

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Djillali Liabes Sidi Bel Abbès

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



Thèse

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3eme cycle LMD

Discipline : Biologie

Option : Biologie de la cellule normale et pathologique

THEME

**Etude clinico-pathologique et immunomoléculaire du cancer du sein
surexprimant HER2 dans l'Ouest Algérien**

Présentée par : **MRABENT Nesrine Meriem**

Devant le jury composé de :

Présidente : MOULESSEHOUL. S

Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Encadreur : HARIR. N

MCA UDL Sidi Bel Abbès

Examineur : TOU. A

Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Examineur : ZAHZAH. T

Professeur UDL Sidi Bel Abbès

Examineur : SAHRAOUI. T

Professeur Université d'Oran

Examineur : SLIMANI . M

Professeur Université de Saida

Année universitaire : 2015-2016

Remerciements

Je saisis, aujourd'hui cette opportunité providentielle qui m'est offerte pour exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude à mes proches, parents, alliés, amis (es), et bien entendu aux membres des communautés scientifiques, nationale et internationale, tous corps confondus, qui m'ont assistée, soutenue, encouragée sans relâche tout au long de mon cursus et durant l'élaboration de cette contribution, une petite pierre blanche que j'ajoute modestement au magnifique édifice de la recherche médicale ... Cordialement à tous.

Résumé

Dans les pays industrialisés, plus d'une femme sur dix va développer un cancer du sein et beaucoup vont décéder de leur maladie. A côté des chimiothérapies classiques, censées détruire non spécifiquement les cellules se divisant rapidement, attaquer les voies spécifiques qui initient ou maintiennent la croissance et l'invasion des cellules cancéreuses se révèle très prometteur pour traiter plus efficacement le cancer du sein. Le gène du cancer Erb2 contrôle la quantité de HER2, une protéine favorisant la croissance et exprimée à la surface des cellules du cancer du sein. L'amplification et la surexpression de HER2 s'observent dans environ 20% des carcinomes du sein. La surexpression de HER2 par les cancers est plus fréquemment associée à une taille tumorale plus grande, à des métastases ganglionnaires, à un plus mauvais pronostic et elle diminue la survie globale. Les cancers HER2 positifs peuvent être traités avec une très grande efficacité grâce à une thérapie ciblée, le trastuzumab. La combinaison du trastuzumab et d'une chimiothérapie diminue considérablement les récives, réduit significativement la mortalité due au cancer du sein. Cependant, malgré les avantages cliniques de ces thérapies ciblées anti HER2, près de 50% des patientes atteintes de cancers du sein HER2 amplifié ne parviennent pas à répondre au trastuzumab tout en subissant les mêmes risques d'effets secondaires, et la grande majorité des patientes qui répondent au trastuzumab développent une résistance après 2 ans de traitement. L'activation du gène STAT3 est parmi les altérations moléculaires associées à cette résistance. Son activation est fréquemment rapportée dans près de 60% des tumeurs du sein. STAT3 a été classé comme un oncogène en raison de sa capacité à moduler des transformations oncogéniques. Cependant, la cause exacte de l'activation persistante de STAT3 dans divers cancers et comment cette activation persistante contribue à la progression tumorale est mal comprise. Dans ce contexte, nous avons étudié la fréquence de l'oncoprotéine HER2 et sa corrélation avec les paramètres de mauvais pronostic, dans une population féminine provenant de l'Ouest Algérien, durant une période de cinq ans. Nous avons également évalué l'expression des protéines STAT3 ainsi que leurs états d'activation PSTAT3 (Y705) par immunohistochimie dans des tumeurs HER2+, et leurs corrélations avec les paramètres clinico-pathologiques. Au cours de notre période d'étude (5 ans), un total de 628 cas de carcinomes infiltrants a été enregistré, avec un âge moyen de 51.06 ans, (18.3%) des patientes avaient moins de 40 ans. La tranche d'âge la plus touchée par le cancer du sein était (41-60 ans). Le carcinome canalaire infiltrant était retrouvé dans (85%) des cas. HER2 était observé dans (26.8%) des cas et dans (28.6%) de la jeune population étudiée (≤ 40 ans). Notre étude a confirmé qu'effectivement le statut HER2+ corrélait significativement avec les paramètres de mauvais pronostic à l'instar de taille tumorale, le grade tumoral et l'infiltration ganglionnaire dans les cas étudiés tout âge confondu. L'analyse immunohistochimique a révélé une surexpression cytoplasmique de STAT3 dans (46.7%) et une surexpression nucléaire de PSTAT3 (Y705) dans (16.7%) des tumeurs HER2+ étudiées. Nos résultats ont révélé une corrélation positive significative entre la surexpression de Stat3 et la taille tumorale ($r=0.081$; $p=0.014$) ainsi qu'avec le statut hormonal ER/PR+ ($r=0.318$; $p=0.028$), par ailleurs une corrélation négative significative était retrouvée entre la surexpression de PStat3 et le type histologique ($r= -0.188$; $p=0.001$), également avec la taille tumorale ($r= -0.098$; $p=0.048$) et avec le statut hormonal ($r= -0,102$; $p=0.020$). Nos résultats expérimentaux nous ont mené à conclure que le statut HER2 joue un rôle pronostique important; ceci est directement lié aux paramètres agressifs. La régulation de l'activité transcriptionnelle et signalisation de STAT3 est un élément très important dans le développement tumoral et dans la réponse au traitement. Ainsi, la connaissance de ces co-facteurs et la compréhension des différents mécanismes de régulation des fonctions de STAT3 suscitent un grand intérêt.

Mots Clés : Cancer du sein, HER2, STAT3, paramètres clinico-pathologiques.

Abstract

In industrialized countries, more than one tenth women would develop breast cancer and numerous would die of this disease. In addition to traditional chemotherapies made specifically to destroy the prompt dividing cells and to attack the specific pathways that initiate or maintain the growth and invasion of cancer cells which seems very promising for more effective breast cancer treatment. HER2/neu cancer gene controls the amount of HER2 which is a growth factor protein expressed on the surface of breast cancer cells. Amplification and overexpression of HER2 is observed in approximately 20% of breast carcinomas. HER2 overexpression in cancer is more often associated with larger tumor size, lymph node metastasis, to a worse prognosis and decreased overall survival. HER2 positive cancers can be treated with very high efficiency through targeted therapy, trastuzumab. The combination of trastuzumab and chemotherapy significantly reduces recurrence, as it reduces significantly mortality caused by breast cancer. Despite the clinical benefits of these anti HER2 targeted therapies, about 50% of patients with amplified breast cancers HER2 don't respond to trastuzumab while undergoing the same risks of side effects, the majority of patients who respond to trastuzumab develop resistance after 2 years of treatment. Activation of STAT3 gene is among the molecular alterations associated to this resistance. Its activation is often reported in nearly 60% of breast tumors. STAT3 has been classified as an oncogene because of its ability to modulate oncogenic transformation. However, the exact cause of its persistent activation in various cancers and how this activation contributes to tumor progression is poorly understood. In this context, we studied the frequency of HER2 oncoprotein and its correlation with the poor prognostic parameters in Western Algerian female population, along a period of five years. We also assessed the expression of STAT3 protein and the activation of PSTAT3 (Tyr705) using immunohistochemistry in HER2 + tumors, as well as their correlations with clinical pathological parameters. During our study period (5 years), a total of 628 cases of invasive carcinomas were recorded, with an average age of 51.06 years; 18.3% patients were aged below 40 years. The most affected age group was (41-60 years). Infiltrating ductal carcinoma was found in (85%) of cases. HER2 was observed in 26.8% cases and in 28.6% of the young studied population (≤ 40 years). Our survey confirmed that HER2+ status was significantly correlated with poor prognostic parameters like tumor size, tumor grade and lymph node infiltration in the studied cases belonging to all ages. The Immunohistochemical analysis revealed a cytoplasmic overexpression of STAT3 in 46.7% and a nuclear overexpression of PSTAT3 (Tyr705) in 16.7% of HER2 + selected tumors. Our results revealed a significant positive correlation between the overexpression of Stat3 and tumor size ($r = 0.081$; $p = 0.014$) as well as hormonal status ER / PR + ($r = 0.318$; $p = 0.028$), further a significant negative correlation was found between PStat3 overexpression and histological type ($r = -0.188$; $p = 0.001$), with tumor size ($r = -0.098$; $p = 0.048$) and also with hormone status ($r = -0.102$; $p = 0.020$). Our experimental results led us to conclude that HER2 status has an important prognostic role which is directly linked to aggressive settings. The regulation of the transcriptional signaling activity of STAT3 and is very important in tumor development and treatment response. Thus, the knowledge of these co-factors as well as the understanding different regulatory mechanisms of STAT3 functions could be of a great interest.

Keywords: Breast Cancer, HER2, STAT3, clinical-pathological parameters.

Tables des matières

Remerciements	P1
Résumé	P2
Abstract	P3
Table des matières	P4
Liste des tableaux et figures	P5
Liste des abréviations et acronymes	P6
Etude théorique	
Introduction	P9
Chapitre 1 : Cancer du sein	
1-1 Données épidémiologiques	P12
1-2 Facteurs de risque	P13
1-3 Les sous-types moléculaires des cancers du sein	P13
1-3-1 Les tumeurs lumineales	P14
1-3-1-1 Le sous-type luminal A	P14
1-3-1-2 Le sous-type luminal B	P14
1-3-2 Les tumeurs "basal-like"	P15
1-3-3 Le sous-type HER2	P15
Chapitre 2 : Human Epidermal Factor Receptor 2 (HER2)	
2-1 Structure et biologie de la protéine HER2	P16
2-2 Dimérisation de HER2	P16
2-3 Mécanismes d'activation de HER2	P19
2-4 Rôle physiologique du récepteur HER2	P19
2-5 Dérégulation de HER2 dans les cancers	P20
2-6 Surexpression de HER2 dans le cancer du sein	P22
2-7 Voies de signalisation activées par HER2	P24
2-8 La voie JAK/STAT activée par HER	p27
2-9 Mise en évidence de HER2	p29
2-10 Thérapie ciblée anti HER2	p31
Chapitre 3 : Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3)	
3-1 Présentation générale des facteurs STAT3	p33
3-2 Famille des facteurs de transcription STATs	p33
3-3 Structure et domaines fonctionnels du facteur STAT3	p35
3-4 Mécanismes d'activation du facteur STAT3	p37
3-5 Rôle physiologique de STAT3 et gènes cibles	p37
3-6 Implication de STAT3 dans la tumorigenèse	p38
3-7 Récepteurs activateurs de STAT3	p39
3-8 Activation de STAT3 dans le cancer du sein HER2 positif	p39
3-9 Implication de STAT3 dans la résistance au trastuzumab	p41
Etude pratique	
Chapitre 4 : Etude épidémiologique et expérimentale	
4-1 Objectif du travail	p42
4-2 Patients et méthodes	p43
4-2-1 Etude épidémiologique	p43
4-2-1-1 L'analyse statistique	p43
4-2-2 Etude Expérimentale	p44
4-2-2-1 Protocole de l'immunohistochimie	p44
4-2-2-2 Evaluation morphométrique	p45
Chapitre 5 : Résultats	
5-1 Présentation de l'article 1	p46
5-2 Présentation de l'article 2	p49
5-3 Présentation de l'article 3	p52
5-4 Résumé des résultats complémentaires : Evaluation immunohisochimique de l'activation de PStat3 (Tyr705) et de la surexpression de Stat3 dans des tumeurs HER2 positives.	p55
Chapitre 6 : Discussion	
Discussion	p60
Chapitre 7 : Conclusions et perspectives	
Conclusions et perspectives	p74
References	p76

Liste des figures et tableaux

1-Liste des figures

Figure 1	Localisation du gène codant pour le récepteur HER2 sur le chromosome 17	P18
Figure 2	Représentation schématique des récepteurs de la famille HER	P21
Figure 3	Illustration du processus multi-étapes de la transduction du signal régulée par les récepteurs HER	P23
Figure 4	Surexpression du récepteur HER2 due a une amplification génique	P28
Figure 5	Surexpression de HER2 dans le cancer du sein	P30
Figure 6	Représentation schématique des principales voies de signalisation régulées par HER2	P32
Figure 7	Représentation schématique de la voie JAK/STAT	P34
Figure 8	Mécanismes d'action du trastuzumab (Herceptin) sur HER2	P36
Figure 9	La famille des facteurs de transcription STAT et voie de signalisation STAT3 (A) Structure et domaines fonctionnels pour STAT1-6. (B) la voie de signalisation STAT3 et ses signaux d'activation intracellulaires et extracellulaires.	P40
Figure 10	Mécanismes schématiques de STAT3 contribuant à la cancérogenèse	P42
Figure 11	Tissus de cancer du sein surexprimant HER2 représentant une coloration pour STAT3 par immunohistochimie	P59

2-Liste des Tableaux

Table 1	Les caractéristiques clinico-pathologiques des patientes (n=30)	P56
Table 2	Corrélation de PStat3 avec les paramètres clinico-pathologiques	P57
Table 3	Corrélation de Stat3 avec les paramètres clinico-pathologiques	P58

Liste des acronymes et des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique
ARNm : acide ribonucléique messenger
BCL-2 : b-cell lymphoma gene 2
BCL-XL : b-cell lymphoma gene XL
BRCA1 : breast cancer gène 1
BRCA2 : breast cancer gène 2
CHK : c-terminal Src Kinase-homologous Kinase
CHU : centre hospitalo-universitaire
CK5 et CK14 : cytokératines 5/14
CK8 et CK18: cytokératines 8/18
C-MYC : myelocytomatosis oncogene
DAB : diaminobenzidine
DMBA : diméthylbenzanthracène
EGF : epidermal growth factor
EGFR : epidermal growth factor receptor
ER : estrogen Receptor
ERBB : erythroblastosis B virus
FDA : food and drugs administration
FISH : fluorescent in situ hybridation
G : grade
GAB : associated binding protein
GRB2 : growth factor receptor-bound protein2
GRB7 : growth factor receptor-bound protein 7
GTPase : guanosine triphosphatase
H&E: hématoxyline et éosine
HER2: human epidermal growth factor receptor 2
HRP : horseradish peroxidase
IHC : immunohistochimie
IP3 : inositols triphosphates 3
JAK: janus kinase
M: metastasis
MAPK : mitogen-activated protein kinases
N : node
NF-Kb : facteur nucléaire kappa B
NRTK : non receptor tyrosine kinase
OMS : organisation mondiale de la Santé
P53: protein 53
P85 : protéine 85
PBS : phosphate buffer saline
PDGFR : platelet derived growth factor receptor
P95HER2 : protéine 95 human epidermal growth factor 2
PI3kinase : phosphoinositide 3-kinase
PKC : protéines kinase C
PLC β : phospholipase C β
PLC : phospholipase C
PLD : phospholipase D
PLC γ 1 : phospholipase C γ 1

PSTAT3: stat3 phosphorylé
PTB : phosphotyrosine binding
PTEN : phosphatase and tensin deleted on chromosome 10
PR : progésterone receptor
RAF: rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RAS: rat Sarcoma
RCPG: récepteurs couplé à la protéine G
RTK : receptor tyrosine kinase
SBR : scarff-bloom-richardson
SHC: src homology C-terminal
SH2: src homology 2
SHP1 : src homology region1-domain phosphatase 1
SRC: sarcoma
SOCS1 : suppresor of cytokine signalling1
SOS: son of Sevenless
STAT 3: Signal Transducers and Activators of Transcription 3
T : tumor
TNM : tumor node metastasis
TYK2 : tyrosine kinase 2
TYR2 : tyrosine 2
TYR705 : tyrosine 705
VEGF : vascular endothelial growth factor

Introduction

Introduction

Le cancer du sein est la cause la plus fréquente de décès par cancer chez les femmes (522 000 décès) et le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes dans 140 des 184 pays couverts par GLOBOCAN dans le monde. 1,7 million de femmes ont un diagnostic de cancer du sein chaque année et en 2012, 6,3 millions de femmes vivaient avec un cancer du sein diagnostiqué au cours des cinq années précédentes. Depuis les dernières estimations pour 2008, l'incidence a augmenté de plus de 20%, et la mortalité de 14%. Il représente maintenant un cancer sur quatre chez les femmes **(Ferlay J et al., 2013)**.

Le cancer du sein est aussi l'une des principales causes de décès par cancer dans les pays les moins développés. C'est en partie parce que l'évolution des modes de vie est à l'origine d'une augmentation de l'incidence, mais aussi en partie parce que les progrès cliniques enregistrés contre la maladie ne profitent pas aux femmes vivant dans ces régions **(Ferlay J et al., 2013)**.

Les données des registres Algériens rejoignent les données mondiales avec une incidence de 25 - 30 / 100 000 **(Meguenni K et al., 2012 ; Merad IL., 2012)**. C'est le cancer le plus meurtrier de la femme Algérienne.

En Algérie les cancers du sein sont encore diagnostiqués à des stades assez avancés du fait de l'absence de dépistage et du manque d'information de la population féminine. De plus en plus de femmes Algériennes font un cancer à un âge plus jeune ce qui en fait un groupe à haut risque.(âge plus jeune de 10 ans par rapport à la population occidentale selon les différents registres Algériens, et sont donc sujettes à faire des récidives loco-régionales où à distance ce qui diminue leur survie et va engendrer un coût plus important pour la société puisque ces

patientes devront recevoir plusieurs lignes de chimiothérapies en situation métastatique **(EBCTG, 2000 ; Meguenni K et al., 2012 ; Mokhtari L et al., 2006)**.

La compréhension des mécanismes précoces ainsi que les acteurs induisant la prolifération des cellules cancéreuses mammaires revêtent alors un intérêt majeur dans la lutte contre cette pathologie. Parmi les facteurs inducteurs du développement tumoral, on distingue la protéine HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2). En effet, une surexpression du récepteur HER2 est diagnostiquée dans environ 20 à 30% des cancers du sein **(Casalini P et al., 2004)**. La cause de cette surexpression est en règle générale une amplification du gène codant pour le récepteur HER2 **(Casalini P et al., 2004)**. Il est bien connu que l'amplification de la région 17q12-q21 est le mécanisme le plus commun pour l'activation de HER2 dans le cancer du sein et qu'il mène à l'activation simultanée de plusieurs autres gènes. A l'instar de STAT3 **(Beguelin W et al., 2010)**.

L'amplification de STAT3 pourrait avoir un impact sur le phénotype et les caractéristiques cliniques des tumeurs surexprimant HER2. En effet, il est possible que l'amplification du gène STAT3 contribue à la progression de la maladie et au comportement clinique, comme à la réponse au trastuzumab et peut donc expliquer certaines des différences actuellement observées dans la gestion clinique des tumeurs surexprimant HER2 **(Beguelin W et al., 2010)**.

Nos objectifs dans ce travail sont :

- Dans un premier volet, la réalisation d'une étude épidémiologique rétrospective portant sur l'évaluation immunohistochimique de l'expression de l'oncoprotéine HER2 dans les cancers du sein et sa corrélation avec d'autres paramètres clinico-pathologiques.
- Dans un second volet, l'analyse par immunohistochimie du niveau d'expression du facteur de transcription STAT3 dans des tumeurs surexprimant HER2.
- Dans un troisième volet nous souhaitons, également, analyser l'état d'activation de ce facteur de transcription (expression de Phosphatase Stat3 (Tyr705) : la forme phosphorylée active de STAT3 par immunohistochimie) dans de telles tumeurs.

Cancer du sein

1-1 Données épidémiologiques

L'incidence du cancer du sein est en augmentation quelque soit le pays où il sera diagnostiqué avec 1.38 million de nouveaux cas par an dans le monde **(Ries et al., 2004)**. 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.

Son incidence varie de 19.3 pour 100.000 femme dans l'Afrique de l'est à 89.7 pour 100.000 femmes pour l'Europe de l'ouest, 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 **(FNCLCC., 2001)**. Pour la France son incidence est de 88.0 pour 100.000 femmes, avec 48 763 nouveaux cas de cancer du sein et 11 886 décès estimés en 2012 **(INC., 2012)**.

Aux USA, 207 090 nouveau cas de cancer du sein étaient diagnostiqués en 2010, son incidence était estimée à 105 pour 100.000 femme par an en 2010, il représentait ainsi 28% de tous les cancers **(Merad., 2012)**.

En Algérie, le cancer du sein dont la forte progression prend des proportions épidémiques inquiétantes avec plus de 9 000 nouveaux cas en 2009, soit 54 nouveaux cas pour 100 000 femmes ; actuellement ce chiffre est estimé à 11 000, soit une augmentation de 500 nouveaux cas par an. De plus, le cancer du sein, en Algérie touche autant la femme jeune que la femme ménopausée, ce qui complique son dépistage : l'âge médian est de 47 ans c'est-à-dire que 50% des cancers du sein ont déjà eu lieu avant cet âge **(PNC., 2015)**.

Considérant que l'incidence du cancer du sein a doublé durant les vingt dernières années, cette maladie constitue un problème de santé publique majeur, d'où la nécessité d'accorder de l'importance au dépistage, au diagnostic et traitement et même aux études cliniques et fondamentales de la maladie.

1-2 Facteurs de risque

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui touche la glande mammaire. Les cellules malignes sont des cellules transformées qui ont la propriété de se multiplier de manière désordonnée jusqu'à créer un amas cellulaire que l'on nomme tumeur. Celle-ci est dite soit 'localisée' si elle reste cantonnée au compartiment glandulaire ("in situ"), soit 'invasive' si elle se propage aux tissus sains avoisinants. Lorsqu'à un stade plus tardif, les cellules tumorales envahissent les ganglions lymphatiques les plus proches puis ceux d'autres tissus (l'os par exemple), on parle de métastases.

De nombreux facteurs de risque sont associés à la survenue de ce cancer : l'âge, les antécédents familiaux, l'âge respectif de la puberté et de la ménopause, les facteurs hormonaux et les facteurs environnementaux.

Parmi les gènes de prédisposition les plus associés au cancer du sein on peut citer les gènes BRCA1 et BRCA2, qui ont été localisés respectivement sur les chromosomes 17 et 13. Environ 2 femmes sur 1000 sont porteuses d'une mutation du BRCA1 ou du BRCA2. Les femmes qui héritent d'anomalies sur le gène BRCA1 (breast cancer 1) ont un risque extrêmement élevé de développer un cancer du sein (87% à 70 ans) ainsi qu'un cancer de l'ovaire. Par contre, des mutations du gène BRCA2 sont associées à une augmentation modérée du risque de cancer du sein.

Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans la réparation de l'ADN (**Kinzler and Vogelstein., 1997**).

1-3 Les sous-types moléculaires des cancers du sein

Pendant plusieurs décennies, les carcinomes du sein ont été classés selon leur type histologique, leur grade et l'expression des récepteurs hormonaux (**Reis-Filho et al., 2005; Simpson et al., 2005**). La classification des tumeurs et leur type histologique fournit des informations importantes pour évaluer leur pronostic. Toutefois, d'autres paramètres tels que le degré de différenciation (grade) ou le degré d'extension (stade) permettent de préciser le potentiel évolutif. Le grade histopronostique d'un adénocarcinome mammaire, évalué par le score SBR (Scarff-Bloom-Richardson), prend en compte 3 variables : la différenciation glandulaire, les atypies cyto-nucléaires et le nombre de mitoses. Cette classification a donc un intérêt majeur dans le traitement de cancers du sein (**Forus et al., 2001**).

1-3-1 Les tumeurs lumineuses

Le terme luminal fait référence au nom donné aux cellules différenciées de l'épithélium mammaire. Ces tumeurs sont appelées lumineuses car elles ont un aspect histologique différencié et expriment des gènes typiques des cellules épithéliales de la lumière des canaux ou des lobules du sein. 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. Ces tumeurs expriment les cytokératines (CK8 et CK18), typiques de l'état différencié (**Cherifi., 2014**).

1-3-1-1 Le sous-type luminal A

Ce sous type est caractérisé par une expression des récepteurs hormonaux oestrogènes (ER+, souvent élevée) et/ou à la progestérone (PR+), l'absence de surexpression de HER2 et un taux de mutations p53 faible. Les tumeurs sont souvent de bas grade histologique (**Cherifi., 2014**).

1-3-1-2 Le sous-type luminal B

A la même caractéristique que le luminal A en ce qui concerne les récepteurs hormonaux bien que ER puisse être exprimé à des niveaux plus faibles, mais il y a, plus souvent, une surexpression HER2. Les tumeurs sont habituellement de haut grade histologique, et montrent une activité proliférative plus élevée. Le sous-type A est de bon pronostic, le sous-type B est moins favorable (**Cherifi., 2014**).

1-3-2 Les tumeurs "basal-like"

Le terme basal/myoépithélial fait référence au nom donné à l'autre type de cellules du tissu mammaire normal. Cette forme représente 15 à 20 % des cancers du sein. Les tumeurs sont moins différenciées et elles n'expriment pas les récepteurs hormonaux et ne surexpriment pas l'oncogène HER2. Leur phénotype ER-/PR-/HER2- conduit souvent à appeler ces tumeurs "triples négatives", bien que cette assimilation n'est sans doute pas absolument totale. Elles expriment les cytokératines (CK5 et 14) et, souvent, le récepteur du facteur de croissance épidermique EGFR et la protéine c-Kit. Dans plus de 80 % des cas, le gène codant pour TP53 est muté.

C'est dans ce groupe que l'on retrouve des mutations du gène BRCA1. Souvent de grade III, elles sont de pronostic réservé et, par leur caractère triple négatif, elles ne peuvent bénéficier ni d'une hormonothérapie ni d'un traitement par l'Herceptin™ (trastuzumab) (**Cherifi., 2014**).

1-3-3 Le sous-type HER2

Les tumeurs HER2, quant à elles, sont généralement négatives pour ER et caractérisées par une surexpression de HER2 (**Connolly et al., 2005**).

Les chapitres qui suivent seront consacrés à l'étude du rôle potentiel du récepteur HER2 dans le développement du cancer du sein.

Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)

2-1 Structure et biologie de la protéine HER2

La protéine HER2 est le récepteur d'un facteur de croissance de la famille des récepteurs HER tyrosine kinase. Cette famille comporte 4 types de récepteurs : le récepteur de l'épidermal growth factor (EGFr ou HER1), HER2, HER3 et HER4 (**Gullick et al., 1987**). Ces récepteurs transmembranaires possèdent tous une activité tyrosine kinase dans leur partie intracytoplasmique. Le domaine extracellulaire forme la partie réceptrice de liaison aux ligands, l'EGF et les neurégulines. Leur action intervient dans la croissance cellulaire normale aux différents stades du développement de la glande. Le gène qui code pour la protéine HER2 est un proto-oncogène appelé c-erbB2 ou HER2/neu. Il est situé sur le chromosome 17q21 (Figure 1). Il code pour la protéine HER2 de 185kDa. Il existe 2 copies du gène par cellule mais son expression est variable d'un tissu à l'autre. Aucun ligand n'a encore été identifié pour HER2 (**Gullick et al., 1987**).

2-2 Dimérisation de HER2

HER2 existe sous forme d'hétérodimères avec un autre membre de la famille des récepteurs HER tyrosine kinase. Cette dimérisation nécessite l'action d'un ligand spécifique. Ainsi l'action de l'EGF conduira à la formation d'un hétérodimère HER1/HER2. La liaison des neurégulines spécifiques de HER3 et 4 formera des dimères HER3/HER2 ou HER4/HER2 (figure 2).

Ces dimères présentent une grande affinité au ligand dont le monomère n'est autre que HER2. Cette liaison entraîne une émission très forte de signaux dans la cellule. HER2 se comporte donc comme un amplificateur des signaux de croissance cellulaire des récepteurs erbb. Ainsi, son rôle est bien établi dans la cancérogenèse par un mécanisme d'amplification de la croissance cellulaire.

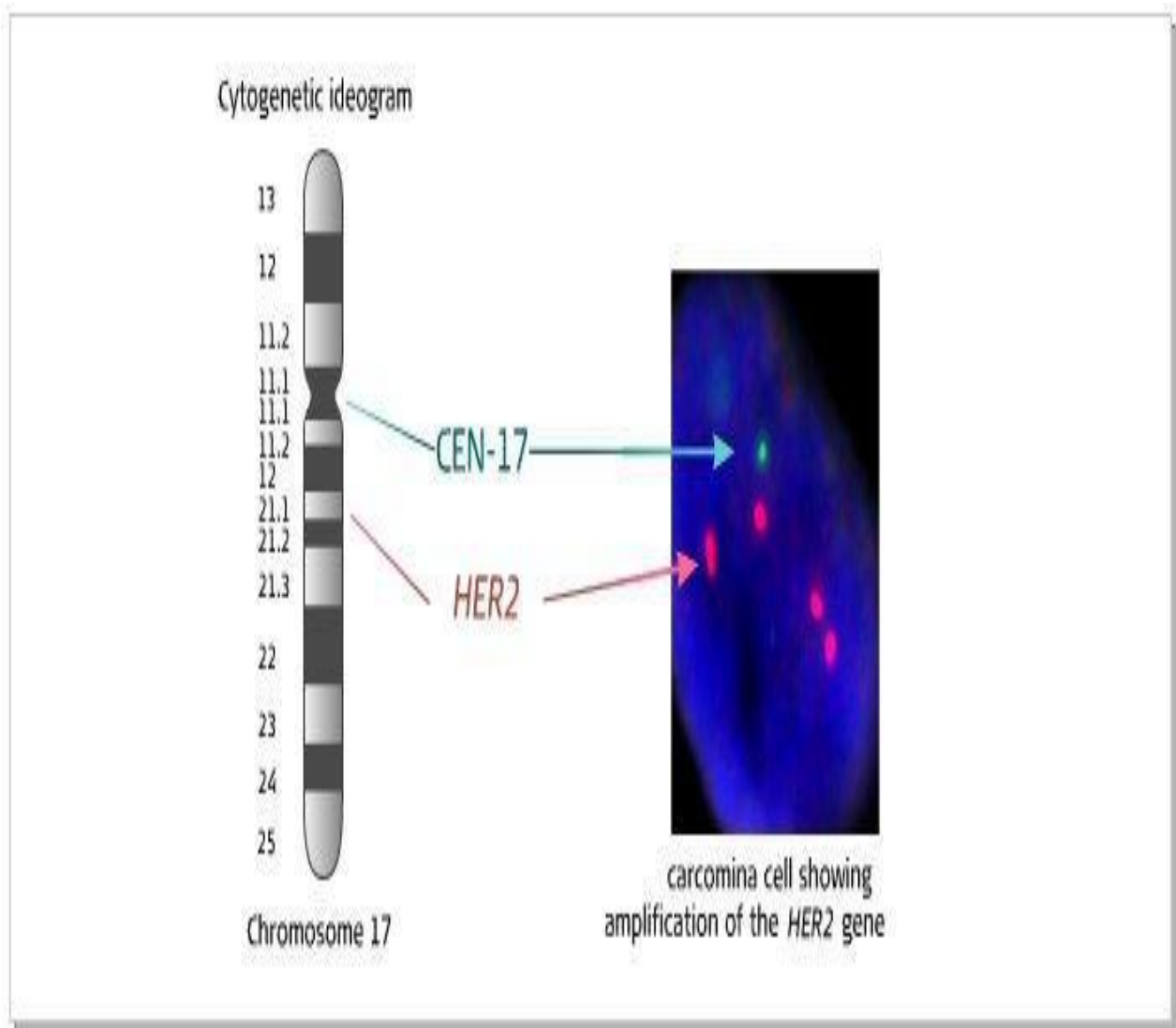


Figure 1 : Localisation du gène codant pour le récepteur HER2 sur le chromosome 17 (Watter AD et al. 2003)

2-3 Mécanismes d'activation de HER2

Les récepteurs de la famille HER sont activés après la fixation de ligand entraînant l'homo ou l'hétérodimérisation. Il existe des interactions directes entre les récepteurs dimérisés misent en avant par la boucle de dimérisation formée dans le domaine II. La structure de l'EGFR (HER1), de HER3 et de HER4 inactifs est caractérisée par les interactions intramoléculaires entre les domaines II et IV qui maintiennent les domaines de fixation du ligand en conformation fermée (ou auto-inhibée). Cependant, dans le cas du récepteur HER2 la même caractéristique n'est pas observée. En effet, le domaine extracellulaire de HER2 adopte une conformation ouverte similaire à celle des autres récepteurs HER activés par la fixation du ligand. Dans cette conformation ouverte, les interactions fortes entre les domaines I et III ne permettent aucune liaison du ligand, ce qui peut expliquer l'absence d'affinité de HER2 pour un ligand. HER2 se trouve donc dans une conformation favorable à la dimérisation (**Marmor et al., 2004**). En ayant une conformation ouverte, HER2 est capable d'interagir avec les autres récepteurs HER expliquant ainsi son rôle de co-récepteur avec les autres récepteurs HER en absence de liaison directe avec le ligand. En effet, HER2 est le partenaire favori pour l'hétérodimérisation avec les autres récepteurs HER. Les hétérodimères contenant le récepteur HER2 ont des caractéristiques particulières, comme une endocytose plus lente qui induit alors un signal plus prolongé et plus puissant, ce qui permet une prolifération cellulaire plus importante (**Graus-Porta et al., 1997**). (Figure 3).

