

ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



CORRELATION ENTRE LA CLASSIFICATION MOLECULAIRE ET LES ASPECTS MORPHOLOGIQUES DU CANCER DU SEIN

MEMOIRE PRESENTE PAR :

Docteur CHAHBOUNI SANAE
née le 28 Juillet 1982 à Fès

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
OPTION : ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Sous la direction de :
Professeur ELFATEMI HINDE
Professeur AMARTI RIFFI AFAF

Juin 2012

PLAN

INTRODUCTION	3
CLASSIFICATION MORPHOLOGIQUE DU CANCER DU SEIN.....	6
I. Le type histologique	7
1- Néoplasies mammaires in situ	10
1-1- Les proliférations de type canalaire	10
1-2- Les proliférations de type lobulaire	12
2- Carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique	13
3- Carcinome lobulaire infiltrant	14
4- Carcinome tubuleux	15
5- Carcinome médullaire.....	15
6- Carcinome mucineux	15
7- Carcinome adénoïde kystique ou cylindrome	16
8- Carcinome inflammatoire.....	16
9- Maladie de Paget du mamelon	16
II. La taille tumorale	17
III. L'envahissement des ganglions axillaires.....	19
IV. Le grade histologique	22
V. Les embolies vasculaires péri tumoraux	24
VI. La classification moléculaire du cancer du sein.....	25
MATERIELS ET METHODES	26
I. Matériels	27
II. Méthodes	27
1- Fiche d'exploitation	27
2- Etape macroscopique.....	27
2-1- Généralités	27

2-2- La biopsie.....	28
2-3- Exérèse partielle d'un cancer infiltrant	28
2-4- Mastectomie.....	29
2-5- Curage axillaire	30
3- Histologie.....	30
3-1- L'obtention des coupes.....	30
3-2- La coloration des coupes par Hématéine-Eosine-Safran (HES)...	31
3-3- L'étude immunohistochimique	32
4- Classification histologique	32
5- Classification moléculaire	32
6- Saisie et analyse des données	34
RESULTATS	35
DISCUSSION	49
CONCLUSION	75
RESUME	77
REFERENCES	80

INTRODUCTION

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent dans le monde, c'est la première cause de décès par cancer chez la femme [1]. Il prend naissance des cellules épithéliales qui tapissent l'unité terminale ductulo-lobulaire et on peut le classer comme carcinome invasif ou non invasif selon le franchissement ou non de la membrane basale. Le carcinome invasif est divisé en deux principales catégories : le carcinome canalaire infiltrant qui constitue 80 % des cas, et le carcinome lobulaire qui constitue 10 à 15 % des cas. 5 à 10% des cas sont représentés par le carcinome tubulaire, mucineux, médullaire, papillaire et cribriforme.

Les traitements systémiques (chimiothérapie, hormonothérapie, thérapeutiques ciblées) sont délivrés sur la base de facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse thérapeutique, cliniques, histologiques et biologiques. Malgré l'évolution considérable qu'a connue la prise en charge du cancer du sein [2], le dépistage et les traitements, les facteurs histologiques, cliniques et moléculaires, ont globalement peu évolué et restent insuffisants pour rendre compte de l'hétérogénéité évolutive de la maladie [3], conduisant un certain nombre de patientes vers des traitements inadaptés, inutiles ou inefficaces, et toxiques [4]. Cette incapacité à identifier ces sous-classes pronostiques coïncide aujourd'hui avec la disponibilité croissante de nouvelles molécules antitumorales [5].

Il est donc crucial d'améliorer la classification pronostique du cancer du sein pour affiner les indications thérapeutiques et améliorer les taux de survie.

Depuis plusieurs années, les techniques de biologie se sont largement répandues dans les laboratoires de recherche. De nombreuses études ont permis d'améliorer notre compréhension de l'oncogenèse mammaire en identifiant quelques gènes clés (ERBB2, P53, BRCA1/2 par exemple).

Le cancer du sein apparaît aujourd'hui comme une maladie complexe et hétérogène caractérisée par l'accumulation de multiples altérations moléculaires qui

confèrent à chaque tumeur un phénotype et un potentiel évolutif propres. D'où l'idée de faire un traitement à la carte (en se basant sur des anomalies moléculaires et génétiques propres à chaque tumeur)

Perou et Sorli ont utilisé la technique de puces à ADN pour créer la nouvelle classification du cancer du sein [6-7]. Ils ont démontré que cette néoplasie peut être classée selon les profils d'expression génique en quatre groupes :

Type luminal : tumeurs qui expriment les récepteurs oestrogéniques.

HER-2 ou Erb-B2 : tumeurs qui surexpriment l'HER-2

Type normale : dont les cellules ressemblent à celles du sein normal et aux fibroadénomes.

Type basal ou « triple négatif » : tumeurs qui n'expriment pas les récepteurs hormonaux et qui expriment les gènes trouvés normalement dans les cellules basales et myoépithéliales.

Les tumeurs de type luminal sont associées à un meilleur pronostic en comparaison avec les tumeurs de type basal ou HER-2 qui ont un profil clinique plus agressif.

ASPECTS MORPHOLOGIQUES DU CANCER DU SEIN

Les différents types morphologiques et biologiques des cancers du sein sont actuellement classés et gérées sur la base d'un certain nombre de facteurs clinicopathologiques et biologiques validés cliniquement, qui sont utilisées pour évaluer le pronostic, orienter le traitement et prédire la réponse au traitement.

Ces facteurs comprennent : l'âge, le type histologique, la taille tumorale, le grade de SBR, la présence d'emboles vasculaires, le statut ganglionnaire et le statut des différents marqueurs immunohistochimiques comme les récepteurs oestrogéniques, les récepteurs progestéroniques et l'Her2 [8].

I. Le type histologique

La classification actuelle utilisée est celle de l'OMS 2003. Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la grande majorité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non épithéliales (sarcomes, lymphomes malins non hodgkiniens primitifs) sont rares (moins de 1% des cancers du sein) [9].

Tableau 1: classification des tumeurs mammaires selon l'OMS 2003 [9]

Tumeurs épithéliales malignes
Néoplasies mammaires in situ • Néoplasies Mammaires Intra épithéliales de type Canalaire • Néoplasies Mammaires Intra épithéliales de type Lobulaire Carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique (canalaire TNS) (40 à 75%) • Carcinome de type mixte • Carcinome pléomorphe • Carcinome avec cellules géantes ostéoclastiques • Carcinome avec aspects choriocarcinomateux • Carcinome avec aspects mélanocytaires Carcinome lobulaire infiltrant (5 à 15%) Carcinome tubuleux (2 à 7%) Carcinome cribriforme infiltrant (0,8 à 3,5%) Carcinome médullaire (1 à 7%) Carcinome produisant de la mucine • Carcinome mucineux (2%) • Cystadénocarcinome et carcinome à cellules cylindriques sécrétantes • Carcinome à cellules en bague à chaton Tumeurs neuroendocrines du sein (5 à 10%) • Carcinome neuroendocrine de type solide • Carcinoïde atypique • Carcinome à petites cellules • Carcinome neuroendocrine à grandes cellules Carcinome papillaire infiltrant (<1 à 2%) Carcinome micropapillaire infiltrant (<2%) Carcinome apocrine Carcinome métaplasique (<5%) • Carcinome métaplasique de type épithélial pur • Carcinome épidermoïde • Adénocarcinome avec métaplasie à cellules fusiformes • Carcinome adénosquameux • Carcinome mucoépidermoïde • Carcinome métaplasique mixte à composante épithéliale et conjonctive Carcinome à cellules riches en lipides (<1 à 6%) Carcinome sécrétant (<0,15%)

Carcinome oncocytique Carcinome adénoïde kystique (0,5%) Carcinome à cellules acineuses Carcinome à cellules claires (riches en glycogène) Carcinome sébacé Carcinome inflammatoire Maladie de Paget du mamelon
Tumeurs myoépithéliales
Myoépithéliome malin
Tumeurs mésenchymateuses malignes
Hémangiopéricytome Fibrosarcome Schwannome malin Angiosarcome Liposarcome Rhabdomyosarcome Ostéosarcome Léiomyosarcome
Tumeurs malignes mixtes épithéliales et conjonctives
Sarcome phyllode Carcinosarcome
Lymphomes malins
Lymphome B diffus à grandes cellules Lymphome de Burkitt Lymphome du MALT de la zone marginale Lymphome folliculaire
Métastases mammaires
Tumeurs du sein de l'homme
Carcinome in situ Carcinome infiltrant

1 - Néoplasies mammaires in situ

1-1- Les proliférations de type canalaire

v La Métaplasie Cylindrique Atypique (MCA)

La MCA correspond à un ensemble d'anomalies morphologiques du revêtement épithélial des lobules mammaires, dont les acini sont plus ou dilatés et kystiques. Les cellules épithéliales sont cylindriques ou cubiques. Elles présentent des atypies nucléaires de bas grade ou plus rarement de grade intermédiaire.

On retrouve fréquemment des hernies cytoplasmiques au pôle apical des cellules (sécrétion de type apocrine) se détachant dans la lumière des acini.

La lumière des acini renferme du matériel de sécrétion fluide ou grumeleux, ressemblant parfois à de la nécrose tumorale « sécrose » plus ou moins calcifiée [9-10].

v L'hyperplasie canalaire atypique (HCA)

Les cellules de l'HCA ont le même aspect monotone et uniforme que les cellules du CCIS de bas grade. Leurs limites cytoplasmiques sont nettes et mieux visibles (« rigidité cellulaire»). Les cellules épithéliales s'arrangent en structures micropapillaires et cribriformes, plus rarement en massifs pleins. Ces structures sont caractérisées par une polarisation cellulaire autour des cavités cribriformes et le long des axes micropapillaires.

Le seuil d'extension de la prolifération épithéliale atypique en dessous duquel, on porte un diagnostic d'HCA et au-delà duquel, celui de CCIS de bas grade, a récemment été porté de 2 à 3mm [9;10].

v Le carcinome canalaire in situ (CCIS)

L'OMS définit le CCIS comme une lésion intracanaire caractérisée par une prolifération cellulaire accrue, des atypies cellulaires légères à marquées et une tendance inhérente mais non obligatoire vers un carcinome mammaire infiltrant [9].

La classification des CCIS est actuellement principalement basée sur le grade nucléaire, la présence de nécrose, et le type architectural [10]:

- Le grade nucléaire:

- Noyaux de bas grade: noyaux d'apparence monotone dont la taille est de 1,5 à 2 fois la taille des globules rouges, avec une chromatine fine et rarement des nucléoles ou des mitoses.

- Noyaux de haut grade: noyaux pléomorphes dont la taille est supérieure à 2,5 fois la taille des globules rouges, avec une chromatine hétérogène, des nucléoles proéminents et multiples et des mitoses.

- Noyaux de grade intermédiaire: ces que l'on ne peut pas classer dans les précédentes catégories.

- La nécrose tumorale:

Le pathologiste doit préciser s'il y a une nécrose ou non.

- Le type architectural:

- CCIS de type comédocarcinome: La lumière des canaux et des lobules est comblée par une nécrose centrale. Des cellules carcinomateuses entourent la nécrose centrale. Ces cellules ont des noyaux par définition de haut grade.

- CCIS de type cribriforme.

- CCIS de type micropapillaire.

- CCIS de type massif (figure 1).

