35 ans, récepteurs hormonaux négatifs, présence d'embolies tumorales lymphatiques et les lésions avec envahissement ganglionnaire (**Crozier *et al.*, 2014**) (**Figure 7**).

I.5.3. Radiothérapie

L'objectif principal de la radiothérapie est de réduire le risque de rechute tumorale mammaire et pariétale ou ganglionnaire locorégional. La radiothérapie du sein diminue le risque de récurrence locale de 60 %. une dose de 45 gray à 50 gray en 4,5 à 5 semaines est proposée. Dans la plupart des cas, un complément d'irradiation (ou surimpression) est effectué dans la zone du lit tumoral (**Cuzick, 2005**).

I.5.4. Hormonothérapie

La place de l'hormonothérapie dans le cancer du sein (avec récepteurs hormonaux positifs) est particulièrement importante. L'étude des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone fait partie intégrante et systématique de l'examen de tous les cancers du sein (**Odermatt *et al.*, 2013**). Schématiquement, on peut agir sur le cancer du sein par quatre voies :

- la suppression des sécrétions ovariennes est aujourd'hui rarement obtenue par chirurgie ou radiothérapie mais le plus souvent par utilisation d'agonistes de la LH-RH.
- les anti-œstrogènes : Tamoxifène, fulvestrant
- les inhibiteurs de l'aromatase : anastrozol, Letrozol, exemestane
- les progestatifs.

I.5.5. Thérapies ciblées

I.5.5.1. le Trastuzumab (Herceptin®)

Il est utilisé dans le traitement du cancer du sein avec surexpression de HER2. Le Trastuzumab (Herceptin) est un anticorps monoclonal bloquant ce récepteur. Il a d'abord été utilisé en situation palliative. En adjuvant, le trastuzumab administré tous les 21 jours, pendant 12 mois, réduit de moitié le risque de rechute chez les patientes HER2 + et d'environ un tiers la mortalité (**Goldhirsch *et al.*, 2013**).

I.5.5.2. Le Trastuzumab emtansine (T-DM1)

C'est un conjugué anticorps-médicament (antibody- drug conjugate ADC), est conçu pour inhiber la voie de signalisation de HER2 et délivrer l'agent chimiothérapeutique DM1 directement à l'intérieur des cellules cancéreuses HER2-positives. Le Trastuzumab emtansine offre à la fois les avantages potentiels du Trastuzumab et le mode unique de libération ciblée de l'agent chimiothérapeutique, ce qui devrait se traduire par une meilleure efficacité et moins d'effets indésirables. Utilisé en première ligne métastatique ou en cas d'échec au Trastuzumab (Herceptin®) (**Girish *et al.*, 2012**).

I.5.5.3. Pertuzumab

C'est un anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 qui se lie spécifiquement à la partie extracellulaire de ErbB 2 au niveau d'un épitope différent de celui de l'Herceptine, à l'inverse de celle-ci il peut inhiber l'hétérodimérisation (ErbB2-ErbB1, ErbB2- ErbB3, ErbB2- ErbB4), il inhibe ainsi la croissance tumorale des tumeurs présentant soit une expression importante ou modérée de Erb 2. Utilisé soit en néoadjuvant, ou soit en situation palliative associée à la chimiothérapie (**Baselga *et al.*, 2012**).

I.5.5.4. Bevacizumab

Il est utilisé dans le traitement du cancer du sein métastatique en association avec le paclitaxel, en première ligne métastatique. C'est un anticorps monoclonal anti VEGF qui se fixe électivement sur ce facteur de croissance et bloque ainsi la néo- angiogenèse. Associé au

paclitaxel, ce traitement double le temps de réponse (temps jusqu'à progression de la maladie). En revanche, il n'y a pas d'augmentation du temps de survie (**Bear et al., 2012**)

I.5.5.5.Lapatinib

Il est donné en traitement oral. C'est un inhibiteur intra cellulaire de l'activité de tyrosine kinase des récepteurs HER2 et HER1 (EGFR). Chez les patientes surexprimant HER2, en progression tumoral sous trastuzumab et ayant déjà reçu des anthracyclines et des taxanes, l'association lapatinib-capecitabine double le temps de réponse par rapport à la capecitabine seule, sans bénéfice sur la survie globale (**Robidoux et al., 2013**).

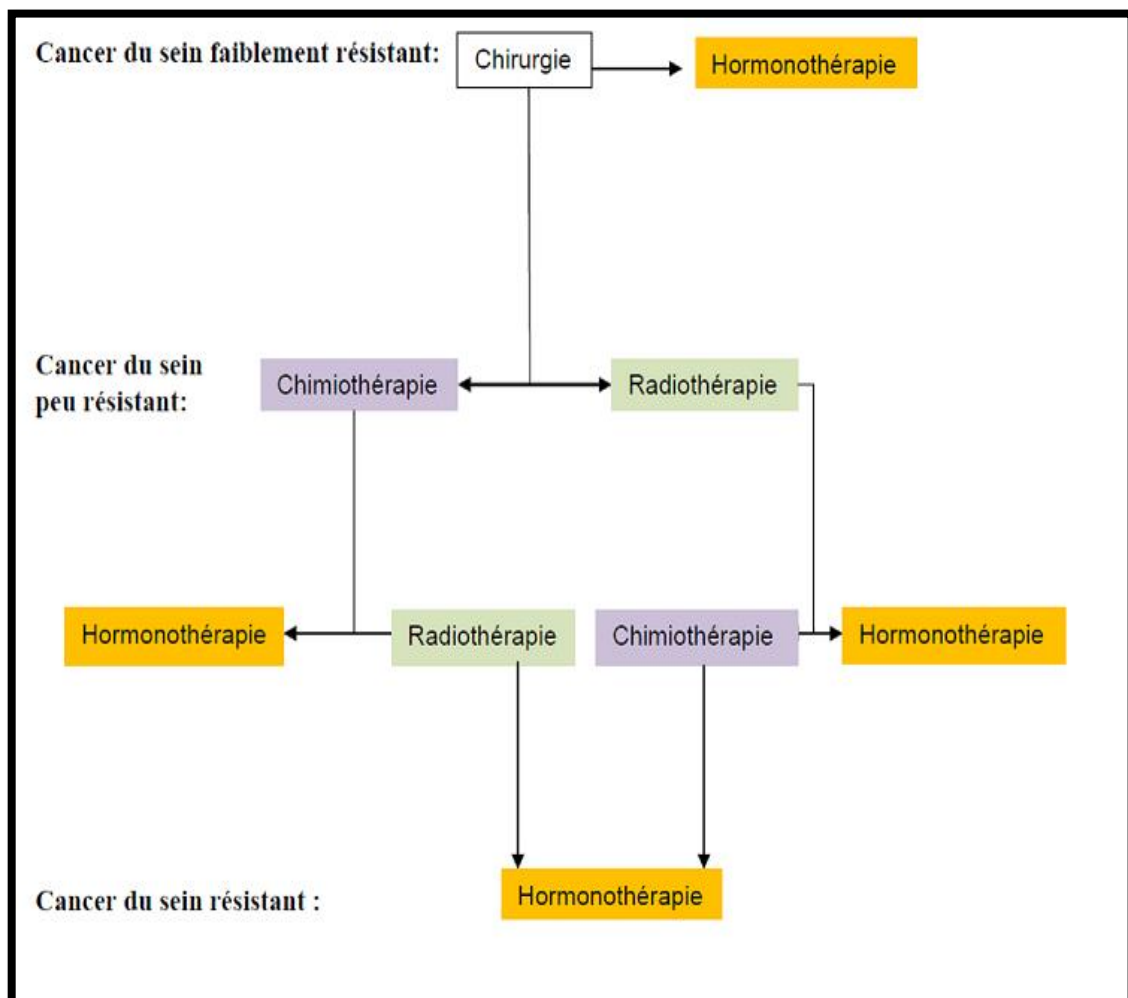


Figure 7: Schéma des différentes stratégies thérapeutiques du cancer du sein (Tourneau et al., 2013).

I.6. LA VOIE DE SIGNALISATION PI3K/AKT/mTOR

La voie PI3K / AKT / mTOR est une voie de signalisation intracellulaire impliquée dans la régulation de la croissance cellulaire, la prolifération cellulaire, et l'angiogenèse, et qui constitue un centre d'intérêt important dans l'étude de l'oncogenèse (**Dreyer et al., 2009**).

En effet, la plupart des protéines la constituant, sont des gènes suppresseurs de tumeurs ou des proto-oncogènes, dont la mutation peut favoriser le développement d'un processus tumoral (**Agarwal et al., 2010**). Parmi ces protéines, mTOR, comme son nom l'indique (*mammalian target of rapamycin*), est la cible d'une nouvelle famille de médicaments antitumoraux, les analogues de la rapamycine ou rapalogues, qui ont déjà obtenu des résultats prometteurs dans différents types de tumeurs (**Benjamin et al., 2011**).

La voie PI3K/AKT/mTOR est le plus souvent activée par le biais d'un récepteur membranaire, lui-même stimulé par un facteur de croissance membranaire et provoquant à son tour l'activation d'une cascade de phosphorylations de nombreuses protéines intracellulaires (**Dienstmann et al., 2014**).

I.6.1. Les récepteurs tyrosine-kinase

Les récepteurs tyrosine-kinase sont des protéines situées au niveau de la membrane cellulaire possédant 3 domaines : extracellulaire, transmembranaire et intracellulaire. Le domaine extracellulaire est celui où se fixe le ligand. Ces ligands peuvent être différents facteurs de croissance (IGF, PDGF, EGF) et cytokines (interleukines 1, 2, 3, 4, 6...) (**Hafizi, 2014**).

La fixation d'un ligand sur un récepteur entraîne le rapprochement de 2 récepteurs, leur dimérisation, et l'activation par transphosphorylation de leur partie intracellulaire, par le biais de modifications conformationnelles, correspondant à l'activation du domaine tyrosine-kinase (**Julien et al., 2013**). La partie intracellulaire des récepteurs sert alors de station

d'amarrage à certaines protéines intracellulaires, comme par exemple p85, la sous-unité régulatrice de PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) (**Hafizi, 2014**).

I.6.2. La protéine PI3K

PI3K ont été divisés en trois classes (classe I. classe II classe III) en fonction de leurs caractéristiques structurelles et spécificité de substrat (**Figure 8**). Parmi ceux-ci, le sont le plus souvent étudié la classe I(**Liu et al., 2009**). PI3K de classe I sont en outre divisé en(classe IA et classe IB) qui sont activées par RTK, GPCR et certains oncogènes tels que *RAS*.

Classe IA PI3K sont des hétérodimères constitués d'une sous-unité catalytique p110 et d'une sous-unité régulatrice p85 (**Suire et al., 2008**). La sous-unité régulatrice médie la liaison du récepteur, l'activation et la localisation de l'enzyme. Chez les mammifères, il y a trois gènes, *PIK3R1*, *PIK3R2* et *PIK3R3*, encodage p85a (Et son épissage variantes p55 α et p50 α), p85 β et sous-unités régulatrices p55 γ , respectivement, collectivement appelé p85 (**Chang et al., 2007**).

En réponse à la stimulation du facteur de croissance et l'activation subséquente des RTK, PI3K est recruté à la membrane par l'intermédiaire de son interaction la sous-unité p85 de tyrosine motifs de phosphate sur les récepteurs activés directement (par exemple, PDGFR) ou à des protéines adaptatrices associées aux récepteurs (par exemple le substrat du récepteur de l'insuline 1, IRS1) (**Backer et al., 2008 ; Ghayad et al., 2010**). la sous-unité catalytique p110 génère le phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate,PI (3,4,5) P3, qui à son tour active de multiples voies de signalisation en aval (**Ghayad et al., 2010**).

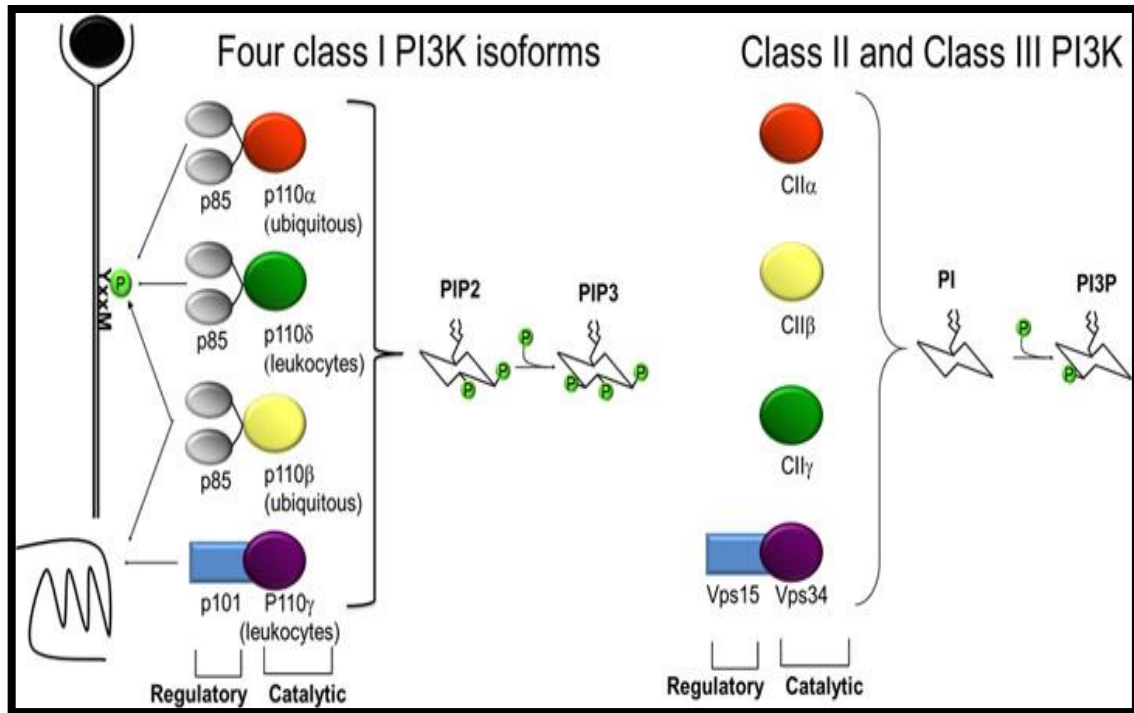


Figure 8: Schéma représentatif des différentes classes de PI3K (Castillo *et al.*, 2004)

I.6.3. La Kinase AKT

Akt/PKB est une sérine/thréonine kinase appartenant à la super famille des cAMP-dependent protein kinase A/ protein kinase G/ protein kinase C (superfamille des AGC kinases). Les kinases de cette superfamille partagent une grande similarité dans leur domaine catalytique et dans leur mode d'activation (Manning *et al.*, 2007). *C-Akt* est l'homologue cellulaire de l'oncogène transformant du rétrovirus AKT8 qui induit des lymphomes chez la souris (Stemke-Hale *et al.*, 2008). Les localisations chromosomiques des 3 différents gènes de Akt sont respectivement 14q32, 19q13 et 1q43. *AKT1* possède trois transcrits. *AKT2* qu'un seul et *AKT3* possède deux transcrits (Carpten *et al.*, 2007) (Figure 9). Les 3 protéines de la famille Akt contiennent un domaine sérine/thréonine kinase central, un domaine PH en N-terminal servant aux interactions lipide-protéine ou protéine-protéine (Sarbasov *et al.*, 2006).

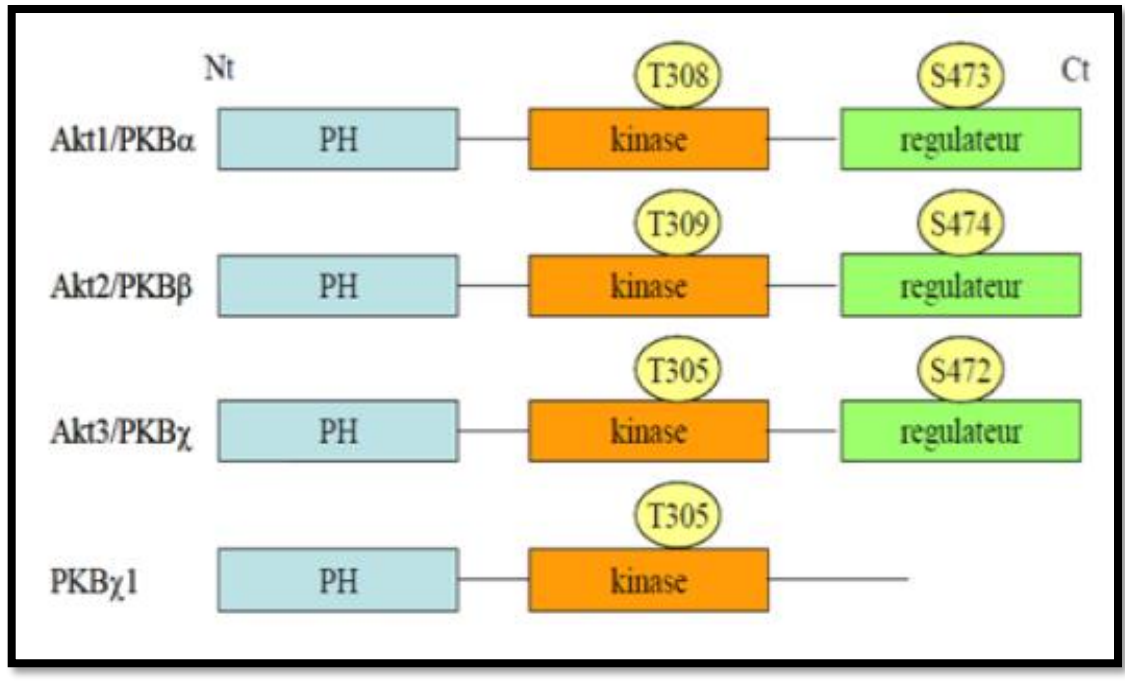


Figure 9:structure schématique des isoformes d’Akt (Sarbasov *et al.*, 2006).

I.6.4. Mécanisme d’activation de la voie PI3k/Akt dans la cellule normale

La voie PI3K/AKT/mTOR est le plus souvent activée par le biais d'un récepteur transmembranaire comme les RTKs (**Figure 10**). Suite à l'activation de ces récepteurs, la PI3K de classe IA est recrutée à la membrane plasmique et se fixe sur les phospho-tyrosines du récepteur via les domaines SH2 (Src- homology) de sa sous-unité p85a (la plus connue) (**Ghayad *et al.*, 2010**). Au niveau de la membrane plasmique, les PI3K de classe I, phosphorylent la partie D3 des phosphatidylinositol membranaires : PtdIns-4,5-diphosphate (PtdIns[4,5]-P2) est phosphorylé en , phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PI3,4,5) P3),., fournissant ainsi un site de fixation au niveau de la membrane pour la protéine sérine/thréonine kinase Akt (**Coutte *et al.*, 2012**). Une fois activée, Akt est libérée dans le cytosol ou il est transloquée dans le noyau pour phosphoryler des substrats impliqués dans la progression du cycle cellulaire, le métabolisme, la survie, l'apoptose et la traduction (**Porta *et al.*, 2014**).

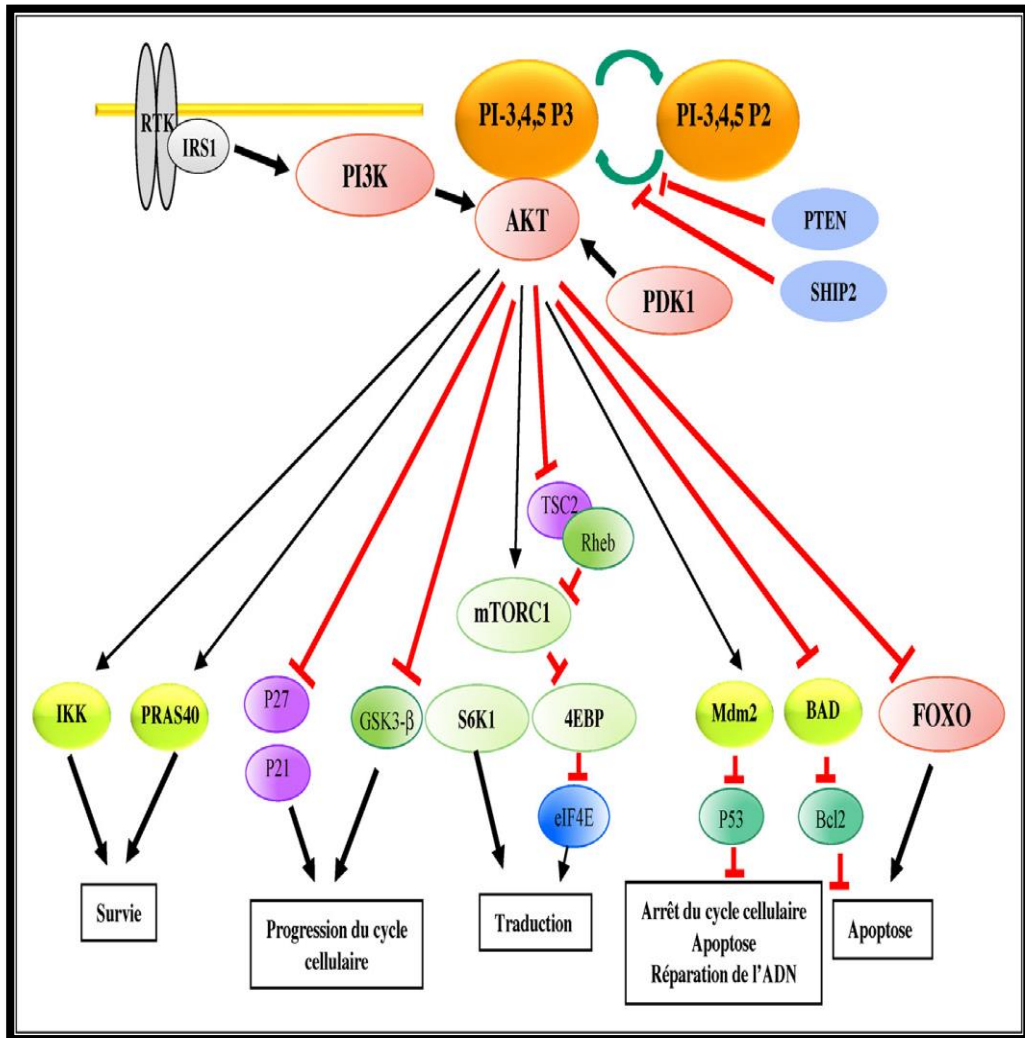


Figure 10 : Activation de la voie PI3K/Akt/mTOR
Les flèches noires indiquent les processus d'activation et les flèches rouges les processus d'inhibition.

RTK : récepteurs à tyrosine kinase ; PTEN : phosphatase and tensin homologous on chromosome 10 ; SHIP2 : SH2-domain containing inositol phosphatase 2 ; PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase ; PKB : protein kinase B ; PDK1 : 3- phosphoinositide-dependent protein kinase-1 ; TSC2 : tuberous sclerosis complex 2 ; Rheb : Ras homolog enriched in brain ; mTOR : mammalian target of rapamycin ; TORC1 : mTOR complex 1 ; IKK : inhibitory kappa B kinase ; PRAS40 : proline-rich Akt substrate of 40 kDa ; GSK3b : glycogen synthase kinase 3b ; 4E-BP1 : eIF4E-binding proteins ; eIF4E : eukaryotic translation initiation factor 4E ; Mdm2 : murine double minute 2 ; FOXO : forkhead box O (Ghayad *et al.*, 2010).

I.7. L'ALTÉRATION DE LA VOIE PI3K/Akt DANS LE CANCER DU SEIN

La voie PI3K/AKT/mTOR est la voie la plus fréquemment altérée dans les cancers du sein, avec des mutations, des amplifications, surexpressions, ou des délétions affectant certains des composants moléculaires de la voie : amplification ou surexpression des RTKs tels que HER2, FGFR1, mutation de la sous-unité catalytique de la PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase) (p110a et 110b), surexpression des effecteurs de la voie PI3K (formes phosphorylées d'AKT1 et AKT2 et de p70S6K), mutation de *KRAS* et perte d'expression des régulateurs négatifs de PI3K tels que PTEN (**Paplomata *et al.*, 2014**).

Après P53, cette voie est considérée comme étant la plus affectée par les altérations génétiques que toute autre voie (**Brugge *et al.*, 2007**). Le Rôle des protéines PI3Ks dans l'oncogénèse a été validée par des multiples études montrant que les aberrations dans cette voie sont des causes potentielles de la transformation cellulaire et que l'inhibition de la voie PI3K provoque une régression tumorale (**Deng *et al.*, 2015**).

I.7.1. La dérégulation de la PI3K

Le phosphatidylinositol est un composant de la membrane de la cellule eucaryote. La tête inositol du phospholipide peut être phosphorylée en des sites multiples par phosphoinositide kinases (PIK), qui jouent le rôle de transducteurs de signaux de régulation des fonctions cellulaires multiples (**Miled *et al.*, 2007**). La super famille PI3K a été étudiée profondément depuis la découverte de l'activité PI3K associée aux oncoprotéines virales et son rôle dans la régulation de la croissance et la prévention de l'apoptose (**Cizkova *et al.*, 2013**).

Les Mutations dans le gène *PI3KCA* et la sous-unité régulatrice p85 ont été identifiés dans le cancer du sein (**Firoozinia *et al.*, 2014**). La protéine RAS activée peut interagir avec p110 et aussi activer la classe IA de PI3Ks. La voie PI3K / AKT est régulée négativement par le gène suppresseur de tumeur *PTEN* (**Hafsi *et al.*, 2012**).

I.7.2. Dérégulation de l'AKT

La voie AKT s'est révélée dérégulée dans le cancer du sein humain. AKT joue un rôle central dans la voie et représente une cible thérapeutique attrayante puisque plusieurs composants de signalisation en amont convergent à l'AKT. Les différentes études ont étudié le rôle des sous-classes d'AKT dans le comportement biologique des cellules cancéreuses du sein (**Davis et al., 2014**).

L'activation de l'AKT favorise la transition des cellules épithéliales aux cellules mésenchymateuses, contribuant à l'invasion tumorale et à la métastase (**Carpten et al., 2007**). L'identification des substrats uniques aux chaque isoforme d'AKT conduira au ciblage thérapeutique spécifiques de la tumorigénèse (**Dillon et al., 2007 ; Dillon et al., 2010**).