2-4 Rôle physiologique du récepteur HER2

Au niveau cellulaire, les voies de signalisation activées par les récepteurs HER participent à la prolifération, la migration et la différenciation de plusieurs types cellulaires. Ils ont aussi un effet anti-apoptotique. HER2 est présent dans différents organes y compris le cœur, le système nerveux, les glandes mammaires ainsi que des épithéliums en générale. Cela peut expliquer les effets indésirables des thérapies ciblant ces récepteurs **(Casalini et al., 2004)**.

2-5 Dérégulation de HER2 dans les cancers

La mutation d'une valine en acide glutamique dans le domaine extracellulaire provoque l'activation du récepteur HER2 et l'acquisition d'un pouvoir oncogénique en favorisant probablement son oligomérisation. Des mutations dans le domaine tyrosine kinase de HER2 ont été identifiées dans un petit nombre de cancer des bronches non à petites cellules. L'amplification génique de HER2 conduit à sa surexpression à la surface cellulaire **(Weiner et al., 1989)**.

Des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré le rôle de HER2 dans la prolifération cellulaire, la transformation maligne de lignées en culture et la mobilité cellulaire intervenant dans le potentiel métastatique **(Andersen et al., 1995)**. L'amplification et l'hyperexpression du gène sont en cause dans le processus de transformation cancéreuse. On parle d'amplification avec un nombre de copie du gène supérieur à 5 ou 10 fois. Cette amplification entraîne une augmentation de la production d'ARNm et une synthèse accrue de la protéine HER2. A la surface des cellules, le nombre de HER2 est alors multiplié par 100 et la forme homodimérique HER2- HER2 prédomine. Celle-ci induit une dérégulation du cycle cellulaire pouvant amener à la cancérisation de la cellule. L'amplification et la surexpression de HER2

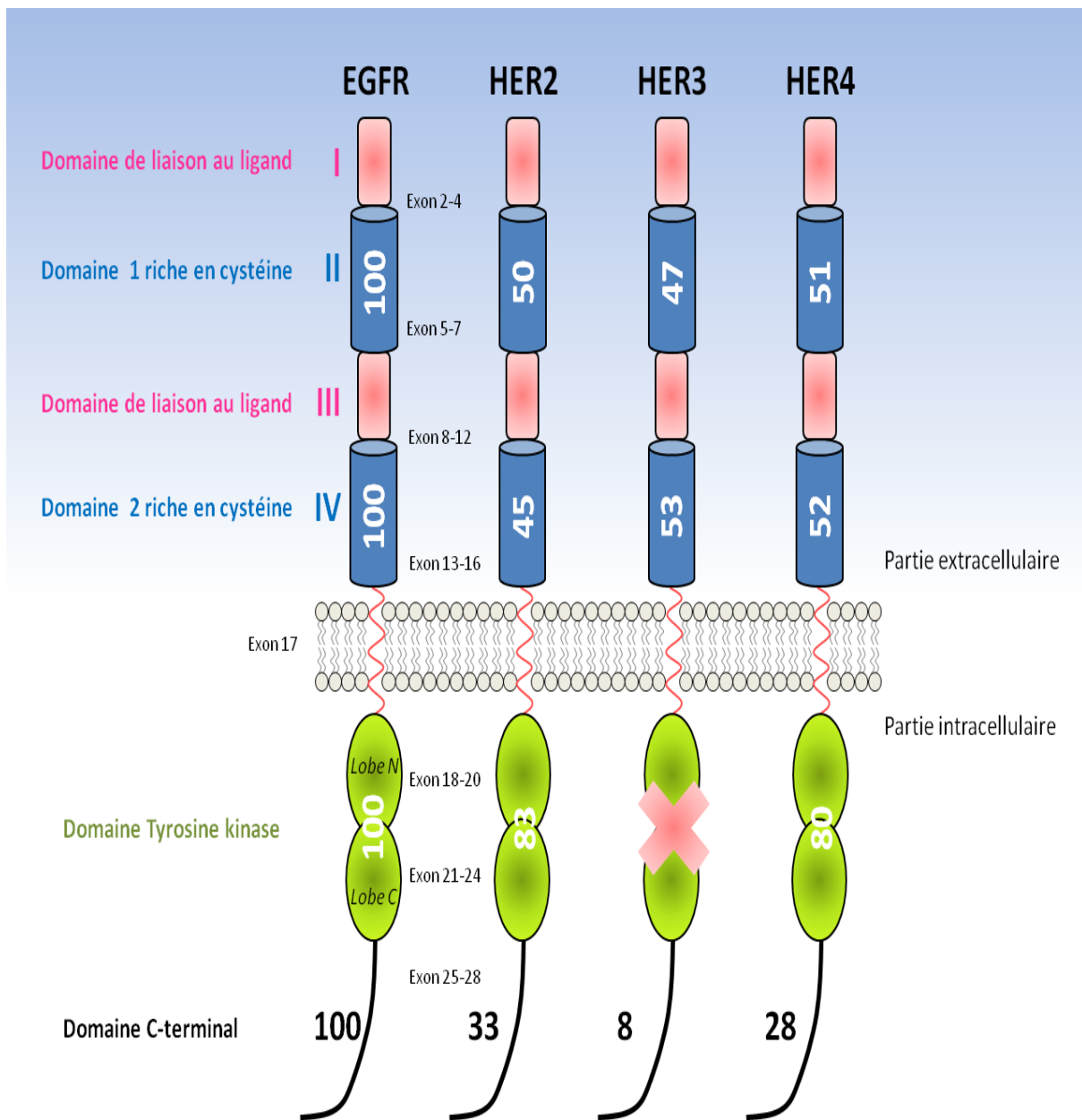


Figure 2: Représentation schématique des récepteurs de la famille HER (Mitsudomi T et al. 2010 ; Harari PM et al. 2004)

ont été retrouvées dans de nombreux cancers chez l'homme. Les localisations retrouvées sont le sein, les ovaires, l'endomètre, le col de l'utérus, les poumons, le colon, les tissus mous, l'oesophage, la vessie, le rein, le pancréas, les glandes salivaires, et la thyroïde (**Molina et al., 1996**).

2-6 Surexpression de HER2 dans le cancer du sein

La surexpression de HER2 joue un rôle dans la carcinogenèse et la progression du cancer du sein. Elle apparaît tôt et reste stable durant l'histoire naturelle de la maladie (**Dansereau et al., 2006**). Dans les tissus mammaires sains, on compte environ 20000 récepteurs HER2 par cellule. Dans les cancers de sein présentant une amplification du gène HER2, on dénombre jusqu'à 100 fois plus de récepteurs par cellule (**Manne et al., 2004**). (Figure 4).

La surexpression de HER2, est rapportée dans approximativement 30% des cancers mammaires invasifs (**Perez et al., 1999**) mais aussi dans 60 à 70% des carcinomes canalaire in situ, principalement peu différenciés, de haut grade histologique, de type comédocarcinome (**Moreno et al., 1997**).

Des études de la famille des EGFR dans des modèles du cancer du sein ont montré que HER2 est le récepteur de la famille des EGFR le plus largement exprimé dans la cellule mammaire et que dans le cancer du sein, l'hétérodimère le plus représenté est HER2/HER3 (**Ménard et al., 2000**).

Plusieurs études ont montré que la présence d'une surexpression et/ou d'une amplification de HER2 dans les cancers du sein est un signe de mauvais pronostic. En effet, les tumeurs qui surexpriment initialement HER2 sont plus agressives, douées d'un potentiel métastatique plus important et sont moins sensibles aux traitements hormonaux et/ou à la chimiothérapie. Dans le cancer du sein de nombreux facteurs de mauvais pronostic ont ainsi été mis en évidence. La taille importante de la tumeur initiale, l'invasion ganglionnaire, la présence dès le diagnostic

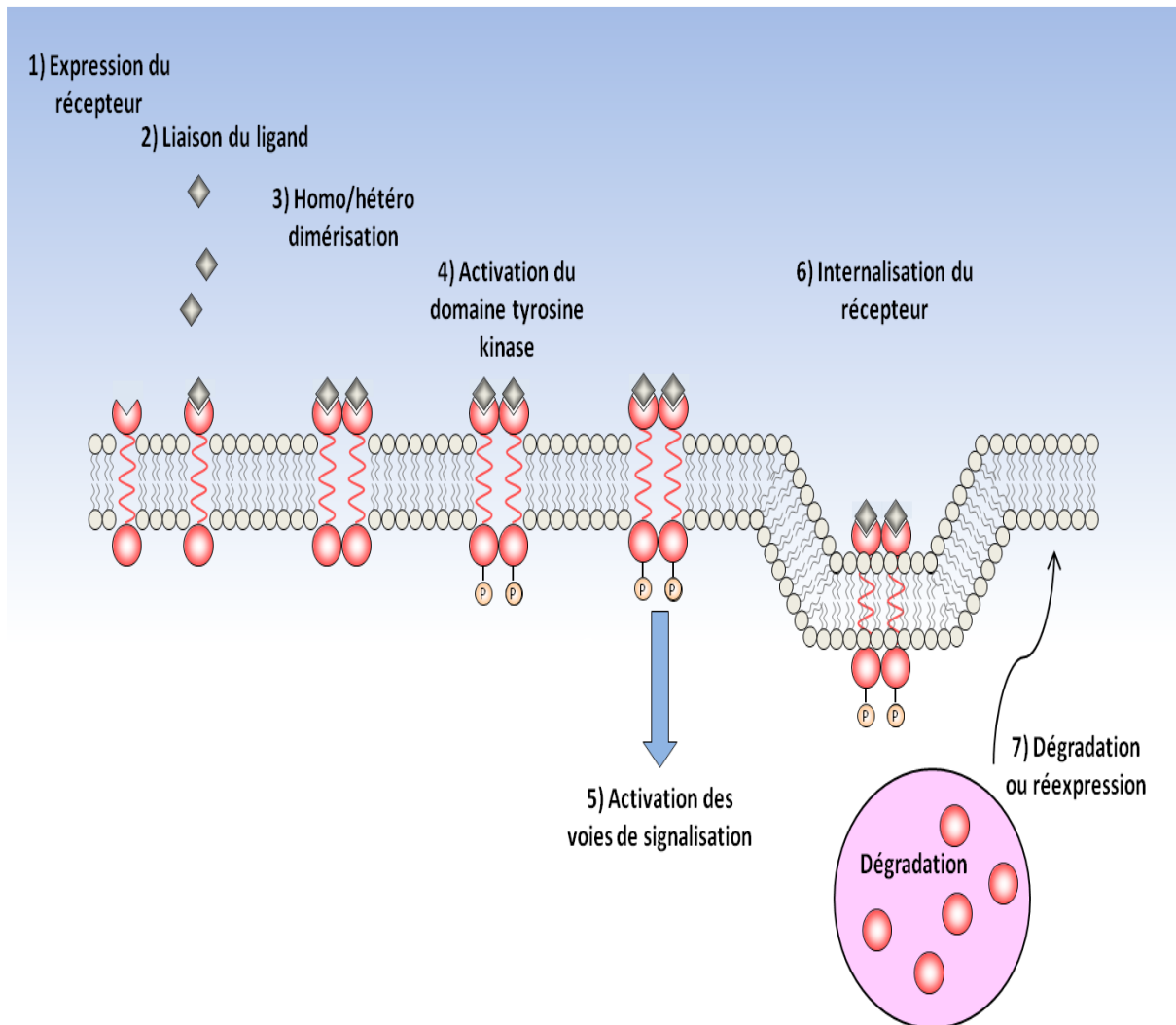


Figure 3: Illustration du processus multi-étapes de la transduction du signal régulée par les récepteurs HER (Capdevila J et al. 2009)

initial de métastases, un haut grade histologique, l'absence de récepteurs hormonaux ou encore le jeune âge de la patiente (< 35 ans au diagnostic) en font partie. HER2 est corrélé statistiquement à tous ces facteurs **(Scholl, 2001)**. (Figure 5).

2-7 Voies de signalisation activées par HER2

En plus de leur rôle dans le contrôle de l'activité tyrosine kinase, l'autophosphorylation des tyrosines des récepteurs HER est importante pour le recrutement et l'activation de nombreux effecteurs. Les effecteurs interagissent avec les récepteurs HER grâce à leurs domaines SH2 (Src Homology 2) qui lient les sites d'autophosphorylation des tyrosines des récepteurs HER. Après le recrutement des effecteurs, différentes voies de signalisation peuvent être initiées. Les différentes protéines recrutées peuvent être des protéines adaptatrices comme Shc (Src Homology C-terminal), Grb2 (Growth factor receptor-bound protein2), ou des kinases comme PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase), Src (Sarcoma) **(Olayioye et al., 2000)**.

Les principales voies de signalisation induites par les récepteurs HER sont: La voie Ras/MAPK (Rat Sarcoma/ Mitogen-activated protein kinases) et la voie des phosphoinositide 3 kinase (PI3K). Les récepteurs HER initient également des voies de signalisation qui impliquent la PLC γ (phospholipase C γ), des GTPases, des isoformes de STAT, des protéines G hétérodimériques, la PLD (Phospholipase D) et la tyrosine kinase cytoplasmique Src.

- La voie Ras/MAPK est une voie importante qui régule la prolifération cellulaire et la survie. Le complexe formé par la protéine adaptatrice Grb2 et Sos (Son of Sevenless) lie soit directement le récepteur ou soit par association avec la protéine adaptatrice Shc.

- La voie PI3K est impliquée dans la croissance cellulaire, la résistance à l'apoptose, l'invasion et la migration cellulaire (**Scaltriti and Baselga, 2006; Vivanco and Sawyers, 2002**). Le principal mécanisme qui conduit à l'activation de la PI3K dépendante de l'EGFR est la dimérisation du récepteur avec HER3. En effet, les sites d'ancrage pour la sous-unité régulatrice p85 de la PI3K sont absents sur l'EGFR, tandis qu'au contraire les sites d'ancrage pour la p85 sont abondants sur HER3 (**Prigent and Gullick., 1994**). La sous-unité p85 peut interagir avec l'EGFR via la protéine Gab1 (associated binding protein1) (**Mattoon et al., 2004**).

- La voie des STAT : les protéines STAT interagissent avec les résidus phosphotyrosines via leurs domaines SH2. Une fois activées, ces protéines vont se dimériser et vont alors se transloquer au noyau pour permettre l'expression de gènes cibles spécifiques (**Haura et al., 2005**).

- La kinase Src : Src est le membre prototype d'une famille de neuf gènes de tyrosines kinases non récepteurs qui joue un rôle critique dans la régulation de la prolifération cellulaire, la migration, l'adhésion cellulaire, l'angiogénèse et la **fonction immune** (**Summy and Gallick, 2006; Yeatman, 2004**). La kinase Src, qui est localisée dans le cytosol, active une série de substrats tels que la FAK (Focal Adhesion Kinase), la PI3K et les STAT (**Summy and Gallick, 2006; Yeatman, 2004**). L'interaction entre l'EGFR et la kinase Src est complexe. La kinase Src peut être impliquée dans la résistance des thérapies via une interaction indépendante ou une association avec d'autres récepteurs.

-La phospholipase C γ (PLC γ) hydrolyse le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate pour donner du inositol 1,3,5 trisphosphate et du diacylglycérol. Le inositol 1,3,5 trisphosphate est

important pour le relargage du calcium intracellulaire et le diacylglycérol permet l'activation de la protéine kinase C (**Patterson et al., 2005; Scaltriti and Baselga, 2006**).

L'activation de la protéine kinase C peut mener à l'activation des MAPK et des JNK (c-Jun NH2 terminal kinase) (**Schonwasser et al., 1998**). La PLC γ 1 est l'isoforme de la PLC γ qui peut interagir directement avec l'EGFR (**Chattopadhyay et al., 1999**). Mais en 2005, Schulze et al n'ont pas réussi à mettre en évidence l'interaction de PLC γ 1 avec l'EGFR (**Schulze et al., 2005**). De même, ils n'ont pas réussi à mettre en évidence la liaison de SHP1 (Src homology region1-domain phosphatase 1) sur l'EGFR ou de la kinase Chk (C-terminal Src Kinase-homologous Kinase) sur HER2 ou également de la protéine Grb7 (Growth factor receptor-bound protein 2) sur HER3. L'interaction de ces protéines avec les récepteurs HER a pourtant été mise en évidence par d'autres études. Les résultats négatifs obtenus par Schulze et al peuvent s'expliquer par le fait que les liaisons de PLC γ , de Grb7, de SHP1 et de Chk sur les récepteurs sont des liaisons de faible affinité. De plus, il est possible que les différences d'interaction des protéines avec les récepteurs soient dues au type cellulaire utilisé et ainsi qu'au niveau d'expression des protéines (**Schulze et al., 2005**). (Figure 6).

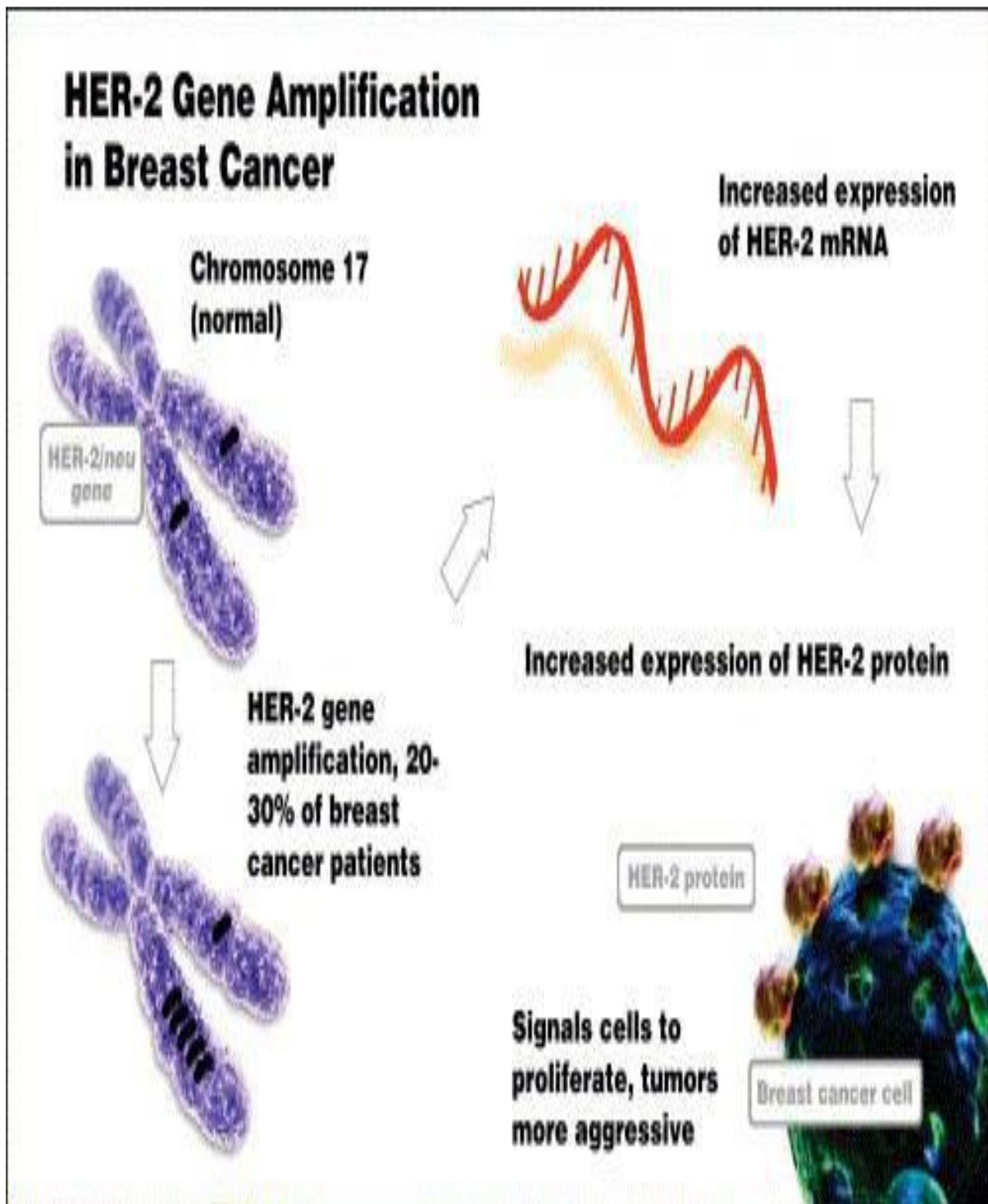


Figure 4: Surexpression du récepteur HER2 due a une amplification génique (Lahzaoui T. 2013)

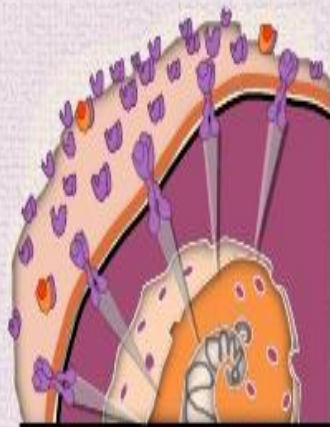
2-8 La voie JAK/STAT activée par HER

La voie JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) est principalement activée par les récepteurs des cytokines. Cependant, les kinases JAK possèdent un domaine SH2, et sont capables de reconnaître les phosphotyrosines de récepteurs à activité tyrosine kinase. La famille de tyrosine kinases JAK est composée de quatre protéines chez les mammifères : JAK1, JAK2, JAK3 et Tyk2 (tyrosine kinase 2). Les JAK sont activées suite à la fixation d'un ligand sur le récepteur, aboutissant à la phosphorylation des facteurs de transcription STAT et à la régulation transcriptionnelle de gènes cibles. Quand elles ne sont pas activées, la majorité des protéines STATs existe sous forme non phosphorylée dans le cytoplasme de la cellule (**Espert et al., 2005**). Le changement conformationnel induit par la liaison du ligand sur le récepteur EGFR ou PDGFR (platelet derived growth factor receptor) permet l'activation des membres de la famille kinase JAK associés au récepteur. Les JAKs, à leur tour, phosphorylent des résidus tyrosines spécifiques du récepteur qui servent alors de sites d'amarrage (docking site) pour les protéines STAT. Une fois recrutées, les protéines STAT sont activées par phosphorylation par les protéines JAK (**Kisseleva et al., 2002**) sur un seul résidu tyrosine. Cette phosphorylation favorise leur dissociation du récepteur, leur translocation nucléaire sous forme d'homo ou d'hétérodimères. Ces facteurs se lient directement ou indirectement à des séquences consensus présentes dans le promoteur de leurs gènes cibles activant ainsi la transcription. Les gènes cibles des facteurs de transcription de STAT sont nombreux. STAT3 est fortement impliquée dans la prolifération cellulaire avec des gènes cibles codant pour les protéines Bcl-2 (B-cell lymphoma gene 2), les cyclines D, des facteurs de croissance comme le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), des facteurs de transcription comme c-Myc (MyeloCytomatosis oncogene) (**Robert., 2010**). (Figure 7).

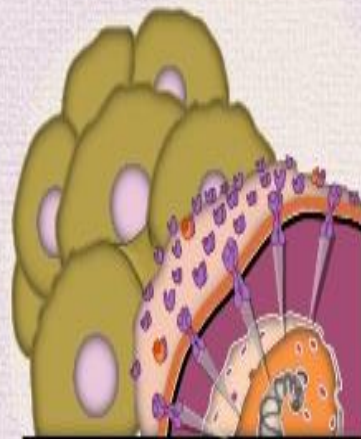
HER2 Overexpression in Breast Cancer



Normal (1x)
~ 25,000-50,000 HER2
receptors



Overexpressed
HER2 (10-100x)
up to ~ 2,000,000
HER2 receptors



Excessive cellular division

HER2 is overexpressed in
~ 25% of breast cancers

Pegram MD, et al. Cancer Treat Res. 2000;103:57-75.

Ross JS, et al. Am J Clin Pathol. 1999;112(suppl 1):S53-S71.

Slamon DJ, et al. Science. 1987;235:177-182.

Figure 5 : Surexpression de HER2 dans le cancer du sein. (Pegram MD et al. 2000 ; Ross JS et al. 1999 ; Slamon DJ et al. 1987)

2-9 Mise en évidence de HER2

Le statut HER2 des tumeurs mammaires est maintenant un test de routine demandé aux pathologistes. Les méthodes de détermination du statut HER2 sont l'immunohistochimie (IHC) et la méthode de fluorescence in situ (FISH). Nous utilisons un algorithme appliqué dans la plupart des pays européens pour le statut HER2, avec en premier lieu l'analyse en immunohistochimie et, dans un deuxième temps, si nécessaire, l'analyse par FISH.

- a) Immunohistochimie : la recherche de la surexpression du gène HER2 par immunohistochimie s'effectue avec mise en évidence de la protéine à l'aide d'un anticorps spécifique anti-HER2 (Herceptest, Dako, approuvé FDA). Par rapport au test FISH, le test IHC présente les avantages suivants : facilité, rapidité d'emploi, coût avantageux. Le test IHC détecte directement la surexpression de la protéine HER2. Les résultats obtenus sont classés comme négatifs (score 0 et 1+), faiblement positifs (score 2+) et fortement positifs (score 3+). L'intensité 3+ est considérée comme positive. Les tests 2+ doivent être analysés par FISH (20 % des spécimens ayant un score 2+ montrent une réelle amplification par FISH) (**Burstein et al., 2005**).
- b) FISH (Fluorescent In Situ Hybridation): Le principe du test FISH (Abbott, Vysis) est celui d'une hybridation de l'ADN du patient avec une sonde ADN fluorescente reconnaissant le gène HER2 et une deuxième sonde ADN reconnaissant le centromère du chromosome 17 (le gène HER2 est situé sur le chromosome 17q21-q22). L'énumération des signaux émis par les 2 sondes (HER2 et centromère 17) s'effectue en examinant les noyaux de la tumeur au microscope et permet d'obtenir un ratio du nombre de copies du gène HER2 par rapport à celui du chromosome 17. Un ratio supérieur à 2 est considéré comme positif (**Burstein et al., 2005**).

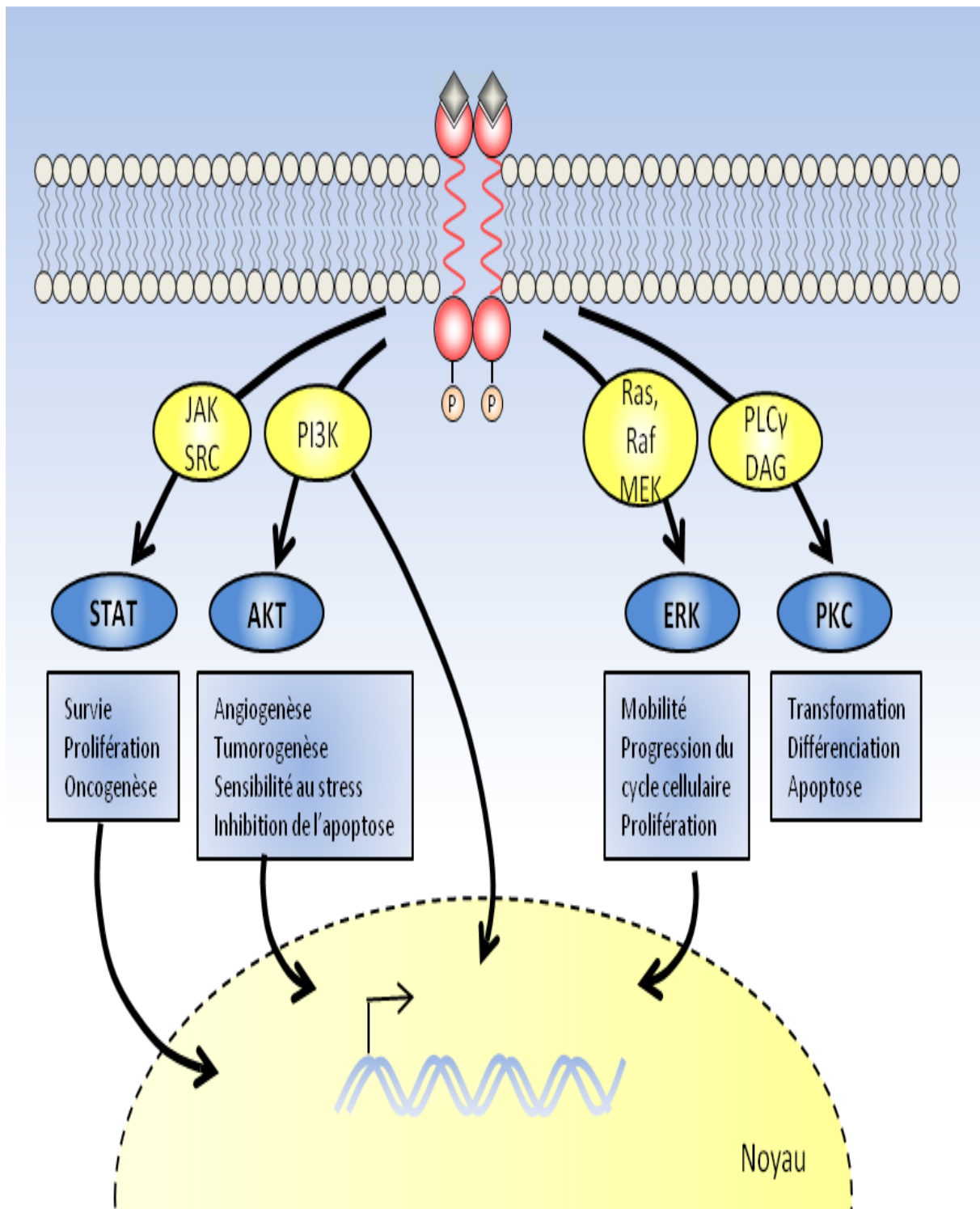


Figure 6: Représentation schématique des principales voies de signalisation régulées par HER2 (Nyati MK et al. 2006)

2-10 Thérapie ciblée anti HER2

Depuis quelques années, les femmes avec un cancer métastatique montrant une amplification du gène *HER2* peuvent bénéficier d'un traitement qui associe une nouvelle molécule, le trastuzumab (Herceptin, Roche) à une chimiothérapie classique. Cette association trastuzumab-chimiothérapie permet d'améliorer la survie globale chez ces femmes. Des études récentes viennent de démontrer la valeur de cette molécule dans les traitements adjuvants après cancer du sein localisé, avec une diminution significative du risque de récurrence en association avec la chimiothérapie adjuvante. L'Herceptin est un anticorps monoclonal, murin, humanisé, dirigé contre le domaine extracellulaire de la protéine HER2. Cet anticorps est donc conçu pour cibler et bloquer le fonctionnement de la protéine HER2 (**Hortobagyi et al., 2005**) (Figure 8).

Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3)

3-1 Présentation générale des facteurs STAT3

La compréhension des mécanismes liés à la tumorigenèse a permis de mettre en évidence de nombreuses protéines impliquées dans ces processus. Parmi ces protéines, on trouve des facteurs de transcription qui vont par leur activité induire la surexpression ou l'inhibition de gènes nécessaires aux différentes étapes de la tumorigenèse. Ce travail porte sur le rôle du facteur de transcription STAT3 dans les mécanismes de résistance aux traitements. Cette protéine joue un rôle essentiel dans la régulation des gènes impliqués dans la prolifération, la survie et la différenciation. Elle est activée de manière constitutive dans la plupart des tumeurs (**Bromberg et al., 2002**).

3-2 Famille des facteurs de transcription STATs

Les protéines STATs (Signal Transducer and Activator of Transcription) font parties d'une famille de facteurs de transcription de 750 à 850 acides aminés dont sept membres ont été identifiés pour le moment : STAT1, 2, 3, 4, 5A, 5B et 6. En se fixant sur le promoteur de ses gènes cibles, STAT3 régule la prolifération cellulaire, l'entrée en phase S du cycle par l'activation de la transcription de la cycline D1 et de c-myc (**Bromberg et al., 2002**) mais aussi la survie cellulaire (Bcl-xl : B-cell lymphoma gene xl et Bcl2), l'angiogénèse, la mobilité cellulaire et l'embryogénèse. STAT3 est aussi impliquée dans le développement tumoral. STAT3 est activée de manière constitutive dans de nombreuses tumeurs et constitue une cible privilégiée d'oncogènes comme Src (**Bromberg et al., 1998**), oncogène fortement activé dans le cancer colorectal (**Yeatman., 2004**).

3-3 Structure et domaines fonctionnels du facteur STAT3

Le gène codant pour la protéine STAT3 est localisé sur le chromosome 17, chromosome portant deux autres membres de la famille STAT5a et STAT5b (**Darnell et al., 1994**). Comme tous les facteurs de transcription, ces protéines possèdent plusieurs domaines fonctionnels cruciaux à leur fonctionnement. Trois domaines sont importants. Le domaine de liaison à l'ADN est situé entre les acides aminés 320 et 480. Les arginines 414-417 permettent l'interaction de STAT3 avec l'ADN suite à la dimérisation du facteur de transcription (**Ma et al., 2003**). Le second domaine fonctionnel important est le domaine SH2 qui forme une poche à la surface de la protéine capable de lier les tyrosines phosphorylées. Ce domaine est impliqué dans la liaison aux récepteurs membranaires, la dimérisation et par conséquent la translocation nucléaire de STAT3 (**Finbloom et al., 1995**). Le dernier domaine important de la protéine est le domaine C-terminal qui est nécessaire à l'activité transcriptionnelle de STAT3. Ce domaine contient 3 résidus importants. La lysine 685, acétylée par les histones acétyltransférases CBP/p300, stabilise le dimère et la liaison à l'ADN de STAT3. La phosphorylation de la tyrosine 705 permet quant à elle la formation du dimère de deux protéines STAT3 et leur activation. Finalement la phosphorylation de la sérine 727 possède un double rôle. La phosphorylation précoce de ce résidu bloque l'association de STAT3 avec les récepteurs membranaires et la phosphorylation de la tyrosine 705 (**Zhang et al., 2000**).

A l'inverse, la phosphorylation de la sérine 727 au sein du noyau est nécessaire à l'activité transcriptionnelle de STAT3 impliquant peut-être le recrutement de coactivateurs tel que l'histone acétyltransférase CBP (**Zhao et al., 2004**). (Figure 9).

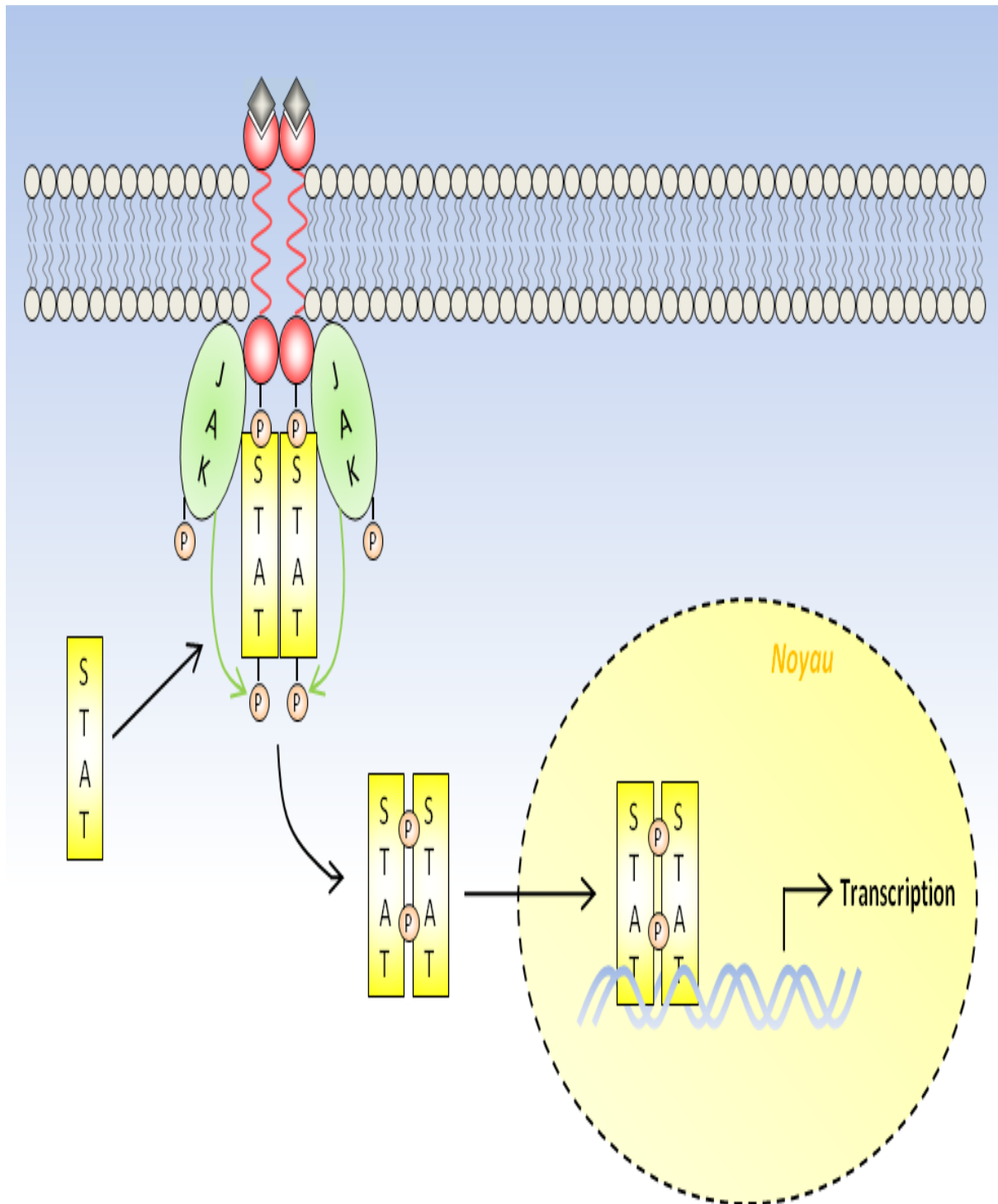


Figure 7: Représentation schématique de la voie JAK/STAT
(Robert J. 2010)

3-4 Mécanismes d'activation du facteur STAT3

Historiquement, STAT3 était un facteur cytoplasmique activé en réponse aux cytokines, notamment celle de la famille de l'Interleukine 6 (IL-6). L'activation du récepteur à l'IL-6 induit l'activation des kinases JAKs. Ces kinases phosphorylent la protéine gp130, chaîne transductrice du signal transmis par le récepteur à l'IL-6, pour permettre le recrutement de STAT3 au niveau du récepteur. STAT3 est alors phosphorylé à son tour par les kinases JAK au niveau de la tyrosine 705, ce qui induit la dimérisation de STAT3 et sa translocation dans le noyau. Cette forme dimérisée de STAT3 est nécessaire à la rétention du facteur de transcription au sein du noyau et surtout à sa liaison à l'ADN (**Finbloom et al., 1995**).

Le mode d'activation décrit ci dessus est le modèle classique. Cependant, des travaux récents ont modifié quelque peu cette vision. Les facteurs de transcription STAT3 sont capables de se dimériser en absence de phosphorylation, et ces facteurs peuvent activer la transcription de certains gènes, notamment des gènes différents de ceux activés par les formes phosphorylées de STAT3. Des formes monomériques de STAT3 peuvent également être importées au sein du noyau via une interaction avec l'importine $\alpha 5$. On ne connaît pas la fonction de ces monomères, mais il est possible que l'ADN soit capable de favoriser l'association de deux monomères entre eux au niveau des sites de liaison à STAT3, en absence de phosphorylation de la tyrosine 705 (**Yang et al., 2005**).

3-5 Rôle physiologique de STAT3 et gènes cibles

STAT3 est impliqué dans la prolifération cellulaire et régule l'autorenouvellement des cellules souches hématopoïétiques **(Chung et al., 2006)**, au niveau de la moelle osseuse et de la rate, et les progéniteurs précoces des lignées érythroïdes, myéloïde et lymphoïde surtout au niveau de la rate **(Akira et al., 2000)**. En absence d'activation de STAT3, les 3 compartiments érythroïdes, myéloïdes et lymphoïde présentent un nombre réduit de cellules matures induisant une anémie et un déficit immunitaire important **(Betz et al., 1998)**. STAT3 active aussi la prolifération des cellules immunitaires au cours de l'inflammation. Finalement STAT3 régule l'homéostasie des épithéliums en participant notamment à la régénération hépatique et à la cicatrisation **(Sano et al., 1999 ; Taub et al., 2004)**.

3-6 Implication de STAT3 dans la tumorigenèse

En dehors du système hématopoïétique, STAT3 est activé dans différents carcinomes de la tête et du cou, du pancréas, de l'œsophage, des poumons, du foie et du colon **(Bromberg et al., 2002)**. L'induction de cancer de la peau chez la souris par un traitement au diméthylbenzanthracène (DMBA) a montré que STAT3 est activé de manière extrêmement précoce lors de la formation de ces tumeurs (au stade dysplasique) et permet la formation de tumeurs bénignes (papillome) précurseur de carcinome beaucoup moins bénin **(Chan et al., 2004)**. L'inactivation de STAT3 inhibe complètement la formation des papillomes et STAT3 est également impliqué dans leur transformation en carcinome. Finalement l'inhibition de STAT3 au sein des tumeurs établies induit leur régression. Dans un autre modèle murin, l'activation constitutive de STAT3 par un récepteur gp130 muté induit le développement d'adénome gastrique dans 100% des souris étudiées **(Jenkins et al., 2005)**.

L'inflammation chronique des tissus participe également à l'activation de STAT3 via l'activation des récepteurs à l'IL-6 et est une cause fréquente de la tumorigenèse (**Scheller et al., 2006**). Cette inflammation peut-être environnementale (fumée de cigarettes pour les poumons, alcool pour le foie par exemple) ou dû à une dérégulation du système immunitaire maladie de Crohn pour le colon. Des souris présentant une inactivation de SOCS-1 (suppressor of cytokine signalling1), un inhibiteur de STAT3 impliqué dans le rétrocontrôle de l'inflammation, développent ainsi naturellement des tumeurs coliques (**Hanada et al., 2006**). (Figure 10).

3-7 Récepteurs activateurs de STAT3

STAT3 peut-être activé de manière constitutive par différents récepteurs tyrosine kinase (RTK : receptor tyrosine kinase) ou de simple tyrosine kinase (NRTK : Non receptor tyrosine kinase). Parmi ces récepteur, on trouve les récepteurs PDGFR et EGFR par exemple (**Cramer et al., 2005**). Des formes mutées de l'EGFR permettent la transformation de fibroblastes et la formation de tumeurs chez les souris inoculées par ces cellules. L'inhibition de STAT3 empêche totalement la transformation de ces fibroblastes. Parmi les NRTK, on trouve les protéines JAKs, ainsi que plusieurs protéines kinase de la famille des kinases Src tel que c-Src. (**Xi et al., 2003**).

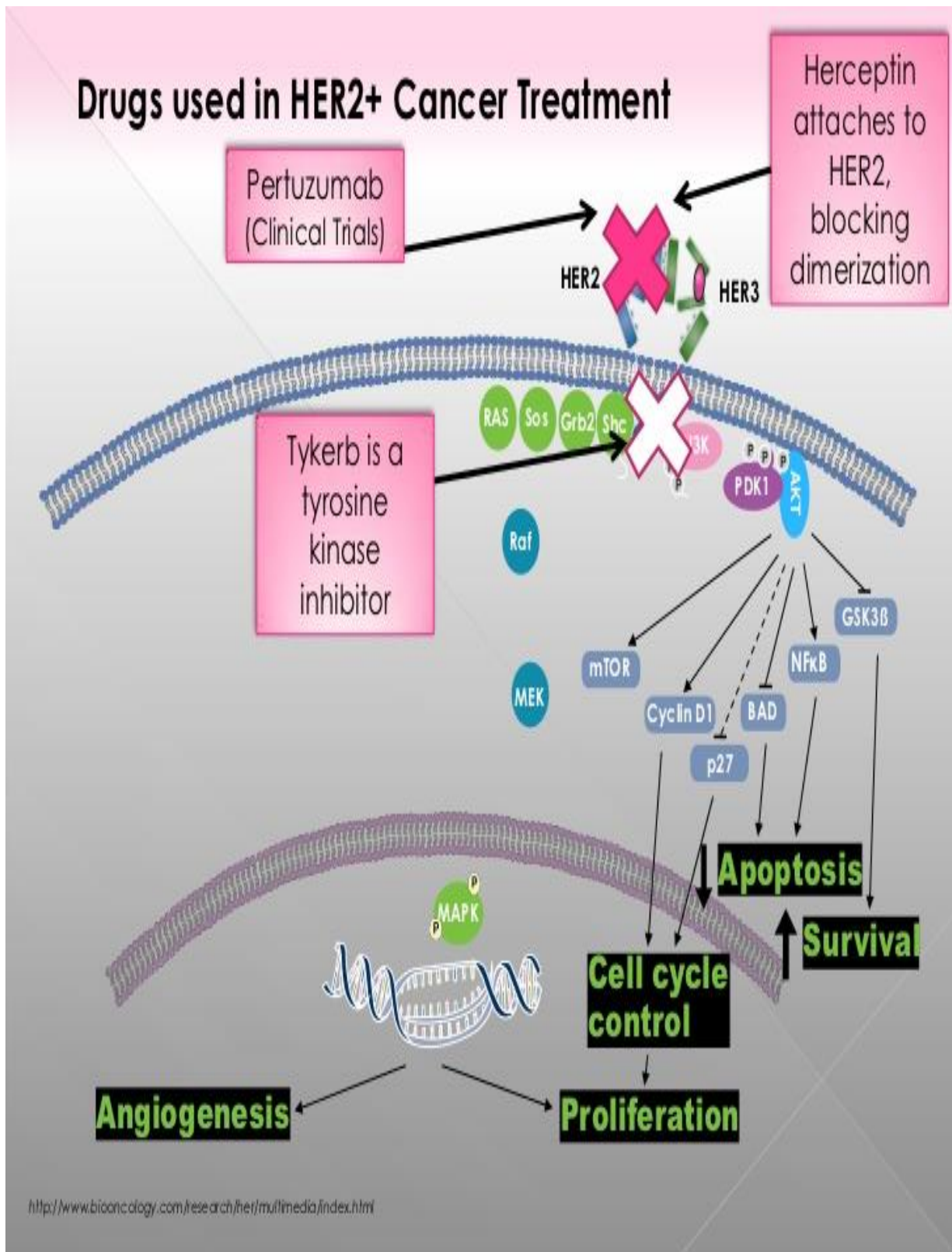


Figure 8 : Mécanismes d'action du trastuzumab (Herceptin) sur HER2 (Hortobagyi GN. 2005)

3-8 Activation de STAT3 dans le cancer du sein HER2 positif

L'activation de STAT3 (pSTAT3) est retrouvée dans approximativement 50% des cancers du sein, accompagnée souvent d'une invasion lympho-vasculaire et une infiltration ganglionnaire (**Chang et al., 2013 ; Sonnenblick et al., 2013**). En outre, STAT3 a été montré comme modulateur de la suppression immunitaire par inhibition de l'expression de cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines nécessaires pour l'activation des cellules immunitaires (**Yu et al., 2009**). Le rôle de pSTAT3 comme un régulateur négatif des réponses immunitaires anti-tumorales à médiation cellulaire et comme un pilote oncogénique conduit à l'hypothèse que l'expression pSTAT3 pourrait être un prédicteur de la résistance à la thérapie de trastuzumab chez les patientes atteintes de cancer du sein HER2-positif (**Béguelin et al., 2010**).

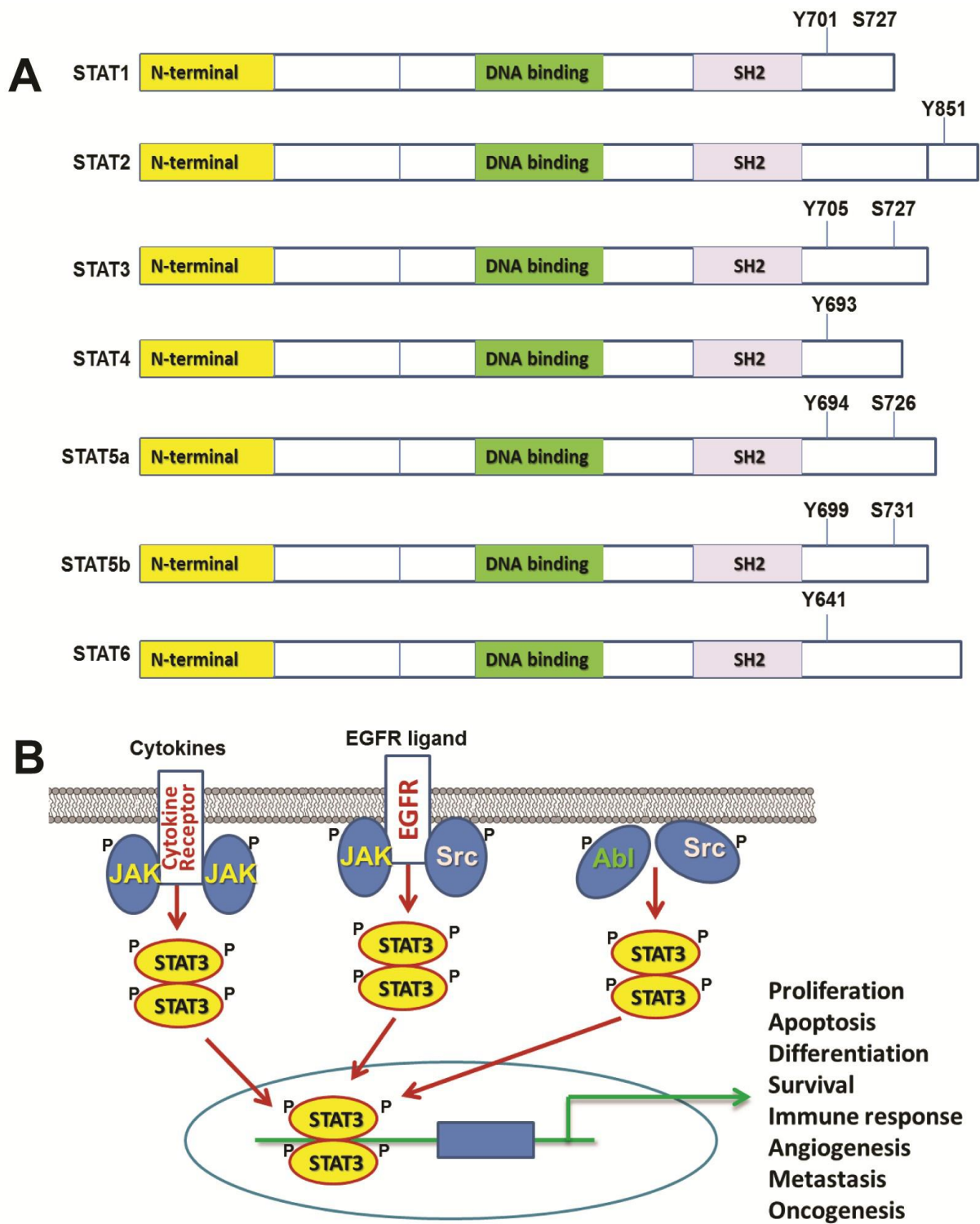


Figure 9 : La famille des facteurs de transcription STAT et voie de signalisation STAT3. (A) Structure et domaines fonctionnels pour STAT1-6. (B) la voie de signalisation STAT3 et ses signaux d'activation intracellulaires et extracellulaires (Xiong A et al. 2014)

3-9 Implication de STAT3 dans la résistance au trastuzumab

Le trastuzumab est un traitement remarquablement efficace pour les patientes atteintes de cancers du sein HER2-positif, à la fois dans le cancer métastatique et primitif (**Joensuu et al., 2006 ; Piccart-Gebhart et al., 2005**). Cependant, une catégorie de patientes ayant des tumeurs exprimant des niveaux élevés de HER2 ne répondent pas au trastuzumab. Plusieurs mécanismes potentiels pouvant expliquer ce phénomène de résistance au trastuzumab ont été proposées, y compris la perte de PTEN (Phosphatase and tensin deleted on chromosome 10), la signalisation excessive par le récepteur de facteur de croissance de l'insuline-like factor-I, ou l'expression de p95HER2, une forme tronquée du récepteur HER2 qui a une activité kinase, mais qui ne présente pas de domaine de liaison extracellulaire au trastuzumab (**Hudis et al., 2007 ; Nahta et al., 2007**).

STAT3 semble être un point de convergence de nombreuses voies de signalisation oncogéniques (**Levy et al., 2002**). En effet, l'activation constitutive de STAT3 a souvent été détectée dans des lignées diverses de cellules cancéreuses humaines, y compris dans les cancers du sein (**Levy et al., 2002**). De nombreuses études ont suggéré que les protéines STAT pourraient participer dans l'oncogénèse par la régulation positive des gènes qui codent des inhibiteurs de l'apoptose (Bcl-xl), les régulateurs du cycle cellulaire (cyclines D1 / D2, c-Myc), et les inducteurs de l'angiogénèse (VEGF) (**Sinibaldi et al., 2000 ; Niu et al., 2002**). En outre, STAT3 a également été montré jouant un rôle dans la pathogénèse du cancer du sein à travers ses effets positifs sur l'invasion, l'expansion des cellules souches, et la modulation de l'environnement (**Chang et al., 2013**).

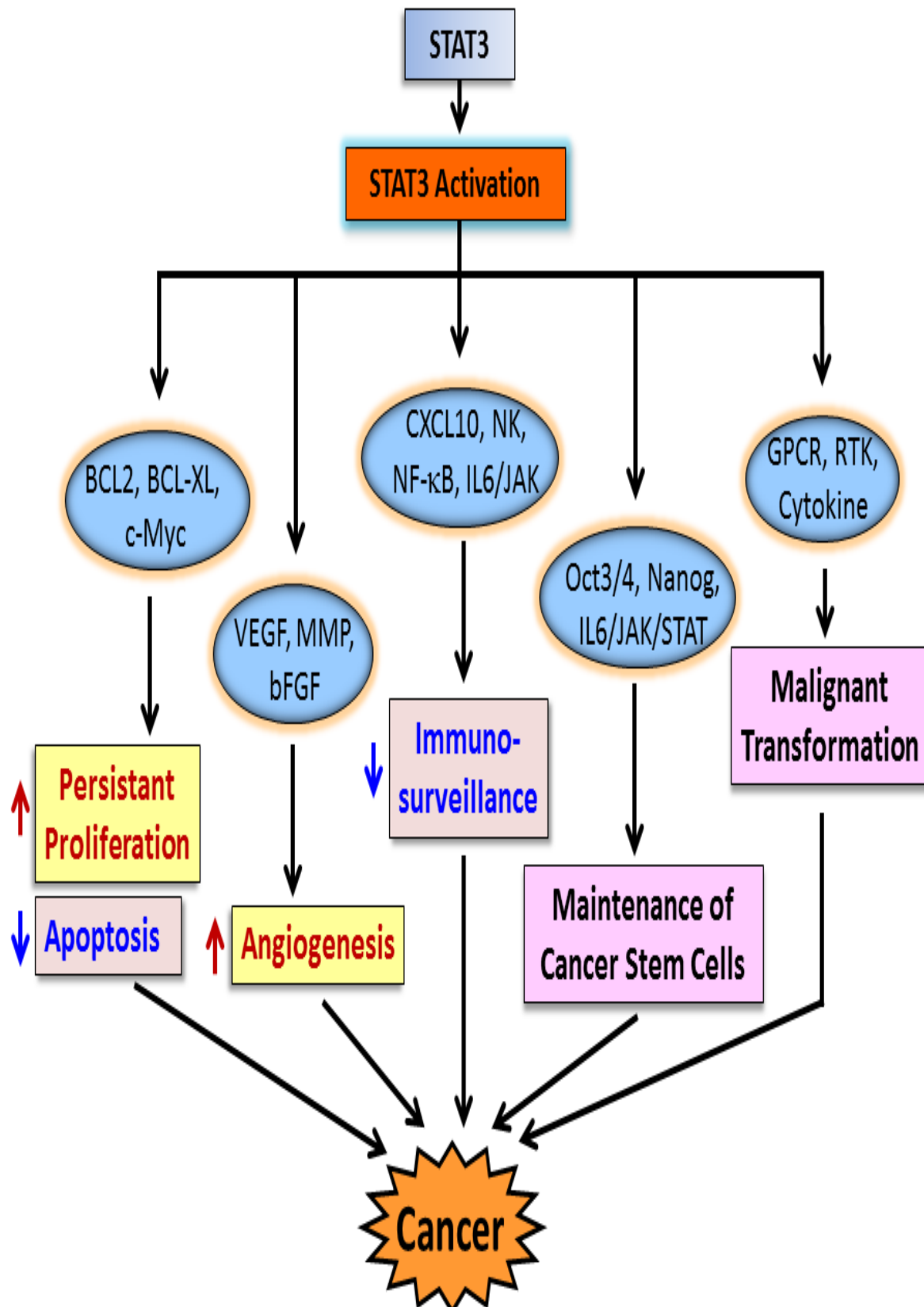


Figure 10 : Mécanismes schématisques de STAT3 contribuant à la cancérogenèse (Xiong A et al. 2014)

Etude Pratique

Etudes épidémiologique et expérimentale

4-1 Objectif du travail

Environ 20% des tumeurs du sein présentent une surexpression de la protéine HER2. En l'absence de traitement systémique, ces tumeurs présentent un pronostic particulièrement sévère. La surexpression de HER2 est corrélée avec la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire et de façon générale un pronostic sévère. Cette surexpression a été associée à une résistance à certaines chimiothérapies.

Le traitement par trastuzumab, anticorps humanisé spécifiquement dirigé contre la protéine HER2, a été un des développements thérapeutiques majeurs dans traitement du cancer du sein. Cependant, le bénéfice clinique de ce traitement est limité par le fait que la plupart des tumeurs développeront une résistance au traitement. Ce phénomène de résistance est lié à la complexité des réseaux de signalisation intracellulaire, leur interconnexion étroite, nécessitant des approches combinées.

STAT3 est une molécule de signalisation et un facteur de transcription dont les gènes sont localisés au niveau de la région 17q12-q21. Etant donné que les gènes du facteur de transcription STAT3 sont localisés au niveau de la même région chromosomique de HER2. L'amplification des gènes STAT3 pourraient avoir un impact sur le phénotype et les caractéristiques cliniques des tumeurs surexprimant HER2. En effet, il est possible que les gènes de la protéine STAT3 co-amplifié avec le gène du récepteur HER2 contribuent à la progression de la tumeur et au comportement clinique, comme à la réponse au trasztuzumab et peut donc expliquer certaines des différences actuellement observées dans la gestion clinique des tumeurs surexprimant HER2.

On se référant a ces données, nous avons réalisé dans un premier temps une étude épidémiologique rétrospective afin d'évaluer la fréquence de la protéine HER2 dans les cancers mammaires.

Une seconde partie de ce travail a était destinée à la réalisation d'une étude immunohistochimique afin de rechercher l'expression des protéines Stat3 et PStat3 (Tyr705) sur des pièces opératoires de cancers du sein surexprimant HER2.

