

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DJILALI LIABES SIDI BEL ABBES



FACULTE DE BIOLOGIE ET DE L'AGRONOMIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

de fin d'étude Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biologie et pathologie cellulaire

Thème :

Immunohistochimie en pathologie cancéreuse «cas cancer du sein du la région de sidi bel abbés »

Présenté par :

- DIAF Yousra Cheimaa
- MEHDI Fatima

Devant le jury composé de :

▪ Mr MESSOURI Miloud	MCA/UDL/SBA	Président
▪ Mr BENIN Mohamed Amine	MCA/UDL/SBA	Encadreur
▪ Mr HAZEM Zouaoui	MCB/UDL/SBA	Examineur

Année Universitaire 2020-2021

Remerciements

Avant tout remercions le bon dieu tout puissant de nous avoir donné la volonté

Et le courage de réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur monsieur Bénin Mohamed Amine pour

Son accompagnement et ses précieux conseils tout au long de ce travail.

Nous remercions également les membres de jury qui ont accepté d'examiner et

D'évaluer notre travail.

*Nous tenons aussi à remercier le chef de service monsieur TOU et toute l'équipe médicale
du service de l'anapath pur leur gentillesse, leur disponibilité et leur soutien lors de stage
Pratique.*

*Nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué du loin ou de près à l'élaboration de
Ce travail.*

Dédicace

C'est avec une très grande émotion, que je dédier ce modeste travail

A mes très chères parents : « Mohamed et Aicha », source de mon existence, qui m'ont accompagné durant tout mon parcours, je leurs dit MERCI pour votre soutien, que dieu les protège.

A ma chère sœur : Djallila.

A mon fiancé : BELHADJ sief Eddine et tout sa famille, je leur dit MERCI.

A ma binôme MEHDI FATIMA et tout sa famille.

A mon encadreur M' BENIN AMINE.

*A toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à l'élaboration de ce mémoire
spécialement Madame HAMMAR et Madame SNOUCI.*

Yousra cheimaa.

Dédicace

C'est avec une très grande émotion et énorme plaisir que je dédie ce travail à mes très chères parents, qui m'ont toujours soutenue et encouragé durant mon parcours, que le bon dieu les protège.

A ma famille « mes sœurs et mes frères », je leurs dit MERCI pour votre soutien.

A mon fiancé BENCHRIF MOKHTAR et a tout sa famille.

A ma très chère amis et binôme « DIAF YOUSRA CHEIMAA » et tout sa famille.

A tout mes amis « IMANE HADOU, CHERIET NADJET, FAKNOUS WIDAD ».

A mon encadreur monsieur « BENIN AMIN ».

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Fatima

Sommaire

INTRODUCTION	1
1. Les pathologies cancéreuses	4
1.1. Caractéristiques des cellules cancéreuses	4
1.2. Morphologie	4
1.3. Physiologie	4
1.4. Les groupes de cancer	5
1.5. Les causes	5
1.5.1. Tabac	5
1.5.2. Alcool	6
1.5.3. Alimentation	6
1.5.4. Produits chimiques	6
1.5.5. Les radiations	6
1.6. Les virus	7
1.6.1. Virus d'Epstein-Barr	7
1.6.2. Virus du papillome humain	7
1.6.3. Virus de l'hépatite B	7
1.7. Les types de gènes du cancer	7
1.7.1. Oncogènes	7
1.8. Gènes suppresseurs de tumeur	8
1.9. Les gènes de réparation	8
1.10. Diagnostic	8
1.11. L'examen clinique	8
1.12. Examen biologique	9
1.13. L'imagerie médicale	9
1.14. La biopsie	9
1.15. Le bilan de l'extension	10
1.16. Traitement	10
1.17. La chirurgie	10
1.18. La radiothérapie	10
1.19. La chimiothérapie	11
1.19.1. Les traitements médicaux	11
2. Cancer du sein	12
2.1. Anatomie du sein	12

2.2. La physiologie de sein	13
2.3. Carcinomes in situ (CIS	14
2.4. Carcinomes infiltrant	15
2.5. La classification des cancers mammaires	16
2.5.1. Classification TNM du cancer du sein:	16
2.6. Les grades du cancer du sein	17
2.7. Les stades du cancer du sein	18
2.8. Grade SBR (SCARF BLTOOM ET RICHARDSON)	19
3. Concept de la technique immunohistochimique	20
3.1. Les propriétés anticorpsales	20
3.2. Apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic	21
3.2.1. Marqueurs immunohistochimiques	21
3.2.2. Application et limitation de la technique	22
3.2.3. Avantages et inconvénients de la technique	23
4. Matériels et Méthodes	24
4.1. Matériels	24
4.2. Méthodes expérimentales	24
4.2.1. Examen histologique sur tissu fixé	24
4.3. Étude immunohistochimique	29
4.3.1. Détection des récepteurs hormonaux, des cytokératines et du Ki-67	29
4.4. Lecture des lames après immunohistochimie	31
5. Résultats et Discussions	32
5.1. Résultats de l'étude histologique	32
5.1.1. Répartition des cas de cancer en fonction de l'âge	32
5.1.2. Répartition selon le type de prélèvement	32
5.1.3. Répartition des cas de cancer selon Grade	33
5.2. Résultats immunohisto-chimique	34
5.2.1. Répartition selon le score de Her2	34
5.2.2. Résultats des RO (récepteurs ostrogénique).	35
5.2.3. Résultats des RP (récepteurs progestative)	36
5.3. Discussion	37
Conclusion	40
Références bibliographiques	41
Annexes	45

Liste des abréviations

CHU : centre hospitalier universitaire.

IHC : immunohistochimie.

VPH : virus du papillome humain.

OMS : organisation mondiale de la santé .

AC : anticorps .

AG : antigène.

CEA : antigène carcino – embryonnaire .

HES : hématoxyline / éosine / safran .

HER2 : human epidermal growth factor receptor 2 .

RO : récepteur oestrogénique .

RP : récepteur progestatif .

Système TNM : tumeur nodes métastases (tumeur, ganglion , métastase).

PBS : phosphate-buffered saline .

ASCO : American society of clinical Oncology .

Min : minute .

H: heure .

µm : micromètre .

% : pourcentage.

°c : température .

Ph : acidité .

Mmol /L : milli mole par litre .

Liste des figures

Figure 1 : l'anatomie du sein.	(39)
Figure 2 : les différents types de cancer du sein (SAGLGIER J et al.,2018).....	15
Figure 3 : Répartition des cas de cancers du sein en fonction de l'âge.....	35
Figure 4 : répartition selon le type de prélèvement.....	36
Figure 5 : Pourcentage des patientes présentant selon le Grade.....	36
Figure 6 : Répartition des scores de Her2 chez les patientes.....	38
Figure 7 : Pourcentage des patientes présentant des récepteurs oestrogéniques (RO).....	39
Figure 8 : Pourcentage des patientes présentant des récepteurs progestative (RP)	40

Liste des photos

Photo 1 : la base mammaire (BRAHMI K.,2014).....	
27 Erreur ! Signet non défini. Photo 2 : inclusion des fragments dans des cassettes.....	28
Photo 3 : Histokinette, Automate permettant l'inclusion des échantillons fixés dans de la paraffine après déshydratation.....	29
Photo 4 : Appareil d'emballage (ou l'inclusion) dans la paraffine.....	30
Photo 5 : Microtome	30
Photo 6 : Lames montrées et colorées.....	32
Photo 7 : Cancer du sein Her2 score 1.....	38
Photo 8 : Cancer du sein Her2 score 3 en immunohistochimie.....	38

Liste des tableaux :

Tableau 1 classification TNM du cancer du sein (UICC., 2010.....	17
Tableau 2 : Les grades du cancer du sein (ALLIOUA F ,DELLAL K. ,2014).....	18
Tableau 3 : Classification en stades de progression (UICC., 2010).....	19

Liste des Annexes

Annexe 1 : critères de positivité de statut HER2 par immunohistochimie (actualisé selon les recommandations ASCO*/CAP 2013 et GEPICS 2014).....	51
Annexe 2 : Grade histopronostique de Scarff Bloom Richardson modifié par Elson et Ellis (grades de Nottingham) (Penault-Llorca F et al .,2014) , (Wolff AC et al ., 2013).....	52
Annexe 3 : : les symptômes du cancer du sein.....	53
Annexe 4 : les étapes de la carcinogénèse (Hourieux c ., 2010).....	53

Résumé :

Le cancer du sein reste le cancer le plus fréquent de la femme. Cette incidence est faible avant 35 ans et augmente avec l'âge. Il s'agit d'une pathologie mammaire hétérogène avec des variations interindividuelles du point de vue morphologie et architecture tissulaire microscopique. Notre travail consiste à réaliser une étude histopathologique aussi bien sur le plan macroscopique que microscopique des cancers mammaires. L'analyse histopathologique est suivie par la recherche du profil d'expression de l'oncoprotéine HER2 récepteurs ostrogéniques **(RO)** et récepteur progestative **(RP)** et **Ki-67** par une méthode d'immunohistochimie. Dans la première partie de ce travail nous avons montré que la tranche d'âge la plus affectée se situe entre 40-50 ans. Selon le type de prélèvement nous avons 74% des cas du prélèvement micro-biopsie, et 22% du mastectomie et le dernier type c'est tumorectomie avec 4% des cas. Selon le grade histopronostique de Scarff Bloom Richardson, nous avons subdivisé notre résultat en classes. Cette classification indique que 48% % des cas sont du grade III, 32 % des cas du grade II et 20 % des cas sont du grade I. Les résultats de l'analyse du profil d'expression de HER2 indiquent que 20% ont un statut HER2 positif, et 55% ont un statut HER2 négatif. En ce qui concerne l'indice de prolifération mitotique Ki-67 100% positif. Pour le récepteur œstrogène nous avons 60% des cas ont RO positif et 40% des cas ont RO négatif. Enfin, pour le récepteur progestatif nous y avons remarqué que le RP était positif dans 55% des cas et le RP négatif dans 45% des cas.

Abstract

Breast cancer remains the most common cancer of women. This incidence is low before 35 years and increases with age. It is a heterogeneous mammary disease with variations between individuals in terms of morphology and microscopic tissue architecture. Our work is to conduct a study histopathological both macroscopic and microscopic of breast cancers. Histopathological analysis is followed by research profile expression of HER2 oncoprotein and estrogen receptor (RO) and progesterone receptor (RP) and KI-67 oncoprotein HER2 by an immunohistochemistry method. In the first part of this work we showed that the affected age group is between 40-50 years. According to the type of sample we have 74% of the cases of the micro-biopsy sample, and 22% of the mastectomy and the last type is lumpectomy with 4% of the cases, According to the histopronostic grade of Scarf Bloom Richardson, we have classes. This classification indicates that 48% of the cases are grade III, 32% of the cases of grade II 20% of the cases are of grade I. The results of the HER2 expression profile analysis indicate that 20% have a HER2 positive status, and 55% have negative HER2 status. With regard to the mitotic proliferation index ki 67 100% positive. For the estrogen receptor we have 60% of the cases have RO positive and 40% of the cases have negative RO. Finally, for the progesterone receptor we are there. This is a pathology we noticed that the positive RP with 55% of the cases and the negative RP with 45% of the cases.

keywords:

Breast cancer, immunohistochemistry, HER2, estrogen receptor, progesterone receptor.