I.7.3. La perte de PTEN

PTEN est un gène suppresseur de tumeur qui inhibe la protéine PI3K /AKT / mTOR par clivage d'un groupe phosphate de Le second messenger PIP-3 activé par PI3K (**Zhang et al., 2013**). L'absence de son action régulatrice négative provoque l'activation de la voie PI3K par la phosphorylation de AKT (**Perez et al., 2013**). La perte de *PTEN* a été constatée dans de nombreux cancers, y compris Le sein. Les premières études ont démontré une diminution de l'expression ou de la perte de *PTEN* dans jusqu'à 33% des tumeurs du sein et une relation directe de cette aberration avec la progression du cancer du sein (**Howard et al., 2015 ; Davis et al., 2014**). La perte de *PTEN* se produit de différentes façons, y compris mutations somatiques, perte d'hétérozygotie, modifications épigénétiques, l'instabilité des protéines activatrices (**Perez et al., 2013**).

I.8. LA VOIE PI3K/AKT ET LES SOUS TYPES DU CANCER DU SEIN

Les profils d'expression génétique ont classé le cancer du sein en :luminal A, luminal B, HER2-positive et TNBC (**Sorlie et al., 2001**), une classification substitutive par immunohistochimie classe les patientes selon le statut d' ER / PR/HER2, la cytokératine 5/6 ,

et le statut d'EGFR. La fréquence Et le type d'aberrations de la voie PI3K varient entre les différents sous-types de cancer du sein (**Stemke-Hale et al., 2008 ; Lopez-Knowles et al., 2010**).

Chaque altération moléculaire peut avoir un impact clinique différent En fonction du contexte moléculaire du cancer du sein. . L'hétérogénéité du cancer du sein et probablement l'origine cellulaire pour chaque sous-type de tumeur rendre nécessaire une analyse indépendante des aberrations de la voie PI3K par sous-type de tumeur.

I.8.1. Sous types Luminaux

Des aberrations de la voie PI3K/AKT ont été trouvées dans jusqu'à 40% des cancers du sein hormonopositif . Dans ce dernier, les mutations *PIK3CA* ont été associées avec une faible expression de mTORC1 et de meilleurs résultats cliniques ont été observé chez les patients traités par tamoxifène en monothérapie (**Loi et al., 2010**).Le mécanisme sous-jacent et la voie de signalisation en aval pour justifier cette association sont à l'étude.

Les mutations de l'*AKT* semblent limitées aux tumeurs hormono-positif. Les mutations activant AKT ont Lié à une tumorigénèse avec inhibition postérieure de métastases. En fait, AKT peut empêcher la progression tumoral et peut être associée à de bons résultats dans ce sous-type de cancer du sein (**Stemke-Hale et al., 2008**). L'importance de l'ER et de la PR dans le développement et la progression du cancer du sein et l'association d'expression réduite de ces récepteurs avec des réponse à la thérapie anti-estrogène sont bien connus (**Krop et al., 2014**).

La voie PI3K/AKT influence sur le niveaux et l'activité de ER / PR pour laquelle ce croisement est un grand déterminant de la progression et de la réponse du cancer du sein à la thérapie (**Massarweh et al., 2013**). L'endogène membranaire ER peut activer GFR et PI3K / AKT, le dialogue bidirectionnel favorise Phosphorylation et l'activation génomique de ER ,

une phosphorylation excessive de ER peut diminuer les effets inhibiteurs des thérapies endocriniennes et conduire à une résistance au traitement hormonal (**Mayer et al., 2014**).

L'activation aberrante de la voie PI3K/AKT/mTOR joue un rôle majeur dans les mécanismes de résistance à l'hormonothérapie, et constitue une cible privilégiée pour le traitement des cancers du sein RE+ à la fois en termes de prévention de la résistance à l'hormonothérapie. Des études récentes ont rapporté que le blocage combinant les inhibiteurs d'ER et de PI3K pourrait être une stratégie de traitement plus efficace (**Schmid et al., 2014**).

I.8.2. le sous type HER2 positif

Le gène *HER2* est amplifié dans 20% à 25% de cancer du sein et il est associé à des phénotypes agressifs. Seulement environ 30% des cancers du sein HER2 positif répondent au traitement par trastuzumab et le reste des tumeurs développent une résistance thérapeutique.

Les tumeurs HER2 positives ont montré une hyperactivation de la voie PI3K/Akt principalement via la perte de *PTEN* (**Rexer et al., 2014**). et à travers hétérodimérisation avec HER3 (**Esteva et al., 2010**). Une relation combinée entre la perte *PTEN* et mutation *PIK3CA* dans les tumeurs HER2-positif qui est un indicateur de la résistance au trastuzumab (**O'Regan et al., 2013**). mais pas au lapatinib (**O'Brien et al., 2010**). Ces données soulignent les implications cliniques PI3K dans les mécanismes de résistance au trastuzumab et son potentiel comme biomarqueur du pronostic (**Rexer et al., 2013**).

I.8.3. le sous type triple négatif

Les tumeurs de type basal ont également montré une activation aberrante de la voie de signalisation PI3K/Akt principalement par la perte de *PTEN*. Qui est le principal gène régulateur de cette voie (**Juvekar et al., 2012**). La perte de *PTEN* a été rapportée dans environ 30% des cancers du sein de type basal et elle joue un rôle majeur dans la pathogenèse de ces tumeurs (**Ibrahim et al., 2012**). La nature agressive et le manque de thérapies ciblés contre

ces cancers ont favorisé une croissance prometteuse de l'enquête et de la recherche des cibles potentielles avec efficacité clinique.

Le traitement combiné avec Les inhibiteurs PI3K et MEK ont généré un effet synergique inhibant les tumeurs basaux. La conception des essais cliniques avec des thérapies combinées comprenant les inhibiteurs de la MEK et PI3K Pour cette population de patients pourrait être une approche plus efficace que l'inhibition d'une seule voie (**Rexer et al., 2009**).

I.9. CIBLAGE DE LA VOIE PI3K/AKT

A ce jour, la résistance tumorale aux traitements anti-néoplasiques est attribuée à une augmentation de l'expulsion des drogues hors de la cellule et à une augmentation des processus de détoxification. Malgré une bonne corrélation de ces mécanismes, ils ne peuvent rendre compte totalement des phénomènes de résistance (**Joycelyn et al., 2015**).

De nombreuses études ont montré que la suractivation de la voie PI3K/Akt induit une résistance à l'apoptose des modèles de cancers ou corrèle avec une résistance au traitement de la tumeur (**Joycelyn et al., 2015**). Ce qui a amené les auteurs à proposer cette voie comme cible thérapeutique pour chacun de ces cancers (**Lorusso, 2016**). C'est le cas pour les cancers de l'ovaire (**Carden et al., 2012**), du poumon (**Cooper et al., 2013**), du pancréas (**Ng et al. 2004**), de la vessie (**Tanaka et Grossman, 2003**), du colon (**Zhang et al. 2011**). Dès lors de nombreux inhibiteurs de la voie PI3K/Akt, directs, en amont ou en aval ont été mis au point et sont à différents stades de test (**Figure 11**).

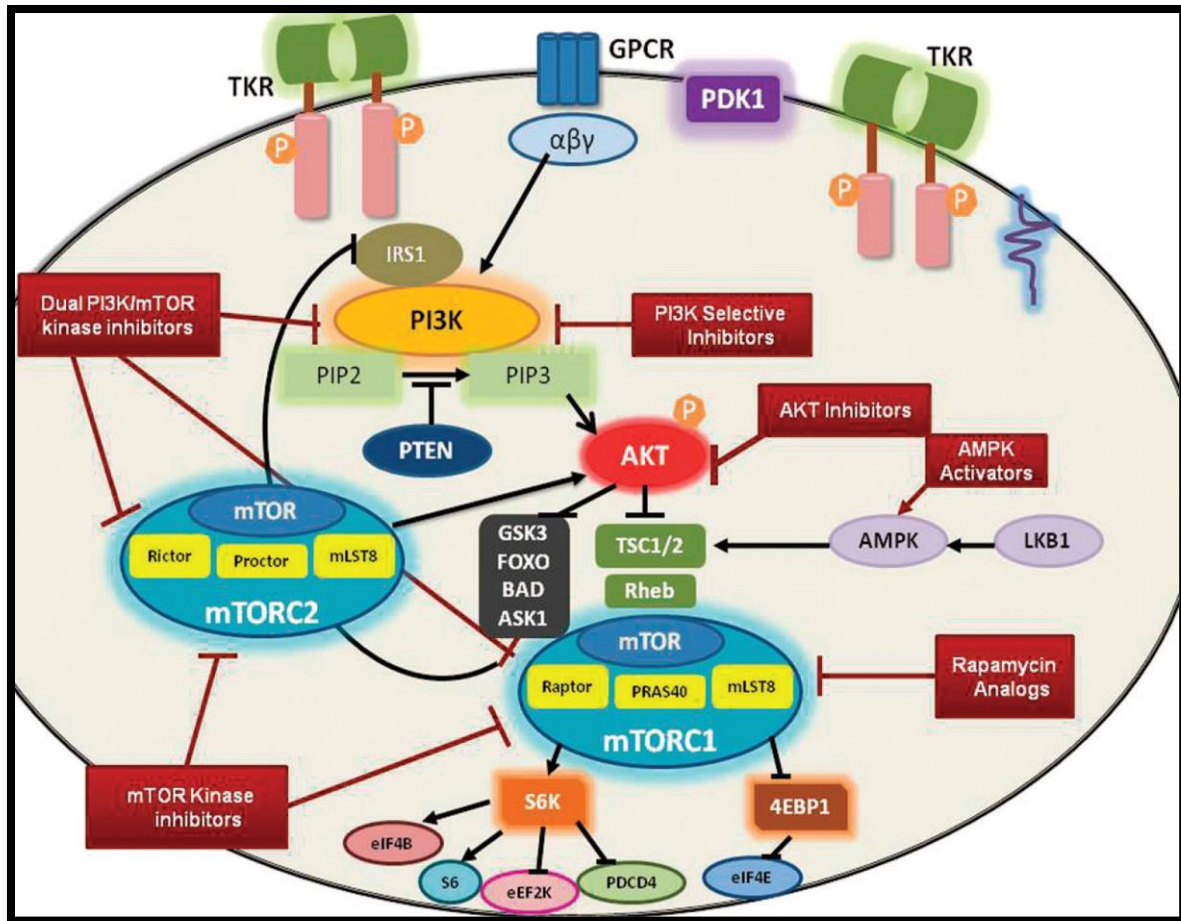


Figure 11 :The PI3K/AKT/mTOR signaling network regulates cell survival,proliferation, migration, metabolism, and apoptosis integrating the growth factor signaling pathway. (Hernandez et Gonzalez , 2011)

Abbreviations: 4EBP1, 4Ebinding protein 1; AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase; Bad, BCL2-associated agonist of cell death;FOXO, forkhead box O1; GPCR, G protein-coupled receptor; GSK3, glycogen synthase kinase 3; IRS1, insulin receptor substrate 1; mLST8, mTOR associated protein, LST8 homolog; mTOR, mammalian target of rapamycin; mTORC1, mTOR complex 1;mTORC2, mTOR complex 2; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PIP2, phosphatidylinositol (4,5) biphosphate; PIP3, phosphatidylinositol (3,4,5) triphosphate; PRAS40, proline-rich Akt substrate 40; PTEN, phosphatase and tensin homolog; Rheb, Ras homolog enriched in brain; S6K, ribosomal protein S6 kinase; TKR, tyrosine kinase receptors; TSC1, tuberous sclerosis complex 1; TSC2, tuberous sclerosis complex 2.

I.9.1. Thérapies ciblées et la voie PI3K/Akt/mTOR

L'activation aberrante de la voie PI3K/AKT/mTOR joue un rôle majeur dans les mécanismes de résistance à l'hormonothérapie, et constitue une cible privilégiée pour le traitement des cancers du sein à la fois en termes de prévention et de réversion de la résistance à l'hormonothérapie (Vilquin *et al.*, 2015). Les résultats récents d'essais cliniques montrent que la combinaison de l'hormonothérapie avec les inhibiteurs pharmacologiques de la voie PI3K/Akt/mTOR s'avère une stratégie prometteuse pour surmonter cette résistance. Les progrès à venir porteront sur la recherche de nouvelles molécules et d'association à d'autres

thérapies ciblées pour améliorer l'utilisation de ces inhibiteurs en pratique clinique (**Coutte et al., 2012**).

I.9.2. Inhibiteurs de PI3K de première génération

La première génération des inhibiteurs de PI3K comprend la wortmannine et le LY294002. La wortmannine est un produit naturel isolé en 1957 de *Penicillium wortmannii* se liant de manière irréversible aux enzymes PI3K par modification covalente sur un résidu lysine nécessaire à l'activité de l'enzyme (**Vilquin et al., 2015**).

Malgré une inhibition efficace de la voie PI3K/Akt/mTOR et une activité anti-tumorale démontrée dans des modèles cellulaires, les deux composés ont une activité limitée dans des modèles précliniques en raison de leur faible solubilité, de leur instabilité et de leur toxicité élevée (**Vilquin et al., 2015**) (**Figure 12**).

I.9.2.1. Rapamycine et ses analogues

La rapamycine et ses analogues constituent les premiers inhibiteurs de la voie PI3K/Akt/mTOR à entrer en développement préclinique et clinique dans le traitement du cancer du sein (**Lorusso, 2013**). Les problèmes de solubilité de la rapamycine ont conduit au développement d'analogues comme le CCI-779 (temsirolimus), le RAD001 (évérolimus) et l'AP-23573 (ridaférolimus).

Le RAD001 et le CCI-779 (cell-cycle inhibitor 779) sont des pro-drogues de la rapamycine (**Malaguti et al., 2013 ; Alayev et al., 2015**). Des essais cliniques de phase II/III ont exploré l'efficacité de l'association d'un inhibiteur de mTOR avec une hormonothérapie (**Osborne et Schiff, 2011**).

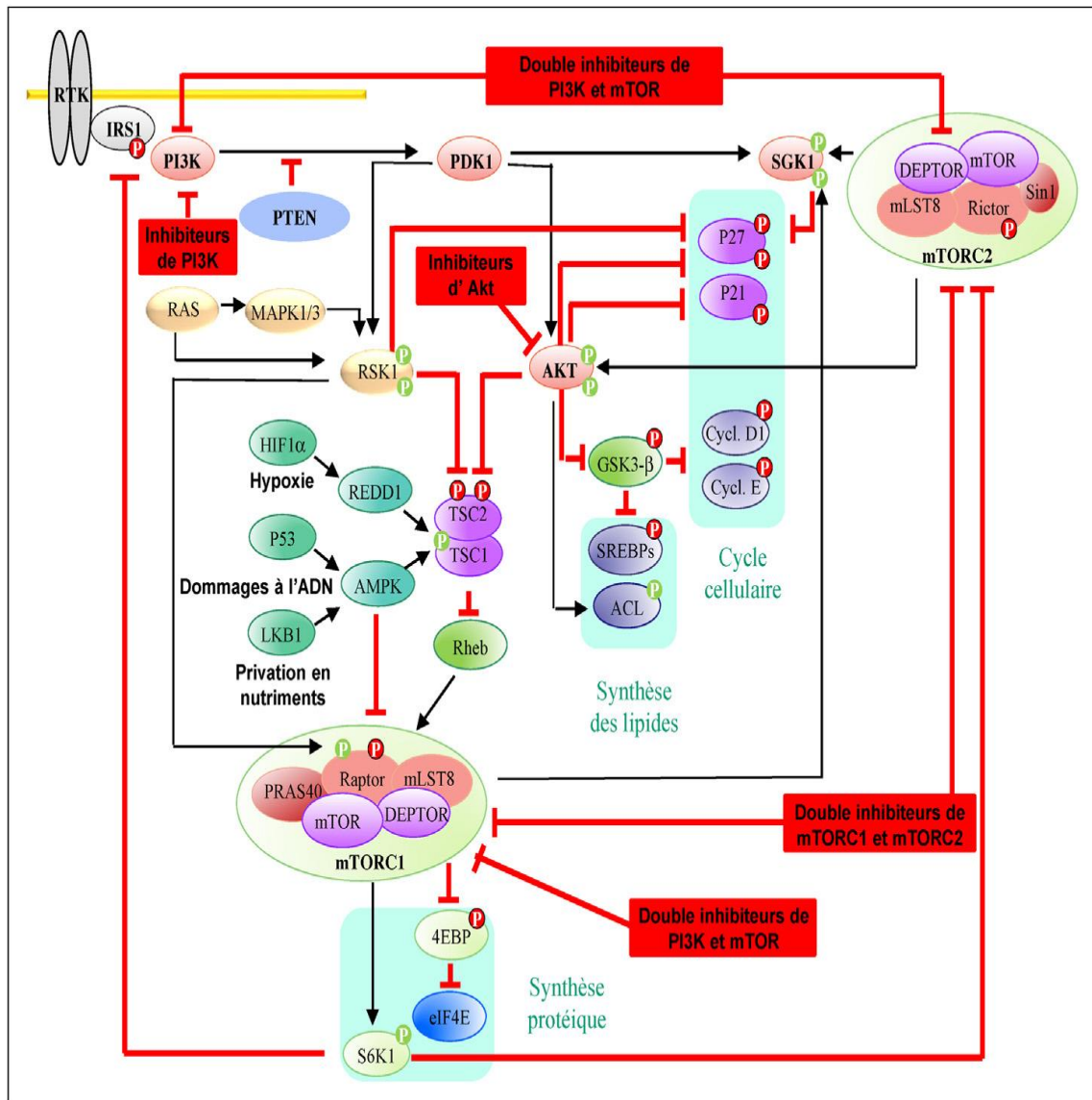


Figure 12: Cibles des inhibiteurs de la voie PI3K/Akt/mTOR en cours de développement clinique.

Les flèches noires indiquent les processus d'activation et les flèches rouges les processus d'inhibition. Les cercles verts : les phosphorylations activatrices ; les cercles rouges : les phosphorylations inhibitrices. (Wander *et al.*, 2011)

I.9.3. Nouveaux inhibiteurs de la voie PI3K/Akt/mTOR

I.9.3.1. Inhibiteurs de PI3K de deuxième génération

La détermination de la structure cristalline de PI3K et l'élucidation des complexes qu'elle peut former avec les inhibiteurs LY294002 et la wortmannine ont facilité la conception et le développement de nouveaux inhibiteurs pan-PI3K et des isofomes a et b de la sous-unité p110 de la PI3K (Maira *et al.*, 2012).

I.9.3.2. Inhibiteurs d'Akt

En raison de son rôle central dans la voie de transduction du signal et de son hyper-activation dans de nombreuses tumeurs, l'identification d'inhibiteurs d'Akt a fait l'objet d'importantes recherches. Des inhibiteurs pan-Akt ont été développés mais la synthèse d'inhibiteurs spécifiques de chacune des isoformes d'Akt a été rendue difficile en raison du degré d'homologie important entre les 3 isoformes. Les inhibiteurs d'Akt comprennent des inhibiteurs compétitifs au niveau de liaison de l'Adénosine triphosphate (ATP), des analogues de phosphatidylinositol et des inhibiteurs allostériques. Le MK-2206 et l'AZD5363 sont actuellement dans des études de phase I (**Zardavas *et al.*, 2013**).

Le MK-2206 inhibe la signalisation d'Akt *in vivo* et supprime la croissance de xéno-greffes tumorales mammaires portant des mutations de *PI3KCA* ou des amplifications d'*HER2* (**Yap *et al.*, 2011**). Le MK-2206 inhibe la signalisation d'Akt, la progression du cycle cellulaire. Il augmente l'apoptose de manière dose- dépendante et a une activité synergique avec des thérapies ciblées et des cytotoxiques (**Sangai *et al.*, 2012**).

I.9.3.3. Doubles inhibiteurs de mTORC1 et de mTORC2

Une deuxième génération d'inhibiteurs de mTOR a été développée ciblant le site de liaison à l'ATP au niveau du domaine kinasique de mTORC1, bloquant à la fois mTORC1 et mTORC2 (**Wander *et al.*, 2011**). Théoriquement, le principal avantage attendu est une diminution de la phosphorylation d'Akt en bloquant mTORC2 et une meilleure inhibition de mTORC1. Parmi les doubles inhibiteurs mTORC 1/2, INK128 et AZD8055 sont entrés en développement clinique en phase I dans le traitement du cancer du sein (**Vilar *et al.*, 2011**). Cette molécule est bio-disponible sous forme orale et inhibe la croissance de lignées cellulaires à la fois *in vitro* et *in vivo* ((**Zardavas *et al.*, 2013**).

I.9.3.4. Doubles inhibiteurs de PI3K et de mTOR

Étant donné l'analogie structurale entre mTOR et PI3K, certains inhibiteurs sont capables d'inhiber mTOR et PI3K. L'avantage de ce type d'inhibiteur est de, théoriquement, s'affranchir de l'activation de PI3K suite à la levée de l'inhibition de la boucle de rétrocontrôle négative S6K-IRS1-PI3K lors d'un traitement par un inhibiteur de mTOR de première génération (**Martin *et al.*, 2013**). Plusieurs inhibiteurs tels que XL765, NVP-BEZ235, GDC-0980 et le GSK2126458 sont en cours d'essais cliniques de phase I ou II (**Zardavas *et al.*, 2013**). XL765 connu sous le nom SAR245409 est le premier double inhibiteur utilisé sous forme orale dans les tumeurs solides incluant (**Martin *et al.*, 2013**).

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

I.10. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

I.10.1. Problématique

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène. Les récentes avancées dans les analyses moléculaires à grande échelle ont permis de mieux définir l'hétérogénéité de cette maladie et d'identifier de nouveaux sous-types moléculaires. Un des objectifs de la recherche sur le cancer du sein est l'identification de nouveaux marqueurs biologiques et de nouvelles cibles thérapeutiques. Pour caractériser ces molécules dérégulées, une approche moléculaire de cette pathologie doit être envisagée.

L'étude des voies de signalisation oncogéniques devrait contribuer à mieux comprendre la biologie tumorale, la progression et le développement de métastases inhérents à chaque sous-type moléculaire de cancer du sein mais aussi à identifier des cibles thérapeutiques potentielles. En effet, l'activation anormale de voies de signalisation est suffisante pour induire le développement et le comportement malin des cellules cancéreuses ainsi que la résistance aux traitements. Le développement de nouvelles thérapies ciblées améliorerait ainsi la prise en charge thérapeutique des patientes atteintes de cancer du sein de sous-types particulièrement agressifs tels que les tumeurs HER2+ ou les tumeurs triples négatives.

Dans ce contexte, nous nous sommes proposé, dans un premier temps, de classifier et d'analyser la répartition de 850 cas de cancers du sein diagnostiqués chez des patientes de l'ouest Algérien par une approche immunohistochimique comme technique substitutive à l'analyse par puce à ADN. Dans un second temps nous nous sommes intéressé aux dérégulations de marqueurs d'intérêts impliqués dans la voie de signalisation oncogénique PI3K/AKT fréquemment altérée dans les cancers du sein.

I.10.2.Objectifs

Cette étude, réalisée pour la première fois en Algérie, avait pour objectifs :

- D'étudier les caractéristiques clinico-pathologiques, moléculaires et thérapeutiques des tumeurs issues de patientes atteintes de cancer du sein dans la région du nord-ouest de l'Algérie.
- De classer les tumeurs mammaires colligés au service d'anatomopathologie de l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO) en sous types moléculaires par une approche immunohistochimique.
- D'établir des corrélations entre les sous-types moléculaires et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs.
- D'évaluer le niveau d'expression des protéines PIK3CA et pAKT dans les cancers du sein diagnostiqués chez des patientes de l'Ouest Algérien.
- De corréler l'expression de PIK3CA et pAKT avec les paramètres histo-cliniques .
- De corréler le niveau d'expression de la PIK3CA et p-AKT aux sous types moléculaires du cancer du sein.
- De corréler d'expression de la PIK3CA avec l'expression de la p-Akt.

CHAPITRE II : PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

II.1.1. MATERIELS ET METHODES

Dans notre travail nous avons d'une part étudié les caractéristiques histocliniques et moléculaires d'une série de 850 tumeurs mammaires et d'une autre part nous avons réalisé une étude immunohistochimique pour évaluer l'expression de la protéine PI3CA et la P-AKT.

II.1.1.1. Etude épidémiologique

II.1.1.1.1. Population d'étude

Il s'agit d'une étude épidémiologique rétrospective entre janvier 2009 et décembre 2015 incluant 850 patientes atteintes de carcinome infiltrant du sein , dans l'objectif de réaliser l'étude descriptive un recueil des données a été effectué a partir des dossiers médicaux des services d'oncologie de deux hôpitaux du nord ouest de l'Algérie: Centre Hospitalier Universitaire d'Oran et l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO). L'analyse a intéressé les différentes variables clinicopathologiques , moléculaires et thérapeutiques .

II.1.1.1.2. Déroulement de l'étude

Pour réaliser l'étude épidémiologique que rétrospective, nous avons collecté les données à partir des dossiers médicaux, à l'aide d'une fiche d'exploitation comprenant les paramètres clinico-pathologiques et thérapeutiques suivants : L'âge, le statut ménopausique, le stade tumoral TNM, le type histologique, le grade tumoral SBR: I, II, III, les embolies vasculaires, L'atteinte ganglionnaire, Les métastases à distance, , le traitement chirurgical et les traitements adjuvants : chimiothérapie/ radiothérapie/ hormonothérapie/ thérapie ciblée.

II.1.1.2. Etude immunohistochimique

II.1.1.2.1. Patientes

La présente étude a été menée sur soixante-cinq patientes âgées de 27 à 88 ans, diagnostiquées avec carcinome mammaire infiltrant et ont subi une intervention chirurgicale dans l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO) du 1er janvier 2009 au 31 décembre 2014. D'autre part, ont été exclues de l'étude les patientes atteintes de tumeurs bénignes du sein,

tumeurs malignes autres que le carcinome ou celles dont les dossiers manquent de données thérapeutiques.

II.1.1.2.2. Prélèvements et traitements

65 tumeurs ont été colligées auprès des patientes atteintes de cancer du sein confirmé par histologie et/ou la cytologie au niveaux du Centre Hospitalier Universitaire d'Oran et de l'Hôpital militaire régional d'Oran. les échantillons tissulaires fixés au formol et inclus en paraffine , nous avons réalisé une étude immunohistochimique sur les blocs de tumeurs de ces patientes pour évaluer l'expression du :RO, RP, HER2, PI3CA, P-AKT .

II.1.1.2.3. Etude histologique

Les soixante-cinq tumeurs étudiées, passent par une série de préparation : fixation, inclusion en paraffine et coupe histologique.