4-2 Patients et méthodes

4-2-1 Etude épidémiologique

Il s'agit d'une étude rétrospective et descriptive portant sur 628 cas de cancer du sein diagnostiqués entre janvier 2008 et décembre 2013 au niveau des services d'anatomopathologie du Centre Hospitalo-universitaire de Sidi bel Abbès (CHU) et de l'Hôpital Militaire Régional d'Oran (HMRUO). Ces cas ont été recensés à partir des comptes rendus des services d'anatomopathologie. Les variables étudiées étaient l'âge, la localisation de la tumeur; le type histologique, le grade SBR, la taille tumorale, le nombre de ganglions lymphatiques infiltrés et la métastase tumorale selon la classification de l'OMS.

4-2-1-1 L'analyse statistique

Concernant l'étude statistique, les données ont été traitées et analysées par le logiciel SPSS 20.0 (Statistical Package pour les sciences sociales, IBM Corporation, Chicago, IL Août de 2011.). Les associations entre les paramètres catégoriques ont été testées en utilisant le test (χ^2), le test de Pearson et aussi le test de t-Student. Les résultats ont été présentés en utilisant la valeur de p; le niveau de sa signification a été limité par le taux de 5%.

4-2-2 Etude Expérimentale

Trente (30) blocs de tumeurs mammaires ont été recueillis à partir du service de pathologie, de l'Hôpital Universitaire de Sidi-Bel-Abbès Hassani Abdelkader pour la période de 2012-2015. Ces échantillons tissulaires ont été conservés dans de la paraffine. Ces sections ont été colorés avec de l'hématoxyline et l'éosine (H&E) pour l'examen histologique. Une confidentialité absolue des informations des patients était maintenue.

4-2-2-1 Protocole de l'immunohistochimie

Nous avons utilisé le protocole du fournisseur Abcam (EXPOSE IHC detection kit ; Abcam, Cambridge, MA, USA) pour la manipulation immunohistochimique: les spécimens fixés au formol et conservés a la paraffine étaient déparaffinées et réhydratées en suite quelques gouttes (2 à 3) de peroxyde d'hydrogène ont été ajoutés pour couvrir les sections. Nos échantillons étaient incubés pendant 10 minutes, lavé deux fois dans une solution tampon de phosphate saline (PBS) 10X PBS (0,1 M de PBS, pH 7,4) ; prétraiter ; et ensuite lavés trois fois avec la solution tampon.

Les sections étaient couvertes par une protéine bloque puis incubées durant 10 minutes à la température ambiante pour bloquer la coloration de fond. Les coupes étaient, par la suite, lavées une fois avec une solution tampon.

L'application de l'anticorps primaire :

1/ anticorps anti-P-Stat3 (Y705) (D3A7) (1:100 XP ® Rabbit mAb; Cell Signaling Danvers, USA) (pour la première manipulation).

2/ anticorps anti-Stat3 (F-2) sc-8019 (1 :100 Mouse Monoclonal IgG1 ; Santa Cruz Biotechnology ®, Dallas, USA) (pour la seconde manipulation).

Les coupes étaient incubées durant toute une nuit (over night) puis lavés trois fois ; et par la suite un complément était appliqué pendant 10 minutes à une température ambiante. Les

sections était lavées encore deux fois ; ensuite recouvertes de l'HRP conjugué ; incubée pendant 15 minutes à une température ambiante; et rincées 4 fois avec la solution tampon, ensuite 30 pi (1 goutte) de DAB chromogène était ajoutés à 1,5 ml (50 gouttes) de substrat DAB ; puis appliqués sur les tissus préalablement incubés durant 10 minutes. Les tissus était rincés 4 fois ; puis une contre coloration était appliqué sur les échantillons avant d'être déshydraté.

4-2-2-2 Évaluation morphométrique

Les lames ont été examinées en microscopie optique et seuls les échantillons qui présentaient une coloration ou un marquage de PStat3 (Tyr 705) et Stat3 ont été identifiés comme positifs. L'évaluation du niveau de la surexpression était fait en se basant sur l'intensité de la coloration des cellules tumorales dans des champs indépendants de haute puissance avec une distribution abondante des protéines PStat3 et Stat3 ces dernières ont été évalués comme suit: les zones présentant une coloration ont été évaluées par l'œil. L'intensité de coloration a été classé sur l'échelle suivante: 0 : aucune coloration; 1 : faible coloration; 2 : coloration modérée; et 3 : coloration intense à la fois pour la localisation cytoplasmique et la localisation nucléaire pour Stat3 et PStat3 (Tyr 705) **(Dolled-Filhart et al., 2003).**

Résultats

Original Research Paper

Clinicopathological characteristics and prognostic factors of breast cancer with HER2 overexpression in Western Algeria

M.N. Mrabent, N. Harir, F. Sellam, S. Zeggai, A. Tou, M. Diaf, R. Salah, S. Moulessehoul

Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, Proteomics et Santé, Département de Biologie, UDL-SBA
,UDL-SBA, Ex- ITMA, Sidi Bel Abbes, Algérie

Corresponding Author: Harir Noria, Maitre de conférences A UDL –SBA, Algérie

Phone numbers: 00213698913103

Email: noriaharir@yahoo.fr

Abstract

Background: Breast cancer is a leading cause of cancer related mortality in North African countries. HER-2 over-expression has been associated with a poor prognosis of breast cancer. We assessed HER-2 over-expression pattern in unselected breast cancer cases (from Western Algeria) in terms of clinical-pathological parameters in order to identify possible associations between them.

Methods: 628 confirmed cases of breast carcinoma were reviewed between January 2008 and December 2013. Immunohistochemistry assays were used to evaluate HER-2 (human epidermal growth factor receptor 2), ER (Estrogen receptor), and PR (Progesteron receptor) status. Hercep test of score 3+ was considered as positive, those with +2 were further evaluated by FISH.

Results: HER-2 receptor status was found positive in 168 patients (26, 8%) and negative in 460 patients (73,2%). HER-2 overexpression was found to be positively correlated with lymph node status, tumor size, infiltrating ductal carcinomas histologic subtype, histological grade of the disease and estrogen receptor status ($p < 0.05$). However, no appreciable correlation between HER-2 status; patient age, menopausal status and progesterone receptor status was observed ($p > 0.05$).

Conclusion: HER-2 overexpression in women breast cancer from western Algeria was correlated with different aggressiveness parameters, which would suspect a worst prognosis.

Keywords: HER-2, clinical-pathological parameters, breast carcinoma, western Algeria

INTRODUCTION

Breast cancer remains the most lethal malignancy in women across the world. In the West, about one woman over eight would develop breast cancer during her lifetime (1-2). Its incidence increases with age and its frequency is higher during menopause. In USA, it account for nearly one in three cancers diagnosed among women, with an estimated 230,480 new cases diagnosed in 2011 (3), and the second leading cause of death cancer around the world (1-2). In many African and Asian countries, the incidence and mortality rates of breast cancer are rising (4-5), with changes in reproductive patterns, physical inactivity, and obesity being the main contributory factors (6-7). Concerning Algerian women, breast cancer ranks first in incidence of new cases in the three main Algerian records. Its ASI (age-standardized incidence) is 21.6, 17.03 and 34.49 for 10^5 women in the records of the following regions respectively: Algiers, Setif and Oran (8). This may suggest that breast carcinoma in Algeria may have some biological features that need to be explored.

Breast cancer is currently regarded as heterogeneous biological disease classified into various molecular subtypes, each one of them associated with specific molecular and clinical characteristics that carry different prognostic and therapeutic implications. Knowledge of the biologic characteristics (such as hormone (HR) and HER-2 (human epidermal growth factor receptor 2) receptors status) allows convenient systemic therapy in breast cancer patients. Through the expression of ER (Estrogen Receptor) and PR (Progesterone Receptor), endocrine sensitivity can be evaluated, a well-known factor predicting response to tamoxifen or ovarian suppression (9-10). Additionally, assessment of HER-2 overexpression is useful in order to establish anti-HER-2+ therapy (11-12). Compared to the developed world, there are relatively few studies that describe the biologic characteristics of breast cancer in African women generally and Algerian women specifically (13-18).

HER-2 overexpressed subtypes appeared to be more aggressive and are regarded as an important prognostic marker indicating poor patient survival. In fact, HER-2 gene amplification is found in 10–34% of invasive breast carcinomas and is associated with shortened survival (19-21).

As the HER-2/neu aggressive property was reported, we attempted in this study to understand the biological characteristics of HER-2 receptor over-expression in Algerian women breast carcinoma, and to begin to unravel the factors that drive their worst clinical presentation.

Patients and methods

This cross sectional study was done at the department of pathology of Sidi Bel Abbes University Hospital and department of pathology of Oran military Hospital in Western Algeria from January 2008 to December 2013. Immunohistochemical expression of HER-2 was evaluated according to the published scoring guidelines of the '*HercepTest*' (Dako, Carpinteria, CA). Hercep test of score 3+ was considered as positive, those with +2 were further evaluated by FISH. Data were analyzed in order to identify any association between HER-2 and clinico-pathological parameters such as age, estrogen and progesterone receptors, tumor grade as well as lymph node status.

Statistical analysis

A statistical analysis was used to evaluate correlations between expression of HER-2, ER and PR and clinico-pathological parameters. It was done using the SPSS Inc. software (Version20). Relationships between qualitative parameters were determined using Khi-deux Pearson Test. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

RESULTS

Characteristics of the subjects

This study included 628 patients of breast cancer having modified radical mastectomy (MRM). All patients were female. The mean age of patients was 51.06 years, ranging from 21

to 80 years. Most common age group involved was 41-60 years (62.4%) (Fig1). 81, 7% were >40 years, while 18, 3% patients were ≤40 years of age. Patients were affected more by right laterality in 56.8% of cases and ductal carcinoma was the most common histological type of breast cancer (85%), followed by lobular carcinoma (7.3%). Analyzing data for ER, PR and HER-2 status based on medical records, demonstrated that expression of ER, PR and HER-2 were respectively positive in 63,4%, 56,2% and 26.8% of all cases (Table I, Fig 2).

HER-2 receptor status and its association with clinico-pathological parameters

HER-2 receptor status was found positive in 168 patients (26, 8%) and negative in 460 patients (73, 2%) of the total cases. We analyzed the correlation between HER-2 status and various clinico-pathological parameters. HER-2 overexpression was found to correlate positively with lymph node status, tumor size, ductal carcinoma, and tumor grade of the disease. Among patients with HER-2 overexpression, two peaks of higher frequency of cases were identified: between 41 - 50 years, and 51-60 years. However, no appreciable correlation between HER-2 status; patient age and menopausal status was found.

With regard to lymph node status, all HER-2 positive cases were lymph node-positive ($P=0.001$). HER-2 positivity was found to be higher among tumor size ≥ 2 cm (99.4% of cases; $P=0.001$) than the lower size tumor < 2 cm. Concerning the histological type of breast cancer, infiltrating ductal carcinoma was found to be the most common type and HER-2 was more often positive (82,7% ; $P=0.001$). A higher percent of HER-2 positive cases were tumor grades II (53%) and III (40,5%) as compared to grades I (6,5%); ($P=0.001$).

When the combined HER-2 and HR status was analyzed, HER-2 positive tumors were predominantly found in those that estrogen receptor status was positive (ER+), ($P=0.02$). However, HER-2+ tumors tended to be almost equally distributed between progesterone positives tumors (PR +) and PR- tumors ($P=0.7$). The association of HER-2 status with different clinical features data is summarized in Table II.

DISCUSSION

Knowledge of HER-2 status allows convenient systemic therapy in breast cancer patients. New drugs for targeted therapy, such as Herceptin, are effective for patients with HER-2 positive tumors, making it necessary to have a non-costly and accurate method to assess HER-2 status (19-20).

In our Study, HER- 2 was found to be positive in 168 patients (26.8%) and negative in 460 patients (73.2%). Our results concord to those observed in Ghana, Tunisia, Saudi Arabia, northern Iraq, Pakistan, China, and Malaysia (22-28).

Nevertheless, the frequency of HER-2 overexpression among Indian and Indonesian women was reported higher than that of other reports. Ray et al. and Bhatavdekar et al respectively reported at 42.0% and 68% the positivity of HER2 in Indian women (29-30). Similarly the proportion of HER2 overexpressed tumors seems higher in Indonesian women (45%) (28).

Age represents one of the most important risk factors for breast cancer. Patients examined in our study were young with a mean age of 51.06 years and 48, 2% of them were less than 50 years of age. This age distribution is significantly younger than what is currently seen in literature data which is around 75–79 years according to the maximum disease incidence for some authors, or above 60 years for some others (31-32). The analysis of association between HER-2 overexpression and age has shown that in the young age group, 34 patients were HER-2 positive while 134 patients were HER-2 positive in the age group over 40 years. Similarly, in his study Alahwal found that HER-2 receptor was positive in 34.1% of young patients (≤ 40 years) and in 65.9% of patients over 40 years of age (24). The young age at diagnostic was also emphasized in different studies from Middle East (Northern Iraq, Saudi Arabia, Jordani and Egypt) with most patients being between 40–50 years old (25, 33-35). Younger age was reported once more in Nigerian, Ghanaian, Chinese, Korean and Japanese breast cancer women (22, 27, 15, 36-38). It is unclear why breast cancer patients in the current and other

studies are so young. A possible explanation of this fact could be the younger age for menopause onset, hormonal replacement therapy, or the young structure of the population of the majority of those countries. In the present survey HER-2 receptor status revealed a significant direct association with estrogen receptor status. HER-2 positive tumors were predominantly found in those that estrogen receptor status was positive (ER+). The majority of studies reported a significant inverse association with HER-2 receptor status and estrogen receptor status (39, 40, 21, 41). Literature data reports as well an inverse relationship between the status of HER-2 receptor and progesterone receptor (PR). However, in our study that inverse correlation was not apparent; which concords with other reports (42-43). Differences in tumor biology and clinical outcomes by ER/PR status in HER-2+ breast cancer have been shown to exist. Furthermore, HER-2+ breast cancer is acknowledged to be heterogenous adding credence to prior epidemiological findings (12, 44-45). Therefore more studies from Algeria are required in order to verify our findings. We have noted as well a statistically significant correlation between HER-2 overexpression and infiltrating ductal carcinomas histological subtype ($p<0.05$) which confirms the data of many reports (29, 34, 46-52).

A significant association was also observed between HER-2 positivity and tumor grade and number of axillary lymph nodes involved ($p<0.05$). Other studies done in Asia have shown no association between HER-2 overexpression and other prognostic factors except few studies which showed an association with the tumor grade (47, 49-51). A positive correlation between lymph nodes and HER-2 overexpression has been reported too (52-53). Nonetheless, some studies found no association between lymph node status and HER-2 expression levels (54). Tumor size played an important prognostic role; this is directly related to an increasing probability of regional metastasis, an increasing average number of involved axillary lymph nodes and an increasing probability of recurrence and death. Similarly to other researches, we have also noted a significant association between HER-2 positivity and tumor size (27, 48, 49,

55) ($p<0.05$). Additional studies with larger numbers of patients are needed to achieve sufficient statistical power. Assessment of HER-2 overexpression in breast cancer patients has an impact on prognosis, treatment modality and could produce survivals comparable to those seen in western countries; but unfortunately we do not have any information on the matter concerning breast cancer in Algerian women. Further investigations by comparison of prognosis and therapy responses with matched subtypes of breast carcinoma from Algerian population were warranted.

CONCLUSION

In our scientific investigation, HER-2 overexpression was correlated with aggressiveness and other parameters such as high histological grade, lymph node and positive ER status; which would suspect a worst prognosis. Therefore, we recommend the routinely assessment of HER-2 status of all patients with breast cancer, irrespective of other clinic-pathological parameters, owing to its prognostic implication.

Acknowledgments: The authors would like to thank the members of the department of pathology at Sidi Bel Abbes University Hospital and pathology department of Oran military Hospital, for their invaluable support, guidance, and educational insight.

Conflict of interest: None

References

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127:2893-2917.
2. DeSantis C, Siegel R, Bandi P, et al. Breast cancer statistics, 2011. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:409-418.
3. American Cancer Society. Breast cancer facts and figures 2011–2012. American Cancer Society, Atlanta 2011

4. Parkin DM, Nambooz S, Wabwire-Mangen F, Wabinga HR. Changing cancer incidence in Kampala, Uganda, 1991-2006. *Int J Cancer* 2010; 126:1187-1195.
5. ParkinDM, Whelan S, Ferlay J, Storm H. Cancer Incidence in Five Continents. Vol I to VIII. Cancer Base No. 7. Lyon: IARC Press 2005: 6-8
6. Jemal A, Center MM, Desantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19:1893-1907.
7. Ganiy OM,Ganiyu AR. Epidemiology of Breast Cancer in Europe and Africa. *Journal of Cancer Epidemiology* 2012; Volume 2012, Article ID 915610, 5 pages doi:10.1155/2012/915610
8. Abid L. Cancer epidemiology in Algeria: best use of cancer registers. *J AfrCancer* 2009; 1:98-103.
9. Dowsett M, Houghton J, Iden C, **et al**. Benefit from adjuvant tamoxifen therapy in primary breast cancer patients according oestrogen receptor, progesterone receptor, EGF receptor and HER2 status *Ann Oncol* **2006**; 17: 818–826
10. Adedayo A. Onitilo, Jessica M. Engel, Robert T. Greenlee. Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clin Med Res* 2009; 7: 4–13
11. Wolters R, Regierer AC, Schwentner L, **et al**. A comparison of international breast cancer guidelines – do the national guidelines differ in treatment recommendations? *Eur J Cancer* **2011**; 48 :1-11
- 12.Parise CA, Bauer KR, Brown MM, Caggiano V. Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor (ER), progesterona receptor (PR), and the human epidermal growth factor

receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999–2004. *Breast J* 2009; 15:593–602

13. Huo D, Ikpat F, Khramtsov A, et al. Population differences in breast cancer: Survey in indigenous African women reveals over-representation of triple-negative breast cancer. *J ClinOncol* 2009; 27:15-21.

14. Bird PA, Hill AG, Houssami N. Poor hormone receptor expression in East African breast cancer: Evidence of a biologically different disease? *Ann SurgOncol* 2008;15:1983-1988.

15. Adisa CA, Eleweke N, Alfred A. Biology of breast cancer in Nigerian women: A pilot study. *Africa Year* 2012; 11: 169-175.

16. Adjei EK, Owusu-Afriyie O, Awuah B, Stalsberg H. Hormone Receptors and Her2 Expression in Breast Cancer in Sub-Saharan Africa. A Comparative Study of Biopsies from Ghana and Norway. *The Breast Journal* 2014; 20 : 308-311

17- Sanda RB. Breast cancer outcome in African women: If different, how different, why different? *Annals of African Medicine* 2013;12: 57-58

18. Eng A, McCormack V, Dos-Santos-Silva I. Receptor-Defined Subtypes of Breast Cancer in Indigenous Populations in Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS Medicine* 2014; 11:e1001720

19. Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, et al. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. *Oncologist* 2009; 14:320-368

20. Prati R, Apple SK, He J, et al. Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer. *Breast J* 2005; 11:433–439
21. Huang HJ, Neven P, Drijkonengen M, et al. Association between tumor characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J ClinPathol* 2005; 58:611-116.
22. Ohene-Yeboah M. Adjei E. Breast cancer in Kumasi, Ghana. *Ghana Medical Journal* 2012; 46:8-13
23. Missaoui N, Jaidene L, Ben Abdelkrim S, et al. Breast Cancer in Tunisia: Clinical and Pathological Findings. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2011; 12: 169-172
24. Alahwal MS. HER-2 positivity and correlations with other histopathologic features in Breast Cancer patients—hospital based study. *J Pak Med Assoc* 2006; 56: 65–68.
25. Runnak AM, Hazha AM, Hemin AH, et al. A population-based study of Kurdish breast cancer in northern Iraq: Hormone receptor and HER2 status. A comparison with Arabic women and United States SEER data. *BMC Women's Health* 2012; 12:16
26. Naqvi SQH, Naqvi A, Anwar M, et al. Significance of HER-2/neu oncoprotein overexpression in invasive ductal breast cancer. *Ann AbbasiShaheed Hosp Karachi Med Dent Coll* 2007; 12:79–83.
27. Xue C, Wang X, Peng R, et al. Distribution, clinicopathologic features and survival of breast cancer subtypes in Southern China. *Cancer Sci* 2012; 03: 1679–1687
28. Ng CH, Bhoo N, Pathy et al. Comparison of Breast Cancer in Indonesia and Malaysia – A Clinico-Pathological Study Between Dharmas Cancer Centre Jakarta and University Malaya Medical Centre, Kuala Lumpur. *Asian Pacific J Cancer Prev* **2011**;12: 2943-2946
29. Ray A, Sharma BK, Kaur S et al. Overexpression of c-erbB-2 oncoprotein and associated pathobiological factors in invasive primary breast cancer. *Indian J ExpBiol* 2004; 42:253-258.

30. Bhatavdekar JM, Patel DD, Shah NG, et al. Prognostic Significance of Immunohistochemically Localized Biomarkers in Stage II and Stage III Breast Cancer: A Multivariate Analysis. *Ann SurgOnc* 2000; 17:305-311
31. Cancer Registry of Norway. Cancer in Norway: Cancer in Norway 2009 – Cancer incidence, mortality, survival and prevalence in Norway, Cancer Registry of Norway, Oslo, Norway 2011.
32. Finnish Cancer Registry. Cancer stat fact sheets, Institute for Statistical and Epidemiological Cancer Research, Helsinki, Finland 2011.
33. Al Tamimi DM, Shawarby MA, Ahmed A, et al. Protein expression profile and prevalence pattern of the molecular classes of breast cancer-a Saudi population based study. *BMC Cancer* 2010; 10:223.
34. Sughayer MA, Al-Khawaja MM, Massarweh S, Al-Masri M. Prevalence of hormone receptors and HER2/neu in breast cancer cases in Jordan. *PatholOncol Res* 2006; 12:83–86.
35. Dey S, Soliman AS, Hablas A. Breast Cancer Res Treat: Urban–rural differences in breast cancer incidence by hormone receptor status across 6 years in Egypt. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 120:149–160.
36. Ayoade BA, Agboola AJ, Olatunji AA, et al. Clinical Characteristics and Survival Outcome of Breast Cancer in Southwest Nigerian Women. *J Afr Cancer* 2014; 6: 79-84
37. Kim YS, Won YS, Park KS. Prognostic Significance of HER2 Gene Amplification According to Stage of Breast Cancer. *J Korean Med Sci* 2008; 23: 414-420
38. Tamaki Y, Kotsuma Y, Miyoshi Y, Noguchi S. Breast cancer risk assessment for possible tailored screening for Japanese women. *Breast Cancer* 2009; 16: 243–247.
39. Rashed MM, Ragab NM, Galal MK. The association of Her-2/neu Over-expression in relation to p53 nuclear accumulation, hormonal receptor status and common clinico-

pathological prognostic parameters in a series of Egyptian women with invasive ductal carcinoma. *Eur J Gen Med* 2007; 4:73-79.

40. Arafah M. Correlation of hormone receptors with Her 2/neu protein expression and the histological grade in invasive breast cancers in a cohort of Saudi Arabia. *Turkish Journal of Pathology* 2010; 26:209-215.

41. Mahmoud S, Al-Ahwal MS. HER-2 positivity and correlations with other histopathologic features in breast cancer patients - hospital based study. *J Pak Med Assoc* 2006; 56 :65-58.

42. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, et al. High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology* 2001; 38: 271-274.

43. Konecny G, Pauletti G, Pegram M, et al. Quantitative association between HER-2/neu and steroid hormone receptors in hormone receptor positive primary breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:142-153.

44. Vaz-Luis, Winer EP, Lin NU. Human epidermal growth factor receptor-2-positive breast cancer: does estrogen receptor status define two distinct subtypes? . *Annals of Oncology* 2013; 24: 283-291.

45. Montemurro F, Di Cosimo S, Arpino G. () Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive and hormone receptor-positive breast cancer: new insights into molecular interactions and clinical implications. *Annals of Oncology* 2013; 24 (11): 2715-2724.

46. Moriki T, Takahashi T, Hiroi M, Yamane T et al. Histological grade in invasive ductal carcinoma of breast correlates with the proliferative activity evaluated by BrdU: an immune histochemical study including correlations with p53, c-erbB-2 and estrogen receptor status. *PatholInt* 1996; 46:417-425.

47. Lal P, Tan LK, Chen B. Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *American Journal of Clinical Pathology* 2005; 123: 541-546.
48. Caldarella A, Crocetti E, Bianchi S, et al. Female Breast Cancer Status According to ER, PR and HER2 Expression: A Population Based. *Pathol Oncol Res* 2011; 17:753–758
49. Ayadi L, Khabir A, Amouri A, et al. Correlation of HER-2 over expression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World Journal Surgical Oncology* 2008; 6: 112
50. Rilke F, Colnaghi MI, Cascinelli N, et al. Prognostic significance of HER-2/neu expression in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *International Journal of Cancer* 1991; 49: 44-49
51. Hoff ER, Tubbs RR, Myles JL, Procop GW. HER-2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade. *American Journal of Clinical Pathology* 2002; 117: 916-921.
52. Querzoli P, Marchetti E, Fabris G, et al. Immunohistochemical expression of c-erbB-2 in human breast cancer by monoclonal antibody: correlation with lymph node and ER status. *Tumori* 1990; 76:461-464
53. Tiwari RK, Borgen PI, Wong GY, et al. HER-2/neu amplification and overexpression in primary human breast cancer is associated with early metastasis. *Anticancer Res* 1992; 12:419-425.
54. Gullick WJ, Love SB, Wright C, et al. C-erbB-2 protein overexpression in breast cancer is a risk factor in patients with involved and uninvolved lymph nodes. *Br J Cancer* 1991; 63:434-438

55.Salhia B, Tapia C, Ishak AE, et al. (2011) Molecular subtype analysis determines the association of advanced breast cancer in Egypt with favorable biology .BMC Women Health11:44

Age	Frequency	Pourcentage (%)
≤40 years	115	18.3
>40 years	513	81.7
Tumour laterality		
Right	375	56.8
Left	271	34.2
Histopathology		
Infiltrating ductal Carcinoma	534	85
Lobular carcinoma	46	7.3
Inflammatory carcinoma	28	4.5
Mucinous Carcinoma	6	1
Medullary carcinoma	7	1.1
Metaplastic carcinoma	7	1.1
HER-2 status (IHC and/or FISH)		
Positive	168	26.8
Negative	460	73.2
RE status		
Positive	398	63,4
Negative	230	36,6
RP status		
Positive	353	56,2
Negative	275	43,8

Table I: Features of breast cancer patients

Histopathological features	HER-2 receptor status		p-value
	Positive (n=168) (%)	Negative (n=460)(%)	
Age			
≤40	31 (18,5)	84 (18,3)	P=0.9
>40	137 (81,5)	376 (81,7)	

Histopathological subtype			
Infiltrating ductal Carcinoma	139 (82,7)	395 (85,9)	P=0.02
Lobular carcinoma	18 (10,7)	28 (6,1)	
Inflammatory Carcinoma	11 (6,5)	17 (3,7)	
Mucinous Carcinoma	00	06 (1,3)	
Medullary Carcinoma	00	07 (1,5)	
Metaplastic Carcinoma	00	07 (1,5)	
Tumour size			
<2cm	1 (0,6)	300 (65,2)	P=0.001
≥2cm	167(99,4)	160 (34,8)	
Number of lymph nodes			
Negative	00	12 (2,6)	P=0.001
1–3	35 (20,8)	243 (52,8)	
4–9	93 (55,4)	188 (40,9)	
≥10	40 (23,8)	17 (3,7)	
Tumour Grade			
I	11 (6,5)	154 (33,5)	P=0.001
II	89 (53)	254 (55,2)	
III	68 (40,5)	52 (11,3)	
ER status			
Positive	94 (56)	304 (66,1)	P=0.02
Negative	74 (44)	156 (33,9)	
PR status			
Positive	96 (57,1)	257 (55,9)	P=0.7
Negative	72 (42,9)	203 (44,1)	

Table II: HER-2 receptor status and its association with histo-pathological features

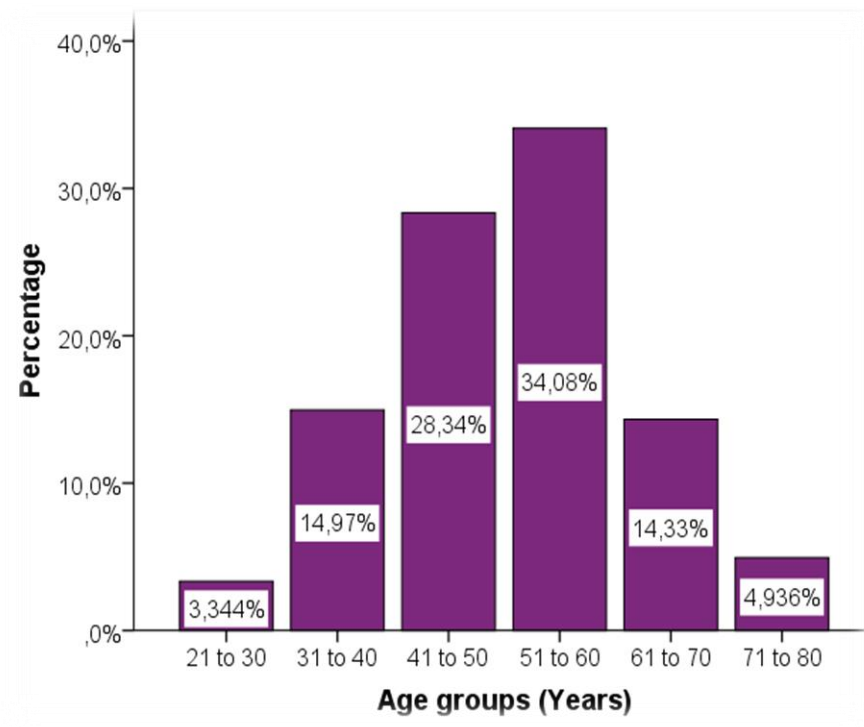


Figure 01: Distribution of cases by age group

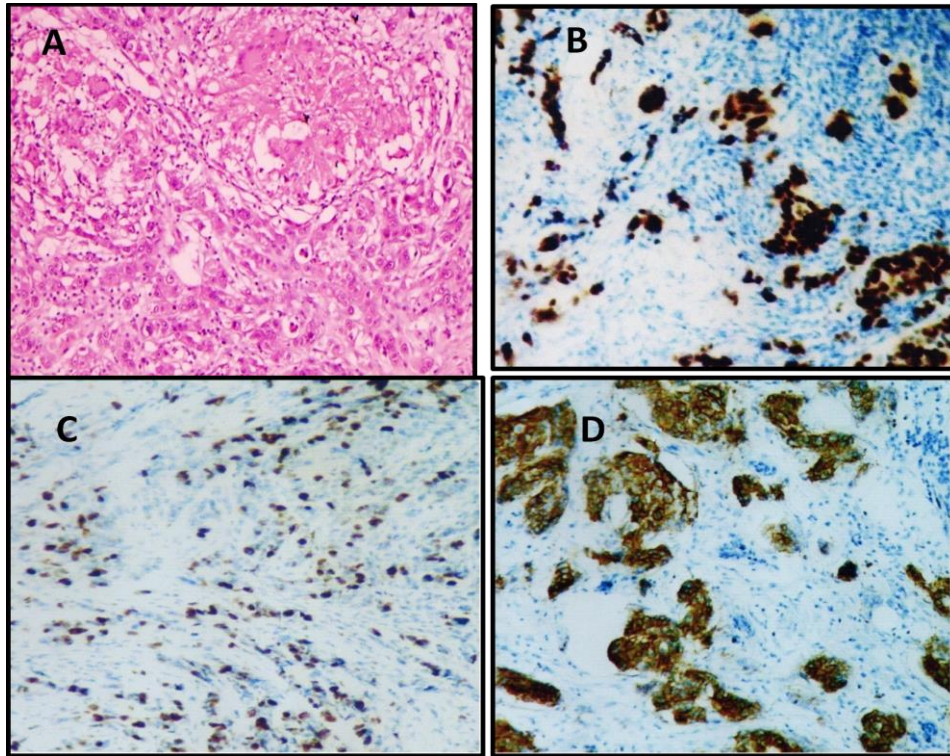


Figure 2: Biological characteristics of of ductal breast carcinoma. (A) H&E staining of ductal carcinoma (x10). **(B)** and **(C)** Estrogen and progesterone receptor positivity in ductal Carcinoma (x10). **(D)** HER 2/neu positive (+3) cases of ductal carcinoma (x10)

Résultats

5-1 Présentation de l'article 1

Clinical pathological characteristics and prognostic factors of breast cancer with HER2 overexpression in Western Algeria

NESRINE M MRABENT, NORIA HARIR, FERIEL SELLAM, SOUMIA ZEGGAI,
ABDENACER TOU, MUSTAPHA DIAF, RACHIDA SALAH AND SORAYA
MOULESSHOU

Journal of Disease and Global Health, Vol: 5, Issue: 1

Contexte :

Le cancer du sein demeure le premier cancer touchant les femmes à travers le monde. En Occident, environ une femme sur huit développe un cancer du sein au cours de sa vie (**Ferlay et al., 2010 ; DeSantis et al., 2011**).