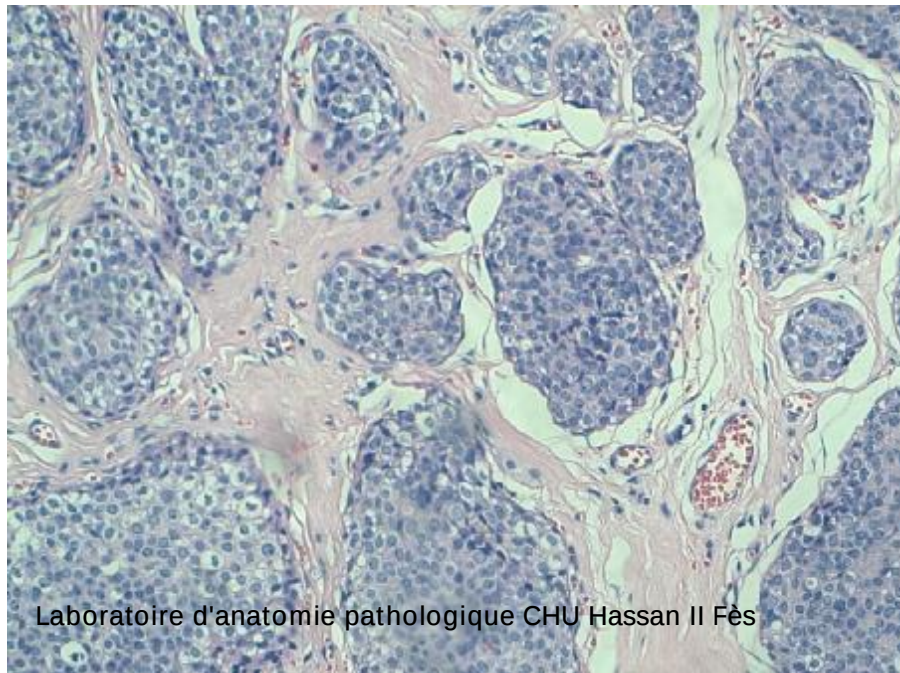


Figure 1: CCIS de grade nucléaire intermédiaire et d'architecture massive sans
nécrose (HES x400)

1-2- Les proliférations de type lobulaire

La néoplasie lobulaire est faite d'une prolifération uniforme et monotone de petites cellules rondes, non cohésives. Leurs noyaux sont arrondis, rarement nucléolés, leurs cytoplasmes sont peu abondants et peuvent renfermer une vacuole de mucosécrétion avec une image en cible. Ces cellules comblent et distendent les acini dans lesquels elles prolifèrent et ont tendance à diffuser sur un mode pagétoïde sous l'épithélium des canalicules intra et extra lobulaires ainsi que des canaux galactophores de plus gros calibre. En fonction de l'importance de la prolifération Page distingue [11] :

- L'hyperplasie lobulaire atypique
- Le carcinome lobulaire in situ

Il existe une classification des néoplasies lobulaires (Grading de Tavassoli) qui distingue 3 grades: LIN 1, LIN 2 et LIN 3; mais qui n'est pas validée cliniquement [9].

Grade		Equivalence
	Lobules de taille normale, acini non distendus, comblés totalement ou partiellement par des cellules monomorphes.	
LIN1	Lobules élargis, acini distendus et comblés par des cellules monomorphes mais séparés les uns des autres avec interposition de tissu conjonctif, quelques lumières résiduelles.	HLA
LIN2	Type1. Lobules élargis, acini très distendus, comblés et confluents (macroacini), pas de lumières résiduelles, cellules monomorphes.	HLA
LIN3	Type 2. Cellules à noyaux pléomorphes ou cellules en bague à châton, quelques lumières résiduelles possibles Type 3. Nécrose tumorale présente	CLIS

2- Carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique

Il s'agit de la forme la plus fréquente des cancers du sein représentant environ 80 % des carcinomes mammaires infiltrants [9].

Il s'agit le plus souvent d'une tumeur palpable, plus rarement d'une image mammographique isolée. Le dépistage a permis d'augmenter l'incidence globale et la fréquence des cancers infracliniques, et de diminuer ainsi la taille moyenne de ces tumeurs [10].

Macroscopiquement, l'aspect est très variable selon la taille de la tumeur. Il s'agit le plus souvent d'une tumeur à contours étoilés, irréguliers. Les contours sont mal définis, avec une consistance ferme à dure et une couleur blanc-grisâtre à la coupe [9].

Histologiquement (figure 2), les aspects sont très variés en fonction du degré de différenciation, la capacité des cellules tumorales à former des tubes, glandes, travées, ou massifs. La taille des cellules, les atypies nucléaires confèrent un aspect morphologique différent à chaque tumeur.

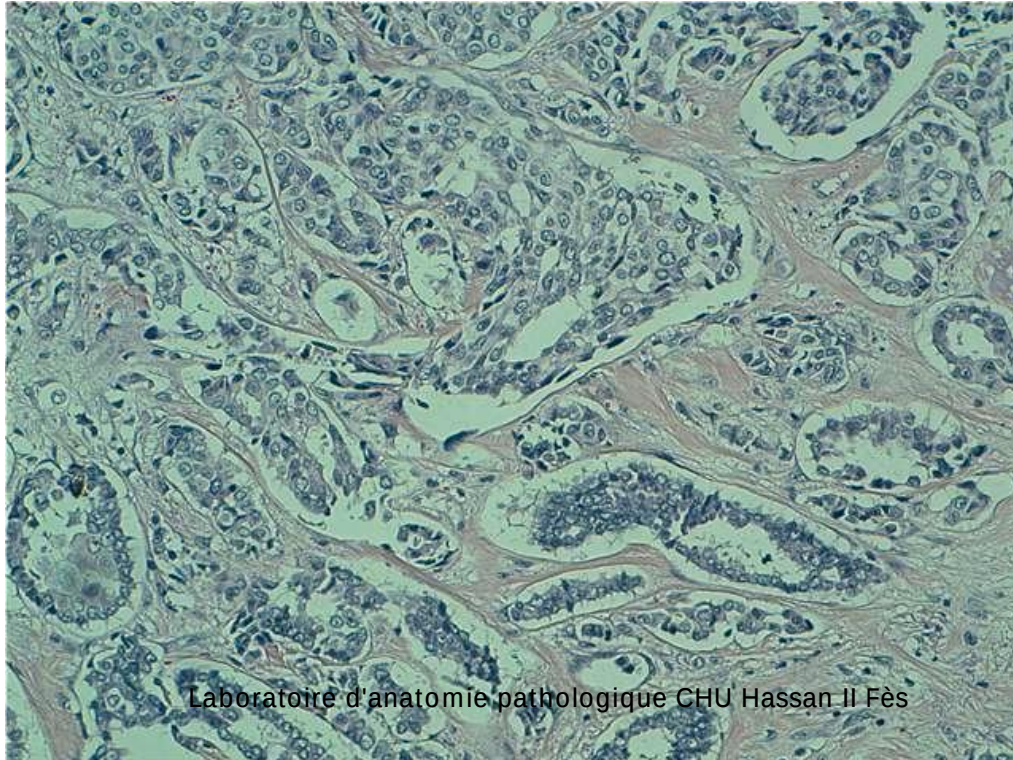


Figure 2 : carcinome canalaire infiltrant grade II de SBR (HES x400)

3- Carcinome lobulaire infiltrant

C'est un carcinome invasif représentant 5 à 15 % des cancers [8].

Macroscopiquement, il s'agit en général d'une lésion irrégulière et mal définie.

Microscopiquement, les cellules sont non cohésives, de petite taille, à noyau rond à chromatine fine, et à cytoplasme abondant. Ces cellules sont isolées ou organisées en « fils indiennes », dans un stroma fibreux. Les mitoses sont le plus souvent rares [10].

Sur le plan génétique, il se caractérise par une perte de l'expression membranaire de l'E-cadhérine qui est une protéine intervenant dans l'adhésion intercellulaire [9].

4- Carcinome tubuleux

C'est un type spécial de carcinomes mammaires, qui se caractérise par un pronostic favorable. Il est composé de structures tubulaires bien différenciées, tapissées par une seule couche de cellules épithéliales. C'est une entité rare qui représente moins de 2 % des cancers du sein [9-10].

5- Carcinome médullaire

Le carcinome médullaire représente de 1 à 7 % des cancers du sein. C'est un carcinome bien circonscrit composé de cellules peu différenciées disposées en nappes, sans aucune structure glandulaire, un stroma peu abondant et un important infiltrat lymphoplasmocytaire [9-10].

Microscopiquement, 5 critères sont essentiels pour le diagnostic [9]:

- une architecture syncytiale dans plus de 75% des cas.
- des contours microscopiquement nets, non infiltrants.
- un infiltrat mononucléé diffus, de modéré à marqué.
- des atypies nucléaires modérés ou marqués.
- l'absence de différenciation glandulaire.

6- Carcinome mucineux

Le carcinome colloïde du sein appelé aussi mucineux ou gélatineux est un carcinome contenant de larges quantités de mucus extracellulaire dans lesquelles sont disposées des amas de cellules carcinomateuses. C'est une entité histologique rare, constituant 2 % de tous les cancers du sein [9-10].

7- Carcinome adénoïde kystique ou cylindrome :

C'est un carcinome très rare dont l'aspect histologique est comparable aux tumeurs de même type des glandes salivaires.

Il se distingue par l'association d'un contingent de cellules basaloïdes et un contingent de cellules épithéliales. L'agencement épithélial se fait sur un mode cribriforme, tubulaire, trabéculaire ou massifs [9-10].

8- Carcinome inflammatoire

C'est une forme particulière de carcinome mammaire avec une présentation clinique secondaire à une obstruction lymphatique à partir d'un carcinome infiltrant sous-jacent. La majorité des cas présente une infiltration lymphatique dermique proéminente par la tumeur. Le carcinome inflammatoire est une forme des carcinomes mammaires avancés. L'invasion lymphatique dermique sans l'image clinique caractéristique est insuffisante pour poser le diagnostic [10].

9- Maladie de Paget du mamelon

Cliniquement, elle se présente comme un eczéma du mamelon. Histologiquement, c'est la présence de cellules épithéliales glandulaires malignes dans l'épithélium malpighien du mamelon, elle est presque toujours associée à un carcinome intracanalair sous-jacent, qui évolue habituellement plus qu'un canal lactifère avec ou sans infiltration profonde du sein. La maladie de paget du mamelon sans carcinome sous-jacent est rare. L'incidence est estimée à 1 à 4,3 % des cancers du sein [9].

Les autres formes de carcinomes (papillaire, tubuleux, adénoïde kystique, apocrine....) sont plus rares.

II. La taille tumorale

La taille tumorale, mesurée à l'examen macroscopique et/ou microscopique, constitue un facteur pronostique important [11]. La taille de la tumeur doit être mesurée dans les 3 plans de l'espace à l'état frais (mesure macroscopique). Cette taille sera remesurée sur lame, en ne tenant compte que de la composante infiltrante [10]. Si cette dernière est différente, c'est elle qui devra figurer sur le compte rendu. La taille est corrélée à l'envahissement des ganglions axillaires. En effet, des ganglions axillaires sont envahis dans 20 % des tumeurs de moins de 10 mm, dans 30 % des tumeurs de moins de 20 mm, dans 70 % des tumeurs de plus de 50 mm.

La survie globale à 5 ans passe de 91 % pour les tumeurs de moins de 20 mm, à 80 % pour les tumeurs de 20 à 50 mm, à 63 % pour les tumeurs de plus de 50 mm [12].

La classification TNM 2002 [13] précise également la taille de la composante invasive en delà de laquelle la tumeur est appelée microinvasive.

pTX Détermination de la tumeur primitive impossible

pT0 Pas de signe de tumeur primitive

pTis Carcinome in situ

pTis (CCIS) Carcinome canalaire in situ

pTis (CLIS) Carcinome lobulaire in situ

pTis (Paget) Maladie de Paget du mamelon sans tumeur décelable. Note : une maladie de Paget avec tumeur décelable est à classer en fonction de la taille de la tumeur.

pT1 Tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension

pT1mic Micro-invasion $\leq 0,1$ cm dans sa plus grande dimension. Note : La microinvasion est une extension des cellules cancéreuses, au-delà de la membrane

basale sans dépasser 0,1 cm. Quand plusieurs sites de microinvasion existent, le plus important est pris en compte pour classer la micro-invasion (ne pas prendre en compte la somme des sites). La présence de multiples sites de micro-invasion doit être notée.

pT1a $0,1 \text{ cm} < T \leq 0,5 \text{ cm}$ dans sa plus grande dimension

pT1b $0,5 \text{ cm} < T \leq 1 \text{ cm}$ dans sa plus grande dimension

pT1c $1 \text{ cm} < T \leq 2 \text{ cm}$ dans sa plus grande dimension

pT2 Tumeur $2 \text{ cm} < T \leq 5 \text{ cm}$ dans sa plus grande dimension

pT3 Tumeur $> 5 \text{ cm}$ dans sa plus grande dimension

T4 Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique (a) et/ou à la peau (b)

T4a Extension à la paroi thoracique. Note : la paroi thoracique comprend les côtes, les muscles intercostaux et grand dentelé, mais ne comprend pas le muscle pectoral.

T4b Oedème (y compris la « peau d'orange »), ou ulcération du sein, ou nodules de perméation cutanés limités au même sein.

T4c A la fois 4a et 4b

T4d Carcinome inflammatoire. Note : le carcinome inflammatoire du sein est caractérisé par une induration cutanée diffuse, d'aspect charnu, à bords érysipéloïdes, habituellement sans tumeur palpable sous-jacente. Si la biopsie de la peau est négative et s'il n'y a pas de cancer primitif localisé, mesurable, un carcinome inflammatoire clinique (T4d) est classé pTX sur le plan histopathologique.