-Fixation

La maîtrise des conditions de fixation est un des éléments majeurs de la fiabilité de l'étude immunohistochimique. Le temps de fixation idéal avec le formol tamponné est de 24 heures.

-Déshydratation

L'échantillon tissulaire est fixé, puis progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées jusqu'à ce que toute l'eau (des tissus et du milieu de fixation) ait été soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu.

-Inclusion en paraffine chauffée

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

- Refroidissement

Une fois l'échantillon bien imprégné, on le laisse refroidir dans un moule rempli de paraffine qui se solidifie.

- Réalisation de coupes

En se refroidissant, le fragment, imbibé de paraffine, se trouve inclus dans un bloc solide à partir duquel, grâce à un microtome comportant un rasoir, des coupes de 4 microns d'épaisseur sont obtenues.

-Réhydratation

Une fois les plans de coupe réalisés, ils sont déposés sur une lame de verre et paraffine est dissoute par un solvant organique avant un temps de réhydratation par des solutions alcooliques de plus en plus diluées.

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

Colorer par l'hématéine pendant 5 à 7 min (teintant les noyaux en bleu ou en noir), rincer à l'eau courante puis à l'eau distillée, colorer dans une solution d'éosine à 1 % pendant 2 min (teintant le cytoplasme en rose ou rouge). Montage au toluène. La coupe, est protégée définitivement par une lamelle de verre collée.

II.1.1.2.4. Immunohistochimie (IHC)

L'immunohistochimie (IHC) est une technique permettant la détection morphologique de l'expression d'une protéine intra-tissulaire par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps. Ces anticorps peuvent être conjugués directement avec des enzymes (peroxydase, phosphatase alcaline) ou des marqueurs de fluorescence, ou reconnus par des anticorps secondaires conjugués avec des marqueurs de fluorescence ou avec des enzymes de révélation (peroxydase, phosphatase alcaline), qui provoquent une réaction colorimétrique en présence de chromogène (DAB, ACE) visible sous microscope optique. Cette technique se réalise sur des coupes tissulaires paraffinées.

Protocole de la technique IHC

-Choix de l'échantillon pour la technique immunohistochimique

En règle générale, un seul bloc de paraffine est suffisant pour réaliser la technique immunohistochimique. L'échantillon utilisé doit être représentatif de la tumeur et de ses

diverses composantes lorsque cela est nécessaire. Il est idéalement accompagné de tissu non tumoral pour servir de témoin.

-Adhérence des coupes

Les coupes ont été réalisées à partir des blocs de paraffine (obtenues par la technique histologique) puis étalées sur des lames recouvertes d'un adhésif performant chargées positivement (lames silanisées, Ref: S3003. Dako) et séchées pendant la nuit à 56°C. La finesse des coupes (3-4 microns) favorise une meilleure adhérence.

-Restauration antigénique par la chaleur

Cette étape est essentielle et indispensable avec la majorité des anticorps. Afin de restaurer l'antigénicité des épitopes, un déparaffinage et un démasquage antigénique sont réalisés grâce à l'utilisation d'un tampon d'acide citrique (Target Retrieval Solution, pH 6 (Dako, Denmark) pendant 40 min à 98°C. Ensuite, les coupes tissulaires sont refroidies à température ambiante pendant 20 min, et rincées pendant 5 min dans un Tampon Phosphate Salin (PBS. Ref. S3024 ; Dako, France).

-Inhibition de la peroxydase endogène

L'activité peroxydase endogène est inhibée par incubation des coupes pendant 5 min dans une solution peroxidase-blocking reagent (Dako) contenant du peroxyde d'hydrogène H₂O₂, ainsi qu'un sérum bloquant pour saturer les sites de réaction non spécifiques. Les lames sont ensuite lavées dans le tampon de lavage PBS.

-Anticorps primaires

Les lames ont été incubées avec un anticorps primaire (environ 300 microlitres d'anticorps dilué /lame) à température ambiante pendant 60 min, dans une chambre humide et à l'abri de la lumière, les anticorps primaires ont ainsi été utilisés avec les dilutions correspondantes :

- Pour le récepteur aux oestrogènes α (ER) : Un anticorps monoclonal, le clone 1D5-IR657, DAKO, FLEX.

- Pour le récepteur à la progestérone (PR) : Un anticorps monoclonal, le clone PgR 636-IR068, DAKO, **FLEX**.
- Pour l'HER2: l'anticorps polyclonal ,clone PN2A pY-1248, Dako, **Dilution: 1 :100** .
- Pour PIK3CA : Un anticorps monoclonal n ° HPA009985, Sigma Aldrich, RU , **Dilution: 1 :50** .
- Pour p-AKT : Un anticorps monoclonal Ser473, Signalisation cellulaire, danvers, MA, **Dilution: 1 :50** .

-Systèmes révélateurs

La révélation des anticorps primaires fixés aux antigènes est réalisée par incubation avec l'anticorps secondaire (DakoSystème REAL™ EnVision™ (HRP Rabbit / Mouse, Ref K5007.Dako, Danemark) à température ambiante pendant 30 minutes.

-Révélation de l'activité peroxydase

Après lavage, le substrat DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride), (Réf.K5007, Dako, Danemark) est utilisé pendant 5 min pour révéler l'activité peroxydase.il faut faire très attention a cette étape et de ne pas dépasser les 5min pour ne pas avoir des faux positifs .

-La contre coloration

Après un dernier rinçage, les coupes sont contre-colorées à l'hématoxyline pendant 5min, et déshydratées dans l'éthanol à concentration croissante (70%, 80%, 95%, 100%). Les coupes sont enfin montées et observées sous microscope optique. La positivité consiste en une coloration brunâtre et granulaire, nucléaire, cytoplasmique ou membranaire.

II.1.1.2.5. Evaluation du statut immunohistochimique

La lecture des lames a été effectuée par deux pathologistes (KB et BH), par observation sous un microscope optique (Leica DM LB 2) et sans connaissance préalable des données cliniques pour chaque patiente au cours de la lecture. L'évaluation de l'immunomarquage a été effectuée selon le pourcentage de cellules tumorales et l'intensité de la coloration.

- pour des marqueurs nucléaires ER and PR : <10% étaient classées comme négatives et > 10% comme positives.
- pour le marqueur membranaire HER2 a été noté ;(0 et 1+ négatif, 2+ positifs indéterminés et 3+ positif avec surexpression.
- pour PIK3CA et p-AKT, le score H a été utilisé pour évaluer l'immunomarquage en multipliant l'intensité de marquage avec le pourcentage de cellules marquées. L'intensité de marquage a été notée de 0, 1, 2 ou 3 pour négatif, faible, modéré et fort, comme l'ont décrit précédemment (**Aleskandarany et al., 2010 ; Adamo et al., 2011**) . ce qui a permis de classer les cas en trois sous-groupes: négatif (0-30), Modérément positif (31-100) et expression fortement positive (101-300) pour PIK3CA (Aleskandarany et al., 2010), mais pour p-AKT, nous avons considéré le score (0-9) comme négatif et le score (10-300) comme positif (**Adamo et al., 2011**).

II.1.1.3. La classification des sous types moléculaires

Les sous types moléculaires du cancer du sein ont été définis selon le statut immunohistochimique des récepteurs hormonaux (ER, PR) et de l'HER2 (**Tableau 3**).

Tableau 3:La classification des sous types moléculaire selon le statut immunohistochimique de ER, PR et HER2.

Le sous type moléculaire	Statut ER	Statut PR	Statut HER2
Luminal A	+/-	+/-	-
Luminal B	+/-	+/-	+
HER2 +	-	-	+
Triple négatif	-	-	-

II.1.1.4. Analyse statistique

Toutes les variables étaient résumées par l'utilisation des statistiques descriptives. Les variables qualitatives sont présentées en terme de proportion. Dans un premier temps, une analyse descriptive était effectuée concernant : Les caractéristiques épidémiologiques, siège de la lésion, le type histologique, le grade SBR, classification TNM et l'infiltration ganglionnaire. La deuxième étape est une analyse unie variée dégageant la corrélation entre l'expression des deux protéines (PI3CA et p-AKT) et les différents paramètres clinico-pathologique en utilisant le test de chi carré standard, un chi-carré ajusté en continuité et un test exact de Fisher.

Pour chaque test statistique utilisé, le test était considéré comme significatif lorsque p était inférieur à 0,05. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel SPSS version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago IL, USA).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1.2 RESULTATS

II.1.2.1 Caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires des tumeurs mammaires

Nous avons mené une étude épidémiologique rétrospective sur 850 patientes issues de la région du Nord Ouest de l'Algérie et étendant sur une période de 7 ans (2009 à 2015). Nous avons ainsi relevé des caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs mammaires. Le **Tableau 4** résume les caractéristiques clinicopathologiques des 850 patientes présentant un cancer du sein.

Tableau 4:Caractéristiques clinicopathologiques des 850 patientes atteintes de cancer du sein

Paramètres clinicopathologiques		N(%)
patientes		850(100)
Age (842)	≤ 50ans	437(51.90)
	>50 ans	405(48.10)
Organe (749)	Droit	357(47.66)
	Gauche	380(50.74)
	Bilateral	12(1.60)
Taille tumorale (cm)(606)	≤2cm	124(21)
	>2cm	482(79)
Type histologique(828)	Canalaire	722(87.20)
	Lobulaire	72(8.70)
	Autre	34(4.10)
Grade SBR (768)	I	15(2)
	II	425(55.34)
	III	328(42.71)
Taille pathologique de la tumeur (684)	T1	98(14.32)
	T2	353(51.62)
	T3	99(14.47)
	T4	134(19.59)
Infiltration ganglionnaire (682)	Negative	236(34.60)
	Positive	446(65.40)
ER (751)	Negatif	316(42.08)
	Positif	435(57.92)
PR (751)	Negatif	319(42.48)
	Positif	432(57.52)
HER2 (729)	Negatif	500(68.59)
	Postitif	229(31.41)
Metastases a distance (670)	M0	385(57.46)
	M1	93(13.88)
	Mx	192(28.66)
Sous types moléculaires (65)	Luminal A	278(37.8)
	Luminal B	190(25.9)
	HER2+	96(13.1)
	TNBC	171(23.3)
Type de traitement	Chimiothérapie	656(77.17)
	Hormonothérapie	468(55.05)
	Thérapie ciblée	119(14.02)
	Radiothérapie	439(51.64)

II.1.2.1.1 Répartition des patientes selon l'âge au diagnostic

L'âge moyen de survenu du cancer du sein est de 50.57 ans et l'âge médian est de 49 ans.

Plus de la moitié (51.9%) des patientes étaient préménopausées au moment du diagnostic (**Figure 13**). Les femmes dont l'âge est compris entre 40 et 49 ans étaient les plus représentées (31.1%) (**Figure 14**), notons que 7 % des patientes sont des femmes jeunes (< 35 ans).

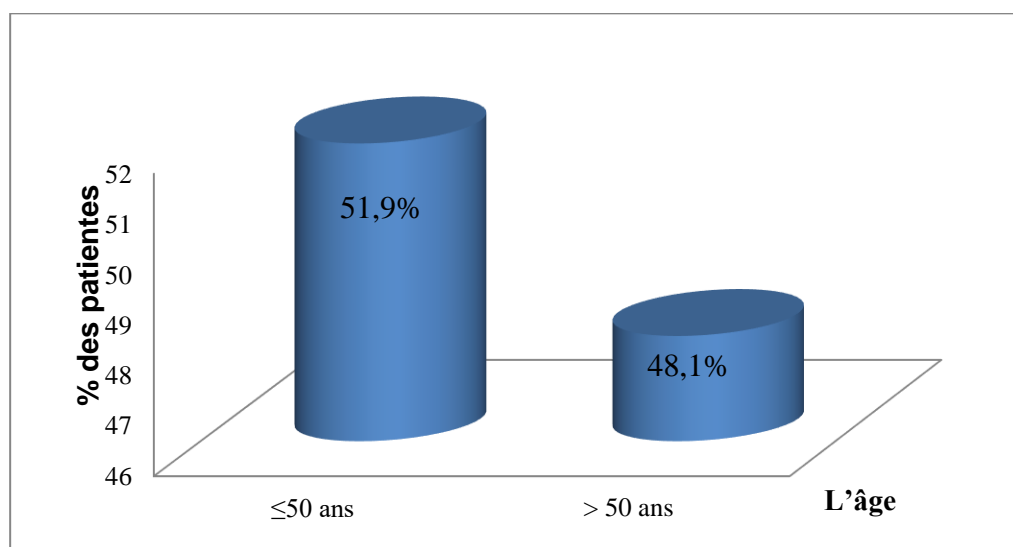


Figure 13 : Répartition des cancers du sein selon l'âge des patientes

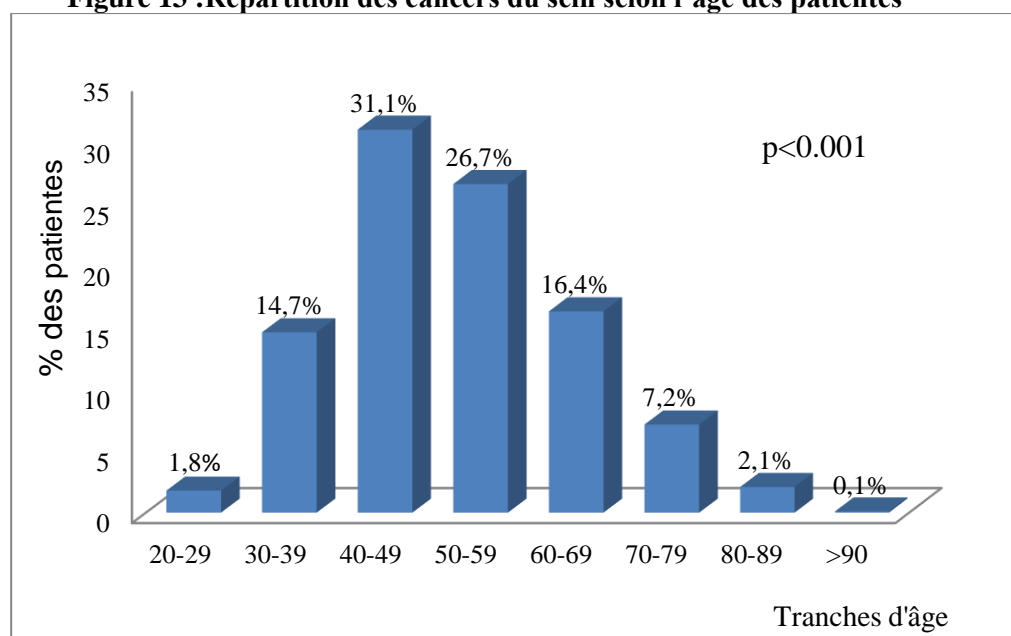


Figure 14: Distribution de la fréquence de cancer du sein selon les tranches d'âge

II.1.2.1.2 Répartition des patientes selon la taille de la tumeur

La taille tumorale est comprise entre 0.5 à 12 cm et la taille tumorale moyenne était de 3.3 cm. La **Figure 15** montre que seulement 21 % des patientes avaient une tumeur dont la taille était inférieure ou égale à 2 cm, la majorité des tumeurs (79 %) avaient un diamètre supérieur à 2 cm.

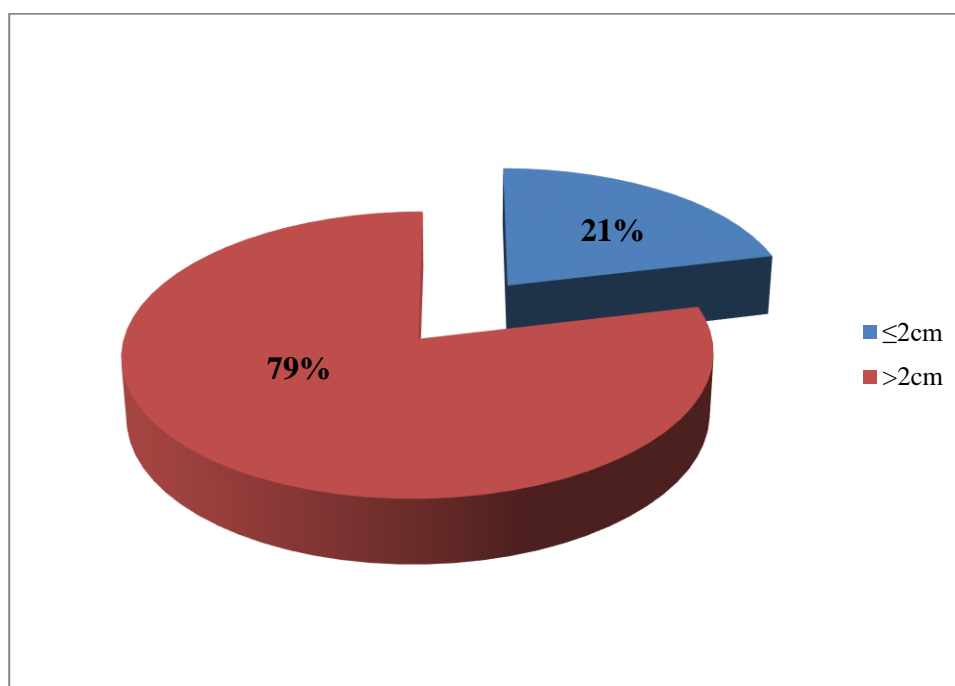


Figure 15: Répartition des cancers du sein selon la taille de la tumeur (en cm)

Dans cette étude, nous remarquons une prédominance des tumeurs classées T2 (51.62 %), suivi des tumeurs classées T4 (19.59 %). Les tumeurs T1 et T3 viennent en troisième position avec un taux de 14.32 % et 14.47 % respectivement (**Figure 16**).

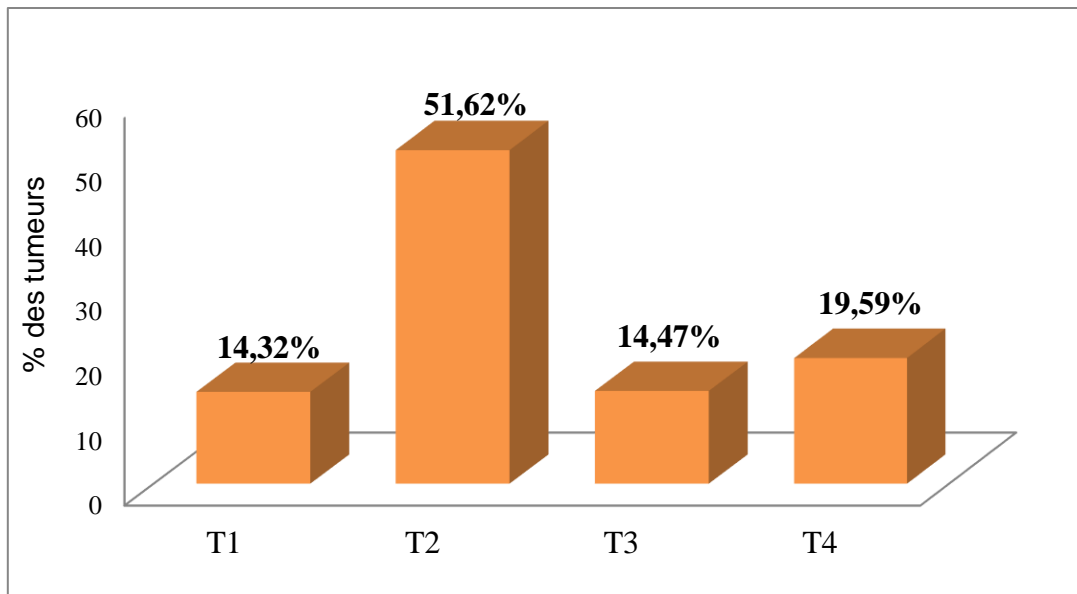


Figure 16: Répartition des cancers du sein selon la classification clinique de la taille tumorale

II.1.2.1.3 Répartition des cancers du sein selon l'envahissement ganglionnaire axillaire

Le curage ganglionnaire a été réalisé dans 80.70 % des cas soit chez 682 patientes. Les métastases ganglionnaires axillaires étaient présentes dans 65.40 % des cas et absentes (N0) chez 34. % des patientes (**Figure 17**).

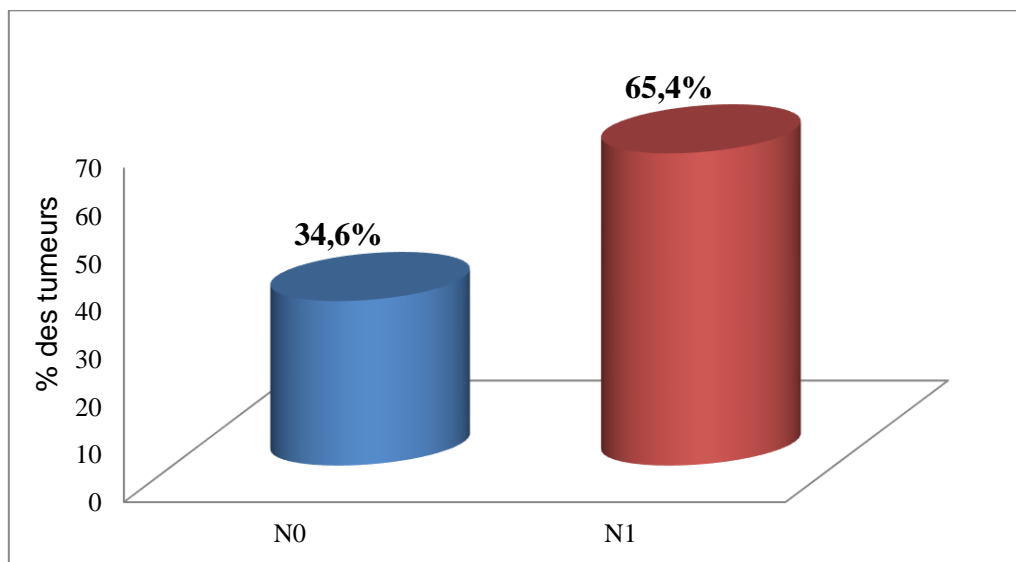


Figure 173: Répartition des cancers du sein selon l'envahissement ganglionnaire axillaire

II.1.2.1.4 Répartition des cancers du sein selon le type histologique

Les tumeurs issues des 850 patientes atteintes du cancer du sein étaient principalement de type histologique canalaire (87.2%) suivi des carcinomes lobulaires (8.7%), les autres types histologiques étaient représentés par une faible fréquence (4.1%) (**Figure 18**).

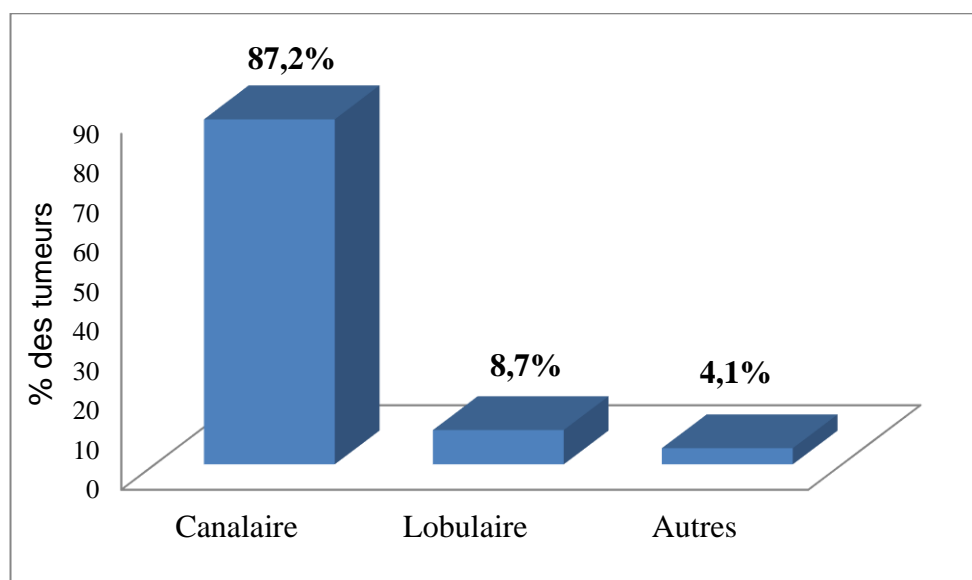


Figure18: Répartition des cancers du sein selon le type histologique

II.1.2.1.5 Répartition des cancers du sein selon le grade SBR

Le grade histologique des tumeurs (SBR) est un paramètre biologique témoin du stade de la maladie. Dans notre étude le grade histologique intermédiaire (Grade SBR II) a été retrouvé dans 425 tumeurs (55%). 328 tumeurs (43%) présentaient un grade SBR élevé (Grade SBR III). Le grade SBR I (Bas grade) n'a été retrouvé que dans 15 tumeurs (2%) (**Figure 19**).

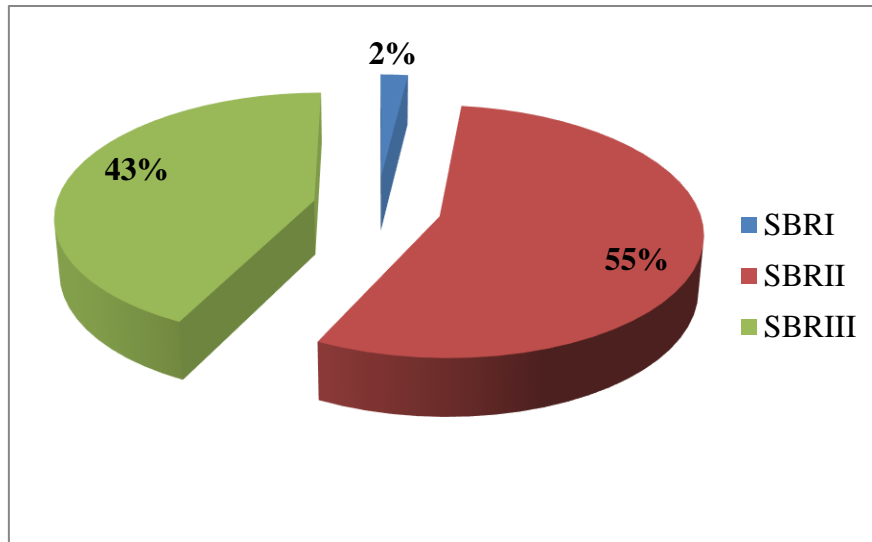


Figure 19: Répartition des cancers du sein selon le grade SBR

II.1.2.1.6. Profil d'expression des récepteurs hormonaux ER et PR et du récepteur tyrosine kinase HER2

La **figure 20** représente la répartition des patientes selon l'expression tumorale des récepteurs hormonaux (RE et RP) et du récepteur HER2. Les résultats montrent que 57.92 % des tumeurs expriment le récepteur aux œstrogènes (RE +), et que 57.52 % expriment le récepteur à la progestérone (RP +). Quant au marquage du récepteur HER2, ce dernier était retrouvé positif dans 31.41% des cas.