ملخص :

من خلال تأثيره ' لا يزال السرطان الثدي أكثر أنواع السرطان انتشارا عند النساء مع حدوث انخفاض بعد 35 سنة و تزداد مع تقدم العمر لأن مرض الثدي غير متجانس مع وجود اختلافات بين الافراد من حيث المورفولوجيا و البنية المجهرية النسيجية . عملنا يقوم على اجراء دراسة الامراض النسيجية على مستوى الفحص العيني و الفحص المجهرى . تحليل الامراض النسيجية يتبع بالبحث عن وجه تعبير البروتينية السرطانية Her2 و المستقبلات هرمون الاستروجين (RO) و مستقبلات بروجستيرون (RP) و Ki-67 بطريقة الكيمياء المناعية . اظهرنا في الجزء الاول من هذا العمل ان الفئة العمرية الاكثر تضررا تتراوح بين 40-50 سنة اعتمادا على نوع العينة لدينا 74 بالمئة من حالات عينة الخزعة الدقيقة و 22 بالمئة من حالات استئصال الثدي و النوع الاخير الكتلة الورمية بنسبة 4 بالمئة من الحالات . وفقا لتصنيف سكارف بولوم ريتشاريلا . قمنا بتنسيق نتائجنا الى فئات . يشير هذا التصنيف 48 بالمئة من الحالات من الدرجة الثالثة و 32 بالمئة من الدرجة الثانية و 20 بالمئة من الدرجة الاولى . تشير نتائج تحليل ملف تعريف التعبير الخاص ب Her2 الى ان 20 بالمئة لديهم حالة ايجابية و 55 بالمئة لديهم حالة Her2 سلبية. اما فيما يتعلق بالمؤشر انتشار النقسام الاستروجين لدينا 60 بالمئة من الحالات الايجابية التناضح العكسي و 40 بالمئة من الحالات لديهم تناضح عكسي سلبى. اما بالنسبة لمستقبل البروجسترون لاحظنا ان RP موجب بنسبة 55 بالمئة من الحالات و RP سالب مع 45 بالمئة من الحالات المدروسة.

Introduction

1. INTRODUCTION

Le cancer est une maladie provoquée par la transformation de cellules qui deviennent anormale et prolifèrent de façon excessive. Ces cellules dérégées finissent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne. Les cellules cancéreuses ont tendance à envahir les tissus et à se détacher de la tumeur. Elles migrent alors par vaisseaux et les vaisseaux lymphatiques pour aller former une autre tumeur (métastase).(1)

Il existe plus de 100 différents types de cancer. Les cancers les plus fréquemment rencontrés sont le cancer du poumon, le cancer du sein et le cancer de la prostate. (2)

Le cancer du sein est le cancer le plus diagnostiqué chez les femmes à travers le monde, autant avant qu'après la ménopause. Une femme sur 9 sera atteinte d'un cancer du sein au cours de sa vie et 1 femme sur 27 en mourra.

Le plus souvent, le cancer du sein survient après 50 ans, Le taux de survie 5 ans après le diagnostic varie de 80% à 90%, selon l'âge et le type de cancer. (3)

En 2020, le cancer du sein le plus courant en termes de nombre des cas recensée (2,26 millions des cas), et par mais les plus grands nombres de décès avec 685 000 décès d'après l'organisation mondial de la santé (OMS). (4)

Le diagnostic de ces maladies cancéreuses, exige toujours une biopsie et un examen anatomopathologique de type histologique. Cet examen basé sur l'inclusion en paraffine, permet en série d'étapes d'obtenir un résultat, et de l'interpréter.

Les méthodes d'analyse réalisées par les pathologistes font appel à différentes techniques complémentaires à savoir :

- Un examen macroscopique, c'est-à-dire un examen à l'œil nu, des prélèvements et des pièces opératoires, tous confiés au laboratoire d'anatomopathologie, permettant de donner une description de la tumeur (taille, contour, couleur...).
- Un examen histologique ou cytologique réalisé au microscope permet de déterminer le stade histologique de la tumeur.
- L'immunohistochimie qui est une technique de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps. Elle exploite le fait qu'un

Introduction

anticorps se lie spécifiquement à des antigènes dans les tissus biologiques. Cette technique est largement utilisée pour le diagnostic et/ou le suivi de cancer notamment le cancer de sein. (5)

Notre travail, réalisé au centre hospitalo-universitaire « Dr. HASSANI AEK » SIDI BEL ABBES, au service d'anatomopathologie durant une période de 2 mois, a porté sur l'apport de cette technique de l'immunohistochimie(IHC) dans le diagnostic et le traitement du cancer du sein . On s'est intéressée à la détection des récepteurs hormonaux notamment les récepteurs œstrogéniques (RE) et progestatif (RPe) ; ces deux hormones étant largement impliquée dans la pathologie cancéreuse du sein, l'inhibition de leur sécrétion est envisagée pour le traitement des cas positives. On s'est également intéressée à la détection du Her2, protéine surexprimée dans certains cancers du sein et enfin à l'expression de l'antigène Ki-67 : un marqueur de prolifération.

Présentation de la structure d'accueil

Avant d'aborder le thème de mon mémoire, il convient tout d'abord de présenter le CHU « Dr .HASSANI AEK » lieu de mon stage de fin d'étude.

Le centre hospitalier « Dr. HASSANI AEK » a été inauguré par le colonialisme français en 1936 à sidi bel Abbès. Il est placé sous la tutelle du ministère de la santé et a pour de dispenser des soins médicaux, conduire les travaux de recherche médicale, de principe à l'enseignement clinique universitaire et postuniversitaire médical et pharmaceutique ainsi qu'à la formation du personnel.

Au sein du CHU on trouve le service d'anatomie pathologie ou j'ai effectué mon stage. Ce service s'occupe de l'étude de différents pathologie (mammaires et thyroïdiennes et urologiques, pulmonaire, digestives, cutanées...). Il se charge des prélèvements des pièces opératoires, des biopsies et des frottis cytologique en utilisant des techniques telles (immunohistochimie, l'inclusion, la microtomie) afin de donner les facteurs pronostiques.

La capacité de ce service à recevoir des pièces des blocs opératoires de différents services est supérieur à 3500 pièces/an (soit 10-12 pièces/jour).

Ce service reçoit ainsi quotidiennement un nombre de 20 à 30 malades/jours pour réalisation de frottis.

Chapitre I :

Les Pathologie cancéreuses

2. Les pathologies cancéreuses

Les pathologies cancéreuses ou 'cancer' est le résultat de la prolifération d'une famille, d'un clone, de cellules anormales. Il faut donc définir les cellules anormales et définir le tissu cancéreux.

Il faut se contenter d'une définition empirique. On groupe sous le terme de cancer les affections dans lesquelles un ensemble de cellules, au sein d'un organisme pluritissulaire, échappe aux mécanismes de régulation. assurent un équilibre entre les tissus, compatibles avec la vie.(6)

2.1. Caractéristiques des cellules cancéreuses

La cellule cancéreuse est morphologiquement différente des cellules normales du tissu d'origine ; elle garde cependant un certain degré de différenciation lié à son tissu d'origine ; ces caractéristiques permettent dans une certaine mesure le diagnostic de cancer ainsi que l'identification du tissu atteint. (7)

2.2. Morphologie

- Plusieurs différences morphologiques témoignent de la malignité d'une cellule:
- Des anomalies de taille (anisocytose) au sein d'un même tissu.
- Un noyau volumineux (parfois multiple) avec un rapport nucléo plasmatique élevé ; l'existence de nombreuses mitoses (index prolifératif élevé).
- Le noyau est souvent hyper chromatique (son contenu en ADN est plus élevé par la suite d'une hyperploidie)
- Les nucléoles sont plus nombreux et mieux visibles. (8)

2.3. Physiologie

La cellule cancéreuse est aussi fonctionnellement différente des cellules normales: la synthèse de certaines protéines est modifiée par la répression de certains gènes ou par l'expression d'autres gènes, en particulier ceux codant pour des protéines embryonnaires (**alpha-fœto-protéines** dans certains carcinomes hépatocellulaires et dans certains tumeurs testiculaires) ; la composition des glycoprotéines et des mucines de membranes est fortement modifiée, ce qui entraîne l'apparition de certains antigènes de surfaces, des

modifications de perméabilité membranaire, une perte des capacités d'interaction avec la matrice extracellulaire. (8)

2.4. Les groupes de cancer

La classification histogénétique regroupe les cancers en fonctions du tissu dont elles sont issues :

- Le terme de **carcinome** désigne des cancers épithéliaux développés dans la peau, les muqueuses, les glandes mammaires, le foie ou la thyroïde.
- Les **sarcomes** sont les tumeurs du tissu conjonctif ou mésenchyme.

Le terme de **blastomes** désigné plus particulièrement les tumeurs embryonnaires. Le suffixe-ome est principe réservé aux tumeurs bénignes comme les papillomes, les fibromes, les lipomes. Mais il existe des exceptions consacrées par l'usages comme les mélanomes qui sont des cancer.(9),(10)

2.5. Les causes

L'importance pratique des facteurs externes de la carcinogénèse est majeure, parce qu'il est évidemment plus facile d'influencer que de modifier la constitution génétique d'un individu. Trois catégories de facteurs méritent une mention particulière : les produits chimiques, les radiations, et les virus. Le rôle d'autres facteurs, alimentaires en particulier, est plus difficile à cerner.(11)

2.5.1. Tabac

Le tabac est le principal agent carcinogène identifier dans l'espèce humaine.il responsable de quasi-totalité des cancers du poumon, d'une grande partie des cancers de vessie, du rein et association avec l'alcool, de ceux du larynx, de l'œsophage et de la cavité buccale. Chez la femme, le risque de cancer du col l'utérus est majorité chez fumeuses. (12)

Le risque de tabac est lié aux hydrocarbures aromatiques avec une **relation dose-effet, qu'il** s'agisse du nombre de cigarettes par jour ou de l'ancienneté de la consommation du tabac.(13)

2.5.2. Alcool

Même si alcool n'est pas carcinogène en lui-même, les enquêtes épidémiologiques relient fortement une consommation excessive et le risque de cancer de la bouche, du pharynx, l'œsophage et de foie. L'alcool agit par l'irritation chronique des muqueuses, par des carences nutritionnelles et surtout par potentialisation des effets du tabac.(14)

2.5.3. Alimentation

Les études rétrospectives apportent des preuves indirectes des relations entre les comportements alimentaires des populations et certains cancers. De manière générale, un excès d'apport calorique par rapport à la dépense énergétique est corrélé au risque accru de cancer du sein, de la prostate. etc.

Bien que les agents alimentaires et le mécanisme d'action ne soient pas clairement identifiés, le rôle des graisses d'origines animale est admis. (15) ,(16),((17)

2.5.4. Produits chimiques

Beaucoup des produits chimiques ont vu leur responsabilité démontrer dans l'initiation des cancers, les mieux connus étant le benzène (leucémie myéloïde chronique) et l'amiante (tumeur de la plèvre), et bien sur le tabac (tumeur bronchique, OR L, vésicales).

Ces toxiques chimiques ou leurs métabolites se fixent sur l'ADN (ce sont des "induits" dont ils provoquent la mutation. Ils sont souvent impliqués dans les cancers professionnels. (18)

2.5.5. Les radiations

- Les rayonnements ionisants qui lèsent le génome, ont provoqués des cancers à la suite de leur usage sans précaution au début de la radiologie et de radiothérapies.
- Le radon, issu du radium, gaz inerte et radioactif, est un élément que l'on trouve en quantité dans tous les roches et les sols de la planète.

Les champs électriques ou magnétiques pourraient augmenter modestement l'indice des leucémie et tumeurs cérébrales.

L'exposition des rayonnement UV, par la pratique du bronzage endommage ADN et jusqu'au gène p53 qui devrait contenir ce dommage ;il est responsable de

l'augmentation régulière du nombre des cancers cutanés (mélanomes), en particuliers dans les continents ensoleillés. (19)

2.6. Les virus

2.6.1. Virus d'Epstein-Barr

Est impliqué dans le lymphome de Burkitt, des cancers du rhinopharynx et des lymphomes malignes. (20)

2.6.2. Virus du papillome humain

Virus du papillome humain (HVP) sont associés aux cancers du col utérin de la marge anal et du pénis. Les infections à HVP sont des maladies sexuellement transmissibles se traduisant par un condylome des muqueuses anogénitales. (21)

2.6.3. Virus de l'hépatite B

Virus de l'hépatite B (HVB) est incriminé dans la survenue du cancer hépatocellulaire. Les zones d'endémie sont le Sud-est asiatique et l'Afrique Noire où le cancer survient sur foie sain. (22)

2.7. Les types de gènes du cancer

Il y a 3 principaux types de gènes du cancer qui contrôlent la croissance cellulaire et qui peuvent causer l'apparition du cancer.