III. L'envahissement des ganglions axillaires

Il constitue pour l'instant le facteur pronostique le plus important pour prédire les rechutes métastatiques et la survie des patientes [11]. Pour qu'il soit correctement établi, un nombre minimum de 10 ganglions axillaires (niveaux I et II de Berg) doit être prélevé. Les ganglions macroscopiquement non envahis doivent être examinés en totalité alors qu'une tranche représentative suffit pour les ganglions macroscopiquement envahis. Les ganglions doivent être sectionnés en tranches de 2mm et toutes les tranches doivent être examinées (coupes macroscopiquement sériées).

De nombreuses études ont montré que les patientes ayant un envahissement des ganglions locorégionaux prouvé histologiquement ont un pronostic plus défavorable. La survie globale à 10 ans passe de 75 % pour les patientes dites N-, à seulement 50 % pour les patientes dites N+ [12].

Le nombre de ganglions axillaires envahis est important à considérer puisque la survie à 10 ans passe de 74 % en l'absence d'envahissement ganglionnaire, à 58 % pour 1 à 3 ganglions positifs, et à 29% pour plus de 4 ganglions axillaires positifs [11].

Les 6ièmes éditions des classifications UICC et AJCC de la TNM distinguent trois types d'atteinte des ganglions axillaires : les cellules tumorales isolées (pN0i+), les micro métastases (pN1mi) et les macro métastases (pN1 à pN3).

Les cellules tumorales isolées (pN0i+)

Il s'agit de cellules isolées ou de micro amas tumoraux dont la taille est inférieure à 0.2mm et qui ne présentent de signes d'agressivité : pas de réaction stromale, pas d'activité mitotique, confinement dans la capsule et les sinus lymphatiques. Ces dépôts peuvent être mis en évidence à l'examen histologique ou le plus souvent en IHC, pour les plus petits d'entre eux.

Leur valeur pronostique n'est pas clairement démontrée et leur présence n'est pas une indication en soit d'un traitement médical adjuvant. De ce fait, la détection IHC de ces cellules immunomarquées ne doit pas être effectuée en routine en cas de curage axillaire complet.

Les micrométastases ganglionnaires (pN1mi)

Il s'agit de métastases dont la taille est $> 0.2\text{ mm}$ et $\leq 2\text{ mm}$.

La signification pronostique des micro métastases est très controversée et il n'y a pas d'attitude standardisée sur une indication de traitement adjuvant en leur présence en cas de curage axillaire complet. La pratique de coupes microscopiquement sériées ou d'analyse immunohistochimique n'est donc pas indiquée sur les ganglions d'un curage axillaire.

La classification TNM des tumeurs du sein [13] et le type d'atteinte histologique des ganglions lymphatiques se résume comme suit :

pNX Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire

pN0 Absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional, absence d'études complémentaires pour la recherche de cellules tumorales isolées

pN0(i-) Absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional, étude négative en immunohistochimie

pN0(i+) Présence de cellules tumorales isolées ou de micro-amas tumoraux dont la taille est $\leq 0,2\text{ mm}$ visibles en histologie ou détectées par immunohistochimie, îlots cellulaires tumoraux $\leq 0.2\text{ mm}$

pN0(mol-) Absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional, étude moléculaire négative (RT-PCR)

pN0(mol+) Absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional, étude moléculaire positive(RT-PCR)

pN1mi Micro métastases (> 0.2 et $\leq 2\text{ mm}$)

pN1 Métastases ganglionnaire dans un à trois ganglions axillaires et/ou mammaires internes avec un envahissement microscopique repéré par la technique du ganglion sentinelle mais non cliniquement

pN1a Métastases dans un à trois ganglions axillaires

pN1b Métastases ganglionnaires mammaires internes microscopiques repérées par la technique du ganglion sentinelle mais non suspectées cliniquement

pN1c Métastases ganglionnaires axillaires dans un à trois ganglions et métastase mammaire interne avec un envahissement microscopique repéré par la technique du ganglion sentinelle mais non cliniquement

pN2 Métastases dans 4 à 9 ganglions axillaires ou présence clinique d'adénopathies mammaires internes en l'absence d'adénopathies axillaires

pN2a Métastases ganglionnaires axillaires dans 4 à 9 ganglions (au moins un envahissement > 2 mm)

pN2b Métastases ganglionnaires mammaires internes cliniques en l'absence d'envahissement axillaire

pN3 Métastases ganglionnaires axillaires touchant au moins 10 ganglions, ou envahissement sous claviculaire, ou ggs mammaires internes ipsilatéraux métastatiques cliniquement décelables associés

1 à 3 ggs axillaires métastatiques ou envahissement axillaire touchant plus de 3 ganglions avec présence de micro métastases mammaires internes détectées par la technique du ganglion sentinelle (pas d'envahissement clinique mammaire interne) ou ganglion supra claviculaire envahi.

pN3a Envahissement ganglionnaire axillaire touchant au moins 10 ganglions (au moins une méta>2mm) ou métastase ganglionnaire sous claviculaire

pN3b ggs mammaires internes ipsilatéraux métastatiques cliniquement décelables associés a de 1 à 3 ggs axillaires métastatiques ou plus de 3 ggs

axillaires métastatiques et ggs mammaires internes détectés par la procédure du gg sentinelle, métastatiques à l'examen microscopique, mais non décelables cliniquement

pN3c Métastases ganglionnaires sus claviculaires homo latérales

IV. Le grade histologique

Quel que soit le système de grading utilisé, le grade histologique constitue un facteur pronostique important et indépendant pour le risque métastatique et la survie dans les deux groupes N+ et N - [11].

Le "grading" de Scarff Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis (grade de Nottingham) est actuellement le plus utilisé en Europe [24]. Il prend en compte trois critères histologiques cotés de 1 à 3 : la différenciation tubulo-glandulaire de la tumeur, le pléomorphisme nucléaire et le compte des mitoses.

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

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

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

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

- Le pléomorphisme nucléaire. Les atypies nucléaires sont jugées sur la population cellulaire prédominante et non sur une zone plus atypique minoritaire.

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

Score 3 : noyaux :

Ou réguliers entre eux mais dont la taille est supérieure à 3 fois celle des noyaux des cellules normales avec des nucléoles proéminents.

Ou irréguliers avec une variation de taille allant de 1 à 3 fois celle des noyaux des cellules normales.

Score 2 : tout ce qui n'est ni 1, ni 3.

- Les mitoses

Le comptage des mitoses doit suivre un certain nombre de règles pour être fiable :

- Réduire le délai entre exérèse de la tumeur et fixation
- Technique anapath : fixation, coupes fines, coloration HES, optimales
- Prendre son temps
- Choisir la zone la plus mitotique (au grossissement 250 X) et compter au grossissement x 400.
- Compter 10 champs consécutifs
- Répéter plusieurs fois

V. Les embolies vasculaires péri tumorales

La présence d'embolies vasculaires péri tumorales est un facteur pronostique important aussi bien dans le groupe des patientes N- où c'est un facteur indépendant pour prédire les rechutes métastatiques et la survie globale, que dans le groupe des patientes N+ où c'est un facteur indépendant pour la prédiction des récurrences locales [15].

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

- Les lumières vasculaires univoques (lymphatiques, capillaires ou sanguins) sont bordées de cellules endothéliales identifiées morphologiquement. Ces petits vaisseaux accompagnent souvent un vaisseau sanguin de plus grande taille ou un nerf. Ceci permet de différencier les embolies des phénomènes de rétraction artéfactuelle souvent observés dans les CIC (particulièrement dans la variante micropapillaire) et les CCI.

- On recherche les embolies dans le tissu mammaire adjacent à la tumeur, en bordure ou un peu plus à distance, mais pas dans la tumeur elle-même.

- Les embolies sont représentées par des agrégats de cellules carcinomateuses flottant dans la lumière des vaisseaux. On ne prend en compte que les images évidentes.

VI. La classification moléculaire du cancer du sein

Les analyses moléculaires des profils d'expression transcriptomique des carcinomes infiltrants du sein ont, depuis quelques années, modifié leur classification et tenté d'améliorer la compréhension de la carcinogenèse mammaire. Les données des profils d'expression ont permis d'individualiser cinq principaux sous-types moléculaires parmi les carcinomes infiltrants : luminal A, luminal B, ERBB2, basal-like et normal-like [6 - 7].

Les caractéristiques de cette classification vont être détaillées dans le chapitre discussion.

MATERIELS ET METHODES

I- Matériels :

C'est une étude prospective menée dans le service d'Anatomie pathologique du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès.

Pour réaliser ce travail, nous avons recueillis les cas des cancers du sein diagnostiqués au service d'Anatomopathologie entre Janvier 2008 et décembre 2011.

II- Méthodes :

1- Fiche d'exploitation :

Pour réaliser ce travail, nous avons collecté les données suivantes :

L'identité du malade

L'âge.

Le type du prélèvement.

Les résultats anatomopathologiques.

Les résultats de l'étude immunohistochimique.

2- Etape macroscopique :

2-1- Généralités:

La prise en charge macroscopique des pièces d'exérèse mammaire a pour objectif d'obtenir des informations concernant les aspects morphologiques, topographiques et histopronostiques utiles pour le diagnostic et le traitement des lésions mammaires.

Dans tous les cas, il est important de fournir au pathologiste des renseignements cliniques et radiologiques.

La prise en charge macroscopique doit être adaptée au type du prélèvement reçu. Elle se déroule selon une séquence assez stéréotypée:

- Mesure dans les trois plans de l'espace de la taille du ou des fragment(s) tissulaire(s) transmis.
- Orientation du fragment tissulaire, qui dépend des repères (fils, clips...) mis par le chirurgien sur le prélèvement.
- Encrage de la surface de la pièce opératoire avec un marqueur indélébile (encre de chine), identifiable sur les coupes histologiques.
- Analyse macroscopique de la pièce opératoire par la vue et le toucher (il faut décrire et mesurer).
- Fixation des prélèvements. Un retard à la fixation ou une mauvaise fixation nuisent à la qualité morphologique des coupes histologiques.

2-2- La biopsie:

Les fragments sont mesurés et examinés en totalité.

2-3- exérèse partielle d'un cancer infiltrant:

Le pathologiste effectue les prélèvements des limites d'exérèse sur la pièce opératoire.

En pratique:

- La pièce opératoire est <3cm: des sections sagittales, parallèles les unes aux autres, sont effectuées tous les 3-4mm et repérées sur un schéma, puis la pièce est examinée en totalité.
- La pièce opératoire est >3cm: une grille complète intéressant une tranche de section de la pièce de tumorectomie prise dans sa plus grande dimension est prélevée, ainsi que des prélèvements perpendiculaires aux deux autres plans de l'espace, à l'endroit où la tumeur est la plus proche de la limite d'exérèse.