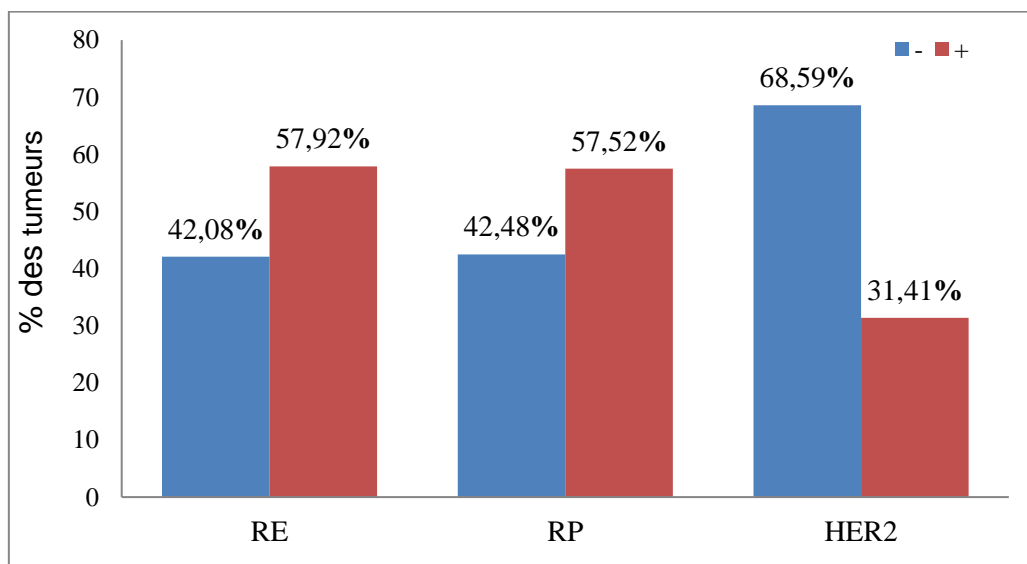


Figure 20: Répartition des cancers du sein selon le profil d'expression des récepteurs hormonaux (ER et PR) et du récepteur HER2

II.1.2.1.7 Répartition des patientes selon le type de thérapie administrée

La répartition des malades selon le type de thérapie administrée indique que les patientes atteintes de cancer du sein sont principalement traitées par chimiothérapie. En effet, 507 patientes (77,28%) ont reçu une chimiothérapie adjuvante dès leur admission au service d'oncologie et 20,28 % ont bénéficié de chimiothérapie néoadjuvante. Notons que 2.44% des patientes étaient inopérables et ont reçu une chimiothérapie palliative. 439 patientes (51.64%) ont été traité par radiothérapie alors que seulement 119 patientes (14%) ont reçu une thérapie ciblée à base d'Herceptine. Les patientes dont les tumeurs sont hormonosensibles (55.05%) ont reçu un traitement hormonal (hormonothérapie) (**Figure 21**).

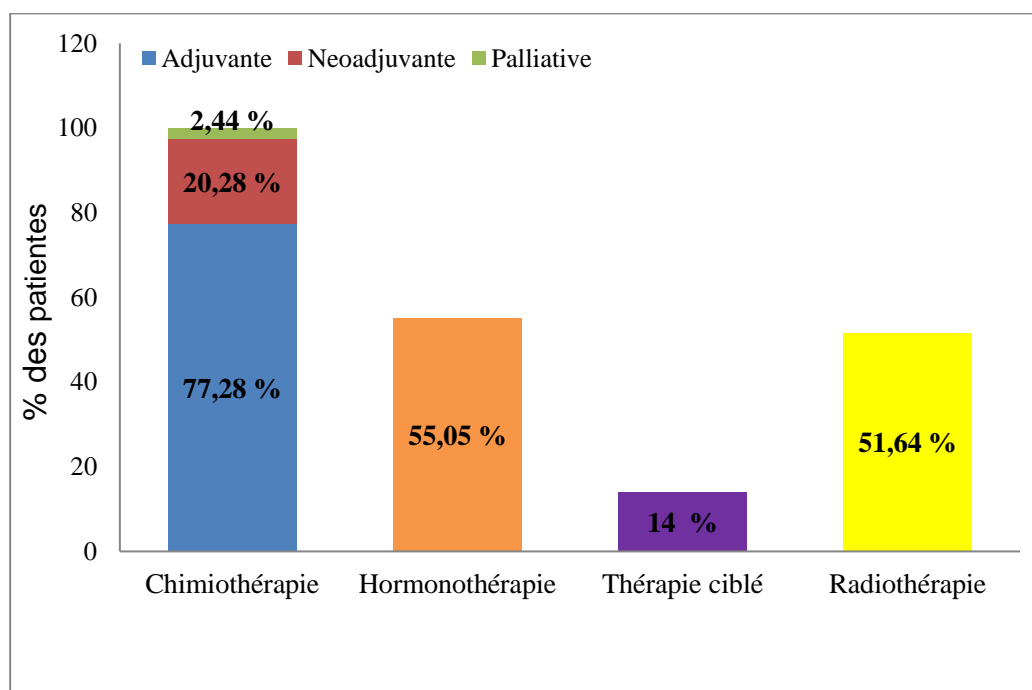


Figure 21: Répartition des cancers du sein selon la conduite thérapeutique

II.1.2.2. Classification moléculaire du cancer du sein : distribution des sous types moléculaires, caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires

La détermination des groupes moléculaires est actuellement indispensable pour une meilleure stratégie thérapeutique à adapter vis à vis des patientes. De ce fait, nous nous sommes proposés d'aborder cette nouvelle classification moléculaire du cancer du sein par une approche immunohistochimique validée comme technique substitutive à l'analyse par microarray. Nous avons classé ces carcinomes en 4 sous types moléculaires, le **Tableau 5** résume les caractéristiques clinicopathologiques de chaque sous type moléculaire du cancer du sein.

Tableau 5:Corrélation entre les sous types moléculaire de cancer du sein et les paramètres clinicopathologiques

Paramètres clinicopathologiques		Luminal A	Luminal B	HER2+	TNBC	P value
Type histologique	Canalaire	252(39.4)	167(26.1)	80(12.5)	140(21.9)	p=0.03
	Lobulaire	18(27.3)	18(27.3)	12(18.2)	18(27.3)	
	Autres	6(23.1)	4(15.4)	4(15.4)	12(46.2)	
Taille tumorale pT	pT1	53(56.4)	18(19.1)	8(8.5)	15(16)	P=0.0001
	pT2	129(40.6)	77(24.2)	36(11.3)	76(23.9)	
	pT3	13(16.7)	27(34.6)	12(15.4)	26(33.3)	
	pT4	31(25.6)	46(38)	25(20.7)	19(15.7)	
Grade SBR	I	8(61.5)	1(7.7)	3(23.1)	1(7.7)	P=0.0001
	II	177(48.1)	92(25)	32(8.7)	67(18.2)	
	III	74(23.8)	93(29.9)	54(17.4)	90(28.95)	
Infiltration ganglionnaire	N-	84(40.6)	37(17.9)	29(14.0)	57(27.5)	P=0.003
	N+	148(35.7)	132(31.8)	49(11.8)	86(20.7)	

La classification moléculaire du cancer du sein a permis de répartir les cas étudiés selon 4 groupes distincts :Luminal A, Luminal B, HER2 positif (HER2+) et triple négatif(TNBC). Dans notre série le sous type Luminal A était le plus représenté (37.8%), suivi du sous type Luminal B (25.9%), puis le sous type HER2+ (23.3%), et enfin le sous type TNBC (13.1%) (**Figure 22**).

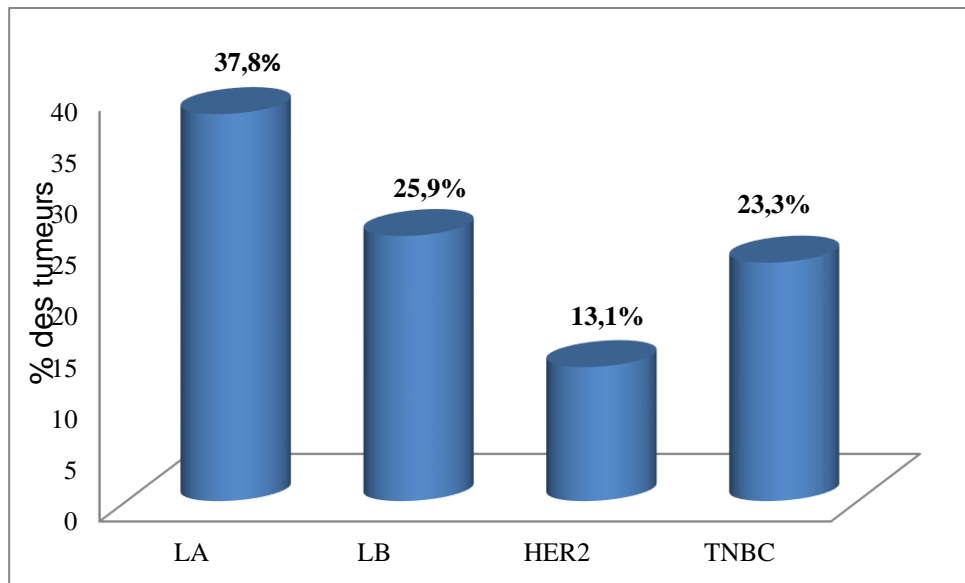


Figure 22: Distribution des cancers du sein selon le sous type moléculaire

II.1.2.2.1 Répartition des différents sous types moléculaires selon l'âge des patientes

On constate que les tumeurs Luminales B et HER2 sont associées aux femmes préménopausées (<50ans), alors que les tumeurs Luminales A et TNBC affectaient principalement les patientes de plus de 50 ans (**Figure 23**).

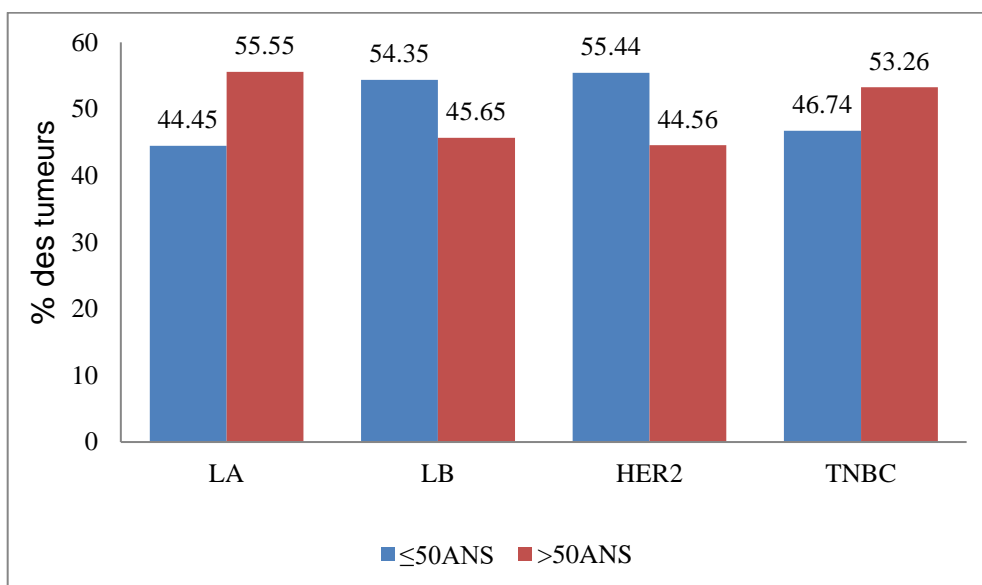


Figure 23: Répartition des sous types moléculaires selon l'âge des patientes

II.1.2.2.2 Répartition des sous types moléculaires en fonction de la taille tumorale (TNM)

Dans notre étude, les tumeurs de sous type Luminal A étaient représentées par les stades précoces pT1 et pT2. Alors que pour les stades avancées, on note une prédominance du sous type Luminal B et TNBC (stade pT3) et une prédominance du sous type Luminal B et HER2+ pour le stade pT4 (**Tableau 5**).

En effet, l'étude de chaque type moléculaire a confirmé ces résultats puisque le sous type Luminal A était associé respectivement dans 23.25 % et 57.1 % des cas aux stades précoces T1 et T2. Les sous types moléculaires HER2+ et Luminal B étaient associés plus fréquemment au stade T4 (30.9% et 27.4%) et au stade T3 (14.8% et 16.1%) respectivement. Les tumeurs TNBC sont retrouvées aussi bien à un stade T3 (19%) que T4 (14%) (**Figure 24**).

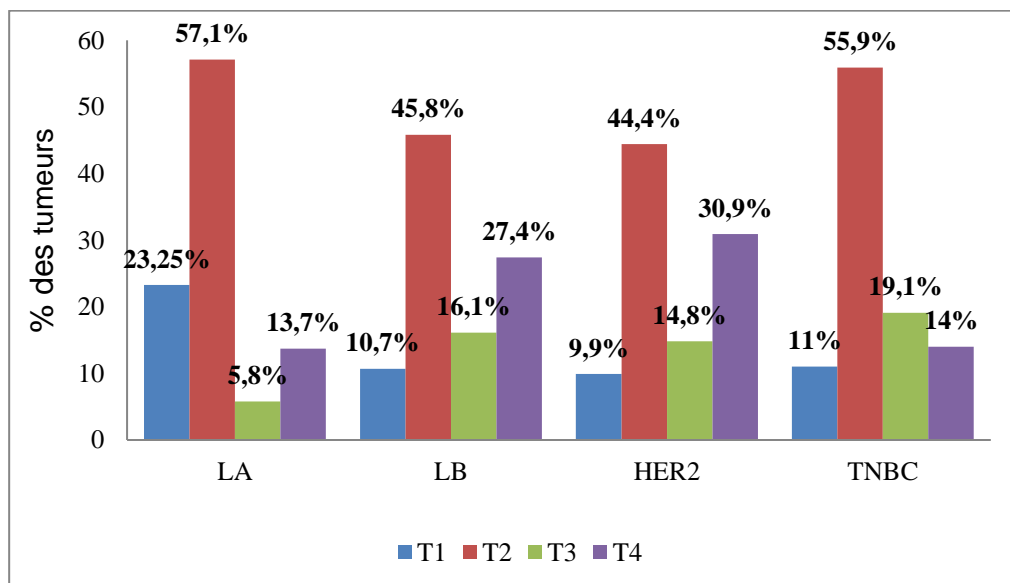


Figure24 : Répartition des sous types moléculaires selon la taille tumorale pT(TNM)

II.1.2.2.3 Répartition des sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire

L'analyse des sous types moléculaires du cancer du sein a montré une corrélation significative ($p=0.003$) avec le statut ganglionnaire (**Tableau 5**).

Les tumeurs Luminal B et HER2+ présentaient les plus hauts taux d'envahissement ganglionnaire avec respectivement des pourcentages de 78.1% et 68.8%. L'absence d'infiltration ganglionnaire était très faiblement représentée dans les tumeurs de sous type HER2+ (14%) et Luminal B (17.9%) (**Figure 25**).

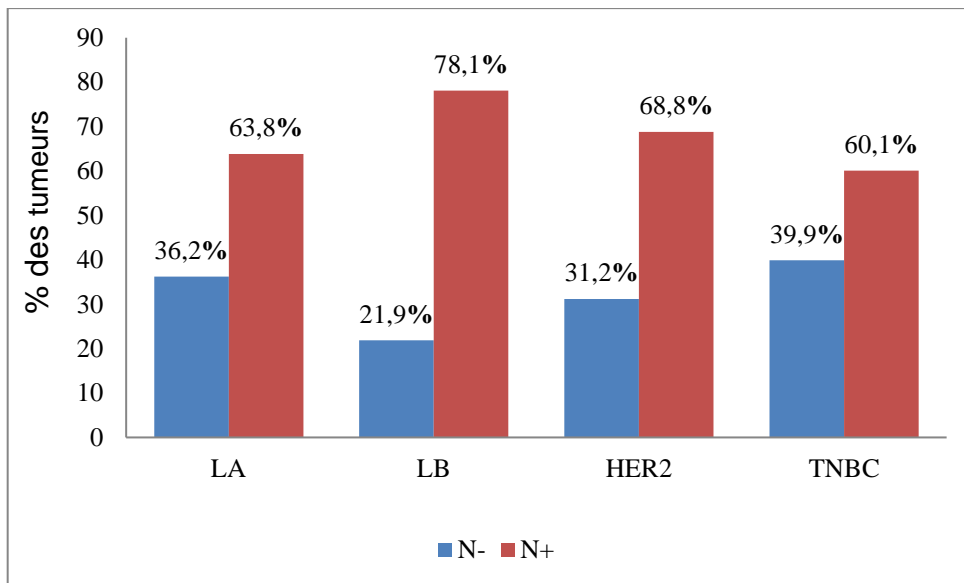


Figure 25 4: Répartition des sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire

II.1.2.2.4 Répartition des sous types moléculaires selon le grade SBR

On a noté que les sous types moléculaires présentaient un grade SBR différent. Les tumeurs appartenant aux groupe HER2+ étaient caractérisées par le grade histologique le plus élevé SBR III (60.7% des cas), suivie par les tumeurs de type TNBC et Luminal B avec 57 % et 50 % des cas respectivement. A l'inverse un grade intermédiaire SBR II était plus fréquemment retrouvé au sein des tumeurs Luminales A (68.3%) (**Figure 26**).

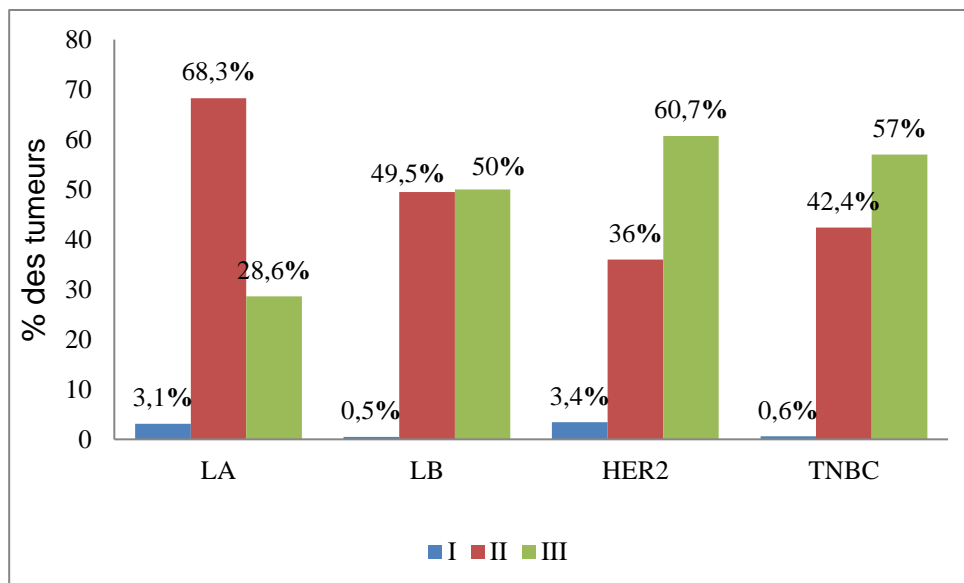


Figure26: Répartition des sous types moléculaires selon le grade SBR

II.1.2.3 Évaluation du statut immunohistochimique des protéines

PIK3CA et AKT dans les cancers du sein

II.1.2.3.1 Les caractéristiques clinicopathologiques de tumeurs mammaires étudiées

Notre échantillon d'étude était représenté par 65 carcinomes mammaires infiltrants colligés au sein du service d'anatomie pathologique de l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO) entre Janvier 2009 et Décembre 2014. Le Tableau 6 résume les caractéristiques cliniques et pathologiques des 65 patientes incluses dans l'étude.

L'âge moyen était de 57 ans, l'étude de la distribution de la population en fonction de l'âge montre une prédominance des patientes âgées entre 40 et 49 ans. La taille tumorale moyenne est de 2.5 cm. La majorité des cas présentent des tumeurs de grande taille (> 2 mm) soit 54 cas (85,71%), 9 (14,28%) des cas se sont des tumeurs de petite taille (≤ 2 mm) .

Le carcinome canalaire infiltrant était le type histologique le plus prédominant représentant 93,84% des cas, suivi par le carcinome lobulaire infiltrant qui représentait 1,53% des cas, le reste des tumeurs était représenté par des cas rares.

Selon la classification histologique, les tumeurs de grade SBR II étaient le plus représentées (53,84%), suivi des tumeurs de grade III (44,61%), puis les tumeurs de grade I (1,53%).

Le curage ganglionnaire a été réalisé chez 100% des patientes. Par ailleurs, l'étude anatomo-pathologique des ganglions a révélé que 38.46% des patientes étaient porteuses de ganglions sains classés N0 contre 61.53% classées N+ . Dans notre série, seulement 7.41 % des patientes présentaient des métastases à distance.

Tableau 6:Caractéristiques clinico-pathologiques de 65 patientes atteintes de cancer du sein

Paramètres clinicopathologiques	N(%)	
patientes	65(100)	
Age (65)	≤ 50ans >50ans	29(44.61) 36(55.38)
Organe (61)	Droit Gauche	32(52.45) 29(47.54)
Taille tumorale (cm)(63)	≤2cm >2cm	9(14.28) 54(85.71)
Type histologique(65)	Canalaire Lobulaire Autre	61(93.84) 1(1.53) 3(4.61)
Grade SBR (65)	I II III	1(1.53) 35(53.84) 29(44.61)
Taille pathologique de la tumeur (63)	T1- T2 T3- T4	49(77.77) 14(22.22)
Infiltration ganglionnaire (65)	Negative Positive	25(38.46) 40(61.53)
ER (65)	Negatif Positif	25(38.46) 40(61.53)
PR (65)	Negatif Positif	30(46.15) 35(53.8)
HER2 (64)	Negatif Positif	41(64.06) 23(35.93)
Metastases à distance (64)	M0 M1 Mx	17(26.56) 5(7.81) 42(65.62)
Sous types moléculaires (65)	Luminal A Luminal B TNBC HER2+	17(26.15) 28(43.07) 11 (16.92) 9 (13.84)

II.1.2.3.2. Profils d'expression des récepteurs hormonaux (ER, PR) et de HER2

Les récepteurs oestrogéniques présentent un marquage nucléaire de plus de 10 % et sont exprimés dans 61,53% des cellules tumorales. Le récepteur de la progestérone est retrouvé dans 53.8% des tumeurs. La négativité ER et PR a été observée dans 38,46% et 46,15% des cas respectivement. En ce qui concerne HER2 est surexprimé dans 35,93% des cas.

La classification moléculaire du cancer du sein a permis de répartir les cas étudiés selon 4 groupes distincts : 26,15% des tumeurs appartiennent au groupe luminal A, 43,07% au groupe luminal B, 13,84% au groupe HER-2 positif et 16,92% au groupe Triple Négatif TNBC .

II.1.2.3.3. Corrélation entre l'expression de PIK3CA, p-AKT et les caractéristiques clinicopathologiques

Dans cette étude, le niveau d'expression des protéines PIK3CA et p-Akt a été évalué par immunohistochimie dans 65 cas de tissus issus de cancer du sein et de tissus normaux adjacents à la tumeur correspondante. Le **Tableau 7** et le **Tableau 8** résument respectivement les corrélations entre l'expression de PIK3CA, p-AKT et les paramètres clinicopathologiques des patientes.

L'expression positive de PIK3CA a été observée dans 50 (77%) tumeurs. La forme phosphorylée et activée Akt (S473) est retrouvée dans 18 (27,7%) tumeurs. Les résultats de l'immunomarquage de PIK3CA et p-AKT sont représentés respectivement dans les **Figures 30** et **31**.

La surexpression de PIK3CA était associée à des tumeurs agressives et à des caractéristiques clinicopathologiques péjoratives ,telles que un grade SBR élevé et des tumeurs qui n'expriment pas les récepteurs hormonaux ER et PR ($p = 0,007$ et $p = 0,009$ respectivement). L'expression positive de p-Akt était significativement associée à des tumeurs ER négatives ($p = 0,026$) ainsi que des tumeurs PR négatives ($p = 0,009$) et à l'oncogène

HER2 positif ($p = 0,048$). Une association a été identifiée entre la surexpression PIK3CA et un score plus élevé de p-Akt ($p = 0,05$).