2.7.1. Oncogènes

Les oncogènes sont des gènes ayant muté, qui incitent les cellules à croître de façon désordonnée et qui peuvent ainsi engendrer un cancer. Les proto-oncogènes sont des gènes normaux qui peuvent se transformer en oncogènes s'ils subissent une mutation. Les proto-oncogènes et les oncogènes agissent comme des interrupteurs marche-arrêt. Un proto-oncogène est habituellement inactif (arrêt). Lorsqu'un proto-oncogène est actif (marche), il indique à une cellule de croître ou de se diviser. Par contre, les oncogènes sont toujours actifs ; leurs cellules se développent donc de façon désordonnée. (23)

2.8. Gènes suppresseurs de tumeur

Les **gènes suppresseurs de tumeur** sont des gènes normaux qui ralentissent la croissance et division des cellules, réparent les erreurs dans l'ADN et disent aux cellules quand mourir (un processus normal appelé apoptose ou mort cellulaire programmée). Ils contribuent à nous protéger contre le cancer. Les gènes suppresseurs de tumeur fonctionnent correctement lorsqu'ils sont actifs. Ils empêchent les cellules de se diviser trop rapidement. Mais lorsque ces gènes subissent une mutation, ils deviennent inactifs. Cela incite les cellules à croître de façon désordonnée. Ce qui peut engendrer un cancer.(24)

2.9. Les gènes de réparation

Les **gènes de réparation** de l'ADN réparent les erreurs qui peuvent se produire dans d'autres gènes de réparation de l'ADN. Si un gène de réparation subit une mutation, il ne peut plus réparer les erreurs dans les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeur. Cela mène au cancer. (25)

2.10. Diagnostic

Le diagnostic d'un cancer nécessite la réalisation de plusieurs examens cliniques, biologiques et d'imagerie.

2.11. L'examen clinique

L'examen clinique mené par le médecin est une étape indispensable dans l'élaboration du diagnostic d'un cancer.

Le médecin consulté examine le patient : il mesure son pouls, sa tension, il écoute sa respiration... Un examen spécifique de la région potentielle atteinte est aussi conduit : examen des seins, examen gynécologique...

L'examen clinique doit être complet. Il a non seulement pour but de diagnostiquer la présence d'une tumeur, mais aussi de révéler la présence éventuelle de métastase. Il permet en outre les possibilités thérapeutiques. (26)

2.12. Examen biologique

Un bilan sanguin et /ou urinaire complète le premier bilan clinique. Ils permettant de mesures des paramètres relatifs à l'état de santé générales du patient, mais aussi de doser les marqueurs tumoraux qui seraient éventuelles présents. Ces marqueurs sont généralement des molécules formées en petites quantités par des cellules normales mais qui se retrouvent produites en excès par les cellules tumorales. Une fois passés dans la circulation sanguine ou dans les urines. (27)

2.13. L'imagerie médicale

Le premier diagnostic est souvent posé via l'imagerie. Des progrès considérables ont été faits au cours des dernières années en la matière. De nombreuses techniques coexistent ; chaque a ses indications, ses spécificités et ses limites. (28)

- **Radiographie:** basée sur les rayon X, elle est surtout utilisée en première approche pour détecter les cancers du poumon et du sein (mammographie)
- **Scanner (aussi appelé tomodensitomètre ,ou TDM) :**type de radiographie qui ,en prenant une succession d'images, permet une reconstitution en 3D des organes.
- **Endoscopie (ou fibroscopie):** examen consistant à introduire une caméra à l'intérieur d'un organe .Selon l'organe ,il peut s'agir coloscopie (colon) ,d'une gastroscopie (estomac), d'une cystoscopie (vessie),....
- **Imagerie par résonance magnétique (IRM):** technique avancée basée sur l'utilisation d'un champ magnétique qui fournit des image très précises des tissus mous.
- **Tomographie par émission de positons (TEP):** technique sophistiquée permettant à l'aide d'un traceur faiblement radioactif les cellules se multiples rapidement .
- **scintigraphie :** elle reflète le fonctionnement d'un organe. Elle est basée sur l'injection d'un traceur faiblement radioactif qui se fixe de manière spécifique sur l'organe à étudier.
- **Tomoscintigraphie:** la capture de plusieurs images grâce à une caméra mobile permet de reconstitue une image 3D de l'organe étudié.

2.14. La biopsie

Une biopsie consiste à prélever un échantillon de tissus suspect pour analyse. Cet examen est presque toujours nécessaire pour établir un diagnostic de cancer : c'est le seul

moyen de savoir si une anomalie est bénigne ou maligne et, le cas échéant, de connaître le type de cancer auquel on est confronté.(29)

- Ces informations sont essentielles au choix de la stratégie thérapeutique à mettre en place.

2.15. Le bilan de l'extension

Le bilan d'extension a pour objet de préciser l'état d'avancement de la maladie.

- Lorsqu'un cancer est diagnostiqué, il est indisponible de connaître son état d'avancement. Il est notamment crucial de savoir si la maladie s'est propagée à d'autres organes.
- Ce bilan permet à l'équipe médicale d'évaluer le stade de la maladie selon la classification T.N.M.et ainsi déterminer la stratégie thérapeutique la plus adaptée.

2.16. Traitement

Il existe trois types de traitements classiques contre le cancer : la chirurgie, la radiothérapie et les traitement médicament.

Ces traitements doivent être le plus souvent associés, car ils sont complémentaires. Ils doivent être combinés dans le cadre d'une stratégie progamie. (30)

2.17. La chirurgie

La chirurgie vise à retirer la tumeur. Généralement, pour extirper la tumeur dans des conditions satisfaisantes, il est nécessaire de retirer la totalité de l'organe atteint. Les interventions réalisées dépendent de l'organe atteint : mastectomie pour le sein, lobectomie pneumonectomie pour le poumon...etc. (31)

2.18. La radiothérapie

Suit souvent la chirurgie. Elle peut prendre différentes formes. Elle est utilisée pour tuer les cellules cancéreuses qui restent. Les effets secondaires de la radiothérapie sont dus à la destruction des tissus sains. Ils cassent habituellement une fois que la radiothérapie est terminée.(32)

2.19. La chimiothérapie

Utilise des médicaments contre le cancer. Elle est habituellement utilisée l'orsqu'il est difficile trouver l'emplacement exact de la tumeur ou lorsque le cancer a pénétré dans le

courant sanguin. Le médecin prescrit généralement une combinaison de différents médicaments. (33)

2.19.1. Les traitements médicaux

Les traitements médicaux peuvent agir soit curativement lorsque la tumeur que localement, seuls les traitements médicaux ont une action générale permettant de traiter une tumeur qui a déjà une dissémination existante, mais ne s'est pas encore manifestée cliniquement.(34)

Il existe plusieurs types des traitements médicaux :

La chimiothérapie cytotoxique et hormonothérapies sont les plus classiques ; l'immunothérapie, la thérapie génique et la thérapie non cytotoxique sont encore du domaine de la recherche.(35)

Chapitre II :
Cancer du Sein

3. Cancer du sein

La notion de "cancer du sein" relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de prolifération néoplasique de la glande mammaire qui diffère tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur compartiment évolutif.

Le terme de cancer du sein ne désigne que les tumeurs malignes potentiellement agressives ; du sein tandis que le terme de "terme du sein" design à la fois les tumeurs malignes et les tumeurs bénignes. (36)

3.1. Anatomie du sein

La glande mammaire humaine, au nombre deux, se trouvent de part et d'autre de la ligne médiane de la face antérieure du thorax, entre le sternum et une ligne verticale, elle tangente à limite antéro interne de l'aisselle. Dans le sens vertical, elles s'étendent de la troisième à la septième cote ; (Photo 1), reposant à sa face profonde sur le muscle grand pectoral et la cage thoracique qui est convexe. En décubitus horizontal, le mamelon correspond au quatrième espace intercostal. la ligne mamelonnaire répond horizontalement à la vertèbre dorsale. (37)

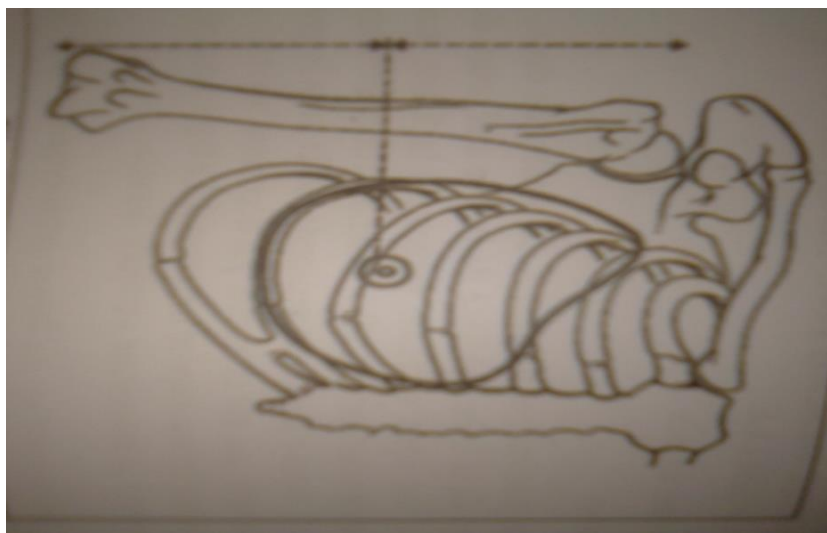


Photo 1 : la base mammaire (BRAHMI K.,2014)

Le sein se situe entre les secondes et sixièmes cotes et sont fait de tissu mammaire, de peau et de tissus sous-cutané. Le tissu mammaire comprend le parenchyme glandulaire et le stroma .la glande comprend 15 à20 lobes, chacun contenant 20 à 40 lobules. Chaque lobule est fait de 10 à 100 alvéoles. Quinze à 25canaux lactifères drainent séparément

chacun des lobes et avant d'atteindre le mamelon se dilatent pour former le sinus lactifère (Figure 1). Le tissu mammaire est enveloppé par le fascia pectoral superficiel et par le fascia pectoral profond, les deux étant reliés par des bandes fibreuses connus sous le nom de ligaments suspenseurs de Cooper. (38)

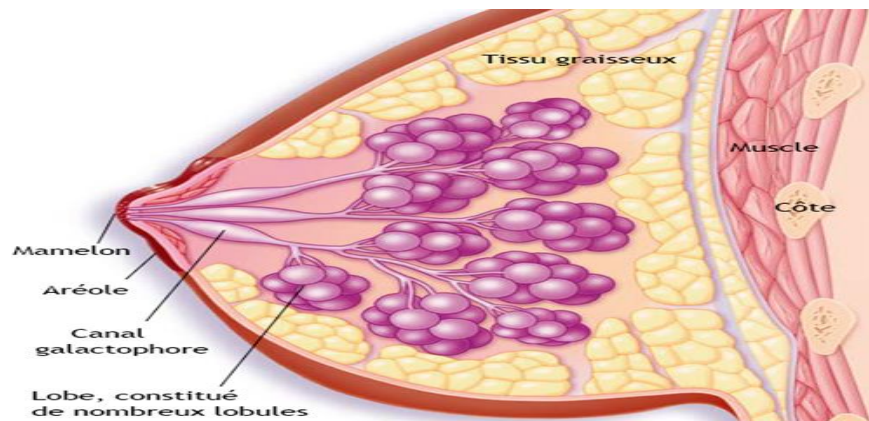


Figure 1 : l'anatomie du sein. (39)

3.2. La physiologie de sein

La glande mammaire est une glande exocrine, paire et lobulée, de morphologie très variable selon le sexe et la phase de la vie génitale .la glande mammaire est sous l'influence des hormones sexuelles.