2-4- Mastectomie

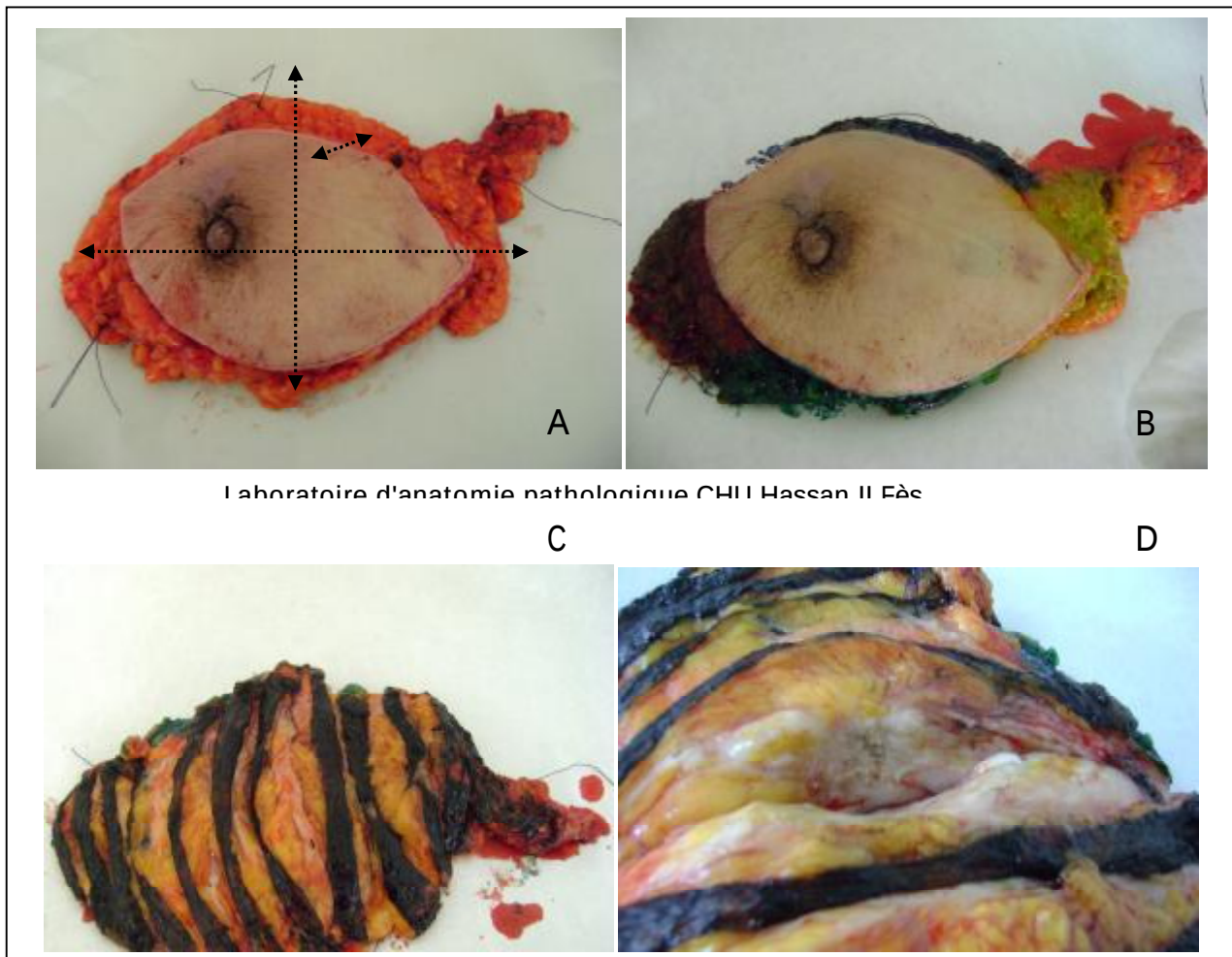


Figure 3 : étapes de la prise en charge macroscopique d'une pièce de mastectomie

A: mesure de la pièce dans les trois plans de l'espace

B: ancrage des berges de la pièce

C: coupes sériées de la pièce de 1cm en gardant le lambeau cutané intact

Les prélèvements systématiques effectués sur:

Les limites de résection chirurgicales périphériques et la limite profonde.

Tumeur: 3 prélèvements au minimum, dans 3 directions, en incluant une section représentative de la tumeur dans son plus grand axe.

En cas de mastectomie complémentaire après tumorectomie diagnostique: 10 à 15 prélèvements réalisés au niveau du lit de la tumorectomie antérieure.

Mamelon: 2 à 3 prélèvements perpendiculaires au plan cutané, un prélèvement rétro-mamelonnaire parallèle au plan cutané.

Autres quadrants: prélèvements systématiques.

2-5- Curage axillaire:

Tous les ganglions sont prélevés et inclus en totalité. Une tranche de section représentative suffit pour les ganglions manifestement envahis à l'examen macroscopique. Les plus grands ganglions sont coupés en tranches macroscopiques sériées de 2mm d'épaisseur. Les plus petits ne pouvant être coupés en tranches sont inclus isolément ou à plusieurs en une ou plusieurs cassettes. Il est nécessaire d'examiner un minimum de 10 ganglions pour considérer l'information pronostique fournie par l'étude histologique d'un curage axillaire comme fiable. Dans le compte rendu il faut préciser le nombre de ganglions de curage retrouvés.

3- Etape technique et immunohistochimique :

Les différents prélèvements reçus au service, passent par une série de préparation :

3.1- Obtention des coupes :

Fixation :

La fixation a pour but de s'opposer à la déshydratation prématurée des cellules et surtout à la putréfaction des tissus.

On utilise au service la solution de formol à 10 %, car il permet une bonne étude immunohistochimique et de biologie moléculaire.

Déshydratation :

L'échantillon tissulaire est fixé, puis progressivement déshydraté par passages successifs dans des solutions alcooliques de plus en plus concentrées jusqu'à ce que toute l'eau (des tissus et du milieu de fixation) ait été soustraite et que l'échantillon soit totalement imprégné d'alcool absolu. L'alcool est ensuite remplacé par un solvant organique dans lequel peuvent se dissoudre à la fois l'alcool et la paraffine (la paraffine n'est pas soluble dans l'alcool)

Inclusion en paraffine chauffée :

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

Refroidissement :

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

Réalisation de coupes :

En se refroidissant, le fragment, imbibé de paraffine, se trouve inclus dans un bloc solide à partir duquel, grâce à un microtome comportant un rasoir, des coupes de 5 microns d'épaisseur sont obtenues.

Réhydratation :

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

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

- Colorer par l'hématéine pendant 5 à 7 min (teintant les noyaux en bleu ou en noir)
- Rincer à l'eau courante puis à l'eau distillée
- Transférer dans la carbonate de lithium (facultatif)
- Rincer à l'eau courante puis distillée
- Colorer dans une solution d'éosine à 1 % pendant 2 min (teintant le cytoplasme en rose ou Rouge)

- Rincer rapidement à l'eau courante
- Déshydrater dans l'alcool à 100°
- Colorer dans le safran alcoolique pendant 1 min (se fixe sur le tissu conjonctif)
- Passer rapidement dans les alcools (Méthanol – Ethanol) pour éclaircissement
- Montage au toluène.

La coupe, ainsi colorée, est alors protégée définitivement par une lamelle de verre collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'air.

3.3- Etude immunohistochimique :

Sur coupes de tissus fixés et inclus en paraffine, étalées sur des lames silanisées, les anticorps utilisés sont :

- Le récepteur aux oestrogènes
- Le récepteur à la progestérone.
- L'HER2.
- Le Mib1 (Ki67 pour évaluer l'index de prolifération)
- L'anticorps anti-CK5/6
- L'anticorps anti-CK8/18

4- Classification histologique :

Au terme de cette étude morphologique, les cas ont été classés selon la classification histologique de l'OMS et gradés selon le grading de SBR.

5- Classification moléculaire :

Dans cette étude, on s'est basé sur la classification de Perou et Sorlie qui distingue:

- Le sous type luminal exprimant le gène des récepteurs aux oestrogènes et les gènes qu'il régule ou ceux co-exprimés. Ces tumeurs sont classées en deux catégories A et B, qui diffèrent par l'expression plus élevée de récepteurs aux oestrogènes et du récepteur alpha et une prolifération plus faible pour les luminales A.

- Le sous type HER2 dont les tumeurs surexpriment l'oncogène HER2 et les gènes liés plus ou moins aux récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone.
- Le sous type basal-like où les tumeurs sont « triple-négatifs » c'est-à-dire qu'ils n'expriment ni les récepteurs aux oestrogènes ni ceux à la progestérone, ni HER2.
- Enfin, le cinquième phénotype, est celui des tumeurs dites normal-like parce qu'il est artefactuel, provenant de la contamination des échantillons tumoraux par les tissus mammaires normaux, il n'est donc pas utilisé en clinique.

L'analyse a été réalisée en deux étapes : une phase d'identification des différents sous-types en utilisant les récepteurs hormonaux et le test Her-2, et une phase de confirmation des types luminal et basal en utilisant respectivement les anticorps anti-CK8/18 et anti-CK5/6.

Le tableau suivant résume les critères immunohistochimiques utilisés dans cette étude pour la classification moléculaire.

Tableau 2 : critères utilisés dans notre étude pour la classification moléculaire du cancer du sein

Sous type moléculaire	Critères utilisés dans cette étude
Luminal A	ER (+) et Her-2 (-) et CK8/18 (+)
Luminal B	ER (+) et Her-2 (+) ou ER (+), Her-2 (-) et Ki67>14%
Her-2	ER (-) et Her-2 (+)
Basal	ER (-) et Her-2 (-) et CK5/6 (+)

6 - Saisie et d'analyse des données :

Dans un premier temps, une analyse descriptive des caractéristiques cliniques, histologiques et immunohistochimiques patientes a été effectuée. Pour les variables quantitatives nous avons calculé la moyenne, la médiane, minimum et maximum et le pourcentage pour les variables qualitatives.

Ensuite une analyse univariée a été faite pour rechercher l'association entre les différents sous types de la classification moléculaire des cancers du sein et plusieurs variables explicatives potentielles. Lors de la comparaison de groupes, nous avons utilisé les tests paramétriques classiques (Test de Khi2, test de Student, ANOVA) en fonction de la nature des variables à comparer.

Pour chaque test statistique utilisé, le test était considéré comme significatif lorsque p (degré de signification) était inférieur à 0,05.

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel Epi-info (version 3.3.2).

RESULTATS

I- Caractéristiques générales de la population :

Dans notre étude, on a noté 390 cas de carcinomes mammaires au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de Fès entre Janvier 2008 et décembre 2011.

1- Répartition selon l'âge :

L'âge moyen était de 48 ans avec une médiane de 46 ans et des extrêmes de 22 à 99 ans. La distribution de la population en fonction de l'âge est représentée dans la figure 11.

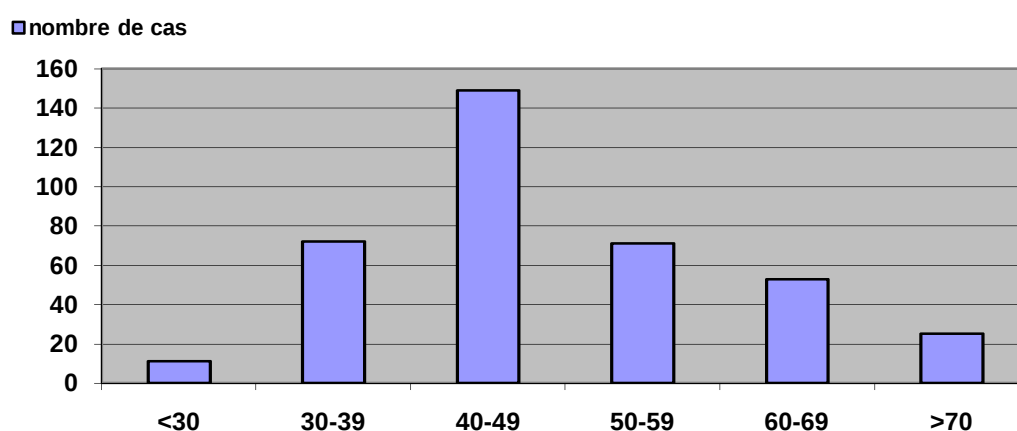


Figure 4 : répartition des malades selon les tranches d'âge.

2- Type de prélèvement :

La moitié des diagnostics a porté sur des biopsies représentant 50,5% des cas, suivis par pièces de mastectomie qui représentaient 33,2 % des cas.

La tumorectomie était réalisée dans 16,3 % des cas.

Le curage ganglionnaire était associé à toutes les pièces de mastectomie.

3- Type histologique :

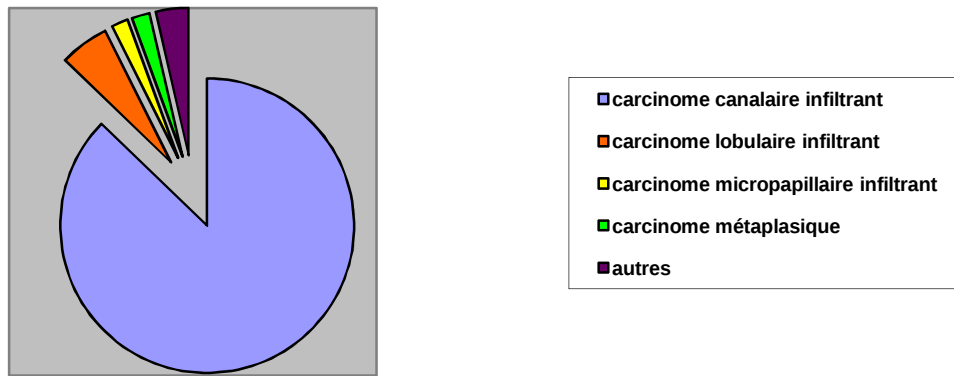


Figure 5 : représentation graphique des différents types histologiques

Sur le plan histologique, le carcinome canalaire infiltrant était prédominant représentant 87,2 % des cas, suivis par le carcinome lobulaire infiltrant qui représentait 5,4 % des cas. Le carcinome métaplasique était présent dans 2 % des cas et le carcinome micropapillaire infiltrant dans 1,8 % des cas. Le reste des tumeurs était représenté par des cas rares :

Carcinome mucineux : 1,3 % des cas.