Tableau 7: corrélation entre l'expression de PIK3CA et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes

Paramètres clinico-pathologiques	L'expression PIK3CA			Valeur <i>P</i>
	Negative No. (%)	Modérement positive No. (%)	Fortement positive No. (%)	
N patientes (65 cases)	15(23.1)	17(26.2)	33(50.8)	
Age (65)				
≤ 50ans	8(27.6)	8(27.6)	13(44.8)	0.684
>50 ans	7(19.4)	9(25.0)	20(55.6)	
Taille de la tumeur (63)				
≤2cm	3(33.3)	1(11.1)	5(55.6)	0.512
>2cm	11(20.4)	16(29.6)	27(50.0)	
Type histologique (65)				
Canalaire	14(23)	17(27.9)	30(49.2)	0.798
Lobulaire	0(0)	0(0)	1(100)	
Autre	1(33.3)	0(0)	2(66.7)	
Grade SBR(65)				
I	0(0)	1(100)	0(0)	0.053
II	12(34.3)	6(17.1)	17(48.6)	
III	3(10.3)	10(34.5)	16(55.2)	
pTNM (63)				
pT1	2(28.6)	1(14.3)	4(57.1)	0.911
pT2	9(21.4)	13(31.0)	20(47.6)	
pT3	2(18.2)	2(18.2)	7(63.6)	
pT4	1(33.3)	1(33.3)	1(33.3)	
Infiltration ganglionnaire (65)				
Negative	5(20)	9(36)	11(44)	0.399
Positive	10(25)	8(20)	22(55)	
ER (65)				
Negatif	1(4)	6(24.0)	18(72)	0.007
Postif	14(35)	11(27.5)	15(37.5)	
PR(65)				
Negatif	2(6.7)	8(26.7)	20(66.7)	0.009
Postif	13(37.1)	9(25.7)	13(37.1)	

HER2(64)				
Negatif	7(17.1)	12(29.3)	22(53.7)	0.302
Positif	8(34.8)	5(21.7)	10(43.5)	
Sous type moléculaire(65)				
Luminal (45)	15(33.3)	12(26.7)	18(40.0)	0.021
HER2+(9)	0(0)	3(33.3)	6(66.7)	
TNBC(11)	0(0)	2(18.2)	9(81.9)	
Sous type moléculaire				
LuminalA	7(41.2)	6(35.3)	4(23.5)	0.031
LuminalB	8(28.61)	6(21.4)	14(50.6)	
TNBC	0(0)	2(18.2)	9(81.8)	
HER2+	0(0)	3(33.3)	6(66.7)	
pAKT(65)				
Negatif	14(29.8)	13(27.7)	20(42.6)	0.05
Positif	1(5.6)	4(22.2)	13(72.2)	

Tableau 8: corrélation entre l'expression de p-Akt et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes

Paramètres clinico-pathologiques	pAKT		Valeur <i>P</i>
	pAkt- No. (%)	pAkt+No. (%)	
N patientes (65cases)	47(72.3)	18(27.7)	
Age (65)			
≤ 50ans	22(75.9)	7(24.1)	0.592
>50 ans	25(69.4)	11(30.6)	
Taille tumorale (cm)(63)			
≤2cm	8(88.9)	1(11.1)	0.426
>2cm	37(68.5)	17(31.5)	
Type histologique(65)			
Canalaire	44(72.1)	17(27.9)	0.169
Lobulaire	0(0)	1(100)	
Autre	3(100)	0(0)	
Grade SBR (65)			
I	1(100)	0(0)	0.700
II	24(68.6)	11(31.4)	
III	22(75.9)	7(24.1)	
p TNM (63)			0.340
pT1	6(85.7)	1(14.3)	

pT2	28(66.7)	14(33.3)	
pT3	10(90.9)	1(9.1)	
pT4	2(66.7)	1(33.3)	
Infiltration ganglionnaire (65)			
Negative	18(72)	7(28)	1.00
Positive	29(72.5)	11(27.5)	
ER (65)			
Negatif	14(56.0)	11(44.0)	0.026
Postif	33(82.5)	7(17.5)	
PR (65)			
Ngatif	17(56.7)	13(43.3)	0.013
Postif	30(85.7)	5(14.3)	
HER2 (64)			
Negatif	33(80.5)	8(19.5)	0.048
Postitif	13(56.5)	10(43.5)	
Sous type moléculaire(65)			
Luminal (45)	38(84.4)	7(15.6)	0.001
TNBC (11)	7(63.6)	4(36.4)	
HER2 +(9)	2(22.2)	7(77.8)	
Sous type moléculaire (65)			
LuminalA	17(100)	0(0)	0.001
LuminalB	21(75)	7(25)	
TNBC	7(63.6)	4(36.4)	
HER2+	2(22.2)	7(77.8)	

II.1.2.3.4. Corrélation entre l'expression de PIK3CA et pAKT et les sous-types moléculaires du cancer du sein

Une association significative a été observée entre les sous-types moléculaires du cancer du sein et l'expression de PIK3CA et de p-AKT. L'augmentation de l'expression de PIK3CA était significativement associée à des tumeurs triple négatives (TNBC) et les tumeurs HER2 positive ($p < 0,02$). Les sous-types Luminaux A et B ont montré une expression réduite de la PIK3CA par rapport aux autres sous-types moléculaires de cancer du sein (**Figure 27**).

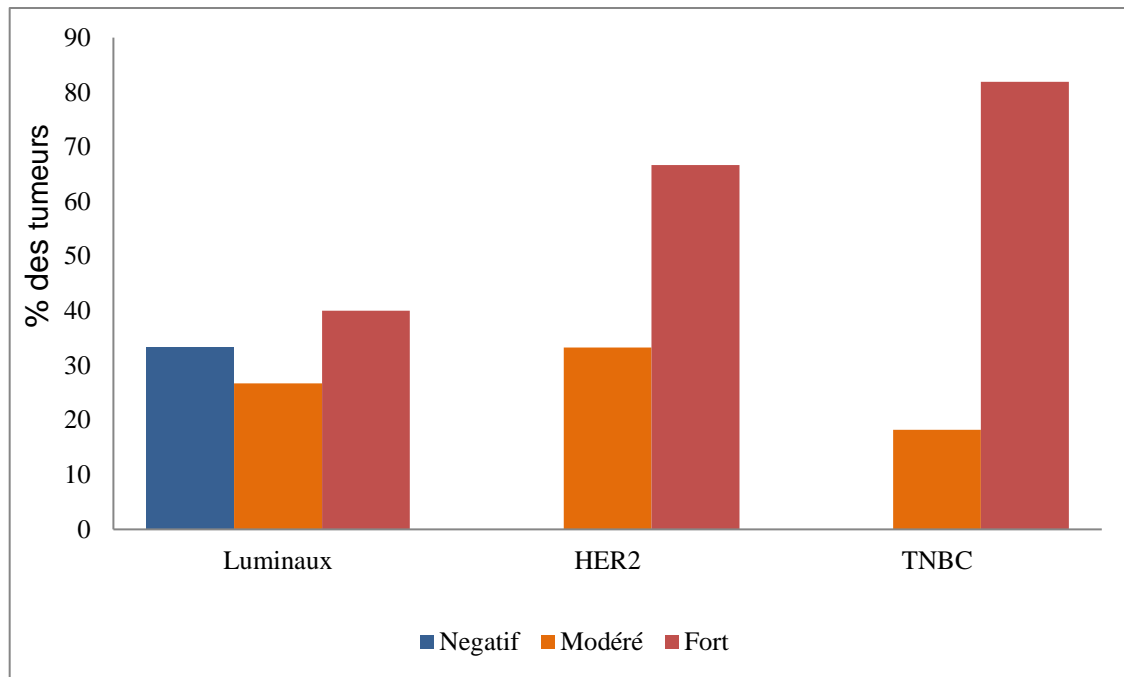


Figure 27 : Corrélation entre l'expression de PIK3CA et les sous-types moléculaires

Les tumeurs TNBC et HER2 positive sont associées à des proportions significativement plus élevées de la surexpression de PIK3CA (81,9 et 66,7% respectivement) par rapport aux tumeurs Luminales (40%). Au sein des tumeurs Luminales la surexpression de PIK3CA est plus fréquente dans le sous-type Luminal B (50%) que dans le sous-type Luminal A (25%) **(Figure 28)**.

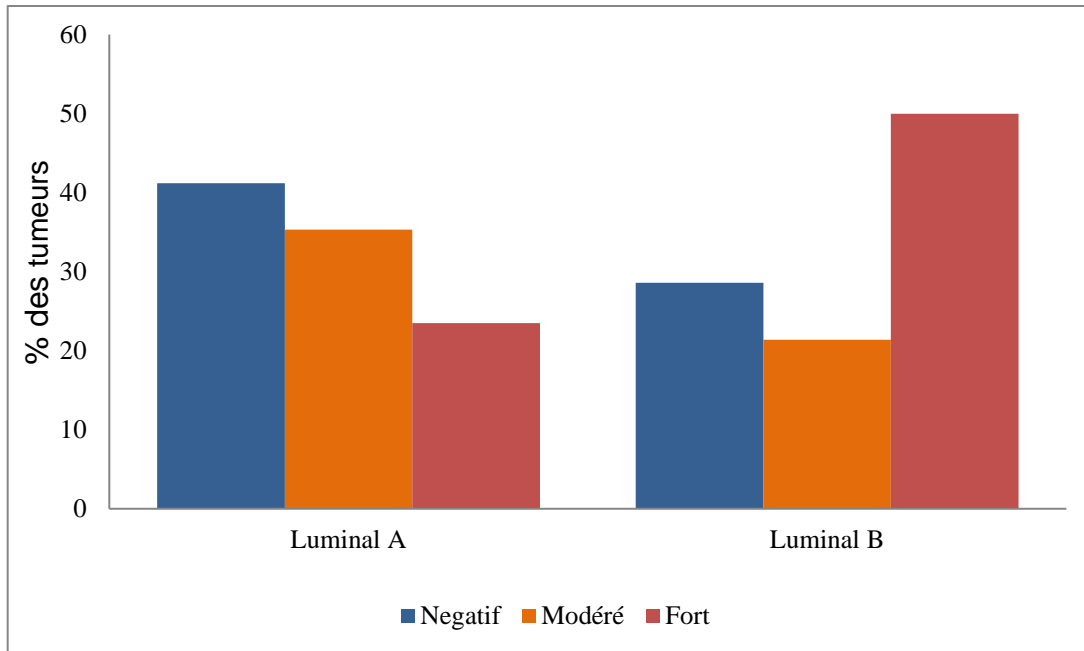


Figure 28: Expression de PIK3CA dans les sous-types Luminal A et Luminal B

La surexpression de p-Akt est significativement associée à une forte proportion de tumeurs HER2+ (77,8%) par rapport aux TNBC (36,4%). La surexpression de p-Akt est significativement associée à une forte proportion de tumeurs HER2+ (77,8%) par rapport aux TNBC (36,4%) et au sous type Luminal (15,6%) ($p = 0,001$) (**Figure 29**).

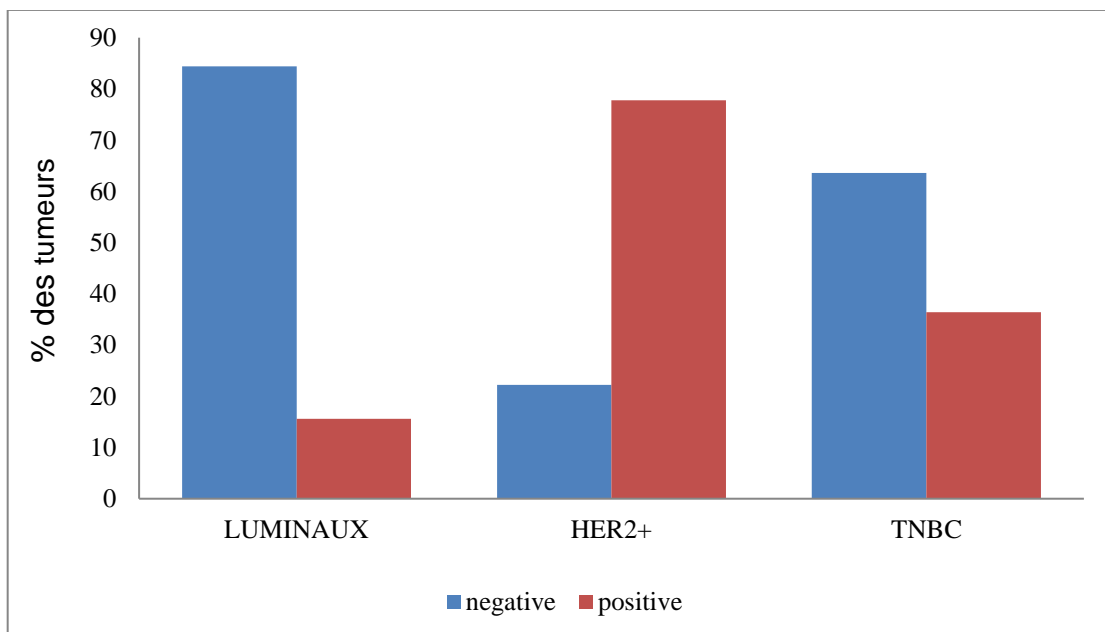


Figure 29: la corrélation entre l'expression de p-Akt et les sous-types moléculaires

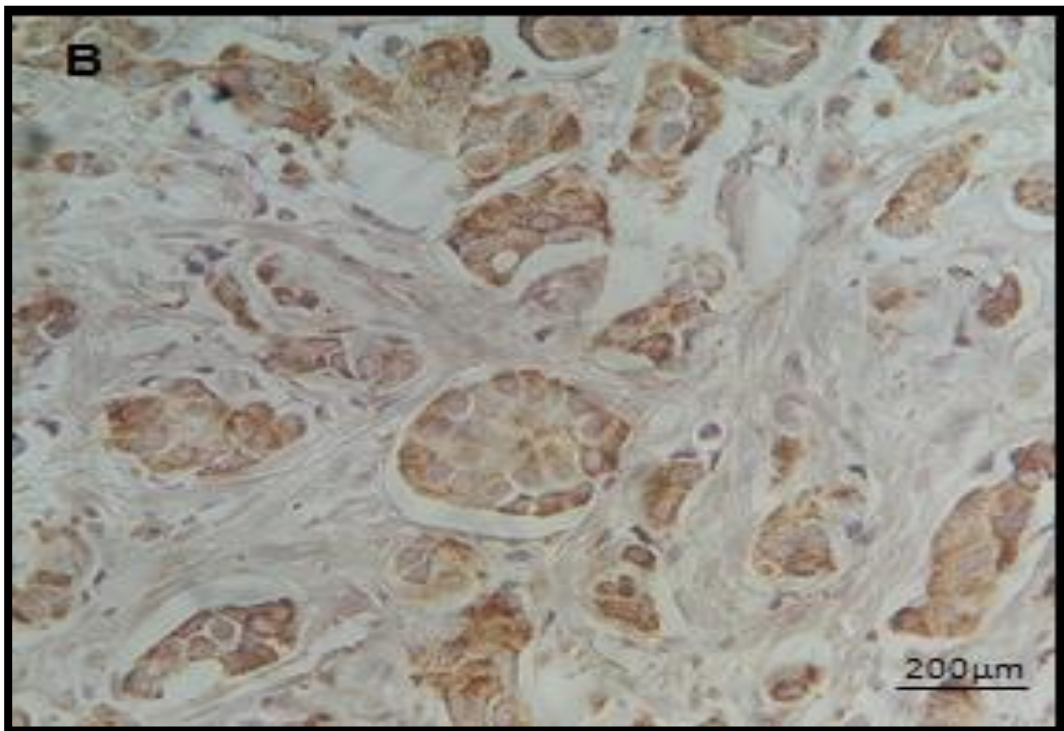
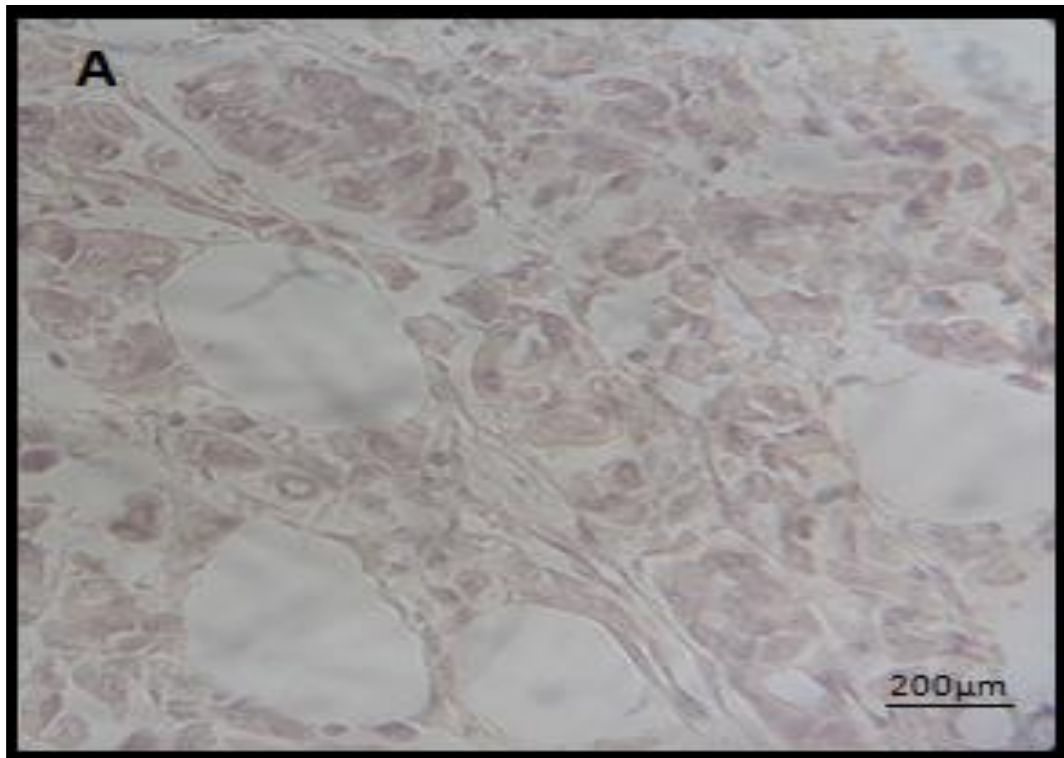


Figure 30: statut immunohistochimique du niveau d'expression de PIK3CA dans le cancer du sein
(A) absence de marquage de PIK3CA dans une tumeur mammaire Luminal A , (B) surexpression de PIK3CA dans le cytoplasme des cellules d'une tumeur mammaire triple négative (grossissement X 40).

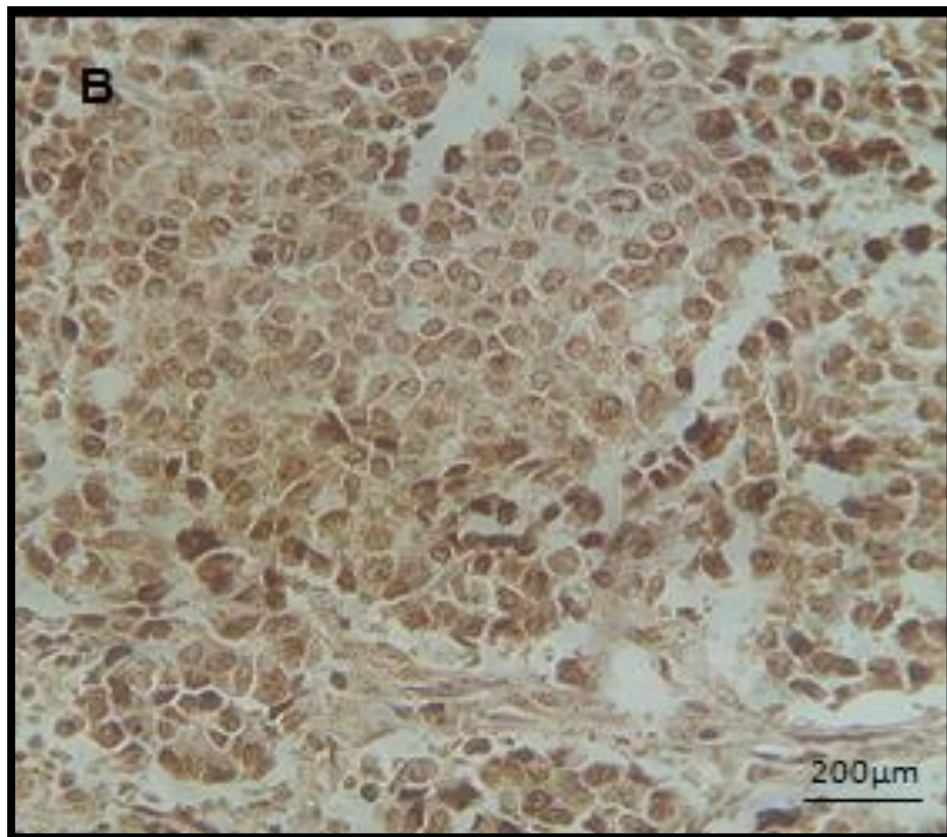
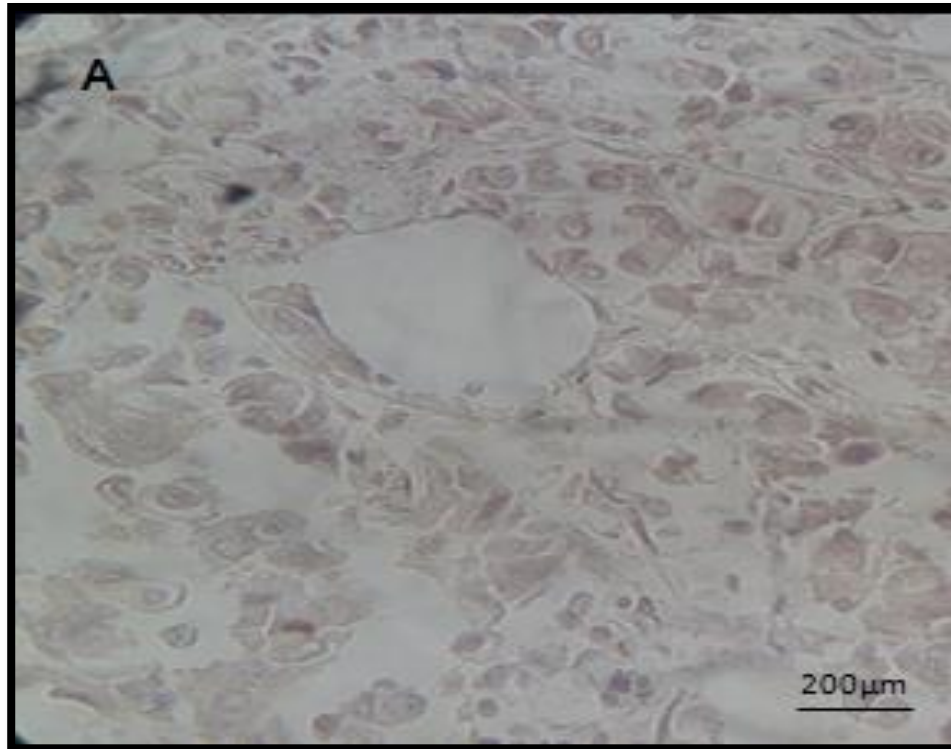


Figure 31: statut immunohistochimique du niveau d'expression de p-AKT dans le cancer du sein
(A) absence de l'expression de p-AKT dans une tumeur mammaire Luminal A , (B) surexpression de p-Akt dans le cytoplasme et noyau des cellules d'une tumeur mammaire HER+ (grossissement X 40).

II.1.3. DISCUSSION

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène, associée à des facteurs cliniques, pathologiques et biologiques variables d'un sous type moléculaire à un autre (**Simpson *et al.*, 2005**). Il reste malgré les progrès des traitements et l'apparition des thérapies ciblées, la première cause de mortalité par cancer chez la femme. L'identification de marqueurs moléculaires spécifiquement associés à un sous type particulier du cancer du sein , serait d'un grand intérêt en terme de cible thérapeutique potentielle.

II.1.3.1 Etude épidémiologique

L'étude épidémiologique rétrospective étalée sur une période de 7 ans (Janvier 2009 - Décembre 2015), incluant 850 patientes atteintes de carcinome infiltrant du sein, consistait d'une part à évaluer le profil épidémiologique, histologique et évolutif du cancer du sein , et d'autre part à déterminer les facteurs pronostiques caractéristiques de ces tumeurs.

➤ L'âge

Même si le cancer du sein peut survenir à tout âge, son risque d'apparition augmente avec l'âge. Il double approximativement tous les 10 ans jusqu'à la ménopause. Au-delà, il continue d'augmenter mais moins intensément (**Mcpherson *et al.*, 2000 ; Merviel *et al.*, 2011**).

La moyenne d'âge de survenue d'un cancer de sein est de 48 ans. Différentes études rapportent des moyennes d'âge de 48 ans, 50 ans, et 49 ans respectivement en Algérie, en Tunisie et au Maroc (**Bekkouche *et al.*, 2007 ; Bouzid *et al.*, 2013 ; Abahssain *et al.*, 2010**). Ces résultats concordent avec notre série, où la moyenne d'âge retrouvée est de 50.57 ans. Aussi, entre 20 et 50 ans le risque de cancer du sein augmente très rapidement, puis plus lentement après la ménopause (vers 50 ans) pour se stabiliser après 80ans (**Mcpherson *et al.*, 2000**). Ceci, correspond aux résultats retrouvés dans notre étude, où la tranche d'âge la plus touchée prenait les femmes de 40-49 ans.

➤ **Le type histologique**

Le type histologique joue un rôle très important dans le pronostic de la maladie. La valeur pronostic du type histologique peut être classée en quatre groupes : excellent, bon, mauvais et très mauvais pronostic (**Galea et al., 2002**).

Dans les séries, le type histologique le plus retrouvé est le carcinome canalaire suivi du carcinome lobulaire invasif. Les taux varient selon les auteurs, on retrouve : 90,6%, 88,2%, 83,2% 75,6% et 73,5% enregistrés respectivement en Inde, à Rabat, en Algérie, à Fès, en Tunisie et au Maroc (**Deshmukh et al., 2014 ; Guendouz et al., 2010 ; Kallel et al., 2015 ; Znati et al., 2014**). Dans notre série, le carcinome canalaire a été retrouvé chez 87,20% des patientes. Nos résultats sont en concordance avec la littérature.

➤ **Le grade histo-pronostic**

Toutes les études montrent que le risque métastatique et la survie sont fortement déterminés par le grade SBR, plus le grade est élevé, plus le pronostic est mauvais. Ainsi, le grade histo-pronostic constitue un facteur pronostic indépendant en matière de cancer du sein et influence significativement sur la survie globale (**Porter et al., 2004**).

On note une nette prédominance des grades SBR II et III, ces derniers sont retrouvés chez 98% de la population étudiée, ceci confirme l'étendue du cancer du sein de nos patientes au moment du diagnostic et nos résultats sont similaires aux études de **Bouzi N et al (2013)** et **de Ben Abdallah et al (2009)**.

➤ **La classification TNM**

La classification TNM repose sur 3 critères :

- **La taille de la tumeur** est le second facteur pronostic du cancer du sein après le statut nodal. C'est un facteur pronostic indépendant, sans égard au statut des ganglions lymphatiques (**Lonning et al., 2007**).

Plusieurs études ont montré que les tumeurs du sein chez les femmes jeunes sont de grande taille par rapport aux femmes plus âgées (**Gajdos et al., 2000 ; Kroman et al., 2000**). Dans cette étude, on a noté un pourcentage élevé de tumeurs classées T2 (51.62 %), suivi par les tumeurs classées T4 (19.59 %). La taille tumorale diffère d'une série à une autre, on remarque toujours une grande proportion des tumeurs T2/T3, suggérant un manque de dépistage précoce mais aussi une agressivité tumorale et un diagnostic tardif chez les patientes de l'ouest Algérien.