- Les œstrogène les œstrogènes sont du développement structurel des sein, ils assurent la croissance des galactophores, la croissance du mamelon, la pigmentation de l'aréole, l'augmentation de vascularisation du stroma conjonctif, de la perméabilité capillaire et de l'évolution de l'activité mitotique à l'extrémité du canal.
- La progestérone n'agit qu'en synergie avec les œstrogènes et développe les acini et les galactophores. Elle bloque le cycle des mitose épithéliales provoqué par les œstrogènes. la progestérone est responsable du développement fonctionnel des seins c'est -à dire de la fonction sécrétoire des glandes (la lactation) .
- L'intégrité hypophysaire est nécessaire aux actions des hormones ovariennes. L'action de l'hypophyse sur la glande mammaire peut être indirecte par métabolisme hydrocarboné

(insuline), les ovaires(**FSH,LH**),les surrénal (**ACTH**);la thyroïdienne(**TSH**).Elle peut être directe et concerne la lactogénèse, les ostéogènes stimulent la sécrétion de prolactine. (37)

4-Les types de cancer du sein

C'est avec les méthodes de dépistage et de diagnostic vues précédemment que nous allons pouvoir déterminer le type de cancer est une information très importante dans la détermination du protocole de prise en charge des patients.

Dans 95% des cas, le cancer du sein se développe a partir des cellules épithéliales. On les appelle "les adénocarcinomes» (adino: vient le glande mammaire et carcinome: vient de cellule épithéliale.de plus ,on parlera de "carcinome canalaire " lorsque l'origine du cancer est canalaire ou alors de "carcinomes lobulaire ";lorsque l'origine du cancer est lobulaire .Il existe globalement deux grandes groupes : "les cancers in situ" et "les cancer infiltrats" (**SAGLGIER J et al ., 2018**)

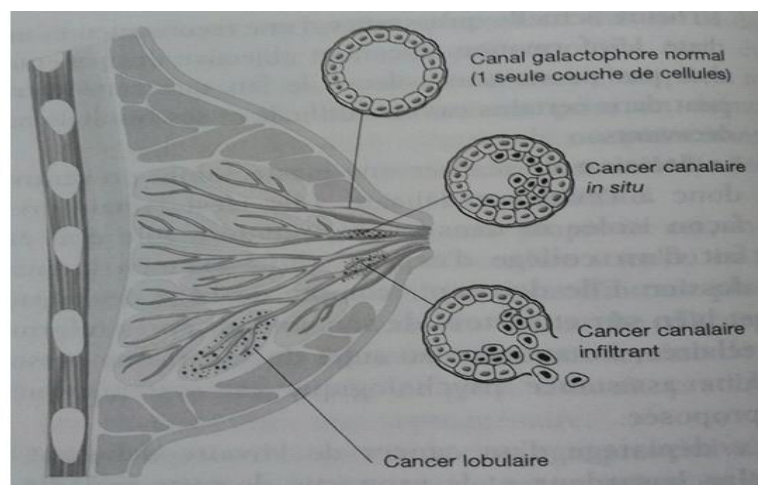


Figure 2 : les différents types de cancer du sein (SAGLGIER J et al.,2018)

3.3. Carcinomes in situ (CIS)

Ils se définissent par l'absence de franchissement de la basale. Ils sont de plus en plus fréquemment observés en raison de leur dépistage mammographique ; et représentent actuellement 15 à 30 de l'ensemble des cancers du sein.

- Les CIS canaux forment 80% de ce groupe.
- Les CIS lobulaire sont plus rare (20%) et surviennent en prés ménopause

3.4. Carcinomes infiltrant

- Canalaires (80%)
- Canalaires avec composante intra-canalaires prédominants (5%)
- Lobulaire (10%) souvent bilatéraux.
- Forme particulière (mucineux ou colloïde de la femme âgée, médullaire, tubuleux, cylindrome).

4.3. AUTRES VARIETE DE CARCINOMES

- Cancers inflammatoires : lié à des emboles lymphatiques disséminés, très haut risque métastatique.
- Maladie de Paget du mamelon : lésion eczématiforme du mamelon, contenant des cellules malignes, avec un cancer canalaire sous-jacent.

4.4. Autres tumeur malignes

- Tumeur phyllodes.
- lymphomes
- sarcomes.
- Métastases d'un cancer d'autre localisation primitive, très rares.

3.5. La classification des cancers mammaires

3.5.1. Classification TNM du cancer du sein:

La classification TNM permet de grouper les patients selon l'extension anatomique que de leur maladie. Elle a pour but :

- D'évaluer le pronostic ; de guider l'indication thérapeutique ; de comparer les résultats de différents protocoles thérapeutiques.

Tableau 1 classification TNM du cancer du sein (UICC., 2010)

• <u>Pour la taille de la tumeur :</u> Tx : Aucune évaluation possible de la taille de la tumeur T0 : Palpation impossible de la tumeur T1 : Tumeur situé entre 0 et 2 cm T1mic : invasion inférieure à 1 mm T1a : tumeur compris entre 1 et 5 mm T1b : Tumeur compris entre 5mm et 1 cm T1c : Tumeur compris entre 1 cm et 2 cm T2 : Tumeur situé entre 2 et 5 cm T3 : Tumeur de taille supérieure à 5 cm T4 : Tumeur présentant une ulcération T4a : infiltration dans la paroi thoracique T4b : présence d'œdèmes T4c : T4a+T4b T4d : tumeur inflammatoire
• <u>Pour l'envahissement des ganglions :</u> Nx : Aucune évaluation possible des ganglions N0 : Aucun envahissement des ganglions N1 : N1a : 1 à 3 ganglions axillaires envahit N1b : ganglions internes mammaires (CMI) envahit et détectés par la méthode des ganglions sentinelles. N1c : N1a+N1b N2 : N2a : 4 à 9 ganglions axillaires envahit N2b : ganglions mammaires internes homolatéraux suspects envahit en l'absence de ganglions axillaires touchés. N3 : N3a : Au moins 10 ganglions axillaires touchés ou ganglions sous-claviculaires envahit N3b : ganglions axillaires envahit avec ganglions mammaires internes homolatéraux suspects touchés ou plus de 3 ganglions axillaires + ganglions de la CMI détecté par la méthode des ganglions sentinelles. N3c : ganglions sus-claviculaires homolatéraux

3.6. Les grades du cancer du sein

Le grade permet d'évaluer l'agressivité de la tumeur. Il est déterminé lors de l'examen anatomopathologie, en prenant en compte : (40)

- L'aspect des cellules cancéreuses : plus une cellule cancéreuse s'est modifiée par rapport aux cellules normales, plus elle est agressive.
- Les caractérisations des noyaux des cellules : plus les noyaux des cellules sont gros et de taille et de forme variées, plus les cellules sont agressives.
- Le nombre de cellules en mitose (multiplication des cellules) : plus ce nombre est important, plus les cellules de la tumeur se divisent rapidement, la plus le cancer peut se propager, ce qui est un critère d'agressivité.

Chacun de ces 3 critères est noté de 1 à 3, le score global obtenu détermine le grade histopronostique : (41)

- **Grade est 1** ou bas grade (tumeurs les moins agressives) pour des scores totaux de 3, 4 ou 5
- **Grade est 2** pour les scores de 6 ou 7.
- **Grade est 3** ou haut grade (tumeur les plus agressives) pour des scores de 8 ou 9.

Tableau 2 : Les grades du cancer du sein (ALLIOUA F, DELLAL K., 2014)

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

3.7. Les stades du cancer du sein

La stadification décrit ou classe un cancer en fonction de la quantité de cancer présente dans le corps et son emplacement lors du diagnostic initial. C'est ce qu'on appelle souvent l'étendue du cancer.

On se sert de l'information révélée par l'examen pour savoir quelle est la taille de la tumeur, quelle est la taille de la tumeur, quelle partie du sein est atteinte par le cancer, si le cancer a propagé à partir de son lieu d'origine et où il s'est propagé. Votre équipe de soins a recours au stade pour planifier votre traitement et prévoir l'issue (Votre pronostic). (42) ,(43).

Tableau 3 : Classification en stades de progression (UICC., 2010)

Stade	Type	Tumeur « T »	Ganglions «N»	Métastases «M»
Stade 0		Tis	N0	M0
Stade I		T1 et T1mic	N0	M0
Stade II	IIA	T0	N1	M0
		T1 et T1mic	N1	M0
		T2	N0	M0
	IIB	T2	N1	M0
		T3	N0	M0
Stade III	IIIA	T0	N2	M0
		T1 et T1 Mic	N2	M0
		T2	N2	M0
		T3	N1, N2	M0
	IIIB	T4	N0, N1, N2	M0
	IIIC	Tout T	N3	M0
Stade IV		Tous T	Tous N	M1

3.8. Grade SBR (SCARF BLTOOM ET RICHARDSON)

La classification histologique consiste à examiner au microscope le prélèvement fait par biopsie et lui donner ensuite un grade en fonction de l'apparence et du comportement des cellules cancéreuses qu'on compare à ceux des cellules normales (différenciation).

Ceci peut renseigner sur le pronostic de la maladie (rapidité d'évolution notamment) et conditionne la prise en charge thérapeutique. (44)

Chapitre III :
Immunohistochimie

4. Concept de la technique immunohistochimique

L'immunohistochimie est une méthode qui permet d'étudier les cellules et les tissus. Elle utilise des molécules chimiques pour colorer des anticorps, c'est -à dire des protéines qui associent et s'attachant à des marqueurs sur les cellules cancéreuses. Le colorant permet au pathologiste à déterminer le type de cellules cancéreuse et son compartiment.(45)

L'immunohistochimie constituant un aspect important du diagnostic du CPI. Elle aide les mécanismes à déterminer le siège primitif et évaluer l'agressivité du cancer. Grâce à ces renseignements, les médecins décident des options de traitement et établissent le pronostic. (46)

Le but de l'immunohistochimie est de mettre en évidence certains protéines cellulaire, qu'elles soient cytoplasmiques, membranaires ou nucléaires, spécifiques pour un type ou une fonction cellulaire, à l'aide d'une réaction antigène-anticorps, le complexe formé étant rendu visible, donc localisable, par un marqueur coloré.

Le réactif principal est un anticorps spécifiquement dirigé contre ce motif. Un traceur fixé directement ou indirectement sur l'anticorps permet de détecter la liaison entre l'anticorps et sa cible. (47)

L'immunohistochimie permet ainsi d'analyser et de localiser, par visualisation directe les composantes cellulaires et tissulaires, et d'en déduire des fonctionnalités potentielles.

4.1. Les propriétés anticorpales

On distingue deux types d'anticorps : les anticorps polyclonaux et anticorps monoclonaux. Les anticorps spécifiques peuvent être fabriqués en injectant à plusieurs reprises des doses d'antigène (protéines à détecter) à un animale (le plus souvent, lapin ou chèvre), et en recueillant ensuite le sérum riche en anticorps (antisérum contient différents dits polyclonaux, produits par différents plasmocytes, reconnaissant divers antigènes de la protéine d'intérêt. Cette méthode est simple et peu couteuse, mais elle présente des inconvénients qui sont : des risques de réactions croisées (signal non spécifique) et des quantités limitées de sérum.(48)

Un anticorps monoclonal correspond à une population d'anticorps identiques dirigés contre le même site antigénique d'une protéine. Ces anticorps sont produits en grande

quantité en culture par un clone de lymphocytes B selon la technique des hybridomes. Après avoir immunisé une souris contre un antigène donné, on prélève dans sa rate des lymphocytes B.

Ceux-ci sont fusionnés avec des cellules myélomateuses, tumoraux immortalisés, Après sélection, les hybridomes ainsi obtenus sont une source permanente et stable d'un seul type d'anticorps monoclonale. La spécificité des anticorps monoclonaux est supérieure à celle des sérums polyclonaux, mais leur sensibilité peut être inférieure. Cette méthode limite les réactions croisées, mais elle est longue, coûteuse et a des résultats incertains. (49)

4.2. Apport de l'immunohistochimie dans le diagnostic

L'immunohistochimie est largement utilisée pour le diagnostic et /ou le suivi des cancers par détection de cellules anormales telles que celles trouvées dans les tumeurs cancéreuses.

En effet, cette technique a eu un impact majeur sur le diagnostic des tumeurs du fait que :

- Les épitopes sont très souvent conservés dans le matériel tumoral inclus en paraffine.
- La sensibilité et la spécificité de la technique sont généralement bonnes.