Son incidence augmente avec l'âge et sa fréquence est plus élevée pendant la ménopause. C'est la deuxième cause de mort par cancer dans le monde (**Ferlay et al., 2010 ; DeSantis et al., 2011**). Dans de nombreux pays africains et asiatiques, l'incidence de mortalité par cancer du sein est en hausse (**Parkin et al., 2010 ; Parkin et al., 2005**) avec le changement des habitudes alimentaires, l'inactivité physique et l'obésité étant les principaux facteurs contributifs (**Jemal et al., 2010; Ganiy et al., 2012**).

En Algérie, le cancer du sein occupe la première place en termes d'incidence dans les trois principaux registres algériens des cancers. Son ASI (d'incidence normalisé selon l'âge) est de 21.6, 17.03 et 34.49 pour 105 femmes dans les dossiers des régions suivantes : Alger, Sétif et Oran (**Abid., 2009**).

Le cancer du sein est actuellement considéré comme une maladie biologique hétérogène classée en sous-types moléculaires différents, chacun d'eux associé à des caractéristiques moléculaires et cliniques spécifiques qui portent différentes implications pronostiques et thérapeutiques. La connaissance des caractéristiques biologiques tel que le statut hormonal (RH) et HER2 permet un traitement systémique pratique chez les patientes atteintes de cancer du sein.

L'amplification du gène HER2 se trouve dans 10 à 34% des carcinomes mammaires invasifs et est considéré comme un marqueur de mauvais pronostic associé à une survie raccourcie (Ross et al., 2009 ; Huang et al., 2005).

Comme la propriété agressive de HER2 a été rapportée, nous avons tenté dans cette étude de déterminer les caractéristiques biologiques et anatomopathologiques dans le cancer du sein surexprimant HER2 chez des patientes Algériennes.

Résumé des résultats :

- Cette étude a inclus 628 patientes présentant un cancer du sein ayant subi une mastectomie radicale modifiée (MRM).
- L'âge moyen des patientes était de 51.06 ans, allant de 21 à 80 ans.
- La tranche d'âge la plus touchée était (41-60)
- (81.7%) des patientes étaient âgées de > 40 ans, tandis que (18.3%) des patientes étaient âgées de ≤40 ans.
- Le carcinome canalaire était le type histologique le plus retrouvé chez (85%) des cas, suivi par le carcinome lobulaire (7.3%).
- La surexpression de ER, PR et HER2 étaient respectivement de (63.4%) (56.2%) et (26.8%).

Dans notre investigation scientifique, la surexpression de HER2 a été corrélée avec les paramètres agressifs tels que le grade histologique élevé et le nombre de ganglions lymphatiques infiltrés qui soupçonne un mauvais pronostic. Par conséquent, nous recommandons l'évaluation systématique du statut HER2 chez toutes les patientes atteintes de cancer du sein, indépendamment des autres paramètres clinico-pathologiques, en raison de son implication pronostique.

Original Research Paper

Overexpression Status of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor & Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 in Breast Cancer Young Female Patients in Western Algeria

M.N. Mrabent, N. Harir, F. Sellam, S. Zeggai, A. Tou, M. Diaf, R. Salah, S.

Moulessehoul

Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, Proteomics et Santé, Département de Biologie

UDL-SBA, Ex- ITMA, Sidi Bel Abbès, Algérie

Corresponding Author: Harir Noria, Maître de conférences A UDL –SBA, Algérie

Phone numbers: 00213698913103

Email: noriaharir@yahoo.fr

Abstract

Background: Breast cancer is a rare pathology among young women, but is known to have a more aggressive behavior and poorer outcome.

Aims: The objective of this study was to evaluate the clinicopathological characteristics of breast carcinoma in young Algerian breast cancer patients aged less than 40 years old; to determine the frequency of HER-2 (human epidermal growth factor receptor receptor2) and to study its correlation with various clinico-pathological parameters.

Materials and Methods: Our samples were collected from the period of January 2008-December 2013; all of them were cases of mastectomy specimens of breast carcinoma. We used immunohistochemistry to evaluate the expression of HER-2, ER (estrogen receptor), and PR (progesterone receptor).

Results: 119 mastectomy specimens were received, HER-2 receptor status was found positive in 34 patients (28, 6%). HER-2 receptor positivity was not significantly associated with histopathological sub-type nor with the expression of ER/PR status or lymph node status ($p>0.05$). However a positive association was observed with the histological grade, and tumor size ($p<0.05$).

Conclusion: This study shows that young females with breast cancer over-express HER-2 protein.

Keywords: HER-2, ER, PR, clinical-pathological parameters, breast carcinoma, young women, Western Algeria.

Introduction

Breast cancers rarely occur in young women. About 2% of the patients with breast cancer are less than 35 years of age.(1) Breast cancer at young age has been reported to have a more aggressive behavior and unfavorable prognosis compared to the older patients.(1,2) In breast cancer, young refers to women aged of 40 years and below.(3,4) In young women, the incidence of the disease is low (less than 17 cases per 100,000) women or less than 6% of all breast cancers among women of any age (5,6). However, accumulating evidence suggests that breast cancer in this age group is more aggressive and associated with poorer outcome than in their older counterparts.(7,8) Although some reports have identified young age at diagnosis as an adverse prognostic indicator,(9) this could be ascribed to a combination of factors, including delayed presentation, advanced disease stage, and unfavorable tumor characteristics.(10,11)

Tumors in young women are more likely to be high grade, and to have high proliferation index and lymphovascular invasion (12). Many studies have confirmed the increased proportion of hormone receptor (HR) negativity and human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) over expression in young women with breast cancer (13,14).

The aim of this study was to investigate about the clinical and biological features of breast cancer arising in young Algerian breast cancer patients and to determine the frequency of HER-2 receptor and the study of its correlation with various clinico-pathological parameters.

Materials and Methods

This cross sectional study was done at the department of oncology at Sidi Bel Abbes University Hospital and department of pathology at Oran military Hospital in Western Algeria from 2008 to 2013. Patients with breast cancer aged 40 or less (≤ 40 years) were selected for the study. We used immunohistochemistry to evaluate the expression of HER-2, ER, and PR receptor. Immunohistochemical expression of HER-2 was evaluated according to the published scoring guidelines of the '*HercepTest*' (Dako, Carpinteria, CA). Hercep test of score 3+ was considered as positive, those with +2 were further evaluated by FISH.

Data were analysed in order to identify any association between HER-2 and clinico-pathological parameters.

Four subtypes were defined: 1) Luminal A; oestrogen receptor (ER) + and/or progesterone receptor (PR) +, HER2 -, grade 1 or grade 2 tumours, 2) Luminal B; ER + and/or PR + and HER2 + tumours or ER+ and /or PR+ and HER2- grade 3 tumours, 3) HER2+; ER -, PR- and HER2 + tumours, 4) Triple negative; ER-, PR-,HER2- tumours.

Statistical analysis

A statistical analysis was used to evaluate correlations between expression of HER-2, ER and PR and clinico-pathological parameters. It was done using the SPSS Inc. software (Version20). Relationships between qualitative parameters were determined using the Khi-deux Pearson Test. Statistical significance was defined as ($p < 0.05$).

Results

119 young patients with breast cancer were included. All were women. Median age was 35.20 years (range, 21-40). The most common histological subtype was invasive ductal carcinoma (85%). Lobular carcinoma was (7.3%), inflammatory carcinoma was (4.5%) and medullary carcinoma was (1.1%). Tumors were mainly in grade II (64.7%), (16.8%) cases were grade I, and (18.5%) cases were grade III. T2 (tumor measuring 2-5cm) tumor was found in (37.8%) of cases, while T1 (tumor measuring < 2 cm) and T3 (tumor measuring > 5 cm) constitute (42% and 18.5% respectively). Lymph node metastasis was in (99.16%) cases. (14.3%) patients had metastatic disease. The percentage of ER negative breast cancer is (36.1%), followed by PR negative (47.9%). HER-2 was +3 in (28.6%) of the patients, and +2 in (26.9%) of the patients. The most common subtype was luminal A (61.34%) followed by Luminal B (21%), triple negative (10.08%) and HER-2+ (7.56%) subtypes. HER-2 over-expression was significantly correlated with tumor size ($P=0.001$) and tumor grade ($P=0.01$). There was no association between HER-2 over expression and histological type or lymph node status ($P > 0.05$). The expression status of ER and PR showed no significant association with over-expression of HER-2 ($P > 0.05$). All the Clinical and Biological Features are given in Table-1. The Distribution of molecular subtypes of breast cancer is represented in Table 2. Association of HER-2 status with other prognostic features is summarized in Table 3.

Table 1. Clinical and Biological Features of Young Patients (≤ 40 years) with Breast Cancer (n=119)

<i>Histology</i>	Ductal carcinoma	103 (85%)
	Lobular	10 (7.3%)
	Inflammatory	5 (4.5%)
	Medullary	1 (1.1%)
T	T1	50 (42%)
	T2	45 (37.8%)
	T3	22 (18.5%)
	T4	2 (1.7%)
N	N negative	1 (0.84%)
	N positive	118 (99.16%)
Metastasis	M0	102 (85.7%)
	M1	17 (14.3%)
Tm grade	Grade1	20 (16.8%)
	Grade2	77 (64.7%)
	Grade3	22 (18.5%)
ER	Negative	43 (36.1%)
	Positive	76 (63.9%)
PR	Negative	57 (47.9%)
	Positive	62 (52.1%)
<i>HER-2 (IHC and/or FISH)</i>	Negative	85 (71.5%)
	positive	34 (28.6%)

Table-2: Distribution of four molecular subtypes of breast cancer (n=119)

Group	No	Percentage
Luminal A (ER/PR+,HER2-)	73	61.34
Luminal B (ER/PR+,HER2+)	25	21
Triple negative (ER/PR-,HER2-)	12	10.08
HER- 2 +ive (ER/PR-,HER2+)	09	07.56
Total	119	100

Table-3: HER-2 receptor status and its association with histopathological features

	HER- 2 +ve	HER- 2 –ve	<i>p</i> -value
Histopathological subtype			
Infiltrating ductal Carcinoma	29 (24.36%)	74 (62.18%)	
Lobular carcinoma	5 (4.20%)	5 (4.20%)	
Inflammatory Carcinoma	0 (0%)	5 (4.20%)	<i>P=0.3</i>
Medullary Carcinoma	0 (0%)	1 (0.84%)	
Tumour size			
T1	0 (0%)	50 (42.01%)	
T2	18 (15.12%)	27 (22.68%)	
T3	14 (1.68%)	0 (0%)	<i>P=0.001</i>
T4	2 (1.8%)	0 (0%)	
Number of lymph nodes			
Negative	0 (0%)	1 (0.84%)	
1–3	7 (5.88%)	38 (31.93%)	
4–9	22 (18.48%)	40 (33.61%)	<i>P=0.4</i>
≥10	5 (4.20%)	6 (5.04%)	
Tumour Grade			
I	0 (0%)	20 (16.80%)	
II	24	53	<i>P=0.01</i>

	(20.16%)	(44.53%)	
III	10 (8.40%)	12 (10.08%)	
ER status			
Positive	19 (15.96%)	57 (47.89%)	P=0.5
Negative	15 (12.60%)	28 (23.52%)	
PR status			
Positive	15 (12.60%)	47 (39.49%)	P=0.7
Negative	19 (15.96%)	38 (31.96%)	

Discussion

Breast cancer in patients under 40 years of age is uncommon; however, it has generated considerable interest because of the associated unfavorable outcome reported in several studies (15,16,17,18). In relation to receptor status, tumours in young women have been predominantly reported as ER and PR negative, and have also been shown to over-express HER-2 (15,17,19,20,21).

Previous report indicated that young age was an independent prognosis factor for relapse and death in breast cancer patients. The mechanism underlying poor prognosis for young breast cancer was still undefined. As reported previously, adverse or aggressive biological features might be associated with young breast cancer patients. The subtype classification defined by IHC on ER and/or PR and HER2 were used widely to predict the prognosis of breast cancer patients, which also provided some clues for making therapeutic strategies. (22)

Our series include a high rate of advanced local forms (37.8%) of T2, (18.5%) of T3 and (1.7%) of T4, frequently accompanied by nodal involvement and a capsular rupture. Chan et al. reported (13 %) of T3 and no T4 (23). Lammers et al. (24) report (9 %) of T3 and (2 %) of T4. McAree et al found (11 %) of T3 and (2 %) of T4 (25). In our study the axillary lymph nodes were positive in (99.16%) of the patients. The median age at diagnosis was 35.20 years, and the majority had ductal histology (85%), grade II was (64.7%) of tumors and (18.5%) cases were grade III.

Thapa et al. reported that, in young breast cancer patients (≤ 40 years), larger tumor size, positive lymph nodes, grade II - III tumors were more common (12).

Recently, results of the largest prospective observation study evaluating the pathological features and outcome of women who were aged <40 years at diagnosis were reported (26). This UK-based study included 2,956 patients diagnosed with breast cancer between 2000 and 2008. The median age at diagnosis was 36 years, and the majority had ductal histology (86.5%), and grade III (58.9%) tumors. Node-positive disease and multifocality were

observed in 50.2% and 27%, respectively. One third of tumors were estrogen receptor (ER)-negative while one quarter was HER-2 positive. Very similar results were observed among the first 399 patients evaluated in the Young Women's Breast Cancer Study, which started in 2006 enrolling women aged 40 years or younger at diagnosis (27). This study further demonstrated high rates of lymphovascular invasion and lymphocytic infiltration, in (34%) and (24%) of patients, respectively.

A study from Mount Sinai Hospital showed that patients younger than 36 years had larger tumors and more nodal involvement (28).

Johnson had reported that the incidence of breast cancer with distant involvement at the time of diagnosis for women aged 25-39 years is increasing (29). In our study (14.3%) of the patients had metastatic disease at the time of diagnosis. This is higher than it was reported in the POSH study (2.5%) where women aged ≤ 40 years were recruited (30)

HER- 2 was found positive in (28.6%). It ranges from (19%) Gentilini according (31) to (34%) by Gonzalez (32). Agrup's study found (27%) of young patients who overexpressed HER-2 protein (33), Rodrigues et al. (34) found that HER-2 was over-expressed in a greater percentage of the younger population.

Hormone receptors were negative in (36.1%) for ER and (47.9%) for PR cases. Many studies across the globe have demonstrated that most of the breast tumors in young women are estrogen receptor ER and progesterone receptor PR negative indicating a poorer prognosis.(35,36,37). Assi et al., also highlighted that breast cancer in young women is associated with high grade tumors, hormone receptor negativity, and HER-2 overexpression. All these factors finally have a significant negative impact on the prognosis. Thus, more aggressive treatment modalities and follow-up needs to be considered for these groups of patients (38).

Luminal A was the most common subtype in this population, followed by Luminal B, triple negative and HER2 + subtypes. Our study is in parallel with the results of the Lin et al. They reported that Luminal A was the most common subtype in the young breast cancer patients (39,40). Collins et al revealed a lower proportion of Luminal A disease and a higher proportion of Luminal B disease in young breast cancer patients compared to numbers from population based studies (41). Other studies reported that the Luminal B and triple negative were the most common subtypes in patients younger than 35 years, while in the Luminal B and triple negative subtypes patients < 35 years had a higher risk of death (42).

Previous data indicated that HER-2 was amplified more commonly in higher histological grade than lower grade in breast cancer (43,44,45). Similar to these studies, our results showed that HER2 was associated with advanced histological grade in breast cancer ($p < 0.05$).

In our study, increasing tumor size was significantly associated with HER-2 positivity ($p < 0.05$). There was no association between HER-2 over-expression and histological type, lymph node status and hormonal status ($P > 0.05$). In clinical studies, over-expression of HER-2 gene has been associated with a number of other adverse prognostic factors, including the absence of ER, progesterone receptor (PR), Grade III lesions, young age, and the number of axillary lymph node metastases.(46,47).

However, the correlation between HER-2 over-expression and other prognostic markers has not been determined. Retrospective clinical data from relatively small patient cohorts have been reported, but no correlation was found between HER-2 over-expression and hormone receptor status, tumor grade, or lymph node involvement. (48)

Taucher has mentioned that HER-2 over expression was correlated significantly with ER/PR negativity, high tumour grade (grade III) and young age. (49)

The young adult population is a unique and complex breast cancer population, mandating a multidisciplinary approach with a variety of providers in order to optimize the comprehensive care available to this young population. Given the complexity and integrated nature of the treatment planning, an early multidisciplinary approach significantly improves the delivery of all modalities of care to optimize surgical, oncologic, and survivorship outcomes. (50)

Conclusion

Routine testing for HER-2 receptor over-expression is recommended in all patients of breast cancer, especially those presenting at a younger age, with a large size tumor and a negative ER/PR status because of its prognostic significance and impact on further management with herceptin and anthracyclines based chemotherapeutic agents. Our results showed that HER-2 over-expression correlates with aggressiveness parameters such as high histological SBR grade and larger tumor size.

References

1. Colleoni M, Rotmensz N, Robertson C, Orlando L, Viale G, Renne G, *et al.* Very young women (<35 years) with operable breast cancer: Features of disease at presentation. *Ann Oncol* 2002;13:273;9.
2. El Saghir NS, Seoud M, Khalil MK, Charafeddine M, Salem ZK, Geara FB, *et al.* Effects of young age at presentation on survival in breast cancer. *BMC Cancer* 2006; 6:194.
3. Ntekim A, Nufu FT, Campbell OB. Breast cancer in young women in Ibadan, Nigeria. *Afr Health Sci* 2009; 9:242- 6.
4. Kim JK, Kwak BS, Lee JS, Hong SJ, Kim HJ, Son BH, *et al.* Do very young Korean breast cancer patients have worst outcome? *Ann Surg Oncol* 2007;14:3385:91.
5. Swanson GM, Lin CS. Survival patterns among younger women with breast cancer: The effects of age, race, stage, and treatment. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1994;16:69;77.
6. Brinton LA, Sherman ME, Carreon JD, Anderson WF. Recent trends in breast cancer among younger women in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1643; 8.

7. Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women. *Cancer* 1996;77:97; 103.
8. 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. *J Am Coll Surg* 2009;208:341;7.
9. Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg* 2000;190:523;9.
10. Maggard MA, O'Connell JB, Lane KE, Liu JH, Etzioni DA, Ko CY. Do young breast cancer patients have worse outcomes? *J Surg Res* 2003;113:109; 13.
11. Kimura M, Yanagita Y, Fujisawa T, Koida T. Study of time course changes in annual recurrence rates for breast cancer: Data analysis of 2,209 patients for 10 years post- surgery. *Breast Cancer Res Treat* 2007;106:407; 11.
12. Thapa B, Singh Y, Sayami P, et al ; Breast cancer in young women from a low risk population in Nepal. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013; 14, 5095-9.
13. Bleyer A, Barr R, Hayes-Lattin B, et al; Biology and Clinical Trials Subgroups of the US National Cancer Institute Progress Review Group in Adolescent and Young Adult Oncology. The distinctive biology of cancer in adolescents and young adults. *Nat Rev Cancer*, 2008; 8, 288-98.
14. Keegan TH, DeRouen MC, Press DJ, Kurian AW, Clarke CA ; Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women. *Breast Cancer Res*, 2012; 14, 55
15. 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.
16. 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):A38-A46.
17. Bharat A, Aft RL, Gao F, Margenthaler JA: Patient and Tumor Characteristics Associated With Increased Mortality in Young Women (≤ 40 Years) With Breast Cancer. *Journal of Surgical Oncology* 2009, 100(3):248-251.
18. Foo CS, Su D, Chong CK, Chng HC, Tay KH, Low SC, Tan SM: Breast cancer in young Asian women: Study on survival. *Anz Journal of Surgery* 2005, 75(7):566-572.
19. McAree B, O'Donnell ME, Spence A, Lioe TF, McManus DT, Spence RA: Breast cancer in women under 40 years of age: a series of 57 cases from Northern Ireland. *Breast* 2010, 19(2):97-104.
20. Vrieling C, Collette L, Fourquet A, Hoogenraad WJ, Horiot JC, Jager JJ, et al: Can patient-, treatmentand pathology-related characteristics explain the high local recurrence rate following breast-conserving therapy in young patients? *European Journal of Cancer* 2003, 39(7):932-944.
21. Colleoni M, Rotmensz N, Robertson C, Orlando L, Viale G, Renne G, , et al: Very young women (< 35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. *Annals of Oncology* 2002, 13(2):273-279.
22. Kroman, N. et al. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ*. 320, 474–478 (2000).

23. Chan A, Pintilie M, Vallis K, Girourd C, Goss P. Breast cancer in women ≤ 35 years: review of 1 002 cases from a single institution. *An Oncol* 2000;11:1255-62.
24. Lammers EJ, Huibers P, van der Sangen MJ et al. Factors contributing to improved local control after mastectomy in patients with breast cancer aged 40 years or younger. *Breast* 2010;19:44-9.
25. McAree B, O'Donnell ME, Spence A, Lioe TF, McManus DT, Spence RA. Breast cancer in women under 40 years of age: a series of 57 cases Northern Ireland. *Breast* 2010;19:97-104.
26. Copson E, Eccles B, Maishman T, Gerty S, Stanton L, Cutress RI, et al, POSH Study Steering Group: Prospective observational study of breast cancer treatment outcomes for UK women aged 18–40 years at diagnosis: the POSH study. *J Natl Cancer Inst* 2013, 105:978–988.
27. Collins LC, Marotti JD, Gelber S, Cole K, Ruddy K, Kereakoglow S, et al: Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012, 131:1061–1066.
28. Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg*, 2000; 190, 523-9.
29. Johnson RH, Chien FL, Bleyer A ; Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009. *JAMA*, 2013: 309, 800-5.
30. Copson E, Maishman T, Gerty S, et al ; POSH study steering group, Eccles D. Ethnicity and outcome of young breast cancer patients in the United Kingdom: the POSH study. *Br J Cancer*, 2014. 110, 230-41.
31. Gentilini O, Botteri E, Rotmensz N et al. Breast-conserving surgery in 201 very young patients (< 35 years). *Breast* 2010;19: 55-8.
32. Gonzalez-Angulo AM, Broglio K, Kau SW et al. Women age ≤ 35 years with primary breast carcinoma: disease features at presentation. *Cancer* 2005;103:466-72.
33. Agrup M, Stål O, Olsen K, Winren S. C-erbB-2 overexpression and survival in early onset breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2000; 63, 23-9.
34. Rodrigues NA, Dillon D, Carter D, Parisot N, Haffty BG ; Differences in the pathologic and molecular features of intraductal breast carcinoma between younger and older women. *Cancer* 2003, 97, 1393-403.
35. 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. *J Am Coll Surg* 2009;208:341;7.
36. Bharat A, Aft RL, Gao F, Margenthaler JA. Patient and tumor characteristics associated with increased mortality in young women (≤ 40 Years) with breast cancer. *J Surg Oncol* 2009;100:248;51.
37. McAree B, O'Donnell ME, Spence A, Lioe TF, McManus DT, Spence RA. Breast cancer in women under 40 years of age: A series of 57 cases from Northern Ireland. *Breast* 2010; 19:97104.
38. Assi HA, Khoury KE, Dbouk H, Khalil LE, Mouhieddine TH, El Saghir NS. Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women. *J Thorac Dis* 2013;5:S28.

39. Lin CH, Liao JY, Lu YS, et al. Molecular subtypes of breast cancer emerging in young women in Taiwan: evidence for more than just westernization as a reason for the disease in Asia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009; 18, 1807-14.
40. Tang J, Wu CC, Xie ZM, Luo RZ, Yang MT; Comparison of Clinical Features and Treatment Outcome of Breast Cancers in Young and Elderly Chinese Patients. *Breast Care (Basel)*, 2011; 6, 435-440.
41. Collins LC, Marotti JD, Gelber S, et al; Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2012. 131, 1061-6.
42. Wei XQ, Li X, Xin XJ, Tong ZS, Zhang S. Clinical features and survival analysis of very young (age<35) breast cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013; 14, 5949-52.
43. Ross JS, Fletcher JA. The HER-2/neu Oncogene in Breast Cancer: Prognostic Factor, Predictive Factor, and Target for Therapy. *Oncologist*. 1998; 3(4):237–52.
44. Lal P, Tan LK, Chen B. Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123(4):541–6.
45. Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Hirota T, Tsugane S, Watanabe S, et al. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of *cerbB-2* gene in breast carcinoma. A retrospective analysis of 176 cases. *Cancer*. 1990; 65(8):1794–800.
46. Bamberger AM, Milde-Langosch K, Schulte HM, Loning T. Progesterone receptor isoforms, PR-B and PR-A, in breast cancer: correlations with clinicopathologic tumor parameters and expression of AP-1 factors. *Horm Res*. 2000; 54:32– 37.
47. Querzoli P, Marchetti E, Fabris G, et al. Immunohistochemical expression of c-erbB-2 in human breast cancer by monoclonal antibody: correlation with lymph node and ER status. *Tumori*. 1990;76:461–464.
48. Sutterlin MW, Haller A, Gassel AM, et al. The correlation of c-erbB-2 oncoprotein and established prognostic factors in human breast cancer. *Anticancer Res*. 2000; 20:5083–5088.
49. Taucher S, Rudas M, Mader RM, Gnant M, Dubsy P, Bachleitner T, *et al*. Do we need HER-2/neu testing for all patients with primary breast carcinoma? *Cancer*. 2003; 982:547–53.
50. Reyna C, Lee MC. Breast cancer in young women: special considerations in multidisciplinary care. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. 2014;7 419–429

5-2 Présentation de l'article 2

Overexpression Status of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor & Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 in Breast Cancer Young Female Patients from Western

NESRINE M MRABENT, NORIA HARIR, FERIEL SELLAM, SOUMIA ZEGGAI,
ABDENACER TOU, MUSTAPHA DIAF, RACHIDA SALAH AND SORAYA
MOULESSHOUL

Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical sciences,
Vol: 6, Issue: 3

Contexte :

Le cancer du sein survient rarement chez les femmes jeunes. Environ 2% des patientes atteintes de cancer du sein ont moins de 35 ans **(Colleoni et al., 2002)**. Le cancer du sein à un jeune âge a été observé comme ayant un comportement plus agressif avec un pronostic défavorable par rapport aux patientes plus âgées **(Colleoni et al., 2002 ; El Saghir et al., 2006)**.

Dans le cancer du sein, l'âge jeune se réfère aux femmes âgées de 40 ans et moins **(Ntekim et al., 2009; Kim et al., 2007)** . Chez les femmes jeunes, l'incidence de la maladie est faible (moins de 17 cas pour 100.000). Cependant, plusieurs études suggèrent que le cancer du sein dans ce groupe de patientes est plus agressif ; associé à de moins bons résultats par rapport au groupe de patientes plus âgées **(Chung et al., 1996; Gnerlich et al., 2009)**.

Le cancer du sein chez les femmes jeunes est susceptible d'avoir un indice de prolifération élevée avec une invasion lymphovasculaire **(Thapa et al., 2013)**. De nombreuses études ont confirmé la proportion accrue du statut négatif des récepteurs hormonaux (RH) corrélée à une surexpression de HER2 **(Bleyer et al., 2008; Keegan et al., 2012)**.

Le but de cette enquête épidémiologique était d'étudier les caractéristiques cliniques et biologiques du cancer du sein survenant chez des patientes jeunes (≤ 40 ans) atteintes de cancer du sein et de déterminer la fréquence du récepteur HER2 ainsi que sa corrélation avec différents paramètres clinico-pathologiques

. Résumé des résultats

- 119 patientes atteintes de cancer du sein ont été incluses dans l'étude.
- L'âge médian était de 35,20 ans (21-40).
- Le type histologique le plus fréquent était le carcinome canalaire infiltrant (85%). Le carcinome lobulaire était retrouvé dans (7.3%) suivi par le carcinome inflammatoire (4.5%) et médullaire (1.1%).
- Les tumeurs étaient principalement de grade II (64.7%), (16.8%) des cas étaient de grade I, et (18.5%) des cas étaient de grade III.
- T2 (tumeur mesurant 2-5cm) a été trouvée dans (37.8%) des cas, tandis que T1 (tumeur mesurant < 2 cm) et T3 (tumeur mesurant > 5 cm) ont été respectivement notés chez respectivement 42% et 18.5% des cas.
- L'invasion ganglionnaire était soulignée dans (99.16%) des cas.
- 14.3% des patientes avaient une tumeur métastatique.
- Le pourcentage du statut ER était négatif dans 36.1% des cas, suivi par le statut PR négatif dans 47.9% des cas.
- Le récepteur HER-2 était positif dans (28.6%) des cas.
- Le sous-type dominant était le type luminal A (61.34%), suivi par HER2 + (7.56%), le sous-type luminal B était retrouvé dans 21% des cas et 10,08% était du sous type triple négatif.
- La surexpression de HER2 était significativement corrélée avec la taille tumorale ($P = 0,001$) et le grade tumorale ($P = 0,01$).