Carcinome médullaire : 0,8 % des cas.

Carcinome papillaire : 1,5 % des cas.

4- Le grade SBR:

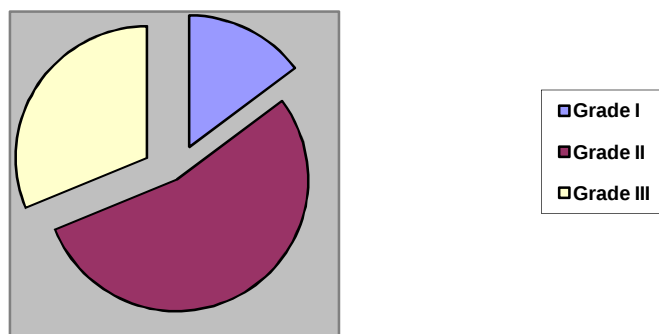


Figure 6: répartition selon le grading SBR

Selon la présente série, 31,2 % des cas étaient de grade III.

Les tumeurs de grade II étaient majoritaires, ils représentaient 54 % des cas.

Les tumeurs de grade I ne représentaient que 14,8 % des cas.

6 - La taille TNM:

Dans cette étude, on a noté un pourcentage élevé des tumeurs classées en T2 qui représentait 39,3 %, suivi par les tumeurs classées en T1 représentant 32,4 %. Les classes T3 et T4 viennent en troisième position avec un taux de 16,7 % et 11,6 % respectivement.

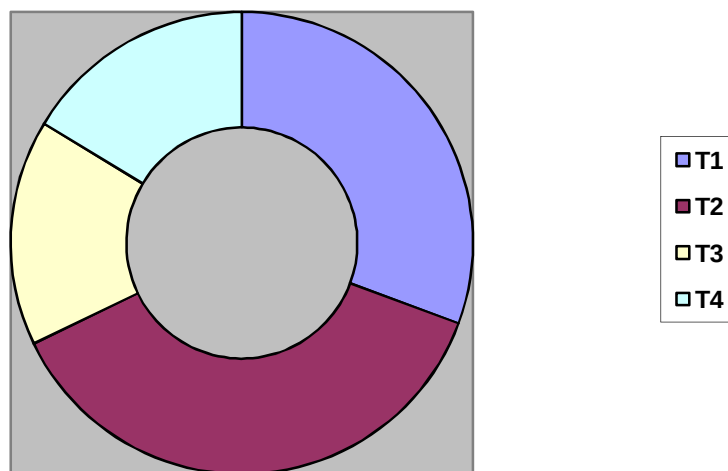


Figure 7: répartition de la taille tumorale selon la classification TNM

7- L'envahissement ganglionnaire:

Le curage ganglionnaire a été réalisé chez 57 % des cas soit 224 patientes / 390.

44,6 % des patientes avaient des ganglions non envahis. Les métastases ganglionnaires étaient classées en N1 chez la majorité des patientes, soit 42,9 % des cas. La classe N2 est retrouvée chez 9,9 % des cas. La classe N3 ne représente que 2,6 % des curages ganglionnaires réalisés.

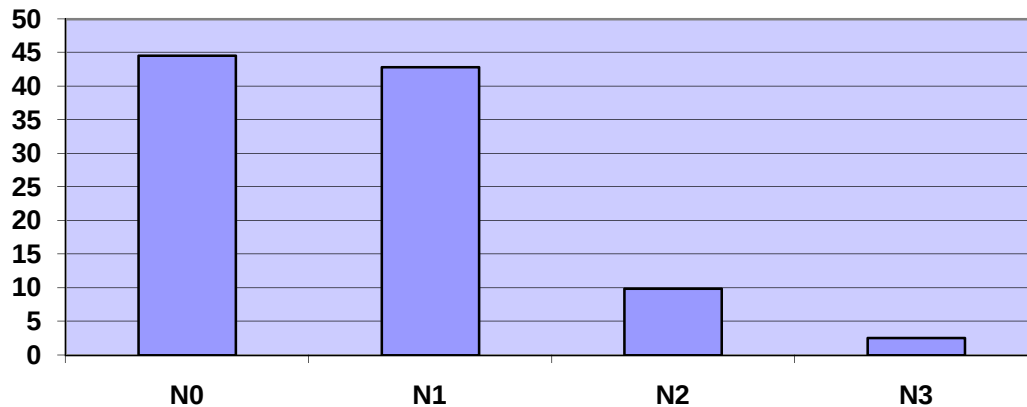


Figure 8: répartition selon le statut ganglionnaire

9- Les embolies vasculaires

Les embolies vasculaires péri-tumorales étaient présentes dans 32,4% des cas.

10- l'association avec une composante intra-canalair:

La composante in situ était associée à la tumeur dans 41,3 % des cas.

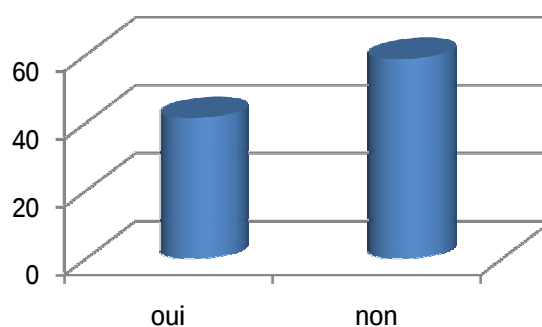


Figure 9 : répartition selon l'association avec une composante intra-canalair

11 - Profils d'expression des récepteurs hormonaux et de l'Her2:

Les récepteurs œstrogéniques présentent un marquage nucléaire de plus de 10 % des cellules tumorales dans 67,1 % des cas contre 63,7 % pour les récepteurs progestatifs.

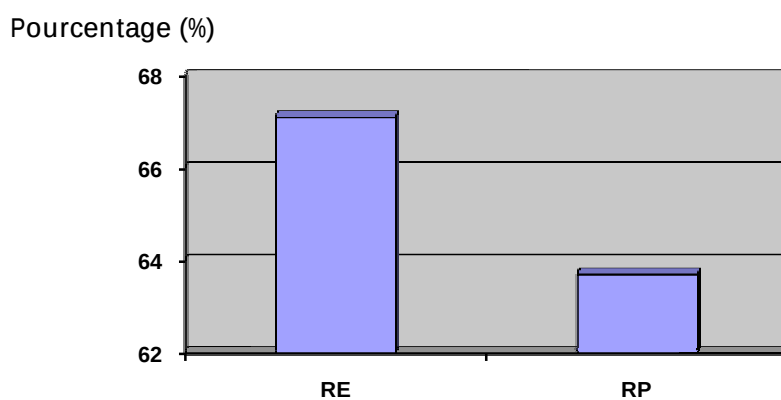


Figure 10: comparaison entre le taux d'expression des récepteurs oestroéniques et des récepteurs progestatifs

En ce qui concerne l'Her2, il est positif dans 24,7 % des cas (score 3+, ou score 2+ avec une étude FISH positive), et il est négatif dans 75,3 % des cas.

Tableau 3 : répartition des cas du cancer du sein selon les résultats du test Her-2

	Pourcentage	effectif
positif	24,7 %	95
négatif	75,3 %	290

II– Classification moléculaire du cancer du sein

Des 390 tumeurs analysées, 119 (30,5 %) étaient classées de type luminal A, 163 (41,8%) de type luminal B, 36 (9,2%) de type Her-2, et 53 (13,6%) de type basal.

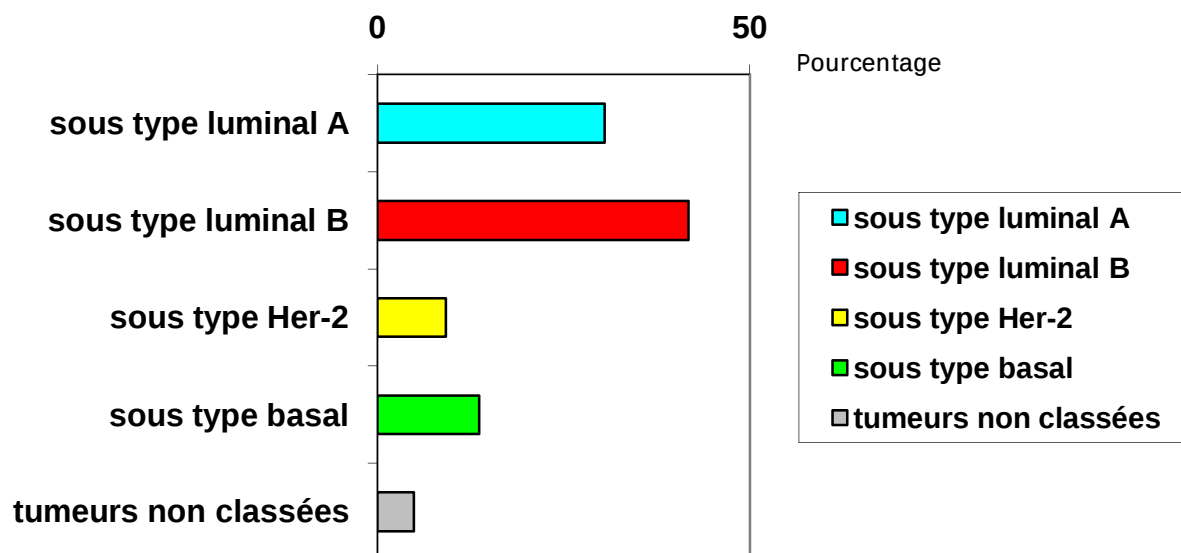


Figure 11 : répartition des tumeurs mammaires selon la classification moléculaire du cancer du sein

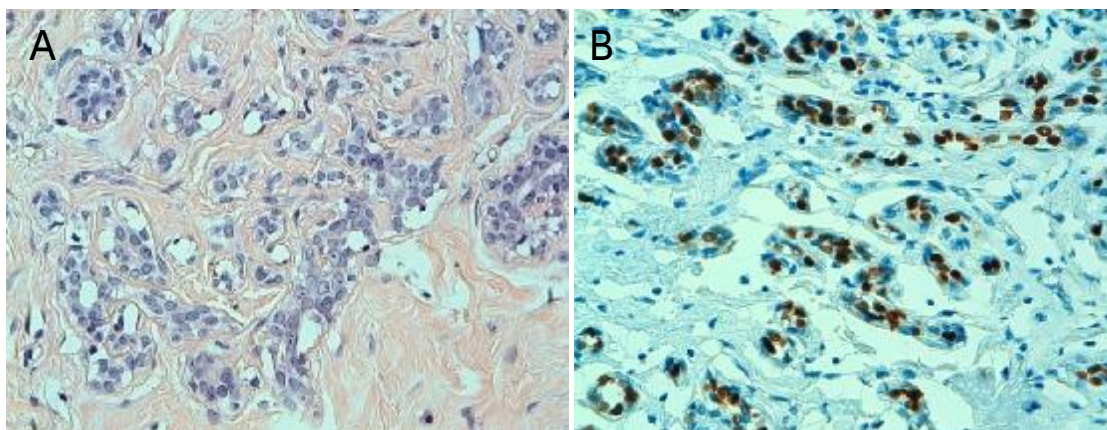
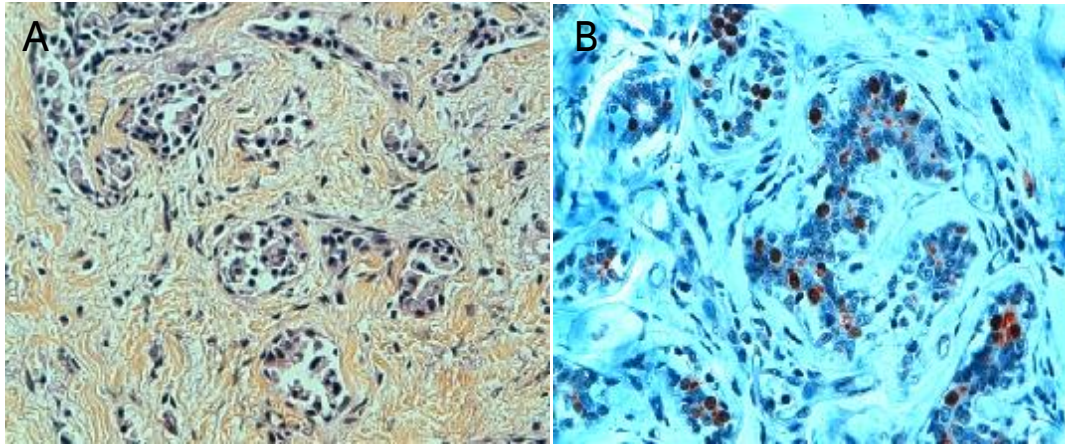