4.2.1. Marqueurs immunohistochimiques

Des marqueurs spécifiques sont ainsi aujourd'hui connus pour divers cancers. Parmi ces marqueurs :

- l'antigène carcino-embryonnaire (CEA) : utilisé en cas de cancer du côlon ;
- **CD15** et **CD30** : utilisés pour la maladie de Hodgkin ;
- alpha-fœtoprotéine: utilisé en cas de carcinome hépatocellulaire;
- **CD117** : utilisé en cas de tumeur stromale gastro-intestinale ;

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

- - **Ki-67** : marqueurs de la prolifération
- - **Her**: marqueurs cytoplasmique
- - **RO**: Récepteur progestatif

Exemples : cancer du sein : RO/RP Récepteur hormonaux : Les hormones œstradiol et progestérone sont impliquées dans la croissance des cellules mammaires (stimulation de la multiplication cellulaire). Plus de 2/3 des tumeurs du sein ont des récepteurs à l'œstradiol (RO) détectables sous la forme d'un marquage nucléaire en IHC. Les patients avec un cancer RO+ sont sensibles aux médicaments antiœstrogènes comme le tamoxifène, les patients peuvent suivre une hormonothérapie. (50)

4.2.2. Application et limitation de la technique

Les applications de l'immunohistochimie sont plus innombrables. Parmi les plus importantes citons :

- -le diagnostic différentiel des tumeurs indifférenciées (carcinome, sarcome, mélanome, ou lymphome malin).
- -la catégorisation des leucémies et des lymphomes.
- -l'identification de l'origine d'une métastase ainsi que la détection de molécules ayant une importance pronostique et /ou thérapeutique (récepteurs hormonaux d'un cancer mammaire par exemple).

Les limitations de la technique sont d'ordre purement pratique, d'où l'importance cruciale d'une formation adéquate des techniciens dans la manipulation et l'utilisation des anticorps d'une part, et d'une expérience minimale du pathologiste dans l'interprétation des images d'autre part. L'immunohistochimie ayant un prix, il est indispensable de faire le bon choix parmi les très nombreux anticorps disponibles, leur importance diagnostique étant fort variable. (50)

En bref, l'immunohistochimie permet au pathologiste de préciser son diagnostic au maximum, ce qui à son tour, donne au clinicien la possibilité de choisir le traitement optimal pour son patient.

4.2.3. Avantages et inconvénients de la technique

Les principaux avantages de cette technique sont sa sensibilité, sa spécificité, et la facilité de sa mise en œuvre. De plus, elle permet, par une approche morphologique, de préciser la répartition des motifs d'intérêt dans un tissu et localiser le signal dans les différents compartiments cellulaires.

L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique conventionnel ou épi fluorescence pour les traceurs fluorescents. Elle peut être appliquée à des coupes de tissu fixé, à des cryocoupes, ou des préparations cellulaires de diverse nature.

La coloration obtenue est stable, permettant archivage et études rétrospectives. La qualité du signal obtenue est généralement meilleure à partir de tissu fixé. Cependant la plupart des fixateurs comportent un risque de modification, de marquage ou d'altération de l'épitope d'intérêt. (51)

Partie Pratique

5. Matériels et Méthodes

5.1. Matériels

Notre étude est une analyse rétrospective de 50 biopsies mammaires réalisées durant une période de 2 mois s'étalant du 05-04-2021 au 05-06-2021 au niveau du service d'anatomie pathologie du centre hospitalier Universitaire « Dr. HASSANI AEK » SIDI BEL ABBES. Nous avons assisté et partiellement participé aux différentes étapes de l'étude histologique et histochimique depuis la réception des échantillons jusqu'à la lecture des lames et la caractérisation des tumeurs.

5.2. Méthodes expérimentales

5.2.1. Examen histologique sur tissu fixé

Les prélèvements destinés au laboratoire pour un examen histologique, passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient interprétés par le pathologiste responsable.

La technique est réalisée en cinq étapes qui sont principalement :

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

5.2.1.1. Fixation

Elle constitue une technique de référence pour l'étude histologique des prélèvements humains destinés à un examen anatomopathologique. C'est une étape essentielle dans la préparation tissulaire. Son but est de s'opposer à l'autolyse tissulaire et à la putréfaction, de garantir la conservation des structures et le durcissement des pièces, afin de garder le prélèvement dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

Les échantillons sont fixés dans du formol 10%. La durée de fixation est variable et la quantité de fixateur utilisée doit être au moins dix fois plus importante que le volume de tissu à fixer : quelques heures suffisent donc pour fixer les petits fragments.

Les fragments sont ensuite incubés dans des cassettes susceptibles une inclusion dans la paraffine (Photo 2)



Photo 2 : inclusion des fragments dans des cassettes

5.2.1.2. L'inclusion

Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltre, Les tissus acquièrent ainsi une consistance permettant d'obtenir des coupes minces au microtome.

La substance d'inclusion, généralement la paraffine, est une substance qui a les propriétés d'être liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'alcool.

Comme cette substance est hydrophore (non miscible à l'eau), la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant son inclusion dans la paraffine. Vu qu'elle est aussi non soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation, une double substitution doit être réalisée.

L'eau est remplacée par l'alcool (déshydratation) et l'alcool par le toluène (substitution).

Pour réaliser cette étape, un automate d'inclusion Pour réaliser cette étape, un automate d'inclusion appelé histokinette est utilisé (Photo 3).

Cet automate peut se charger de toutes les phrases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être coupé au microtome.

- **L'étape de circulation** consiste à faire séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires.
- **Fixation** dans 2 bains de formol 10% (30min × 2).
- **Déshydratation** par l'alcool: consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient, tenant compte que l'agent déshydratation se fait dans 5 bains d'alcool de degré croissant 75%,80%,90%,95%, et absolu (1h× 3 ,1h30 et 2h).
- **Éclaircissement** par le toluène : cette étape est destinée à la remplacement l'alcool par un solvant de la paraffine et à chasser l'alcool par trois bains successifs de toluène .En remplaçant l'agent déshydratant, le toluène rend le tissu transparent d'ou le nom d'éclaircissement .Cette opération se déroule dans 3 bains de Toluène (1h ,1h30 et 2h).
- **Enrobage** dans la paraffine : c'est l'étape terminale de la circulation, réalisée par passage du tissu dans la paraffine liquide.2 bains de paraffine (2h et 3h) sont utilisés.



Photo 3 : Histokinette, Automate permettant l'inclusion des échantillons fixés dans de la paraffine après déshydratation

- **L'inclusion** ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce ne contienne ni eau solvant intermédiaire (alcool). Cette étape se fait par un appareil d'enrobage représentée par la (Photo 4).



Photo 4 : Appareil d'emballage (ou l'inclusion) dans la paraffine

Le bloc devient plus facile à manipuler que le tissu seul, et peut s'attacher à la pince porte -objet du microtome sans briser la pièce.

Réalisation des coupes ou microtomie : Après montage du bloc dans le porte-bloc du microtome destiné à produire de fines tranches (3-5 μ m), la réalisation des rubans est



effectuée à l'aide du microtome (Photo 5)

Photo 5 : Microtome

Ces coupes sont immergées dans des bains d'alcool, puis étalées en les dépliant sur la lame en flottation à la surface d'un bain chaud.

5.2.1.3. Coloration

La coloration histologique permet différencier finement tous les éléments d'un tissu.

Elle consiste à accentuer les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation.

La coloration utilisée est de type H.E.S (hématoxyline-éosine safran). Elle a pour but de permettre la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme des cellules ainsi que des fibres de collagène. L'hématoxyline colore le noyau en violet, l'éosine colore le cytoplasme en rose, et la safran colore les fibres de collagène en jaune. Les lames doivent être préparées, afin de pouvoir recevoir les colorants. La coloration est précédée de déparaffinage et d'hydratation.

5.2.1.4. Déparaffinage

Cette étape consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants (préparation en phase aqueuse), puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour cela les lames sont mises dans l'étuve à 70°C pendant une heure, puis plongées dans le toluène.

5.2.1.5. Hydratation

Elle a pour objet de retirer le toluène du tissu et le remplacer par de l'eau. Le toluène et l'eau n'étant pas miscibles, le toluène est d'abord remplacé par l'alcool, puis les lames sont passées dans un bain d'eau courante, permettant de remplacer l'alcool par l'eau.

5.2.1.6. Montage

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

Le montage permet une double protection, mécanique des coupes et chimique des colorants. (Photo 5)



Photo 6 : Lames montrées et colorées

La lame colorée est ensuite transmise au médecin anatomopathologique de la plateforme pour identifier une zone contenant plus de 50% de cellules tumorales. La zone d'intérêt est cerclée avec un marqueur et séparée du reste de l'échantillon par macrodissection, afin de s'assurer d'une proportion de cellules tumorales supérieure à 50% et réduire ainsi la contamination par les cellules normales. S'il y a plus de 50% de cellules tumorales, le test est considéré comme fiable. Dans le cas contraire, les cellules saines peuvent interférer et il y a un risque de conclure à résultat faux négatif.

Les lames préparées sont ensuite étudiées par l'immunohistochimie.

5.3. Étude immunohistochimique

5.3.1. Détection des récepteurs hormonaux, des cytokératines et du Ki-67

Des coupes de tissus tumoraux sont étalées sur des lames prétraitées pour une adhésion maximale du tissu au support, puis incubées pendant 60 min à 58°C et pendant une nuit à 37°C.

Le reste de la paraffine est éliminé par deux passages successifs dans des bains de toluène (5 min chacun). Les lames sont ensuite plongées dans 3 bains d'alcool à concentration décroissantes (5 min chacun) et réhydratées par un rinçage à l'eau courante (10 min). L'inhibition des peroxydases endogènes est obtenue après incubation des coupes histologiques avec une solution de peroxyde d'hydrogène à 0,4% pendant 15 min ; puis un démasquage antigénique est réalisée en portant à ébullition les coupes

histologique dans une solution de tampon citrate (pH = 6) pendant 5 min .Après refroidissement , les coupes sont trempées dans une solution de PBS (phosphate buffered saline) pendant 5 min ,puis elles sont incubées pendant 15 min avec la protéine bloquante , ensuite pendant 1h20min avec l'anticorps primaire. Après rinçage au PBS ,l'anticorps secondaire boitinyllé est appliqué pendant d'abord 20min avec des rinçages au PBS entre les deux applications (5min chacun).Pour révéler la réaction immunohistochimique l'échantillon est recouvert pendant exactement 10 min d'un réactif de coloration prépare extemporanément en mélangeant 2 gouttes de chromogènes à 5 ml d'amino-éthyle-carbozote (AEZ).Après rinçage a l'eau courante (10 min),les lames sont incubées dans un bain d'hématoxyline pendant 1min30s ,rincées à l'eau puis passées rapidement dans du carbonate de lithium saturé avant rinçage à l'eau distillée. Enfin, montage des coupes antre lames et lamelles en utilisant un milieu aqueux spécifique à l'AEC.

5.3.1.1. Détection de l'oncoprotéine Her2

Les coupes histologiques sont déposées sur lames prétraités, incubées à 58°C pendant 1h puis à 37° C pendant une nuit, puis elles sont déparaffinées et réhydratées.

Afin de restaurer l'antigénicité des épitopes Her2, les coupes sont immergées pendant 40 min dans une solution citrates (10 mmol/l) préalablement chauffée à 96°C.

Après refroidissements de la solution à température ambiante, les lames sont ensuite rincées avec de l'eau distillée et plongée pendant 5 min dans 2 bains de tampon du lavage dilué (Tris/HCL : fournie avec le kit d'Hercep Test).

Les tissus sont ensuite recouverts de réactif de blocage de la peroxydase endogène pendant 5 min (peroxyde d'hydrogène à 3% fournie avec le kit d'hercep Test). Après rinçage avec le tampon du lavage (Tris/HCL) (5min), L'anticorps primaire (Protéine antihumaine Her2 de lapin) est appliqué pendant 30min. Les lames sont ensuite rincées avec du tampon Tris/HCL (5min), puis l'anticorps secondaire couplé à la peroxydase est appliqué pendant 30min.

Les révélations de la réaction immunohistochimique est réalisée en incubant les coupes pendant 10 min avec la solution substrat chromogénique de la peroxydase

« DAB » (3,3-diaminobenzidine, Dako). Les lames sont ensuite rincées et trempées 6 fois dans un bain de carbonate de lithium saturé. Ensuite les coupes sont rincées à l'eau distillée (5min et recouvertes par une lamelle après leur déshydratation.