- Aucune corrélation n'a été observée entre la surexpression de HER-2 et le type histologique ou les ganglions lymphatiques ($P > 0,05$). L'expression de ER et PR n'a montré aucune corrélation significative avec la surexpression de HER2 ($P > 0,05$).

Chez les jeunes femmes, nos résultats ont montré que la surexpression de HER2 est en corrélation avec les paramètres de mauvais pronostic tels que le haut grade histologique SBR et la taille tumorale élevée. Ainsi, les tests de routine pour mettre en évidence la surexpression du récepteur HER2 sont recommandés chez toutes les patientes ayant un cancer du sein, en particulier celles se présentant à un âge jeune, avec une tumeur de taille élevée et un statut ER / PR négatif.

Evaluation of Clinical Features and HER-2 Overexpression in Young and Old Algerian Female Adults with Breast Cancer: a Comparative Study of 628 Cases

Authors: Meriem.N. MRABENT¹, Noria HARIR¹, Ferial SELLAM¹, Soumia ZEGGAI¹,
Abdenacer TOU², Rachida SALAH¹, Soraya MOULESSHOUL¹

1 : Laboratoire de Microbiologie Moléculaire, Proteomics et Santé, Département de Biologie,
UDL-SBA, UDL-SBA, Ex- ITMA, Sidi Bel Abbes, Algérie

2 : Pathology department ; Sidi-bel-Abbes University Hospital

Email: MRABENT Meriem Nesrine – nina788@live.com

PhD candidate in Cellular Biology and Physiology

Corresponding Author: Ferial SELLAM PhD candidate in Cellular Biology and Physiology

Phone number: 00213550815183

Email: mayflowerboat@live.fr

Abstract

Background: Breast cancer among young women is a rare pathology, but is known to have a more aggressive behavior and poorer outcome.

Aims: The objective of this survey is to make a comparative study in order to evaluate the clinical pathological characteristics of breast carcinoma in women aged below 40 years versus those aged over 40 years in Western Algeria.

Materials and Methods: All cases of breast carcinoma mastectomy specimens recorded during the period of January 2008 till December 2013 were included in the study. Clinical and histopathological data of all cases were reviewed and correlated.

Results: 628 mastectomy specimens were received, among which, 119 cases (18.9%) were below 40 years; whereas 509 cases (81.1%) were above 40 years of age. We found that younger patients (aged < 40) expressed more HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) protein (28.6% vs 26.3%). than older women (aged > 40). Tumor grade was of a significant difference between the two groups ($p = 0.02$). Less G1 (grade1) tumors (16.8% vs 28.5%) but more G2 (grade2) tumors were observed in the younger group.

Conclusion: This study shows that breast cancer at a young age is associated with a more unfavorable prognosis compared with the disease arising in older patients.

Keywords: Breast carcinoma, HER-2, clinical-pathological parameters, old and young women, Western Algeria.

Introduction

The world's most common cancer and the second main cause of cancer death among women in the United States is breast cancer (1). The mean age at diagnosis is about 63 years in the United States and Western Europe. Studies show that breast cancer in younger women is unique and needs a different treatment strategy than what might be used for older women with breast cancer (2, 3).

In Algeria, breast cancer is the first leading cancer for women, with 11 000 new cases/year. Epidemiological features of breast cancer appear to be different in developing countries compared to Western countries, with notably large proportions of young patients in Algeria, and an average age of 42 years old (Representing 38-40 % of female cancers). Locally advanced disease is very common and total mastectomy is the most commonly performed surgery (4). Actually, it was reported that the proportion of all breast cancer cases diagnosed before age 50 was substantially higher (47.3% in average) among the less developed countries compared to the (18.5% in average). Specifically, 45.7%, 48.4% and 56.9% of breast cancer patients were diagnosed before age 50 in China, India and Algeria, whilst corresponding proportions were 21.5%, 19.1% and 15.9% in Australia, UK and Denmark (5).

Since breast cancer in older women is more common, they have usually been considered as the centre of attention so the most studied kinds breast cancer have focused on older women (6). According to many studies breast cancer in younger age groups tends to be more advanced and more aggressive than older age groups (2,3,6,7). In another hand; breast tumors in younger age groups were more likely to be of a higher grade, negative hormone receptor, poorly differentiated, greater extent of lymphovascular invasion, and overexpression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) than breast tumors in older age groups (2,3). The objective of this survey is to make a comparative study in order to evaluate the

clinical pathological characteristics of breast carcinoma in women aged below 40 years versus those aged over 40 years in Western Algeria.

Materials and Methods

This cross sectional retrospective study was done at the department of pathology at Sidi Bel Abbes University Hospital and department of pathology at Oran military Hospital in Western Algeria from 2008 to 2013. All the patients who were diagnosed with breast carcinoma were selected for the study. Immunohistochemical staining of HER-2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2), ER (Estrogen Receptor) , and PR (Progesterone Receptor) was applied routinely. HER-2 expression was evaluated according to the published scoring guidelines of the '*HercepTest*' (Dako, Carpinteria, CA). Hercep test of score 3+ was considered as positive, those with +2 were further evaluated by FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). Data were analyzed in order to identify any association between age and clinical-pathological parameters.

Statistical analysis

A statistical analysis was used to evaluate correlations between age and clinical-pathological parameters and also the expression of HER-2, ER and PR . It was done using SPSS Inc. software (Version20). Relationships between qualitative parameters were determined using Khi-deux Pearson Test. Statistical significance was defined as ($p < 0.05$).

Results

Patients were divided into two groups according to age factor (young group < 40 vs old group > 40). Out of the total 628 mastectomy specimens, 119 cases (18.9%) were below 40 years and 509 (81.1%) were above 40 years old. Invasive ductal carcinoma was the most common tumor groups : 103 cases (86.6%%) were below 40 years and 431 (84.7%) were above 40 years old followed by lobular carcinoma groups 10 cases (8.4%) were below 40 years and 36

(7.1%) were above 40 years old in both age. Comparing the size of the tumor mass and nodal involvement between the two age groups, we found that the younger patients had a larger size of the tumor mass T2 (37.8% vs 35.6%), T3 (18.5% vs 13.4%) and slightly greater number of nodes involved N2 (52.1% vs 43%). Tumor grade was of a significant difference between the two groups ($p = 0.021$). Less G1 tumors (16.8% vs 28.5%) but more G2 (64.7% vs 52.3%) tumors were observed in the young age group .

PR negative status was slightly high (47.9% vs 42.8%) in young age group in comparison with older women group. There are no differences in ER status between two age groups ($p=0.902$). We found that the younger patients express more HER2 protein (28.6% vs 26.3%) than elderly women ($p=0.060$). All the Clinical pathological Features according to age group are given in Table-1. HER2 status, ER and PR status according to age group are represented in Table 2.

Table-1: Clinicopathological factors according to age group

	Below 40 years (n=119)	Above 40 years (n=509)	P Value
Histopathology			
Invasive ductal carcinoma	103 (86.6%)	431 (84.7%)	P=0.633
Lobular carcinoma	10 (8.4%)	36 (7.1%)	
Others	6 (5%)	42 (8.3%)	
Tumor Size			
T1	50 (42%)	251 (49.3%)	P=0.395
T2	45 (37.8%)	181 (35.6%)	
T3	22 (18.5%)	68 (13.4%)	
T4	2 (1.7%)	9 (1.8%)	

Lymph nodes			
N0	1 (0.8%)	11 (2.2%)	P=0.257
N1	45 (37.8%)	233 (45.8%)	
N2	62 (52.1%)	219 (43%)	
N3	11 (9.2%)	46 (9%)	
Tumor grade			
G1	20 (16.8%)	145 (28.5%)	P=0.021
G2	77 (64.7%)	266 (52.3%)	
G3	22 (18.5%)	98 (19.3%)	
Metastasis			
M0	102 (85.7%)	437 (85.9%)	P=0.968
M1	17 (14.3%)	72 (14.1%)	

Table 2: HER2, ER and PR status according to age group

	Below 40 years (n=119)	Above 40 years (n=509)	<i>P Value</i>
HER-2 (IHC and/or FISH)			
Positive	34 (28.6%)	134 (26.3%)	<i>P=0.060</i>
Negative	85 (71.5%)	375 (73.3%)	
ER status			
Positive	76 (63,9%)	322 (63,3%)	<i>P=0.902</i>
Negative	43 (36,1%)	187 (36,7%)	

PR status			
Positive	62 (52,1%)	291 (57,2%)	<i>P=0.316</i>
Negative	57 (47,9%)	218 (42,8%)	

Discussion

Breast cancer at young age is associated with a more unfavorable prognosis compared with the disease arising in older premenopausal patients (8). The reasons for worse outcomes in younger women are complex and are likely related to multiple factors, including unfavorable disease biology and delays in diagnosis (9).

Breast cancer in young patients tends to be presented in a more advanced stage of the disease with larger palpable tumors, more lymph node involvement and extensive intraductal component (10). They have also a greater chance of endocrine unresponsive tumor, and are more likely to be presented with a higher grade, more extensively proliferating and vessel invading disease (11).

Histopathological analysis showed that the majority of tumors in both groups were invasive ductal carcinomas. Similarly, Moran et al. (12) reported a majority of young patients had invasive ductal histopathology and demonstrated lower frequencies for the other tumor subtypes as well. Invasive lobular type is generally more common in older patients. Current literature supports the hypothesis that breast cancer is generally more aggressive in younger women compared to older women (13). Consensus has been reached that breast cancer in young patients is often presented with more aggressive biological behavior, such as advanced stage, less ER positive expression, higher histological grade and more lymph-node invasion (14,15). Likewise, in our study, the larger size of the tumor mass, the high grade and the node positive proportion were more noted in young patients (age < 40 years) than in old patients.

Our research, similarly to other researchers showed more HER2 positivity in patients of young age (16). Therefore, we might assume that HER2 over-expression is the risk factor of poor prognosis. That was in accordance with some literatures (17). So other large multi-institution analyses are required to confirm that HER2 is an independent prognosis factors for young patients.

Our study showed that younger patients had more PR negative cancer 57 (47.9%) in comparison with older women group 218 (42.8%). These data are consistent with previous studies from other countries (18). In the present study, tumor grade was significantly different between the two groups, with less G1 tumors (16.8% vs 28.5%) but more G2 and G3 tumors in the young group. This trend of higher tumor grade at diagnosis can be explained by the more rapid proliferation features of breast cancer in young patients compared to older patients (19, 20).

Moreover, delayed diagnosis is probably partly due to the fact that the breast tissue of younger women is denser and therefore it is more difficult to detect breast cancer by physical examination and mammography (21, 22). Furthermore, due to the lower incidence of breast cancer diagnosis at a young age, both women and physicians might perform breast examinations less often and dismiss putative abnormalities (23).

Conclusion

This study shows that breast cancer at a young age is associated with a more unfavorable prognosis compared with the disease arising in older patients. Thus, particular attention to the diagnostic plans; therapeutic and psychological are imperatively required to help these women overcome the heavy burden of this disease.

Conflict of interest: any

Grant support: any

References

1. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures, 2004. 2004;3:10.
2. Anders CK, Hsu DS, Broadwater G, et al. Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. *J Clin Oncol*. 2008;26:3324–30.
3. Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. Elevated Breast Cancer Mortality in Women Younger than Age 4s Compared with Older Women Is Attributed to Poorer Survival in Early-Stage Disease. *J Am Coll Surg*. 2009;208:341–7.
4. Belkacem Y, Boussen H, Hamdi Cerif M, Benider A, Errihani H, Mrabti H, Bouzid K, Bensalem A, Fettouki S, Ben abdelah M, Abid L, Gligorov J. Epidémiologie des cancers du sein de la femme jeune en Afrique du nord, 32es J de la SFSPM, Strasbourg, nov 2010
5. Ghiasvand R, Adami H, Harirchi I, Rahim et al. Higher incidence of premenopausal breast cancer in less developed countries; myth or truth? *BMC Cancer* 2014, 14:343
6. El Saghir NS, Seoud M, Khalil MK, et al. Effects of young age at presentation on survival in breast cancer. *BMC Cancer*. 2006;6:194.
7. Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg*. 2000;190:523–9.
8. Livi L, Meattinia I, Saieva C, et al. The impact of young age on breast cancer outcome. *EJSO* 2010; 36: 639-645.
9. Freedman RA, Partridge AH. Management of breast cancer in very young women. *The Breast* 2013; 22: S176-S179.
10. Francis PA. Optimal adjuvant therapy for very young breast cancer patients. *The Breast* 2011; 20: 297-302.
11. Colleoni M. Debate: The biology of breast cancer in young women is unique-in favour. *The Breast* 2012; 21S1: S1–S9.
12. Moran MS, Yang Q, Haffty BG. The Yale University experience of early-stage invasive lobular carcinoma and invasive ductal carcinoma treated with breast conservation treatment: analysis of clinical-pathologic features, long-term outcomes, and molecular expression of COX-2, Bcl-2, and p53 as a function of histology. *The Breast Journal* 2009; 15(6): 571-578.
13. Aebi S, Castiglione M. The enigma of young age. *Ann Oncol* 2006; 17(10): 1475-1477.

14. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2013;24(9):2206–23.
15. Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg*. 2000;190(5):523–9.
16. Wei XQ, Li X, Xin XJ, Tong ZS, Zhang S. Clinical features and survival analysis of very young (age < 35) breast cancer patients. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2013;14(10):5949–52.
17. Canello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, et al (2010). Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol*, **21**, 1974-81.
18. Molino A, Giovannini M, Auriemma A, Fiorio E, Mercanti A, Mandara M, et al. Pathological, biological and clinical characteristics, and surgical management, of elderly women with breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2006;59(3):226–33.
19. Colleoni M, Rotmensz N, Robertson C, Orlando L, Viale G, Renne G, Luini A, Veronesi P, Intra M, Orecchia R, Catalano G, Galimberti V, Nole F, Martinelli G, Goldhirsch A: Very young women (< 35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. *Ann Oncol* 2002;13:273– 279.
20. Maggard MA, O'Connell JB, Lane KE, Liu JH, Etzioni DA, Ko CY: Do young breast cancer patients have worse outcomes? *J Surg Res* 2003; 113:109–113.
21. Althuis MD, Brogan DD, Coates RJ, Daling JR, Gammon MD, Malone KE, Schoenberg JB, Brinton LA: Breast cancers among very young premenopausal women (united states). *Cancer Causes Control* 2003;14:151–160.
22. Schreer I: Dense breast tissue as an important risk factor for breast cancer and implications for early detection. *Breast Care (Basel)* 2009;4:89–92.
23. Montella M, Crispo A, D'Aiuto G, De Marco M, de Bellis G, Fabbrocini G, Pizzorusso M, Tamburini M, Silvestra P: Determinant factors for diagnostic delay in operable breast cancer patients. *Eur J Cancer Prev* 2001;10:53–59.

5-3 Présentation de l'article 3

Evaluation of Clinical Features and HER-2 Overexpression in Young and Old Algerian Female Adults with Breast Cancer: a Comparative Study of 628 Cases.

NESRINE M MRABENT, NORIA HARIR, FERIEL SELLAM, SOUMIA ZEGGAI,
ABDENACER TOU, MUSTAPHA DIAF, RACHIDA SALAH AND SORAYA
MOULESSHOUL

Contexte :

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent au monde et la deuxième principale cause de décès par cancer chez les femmes aux États-Unis (**American Cancer Society., 2010**). L'âge moyen au moment du diagnostic est d'environ 63 aux États-Unis et en Europe occidentale. Des études montrent que le cancer du sein chez les jeunes femmes est unique et a besoin d'une stratégie de traitement différente de ce que pourrait être utilisé pour les femmes âgées atteintes d'un cancer du sein (**Anders et al., 2008; Gnerlich et al., 2009**).

En Algérie, le cancer du sein est le premier cancer touchant les femmes, avec 11 000 nouveaux cas / an, avec notamment une forte proportion de jeunes patientes, et un âge moyen de 42 ans (**Belkacem et al., 2010**).

En fait, il a été rapporté que la proportion de tous les cas de cancer du sein diagnostiqués avant 50 ans était nettement plus élevée, plus précisément, 45.7%, 48.4% et 56.9% des patientes atteintes de cancer du sein ont été diagnostiqués avant 50 ans en Chine, l'Inde et l'Algérie, tandis que les proportions correspondantes étaient de 21.5%, 19.1% et 15.9% en Australie, au Royaume-Uni et le Danemark (**Ghiasvand et al., 2014**).

Selon plusieurs études le cancer du sein retrouvé dans les groupe de patientes jeunes tend à être plus avancé en stade et plus agressif que le groupe des patientes plus âgées (**Anders et**

al., 2008; Gnerlich et al., 2009; Brinton et al., 2008; . Chung et al., 1996). D'une autre part les tumeurs du sein dans le groupe de patientes jeunes étaient plus susceptibles d'avoir un grade élevé, des récepteurs hormonaux négatifs, une invasion lymphovasculaire, et une surexpression du récepteur HER2 que les tumeurs retrouvées chez les groupes plus âgés **(Anders et al., 2008; Gnerlich et al., 2009).**

L'objectif de notre travail était de réaliser une étude comparative afin d'évaluer les caractéristiques pathologiques et cliniques de cancer du sein chez un groupe de patientes âgées de moins de 40 ans par rapport à un groupe de patientes âgées de plus de 40 ans dans la région de l'Ouest Algérien.

Résumé des résultats

- En fonction de l'âge, deux groupes de patientes ont été établis (groupe de patientes jeunes dont l'âge était <40 ans vs groupe de patientes âgées de plus de 40 ans).
- Sur un total de 628 échantillons de mastectomie, 119 cas (18.9%) étaient en dessous de 40 ans et 509 (81,1%) étaient au-dessus de 40 ans.
- Le carcinome canalaire infiltrant était dominant dans les 2 groupes: 103 cas (86.6 %) étaient au-dessous de 40 ans et 431 (84.7%) étaient au-dessus de 40 ans, suivie par le carcinome lobulaire 10 cas (8.4%) étaient en dessous de 40 ans et 36 (7.1%) étaient au-dessus de 40 ans.
- En comparant la taille de la tumeur et l'envahissement ganglionnaire entre les deux groupes, nous avons constaté que le groupe des jeunes patientes avait une taille tumorale plus élevée T2 (37.8% vs 35.6%), T3 (18.5% vs 13.4%) ainsi qu'un nombre élevé de ganglions lymphatiques infiltrés N2 (52.1% contre 43%). Le grade de la tumeur était significativement différent entre les deux groupes ($p = 0.021$). Moins de

tumeurs G1 (16.8% vs 28.5%), mais plus de tumeurs G2 (64.7% vs 52.3%) ont été observées dans le groupe des jeunes patientes.

- Le statut PR négatif était légèrement élevé (47.9% vs 42.8%) dans le groupe des jeunes patientes en comparaison avec le groupe des patientes plus âgées.
- Pas de différence observée dans le statut ER entre les deux groupes ($p = 0,902$).
- Nous avons constaté que la surexpression de la protéine HER2 a été plus élevée dans le groupe des jeunes patientes (28,6% vs 26,3%), ($p = 0,060$).

Cette étude montre que le cancer du sein à un âge jeune est associé à un pronostic plus défavorable par rapport aux patientes plus âgées. Ainsi, une attention particulière en terme diagnostique, thérapeutique et psychologique est impérativement nécessaire pour aider ces femmes à surmonter le lourd fardeau de cette maladie.

5-4 Résumé des résultats complémentaires : Evaluation immunohistochemique de l'activation de PStat3 (Tyr705) et de la surexpression de Stat3 dans des tumeurs HER2 positives.

- Cette étude a inclus 30 patientes présentant un cancer du sein HER2 positif ayant subi une mastectomie radicale modifiée (MRM).
- L'âge moyen des patientes était de 53.40 ans, allant de 35 à 75 ans.
- Le carcinome canalaire infiltrant était le type histologique le plus retrouvé avec (76.7%) des cas, suivi par le carcinome lobulaire infiltrant et le carcinome mixte infiltrant avec (10%) et avec un seul cas de carcinome adénoïde kystique (3.3%).
- La taille tumorale T2 dominait dans notre étude avec (73.3%) suivie par T3 avec (16.7%) des cas.
- L'infiltration ganglionnaire était retrouvée dans (83.3%) des cas.
- Le grade tumoral G2 était le plus commun dans notre série avec (66.7%) suivi par le grade G3 avec (20%) des cas.
- L'expression de ER et PR était retrouvée dans respectivement (66,7%) et (33,3%).
- La surexpression nucléaire de PStat3 (Tyr705) était retrouvée dans (16.7%) des cas.
- La surexpression cytoplasmique de Stat3 était retrouvée dans (46.7%) des cas.
- Une corrélation positive significative était retrouvée entre la surexpression de Stat3 et la taille tumorale ($r=0.081$; $p=0.014$) ainsi qu'avec le statut hormonal ER/PR ($r=0.318$; $p=0.028$).
- Une corrélation négative significative était retrouvée entre la surexpression de Stat3 et le grade tumoral ($r= -0.129$; $p=0.001$), également avec le type histologique ($r= -0.035$; $p=0.001$) et avec le statut ganglionnaire ($r= -0.085$; $p=0.001$),

- Une corrélation négative significative était retrouvée entre la surexpression de PStat3 et le type histologique ($r = -0.188$; $p = 0.001$), également avec la taille tumorale ($r = -0.098$ $p = 0.048$) et avec le statut hormonal ($r = -0,102$ $p = 0.020$),
- Aucune corrélation n'a été observée entre la surexpression de PStat3 et le grade tumoral ($r = 0.074$, $p = 0.248$) ainsi qu'avec le statut ganglionnaire ($r = 0.260$, $p = 0.072$).

Table 1: Les caractéristiques clinico-pathologiques des patientes (n=30)

Type Histologique	Carcinome Canalaire Infiltrant	23 (76.7%)
	Carcinome Lobulaire Infiltrant	3 (10%)
	Carcinome Mixte Infiltrant	3 (10%)
	Carcinome Adénoïde Kystique	1 (3.3%)
Taille Tumorale	T1	1 (3.3%)
	T2	22 (73.3%)
	T3	5 (16.7%)
	T4	2 (6.7%)
Ganglions Lymphatiques	N negative	5 (16.7%)
	N positive	25 (83.3%)
Grade Tumorale	Grade1	4 (13.3%)
	Grade2	20 (66.7%)
	Grade3	6 (20%)
ER	Negative	10 (33.3%)
	Positive	20 (66.7%)
PR	Negative	20 (66.7%)
	Positive	10 (33.3%)
PStat3 (Tyr705)	Negative	25 (83.3%)
	Positive	5 (16.7%)
Stat3	Negative	16 (53.3%)
	positive	14 (46.7%)

Table 2: Corrélation de PStat3 avec les paramètres clinico-pathologiques

	PStat3 +ve	PStat3 -ve	Valeur de p
Type Histologique			
Carcinome Canalaire Infiltrant	4 (13.33%)	19 (63.33%)	
Carcinome Lobulaire Infiltrant	3 (10%)	0 (0%)	
Carcinome Mixte	2 (6.66%)	1 (3.33%)	P=0.001
Carcinome Adénoïde Kystique	1 (3.33%)	0 (0%)	
Taille Tumorale			
T1	0 (0%)	1 (3.33%)	
T2	4 (13.33%)	18 (60%)	
T3	1 (3.33%)	4 (13.33%)	P=0.048
T4	0 (0%)	2 (6.66%)	
Ganglions Lymphatiques			
Negative	0 (0%)	5 (%)	
1-3	1 (%)	5 (16.66%)	
4-9	0 (0%)	7 (23.33%)	P=0.072
≥10	4 (13.33%)	8 (26.66%)	
Grade Tumorale			
I	0 (0%)	4 (13.33%)	
II	4 (13.33%)	16 (53.33%)	P=0.248
III	1 (3.33%)	5 (16.66%)	
Statut ER			
Positive	1 (3.33%)	9 (30%)	P=0.020
Negative	4 (13.33%)	16 (53.33%)	
Statut PR			
Positive	1 (3.33%)	9 (30%)	P=0.020
Negative	4 (13.33%)	16 (53.33%)	

Table 3: Corrélation de Stat3 avec les paramètres clinico-pathologiques

	Stat3 +ve	Stat3 -ve	Valeur de p
Type Histologique			
Carcinome Canalaire Infiltrant	11 (36.66%)	12 (40%)	
Carcinome Lobulaire Infiltrant	1 (3.33%)	2 (6.66%)	
Carcinome Mixte Infiltrant	2 (6.66%)	1 (3.33%)	P=0.001
Carcinome Adénoïde Kystique	0 (0%)	1 (3.33%)	
Taille Tumorale			
T1	1 (3.33%)	0 (0%)	
T2	9 (13.33%)	13 (60%)	
T3	2 (6.66%)	3 (10%)	P=0.014
T4	2 (6.66%)	0 (0%)	
Ganglions Lymphatiques			
Negative	4 (13.33%)	1 (3.33%)	
1-3	2 (6.66%)	4 (13.33%)	
4-9	3 (10%)	4 (13.33%)	P=0.001
≥10	5 (16.66%)	7 (23.33%)	
Grade Tumorale			
I	3 (10%)	1 (3.33%)	
II	8 (26.66%)	12 (40%)	P=0.001
III	3 (10%)	3 (10%)	
Statut ER			
Positive	7 (23.33%)	3 (10%)	P=0.028
Negative	7 (23.33%)	13 (43.33%)	
Statut PR			
Positive	7 (23.33%)	3 (10%)	P=0.028
Negative	7 (23.33%)	13 (43.33%)	

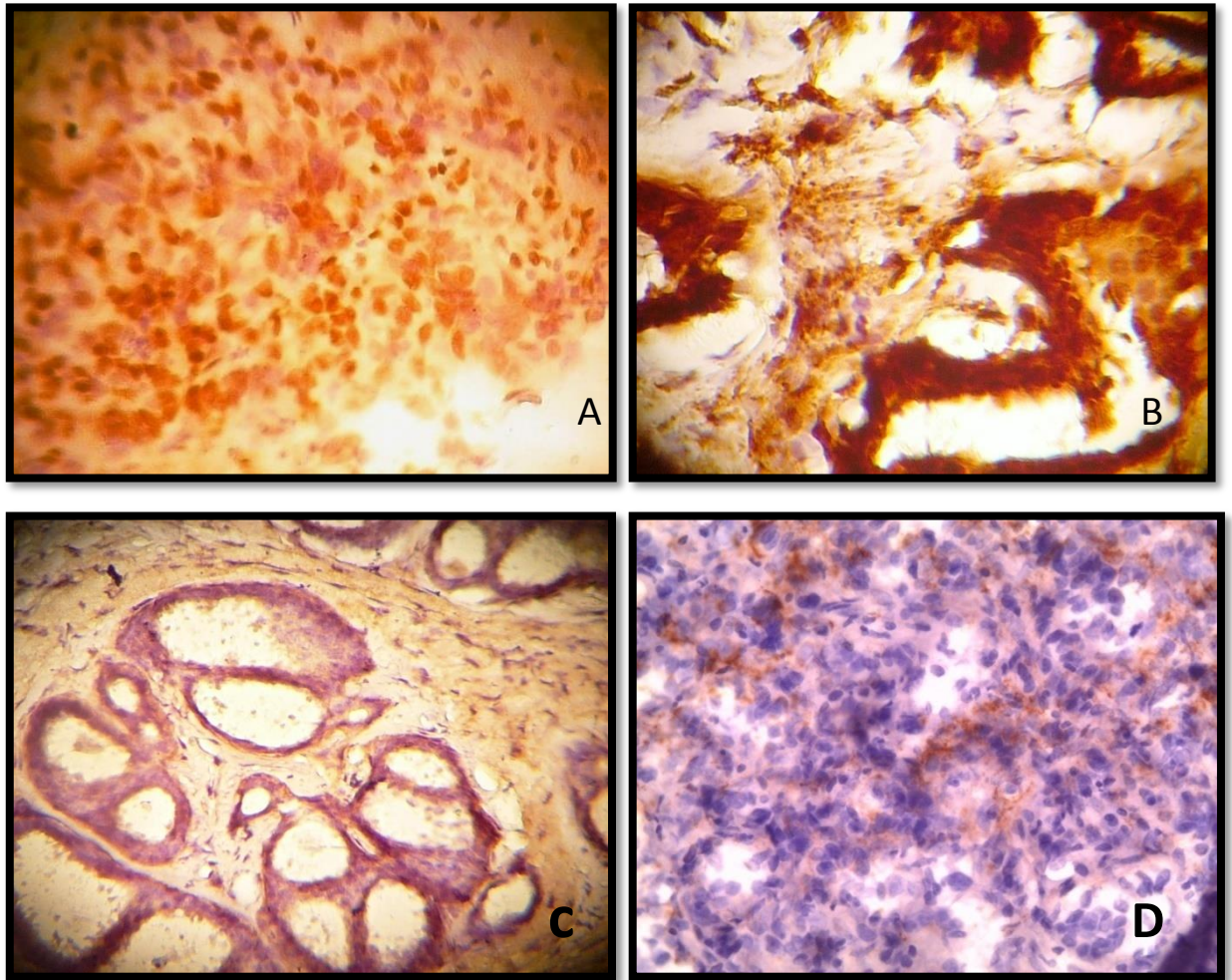


Figure 11: Tissus de cancer du sein surexprimant HER2 représentant une coloration pour STAT3 par immunohistochimie.

(A) carcinome canalaire infiltrant avec une coloration nucléaire intense pour PSTAT3 (Tyr705) (X200), (B) carcinome canalaire infiltrant avec un marquage cytoplasmique intense pour STAT3 (X200), (C) carcinome adénoïde kystique avec une coloration cytoplasmique modérée pour STAT3 (X200), (D) carcinome canalaire infiltrant STAT3 négatif (X200).

Discussion

Discussion

Le cancer du sein constitue une pathologie hétérogène du fait de sa grande variété histologique mais également du fait de l'évolution clinique et de l'efficacité variable des traitements. Il représente le cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde. Dans les pays développés, il atteint une femme sur 11 et il représente la première cause de décès par cancer chez la femme **(Plu-Bureau et al., 2002)**. En France, on enregistre plus de 37000 nouveaux cas par an (35% de tous les cancers) **(Hill et al., 2003)**.