Figure 12 : carcinome canalaire infiltrant de phénotype luminal A

A: HES x400

B: immunohistochimie par les récepteurs oestrogéniques



Laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hassan II Fès

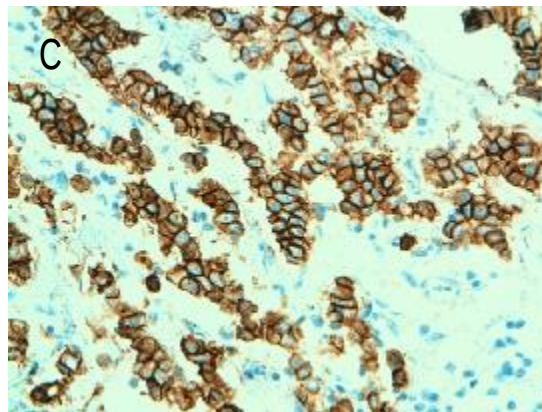
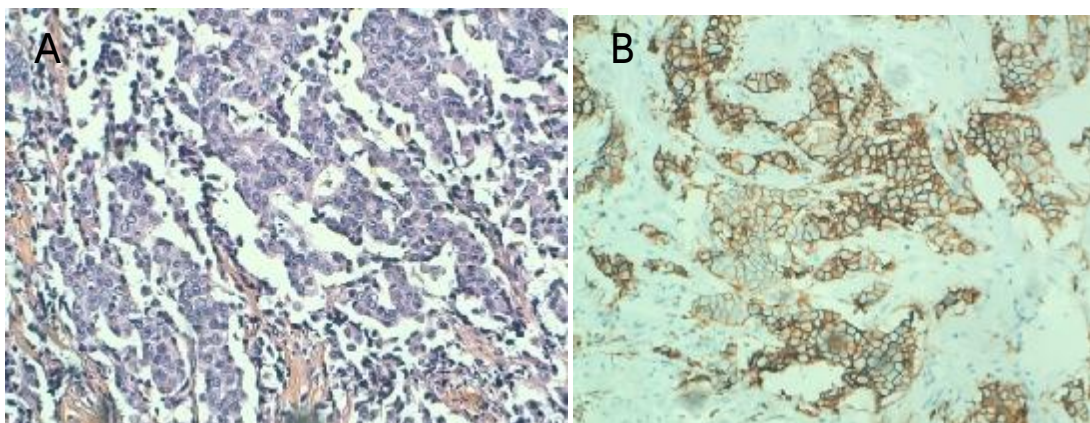


Figure 13 : carcinome canalaire infiltrant de phénotype luminal B

A: HES x400

B: immunohistochimie par les récepteurs oestrogéniques

C: immunohistochimie par l'Her-2

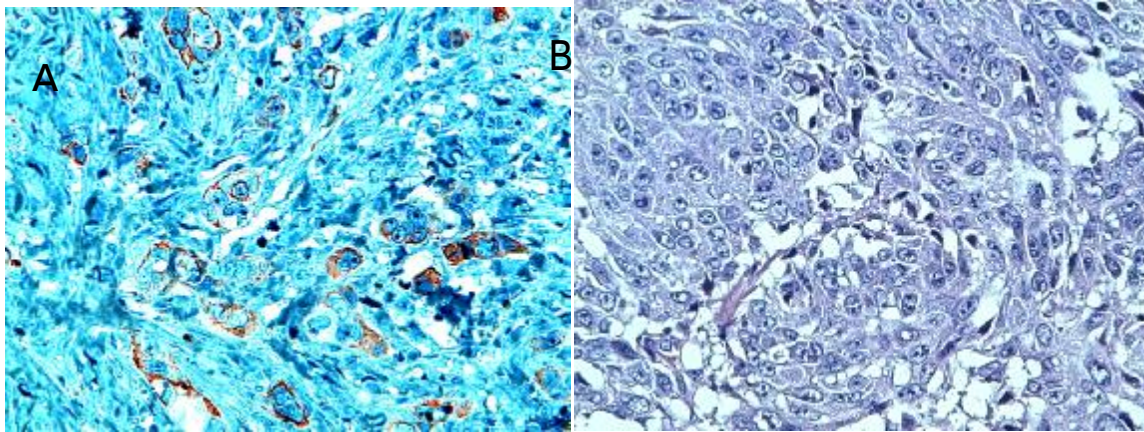


Laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hassan II Fès

Figure 14 : carcinome canalaire infiltrant de phénotype Her-2

A: HES x400

B: immunohistochimie par l'Her-2



Laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hassan II Fès

Figure 15: carcinome métaplasique de phénotype basal.

A: HES X 400

B: immunomarquage par l'anticorps anti-CK5/6.

1 - Selon l'âge:

Les sous types moléculaires du sein ne présentaient pas de différence significative selon l'âge du diagnostic, avec un $p=0,48$.

2 - selon le type histologique

Quant ils étaient groupés selon le type histologique, les sous types moléculaires présentaient une différence significative ($p<0,00001$). Parmi les tumeurs basales, on a noté une haute prévalence des types histologiques de mauvais pronostic: carcinome métaplasique, et indifférencié. On a noté également une association entre le sous type luminal A et B et le carcinome lobulaire infiltrant.

Tableau 4 : répartition des différents sous types moléculaires selon le type histologique

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)	TOTAL (n=392)
Type histologique %						
CCI	30,5	41,1	10,9	13,9	3,6	100
CLI	47,6	42,9	4,8	0,0	4,8	100
Autres	25	8,3	16,7	50	0,0	100

3- Selon le grading SBR:

On a noté que les sous types moléculaires présentaient une différence significative selon le grade SBR ($p < 0,0001$). Les tumeurs basales se caractérisaient par le grade histologique le plus haut, contrairement aux tumeurs lumineales qui se caractérisaient par un bas grade SBR.

Tableau 5 : répartition des différents sous types moléculaires selon le grade SBR

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
Grade SBR %					
I	28,3	9,6	9,8	4	15,8
II	59,2	59,9	56,1	32	26,3
III	12,5	30,6	34,1	64	57,9
TOTAL	100	100	100	100	100

4- Selon la présence d'emboles vasculaires:

On n'a pas noté de différence significatives entre les différents sous types moléculaires en ce qui concerne la présence d'emboles vasculaires ($p=0,29$).

Tableau 6 : répartition des différents sous types moléculaires selon la présence d'emboles vasculaires

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
Emboles %					
Présence	60,8	71,2	75,6	64,4	63,2
Absence	39,2	28,8	24,4	35,3	36,8
TOTAL	100	100	100	100	100

5- Selon l'association avec un carcinome in situ:

Le sous type luminal A est significativement associé avec un contingent de carcinome in situ que les autres sous types ($p=0,0013$).

Tableau 7 : répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec un carcinome in situ

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
CIS %	55,0	39,5	41,5	25,5	78,9
Présence	45,0	60,5	58,5	74,5	21,1
Absence	100	100	100	100	100

6- Selon l'association avec des lésions d'hyperplasie canalaire atypique:

On n'a pas noté de différence significative entre les différents sous types moléculaires selon l'association avec une hyperplasie canalaire atypique ($p=0,7151$).

Tableau 8 : répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec une hyperplasie canalaire atypique

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
HCA %	4,7	2,8	4,0	0,0	0,0
Présence	95,3	97,2	96,0	100,0	100,0
Absence	100	100	100	100	100

7- Selon l'association avec des lésions de métaplasie cylindrique atypique:

On n'a pas noté de différence significative entre les différents sous types moléculaires selon l'association avec une métaplasie cylindrique atypique ($p=0,3456$).

Tableau 9 : répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec une métaplasie cylindrique atypique

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
MCA %	10,6	6,2	0,0	11,1	0,0
Présence	89,4	93,8	100,0	88,9	100,0
Absence	100	100	100	100	100

8- Selon la taille tumorale:

Les sous types moléculaires présentait une différence significative selon la taille tumorale ($p=0,0003$).

Tableau 10 : répartition des différents sous types moléculaires selon l'association avec la taille tumorale de la classification TNM

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
Taille tumorale %	42,9	31,8	9,1	12,5	25,0
T1	34,5	44,76	45,5	46,9	25,0
T2	14,3	18,8	27,3	15,6	12,5
T3	8,4	4,7	18,2	25,0	37,5
T4	100	100	100	100	100

9- Selon la présence de nécrose tumorale:

On n'a pas noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon la présence de nécrose tumorale ($p= 0,0698$).

Tableau 11 : répartition des différents sous types moléculaires selon la présence d'une nécrose tumorale

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
Nécrose tumorale %	8,5	17,8	22,2	22,6	10,5
Présence	91,5	82,2	77,8	77,4	89,5
Absence	100	100	100	100	100

10 - Selon l'envahissement ganglionnaire:

On a noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire ($p = 0,0066$).

Parmi les tumeurs de phénotype Her-2; 86,7% étaient associées à un envahissement ganglionnaire, suivies par les tumeurs de phénotype basal (81,3%), les tumeurs de phénotype luminal B (68,8%), et enfin les tumeurs de phénotype luminal A qui ne présentaient que 52,4% des cas avec envahissement ganglionnaire.

11 - Selon la présence de métastase à distance:

On a noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon la présence de métastase à distance ($p = 0,0030$).

Tableau 12: répartition des différents sous types moléculaires selon la présence de métastase à distance

Sous type (effectif)	luminal A (n=119)	luminal B (n=163)	Her - 2 (n=36)	Basal (n=53)	Inclassable (n=19)
Métastase %	4,5	12,5	17,9	26,7	28,6
Présence	95,5	87,5	82,1	73,3	71,4
Absence	100	100	100	100	100

DISCUSSION

I.PROBLEMATIQUE DE LA PRISE EN CHARGE DU CANCER DU SEIN

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent et le plus meurtrier chez la femme au Maroc. Malgré les progrès accomplis ces dernières années, la survie stagne autour de 70 % à 5 ans. Les indications thérapeutiques sont fondées sur des facteurs pronostiques qui, globalement, ont peu évolué depuis une quinzaine d'années [16]. Pourtant, ces facteurs, histologiques, cliniques et moléculaires, sont insuffisants pour rendre compte de l'hétérogénéité évolutive de la maladie, conduisant un certain nombre de patientes vers des thérapeutiques inadaptées, toxiques, inutiles ou inefficaces. Étant donné la disponibilité croissante de nouvelles molécules antitumorales, il est crucial d'améliorer la classification pronostique du cancer du sein pour en affiner les indications thérapeutiques et améliorer la survie des patientes.

Face aux limites des approches conventionnelles, il est apparu que de nouvelles percées thérapeutiques ne seraient possibles qu'à travers une caractérisation moléculaire plus globale, détaillée et objective de la maladie.

Les altérations moléculaires du cancer du sein sont nombreuses et complexes. Certaines conduisent au cancer, d'autres concourent à un aspect phénotypique particulier, d'autres encore au caractère rapidement évolutif ou à la réponse à certains types de chimiothérapie.

Donc, l'initiation et la progression du cancer du sein sont un processus comportant des changements moléculaires multiples, dont beaucoup sont reflétés par des changements d'expression de gènes au niveau des cellules malignes.

Les exemples de tels gènes incluent ERBB2, CCDN1, MYC, UPA et PAI1 [17]. Il est ainsi probable que ces gènes aient limité la puissance prédictive une fois considérée isolément, mais que leur pertinence clinique peut être augmentée quand plusieurs gènes sont considérés ensemble.