➤ **Le nombre de ganglions envahis par la tumeur**

L'envahissement ganglionnaire est un élément pronostic essentiel. La palpation du creux axillaire ne préjuge pas de l'atteinte ganglionnaire car 25% des ganglions palpés ne sont pas envahis à l'analyse histologique. Plus le nombre de ganglions atteints augmente, plus le risque de récurrence est élevé (**Belaid et al., 2010 ; Anders et al., 2009**). Le taux d'atteinte ganglionnaire (N+) est de 50 % dans la littérature (**Espié et al., 2010 ; Botteri et al., 2010**).

Notre présente série, montre que 65.4% des patientes avaient un envahissement ganglionnaire, ces résultats sont similaires aux travaux réalisés en 2013 par Bouzid N et al ou 64.5% de ganglions étaient envahis, ce qui détermine l'agressivité de ce profil. Dans notre contexte, il se distingue par un retard de diagnostic expliquant ces stades avancés.

➤ **le statut métastatique**

Environ 5% à 10% des cancers du sein présentent des métastases au moment du diagnostic, parmi eux environ un cinquième survivra à 5 ans (**Cardoso et al., 2012**).

Les taux observés dans les séries des femmes maghrébines est 11% selon *Boufettal et al.*, 11,5% selon *Schlichting et al* et 15,7% selon *Kallel et al.*, (**Boufettal et al., 2010 ; Schlichting et al., 2015 ; Kallel et al., 2015**). Notre série montre un taux de 13,88% de sein métastatique au diagnostic. Par contre, les séries de *Copson et al.*, *Gnerlich et al.*, *Fredholm et*

all., et *Liukkonen et al.*, montrent des taux plus bas : 2,5%, 3,5%, 6,1% et 7% respectivement (**Gnerlich et al., 2009 ; Fredholm et al., 2009 ; Copson et al., 2013 ; Liukkonen et al., 2011**). Cette différence montre un retard de diagnostic chez la femme maghrébine par rapport à la femme occidentale.

➤ **Les récepteurs hormonaux**

Les récepteurs hormonaux sont considérés comme un important facteur pronostique. Ces protéines intracellulaires liant l'œstrogène et la progestérone sont indispensables pour espérer que la tumeur soit hormonosensible. Ceux sont des facteurs prédictifs de la survie, indépendamment des autres facteurs cités précédemment (**Morabito et al., 2003**).

Notre série a montré que 42.8 % des cas sont RE - et 42.48 % sont RP -. Plusieurs études concordent avec nos résultats , nous retrouvons une absence d'expression de ER dans 33,7%, 65,11%, 48% et de PR dans 35%, 54,6% , 55% enregistrés respectivement en Angleterre, en Inde et aux Etats Unis (**Gnerlich et al., 2009 ; Deshmukh et al., 2014 ; Copson et al., 2013**).

➤ **HER2**

La surexpression de l'oncoprotéine HER2 a une importante valeur pronostique. En effet, en cas d'envahissement ganglionnaire associé à une amplification du gène *ERBB2*, le pronostic est péjoratif (**Assi et al., 2013 ; Ravanel et al., 2005**). Elle est également associée à des fréquences plus élevées de métastases hépatiques, pulmonaires et cérébrales (**Tallet et al., 2013 ; Anders et al., 2011**).

Dans notre série, on note une surexpression de HER2 dans 31.41% des patientes, ce qui concorde avec les résultats de **Bekkouche et al., 2007**. Les séries marocaines ont retrouvé une surexpression dans 41% des cas (**Boufettal et al., 2010**) et 21,6% des cas (**Znati et al., 2014**),. En outre-mer, on note des taux de 23,2% en Angleterre, 24,3% en Inde et 30% en Finlande (**Deshmukh et al., 2014 ; Copson et al., 2013 ; Liukkonen et al., 2011**).

➤ **Traitement**

Le traitement multimodal du cancer du sein est un modèle pour la planification des soins multidisciplinaires, et implique généralement, des chirurgiens, des oncologues médicaux, des radiologues, des radiothérapeutes, des pathologistes, des généticiens, des travailleurs sociaux et des chirurgiens plasticiens (**Reyna et al., 2014**).

Plusieurs études ont montré que l'irradiation du sein après la chirurgie diminue significativement le risque de survenue de récurrence et augmente la survie tout en gardant les mêmes indications et les mêmes bénéfices (**Mcgale et al., 2014**). Dans notre série, un peu plus de la moitié des patientes (51,05%) ont reçu une radiothérapie. Ce chiffre reste très bas comparativement à la littérature. Au Maroc, le taux de patientes ayant reçu une radiothérapie était de 91,5% (**Slaoui et al., 2016**). Ce taux est de 78,31%, 79,8%, 75% et 73,13% respectivement en Tunisie, en Angleterre, en Finlande et en Suède (**Fredholm et al., 2009 ; Kallel et al., 2015 ; Copson et al., 2013 ; Liukkonen et al., 2011**). Nous ne pouvons expliquer cette grande disparité que par la fréquence élevée des patientes perdues de vue après l'acte chirurgical ou la rechute des patientes avant d'entamer la radiothérapie.

La chimiothérapie augmente significativement l'espérance de vie chez les patientes atteintes de cancer du sein (**Kroman et al., 2000**). Elle a été administrée en situation néo-adjuvante chez 20,28% de nos patientes ayant un cancer du sein inflammatoire ou un cancer localement avancé, et en adjuvante chez 77,28% des patientes. Notre série figure parmi les chiffres les plus élevés en situation néo-adjuvante, ce qui reflète des stades de cancer avancés chez nos patientes.

Les traitements anti-hormonaux sont prescrits en cas de tumeurs hormono-dépendantes. Ils agissent sur la maladie résiduelle micro-métastatique et réduisent le risque de survenue de

métastases (**Sikora et al., 2013**). L'hormonothérapie a été prescrite chez 52,05% de nos patientes jeunes. Dans d'autres séries, elle a été prescrite chez 45,74%, 61,7% et 64,6% des patientes jeunes, respectivement selon (**Abahssain et al., 2010 ; Fredholm et al., 2009 ; Copson et al., 2013**).

Le Tamoxifène est prescrit de façon adjuvante pendant 5 ans, mais l'étude ATLAS (**Adjuvant Tamoxifen : Longer Against Shorter**) publiée en 2013 a pu démontrer que la prise du Tamoxifène pendant 10 ans plutôt que d'arrêter à cinq ans réduit le risque de récurrence et de mortalité chez les femmes pré et post-ménopausées (**Davies et al., 2013**).

Quant à la thérapie ciblée, les patientes surexprimant HER2 sont amenées à recevoir le Trastuzumab (Herceptine) en adjuvant pendant une année. Dans notre série, les 229 patientes ayant un statut HER2 positif, n'ont pas toutes reçu l'Herceptine. Seulement 119 patientes ont été traitées par le Trastuzumab ce qui constitue 14% de la population, ceci est malheureusement dû à la disponibilité irrégulière de cet anticorps thérapeutique durant les années de l'étude.

II.1.3.2 Classification moléculaire du cancer du sein : distribution des sous types moléculaires, caractéristiques histologiques, cliniques et moléculaires

La détermination des groupes moléculaires est actuellement indispensable pour une meilleure stratégie thérapeutique des patientes selon le profil génique ou protéique des tumeurs. Il est bien établi qu'il y'a au moins 4 principaux sous-types de cancer du sein basés sur différents profils d'expression génique, et qu'ils ont un impact considérable sur le pronostic (**Assi et al., 2013 ; Sotiriou et al., 2003**).

Dans notre étude, l'étude des profils protéiques par IHC a révélé la présence de quatre sous groupes moléculaires dont le plus prédominant est le sous type Luminal A (37.8%), Ce dernier est suivi du sous type Luminal B (25.9%), puis TNBC (23.3%), et enfin le sous type HER2+ (13.1%). Le cancer du sein est donc une maladie très hétérogène et les tumeurs lumineuses (LA, et LB) sont les formes les plus fréquentes de cancers du sein , nos

résultats sont similaires à ceux décrits dans la littérature (**Puig-Vives et al., 2013 ; Clarke et al., 2012**) .

Afin de mieux étudier la biologie tumorale inhérente à chaque sous type moléculaire, nous avons classifié les cancers du sein et nous avons déterminé les caractéristiques cliniques, biologiques, et moléculaires puis leurs sont associés.

La différence d'âge médian entre les différents sous types moléculaires est non significative, par contre il y a une influence significative ($p=0.03$) du statut ménopausique sur les sous groupes, On constate que les tumeurs Luminal B et HER2+ affectaient principalement les femmes préménopausées (<50ans) , alors que les tumeurs Luminal A et TNBC étaient plutôt retrouvées chez les patientes de plus de 50 ans. Nos résultats sont en accord avec les travaux de la littérature (**Su et al., 2011 ; Ontilo et al., 2008 ; Carey et al., 2012**) où les groupes basal-like et Luminal A sont influencés par le statut ménopausique. La prévalence des sous types moléculaires est donc vraisemblablement liée à l'origine de la patiente et au statut ménopausique ce qui confirme également des travaux publiés antérieurement (**Junichi et al., 2007 ; Al Tamimi et al., 2010**).

Le phénotype Luminal A est associé à des évolutions cliniques et des réponses thérapeutiques différentes et un bon pronostic. Dans notre série, le sous type Luminal A était le plus fréquent (37.7% des cas). Dans ce groupe, le type histologique le plus fréquent était le carcinome canalaire infiltrant, caractérisé par un bas grade histologique, grade SBR II et un indice de prolifération faible. Ces résultats concordent avec les données de la littérature (**Al Tamimi et al., 2010 ; Tamimi et al., 2008**). Carey et al ont montré que la prévalence du phénotype luminal A varie de 54 à 74% des cas ($p<0,001$) (**Carey et al., 2009**).

Plusieurs études qui ont été réalisées sur des populations occidentales ont montrées que les luminal A étaient souvent les plus rependues et qui ont relativement un bon pronostic

(**Tamimi et al., 2008 ; Bhargava et al., 2009**). Les tumeurs luminal A sont des tumeurs hormonosensibles et bénéficient d'un traitement hormonal (**Blows et al., 2010**).

Le phénotype Luminal B possède un profil immunohistochimique positif aux récepteurs aux œstrogènes mais, sont moins exprimés dans le cas du Luminal A, en plus d'une surexpression de Her2 et une forte expression de l'indice de prolifération ki-67 (**Lopez-Garcia et al., 2010 ; Sotiriou et al., 2009**) . Les tumeurs des phénotypes luminal B présentent un comportement plus agressif (**Sotiriou et al., 2009 ; Peppercorn et al., 2008**). Bien que les tumeurs luminal présentent une faible réponse à la chimiothérapie, la réponse clinique et pathologique à la chimiothérapie semble être plus élevée que celle des tumeurs luminal B (**Fourati et al., 2014**).

Dans notre série, le phénotype luminal B était représenté dans 23.3% des cas, Cheang et al ont montré une prévalence élevée du luminal B dans 32% des cas (**Cheang et al., 2009**) , alors que Al tamimi et al ont montré dans une série de 231 cas que le phénotype luminal B représente 16,0% des cas (**Al tamimi et al., 2009**). Ce résultat peut être expliqué par l'indice de prolifération très bas qu'ils ont utilisé par rapport aux précédentes études.

le carcinome canalaire infiltrant est prédominant représentant (95%), ce qui est concordant avec (**Maggie 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 III (50%) suivi du grade II (49%). Ces différentes tumeurs sont accompagnées de métastases ganglionnaires dans la plupart des cas (78.1%). Toutes ces caractéristiques témoignent d'un mauvais pronostic comme cela fut précédemment cité (**Mazouni et al., 2013 ; Howland et al., 2013**). Ceci montre l'intérêt qu'il y a à multiplier les campagnes de sensibilisation pour un dépistage précoce.

Les tumeurs HER2 + sont des tumeurs caractérisées par une forte expression de l'oncogène *HER2* et l'absence d'expression des récepteurs hormonaux. Dans notre série, la prévalence du phénotype HER2 + est de 13.1%. ce résultat concorde avec la plupart des séries de la littérature où les tumeurs HER2+ occupent le dernier rang après les sous types luminaux et le groupe Triple négative (**Sakhri , 2015 ; Al Tamimi et al., 2010**). Les tumeurs ayant un phénotype HER2 + possèdent un pronostic défavorable mais sont associés à une meilleure réponse à la thérapie ciblée au trastuzumab (Herceptin) (**Zaha et al., 2010**). Dans notre étude, le grade histologique III était le plus fréquent (60.7%), 68.8% des cas étaient associés à un envahissement ganglionnaire. 30.9% de ces tumeurs étaient associés significativement au stade T4. il ressort de notre étude comme le précise la littérature (**Scholl et al, 2001 ; Viale et al ., 2008 ; Bull et al., 2004**) que les tumeurs de sous-type HER2+ sont souvent corrélées à des facteurs de mauvais pronostic.

Les tumeurs triple négatives sont définies comme des tumeurs n'exprimant ni les récepteurs hormonaux, ni le HER2, Ce sont des tumeurs de mauvais pronostic (**Molyneux et al., 2010**). Plusieurs études ont montré que les tumeurs TNBC englobaient la plupart des mutations liées au gène BRCA1 (**Molyneux et al., 2010 ; Atchley et al., 2008**). Par ailleurs, Foulkes et al ainsi que Rakha et al ont montré que ces groupes hétérogènes de tumeurs étaient plus fréquents chez les femmes afro-américaines et celles d'origine hispanique (**Foulkes et al., 2010 ; Rakha et al., 2008**).

De nombreuses études montrent que le phénotype triple négatif affectait plutôt une population plus âgée, avec un pronostic des plus défavorables (**Sotiriou et al., 2009**). Dans notre série, les tumeurs TNBC étaient présentes dans 23.3% des cas, le type histologique le plus fréquent est le CCI (21.9 %), le grade histologique le plus fréquent est le grade III qui a été observé dans 57% des cas et 19.1% des cas présentait une taille tumorale T3, l'envahissement ganglionnaire a été retrouvé dans 60.1% des cas . Ces données rejoignent

ceux de la littérature. En effet, Al Tamimi et al ont montré que la fréquence des tumeurs basales est de 9,95% (Al Tamimi *et al.*, 2010). Un résultat similaire a (10.7%) été observé par Bhargava et al (Bhargava *et al.*, 2009). Par contre, Carey et al ont obtenu un résultat nettement supérieur (20,1%) (Carey *et al.*, 2006). Tan et al ont remarqué un pourcentage élevé de l'indice de prolifération ki67 et qui est associé à la non expression des récepteurs hormonaux et un haut grade histologique des tumeurs (Tan *et al.*, 2008).

Les traitements ciblant les récepteurs aux œstrogènes et HER2 ne sont pas efficaces pour traiter le cancer du sein triple négatif. Des études récentes ont révélé certaines caractéristiques moléculaires spécifiques au phénotype triple négatif dans le cancer du sein qui pourrait conduire à l'identification de nouveaux biomarqueurs et au développement de thérapies ciblées (Anders *et al.*, 2011)

Dans un futur proche, la classification moléculaire du cancer du sein devrait permettre d'améliorer la prise en charge des patientes ayant un cancer du sein. De plus, des études multicentriques sont en cours pour valider le profil génomique comme facteur prédictif d'évolution et de réponse thérapeutique.

II.1.3.3 Évaluation du statut immunohistochimique des protéines PIK3CA et AKT dans les cancers du sein

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. Le cancer du sein se manifeste souvent par de multiples altérations moléculaires, qui modifient diverses voies de signalisation, parmi ceux-ci, la voie de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K / AKT) qui joue un rôle important dans la pathogenèse mammaire . L'activation aberrante de cette voie est ainsi associée à la progression tumorale et à la résistance au traitement.

Du fait de la rareté des données sur le statut de la voie PI3K/AKT dans le cancer du sein, nous avons donc cherché dans le présent travail à mieux examiner l'altération de la voie PI3K / AKT dans le cancer du sein. Dans ce contexte, nous avons évalué l'expression des protéines PIK3CA et p-Akt par technique immunohistochimique, et leur association potentielles aux sous-types moléculaires de cancers du sein. À notre connaissance, il s'agit de la première étude réalisée en Algérie et portant sur l'altération de la voie PI3K / Akt dans le cancer du sein. Comme nous l'avons mentionné dans la partie matériel et méthodes, soixante-cinq échantillons de cancer du sein issus de service d'anatomo-pathologie de l'Hôpital militaire d'Oran (HMRUO) font l'objet de cette étude.

II.1.3.3.1. Niveau d'expression de PIK3CA dans les sous types moléculaires du cancer du sein

Alors que la plupart des études ont évalué le rôle de la mutation du gène *PIK3CA*, peu d'études ont évalué le niveau d'expression de PIK3CA dans les cancers du sein. Dans cette étude, l'expression de la protéine PIK3CA a été évaluée à l'aide d'une technique immunohistochimique. Nos résultats ont montré que la surexpression de PIK3CA était significativement associée à l'expression négative des récepteurs hormonaux, des œstrogènes (ER) ($P = 0,006$) et de la progestérone (PR) ($P = 0,01$). Ceci est en accord avec d'autres études qui ont retrouvé une corrélation significative ($p < 0,001$) entre la surexpression de PIK3CA et le statut négatif des récepteurs hormonaux (**Aleskandarany *et al.*, 2010 ; Doane *et al.*, 2006 ; López-Knowles *et al.*, 2010 ; Cossu-Rocca *et al.*, 2015**).

L'association inverse entre l'expression de PIK3CA avec les récepteurs hormonaux (ER) (PR) souligne le faible impact pronostique de la surexpression de PIK3CA. Ces résultats sont compatibles avec le rôle de l'oncogène PIK3CA dans le cancer du sein et soutiennent les résultats des études précédentes, ce qui a démontré la pertinence biologique de PIK3CA dans

le cancer du sein, et l'association entre son dysfonctionnement et les paramètres de mauvais pronostic (**Samuels et al., 2004 ; Saal et al., 2005**).

Les mutations PIK3CA ont été associées à un statut positif des récepteurs hormonaux dans 2 études (**Saal et al., 2005 ; Stemke-Hale et al., 2008 ; Benvenuti et al., 2007**), mais pas dans d'autres (**Benvenuti et al., 2007 ; Bachman et al., 2004 ; Buttitta et al., 2006**). La différence des résultats s'explique par la méthode utilisée pour la détection de PIK3CA.

Nous nous sommes demandé si certains sous-types de cancer du sein soient plus susceptibles de surexprimer la PIK3CA. Nous avons analysé le niveau d'expression de la PIK3CA dans les sous-types moléculaires suivants: Luminal A, Luminal B, HER2 positif et triple négatif.

Tout d'abord, nos données ont révélé que les niveaux d'expression de PIK3CA étaient significativement (**$p=0.03$**) les plus élevés dans les tumeurs TNBC (81,9%), suivies par les tumeurs HER2 + (66,7%) puis dans les lumaux (40%). Au sein des lumaux, le niveau d'expression de PIK3CA était plus élevé dans les tumeurs Luminales B (50%) par rapport aux Luminales A (25%), ces résultats sont semblables à ceux de précédentes études qui ont constaté que l'expression accrue des gènes de la voie PI3K est une caractéristique du cancer du sein Luminal-B (**Papaxoinis et al., 2015 ; Creighton et al., 2010**).

Ces résultats indiquent que les tumeurs Luminales B pourraient bénéficier de thérapies combinées entre l'hormonothérapie et la thérapie ciblée anti-PI3K afin d'améliorer le traitement des patientes affectées par ce sous-type de cancer du sein agressif et pour lequel aucune thérapie ciblée n'existe à ce jour.

Des études récentes sur une large série de cancer du sein ont montré que les mutations PIK3CA ont été identifiées dans les TNBC, même avec des fréquences plus faibles (**Arsenic et al., 2014 ; Millis et al., 2015 ; Gonzalez-Angulo et al., 2013**). Récemment, Kriegsmann et al ont démontré une fréquence plus élevée des altérations de la voie PI3K, comprenant

principalement des mutations PIK3CA (22,1%), dans une grande série de TNBC (**Kriegsmann *et al.*, 2014**).

Une étude récente a confirmé la relation significative entre les mutations PIK3CA et la présence de marqueurs basaux dans une série de 75 TNBC (**Hashimoto *et al.*, 2014**). Récemment, le Cancer Genome Atlas Network a montré que les mutations PIK3CA étaient fréquentes dans les tumeurs lumineales et HER2 positives et représentaient la 2ème mutation la plus fréquente dans les TNBC, l'activation de la voie PI3K / AKT était la plus élevée dans ce sous-groupe (**Cossu-Rocca *et al.*, 2015**).

Nos résultats démontrent qu'au moins 81% des TNBC présentent une dérégulation de la voie PI3K/AKT, ce qui rend cette voie comme une cible thérapeutique pour le traitement pharmacologique. Il existe un fort intérêt à développer des méthodes rapides, fiables et sensibles qui pourraient être utilisées pour la détection en routine des mutations PIK3CA dans le cancer du sein (**Cossu-Rocca *et al.*, 2015**).

Notre résultat suggère une corrélation significative entre la surexpression de PIK3CA et les tumeurs HER2 positives, ce qui a été confirmé par de nombreuses études (**Aleskandarany *et al.*, 2010 ; Tural *et al.*, 2014 ; Cizkova *et al.*, 2013 ; Jensen *et al.*, 2012**), qui ont rapporté une surexpression plus fréquente de PIK3CA dans le cancer du sein HER2 positif. Ces résultats confirment que les mutations PIK3CA sont un facteur de mauvais pronostic chez les patientes atteintes de cancer du sein HER2 positif et pourraient être à l'origine de la résistance à la chimiothérapie et à la thérapie ciblée anti HER2.

L'activation aberrante de la voie PI3K / AKT dans environ (40%) des tumeurs HER2 positives (**Hashimoto *et al.*, 2014**) est en corrélation avec une résistance aux thérapies ciblées contre HER2 et accélère la transformation épithéliale et la progression métastatique chez ce groupe de tumeurs (**Stål *et al.*, 2003**). Les inhibiteurs contre PI3K sont considérés comme des modalités thérapeutiques prometteuses pour le traitement du cancer du sein.

II.1.3.3.2. Niveau d'expression p-Akt dans les sous types moléculaires du cancer du sein

Comme nous l'avons mentionné, p-Akt est surexprimé dans 27,7% de tumeurs de notre cohorte, nous avons trouvé une corrélation significative entre la surexpression de p-Akt et l'expression négative de RO ($P = 0,02$). Ces résultats concordent avec les résultats de **Stål *et al.*, 2003** et **Lobenhofer *et al.*, 2000** qui ont constaté que la surexpression de p-Akt était associée au cancer du sein ER négatif ($P = 0,003$) car l'inhibition de la voie PI3K / Akt contrecarre l'accumulation de cycline D1 qui est normalement nécessaire pour la transition G1 / S suite à la stimulation des œstrogènes (**Lobenhofer *et al.*, 2000**). Par contre des études ont signalé une association entre la surexpression de p-Akt et les tumeurs RO + (**Francisco *et al.*, 2010 ; Kirkegaard *et al.*, 2005**) ; cette différence peut être due à l'utilisation d' anticorps différents que ceux utilisés dans notre étude p-Akt (Ser473), cet anticorps qui détecte Akt1 uniquement lorsque elle est phosphorylée sur la serine 473 et il détecte Akt2 et Akt3 lorsqu'ils sont phosphorylés sur des sites équivalents.

Une association significative ($P = 0,009$) a été trouvée entre les tumeurs PR négatives et la surexpression de pAkt et nos résultats sont en accord avec deux études qui ont montré une corrélation inverse entre RP et pAkt avec ($p= 0,003$) (**Tokunaga *et al.*, 2006 ; Cui *et al.*, 2003**), une étude récente a démontré que l'expression de PR a été réduite via la voie PI3K / Akt (**Cui *et al.*, 2003**) ce résultat corrobore le notre.

Dans cette étude, nous avons constaté une corrélation significative entre l'expression de pAkt et la surexpression de HER2 ($p = 0,04$). Ce résultat est cohérent avec de nombreuses études similaires. Des études portent sur des femmes japonaises et suédoises (**Tokunaga *et al.*, 2006 ; Stål *et al.*, 2003**) ont montré que 43% à 44% des tumeurs HER2 positives présentent une augmentation de l'expression de pAkt. En comparaison, une étude a montré

que plus de 70% des tumeurs HER2 positives ont une forte expression de pAkt dans d'autres pays (Afrique, Amérique, Suède) (**Yanyuan et al., 2008**).

Par conséquent, p-Akt est également activé par de nombreux récepteurs tyrosines kinases (**Bowers et al., 2000; Franke et al., 1995**), principalement HER2 qui active la serine 473, et elle joue un rôle important dans la stimulation de la prolifération et de la survie dans les cellules surexprimant HER2 (**Hellyer et al., 2001**).

Nous avons examiné l'expression de p-Akt dans différents sous-types moléculaires de cancer du sein pour voir si l'expression de cette protéine est liée à un sous-type particulier. Nous avons constaté que plus de 77% des patients atteintes de tumeurs HER2 positives avaient une surexpression de pAkt ($p = 0,001$). ces résultats corroborent ceux de **Yang et al., 2014** et **Yang et al., 2010**.

Les tumeurs HER2-positives représentent 30% des cancers du sein et sont généralement associées à un mauvais pronostic (Slamon et al., 1987) et une résistance aux thérapies ciblées (**Alaoui-Jamali et al., 1997**). Des études récentes suggèrent que l'activation d'AKT peut jouer un rôle clé dans le développement de la résistance à la chimiothérapie et à la thérapie ciblée (Trastuzumab), ce qui explique la surexpression de p-Akt dans le groupe de tumeurs HER2 positives.

De plus, nous avons démontré que l'activation de la voie PI3K / Akt était significativement plus élevée dans les cas de cancer du sein HER2 positif. En outre, il est probable que l'évaluation du statut p-Akt et HER2 est utile pour prédire l'efficacité d'une thérapie ciblée. p-Akt pourrait être utilisé comme biomarqueur prédictif au traitement ciblé et qui contribuera probablement à une approche de la médecine individualisée.

Nous ne retrouvons pas de corrélation significative entre l'expression de PI3K, p-Akt et la taille de la tumeur, l'infiltration des ganglions lymphatiques, le stade clinique et la

classification histopathologique. Cela suggère que PI3K / p-Akt peut induire un phénotype plus malin par son rôle dans la prolifération et contre l'apoptose .

Fait intéressant, une association a été identifiée entre la surexpression PIK3CA et un score plus élevé de p-Akt ($P = 0,05$), démontrant le rôle d'activation de ces protéines dans le cancer du sein.