Au Maroc, il représente le premier cancer de la femme devant celui du col utérin, il représente également la cause de mortalité la plus fréquente chez la femme entre 35 et 55ans **(El Kacemi., 2005)**. En Algérie, le cancer du sein occupe la première place en terme d'incidence dans les trois principaux registres algériens. Son ASI (l'incidence normalisé selon l'âge) est de 21.6, 17.03 et 34.49 pour 105 femmes dans les registres des régions suivantes : Alger, Sétif et Oran **(Abid., 2009)**

Les facteurs cliniques et pathologiques comme la taille tumorale, le type histologique, le grade histologique, les métastases ganglionnaires, les embolies vasculaires, la prolifération, la présence d'une composante in situ et l'âge peuvent servir comme facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse à une thérapie adjuvante **(Tavassoli et al., 2004)**. Cependant, les nouveaux facteurs pronostiques et prédictifs sont nécessaires pour distinguer des sous groupes de carcinomes qui paraissent homogènes selon les critères cliniques et pathologiques classiques, mais qui ont des aspects biologiques différents. Parmi ces facteurs les récepteurs de l'œstrogène et de la progestérone et de HER-2 dont l'expression est extrêmement importante dans la biologie du cancer du sein vu qu'elle apporte au clinicien une information d'ordre pronostique et thérapeutique **(Almasri., 2005)**. En effet, la présence de l'un des deux récepteurs stéroïdiens, dont la recherche fait partie du bilan initial des cancers du sein, est le témoin d'un bon pronostic **(Vilain et al., 1997)** et elle est un facteur prédictif d'une réponse

favorable au traitement hormonal **(Treilleux et al., 2002)** Quant à la détection de HER2, qui est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase, elle est devenue de plus en plus essentielle depuis l'approbation, en 1998, de l'anticorps monoclonal Trastuzumab (Herceptine) par la FDA (food and drug administration, USA), pour le traitement du cancer du sein métastatique surexprimant la protéine HER2. Plusieurs études dans les 15 dernières années ont montré que la surexpression de HER2 est un facteur prédictif d'une agressivité clinique indépendant des autres facteurs pronostiques connus **(Aziz., 2001)**. Il est aussi un facteur prédictif d'une mauvaise réponse à l'hormonothérapie et aux protocoles standards de la chimiothérapie **(Ménard et al., 2000)**.

La surexpression de HER2 est associée à une mauvaise réponse au doxorubicine, au cyclophosphamide, méthotrexate et fluorouracil (CMF), et au paclitaxel, alors que le tamoxifène s'est révélé inefficace et même nuisible chez les patientes HER2 positif **(Ménard et al., 2000)**.

Les essais cliniques ont montré l'intérêt du traitement par le Trastuzumab (commercialisé sous le nom de l'Herceptine) chez les patientes qui présentent un carcinome mammaire infiltrant surexprimant la protéine HER2. Ce traitement consiste à l'utilisation d'un anticorps monoclonal dirigé contre le domaine extracellulaire p185 de la protéine HER2. Il a été produit par humanisation d'un anticorps monoclonal murin (MAB) 4D5, un puissant inhibiteur de la croissance de cellules tumorales mammaires humaines qui surexpriment HER2. Les premiers essais thérapeutiques ont intéressé le cancer du sein métastatique. Plus récemment, plusieurs études randomisées prospectives ont montré que le trastuzumab adjuvant permet de réduire le risque de récurrence et de mortalité chez les patientes exprimant HER2 et porteuses d'un cancer du sein à un stade précoce. Cela a abouti à son utilisation comme traitement adjuvant et à son approbation par le FDA en 1998. Cependant, pour que le traitement soit efficace, et en raison de ses effets secondaires dont la cardiotoxicité, les tests utilisés pour détecter la surexpression

ou l'amplification du gène doivent être fiables et précis (**Lauren et al., 2003 ; Walker et al., 2008 ; Penault-Llorca et al., 1999 ; Grondin et al., 2006 ; Rhodes Antony et al., 2002**).

Au cours de notre période d'étude qui s'est étalée sur cinq années, un total de 628 cas de cancer du sein a été enregistré dans les services d'anatomopathologie de l'hôpital de Sidi Bel Abbès et de l'hôpital militaire d'Oran avec un âge moyen de 51.06 ans, allant de 21 à 80 ans. La tranche d'âge la plus touchée était (41-60).

Le carcinome canalaire était le type histologique le plus retrouvé avec (85%) des cas, suivi par le carcinome lobulaire (7.3%), le carcinome inflammatoire (4.5%), le carcinome médullaire (1.1%) et le carcinome métaplasique (1.1%). Nos résultats concordent avec la littérature qui indique que 90% des tumeurs sont du type carcinome canalaire infiltrant. Le deuxième type par ordre de fréquence, est le carcinome lobulaire infiltrant (moins de 5%). Les types rares tels que le carcinome tubulaire, papillaire et médullaire, qui ont une meilleure survie avec de faibles taux de récurrence à court terme, constituent le reste (**WHCTPG., 2003**)

Le consensus du collège des pathologistes américains retient comme types histologiques de bon pronostic les carcinomes lobulaires, mucineux (colloïdes) et médullaires. Des pronostics différents ont été rapportés pour certaines variantes des CLI, mais ces données sont à prendre avec prudence étant donné que les séries publiées reposent le plus souvent sur un petit nombre de patientes (**Treilleux et al., 2002 ; Sigal-Zafrani et al., 2007**). Des travaux contradictoires ont attribué au CLI un pronostic meilleur, similaire ou moins bon que le CCI. A grade égal, le pronostic des CLI et des CCI paraît toutefois égal (**Sigal-Zafrani et al., 2007**)

La surexpression de HER2 était de (26.8%). Ce taux est également retrouvé dans plusieurs études : l'étude jordanienne de Almasri (24%) (**Almasri., 2005**), l'étude tunisienne de Ayadi (26%) (**Ayadi., 2008**), l'étude danoise de Rassmussen (20,8% de surexpression)

(Rasmussen., 2008) et l'étude australienne de Bilous qui a trouvé un taux de (26%) de positivité avec (12%) de score 3 **(Bilous., 2003)**

Nos résultats révèlent une corrélation significative entre le statut HER2 positif et le statut du récepteur œstrogène (RE) positif. HER2 lui-même régule les voies de signalisation des RE soit par phosphorylation de ce récepteur ou bien par l'activation des protéines kinases **(Ayadi., 2008).**

Dans la littérature, une corrélation inverse a été décrite par la plupart des auteurs. Il a été démontré que l'amplification de HER2 est significativement plus fréquente dans les cas RE négatifs. Approximativement 35% de tous les cas RE négatifs présentent cette amplification alors que seulement 10-15% des cas RE positifs la présentent **(Eliss et al., 2006).**

La même constatation a été faite dans les études utilisant l'immunohistochimie comme L'étude danoise de Rasmussen qui a trouvé un pourcentage de HER2 score 3 plus important dans les cas RE négatifs que dans les cas RE positifs **(Rasmussen., 2008)** et par la plupart des autres études **(Aziz., 2001 ; Borgquist et al., 2008 ; Ayadi., 2008).**

En fait, HER2 semble entraîner une prolifération en l'absence de la voie RE et l'œstrogène supprime la transcription de HER2. En général, il est accepté qu'il ya une corrélation inverse entre l'expression des RE et de HER2, cette corrélation n'est pas absolue. Environ la moitié des cas HER2 positifs sont aussi RE positifs (environ 10% des patientes) **(Natasa et al., 2008).**

Une corrélation positive a été observée entre la surexpression de HER2 et la taille tumorale et les ganglions lymphatiques infiltrés. Plusieurs études trouvent une corrélation entre la taille tumorale et l'expression de HER2 **(Aziz., 2001 ; Bilous., 2003 ; Rasmussen., 2008).**

Des résultats similaires aux notre ont trouvé une tendance à l'augmentation de l'expression de HER2 avec l'augmentation de la taille tumorale **(Almasri., 2005 ; Ayadi., 2008).**

La taille tumorale joue un rôle pronostique important; ceci est directement lié à une augmentation de probabilité d'une métastase régionale, un nombre important de ganglions lymphatiques axillaires infiltrés et une augmentation de probabilité de rechute et de décès **(Xue et al., 2012)**.

La plupart des études ont trouvé une corrélation entre la surexpression de HER2 et le grade tumoral SBR **(Aziz., 2001 ; Bilous., 2003 ; Hoff 2002)**, alors que d'autres études n'ont pas montré de corrélation, c'est le cas de l'étude d'Almasri qui a trouvé un taux de surexpression similaire entre le grade II et le grade III. et l'étude tunisienne de Ayadi **(Almasri., 2005 ; Ayadi., 2008)**.

Dans notre étude, nous avons noté une corrélation positive entre le statut HER2 et le grade SBR .

Le rôle pronostique de HER2 a été aussi analysé selon le statut ganglionnaire N-/N+ ; la plupart des études qui ont analysé ce rôle chez les patientes avec des métastases ganglionnaires ont montré que l'amplification de HER2 est corrélée à un mauvais pronostic et à des métastases ganglionnaires **(Aziz., 2001 ; Bilous., 2003 ; Hoff 2002., Rassmussen., 2008)**. Quant à notre étude, elle a montré une corrélation positive entre le statut HER2 et les métastases ganglionnaires. Concernant l'étude d'Almasri, elle ne trouve pas d'association significative mais elle trouve une tendance vers l'augmentation du taux de cas ayant plus de 3 ganglions métastatiques avec l'augmentation de l'expression de HER2 **(Almasri., 2005)**.

Dans notre recherche scientifique, nous confirmons que la surexpression de HER2 corrèle avec les paramètres défavorables tels que la taille tumorale avancée, le grade tumoral élevé et le nombre de ganglions lymphatiques infiltrés ; ce qui souligne un mauvais pronostic. Par conséquent, nous recommandons l'évaluation systématique du statut HER2 chez toutes les

patientes atteintes de cancer du sein, indépendamment des autres paramètres clinico-pathologiques, en raison de son implication pronostique.

Dans notre second article nous nous sommes particulièrement intéressés à la surexpression de HER2, ER et PR chez des patientes jeunes âgées de moins de 40 ans (≤ 40 years) et la corrélation de HER2 avec les différents paramètres clinico-pathologiques. En effet le cancer du sein chez les patientes de moins de 40 ans est rare; cependant, il a suscité un intérêt considérable en raison de son évolution défavorable associée aux paramètres agressifs rapportés dans plusieurs études (**Gnerlich et al., 2009 ; Fredholm et al., 2009 ; Bharat et al., 2009 ; Foo et al., 2005**). En ce qui concerne le statut des récepteurs hormonaux, les tumeurs chez les femmes jeunes ont été principalement rapportées comme ayant des statuts ER et PR négatifs, et ont également montrées une surexpression de HER2 (**Gnerlich et al., 2009 ; Bharat et al., 2009 ; McAree et al., 2010; Vrieling et al., 2003; Colleoni et al., 2002**).

Précédentes études indiquaient que l'âge jeune était un facteur pronostique indépendant de rechute et de décès chez les patientes atteintes de cancer du sein. Le mécanisme sous-jacent du pronostic défavorable pour les patientes jeunes ayant un cancer du sein était encore mal défini. Comme indiqué précédemment, les caractéristiques biologiques néfastes ou agressives pourraient être associées avec l'âge jeune des patientes atteintes de cancer du sein. La classification des sous-types défini par IHC sur ER et / ou PR et HER2 a été largement utilisée pour prédire le pronostic des patientes atteintes de cancer du sein, qui a également fourni quelques indices pour faire des stratégies thérapeutiques (**Kroman et al., 2000**).

Notre série a inclue un taux élevé de formes localement avancées (37,8%) de taille tumorale T2, (18,5%) de T3 et (1,7%) de T4, fréquemment accompagnée d'une infiltration ganglionnaire. Chan et al rapportent (13%) de T3 et pas de T4 (**Chan et al., 2000**).

Lammers et al. (**Lammers et al., 2010**) rapportent (9%) de T3 et (2%) de T4. McAree et al ont trouvé (11%) de T3 (2%) de T4 (**McAree et al., 2010**). Dans notre étude, les ganglions lymphatiques axillaires ont été positifs dans (99.16%) des cas.

L'âge médian au diagnostic était de 35.20 ans, et la majorité avait pour type histologique le carcinome canalaire avec (85%) des cas. Le grade II de SBR était de 64.7% et 18.5% des cas étaient de grade III. Thapa et al, ont rapporté une taille élevée de la tumeur, une positivité du statut ganglionnaire et une fréquence élevée des Grade II – III chez les jeunes patientes atteintes de cancer du sein (≤ 40 ans) (**Thapa et al., 2013**).

Récemment, les résultats de la plus vaste étude d'observation prospective évaluant les caractéristiques pathologiques et les résultats des patientes qui étaient âgées de <40 ans au moment du diagnostic ont été signalés (**Copson et al., 2013**). Cette étude basée au Royaume-Uni a inclut 2.956 patientes diagnostiquées avec un cancer du sein entre 2000 et 2008. L'âge médian au diagnostic était de 36 ans, et la majorité avait pour type histologique le carcinome canalaire (86.5%), le grade III était noté chez (58.9%) des tumeurs. On a observé un envahissement ganglionnaire dans 50,2%. Un tiers des tumeurs étaient ER négatif tandis qu'un quart était HER2 positif. Des résultats très similaires ont été observés chez les 399 premières patientes évaluées dans le Cancer Study, qui a débuté en 2006, et dans la quelle les femmes inscrites étaient âgées de 40 ans ou moins au moment du diagnostic (**Collins et al., 2012**). Cette étude a démontré en outre des taux élevés d'invasion lymphovasculaire et d'infiltration lymphocytaire, dans (34%) et (24%) des patientes, respectivement. Une étude de l'Hôpital Mount Sinai a montré que les patientes de moins de 36 ans avaient des tumeurs plus volumineuses et un envahissement ganglionnaire important (**Gajdos et al., 2000**).

L'étude américaine de Johnson avait rapporté que l'incidence du cancer du sein avec une métastase à distance au moment du diagnostic pour les femmes âgées entre 25-39 ans est en

augmentation (**Johnson et al., 2013**). Dans notre étude (14.3%) des patientes avaient une tumeur métastatique au moment du diagnostic. Ce taux est supérieur par rapport au taux signalé dans l'étude POSH (2.5%) où les femmes âgées de ≤ 40 ans ont été incluses (**Copson et al., 2014**).

Le statut HER2 a été positif dans (28.6%) des cas dans notre étude. Il varie de 19% selon Gentilini (**Gentilini et al., 2010**) à 34% pour Gonzalez (**Gonzalez-Angulo et al., 2005**). L'étude de Agrup a trouvé (27%) des jeunes patientes qui surexprimées le récepteur HER2 (**Agrup et al., 2000**), Rodrigues et al, ont constaté que le statut HER2 positif était présent dans une grande proportion de la population jeune (**Rodrigues et al., 2003**).

Les récepteurs hormonaux étaient négatifs dans (36.1%) pour ER et (47.9%) pour PR. De nombreuses études à travers le monde ont démontré que la plupart des tumeurs du sein chez les femmes jeunes sont de statut ER/PR négatif indiquant un moins bon pronostic (**Gnerlich et al., 2009; Bharat et al., 2009; McAree et al., 2010**). Assi et al, ont également souligné que le cancer du sein chez les jeunes femmes est associé à des tumeurs de haut grade tumoral SBR, à la négativité des récepteurs hormonaux et à la surexpression de HER2. Tous ces facteurs ont finalement un impact négatif significatif sur le pronostic. Ainsi, les modalités de traitement seront plus agressives et les besoins de suivi à prendre en considération pour ce groupe de patientes jeunes (**Assi et al., 2013**).

Le Luminal A était le sous-type dominant dans cette population étudiée, suivi par le Luminal B, le triple négatif et HER2 +. Notre étude est en parallèle avec les résultats de Lin et al. qui ont rapporté que le Luminal A était le sous-type le plus commun chez les jeunes patientes atteintes de cancer du sein (**Lin et al., 2009 ; Tang et al., 2011**).

Collins et al révèlent une proportion plus faible de Luminal A et une proportion plus élevée de Luminal B chez les jeunes patientes atteintes de cancer du sein (**Collins et al., 2012**). D'autres

études ont indiqué que le Luminal B et le triple négatif ont été les sous-types les plus courants chez les patientes de moins de 35 ans, tandis que dans le triple négatif et le Luminal B, les patientes de moins de 35 ans avaient un risque plus élevé de décès **(Wei et al., 2013)**.

Des données antérieures ont indiqué que HER2 était amplifié plus communément dans le grade SBR élevé **(Ross et al., 1998 ; Lal et al., 2005; Tsuda et al., 1999)** Similaires à ces études, nos résultats ont montré que HER2 est corrélé au grade histologique avancé dans le cancer du sein ($p < 0,05$). Dans notre étude, la taille croissante de la tumeur était significativement associée à la positivité de HER2 ($p < 0,05$). Il n'y avait aucune corrélation entre la surexpression de HER2 et le type histologique, le statut ganglionnaire et le statut hormonal ($P > 0,05$). Dans des études cliniques, la surexpression de HER2 a été associée à un certain nombre de facteurs pronostiques défavorables, y compris l'absence de la surexpression de ER et PR, les lésions de grade III, le jeune âge, et le nombre de ganglions lymphatiques axillaires infiltrés **(Bamberger et al., 2000; Querzoli et al., 1990)**. Cependant, la corrélation entre la surexpression de HER2 et d'autres marqueurs pronostiques n'a pas été déterminée dans des données cliniques rétrospectives de petites cohortes, aucune corrélation n'a été trouvée entre la surexpression de HER2 et le statut des récepteurs hormonaux, le grade de la tumeur, ou le statut ganglionnaire **(Sutterlin et al., 2000)**.

Taucher a mentionné que la surexpression de HER2 a été corrélée de façon significative avec le statut hormonal ER/PR négatif, le haut grade de la tumeur (grade III) et l'âge jeune **(Taucher et al., 2003)**.

La jeune adulte population avec un cancer du sein est une population unique et complexe, exigeant une approche multidisciplinaire spécialisée afin d'optimiser la prise en charge globale. Compte tenu de la complexité de la planification du traitement, une approche

multidisciplinaire précoce améliore considérablement la prise en charge chirurgicale et oncologiques afin d'améliorer la survie **(Reyna et al., 2014)**.

Dans notre 3ème travail notre objectif était de réaliser une étude comparative afin d'évaluer les caractéristiques pathologiques cliniques dans le cancer du sein chez des patientes âgées de moins de 40 ans par rapport aux patientes âgées de plus de 40 ans dans l'Ouest Algérien.

Le cancer du sein à un âge jeune est associé à un pronostic plus défavorable par rapport à lorsqu'il survient chez les patientes pré-ménopausées **(Livi et al., 2010)**. Les raisons de ce mauvais pronostic chez les femmes jeunes sont complexes et sont probablement liées à de multiples facteurs, y compris la biologie de la maladie et les retards dans le diagnostic **(Freedman et al., 2013)**.

L'analyse histopathologique a montré que la majorité des tumeurs dans les deux groupes étaient de type carcinome canalaire invasif. De même, Moran et al, ont rapporté dans leur étude qu'une majorité de jeunes patientes avaient pour type histologique le carcinome canalaire invasif et ont démontré des fréquences moindre pour les autres sous-types, tel le carcinome lobulaire invasif qui est généralement plus fréquent chez les patientes âgées **(Moran et al., 2009)**.

La littérature actuelle soutient l'hypothèse que le cancer du sein est généralement plus agressif chez les femmes jeunes que chez les femmes plus âgées **(Aebi et al., 2006)**. Le consensus affirme que le cancer du sein chez les jeunes patientes est souvent présenté avec un comportement biologique plus agressif et avec un stade avancé de la tumeur, une absence de l'expression de ER, un grade histologique élevé en plus de l'invasion des ganglions lymphatiques **(Goldhirsch et al., 2013; Gajdos et al., 2000)**. De même, dans notre étude, la taille élevée de la masse tumorale, le haut grade SBR et l'infiltration ganglionnaire ont été plus noté chez les patientes jeunes (âge <40 ans) que chez les patientes plus âgées (âge > 40). Nos

résultats sont similaires à d'autres qui ont montré un taux de positivité HER2 plus élevé chez les jeunes patientes **(Wei et al., 2013)**. Par conséquent, nous pourrions supposer que la surexpression de HER2 est un facteur de risque de mauvais pronostic. Cela est en concordance avec la littérature **(Cancello et al., 2010)**.

Notre étude a montré que les patientes plus jeunes avaient un taux élevé de PR négatif avec (47.9%) en comparaison avec les femmes plus âgées avec (42.8%). Ces données sont cohérentes avec les études précédentes faites dans d'autres pays **(Molino et al., 2006)**.

Dans la présente étude, le grade tumoral était significativement différent entre les deux groupes, avec moins de tumeurs G1 (16.8% vs 28.5%), mais plus de tumeurs G2 et G3 dans le groupe des jeunes patientes. Cette tendance élevée de grade tumoral au moment du diagnostic peut être expliquée par les caractéristiques de prolifération plus rapide du cancer du sein chez les jeunes patientes en comparaison avec les patientes plus âgées **(Colleoni et al., 2002; Maggard et al., 2003)**. De plus, le diagnostic tardif est probablement dû en partie au fait que le tissu mammaire des jeunes femmes est plus dense et donc il est plus difficile de détecter le cancer du sein par mammographie et par examen physique **(Althuis et al., 2003; Schreer et al., 2009)**.

Cette étude montre que le cancer du sein à un âge jeune est associé à un pronostic plus défavorable par rapport aux patientes plus âgées. Ainsi, une attention particulière est recommandée en terme de diagnostic; thérapeutique et psychologique qui sont impérativement nécessaires pour aider ces femmes à surmonter cette maladie dévastatrice.

Le gène *HER2* est amplifié dans environ 20 à 25% des cancers du sein, caractérisé par une évolution clinique agressive **(Slamon et al., 1987)**. Le développement d'agents thérapeutiques ciblés, tels que le trastuzumab, a considérablement modifié l'évolution de cette maladie. Cependant, malgré les avantages cliniques de ces thérapies ciblées anti HER2, près de 50%

des patientes atteintes de cancers du sein HER2 amplifié ne parviennent pas à répondre au trastuzumab et la grande majorité des patientes qui répondent au trastuzumab développent une résistance après 2 ans de traitement (**Lan et al., 2005**).

L'activation du gène *STAT3* est parmi les altérations moléculaires associées à cette résistance. Son activation est fréquemment rapportée dans près de 60% des tumeurs du sein (**Song et al., 2005**). *STAT3* a été classé comme un oncogène en raison de sa capacité à moduler des transformations oncogéniques (**Bromberg et al., 1999**).

Dans les cellules non stimulées, les protéines STAT sont présentes en tant que monomères dans le cytoplasme. *STAT3* est activé par la phosphorylation au niveau des résidus tyrosine, ce qui conduit à la formation de dimère via des interactions réciproques entre le domaine SH2 d'un monomère et une tyrosine phosphorylée de l'autre, ce qui provoque en outre la translocation des dimères vers le noyau. Cependant, la cause exacte de l'activation persistante de *STAT3* dans divers cancers et comment cette activation persistante contribue à la progression tumorale est mal comprise.

Du fait que *STAT3* soit activé et surexprimé fréquemment dans les cancers du sein, il constitue une cible importante pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses (**Colomiere et al., 2009**).

Dans notre étude la surexpression nucléaire de phospho-*STAT3* a été observée dans 16.7% des cas et la surexpression cytoplasmique de *STAT3* était de 46.7% dans les cancers invasifs HER2 positif. Bien que la fonction de *STAT3* comme un facteur de transcription soit bien connue, les co-activateurs qui modulent l'activité de *STAT3* restent peu étudiés. D'autre part, même si des études ont décrypté le rôle de HER2 comme un facteur de transcription (**Wang et al., 2004**), sa capacité de co-activateur reste totalement inconnue. En conséquence des chercheurs ont construit une nouvelle hypothèse, à savoir que HER2 pourrait moduler

l'évolution du cancer du sein en agissant comme un co-activateur de STAT3 **(Béguelin et al., 2010)**.

Diaz et al, rapportent un taux de 52% des cancers invasifs surexprimant phospho-STAT 3, qui a été corrélée avec HER2 positif. Une étude de 346 cancers du sein sans envahissement ganglionnaire a identifiée STAT3 dans 69% et 23% des cancers dans le cytoplasme et le noyau, respectivement, et phospho-STAT 3 (Tyr705) à 23% et 44% des cancers dans le cytoplasme et le noyau, respectivement **(Dolled-Filhart et al., 2003)**. Dans une autre étude l'expression de PSTAT3 était dans 34% des échantillons, ceci est en corrélation avec un mauvais pronostic **(Charpin et al., 2009)**.

Notre étude a révélé une corrélation positive significative entre la surexpression de Stat3 et la taille tumorale ($r=0.081$; $p=0.014$) ainsi qu'avec le statut hormonal ER/PR ($r=0.318$; $p=0.028$), ce résultat concorde avec la littérature **(Chan et al., 2012)**. La phosphorylation constitutive de Stat3 est associée à une prolifération accrue qui a pour conséquence une tumeur volumineuse, une résistance à l'apoptose, une invasion et des métastases à distance. **(Hsieh et al., 2005; Avalor et al, 2012)**.

Yamashita et al, n'ont trouvé aucune corrélation entre l'expression de STAT3 et le statut hormonal **(Yamashita et al., 2006)**, une autre étude a fait la même observation **(Choi et al., 2013)**.

Une corrélation négative significative était retrouvée entre la surexpression de PStat3 et le type histologique ($r= -0.188$; $p=0.001$), également avec la taille tumorale ($r= -0.098$; $p=0.048$) et avec le statut hormonal ($r= -0,102$; $p=0.020$). Similaire a nos résultats, une étude de 68 cas de carcinomes canalaire infiltrant a révélé des niveaux inférieurs d'expression de PStat3 dans les tumeurs ER + par rapport aux tumeurs ER- avec des niveaux égaux d'expression dans les cancers HER2 positifs et négatifs **(Yeh et al., 2006)**.

L'activation de STAT3 dans les cancers du sein est souvent accompagnée d'une invasion lymphovasculaire et d'une infiltration ganglionnaire (**Chang et al., 2013 ; Sonnenblick et al., 2013**). Aucune corrélation n'a été observée entre la surexpression de PStat3 et le grade tumoral ($r=0.074$; $p=0.248$) ainsi qu'avec le statut ganglionnaire ($r=0.260$; $p=0.072$) dans notre étude.

De nombreuses tumeurs surexprimant Stat3 affichaient une résistance aux thérapies, l'activation constitutive de Stat3 est par conséquent corrélée avec un pronostic défavorable de la patiente (**Diaz et al., 2006**).

Conclusions et perspectives

Conclusions et perspectives

Dans notre étude, nous avons répertorié certains facteurs qui semblent contribuer au développement du cancer du sein. L'implication dans la carcinogenèse mammaires de chacun des facteurs étudiés que ce soit, hormonal, lié à l'âge ou au statut HER2 est rapportée dans de nombreux travaux.

L'approche épidémiologique a permis de mettre en évidence chez la population étudiée des femmes de l'Ouest Algérien, l'augmentation des fréquences du cancer du sein chez les femmes jeunes. Par ailleurs 28.6% de ces patientes jeunes surexprimées HER2, ce qui témoigne de l'agressivité de la tumeur et de la récurrence rapide, bien que ces patientes pourraient bénéficier du traitement par trastuzumab, le risque de rechute et de métastases est plus élevé par rapport aux patientes dont la tumeur est hormono-dépendante.

Nos résultats ont révélés que la surexpression de l'oncoprotéine HER2 corrélée positivement avec les paramètres de mauvais pronostic, à l'instar de la taille tumorale, le grade SBR, et l'infiltration ganglionnaire dans toutes les tranches d'âge confondu ce qui participe activement à l'agressivité du cancer du sein.

Les facteurs de transcription STAT3 sont impliqués dans la tumorigénèse mammaire et dans le phénomène de résistance au traitement par trastuzumab dans le cancer du sein HER2 positif. Par conséquent, il nous a semblé intéressant d'étudier l'expression de STAT3 dans de telles tumeurs.

Nos travaux présentés dans ce manuscrit montrent qu'effectivement, l'activation du facteur de transcription STAT3 est retrouvée dans des tumeurs du sein surexprimant HER2.

La régulation de l'activité transcriptionnelle de STAT3 est un élément très important dans le développement tumoral et dans la réponse au traitement. Ainsi, la connaissance de ces

cofacteurs et la compréhension des différents mécanismes de régulation des fonctions transcriptionnelles de STAT3 suscitent un grand intérêt.

Des études approfondies restent néanmoins nécessaires afin de mettre en évidence les mécanismes responsables de l'activation de STAT3 dans les tumeurs HER2 positifs et les conséquences y associées en particulier sur la formation des métastases et la réponse au traitement.

Mieux comprendre l'implication de STAT3 est donc un enjeu important dans le traitement du cancer du sein.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abid L. 2009. Cancer epidemiology in Algeria: best use of cancer registers. *J AfrCancer* ; 1:98-103.
- Aebi S. 2006. Castiglione M. The enigma of young age. *Ann Oncol* ; 17(10): 1475-1477.
- Agrup M, Stål O, Olsen K, Winren S. 2000. C-erbB-2 overexpression and survival in early onset breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*; 63, 23-9.
- Akira, S. 2000 *Oncogene* ;19, 2607-2611.
- Almasri NM, Al Hamad M. 2005. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan *Breast Cancer Research* ;7: R598-R604.
- American Cancer Society: Cancer Facts and Figures, 2004. 2004;3:10.
- Anders CK, Hsu DS, Broadwater G, et al. 2008. Young age at diagnosis correlates with worse prognosis and defines a subset of breast cancers with shared patterns of gene expression. *J Clin Oncol*;26:3324–30.
- Andersen TI et al. 1995. Detection of c-erbB2 related protein in sera from breast cancer patients. *Acta Oncol* ;34, 499-504
- Althuis MD, Brogan DD, Coates RJ, Daling JR, Gammon MD, Malone KE, Schoenberg JB, Brinton LA. 2003. Breast cancers among very young premenopausal women (united states). *Cancer Causes Control*;14:151–160.
- Assi HA, Khoury KE, Dbouk H, Khalil LE, Mouhieddine TH, El Saghir NS. 2013. Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women. *J Thorac Dis*;5:S28.
- Avalle, L., G., Regis, et al., 2012. Universal and Specific Functions of STAT3 in Solid Tumours. In: Decker, T., Muller, M. (Eds.), *Jak–Stat Signaling: From Basics to Disease*. Springer Vienna, pp. 305–333.
- Avalle, L., Pensa, S., et al. 2012. STAT1 and STAT3 in tumorigenesis: a matter of balance. *JAK–STAT* 1 (2), 65–72.
- Ayadi L et al. 2008. Correlation of HER-2 overexpression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma *World J of Surgical Onc*, 6: 112.
- Aziz SA et al. 2001. Significance of Immunohistochemical c-EerB-2 Product Localisation Pattern for Prognosis in Human Breast Cancer ; *Pathology oncology research*, Vol 7, No 3, p.190.