5.4. Lecture des lames après immunohistochimie

Les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone sont considérés positifs lorsque plus de 10% des noyaux des cellules tumorales étaient marqués, quelle que soit l'intensité du marquage.

Le score Her2 déterminé selon les recommandations de l'ASCO (tableau 3), variant du score 0 au score 3+. Pour les tumeurs ayant un score 2+, considéré douteux, une étude complémentaire par FISH (hybridation in situ par fluorescence) est nécessaire.

Score	Marquage	Interprétation
0	Absence de marquage ou marquage membranaire intéressant moins de 10% des cellules in filtrantes.	Négatif.
1+	Faible marquage membranaire intéressant plus de 10% des cellules.	Négatif.
2+	Marquage membranaire complet, faible à modéré, intéressant > 10% de cellule ou moins de <30% avec un marquage membranaire intense et complet.	Cas douteux.
3+	Marquage membranaire intense de >30% des cellules.	Positif.

6. Résultats et Discussions

6.1. Résultats de l'étude histologique

6.1.1. Répartition des cas de cancer en fonction de l'âge

L'âge moyen des malades présentant un cancer de sein est de 47.76 ans. Les extrêmes d'âge sont de 19 ans et 80 ans. La figure 9 illustre le nombre de cas de cancer en fonction de la tranche d'âge des patients. C'est entre 40 et 50 ans que cette pathologie est la plus dominante avec %34.

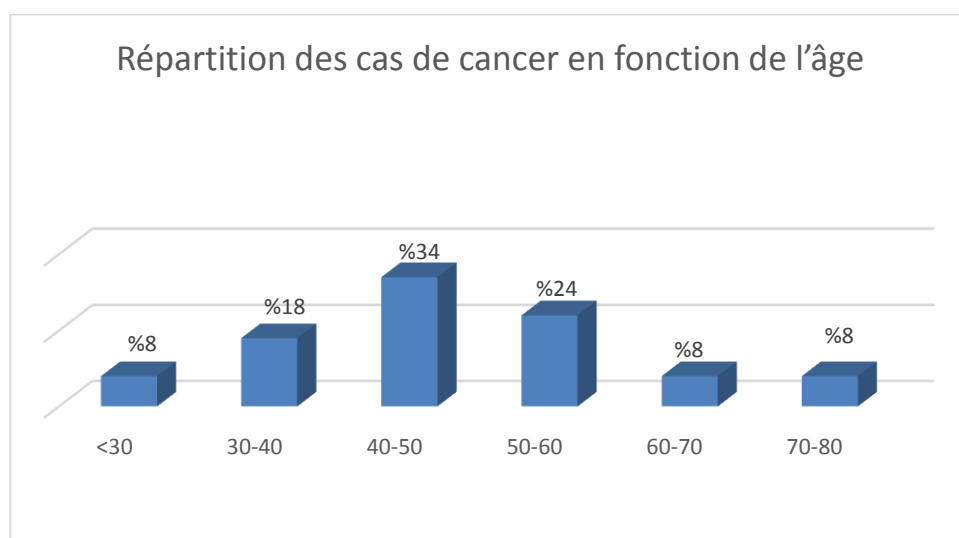


Figure 3 : Répartition des cas de cancers du sein en fonction de l'âge

6.1.2. Répartition selon le type de prélèvement

Dans la série des patients sur lesquels ce travail a été effectué, la figure 10 montre que **micro biopsie** représente le pourcentage le plus élevé (74%), et la **tumorectomie** représente la dernière fraction (4%). La **mastectomie** n'est pratiquée que dans 22%.

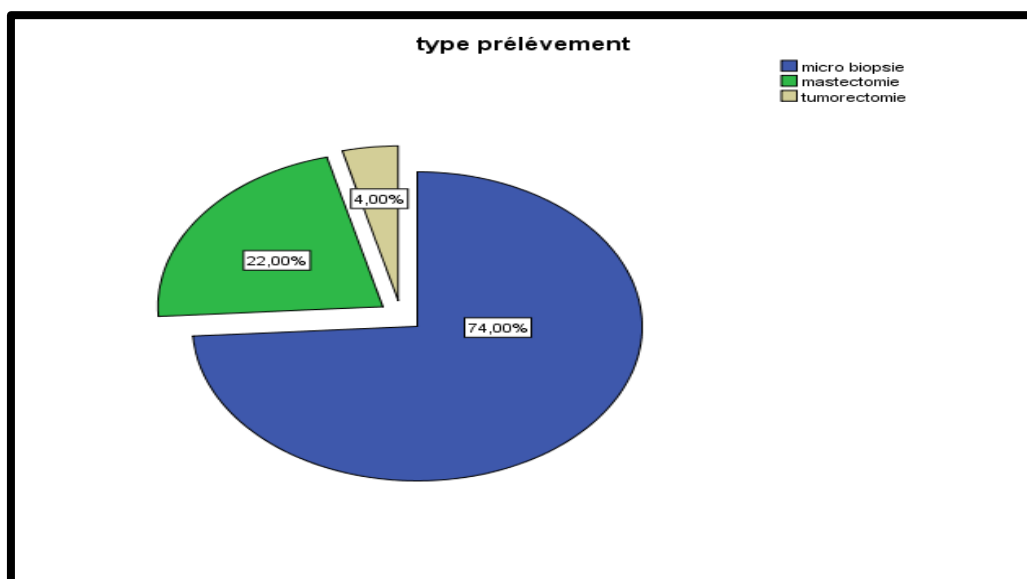


Figure 4 : répartition selon le type de prélèvement

6.1.3. Répartition des cas de cancer selon Grade

Dans la série des patients sur lesquels ce travail a été effectué, la figure 11 montre que Grade III représente le pourcentage le plus élevé (48%), et Grade I représente la dernière fraction (20%). Grade II représente 30%.

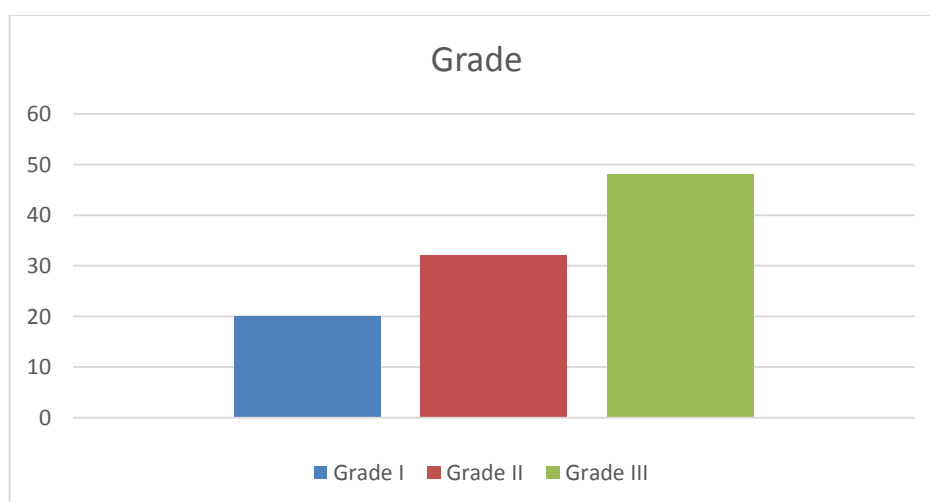


Figure 5 : Pourcentage des patientes présentant selon le Grade

6.2. Résultats immunohisto-chimique

6.2.1. Répartition selon le score de Her2

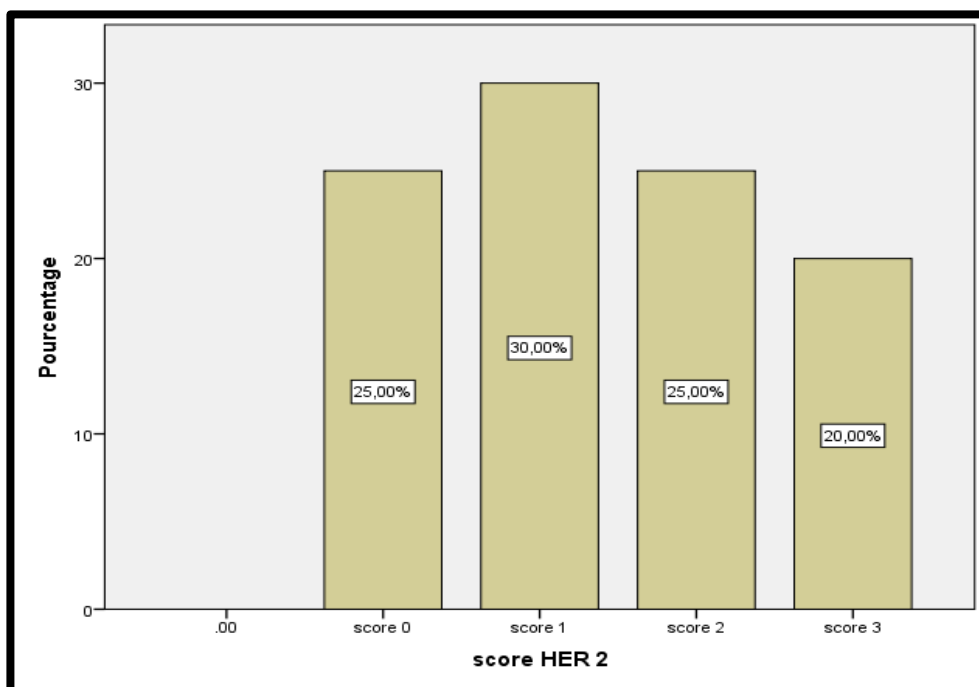


Figure 6 : Répartition des scores de Her2 chez les patientes

Dans la série des patients sur lesquels ce travail a été effectué, le **Figure 6** montre que les cas négatifs représentés par le score 0 et le score1 sont prédominants avec un pourcentage de 55%(30% pour le score 1 et 25% pour le score 0). Les cas positifs (score3) représentent 20% de l'ensemble des cas. On note également les cas douteux représentés par le score 2 avec une fraction de 25%.

Les photos ci-dessous montrent des exemples des résultats microscopiques de cancer du sein Her2 négatif (Photo 7) et Her2 positif (Photo 8). L'apparence et la couleur des cellules tumorales peuvent fournir des indices quant à la façon de traiter une patiente. Par exemple, la figure 14 montre un échantillon positif en ce qui concerne la présence de la protéine Her2 au score 3, avec marquage membranaire intense ; plus 30% des cellules sont marquées. L'échantillon de la Photo 7, quant à lui, représente la présence de Her2

au score 1. Avec un marquage membranaire intéressant moins de 10% des cellules infiltrantes

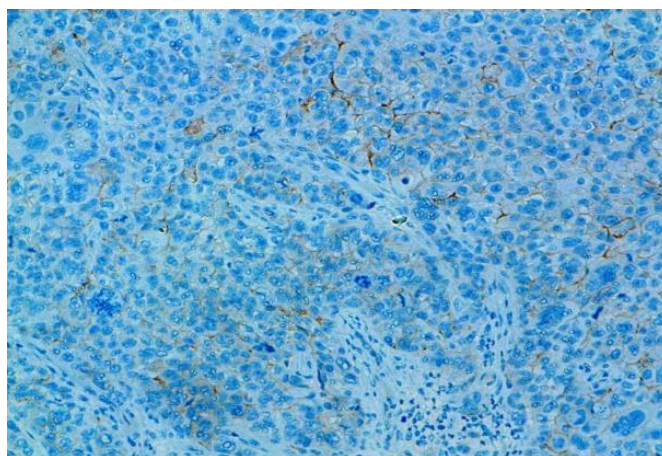


Photo 1 : Cancer du sein Her2 score 1

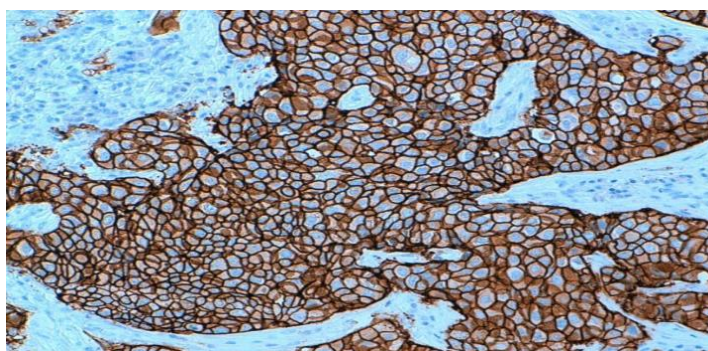


Photo 2 : Cancer du sein Her2 score 3 en immunohistochimie

6.2.2. Résultats des RO (récepteurs ostrogénique).

La Figure 7 montre que 60% de la population ont un RO positif, alors que 40% de la population ont un RO négatif, on précise qu'un RO est positif lorsque plus de 10% des noyaux des cellules tumorales sont marqués.