Ceci implique que les cancers du sein sont un groupe hétérogène de tumeurs. La base génétique polygénique et multifactorielle de la maladie confère à chaque tumeur un phénotype et un potentiel évolutif propres [18]. Cette hétérogénéité mal appréhendée par

les paramètres pronostiques actuels est une raison majeure des échecs thérapeutiques. Tandis que la plupart des patientes atteintes de cancer de sein reçoivent la chimiothérapie, moins de 20% d'entre elles auront une réponse anatomopathologique complète (disparition des cellules invasives dans les échantillons pathologiques de tissu), qui prévoit fortement la survie à long terme [16]. En conséquence, le taux de survie sans métastase des patients recevant la chimiothérapie néoadjuvante est seulement 60% [16]. Il y a un besoin véritable d'identifier les paramètres qui pourraient exactement prévoir l'efficacité de ce traitement pour chaque patiente.

Le développement récent des outils efficaces pour surveiller l'expression de gène sur une grande échelle fournit de nouvelles perspectives dans la participation des réseaux de gène et des voies de normalisation dans divers processus de tumeur. Il a également mené à la découverte de nouveaux indicateurs diagnostiques et pronostiques, et à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Ces outils incluent les microarrays d'ADN, qui peuvent être employés pour explorer l'expression des milliers de gènes à la fois, et les analyses en temps réel de RT-PCR pour des études plus précises et plus quantitatives de l'expression d'un plus petit nombre de gènes choisis [4].

II.BASES IMMUNOHISTOCHIMIQUES

L'immunohistochimie en pathologie mammaire a pris une place de plus en plus importante au cours des dernières années, elle apporte les paramètres indispensables de la définition du pronostic et fournit le statut de marqueurs prédictifs de réponse à des thérapeutiques ciblées ou cytotoxiques classiques [14].

L'identification des sous-types moléculaires du cancer du sein met en lumière l'hétérogénéité de ces tumeurs, de leur pronostic et de leur réponse au traitement. Le sous-type basal-like correspond le plus souvent à des carcinomes de grade III, triples négatifs (RO-, RP-, HER2-) et exprimant les cytokératines de haut poids moléculaire (CK5/6, CK14) ou l'EGFR. Cette entité est associée à un pronostic très péjoratif qui devrait dans un avenir

proche bénéficiant d'une prise en charge thérapeutique spécifique [4-6]. Il est donc utile de rechercher l'expression des marqueurs basal-like parmi les tumeurs triples négatives.

La détermination immunohistochimique des marqueurs pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements adjuvants et aux thérapeutiques ciblées est indispensable. La détermination du statut des récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone et du statut de HER2 doit être faite au diagnostic initial.

1. Lecture des récepteurs hormonaux :

1-1 appréciation des marquages:

À la lumière des connaissances actuelles, seul le marquage nucléaire d'éléments carcinomateux invasifs a une valeur clinique reconnue. L'analyse des marquages doit aboutir à déterminer le pourcentage de cellules marquées par rapport à l'ensemble des cellules carcinomateuses dans le contingent invasif et à apprécier l'intensité moyenne de ce marquage (0 = absence de marquage ; 1 = marquage faible visible seulement à un fort grossissement ; 2 = marquage d'intensité moyenne repérable à un faible grossissement; 3 = marquage de forte intensité apparaissant très nettement dès le faible grossissement) [19].

1-2 chiffrage des résultats – valeur seuil:

Il n'y a pas de consensus international sur les valeurs-seuils et sur la formulation des résultats immunohistochimiques des récepteurs hormonaux. Il est néanmoins recommandé d'utiliser comme seuil la valeur de 10 % de cellules marquées, sans prendre en considération l'intensité du marquage. Ce choix est justifié par les arguments suivants :

- ce seuil de 10 % de cellules marquées a été utilisé par plusieurs études avec corrélation clinique [20-21]

- il est pratiquement équivalent à d'autres seuils utilisés (positivité à partir d'une cellule marquée ou de 5 % de cellules marquées) [19];

- et il constitue un paramètre relativement reproductible.

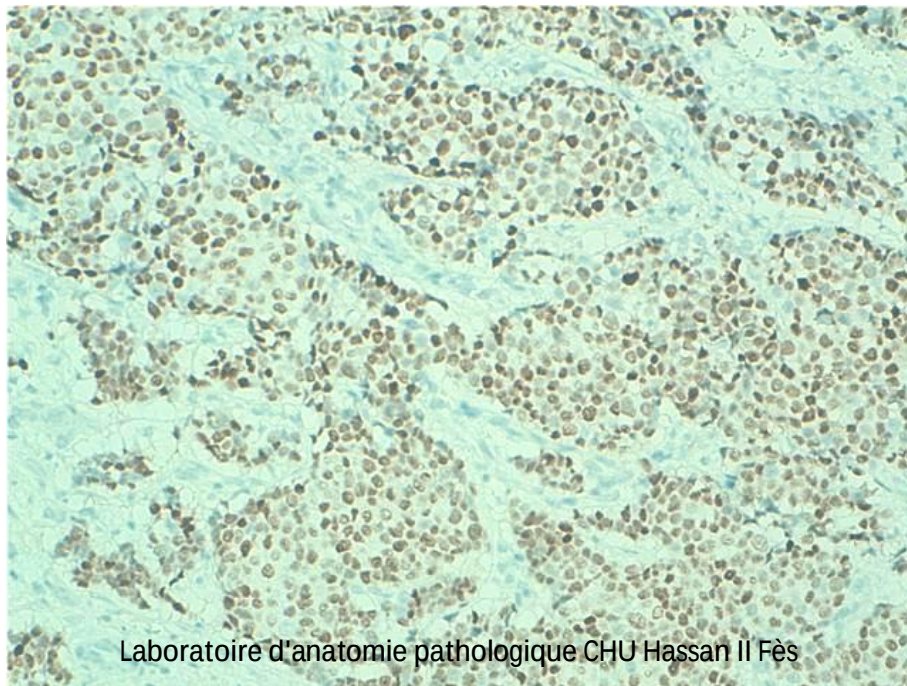


Figure 16 : récepteurs progestatifs d'intensité ++ sur 90% des cellules tumorales

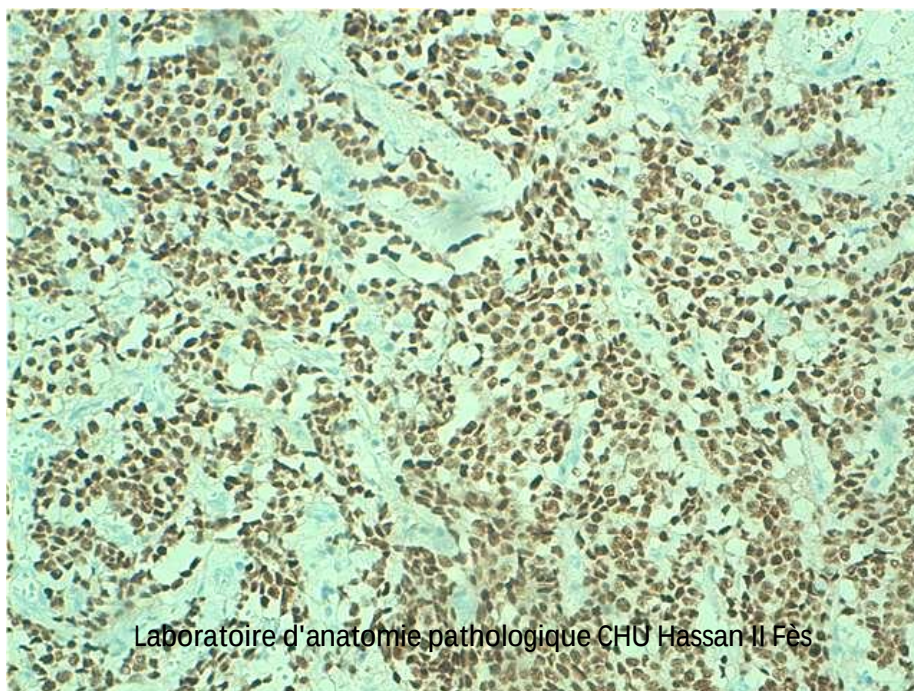


Figure 17: récepteurs oestrogéniques d'intensité +++ sur 95% des cellules tumorales

1-3 interprétation des tumeurs sans marquage avec glandes non tumorales négatives ou absentes:

La technique doit comporter impérativement des témoins externes qui prennent toute leur valeur si la tumeur a été fixée selon des modalités comparables à celles des témoins. Lorsque les conditions de fixation de la tumeur sont mal connues ou différentes de celles des témoins externes, il est conseillé de formuler l'interprétation avec des réserves et de considérer le marquage d'autres paramètres (MIB-1 notamment). La technique peut être refaite en prenant un autre bloc de tumeur. Dans des conditions techniques optimales et lorsque la tumeur est accompagnée de deux ou trois lobules mammaires non tumoraux, la présence de quelques noyaux de glandes non tumorales marqués avec une intensité au minimum moyenne est observée de façon pratiquement constante [19].

2- Lecture de l'HER-2 :

2-2-1 appréciation des marquages:

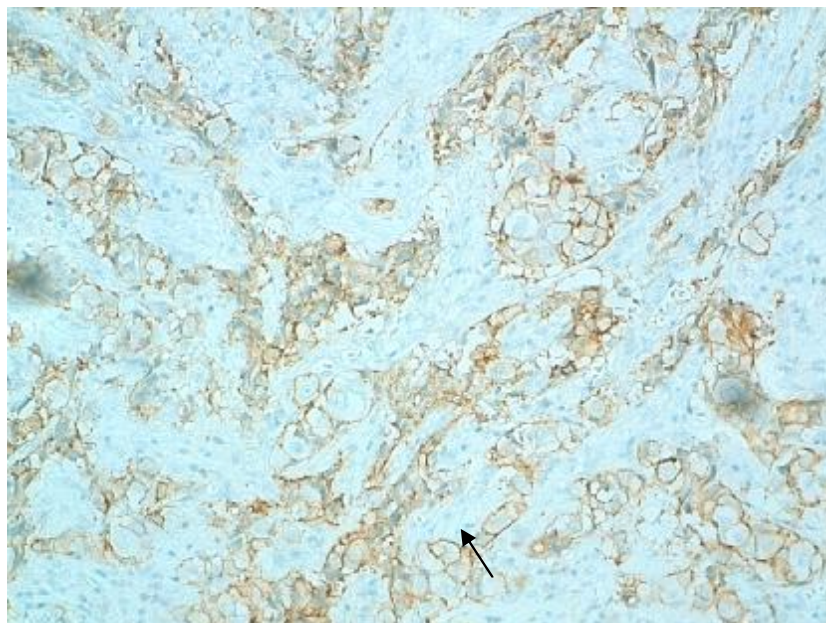
Le signal immunohistochimique spécifique est un marquage membranaire intense et complet des cellules néoplasiques [22].

2-2-2 chiffrage des résultats:

Il faut transcrire le résultat et l'exprimer selon le score utilisé pour la décision thérapeutique [22] :

- Au faible grossissement (Objectif X2 ou X4) : si la majorité des cellules tumorales présentent une positivité nette et distincte, il s'agit d'un 3+, à contrôler au X10. Le score 3+ se porte au faible grossissement.

- Au grossissement moyen (Objectif X10) : s'il y a un marquage net de la majorité des cellules, mais à un niveau moindre qu'un 3+, il s'agit d'un 2+ ; si le marquage est moins distinct, incomplet et « demande » à être observé à un grossissement supérieur, il s'agit d'un 1+.



Laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hassan II Fès

Figure 18 : HER2 score2+

Flèche: marquage membranaire complet et faible

Dans le compte rendu final, qui est conclu par le score à usage thérapeutique, doivent figurer en clair le pourcentage et l'intensité des cellules marquées [22].

Tableau 13 : score HER2 utilisé par l'AMM de Herceptine

Score	Marquage	Interprétation	Indication d'Herceptine
0	Absence <10% cellules +	Négatif	Non
1+	≥10% cellules +, marquage membranaire incomplet et faible.	Négatif	Non
2+	≥10% cellules +, marquage membranaire complet et faible/modéré.	Cas douteux	Faire FISH avant décision thérapeutique
3+	≥30% cellules +, marquage membranaire complet et intense.	Positif	Oui

III - BASES GENETIQUES

1 - Altérations génétiques somatiques dans le cancer du sein

1 - 1 Méthode d'étude des altérations somatiques

1 - 1 - 1 Mesure du contenu en ADN

La cytométrie en flux permet de mesurer la quantité d'ADN, proportionnelle à la quantité de fluorescence émise par les cellules. Une forte proportion des tumeurs du sein (environ 70 %) est aneuploïde.