Des études antérieures ont montré que HER2, lorsqu'il est surexprimé, est associé de manière systématique à HER3. Puisque HER3 a 7 résidus de tyrosine qui peuvent être phosphorylés et agissent sur les sites de liaison pour les domaines SH2 de la PI3K kinase (**Hernandez-Aya *et al.*, 2011**), qui est un hétérodimère constitué d'un catalyseur régulateur p85 et de la sous-unité p110, qui catalyse le phosphatidylinositol-3, 4,5 -triphosphate (PIP3) (**Hu *et al.*, 2009 ; Jiang *et al.*, 2009**), cela déclenche la fixation d'Akt sur la membrane plasmique qui entraîne une activation par la phosphorylation d'Akt sur deux sites, Thr308 et Ser473. Elle joue un rôle central dans l'apoptose (**Hernandez-Aya *et al.*, 2011 ; Cynthia *et al.*, 2015**). Cela fournit une base solide pour soutenir nos résultats qui ont révélé une corrélation positive entre l'expression de la protéine PIK3CA et p-Akt.

La surexpression combinée pourrait être la conséquence de mutations pendant l'expansion clonale des cellules et il est également possible que la surexpression de PIK3CA et pAKT pourrait être responsable de la progression tumorale .

L'analyse du niveau d'expression de PIK3CA et de p-Akt peut être bénéfique pour mieux identifier les patientes résistantes au tamoxifène , cela nécessiterait des tests supplémentaires dans le cadre d'un essai de traitement aléatoire où le traitement et les résultats sont plus robustes. Cependant, un mauvais résultat a également été observé chez les patients qui n'ont pas été traités avec un traitement adjuvant, ce qui suggère que les aberrations dans la voie PI3K sont associées à un mauvais résultat indépendant du traitement, c'est-à-dire des marqueurs pronostiques plutôt que prédictifs.

Nous avons retrouvé un autre résultat fort intéressant : l'association entre l'activation de la voie PI3K / Akt et le cancer du sein HER2 +. L'altération de cette voie décrite par les mutations PIK3CA ou m-TOR a déjà été associée à un mauvais pronostic après le traitement par trastuzumab (**Hirsch et al., 2014 ; Ding et al., 2017**), confirmant l'importance de la voie PI3K dans ce sous-groupe de cancers et soulignant la nécessité de la caractérisation des inhibiteurs de la voie PI3K comme stratégies de traitement complémentaires pour les malades présentant une résistance au trastuzumab.

Dans les cancers TNBC, la voie PI3K / Akt apparaît comme un candidat attrayant pour une thérapie ciblée. Des études antérieures ont montré que l'inactivation de PTEN conduit au développement de tumeurs mammaires qui présentent des caractéristiques pathologiques et moléculaires associées au sous-type TNBC de cancer du sein (**Massihnia et al., 2016**), ces données, ainsi que les résultats présentés dans notre étude, soulignent l'importance d'une analyse supplémentaire des aberrations de la voie PI3K / Akt dans les cancers TNBC et l'effet d'inhibiteurs spécifiques de PI3K / Akt dans ce sous-type de cancer du sein .

CHAPITRE III : CONCLUSION

III. CONCLUSION

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène. Cette hétérogénéité se retrouve aussi bien au niveau histologique que phénotypique et moléculaire. En effet la définition immunohistochimique des sous types moléculaires a permis d'appréhender et de mieux comprendre cette hétérogénéité qui regroupe des entités de cancers du sein biologiquement différentes. Dans un futur proche, la classification moléculaire du cancer du sein devrait permettre d'entrevoir une nouvelle ère dans la prise en charge des patientes atteintes de cancers du sein, avec une approche plus individualisée permettant un traitement à la « carte ». Cette classification moléculaire a permis de mieux comprendre la biologie tumorale inhérente à chaque sous type moléculaire de cancer du sein.

La voie PI3K/AKT joue un rôle crucial dans la survie et la prolifération cellulaire, et elle est souvent activée dans de nombreux cancers humains. Cette voie semble être impliquée dans le phénomène de résistance aux thérapies anti-tumorales.

L'origine de l'activation aberrante de cette voie dans le cancer du sein provient de mutations des oncogènes PI3K, PTEN, AKT. La caractérisation des anomalies affectant la voie PI3K/AKT dans le cancer du sein chez la femme Algérienne constitue l'objectif principal de la problématique que nous nous sommes posé dans la présente thèse et ce afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans cette voie de transduction de signaux oncogéniques dans les différents sous types de cancer du sein.

Les résultats obtenus dans notre étude sont encourageants. La dérégulation de la voie PI3K / AKT dans le cancer du sein peut avoir des conséquences biologiques importantes dans la progression de la maladie et la résistance au traitement. Les résultats que nous avons obtenu ont permis d'identifier PI3KCA et pAkt comme cibles thérapeutiques potentielles spécifiques associées aux sous types HER2+ et TNBC ; cette association semble refléter les caractéristiques du mauvais pronostic de ces sous-types moléculaires.

Ainsi PI3CA et p-AKT sont des oncogènes potentiels dont la surexpression est associée à l'agressivité de la tumeur chez les patientes Algériennes et leur inhibition par des thérapies ciblées spécifiques pourrait entraver la progression tumorale du cancer du sein, améliorant ainsi la prise en charge thérapeutique des patientes. Il serait intéressant de valider les résultats sur un plus grand nombre de tumeurs issues de cancer du sein et d'établir des corrélations avec la survie des patientes.

Il serait judicieux d'évaluer en routine le niveau d'expression de PIK3CA et pAkt comme biomarqueurs prédictifs de la réponse thérapeutiques au Transtuzumab.

En effet ceci devrait permettre d'identifier les patientes atteintes de cancer du sein du sous type HER2 positif et qui vraisemblablement développeront une résistance à la thérapie ciblée basée sur l'herceptine.

La caractérisation d'altération génomique par CGH array au sein des tumeurs HER2 positives dont la voie PI3K/Akt est dérégulée permettrait d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pouvant conduire au développement de nouvelles thérapies ciblées pour les patientes ayant développé une résistance au traitement.

ARTICLE

CLINICOPATHOLOGICAL SIGNIFICANCE OF ELEVATED PIK3CA AND AKT EXPRESSION IN BREAST CANCER MOLECULAR SUBTYPES AMONG WEST ALGERIAN PATIENTS

Cette partie de la thèse a fait l'objet d'une publication internationale auprès d'une revue avec comité de lecture spécialisé.

« Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences »

**CHAPITRE IV : RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abahssain H, Lalya I, El M'rabet F Z, Ismaili N, Razine R, Tazi MA, M'Rabti H, El Mesbahi O, Benjaafar N, Abouqal R *et al*: «Breast cancer in moroccan young women: a retrospective study». *BMC research notes* 2010, 3:286.

Abid L. «Épidémiologie des cancers en Algérie: problématique des registres des cancers.» *African Journal of Cancer*, 2009; 1(2): 98–103.

Adam E, Jeffry L. Dean, Hallgeir Rui, Chengbao Liu, Agnes K. Witkiewicz . «RB-pathway disruption in breast cancer Differential association with disease subtypes, disease-specific prognosis and therapeutic response.» *Cell Cycle*, 2010: 9:4151-4163.

Adoire S. «Classifications moléculaires des cancers du sein Applications cliniques .» *Chimiothérapie & réponse immunitaire* , 2010: 1-54.

Agarwal R and Carey M. « Hennessy B et al. PI3K pathway-directed therapeutic strategies in cancer.» *Curr Opin Investig Drugs*, 2010: 11:615– 628.

Agnieszka K Witkiewicz and Erik S Knudsen. «Retinoblastoma tumor suppressor pathway in breast cancer: prognosis, precision medicine, and therapeutic interventions.» *Breast Cancer Research*, 2014: 16:207.

Alayev A, Berger S, Kramer MY et al. «The Combination of Rapamycin and Resveratrol Blocks Autophagy and Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells.» *journal of cellular biochemistry*, 2015: 116(3):450–457.

Al Tamimi DM, Shawarby MA, Ahmed A, Hassan AK, AlOdaini AA. «Protein expression profile and prevalence pattern of the molecular classes of breast cancer - a Saudi population based study». *BMC Cancer*. 2010;10:223.

Amat S, Penault-Llorca F, Cure H, Le Bouedec G, Achard JL, Van Praagh I et al. «Scarff-Bloom-Richardson (SBR) grading: A pleiotropic marker of chemosensitivity in invasive ductal breast carcinomas treated by neoadjuvant chemotherapy.» *Int J Oncol*, 2002; 20:791-796.

Arnold A and Papanikolaou A. «cyclin D1 on breast cancer pathogenesis.» *J Clin Oncol*, 2005; 23(18):4215-24.

Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A. «Breast cancer before age 40 years.» *Seminars in oncology: 2009*: Elsevier; 2009: 237-249.

Anders CK, Fan C, Parker JS, Carey LA, Blackwell KL, Klauber-DeMore N, Perou CM. «Breast carcinomas arising at a young age: unique biology or a surrogate for aggressive intrinsic subtypes.» *Journal of Clinical Oncology* 2011, **29**(1):e18-e20.

Antoniou A, Pharoah PD, Narod S et al. «Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies.» *Am J Hum Genet* , 2003; 72: 1117-1130.

Assi HA, Khoury KE, Dbouk H, Khalil LE, Mouhieddine TH, El Saghir NS. «Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women.» *Journal of thoracic disease* 2013, 5(Suppl 1):S2.

Atchley DP, Albarracin CT, Lopez A, Valero V, Amos CI, Gonzalez-Angulo et al. «Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer.» *J Clin Oncol*. 2008; 26(26): 4282-4288.

B

Backer JM. «The regulation and function of Class III PI3Ks: novel roles for Vps34.» *Biochem J*, 2008; 410:1–17.

Barcenas CH, Hosain GM, Arun B et al. «Assessing BRCA carrier probabilities in extended families.» *J Clin Oncol*, 2006; 24: 354-360. 21.

Barnes CJ, Vadlamudi RK, and Kumar R. «Novel estrogen receptor coregulators and signaling molecules in human diseases.» *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2004: 61(3):281-291.

Baselga J, Cortés J, Kim S, Im S, Hegg R, Hyuck Y et al. «Pertuzumab plus Trastuzumab plus Docetaxel for Metastatic Breast Cancer.» *The new england journal of medicine*, 2012: : 366(2)109-119.

Bear HD, Tang G, Rastog P, et al. «Bevacizumab Added to Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer.» *The New England Journal of Medicine*, 2012: 366-370.

Bekkouche Z, Kahia-Tani. S, Ben Ali F. «Evaluation du statut HER2 dans les carcinomes mammaires «. *Forum de cancérologie de la société française du cancer*.2007. Eurocancer.

Belaid A, Kanoun S, Kallel A, Ghorbel I, Azoury F, Heymann S, Pichenot C, Verstraet R, Marsiglia H, Bourgier C. «Cancer du sein avec atteinte ganglionnaire axillaire». *Cancer/radiothérapie* 2010, **14**:S136-S146.

Ben Abdallah M, Zehani S, Maalej M, Hsairi M, Hechiche M, Ben Romdhane K, et al. «Breast cancer in Tunisia: epidemiologic characteristics and trends in incidence». *La Tunisie médicale*. 2009;87(7):417-25.

Bhargava R, Striebel J, Beriwal S, Flickinger JC, Onisko A, Ahrendt G et al. «Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers». *Int J Clin Exp Pathol*. 2009; 2(5): 444-455

Bieche I and Lidereau R. «Somatic genetics of breast cancer.» *Bull Cancer* , 2000: 84(1): 83-96.

Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J et al. «Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies». *PLoS Med*. 2010; 7(5): e1000279.

Bombinat Ai, Sgroi DC. «The molecular pathology of breast cancer progression.» *the journal of pathology*, 2011: 223: 307–317.

Bouzaïd N, Lahmar R, Tebra S, Bouaouina N. « Cancer du sein chez la femme jeune de moins de 35 ans en Tunisie: étude rétrospective à propos de 124 cas». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2013, **41**(6):356-360.

Brette JP. *cancer du sein*. PARIS: MASSON, 2007.

Belkacémi Y, Boussen H, Hamdi-Cherif M, Benider A, Errihani H, Mrabti H, et al. «Épidémiologie des cancers du sein de la femme jeune en Afrique du Nord.» *32 journées de la SFSPM*. Strasbourg, 2010. 56-68.

Benjamin D, Colombi M, Moroni C, Hall MN. « Rapamycin passes the torch: a new generation of mTOR inhibitors.» *Nat Rev Drug Discov*, 2011; 10:868–80.

Betsy A. Kohler, Recinda L. Sherman, Nadia Howlader, Ahmedin Jemal, A. Blythe Ryerson, Kevin A. «Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975–2011, Featuring Incidence of Breast Cancer Subtypes by Race/Ethnicity, Poverty, and State.» *JNCI J Natl Cancer Inst*, 2015; 107(6): djv048.

Bloom HJ, Richardson WW. «Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years.» *Br J Cancer*, 1957; 11:359-377.

Bozkurt KK and Kapucuoglu TN. «Investigation of immunohistochemical ERalpha, ERbeta and ERbetax expressions in normal and neoplastic breast tissues Pathol.» *Res Pract*, 2012; 208:133-139.

Brette JP. *Cancer du sein*. Vol. -384p. PARIS: Ed MASSON, 2007.

Brugge J, Hung MC, Mills GB. «A new mutational AKTivation in the PI3K pathway.» *Cancer Cell*, 2007; 12:104–107.

Bruna Karina Banin Hirata, Julie Massayo Maeda Oda, Roberta Losi Guembarovski, Carolina Batista Ariza, Carlos Eduardo Coral de Oliveira, and Maria Angelica Ehara Watanabe. «Molecular Markers for Breast Cancer: Prediction on Tumor Behavior.» *Disease Markers*, 2014; Article ID 513158, 12 pages.

Bull SB, Ozcelik H, Pinnaduwege D, Blackstein ME, Sutherland DAJ, Pritchard KI et al. «The Combination of p53 Mutation and neu/erbB-2 Amplification Is Associated with Poor Survival in Node-Negative Breast Cancer». *Journal of Clinical Oncology*. 2004; 22(1): 86-96

C

Canello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, Viale G, Mastropasqua M, Pruneri G, Veronesi P, Torrì R, Montagna E, Luini A. « Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (< 35 years) with operable breast cancer». *Annals of oncology* 2010:mdq072.

Castillo, S. S., J. Brognard, P. A. Petukhov, C. Zhang, J. Tsurutani, C. A. Granville, M. et al. «Preferential inhibition of Akt and killing of Akt-dependent cancer cells by rationally designed phosphatidylinositol ether lipid analogues.» *Cancer Res*, 2004: 64(8):2782-92.

Carden CP, Stewart A, Thavasu P, et al. «The association of PI3 kinase signaling and chemoresistance in advanced ovarian cancer.» *Mol Cancer Ther*, 2012: 11:1609-1617.

Cardoso F, Harbeck N, Fallowfield L, Kyriakides S, Senkus E, Group obotEGW. « Locally recurrent or metastatic breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up ». *Annals of Oncology* 2012, **23**(suppl 7):11-19

Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K et al. «Breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study.» *JAMA*, 2006: 295: 2492-2502 .

Carpten JD, Faber AL, Horn C, et al. «A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer.» *Nature*, 2007: 448(7152):439–444. Carrey LA., Rugo HS., Marcom PK. «TBCRC: randomized phase II study of cetuximab in combination with carboplatin in stage IV triple négative berast cancer .» *Journal of Clinical Oncology*, 2012: 30(21),2615-2623.

Chang JD, et al. « Deletion of the phosphoinositide 3-kinase p110gamma gene attenuates murine atherosclerosis.» *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007: 104:8077–82.

Chen X, Li J, Gray WH, Lehmann BD, Bauer JA, Shyr Y, et al. «TNBCtype: A Subtyping Tool for Triple-Negative Breast Cancer.» *Cancer Inform*, 2012: 11: 147–156.

Cizkova M, Vacher S, Meseure D, et al. « PIK3R1 underexpression is an independent prognostic marker in breast cancer.» *BMC Cancer*, 2013: 13:545.

Clarke CA, Keegan TH, Yang J, Press DJ, Kurian AW et al. « Age-specific incidence of breast cancer subtypes: understanding the black-white crossover ». *J Natl Cancer Inst.* 2012 ;104(14):1094-101.

Clevenger CV. «Role of prolactin/prolactin receptorsignaling in humain breast cancer.» *Breast Dis*, 2003: 18:75-86.

Clough KB, Lewis JS, Couturaud B, Fitoussi A, Nos C, Falcou MC. «Oncoplastic techniques allow extensive resections for breast-conserving therapy of breast carcinomas.» *Ann Surg*, 2003: 237(1):26-34.

Copson E, Eccles B, Maishman T, Gerty S, Stanton L, Cutress RI et al. « Prospective observational study of breast cancer treatment outcomes for UK women aged 18–40 years at diagnosis: the POSH study». *Journal of the National Cancer Institute* 2013, **105**(13):978-988.

Cooper WA, Lam DCL, O'Toole SA, et al. «Molecular biology of lung cancer.» *J Thorac Dis*, 2013: 5:5479-5490.

Corbex M, Bouzbidb S , Boffettac P. «Features of breast cancer in developing countries, examples from North-Africa.» *European Journal of Cancer*, 2014: 50(10):1808-1818.

Coutte L, Dreyer C, Sablin MP, et al. «PI3K- AKT-mTOR pathway and cance.» *Bull Cancer*, 2012: 99:173–80.

Cowin P,Rowlands TM and Hatsell SJ. «Catherins and catenins in breast cancer.» *Curr Opin Cell Biol*, 2005: 12(4):226-37.

Creighton CJ. «The molecular profile of luminal B breast cancer.» *Biologics*, 2012: 6: 289–297.

Crozier AJ, Swaika A, Moreno-Aspitia A. «Adjuvant chemotherapy in breast cancer: To use or not to use, the anthracyclines.» *World Journal of W J C O Clinical Oncology*, 2014: 10; 5(3): 529-538.

Cuzick J. «Radiotherapy for Breast Cancer.» *J Natl Cancer Inst*, 2005: 97 (6): 406-409.

Cynthia Osborne, Paschal Wilson and Debu Tripathy. «Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer: Potential Diagnostic and Therapeutic Applications.» *the oncologist*, 2004: 9:361-377.

D

Darina Vuong Peter T. Simpson Benjamin Green Margaret C. Cummings Sunil R. Lakhani. «Molecular classification of breast cancer.» *Virchows Archiv*, 2014: : 465(1) 1–14.

Davies C, Pan H, Godwin J, Gray R, Arriagada R, Raina V et al. « Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial». *The Lancet* 2013, **381**(9869):805-816.

Davis NM, Sokolosky M, Stadelman K, Abrams SL, Libra M, Candido S et al. «Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention.» *Oncotarget*, 2014: 3(13):4603-4650.

Deng L, Chen J, Zhong XR, Luo T, Wang YP, Huang HF et al. «Correlation between activation of PI3K/AKT/mTOR pathway and prognosis of breast cancer in Chinese women.» *PLoS One*, 2015: 10(3):e0120511. doi: 10.1371/journal.pone.0120511.

Desantis CE, Fedewa SA, Sauer AG, Kramer JVK, Smith RA, Jemal A, et al. «Breast Cancer Statistics, 2015: Convergence of Incidence Rates Between Black and White Women.» *CA CANCER J CLIN*, 2016: 66:31–42.

Deshmukh S, Mane A, Zade B, Sane S «Retrospective analysis of clinicopathological factors and outcome in breast cancer in young women in a tertiary care hospital in India». 2014.

Dienstmann R, Rodon J, Serra V, et al. « Picking the point of inhibition: A comparative review of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors.» *Mol Cancer Ther*, 2014: 13:1021-1031.

Dillon RL, Muller WJ. «Distinct biological roles for the akt family in mammary tumor progression.» *Cancer Res* , 2010: 70:4260–4264.

Dillon RL, White DE, Muller WJ. . «The phosphatidyl inositol 3-kinase signaling network: implications for human breast cancer.» *Oncogene*, 2007: 26:1338 –1345.

Dioro C, Brisson J, Bérubé S, Pollak M. «Genetic polymorphism involved in insulin-like growth factor (IGF) pathway in relation to mammographic breast density and IGF levels.» *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008: 17:880-8.

Drake R, Richard L. Vogl A, Mitchel L, Adam. *Gray's anatomie pour les étudiants*. Vol. 1103 p. ISBN 978-2-8101-0151-1. PARIS: Elsevier Masson, 2010.

Dreyer C, Raymond E, Faivre S. «La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR.» *Cancéro dig*, 2009: 3 :187-18.

E

Edge SB BD, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti III H. . «American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Manual 7th ed.» 2009.

Eilers M and Eisenman RN. «Myc's broad reach.» *Genes and Development*, 2008: :22(20)2755–2766.

Ellis MJ1, Tao Y, Luo J, A'Hern R, Evans DB, Bhatnagar AS, et el. «Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics.» *J Natl Cancer Inst.*, 2008: 100(19):1380-8.

Elsheikh S1, Green AR, Aleskandarany MA, Grainge M, Paish CE, Lambros MB, Reis-Filho JS, Ellis IO. «CCND1 amplification and cyclin D1 expression in breast cancer and their relation with proteomic subgroups and patient outcome.» *Breast Cancer Res Treat*, 2008: 109(2):325-35.

Esteva FJ, Guo H, Zhang S et al. «PTEN, PIK3CA, p-AKT, and p-p70S6K status: association with trastuzumab response and survival in patients with HER2-positive metastatic breast cancer.» *Am J Pathol* , 2010: 177:1647– 1656.

F

Fillmore CM and Kuperwasser C. «Human breast cancer cell lines contain stem-like cells that self-renew, give rise to phenotypically diverse progeny and survive chemotherapy.» *Breast Cancer Res*, 2008; 10(2): R25.

Firoozinia M, Jahromi MZ, Moghadamtousi SZ, Nikzad S, and Kadir H. «PIK3CA Gene Amplification and PI3K p110 α Protein.» *International Journal of Medical Sciences*, 2014; 12:620-625.

Fitzal F, Gnant M . «Breast conservation: history, surgical strategy and specific considerations.» *Breast*, 2006; 12(2):165–173.

Fitzgibbons PL, Connolly JL, Page DL. «Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the breast.» *Arch Pathol Lab Med*, 2000; 124:1026-1033.

Flångeng MH, Knappskog S, Haynes BP, Lønning PE, Mellgren G. «Inverse regulation of EGFR/HER1 and HER2-4 in normal and malignant human breast tissue.» *PLoS One*, 2013; 8:e74618.

Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. «Triple-negative breast cancer». *N Engl J Med*. 2010; 363(20): 1938-1948.

Fourati A, Boussen H, El May MV, Goucha A, Dabbabi B, Gamoudi A et al. « Descriptive analysis of molecular subtypes in Tunisian breast cancer». *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology* 2014, **10**(2):e69-e74.

Frasca FG., Pandini R., Vigneri L and Goldfine ID. «Insulin and hybrid insulin/IGF receptors are major regulators of breast cancer cells.» *Breast Dis*, 2003; 17:73-89.

Fredholm H, Eaker S, Frisell J, Holmberg L, Fredriksson I, Lindman H. « Breast cancer in young women: poor survival despite intensive treatment». *PLoS One* 2009, **4**(11):e7695.

G

Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. «Stage 0 to stage III breast cancer in young women». *Journal of the American College of Surgeons* 2000, **190**(5):523-529.

Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. «The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer». *Breast cancer research and treatment* 2002, **22**(3):207-219.

Ganiy OA and Ganiyu AR . «Epidemiology of Breast Cancer in Europe and Africa.» *J Cancer Epidemiol*, 2012: 915610.

Gasco M, Shami S and Crook T. «The p53 pathway in breast cancer .» *breast Cancer RES*, 2002: 4(2):7076.

Ghayad SE, Cohen PA. « Inhibitors of the PI3K/ Akt/mTOR pathway: new hope for breast cancer patients.» *Recent Patents Anticancer Drug Discov*, 2010: 5:29–57.

Ghayad SE, Cohen PA. «Inhibitors of the PI3K/Akt/mTOR pathway: new hope for breast cancer patients.» *Recent Patents Anticancer Drug Discov*, 5 (2010), pp. 29-57, 2010: 5: 29-57.

Girish M, LuJan E, Krop Charles L, Vogel Howard A et al. «Clinical pharmacology of trastuzumab emtansine (T-DM1): an antibody–drug conjugate in development for the treatment of HER2-positive cancer.» *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2012: : 69(5)1229–1240.

Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. « Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early-stage disease». *Journal of the American College of Surgeons* 2009, **208**(3):341-347.

Goldhirsch A, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ, Azambuja E, Procter M, Thomas M . «2 years versus 1 year of adjuvant trastuzumab for HER2-positive breast cancer (HERA): an open-label, randomised controlled trial.» *the lancet*, 2013: :382(9897)1021–1028.

Greenblatt D, Sionov R and Ish-Shalom D. «TP53 mutations in breast cancer associated with BRCA1 or BRCA2 germ-line mutations: distinctive spectrum and structural distribution .» *Cancer RES*, 2001: 61(10):4092-7.

Guarneri V, Conte P. «Metastatic breast cancer: therapeutic options according to molecular subtypes and prior adjuvant therapy.» *Oncologist*, 2009: 14: 645-656 .

Guendouz WC, A. Abdelouahab, A. Bendib . «Cancer du sein de la femme de moins de 35 ans : étude rétrospective à propos de 612 cas». *Société Française de Sénologie et de Pathologie Mammaire* 2010.

Gutierrez C and Schiff R. «HER2: biology, detection, and clinical implications.» *Arch Pathol Lab Med*, 2011; 135: 55-62 .

H

Habashy HO, Powe DG, Abdel-Fatah TM, Gee JM, Nicholson RI, Green AR, Rakha EA, Ellis IO. «A review of the biological and clinical characteristics of luminal-like oestrogen receptor-positive breast cancer.» *Histopathology*, 2012: 60:854-863.

Hafizi S. «Receptor Tyrosine Kinases — Expanding Horizons.» *Cells*, 2014: 3, 657-659.

HAFSI S, PEZZINO FM, CANDIDO S, LIGRESTI G, DEMETRIOS A. SPANDIDOS A et al. «Gene alterations in the PI3K/PTEN/AKT pathway as a mechanism of drug-resistance (Review).» *INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY*, 2012: 40: 639-644.

Haldosén LA, Zhao C, Dahlman-Wright K. «Estrogen receptor beta in breast cancer.» *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2014: 665–672.