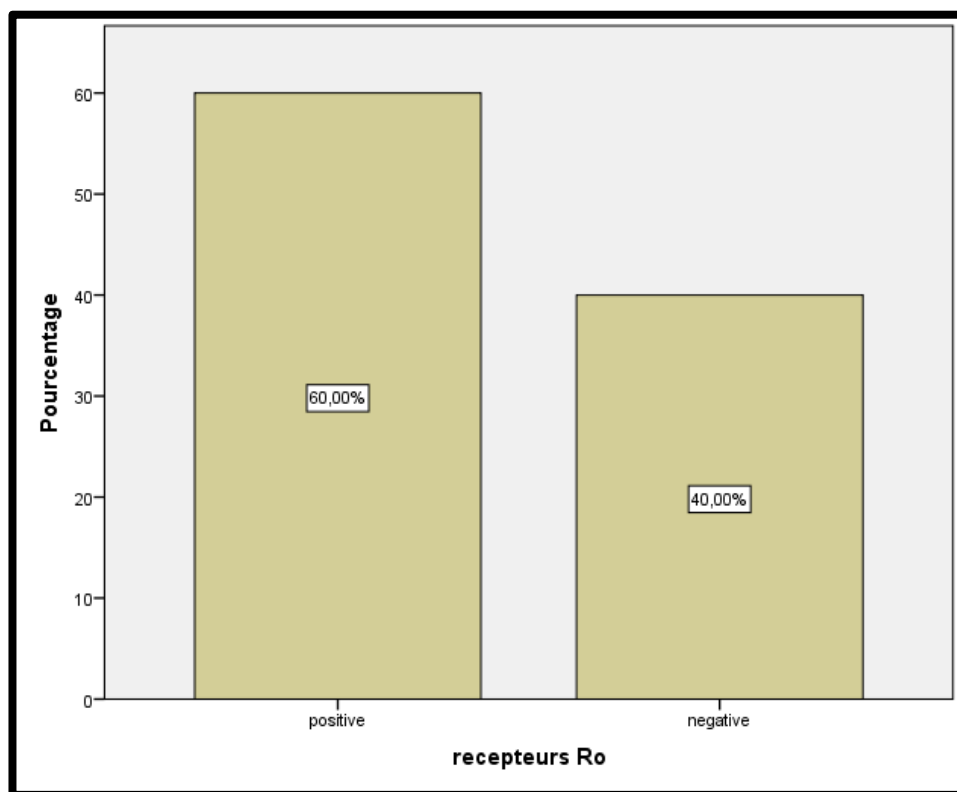


Figure 7 : Pourcentage des patientes présentant des récepteurs oestrogéniques (RO)

6.2.3. Résultats des RP (récepteurs progestative)

La figure 16 montre que 55% de la population ont un RP positif, alors que 40% de la population ont un RO négatif.

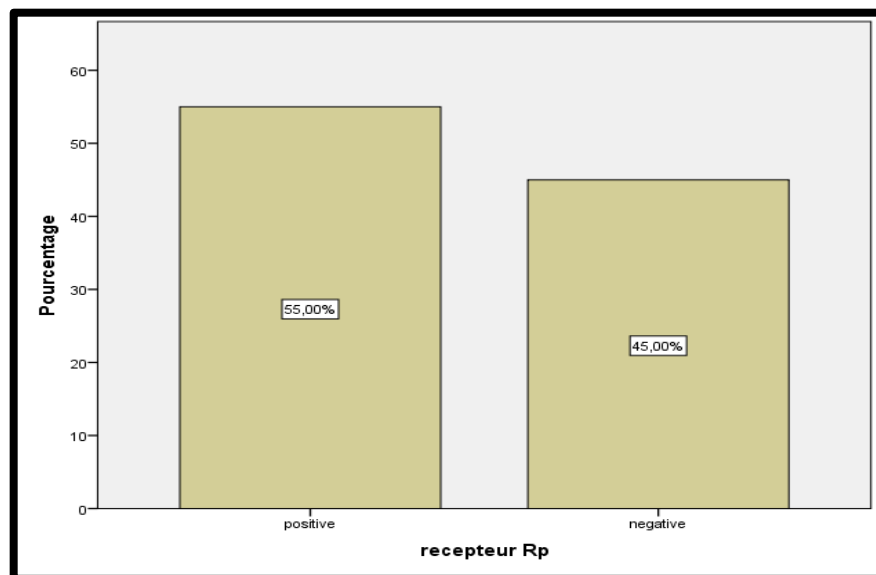


Figure 8 : Pourcentage des patientes présentant des récepteurs progestative (RP)

6.3. Discussion

Depuis 1963, année de l'inauguration du CHU de sidi bel Abbes, le nombre de malades cancéreux adressés pour prise en charge, n'a cessé d'augmenter. D'après les années, presque la moitié des malades hospitalisés présentaient un cancer. Notre étude réalisée dans le cadre d'un stage de fin d'étude, a porté su 50 cas de cancer recrutés au CHU au service anatomopathologie pendant la période du stage.

En ce qui concerne la répartition du cancer de sein en fonction de l'âge et en comparant les résultats obtenus avec ceux du registre de Centre Anti-Cancer (CAC), les différentes populations étudiées présentent un âge relativement similaire. La plupart des tranches d'âge examinées présentent un âge relativement similaire prédominant chez les patients âgés entre 40-50 ans. Concernant les statistiques liées aux grades histologiques du cancer de sein, une prédominance du grade III a été remarquée, suivi par le grade II et I. on mention que le grade III est le plus grave et le plus avancé. Il est de mauvais pronostic et concerne des gens qui arrivent tardivement au CHU et dont le dépistage est tardif surtout a cause de l'ignorance et du manque de sensibilisation. Dans ce sens, nos résultats ont montré que la tumorectomie c'est-à-dire le chirurgie conservation procédant à l'exérèse de la tumeur uniquement n'est pratiquée que dans très peu des cas (4%). Dans la majorité des cas, c'est la micro-biopsie qui la plus employée (74%), suivi par la mastectomie totale avec

curage ganglionnaire (patey) avec pourcentage (22%) ceci pose de réels problèmes à la fois esthétiques mais surtout psychologiques pouvant avoir des impacts très négatifs sur la réponse aux traitements et montrant encore une fois l'intérêt d'un dépistage précoce pouvant éviter cette pratique chirurgicale.

Pour l'oncoprotéine Her2, les patientes Her2 positives sont les moins nombreuses. Ce sont les Her2 négatives qui sont présentes avec un pourcentage élevé. Les protéines Her2 influent sur la façon dont les cellules poussent, se divisent et se réparent ; elles contribuent ainsi à un bon équilibre général. Cependant, leur présence en excès à la surface des cellules tumorales donne à la maladie un caractère agressif. On a en effet constaté dans le cas des Her2 positif une agressivité plus importante de la cellule tumorale, des rechutes plus rapides de la maladie, la survenue plus fréquente de métastases et une résistance de la tumeur aux thérapeutiques conventionnelles. Mais ces cancers bien particuliers peuvent bénéficier de traitement ciblé. D'où l'intérêt de rechercher le statut Her2 pour une meilleure prise en charge des patientes. Dans ce sens la technique immunohistochimique réalisée au CHU est d'une grande importance.

En ce qui concerne l'indice de prolifération mitotique ki-67. Nos résultats obtenus, sur 20 patientes, ont montré que 100% des tumeurs ont un Ki-67 positif et donc ce sont des tumeurs prolifératives. La molécule, Ki-67, est un bon indicateur du taux de prolifération cellulaire. Ce marqueur est déjà utilisé pour définir l'agressivité d'un cancer du sein à un stade avancé. Le taux de la molécule Ki-67 est corrélé avec la taille de la tumeur, l'envahissement des ganglions ainsi que le grade de la tumeur. Il est donc normal de trouver une abondance de Ki-67 positif du fait que le grade histologique le plus abondant chez les patientes est le grade III.

Pour les récepteurs ostrogéniques, 60% des cancers du sein sur lesquels nous avons réalisé le marquage immunohistochimique présentent des récepteurs d'œstrogène positifs. Ce sont donc des tumeurs hormonosensibles. L'œstrogènes et la progestérone sont 2 hormones femelles. Elles peuvent favoriser la croissance de certaines cellules, dont celles du cancer du sein. C'est sur les récepteurs que les hormones se fixent aux cellules et qui peuvent affecter le comportement ou la croissance des cellules. Connaître le statut des récepteurs hormonaux de la tumeur aide les médecins à prévoir : la réaction du cancer du

sein à l'hormonothérapie, aussi on a remarqué que les récepteurs d'œstrogènes négatifs représentent avec un pourcentage de 40%.

C'est ainsi qu'une tumeur RP positive (55%) est plus susceptible de réagir à l'hormonothérapie qu'une tumeur RP négative (45%). Une tumeur qui est à la fois RP positive et RE positive (plutôt que seulement RE positive) pourrait réagir encore mieux à l'hormonothérapie. D'où l'intérêt de déterminer également les récepteurs RP. Une femme dont la tumeur est RP positive peut aussi être traitée par hormonothérapie. Mais, une tumeur dont les récepteurs hormonaux sont négatifs (RE- et RP-) ne réagit pas à l'hormonothérapie.

Conclusion

7. Conclusion

Au cours des travaux présentés dans ce rapport, deux aspects principaux ont été abordés. L'étude histologique suivie par l'étude immunohistochimique, afin de caractériser les cas de cancer de sein recrutés au CHU.

Les aspects histologiques obtenus permettent de bien différencier entre les différents grades de la tumeur. Le grade I et II se caractérisent par une prolifération cellulaire moins abondante par rapport au grade III qui présente une densité cellulaire assez importante avec présence de mitoses et de quelques foyers nécrosés.

Le grade III est le grade le plus malin, il est caractérisé par l'assemblage de plusieurs critères tels une densité cellulaire très importante, la présence de plusieurs nécroses en plus d'une prolifération. C'est ce grade III qui est prédominant chez la population étudiée ce qui montre un dépistage tardif de la maladie d'où l'intérêt de multiplier les campagnes de sensibilisation pour un dépistage précoce.

Le deuxième critère recherché dans notre projet concerne la recherche du statut Her2 du Ki-67 et des récepteurs œstrogènes et les récepteurs progestatives en utilisant la technique immunohistochimique.

Pour l'oncoprotéine Her2, les patientes Her2 positives sont les moins nombreuses. Ce sont les Her2 négatives qui sont présentes avec un pourcentage élevé.

En ce qui concerne l'indice de prolifération mitotique Ki-67. Nos résultats obtenus, sur 20 patientes, ont montré que 100% des tumeurs ont un Ki-67 positif et donc ce sont des tumeurs prolifératives.