Bamberger AM, Milde-Langosch K, Schulte HM, Loning T. 2000. Progesterone receptor isoforms, PR-B and PR-A, in breast cancer: correlations with clinicopathologic tumor parameters and expression of AP-1 factors. *Horm Res*; 54:32– 37.

Béguelin W et al. 2010. Progesterone Receptor Induces ErbB-2 Nuclear Translocation To Promote Breast Cancer Growth via a Novel Transcriptional Effect: ErbB-2 Function as a Coactivator of Stat3. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*.p. 5456–5472.

Belkacem Y, Boussen H, Hamdi Cerif M, Benider A, Errihani H, Mrabti H, Bouzid K, Bensalem A, Fettouki S, Ben abdelah M, Abid L, Gligorov J. 2010. Epidémiologie des cancers du sein de la femme jeune en Afrique du nord, 32es J de la SFSPM, Strasbourg.

Betz, UA, Bloch, W., van den, BM., Yoshida, K., Taga, T., Kishimoto, T., Addicks, K., Rajewsky, K., and Muller, W. 1998. *J. Exp. Med.* 188, 1955-1965.

Bharat A, Aft RL, Gao F, Margenthaler JA. 2009. Patient and Tumor Characteristics Associated With Increased Mortality in Young Women (< = 40 Years) With Breast Cancer. *Journal of Surgical Oncology*;100(3):248-251.

Bilous M et al. 2003. Predicting the HER2 status of breast cancer from basic histopathology data: an analysis of 1500 breast cancers as part of the HER2000 international study. *The breast*, Vol 12, Issue 2, pp 92-98.

Brinton LA, Sherman ME, Carreon JD, Anderson WF. 2008. Recent trends in breast cancer among younger women in the United States. *J Natl Cancer Inst*;100:1643; 8.

Bleyer A, Barr R, Hayes-Lattin B, et al. 2008. Biology and Clinical Trials Subgroups of the US National Cancer Institute Progress Review Group in Adolescent and Young Adult Oncology. The distinctive biology of cancer in adolescents and young adults. *Nat Rev Cancer*; 8, 288-98.

Bromberg J.F et al. 1999 Stat3 as an oncogene. *Cell*, 98, 295–303.

Bromberg, J. 2002. Stat proteins and oncogenesis. *J Clin Invest* 109, 1139-1142.

Bromberg, J. F., Horvath, C. M., Besser, D., Lathem, W. W., and Darnell, J. E., Jr. 1998. Stat3 activation is required for cellular transformation by v-src. *Mol Cell Biol* 18, 2553-2558.

Borgquist S et al. 2008. Oestrogen receptors α and β show different associations to clinicopathological parameters and their co-expression might predict a better response to endocrine treatment in breast cancer. *Journal of Clinical Pathology*; 61: 197-203.

Burstein HJ. 2005. The Distinctive Nature of HER2-Positive Breast Cancers, *New Engl J Med*; 353: 1652-1654.

Cancello G, Maisonneuve P, Rotmensz N, et al. 2010. Prognosis and adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 years) with operable breast cancer. *Ann Oncol*, 21, 1974-81.

Capdevila, J., Elez, E., Macarulla, T., Ramos, F.J., Ruiz-Echarri, M. and Tabernero, J. 2009. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 35, 354-63.

Casalini P, Lorio M, Galmozzi E, Ménard S. 2004. Role of HER receptors family in development and differentiation. *J Cell Physiol*; 200: 343-50.

Chan A, Pintilie M, Vallis K, Girourd C, Goss P. 2000. Breast cancer in women ≤ 35 years: review of 1 002 cases from a single institution. *An Oncol*;11:1255-62.

Chan, K. S., Sano, S., Kiguchi, K., Anders, J., Komazawa, N., Takeda, J., and DiGiovanni, J. 2004. *J. Clin. Invest* 114, 720-728.

Chan, S.R. et al. 2012. STAT 1-deficient mice spontaneously develop estrogen receptor a-positive luminal mammary carcinomas. *Breast Cancer Research* 14, R16.

Chang Q, Bournazou E, Sansone P, Berishaj M, Gao SP, Daly L, et al. 2013. The IL-6/JAK/Stat3 feed-forward loop drives tumorigenesis and metastasis. *Neoplasia New York N*;15:848–62.

Charpin, C. et al. 2009. A signature predictive of disease outcome in breast carcinomas, identified by quantitative immunocytochemical assays. *International Journal of Cancer. Journal international du cancer* 124, 2124–2134.

Chattopadhyay, A., Vecchi, M., Ji, Q., Mernaugh, R., and Carpenter, G. 1999. The role of individual SH2 domains in mediating association of phospholipase C-gamma1 with the activated EGF receptor. *J Biol Chem* 274, 26091-26097.

Cherifi I. Impact de la signalisation constitutive du récepteur de la prolactine sur la physiopathologie mammaire. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'Université PARIS DESCARTES. 26 novembre 2014.

Choi, J. et al., 2013. Differential expression of immune-related markers in breast cancer by molecular phenotypes. *Breast Cancer Research and Treatment* 137, 417–429.

Chung M, Chang HR, Bland KI, Wanebo HJ. 1996. Younger women with breast carcinoma have a poorer prognosis than older women. *Cancer*;77:97; 103.

Chung, Y. J., Park, B. B., Kang, Y. J., Kim, T. M., Eaves, C. J., and Oh, I. H. 2006. Blood 108, 1208- 1215.

Colleoni M, Rotmensz N, Robertson C, Orlando L, Viale G, Renne G et al. 2002. Very young women (< 35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. *Annals of Oncology*; 13(2):273-279.

Collins LC, Marotti JD, Gelber S, Cole K, Ruddy K, Kereakoglow S, et al. 2012. Pathologic features and molecular phenotype by patient age in a large cohort of young women with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*;131:1061–1066.

Colomiere M et al. 2009 Cross talk of signals between EGFR and IL-6R through JAK2/STAT3 mediate epithelial-mesenchymal transition in ovarian carcinomas. *Br. J. Cancer*, 100, 134–144.

Copson E, Eccles B, Maishman T, Gerty S, Stanton L, Cutress RI, et al. 2013. POSH Study Steering Group: Prospective observational study of breast cancer treatment outcomes for UK women aged 18–40 years at diagnosis: the POSH study. *J Natl Cancer Inst*;105:978–988.

Copson E, Maishman T, Gerty S, et al. 2014. POSH study steering group, Eccles D. Ethnicity and outcome of young breast cancer patients in the United Kingdom: the POSH study. *Br J Cancer*; 110, 230-41.

Cramer, A., Kleiner, S., Westermann, M., Meissner, A., Lange, A., and Friedrich, K. 2005. *J Cell Biochem*. 95, 805-816.

Connolly, B. A., Rice, J., Feig, L. A., and Buchsbaum, R. J. 2005. Tiam1-IRSp53 complex formation directs specificity of rac-mediated actin cytoskeleton regulation. *Molecular and cellular biology* 25, 4602-4614.

Dansereau S, Ferron D. 2006. La thérapie ciblée en oncologie et la pointe de l'Iceberg. Première partie : le récepteur épidermique humain HER/ErbB. *Pharmactuel* ; Vol. 39 ; N° 3 ; Mai-Juin-Juillet ; p 135-43

Darnell, J. E., Jr., Kerr, I. M., and Stark, G. R. 1994 *Science* 264, 1415-1421

DeSantis C, Siegel R, Bandi P, et al. 2011. Breast cancer statistics. *CA Cancer J Clin*; 61:409-418.

Diaz, N., Minton, S., et al. 2006. Activation of stat3 in primary tumors from high-risk breast cancer patients is associated with elevated levels of activated SRC and survivin expression. *Clin. Cancer Res*. 12, 20–28.

Dolled-Filhart, M. et al. 2003. Tissue microarray analysis of signal transducers and activators of transcription 3 (STAT 3) and phospho-STAT 3 (Tyr705) in nodenegative breast cancer shows nuclear localization is associated with a better prognosis. *Clinical Cancer Research* 9, 594–600.

(EBCTG), Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group. Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group (EBCTG). Favourable and unfavourable effects on long-term survival of radiotherapy for early breast cancer. An overview of the randomised trials. . *The Lancet* 2000 ;Vol. 355 :, 1757-70.

El Kacemi H. 2005. Le cancer du sein à l'INO, étude épidémiologique, clinique et thérapeutique [mémoire] Rabat. Université de Rabat.

Eliss MJ, Tao Y, Murray J et al. 2006. Estrogen-independant proliferation is present in estrogen-receptor HER-2 positive primry breast cancer after neoadjuvant letrozole. *J Clin Oncol*; 24: 3019-3025.

El Saghir NS, Seoud M, Khalil MK, Charafeddine M, Salem ZK, Geara FB, et al. 2006. Effects of young age at presentation on survival in breast cancer. *BMC Cancer*; 6:194.

Espert, L., Dusanter-Fourt, I. and Chelbi-Alix, M.K. 2005. [Negative regulation of the JAK/STAT: pathway implication in tumorigenesis]. *Bull Cancer* 92, 845-57.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. 2010. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* ;127:2893-2917.

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D Bray, F. 2013. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.

Finbloom, D. S. and Larner, A. C. 1995. *Cell Signal*. 7, 739-745

(FNCLCC), Fédération nationale des centres de lutte contre la cancer. *Cancers du sein infiltrants non métastatiques*. 2èmedition. John libbey eurotext. 2001.

Foo CS, Su D, Chong CK, Chng HC, Tay KH, Low SC, Tan SM. 2005. Breast cancer in young Asian women: Study on survival. *Anz Journal of Surgery*; 75(7):566-572.

Forus A, Sørli T, Børresen-Dale AL, Myklebost O. 2001. Microarray technology--potential in cancer research. *Tidsskr Nor Laegeforen*; 21:2498-503.

Fredholm H, Eaker S, Frisell J, Holmberg L, Fredriksson I, Lindman H. 2009. Breast Cancer in Young Women: Poor Survival Despite Intensive Treatment. *PLoS One*; 4(11):A38-A46.

Freedman RA, Partridge AH. 2013 Management of breast cancer in very young women. *The Breast*; 22: S176-S179.

Gajdos C, Tartter PI, Bleiweiss IJ, Bodian C, Brower ST. 2000. Stage 0 to stage III breast cancer in young women. *J Am Coll Surg*;190(5):523–9.

Ganiy OM, Ganiyu AR. 2012. Epidemiology of Breast Cancer in Europe and Africa. *Journal of Cancer Epidemiology*; Volume 2012, Article ID 915610, 5 pages doi:10.1155/2012/915610.

Gentilini O, Botteri E, Rotmensz N et al. 2010. Breast-conserving surgery in 201 very young patients (< 35 years). *Breast*;19: 55-8.

Ghiasvand R, Adami H, Harirchi I, Rahim et al. 2014. Higher incidence of premenopausal breast cancer in less developed countries; myth or truth? *BMC Cancer* ;14:343.

Gnerlich JL, Deshpande AD, Jeffe DB, Sweet A, White N, Margenthaler JA. 2009. Elevated breast cancer mortality in women younger than age 40 years compared with older women is attributed to poorer survival in early stage disease. *J Am Coll Surg*;208:341;7.

Graus-Porta, D., Beerli, R. R., Daly, J. M., and Hynes, N. E. 1997. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *Embo J* 16, 1647-1655.

Grondin K et al. 2006. L'hybridation in situ colorimétrique (CISH) : un complément au FISH pour l'évaluation de l'amplification de l'HER2/NEU *Ann Pathol* ;26 : 68-78.

Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. 2013. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*;24(9):2206–23.

Gonzalez-Angulo AM, Broglio K, Kau SW et al. 2005. Women age $\leq$ 35 years with primary breast carcinoma: disease features at presentation. *Cancer*;103:466-72.

Gullick WJ, Berger MS, Bennett PL, Rothbard JB, Waterfield MD. 1987. Expression of the c-erbB-2 protein in normal and transformed cells. *Int J Cancer* ; 40(2):246-54.

Hanada, T., Kobayashi, T., Chinen, T., Saeki, K., Takaki, H., Koga, K., Minoda, Y., Sanada, T., Yoshioka, T., Mimata, H., Kato, S., and Yoshimura, A. 2006. *J. Exp. Med.* 203, 1391-1397.

Harari, P.M. 2004. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology. *Endocr Relat Cancer* 11, 689-708.

Haura, E. B., Turkson, J., and Jove, R. 2005. Mechanisms of disease: Insights into the emerging role of signal transducers and activators of transcription in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2, 315-324.

Hill C. et al. 2003. Fréquence des cances en France. *Bulletin cancer*; 90 : 207-13.

Hoff ER et al. 2002. HER-2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade . *Am J Clin Pathol* ;117: 916-921.

Hortobagyi GN. 2005. Trastuzumab in the Treatment of Breast Cancer, *New Engl J Med*; 353: 1734-1736.

Hsieh, F.-C., Cheng, G., et al. 2005. Evaluation of potential Stat3-regulated genes in human breast cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 335, 292–299.

Huang HJ, Neven P, Drijkonengen M, et al. 2005. Association between tumor characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J ClinPathol*; 58:611-116.

Hudis CA. 2007. Trastuzumab – Mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med*;357:39–51.

(INC), Institut national du cancer. 2012 : <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>. Date de dernière mise à jour : 18/03/2015.

Jemal A, Center MM, Desantis C, Ward EM. 2010. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 19:1893-1907.

Jenkins, B. J., Grail, D., Nheu, T., Najdovska, M., Wang, B., Waring, P., Inglese, M., McLoughlin, R. M., Jones, S. A., Topley, N., Baumann, H., Judd, L. M., Giraud, A. S., Boussioutas, A., Zhu, H. J., and Ernst, M. 2005. *Nat. Med.* 11, 845-852.

Joensuu H, Kellokumpu-Lehtinen P-L, Bono P, Alanko T, Kataja V, Asola R, et al. 2006. Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med*;354:809–20.

Johnson RH, Chien FL, Bleyer A. 2013. Incidence of breast cancer with distant involvement among women in the United States, 1976 to 2009. *JAMA*;309, 800-5.

Keegan TH, DeRouen MC, Press DJ, Kurian AW, Clarke CA. 2012. Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women. *Breast Cancer Res*;14, 55.

Kim JK, Kwak BS, Lee JS, Hong SJ, Kim HJ, Son BH, et al. 2007. Do very young Korean breast cancer patients have worst outcome? *Ann Surg Oncol*;14:3385:91.

Kinzler KW, Vogelstein B. 1997. Cancer-susceptibility genes, gatekeepers and caretakers. *Nature*.6627:761, 763.

Kisseleva, T., Bhattacharya, S., Braunstein, J. and Schindler, C.W. 2002. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 285, 1- 24.

Kroman, N. et al. 2000. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. *BMJ*. 320, 474–478.

Lahzaoui T. 2013. L'expression du récepteur HER2 dans le cancer gastrique ou de jonction oeso-gastrique métastatique étude prospective a propos de 30 cas. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah. Faculté de Médecine et de Pharmacie FES.

Lal P, Tan LK, Chen B. 2005. Correlation of HER-2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*; 123(4):541–6.

Lammers EJ, Huibers P, van der Sangen MJ et al. 2010. Factors contributing to improved local control after mastectomy in patients with breast cancer aged 40 years or younger. *Breast* ;19:44-9.

Lan KH, Lu CH, Yu D. 2005. Mechanisms of trastuzumab resistance and their clinical implications. *Ann NY Acad Sci*; 1059:70–75. [PubMed: 16382045]

Lauren Hammock MD et al. 2003. Strong HER-2/neu protein overexpression by immunohistochemistry often does not predict oncogen amplification by fluorescence in situ hybridization. *Human pathology*, Vol 34, Issue 10, October ; pp. 1043-1047.

Levy DE, Lee C. 2002. What does Stat3 do? *J Clin Invest*;109:1143–8.

Lin CH, Liao JY, Lu YS, et al. 2009. Molecular subtypes of breast cancer emerging in young women in Taiwan: evidence for more than just westernization as a reason for the disease in Asia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 18, 1807-14.

Livi L, Meattinia I, Saievab C, et al. 2010. The impact of young age on breast cancer outcome. *EJSO*; 36: 639-645.

Ma, J., Zhang, T., Novotny-Diermayr, V., Tan, A. L., and Cao, X. 2003. *J. Biol. Chem.* 278, 29252- 29260

Maggard MA, O'Connell JB, Lane KE, Liu JH, Etzioni DA, Ko CY. 2003. Do young breast cancer patients have worse outcomes? *J Surg Res*;113:109–113

Manner L., Milano G., Penault Llorca F., Merlin J.L. 2004. Targeting of membrane receptor tyrosine kinase: is there resistance in the HER? *Bulletin du cancer*, Vol 91, No 9, 685-94.

Marmor, M. D., Skaria, K. B., and Yarden, Y. 2004. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 58, 903-913.

Mattoon, D. R., Lamothe, B., Lax, I., and Schlessinger, J. 2004. The docking protein Gab1 is the primary mediator of EGF-stimulated activation of the PI-3K/Akt cell survival pathway. *BMC Biol* 2, 24.

McAree B, O'Donnell ME, Spence A, Lioe TF, McManus DT, Spence RA. 2010. Breast cancer in women under 40 years of age: a series of 57 cases Northern Ireland. *Breast*;19:97-104.

Meguenni K al. 2012. Registre du cancer de Tlemcen. Tlemcen : l'unité d'information sanitaire et biostatistiques du CHU Tedjini Damerdji de Tlemcen.

Ménard S et al. 2000. Role of HER2 Gene Overexpression in Breast Carcinoma; *Journal of cellular physiology* 182:p. 150.

Merad IL. 2012. Essais de phase III de doxorubicine et cyclophosphamide versus doxorubicine et cyclophosphamide suivi de paclitaxel en séquentiel dans le traitement adjuvant du cancer du sein avec envahissement ganglionnaire. Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen.

Mitsudomi, T. and Yatabe, Y. 2010. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *FEBS J* 277, 301-8.

Mokhtari L et al. 2006. Registre du cancer d'Oran, 13ème rapport. (1996-2006).

Molina R et al. 1996. C-erbB-2 oncoprotein in the sera and tissue of patients with breast cancer. Utility in prognosis. *Anticancer Res* ;16, 2295-2300.

Molino A, Giovannini M, Auriemma A, Fiorio E, Mercanti A, Mandara M, et al. 2006. Pathological, biological and clinical characteristics, and surgical management, of elderly women with breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*;59(3):226–33.

Moran MS, Yang Q, Haffty BG. 2009. The Yale University experience of early-stage invasive lobular carcinoma and invasive ductal carcinoma treated with breast conservation treatment: analysis of clinical-pathologic features, long-term outcomes, and molecular expression of COX-2, Bcl-2, and p53 as a function of histology. *The Breast Journal*; 15(6): 571-578.

Moreno A. et al. 1997 .Ductal carcinoma in situ of the breast : correlation between histologic classification and biologic markers. *Modern pathology* 10; pp. 1088-1092.

Nahta R, Esteva FJ. 2007. Trastuzumab: triumphs and tribulations. *Oncogene*;26:3637–43.

Natasa Todorovic-Rakovic. 2005. TGF-b1 could be a missing link in the interplay between ER and HER-2 in breast cancer *Medical Hypotheses* ;65, 546–551.

Niu G, Wright KL, Huang M, Song L, Haura E, Turkson J, et al. 2002. Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene*;21:2000–8.

Ntekim A, Nufu FT, Campbell OB. 2009. Breast cancer in young women in Ibadan, Nigeria. *Afr Health Sci*; 9:242-6.

Nyati, M.K., Morgan, M.A., Feng, F.Y. and Lawrence, T.S. 2006. Integration of EGFR inhibitors with radiochemotherapy. *Nat.Rev.Cancer* 6, 876-885.

Olayioye, M. A., Neve, R. M., Lane, H. A., and Hynes, N. E. 2000. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *Embo J* 19, 3159-3167.

Parkin DM, Nambooz S, Wabwire-Mangen F, Wabinga HR. 2010. Changing cancer incidence in Kampala, Uganda, 1991-2006. *Int J Cancer*;126:1187-1195.

ParkinDM, Whelan S, Ferlay J, Storm H. 2005. *Cancer Incidence in Five Continents. Vol I to VIII. Cancer Base No. 7.* Lyon: IARC Press;6-8

Patterson, R. L., van Rossum, D. B., Nikolaidis, N., Gill, D. L., and Snyder, S. H. 2005. Phospholipase C-gamma: diverse roles in receptor-mediated calcium signaling. *Trends Biochem Sci* 30, 688-697.

Pegram MD, et al. *Cancer Treat res.* 2000 ; 103 : 57-75.

Penault-Llorca et al Le défi de la qualité en immunohistochimie : exemple du statut ERBB-2 dans le cancer du sein. *Annales de pathologie*, Vol 19 ; N°4 ; Aout 1999 ; 280-280.

Perez MD. 1999. HER-2 as a Prognostic, Predictive, and Therapeutic Target in Breast Cancer *Cancer Control* 6(3):233-240.

Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, et al. 2005. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*;353:1659–72.

(PNC), Plan National du Cancer. 2015. (2015-2019).

Plu-Bureau G et al. 2002. Sein et hormones Gynécologie [810-A-10] .

Prigent, S. A., and Gullick, W. J. 1994. Identification of c-erbB-3 binding sites for phosphatidylinositol 3'-kinase and SHC using an EGF receptor/c-erbB-3 chimera. *Embo J* 13, 2831-2841.

Querzoli P, Marchetti E, Fabris G, et al. 1990. Immunohistochemical expression of c-erbB-2 in human breast cancer by monoclonal antibody: correlation with lymph node and ER status. *Tumori*;76:461–464.

Rasmussen BB. 2008. Evaluation of and quality assurance in HER2 analysis in breast carcinomas from patients registered in Danish breast cancer group (DBCG) in the period of 2002-2006. a nationwide study including correlation between HER-2 status and other prognostic variables. *Acta oncologica*; 47: 784-788

Reis-Filho JS1, Simpson PT, Gale T, Lakhani SR. 2005. The molecular genetics of breast cancer: the contribution of comparative genomic hybridization. *Pathol Res Pract*.11:713-25.

Reyna C, Lee MC. 2014. Breast cancer in young women: special considerations in multidisciplinary care. *Journal of Multidisciplinary Healthcare* ; 7 419–429

Rhodes Antony et al. 2002. Evaluation of HER-2/neu Immunohistochemical assay sensitivity and scoring on formalin-fixed and paraffin-processed cell lines and breast tumors. *Am J Clin Pathol*; 118: 408-417.

Ries LA, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, et al. 2004. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2002. National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2002/, based on November SEER data submission, posted to the SEER.

Robert, J. 2010. Signalisation cellulaire et cancer, Springer.

Rodrigues NA, Dillon D, Carter D, Parisot N, Haffty BG. 2003. Differences in the pathologic and molecular features of intraductal breast carcinoma between younger and older women. *Cancer* ;97, 1393-403.

Ross JS, et al. 1999. *Am J Clin Pathol* ; 112 (suppl 1) ; S53-S71.

Ross JS, Fletcher JA. 1998. The HER-2/neu Oncogene in Breast Cancer: Prognostic Factor, Predictive Factor, and Target for Therapy. *Oncologist*; 3(4):237–52.

Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, et al. 2009. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine. *Oncologist*; 14:320-368.

Sano, S., Itami, S., Takeda, K., Tarutani, M., Yamaguchi, Y., Miura, H., Yoshikawa, K., Taub, R. 2004. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 836-847.

Scaltriti, M., and Baselga, J. 2006. The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res* 12, 5268-5272.

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

Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. 1987. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*; 235:177–182. [PubMed: 3798106]

Schreer I. 2009. Dense breast tissue as an important risk factor for breast cancer and implications for early detection. *Breast Care (Basel)*;4:89–92.

Scheller, J., Ohnesorge, N., and Rose-John, S. 2006). *Scand. J. Immunol.* 63, 321-329.

Schonwasser, D. C., Marais, R. M., Marshall, C. J., and Parker, P. J. 1998. Activation of the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase pathway by conventional, novel, and atypical protein kinase C isotypes. *Mol Cell Biol* 18, 790-798.

Schulze, W. X., Deng, L., and Mann, M. 2005. Phosphotyrosine interactome of the ErbB-receptor kinase family. *Mol Syst Biol* 1, 2005 0008.

Sigal-Zafrani B et al. 2007. EPU pathologie mammaire.

Simpson K1, Coombs T, Avery A. 2005. Introducing the health of the nation outcomes scales into undergraduate nurse preparation: opportunities for development - a pilot project. *Nurse Educ Pract.* 2:97-102.

Sinibaldi D, Wharton W, Turkson J, Bowman T, Pledger WJ. 2000. Jove R. Induction of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression by the Src oncoprotein in mouse fibroblasts: role of activated STAT3 signaling. *Oncogene*;19:5419–27.

Sonnenblick A, Uziely B, Nechushtan H, Kadouri L, Galun E, Axelrod JH, et al. 2013. Tumor STAT3 tyrosine phosphorylation status, as a predictor of benefit from adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.*;138:407–13.

Song H et al. 2005. A low-molecular-weight compound discovered through virtual database screening inhibits STAT3 function in breast cancer cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 102, 4700–4705.

Sonnenblick A, Uziely B, Nechushtan H, Kadouri L, Galun E, Axelrod JH, et al. 2013. Tumor STAT3 tyrosine phosphorylation status, as a predictor of benefit from adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*;138:407–13.

Summy, J. M., and Gallick, G. E. 2006. Treatment for advanced tumors: SRC reclaims center stage. *Clin Cancer Res* 12, 1398-1401.

Sutterlin MW, Haller A, Gassel AM, et al. 2000. The correlation of c-erbB-2 oncoprotein and established prognostic factors in human breast cancer. *Anticancer Res*; 20:5083–5088.

Tang J, Wu CC, Xie ZM, Luo RZ, Yang MT. 2011. Comparison of Clinical Features and Treatment Outcome of Breast Cancers in Young and Elderly Chinese Patients. *Breast Care (Basel)*; 6, 435-440.

Taucher S, Rudas M, Mader RM, Gnant M, Dubsy P, Bachleitner T, et al. 2003. Do we need HER-2/neu testing for all patients with primary breast carcinoma? *Cancer*; 982:547–53.

Tavassoli FA. et al. 2004. Eds: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs; Lyon: IARC Press.

Thapa B, Singh Y, Sayami P, et al. 2013 Breast cancer in young women from a low risk population in Nepal. *Asian Pac J Cancer Prev*;14, 5095-9.

Treilleux I, Brémond A. 2002. Pronostic des cancers du sein. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Gynécologie*, 865-F-20, 7 p4.

Tsuda H, Hirohashi S, Shimosato Y, Hirota T, Tsugane S, Watanabe S, et al. 1990. Correlation between histologic grade of malignancy and copy number of *cerbB-2* gene in breast carcinoma. A retrospective analysis of 176 cases. *Cancer*; 65(8):1794–800.

Vilain MO et al. 1997. Detection immunohistochimique des récepteurs de l'oestradiol et de la progesterone sur coupes en paraffine après traitement par micro-ondes. *Ann Pathol*,17, N 2, p. 82-88.

Vrieling C, Collette L, Fourquet A, Hoogenraad WJ, Horiot JC, Jager JJ, et al. 2003. Can patient-, treatment and pathology-related characteristics explain the high local recurrence rate following breast-conserving therapy in young patients? *European Journal of Cancer*, 39(7):932-944.

Vivanco, I., and Sawyers, C. L. 2002. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2, 489-501.

Walker RA. 2008. Immunohistochemical markers as predictive tools for breast cancer *Journal of clinical pathology*; 61: 689-696.

Wang, S. C., H. C. Lien, W. Xia, I. F. Chen, H. W. Lo, Z. Wang, M. Ali-Seyed, D. F. Lee, G. Bartholomeusz, F. Ou-Yang, D. K. Giri, and M. C. Hung. 2004. Binding at and transactivation of the COX-2 promoter by nuclear tyrosine kinase receptor ErbB-2. *Cancer Cell* 6:251–261.

Watter AD et al. 2003. *Breast Cancer Res Treat.* jan;77(2):109-14

Wei XQ, Li X, Xin XJ, Tong ZS, Zhang S. 2013. Clinical features and survival analysis of very young (age<35) breast cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev*; 14, 5949-52.

Weiner, D. B., Kokai, Y., Wada, T., Cohen, J. A., Williams, W. V., and Greene, M. I. 1989. Linkage of tyrosine kinase activity with transforming ability of the p185neu oncoprotein. *Oncogene* 4, 1175-1183.

World Health Classification of Tumours Pathology and genetics. Tumours of the breast and female genital organs Edited by Edition 2003.

Xi, S., Zhang, Q., Dyer, K. F., Lerner, E. C., Smithgall, T. E., Gooding, W. E., Kamens, J., and Grandis, J. R. 2003 *J. Biol. Chem.* 278, 31574-31583.

Xiong A et al. 2014. Transcription Factor STAT3 as a Novel Molecular Target for Cancer Prevention. *Cancers.* 6, 926-957.

Xue C, Wang X, Peng R, et al. 2012. Distribution, clinicopathologic features and survival of breast cancer subtypes in Southern China. *Cancer Sci*1; 03: 1679–1687

Yamashita, H. et al. 2006. STAT 5 expression predicts response to endocrine therapy and improves survival in estrogen receptor-positive breast cancer. *Endocrine Related Cancer* 13, 885–893.

Yang, J., Chatterjee-Kishore, M., Staugaitis, S. M., Nguyen, H., Schlessinger, K., Levy, D. E., and Stark, G. R. 2005. *Cancer Res.* 65, 939-947.

Yeatman, T. J. 2004. A renaissance for SRC. *Nat Rev Cancer* 4, 470-480.

Yeh, Y.-T. et al. 2006. STAT 3 ser727 phosphorylation and its association with negative estrogen receptor status in breast infiltrating ductal carcinoma. *International journal of cancer. Journal International du Cancer* 118, 2943–2947.

Yu H, Pardoll D, Jove R. 2009. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nat Rev Cancer*;9:798–809.

Zhang, T., Kee, W. H., Seow, K. T., Fung, W., and Cao, X. 2000. *Mol. Cell Biol.* 20, 7132-7139

Zhao, H., Nakajima, R., Kunimoto, H., Sasaki, T., Kojima, H., and Nakajima, K. 2004. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 325, 541-548.