Hamajima N, Hirose K, Tajima K et al. « Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the diseases.» *Br J Cance*, 2002: 87:1234:1245.

Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M et al. «American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cance.» *J Clin Oncol*, 2010: 28: 2784-27.

Hanahan D and Weinberg RA. «The hallmarks of cancer.» *Cell.* , 2000: 100(1):57-70.

Hausen R and Bissell M. «Biologie de la lactation "gynecologie/obstétrique".» *Znc Med Chir*, 2000: 5008-A-30(15).

Howard M S, Humphrey G, Tomasz B, Elatre W, O'Brien C, Lackner M, et al. «PTEN Loss Is Associated with Worse Outcome in HER2-Amplified Breast Cancer Patients but Is Not Associated with Trastuzumab Resistance.» *clinical cancer research*, 2015: 2064-2075.

Howland NK, Driver TD, Sedrak MP, Wen X, Dong W, Hatch S, et al. «Lymph node immunohistochemical biomarkers in a Spanish population-based study. Gynecol involvement in immunohistochemistry-based molecular classifications of breast cancer». *The Journal of surgical research*. 2013;185(2):697-703.

Hussain S P and Harris CC. «p53 biological network: at the crossroads of the cellular-stress response pathway and molecular carcinogenesis.» *Journal of Nippon Medical School*, 2006: 73(2):54-64.

I

Ibrahim YH, Garcia-Garcia C, Serra V, et al. «PI3K inhibition impairs BRCA1/2 expression and sensitizes BRCA-proficient triple-negative breast cancer to PARP inhibition.» *Cancer Discov*, 2012: 2(11):1036-1047.

Inic Z, Zegarac M, Inic M, Markovic I, Kozomara Z, Djuriscic I et al. «Difference between Luminal A and Luminal B Subtypes According to Ki-67, Tumor Size, and Progesterone Receptor Negativity Providing Prognostic Information.» *Clin Med Insights Oncol*, 2014: 8: 107–111.

Institut national du cancer. *Epidémiologie des cancers*. <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>, 2015.

Inwald EC, Klinkhammer-Schalke M, Hofstädter F, Zeman F, Koller M, Gerstenhauer M, et al. « Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry.» *Breast Cancer Res Treat*, 2013: 139:539-52.

Ireton RC, Davis A, Van Hanget J, Mariner DJ, Thoreson MA, Anastasiadis PZ et al. «A novel role for p120 catenin in E-cadherin function.» *J Cell Biol*, 2002: 159(3):465-76.

J

Jacobs TW, Gown H, Yaziji M, Barnes J, and Schnitt SJ. «HER2/neu protein expression in breast cancer evaluated by immunohistochemistry.» *a study of interlaboratory agreement*, 2000: 113(2):251-259.

Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and. «Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of.» *the American Association for Cancer Research*, 2010: 19(8):1893-907.

Joycelyn JL, Kiley L, Yoon YS. «PI3K/Akt/mTOR inhibitors in breast cancer.» *Cancer Biol Med*, 2015: 12:342-354.

Julien, S.; Bobowski, M.; Steenackers, A.; Le Bourhis, X.; Delannoy, P. . «How Do Gangliosides Regulate RTKs Signaling? .» *Cells*, 2013: 2, 751–767.

Junichi K, Takoya M, Takanori I, Hisahi H, Masafumi K, Futoshi A, et al. «The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races». *The Breast*. 2007; 16: S72-S77.

Juvekar A, Burga LN, Hu H, et al. «Combining a PI3K inhibitor with a PARP inhibitor provides an effective therapy for BRCA1-related breast cancer.» *Cancer Discov*, 2012: 2(11):1048-1063.

K

Karina BH, Massaayo JM, i Guembarovsk RLi, Batista CA, Oliveira E et al. «Molecular Markers for Breast Cancer: Prediction on Tumor Behavior.» *Disease Markers*, 2014: 1-12.

Kallel M, Elloumi F, Khabir A, Ghorbal L, Chaabouni S, Amouri H, Frikha M, Daoud J. «Breast cancer in young women in southern Tunisia: Anatomical study and clinical prognostic factors: About a series of 83 patients». *Reports of practical oncology and radiotherapy : journal of Great Poland Cancer Center in Poznan and Polish Society of Radiation Oncology* 2015, **20**(3):155-160

Kelsey JL and Bernstein L. «Epidemiology and prevention of breast cancer.» *Annu Rev Public Health*, 1996: 17:47-67.

Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH et al. «Metastatic behavior of breast cancer subtypes.» *J Clin Oncol*, 2010; 28: 3271-3277.

Krajcinovic M, Ghadirian P, Richer C, et al. «Genetic susceptibility to breast cancer in French-Canadians: role of carcinogen-metabolizing enzymes and gene-environment interactions.» *Int J Cancer*, 2001; 92(2):220–225.

Kroman N, Tutt A, Jensen M-B, Wohlfahrt J, Mouridsen HT et al. «Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based studyCommentary: much still to learn about relations between tumour biology, prognosis, and treatment outcome in early breast cancer». *Bmj* 2000, **320**(7233):474-479

Krop I, Johnston S, Mayer IA, et al. «The FERGI phase II study of the PI3K inhibitor pictilisib (GDC-0941) plus fulvestrant vs fulvestrant plus placebo in patients with ER+, aromatase inhibitor (AI)-resistant advanced or metastatic breast cancer.» *the 37 th Annual San Antonio Breast Cancer*. San Antonio, 2014. TX abstract S2-02.

Kumar R, Gururaj AE, Vadlamudi RK , and Rayala SK. «Clinical Cancer Research.» *The clinical relevance of steroid hormone receptor corepressors*, 2005: 11(8):2822-2831.

L

Lee E and William JM. «Oncogenes and Tumor Suppressor Genes.» *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010; 2:a003236.

Leygue E and Murphy LC. «Murphy.A bi-faceted role of estrogen receptor beta in breast cance.» *Endocr. Relat. Cancer* , 2013: 233-241.

Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. «Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer.» *Nat Rev Drug Discov*, 2009; 8(8): 627–644.

Loi S, Haibe-Kains B, Majjaj S et al. «PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer.» *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010: 107:10208–10213.

Lonning P. «Breast cancer prognostication and prediction: are we making progress». *Annals of Oncology* 2007, **18**(suppl 8):3-7.

Lopez-Garcia MA, Geyer FC, Lacroix–Triki M, Marchió C, Reis-Filho JS. «Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways». *Histopathology*. 2010; **57**(2): 171-192.

Lopez-Knowles E, O’Toole SA, McNeil CM et al. «PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality.» *Int J Cancer*, 2010; **126**:1121–1131.

Lorusso P.M. «Mammalian Target of Rapamycin as a Rational Therapeutic Target for Breast Cancer Treatment.» *oncology*, 2013: 84:43–56.

Lorusso PM. «Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR Pathway in Solid Tumor.» *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*, 2016: :34(1)3803-3815.

Liukkonen S, Leidenius M, Saarto T, Sjöström-Mattson J. «Breast cancer in very young women». *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* 2011, **37**(12):1030-1037

M

Maira SM, Pecchi S, Huang A, et al. «Identification and characterization of NVP-BKM120, an orally available pan-class I PI3-kinase inhibitor.» *Mol Cancer Ther*, 2012: 11:317–28.

MALAGUTI P, VARI S, COGNETTI F and FABBI A. «The Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors in Breast Cancer: Current Evidence and Future Directions.» *ANTICANCER RESEARCH*, 2013: 33: 21-28.

Manning BD and Cantley LC. «AKT/PKB Signaling: Navigating Downstream.» *Cell*, 2007: **129**(7): 1261–1274.

Margan M M, Jitariu A, CimpeanAM, Nica C, RaicaM. «Molecular Portrait of the Normal Human Breast Tissue and Its Influence on Breast Carcinogenesis.» *J Breast Cancer*, 2016: **19**(2): 99-111.

Martin LA, Andre F, Campone M, et al. «. mTOR inhibitors in advanced breast cancer: ready for prime time?» *Cancer Treat Rev* , 2013: 39:742–52.

Massarweh S, Romond E, Black E, et al. . «A phase II study of combined fulvestrant and everolimus in patients with metastatic estrogen receptor (ER)-positive breast cancer after aromatase inhibitor (AI) failure.» *Breast Cancer Res Treat*, 2013: 143(2):325-332.

Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, et al. «Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes.» *Clinical cancer research*, 2013: 19:5533-5540.

Mayer IA, Abramson VG, Isakoff SJ, et al. . « Stand Up to Cancer phase Ib study of pan-phosphoinositide-3-kinase inhibitor buparlisib with letrozole in estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer.» *J Clin Oncol*, 2014: 32(12):1202-1209.

Mayer IA, Arteaga CL. «The PI3K/AKT Pathway as a Target for Cancer Treatment.» *Annu Rev Med*, 2016: 67:11-28.

Mazouni C, Rimareix F, Mathieu MC, Uzan C, Bourgier C, Andre F, et al. «Outcome in breast molecular subtypes according to nodal status and surgical procedures ». *American journal of surgery*. 2013;205(6):662-7.

Mcgale P, Taylor C, Correa C, Cutter D, Duane F, Ewertz M et al . « Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality». *The Lancet* 2014, **383**(9935):2127-2135.

Mcpherson K, Steel CM, Dixon KM.« ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics». *BMJ* 2000, **321**.

Merviel P, Jouvance O, Naepels P, Fauvet R, Cabry-Goubet R et al. «Existe-t-il encore des facteurs de risque de survenue d'un cancer du sein» . *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2011, **39**(9):486-490.

Michaelson JS, Silverstein M, Sgroi D et al. «The effect of tumor size and lymph node status on breast carcinoma lethality.» *Cancer* , 2003: 98: 2133-2143. 78.

Miled N, Yan Y, Hon WC, et al. «Mechanism of two classes of cancer mutations in the phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit.» *Science*, 2007: 317(5835):239–242.

Moasser MM. « The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis.» *Oncogene*, 2007; 26: 6469-6487 .

Molyneux G, Geyer FC, Magnay FA, McCarthy A, Kendrick H, Natrajan R et al. «BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells». *Cell Stem Cell*. 2010 Sep 3; 7(3): 403-17.

Morabito A, Magnani E, Gion M, Sarmiento R, Capaccetti B, Longo R et al. «Prognostic and predictive indicators in operable breast cancer». *Clinical breast cancer* 2003, 3(6):381-390.

Morimoto LM, White E, Chen Z, Chlebowski RT, Hays J, Kuller L, et al. «Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States).» *Cancer Causes* , 2002: 13:741–51.

N

Naderi A, Teschendorff AE, Barbosa-Morais NL, Pinder SE, Green AR, Powe DG et al. «A gene-expression signature to predict survival in breast cancer across independent data sets.» *Oncogene*, 2007; 26(10):1507-16.

Netter F. *Atlas d'anatomie humaine*. 4e édition. Vol. 548 p. ISBN 978-2-294-08042-5. PARIS: Masson, 2007.

O

O'Brien NA, Browne BC, Chow L et al. «Activated phosphoinositide 3-kinase/AKT signaling confers resistance to trastuzumab but not lapatinib.» *Mol Cancer Ther*, 2010; 9:1489 –1502.

O'Regan R, Ozguroglu M, Andre F, et al. «Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of daily everolimus plus weekly trastuzumab and vinorelbine in trastuzumab-resistant, advanced breast cancer (BOLERO-3).» *J Clin Oncol*, 2013; 31:1245-1263.

Odermatt R, Wolfer A, Zaman K. «Hormonothérapie dans le cancer du sein : efficacité et effets adverses.» *Rev Med Suisse*, 2013: 1090-1094.

OMS. *Mortalité et morbidité dues au cancer du sein*.
<http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/fr/index1.html>, 2016.

Ontilo AA, Enget JM, Greenlee RT, Mukesh BN. « Breast cancer subtypes based on ER/PR and HER-2/neu expression: Comparison of clinicopathologic features and survival». *Clinical Medicine & Research*.2008; **7** (1-2) 4-13.

Osborne CK, Schiff R. «Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer.» *Annu Rev Med*. 2011;62:233-47, 2011: 62:233-47.

Oyama T, Iijima K, Takei H, et al. «Atypical cystic lobule of the breast: an early stage of low-grade ductal carcinoma in-situ.» *Breast Cancer* (7: 326–331), 2000: 7: 326–331.

P

Paplomata E and O'Regan R. «The PI3K/AKT/mTOR pathway in breast cancer: targets, trials and biomarkers.» *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 2014: 6(4) 154–166.

Paul Vilquin 1, Pascale Cohen 2,3, Thierry Maudelonde 1, Olivier Tredan 4, Isabelle Treilleux 3,4, Thomas Bachelot et al. «Nouvelles stratégies thérapeutiques dans le cancer du sein hormono-dépendant métastatique.» *Bull Cancer* , 2015: 102: 367–380.

Perez EA, Dueck AC, AE McCullough, B Chen, XJ Geiger, Robert B. et al. «Impact of PTEN Protein Expression on Benefit From Adjuvant Trastuzumab in Early-Stage Human Epidermal Perou CM, Sørliie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA et al . « Molecular portraits of human breast tumours.» *Nature* , 2000: 406: 747-752.

Porée P, Leveque J. «Intraoperative Touch Imprint Cytology of axillary sentinel nodes for breast cancer: a series of 355 procedures.» *Breast* , 2010: In press.

Porta C, Paglino C and Mosca A. «Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer.» *Molecular and Cellular Oncology*, 2014: 4:64-75.

Porter G, Evans A, Pinder S, James J, Cornford E, Burrell H et al. «Patterns of metastatic breast carcinoma: influence of tumour histological grade». *Clinical radiology* 2004, **59**(12):1094-1098.

Prat A and Perou CM. . «Deconstructing the molecular portraits of breast cancer.» *Mol Oncol* , 2011: 5: 5-23.

Puig-Vives M, Sánchez MJ, Sánchez-Cantalejo J, Torrella-Ramos A, Martos C, et al. «Basal-like breast cancer: a critical review». *J Clin Oncol*. 2008; 26(15): 2568-2581.

Q

Qian XT, Karpova AM, Sheppard J, McNally D and Lowy R. «E-cadherin-mediated adhesion inhibits ligand dependent activation of diverse receptor tyrosine Kinase .» *Embo J*, 2004: 23(8):1739-48.

R

Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, et al. «Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes.» *Clin Cancer Res*, 2009: 15: 2302-2310 .

Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, et al. «Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation.» *J Pathol*, 2006: 208: 495–506.

Ravanel N, Brand F, Pasquier D, Mousseau M, Gauchez A. «Cerb-B2 ou Her-2: marqueur d'intérêt dans la prise en charge du cancer du sein» . *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 2005, **20**(2):92-95.

Rexer BN and Arteaga CL. . «Optimal targeting of HER2-PI3K signaling in breast cancer: mechanistic insights and clinical implications.» *Cancer Res*, 2013: 73(13):3817-3820.

Rexer BN, Chanthaphaychith S, Dahlman K, Arteaga CL. . «Direct inhibition of PI3K in combination with dual HER2 inhibitors is required for optimal antitumor activity in HER2+ breast cancer cells.» *Breast Cancer Res*, 2014: 16(1):R9.

Rexer BN, Ghosh R, Arteaga CL. « Inhibition of PI3K and MEK: it is all about combinations and biomarkers.» *Clin Cancer Res*, 2009: 15:4518 –4520.

Reyna C, Lee MC. «Breast cancer : special considerations in multidisciplinary care». *Journal of multidisciplinary healthcare* 2014, **7**:419-429.

Robidoux A, Tang G, Rastogi P, Geyer CE, Azar CA, Atkins GN, Fehrenbacher L, et al. «Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): an open-label, randomised phase 3 trial.» *the lancet oncology*, 2013; :14(12) 1183–1192.

Romero Q, Bendahl PO, Fernö M, Grabau D, Borgquist S. «A novel model for Ki67 assessment in breast cancer.» *Diagn Pathol*, 2014; 9:118.

Roy SS and Vadlamudi RK. «Role of Estrogen Receptor Signaling in Breast Cancer Metastasis.» *International Journal of Breast Cancer*, 2012: 1-8.

Rushika M. Perera and Nabeel Bardeesy. «On Oncogenes and Tumor Suppressor Genes.» *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012; 4:a013466.

Russnes HG, Navin N, Hicks J, Borresen-Dale AL. «Insight into the heterogeneity of breast cancer through next-generation sequencing.» *J Clin Invest*, 2011; 121:3810–8.

Russo J and Russo IH. «THE ROLE OF ESTROGEN IN THE INITIATION OF BREAST CANCER.» *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2006; 102(1-5): 89–96.

S

Sakhri S. «CHIMIOThERAPIE NEOADJUVANTE ASSOCIEE A L'ACIDE dans le cancer du sein.» De thèse de doctorat en sciences médicales. algérie, 2015.

Salmon RJ. «Chirurgie du cancer du sein après traitement néo–adjuvant.» *ONCOLOGIE*, 2004; 6, Issue 3, pp 209–210.

Sandhu C, Donovan N, Bhattachary M, Stampfer P, Worland J. «Reduction of Cdc25A contributes to cyclin E1-Cdk2 inhibition at senescence in human mammary epithelial cells.» *Oncogene*, 2000; 19(47):5314-23.

Sarbassov DD, Ali SM, Sengupta S et al. «Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB.» *Mol Cell*, 2006; 22:159–168.

Scholl S, Beuzeboc P, Pouillart P. Targeting Her2 in other tumor types». *Annals of Oncology* .2001;(suppl.1):S81–7.

Schmid P, Pinder SE, Wheatley D, et al. « Preoperative window of opportunity study of the PI3K inhibitor pictilisib (GDC-0941) plus anastrozole vs anastrozole alone in patients with ER+, HER2-negative operable breast cancer (OPPORTUNE study).» *the 37 th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium*. San Antonio, 2014. TX.Abstract S2-03.

Senst N, M. Llacuachaqui, J. Lubinski, H. Lynch, S. Armel, S. Neuhausen et al.,. «Parental origin of mutation and the risk of breast cancer in a prospective study of women with a BRCA1 or BRCA2 mutation.» *Clinical Genetics*, 2013: 84(1):43-46.

Shapira, R. J. Gralla, M. Akerman, L. R. Weiselberg, V. S. John, H. Raftopoulos et al. «Does maternal Or paternal inheritance of BRCA Mutation Affect the Age of Cancer Diagnosis.» *in Meeting ASCOA*. Texas, 2011.

Shet T, Agrawal A, Chinoy R, Havaladar R, Parmar V, Badwe R. «Changes in the tumor grade and biological markers in locally advanced breast cancer after chemotherapy--implications for a pathologist.» *Breast J*, 2007: 13(5):457-64.

Sikora MJ, Jankowitz RC, Dabbs DJ, Oesterreich S. « Invasive lobular carcinoma of the breast: Patient response to systemic endocrine therapy and hormone response in model systems ». *Steroids* 2013, **78**(6):568-575.

Singhi AD, Cimino-Mathews A, Jenkins RB et al. «MYC gene amplification is often acquired in lethal distant breast cancer metastases of unamplified primary tumors.» *Modern Pathology*, 2012: 25(3):378–387.

Sobin LH GM and Wittekind CH. «International Union against Cancer (UICC).» *TNM classification of malignant tumors 7th edition*, 2009.

Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. « Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.» *ProcNatl Acad Sci U S A*, 2001: 98:10869 –10874.

Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A et al. « Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003, **100**(18):10393-10398.

Sotiriou C, Pusztai L. « Gene-expression signatures in breast cancer». *N Engl J Med*. 2009; 360(8): 790-800.

Soysal S, Soysal ME, Karabulut N, Gul N, Gezgin T. . «The basal and TRH simulated levels of prolactin in low risk climateric patients with increased density: a matched par cas control tria.» *Maturitas*, 2006: 54:103-6.

StAAF J, Ringnér M, Vallon-Christersson J, Jönsson G, Bendahl PO, Holm K et al. «Identification of subtypes in human epidermal growth factor receptor 2--positive breast cancer reveals a gene signature prognostic of outcom.» *J Clin Oncol*, 2010: 28: 1813-1820.

Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A et al. «An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cance.» *Cancer Res* , 2008: 68:6084–6091.

Su Y, Zheng Y, Zheng W, Gu K, Chen Z, et al. «Distinct distribution and prognostic: Métastases cérébrales de cancer du sein: facteurs pronostiques et prise en charge intégrée». *Bulletin du cancer* 2013, **100**(1):63-67.

Suire S, et al. «p84, a new Gbetagamma-activated regulatory subunit of the type IB phosphoinositide 3-kinase p110gamma.» *Curr Bio*, 2008: 15:566–70.

T

Tan M and Yu D. «Molecular Mechanisms of ErbB2-Mediated Breast Cancer Chemoresistance.» *Adv Exp Med Biol*, 2007: 608:119-29.

Tan DS, Marchio C, Jones RL, Savage K, Smith IE, Dowsett M et al. «Triple negative breast cancer: molecular profiling and prognostic impact in adjuvant anthracycline-treated patients». *Breast Cancer Res Treat*. 2008; 111(1):27-44.

Tanaka M, Grossman HB. «In vivo gene therapy of human bladder cancer with PTEN suppresses tumor growth, downregulates phosphorylated Akt, and increases sensitivity to doxorubicin.» *Gene Ther*, 2003: 10(19):1636-42.

Tardivon A and Malhaire C. «Cancer du sein (I). Épidémiologie, facteurs de risque, imagerie.» *Gyneco-obstétricale*, 2009: 1-30.

Tavassoli FA, Davilee P. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. « Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs.» *IARC Press*. Lyon, 2003.

Thomas T, Gallo MA and Thomas TJ. «Estrogen receptors as targets for drug development for breast cancer.» *Curr Cancer Drug Targets*, 2004: 4(6):483-99.

Thompson AM, Moulder-Thompson SL. «Neoadjuvant treatment of breast cancer.» *Ann Oncol*, 2012: :10 231-236.

Todorovic-Rakovic N, Neskovic-Konstantinovic Z, and Nikolic-Vukosavljevic D. «C-myc as a predictive marker for chemotherapy in metastatic breast cancer.» *Clinical and Experimental Medicine*, 2012: :12(4)217-223.

Tourneau L, Pouillart P. «Metastatic breast cancer: strategic therapeutical development.» *la lettre de cancerologie*, 2013: 54-70.

Tutt A, Ellis P, Kilburn L. . «TNT: A randomized phase III trial of carboplatin compared with docetaxel for patients with metastatic or recurrent locally advanced triple-negative or BRCA1/2 breast cancer.» *TX Abstract S3-01*. San Antonio, December 2014.

V

Vanstone M, Chow W, Lester L, Ainsworth P, Nisker L, and Brackstone M. «Recognizing BRCA gene mutation risk subsequent to breast cancer diagnosis in southwestern Ontario.» *Canadian Family Physician*, 2012: 58(5):258-266.

Viale G, Regan MM, Mastropasqua MG, Maffini F, Maiorano E, Colleoni Met al. « International Breast Cancer Study Group. Predictive value of tumor Ki-67 expression in two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node negative breast cancer». *J Natl Cancer Inst*. 2008; 100(3): 207-212.

Vilar E, Perez-Garcia J, Taberero J. «Pushing the envelope in the mTOR pathway: the second generation of inhibitors.» *Mol Cancer Ther*, 2011; 10: 395-403.

Vilquin P, Cohen P, Maudelonde T et al. «Nouvelles stratégies thérapeutiques dans le cancer du sein hormono-dépendant métastatique.» *Bull Cancer*, 2015; 102: 367–380.

Vinh-Hung V, Burzykowski T, Cserni G et al. «Functional form of the effect of the numbers of axillary nodes on survival in early breast cancer.» *Int J Onco*, 2003; 22: 697-704.

Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. «Molecular classification of breast cancer.» *Virchows Arch*, 2014; 465(1):1-14.

W

Wander S. A., Hennessy B. T., Slingerland J. M. (2011). Next-generation mTOR inhibitors in clinical oncology: how pathway complexity informs therapeutic strategy. «Next-generation mTOR inhibitors in clinical oncology: how pathway complexity informs therapeutic strategy.» *J Clin Invest*, 2011; 121, 1231–1241. .

Y

Yap TA, Yan L, Patnaik A, et al. «First-in-man clinical trial of the oral pan-AKT inhibitor MK- 2206 in patients with advanced solid tumors.» *J Clin Oncol*, 2011; 29:4688–95.

Yu B, Sun X, Shen HY, Gao F, Fan YM, Sun ZJ. «Expression of the apoptosis-related genes BCL-2 and BAD in human breast carcinoma and their associated relationship with chemosensitivity.» *J Exp Clin Cancer Res*, 2010; 29:107.

Yersal O and Barutca O. «Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications.» *World J Clin Oncol*, 2014; 10; 5(3): 412-424.

Z

Zaha DC, Lazar E, Lazureanu C. « Clinicopathologic features and five years survival analysis in molecular subtypes of breast cancer. Romanian journal of morphology and embryology» *.Revue roumaine de morphologie et embryologie*. 2010;51(1):85-9

Zardavas D, Baselga J, Piccart M. «Emerging targeted agents in metastatic breast cancer.» *Nat Rev Clin Oncol*, 2013: 10:191-210.

Zardavas D, Baselga J, Piccart M. «Emerging targeted agents in metastatic breast cancer.» *Nat Rev Clin Oncol*, 2013: 10:191–210.

Zhang HY, Liang F, Jia ZL, Song ST, Jiang ZF. «PTEN mutation, methylation and expression in breast cancer patients.» *Oncology*, 2013: 161-168.

Zhang J, Roberts TM, Shivdasani RA. « Targeting PI3K signaling as a therapeutic approach for colorectal cancer.» *Gastroenterology* , 2011: 141:50-61.

ZHANG MH, TAO MAN H, ZHAO DX, and LIANG SM. «Estrogen receptor-positive breast cancer molecular signatures.» *BIOMEDICAL REPORT*, 2013: 2: 41-52.

Znati K, Bennis S, Abbass F, Akasbi Y, Chbani L, Elfatemi H et al. «Breast cancer in young patient in Morocco». *Gynecologie, obstetrique & fertilité* 2014, **42**(3):149-154.

Zorka Inic¹, Milan Zegarac¹, Momcilo Inic¹, Ivan Markovic¹, Zoran Kozomara¹, Igor Djuricic¹. «Difference between Luminal A and Luminal B Subtypes According to Ki-67, Tumor Size, and Progesterone Receptor Negativity Providing Prognostic Information.» *Clinical Medicine Insights: Oncology*, 2014: 8:107-111.