Bibliographie

8. Références bibliographiques

1. What Is Cancer? - National Cancer Institute [Internet]. 2007 [cité 25 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
2. Types de cancers | Fondation contre le Cancer [Internet]. [cité 25 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.be/cancer-glossary>
3. Breast Cancer Risk Factors: Age [Internet]. Breastcancer.org. 2020 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.breastcancer.org/risk/factors/age>
4. Breast cancer [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
5. Qiu C, Wang P, Wang B, Shi J, Wang X, Li T, et al. Establishment and validation of an immunodiagnostic model for prediction of breast cancer. *Oncoimmunology*. 28 oct 2019;9(1):1682382- 1682382.
6. cancer | Definition, Causes, Types, & Treatment [Internet]. Encyclopedia Britannica. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.britannica.com/science/cancer-disease>
7. Les caractéristiques des cellules cancéreuses — Site des ressources d'ACCES pour enseigner les Sciences de la Vie et de la Terre [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/logiciels/anagene/programmes-de-1ere-s-2011/variabilite-genetique-et-sante/perturbation-du-genome-et-cancerisation/approche-historique-des-notions-doncogene-et-de-proto-oncogene/le-virus-du-sarcome-de-rous-et-les-cellules-en-culture>
8. Dr. Espié M. Chiffres clés et prévalence du cancer du sein - Carenity [Internet]. [cité 25 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.carenity.com/infos-maladie/cancer-du-sein/chiffres-cles-et-prevalence-181>
9. Cabarrot E, Lagrange JL. Cancérologie générale. Elsevier. Paris: Masson; 2007. 232 p.
10. Lee AM, Shi Q, Pavey E, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, et al. DPYD Variants as Predictors of 5-fluorouracil Toxicity in Adjuvant Colon Cancer Treatment (NCCTG N0147). *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet]. déc 2014 [cité 26 juin 2021];106(12). Disponible sur: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/dju298>
11. Breast Cancer and Environmental Factors. What Does Science Tell Us? - Blog [Internet]. ISGlobal. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.isglobal.org/en/healthisglobal/-/custom-blog-portlet/cancer-de-mama-y-factores-ambientales-que-dice-la-ciencia-/6113595/0>
12. Tobacco and Cancer | American Cancer Society [Internet]. 2020 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/tobacco-and-cancer.html>
13. Klingbeil EC, Hew KM, Nygaard UC, Nadeau KC. Polycyclic aromatic hydrocarbons, tobacco smoke, and epigenetic remodeling in asthma. *Immunol Res*. mai 2014;58(0):369- 73.
14. Alcohol and Cancer Risk Fact Sheet - National Cancer Institute [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/alcohol/alcohol-fact-sheet>
15. Cancer and food - Better Health Channel [Internet]. 2010 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/ConditionsAndTreatments/cancer-and-food>
16. Poor diet and cancer risk [Internet]. World Cancer Research Fund. 2017 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.wcrf-uk.org/uk/preventing-cancer/what-can-increase-your-risk-cancer/poor-diet-and-cancer-risk>

Références bibliographiques

17. Cancer and diet: What's the connection? [Internet]. Harvard Health. 2016 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.health.harvard.edu/cancer/cancer-and-diet-whats-the-connection>
18. Cancer-Causing Substances in the Environment - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/substances>
19. Yaffe MJ, Mainprize JG. Risk of Radiation-induced Breast Cancer from Mammographic Screening. *Radiology*. 1 janv 2011;258(1):98- 105.
20. Viruses and Human Cancers: a Long Road of Discovery of Molecular Paradigms | Clinical Microbiology Reviews [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.00124-13>
21. Cancers Associated with Human Papillomavirus (HPV) | CDC [Internet]. 2020 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: https://www.cdc.gov/cancer/hpv/basic_info/cancers.htm
22. Chen C-J. Risk of Hepatocellular Carcinoma Across a Biological Gradient of Serum Hepatitis B Virus DNA Level. *JAMA*. 4 janv 2006;295(1):65.
23. Proto-oncogenes to Oncogenes to Cancer | Learn Science at Scitable [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/proto-oncogenes-to-oncogenes-to-cancer-883/>
24. Changements génétiques et risque de cancer - Société canadienne du cancer [Internet]. 2015 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-101/what-is-cancer/genes-and-cancer/genetic-changes-and-cancer-risk/?region=on>
25. Changes in genes | American Cancer Society [Internet]. 2018 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer/gene-changes.html>
26. Cancer : le diagnostic | Fondation ARC pour la recherche sur le cancer [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.fondation-arc.org/cancer-le-diagnostic>
27. Rassy E, Assi T, Pavlidis N. Exploring the biological hallmarks of cancer of unknown primary: where do we stand today? *Br J Cancer*. 1 avr 2020;122(8):1124- 32.
28. Examen anatomopathologique - Diagnostic [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Diagnostic/Examen-anatomopathologique>
29. How biopsy procedures are used to diagnose cancer [Internet]. Mayo Clinic. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/cancer/in-depth/biopsy/art-20043922>
30. Traitements contre le cancer - Combattre la maladie - Prévention - ARTAC [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: https://www.artac.info/fr/prevention/combattre-la-maladie/traitements-contre-le-cancer_000068.html
31. Surgery for Cancer - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery>
32. Radiation Therapy for Cancer - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/radiation-therapy>
33. Chemotherapy to Treat Cancer - National Cancer Institute [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/chemotherapy>
34. Medicines to Treat Cancer | Choosing Wisely [Internet]. 2015 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.choosingwisely.org/patient-resources/medicines-to-treat-cancer/>

Références bibliographiques

35. Chemotherapy and other drug therapies - Canadian Cancer Society [Internet]. www.cancer.ca. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.cancer.ca:443/en/cancer-information/diagnosis-and-treatment/chemotherapy-and-other-drug-therapies/?region=on>
36. Longo DL. BREAST CANCER : in Harrison's Hematology and Oncology. Harrison's. Harrison's; 2013. (Harrison's Hematology and Oncology).
37. BRAHMI K. LE CANCER DU SEIN T1. OPU. 2014. (Ouvrage).
38. Nicolas D-S. Cancérologie clinique. MASSON. Vol. 3 edition. 2008. 456 p.
39. Anatomie et drainage lymphatique de la glande mammaire [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <http://www.dr-karazaitri-ma.com/pages/pour-les-professionnels/pathologies-du-sein/cancer-du-sein/anatomie-et-drainage-lymphatique-de-la-glande-mammaire.html>
40. Cancer du sein - Gynécologie et obstétrique - Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/gyn%C3%A9cologie-et-obst%C3%A9trique/troubles-du-sein/cancer-du-sein>
41. Fouhi ME, Benider A, Gaëtan KZA, Mesfioui A. Epidemiological and anatomopathological profile of breast cancer at the Ibn Rochd University Hospital, Casablanca. Pan Afr Med J. 9 sept 2020;37:41- 41.
42. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology. 1991;19(5):403- 10.
43. Sebban DE. Les différents stades du cancer du sein : classification et grades [Internet]. Docteur Sebban. 2019 [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.docteur-eric-sebban.fr/cancer-du-sein/diagnostic-cancer-sein/stades-et-types-de-cancer-du-sein/>
44. Penault-Liorca F, Vincent-Salamon A. Le pathologiste et la chimiothérapie néoadjuvante: évaluation de la réponse, facteurs pronostiques et prédictifs. Ann pathol ; 2003;55- 563.
45. Évaluation immunohistochimique du risque métastatique dans les cancers du sein débutants sur microbiopsies – Académie nationale de médecine | Une institution dans son temps [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/evaluation-immunohistochimique-du-risque-metastatique-dans-les-cancers-du-sein-debutants-sur-microbiopsies/>
46. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 1 nov 2013;31(31):3997 - 4013.
47. Pozner-Moulis S, Cregger M, Camp RL, Rimm DL. Antibody validation by quantitative analysis of protein expression using expression of Met in breast cancer as a model. Lab Invest. 1 mars 2007;87(3):251- 60.
48. Jasani B. Manual of Diagnostic Antibodies for Immunohistology: Leong AS-Y, Cooper K, Joel F, Leong W-M. (£45.00.) Oxford University Press, 1999. ISBN 1 900151 31 6. Mol Pathol. févr 2000;53(1):53- 53.
49. L'immunohistochimie: Son principe, ses applications et ses limites | Clinics in Mother and Child Health [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.ajol.info/index.php/cmch/article/view/35824>
50. FMPMC-PS - Histologie : les tissus - Niveau PAES [Internet]. [cité 26 juin 2021]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/POLY.Chp.1.1.3.html>

Références bibliographiques

51. Sun Y-S, Zhao Z, Yang Z-N, Xu F, Lu H-J, Zhu Z-Y, et al. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci.* 1 nov 2017;13(11):1387- 97.

Les Annexes

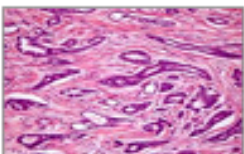
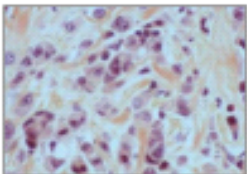
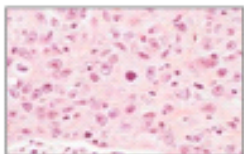
9. Annexes

Annexe 1 : critères de positivité de statut HER2 par immunohistochimie (actualisé selon les recommandations ASCO*/CAP 2013 et GEPICs 2014)

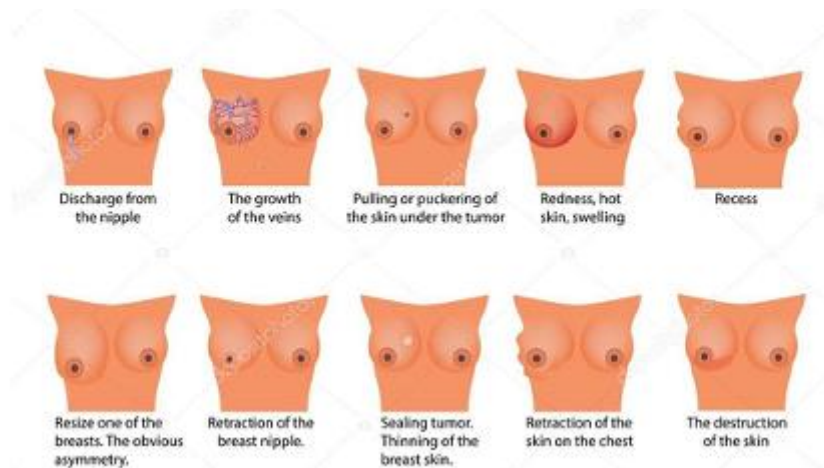
Score	Marquage	Interprétation	Indication à un traitement anti-HER2
0	Absence de cellules marquées <i>ou</i> Marquage membranaire complet ou incomplet modéré ou faible ≤ 10% cellules	négatif	non
1+	Marquage membranaire complet ou incomplet faible > 10% cellules	négatif	non
2+	Marquage membranaire complet modéré >10% cellules <i>ou</i> Marquage membranaire complet fort ≤ 10% cellules <i>ou</i> Marquage membranaire incomplet basolatéral modéré à fort > 10% cellules	cas à vérifier	Evaluation du statut HER2 par hybridation in situ avant décision thérapeutique
3+	Marquage membranaire complet fort >10% de cellules marquées et marquage membranaire complet fort	positif	oui

Références bibliographiques

Annexe 2 : Grade histopronostique de Scarff Bloom Richardson modifié par Elson et Ellis (grades de Nottingham) (Penault-Llorca F et al .,2014) , (Wolff AC et al ., 2013)

Différenciation architecturale	Proportion de formation de structures tubulo-glandulaires dans la tumeur	
	Score 1	Bien différencié (> 75% de la tumeur)
	Score 2	Moyennement différencié (10 à 75%)
	Score 3	Peu différencié (< 10% de la tumeur)
Pléomorphisme nucléaire	Atypies nucléaires	
	Score 1	Noyaux réguliers entre eux de taille < à 2 fois la taille de noyaux de cellules normales
	Score 2	Critères intermédiaires
	Score 3	Noyaux irréguliers avec anisocaryose ou de taille > à 3 fois celle de noyaux normaux, avec nucléoles proéminents
Mitoses	Compte mitotique sur 10 champs au fort grossissement rapporté au diamètre du champ (ici : 0,57 mm de diamètre)	
	Score 1	0 à 9 mitoses
	Score 2	10 à 18 mitoses
	Score 3	> 18 mitoses
Grade histopronostique	Score total obtenu en additionnant les 3 items	
I	3 à 5	Pronostic favorable
II	6 et 7	Pronostic intermédiaire
III	8 et 9	Pronostic défavorable

Annexe 3 : les symptômes du cancer du sein



Annexe 4 : les étapes de la carcinogénèse (Hourieux c ., 2010)