1 - 1 - 2 Analyse cytogénétique

L'observation d'un caryotype de tumeur de sein montre un ensemble complexe d'anomalies chromosomiques. Certaines de ces anomalies sont récurrentes apportant ainsi de précieux renseignements sur la localisation de gènes potentiellement impliqués dans ce cancer [24]. Par exemple, le chromosome 1 est affecté par des monosomies 1p, des polysomies 1q, des isochromosomes 1q ainsi que des délétions télomériques du bras court. D'autres pertes (3p24,p26 ; 6q22,q27 ; 11q22,q25 ; et 17p13,1) et gains (8q) sont aussi fréquemment observés.

1 - 1 - 3 Hybridation in situ

Elle a permis de caractériser une vingtaine de régions chromosomiques amplifiées et délétées dans les tumeurs du sein [25]. Certaines de ces régions, semblent être associées à des oncogènes – 8p11 (EGFR1), 8q24 (MYC), 11q13 (CCND1) et 17q12 (ERBB2) – ou à des gènes suppresseurs de tumeurs connus – 13q14 (RB1), 17p13 (TP53) [24].

1 - 1 - 4 Analyse moléculaire

Les anomalies génétiques les plus fréquemment observées dans les tumeurs du sein sont des amplifications d'ADN, principalement au niveau de proto-oncogènes, de facteurs de croissance et de leurs récepteurs, mais aussi des mutations, des hyperméthylations et des pertes d'allèle (LOH pour loss of heterogysosity) qui pourraient inactiver des gènes suppresseurs de tumeurs [26].

1-2- Gènes altérés dans le cancer du sein

1-2-1 Amplification et surexpression de proto-oncogènes

Trois proto-oncogènes ont été trouvés amplifiés dans plus de 15 % des tumeurs mammaires :

- Proto-oncogène MYC [27]
- Proto-oncogène ERB-B2 :

Ce gène appartient à la famille des gènes ERB-B dont le premier découvert (ERB-B1 ou EGFR) est le récepteur de l'EGF (epidermal growth factor). Plus récemment, deux autres gènes de cette famille, ERB-B3 et ERB-B4, ont été identifiés [28]. Bien que les quatre gènes de la famille Erb-B semblent tous intervenir dans l'oncogenèse mammaire, seul le gène Erb-B2 est significativement amplifié dans les tumeurs du sein. Il est surexprimé dans environ 20 % des cancers du sein invasifs et dans 60 % des comédocarcinomes [26].

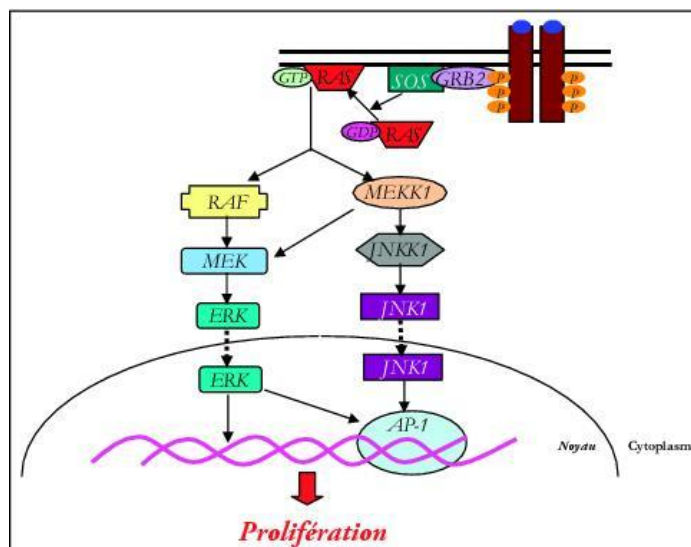


Figure 19 : voie de signalisation de l'Her-2

- Proto-oncogène CCND1 qui code pour la cycline D1 [29].

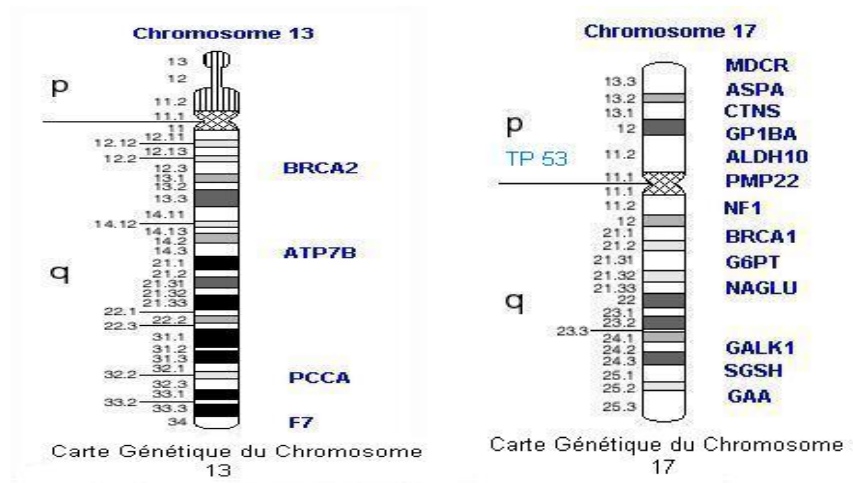
D'autres gènes ont été trouvés amplifiés à moindre taux (10 % et moins) : les gènes FGFR1 (8p11) et FGFR2 (10q26), et le gène IGF1R (15q26) [26].

1-2-2 Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs

- Le groupe des gènes BRCA

Il y a deux gènes connus dans ce groupe de gènes : BRCA1 et BRCA2. Ils sont localisés sur les chromosomes 17 et 13 respectivement [30].

Les études épidémiologiques indiquent qu'une femme porteuse d'une mutation de BRCA1 présente un risque de cancer du sein au cours de sa vie de 80 %. Pour le gène BRCA2 le risque de cancer du sein est de 50 à 85 % [26-31].



Carte des deux chromosomes porteurs des mutations connus pour le gène BCRA 1 sur le chromosome 13 et le gène BCRA2 sur le chromosome 17.

Les gènes BRCA1 et BRCA2 codent pour des protéines impliquées physiologiquement dans la réparation des lésions de l'ADN. BRCA2 apparaît avoir un rôle plus spécifique dans la recombinaison homologue [31]. Le risque tumoral, secondaire à l'inactivation complète de l'une ou l'autre de ces protéines, est principalement mammaire, et dans une moindre mesure ovarien [32].

Un grand nombre de mutations peuvent affecter BRCA1: environ 500; de même pour BRCA2: environ 300 mutations. En effet il faut rechercher chacune de toutes les mutations possibles pour chacun des deux gènes, pour pouvoir affirmer l'origine génétique des cas de cancers de la famille [33].

- Le gène TP53 localisé sur le chromosome 17p [34-35]. Il est impliqué dans environ 25 à 30 % des cas de cancers du sein. Bien que les mutations germinales du gène TP53 soient présentes dans toutes les cellules somatiques, les tumeurs malignes,

dont les mutations sont la cause, ne sont présentes que dans les cellules de certains organes, les cellules cibles [36].

- Le gène ATM, localisé sur le chromosome 11q22-23 [37].

Très peu d'autres gènes suppresseurs de tumeur sont notés, comme le gène CDH1 codant pour la cadhérine E qui semble muté spécifiquement dans les carcinomes lobulaires invasifs [26].

2- profils d'expression génique en cancérologie mammaire

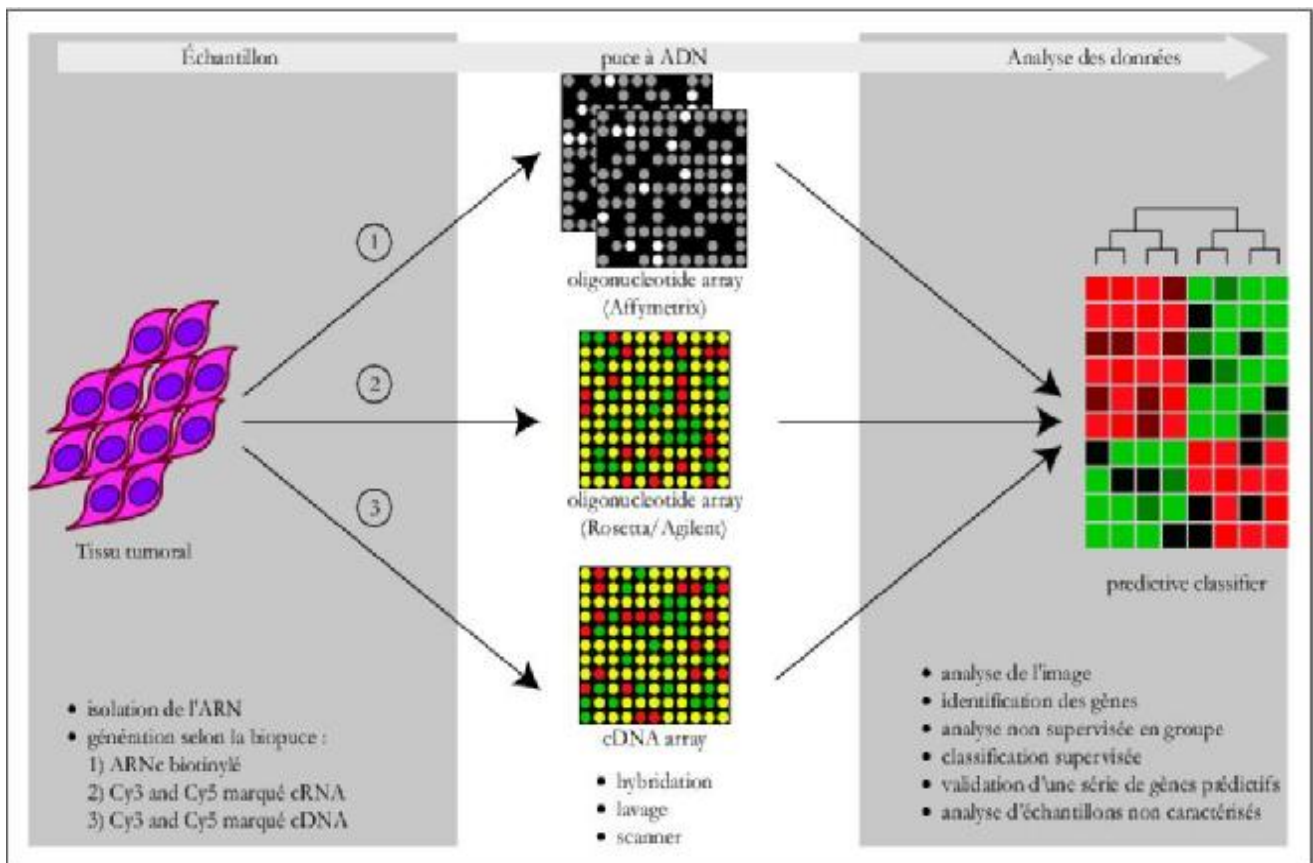
Les récentes avancées dans la connaissance de la génétique moléculaire, associées aux nouvelles techniques à haut débit, offrent l'opportunité d'identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques, pronostiques, ainsi que de nouvelles cibles thérapeutiques. La technique récemment développée des « tissue microarrays » (TMA) autorise la fabrication d'un profil d'expression moléculaire sur des échantillons cliniques. Le pathologiste est maintenant capable d'établir ce profil sur une très large échelle de l'immunohistochimie (IHC), de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ou de l'hybridation in situ sur ARN (CISH).

Cette méthode offre de nombreux avantages : très grand nombre de cas analysés simultanément pour de très nombreux marqueurs, techniques dans des conditions identiques, sur des quantités faibles de matériel d'archive, donnant une excellente corrélation avec les méthodes standards, tout en permettant une économie de temps, d'anticorps ou de sondes.

La puce à ADN (DNA microarray ou DNA chip en anglais) définit un ensemble de procédés caractérisés par un même schéma expérimental : un acide nucléique (ADN/ARN) à caractériser, la cible, est extrait d'un groupe homogène de cellules ou d'un tissu d'intérêt, puis « marqué » (coloré avec un composé fluorochrome ou marqué radioactivement) et co-hybridé avec un acide nucléique provenant d'un groupe cellulaire témoin, sur un support solide (lame de verre, membrane de nylon...) présentant à sa surface entre 100 et 100 000

spots d'acides nucléiques immobilisés, à séquences et emplacements connus, les sondes [38-39-40-41].

Figure 20 : vue schématique des différentes étapes d'analyse des cellules tumorales par les biopuces d'expression. Le marquage de la cible diffère selon le type de biopuce utilisé tandis que l'analyse des résultats d'hybridation n'est pas spécifique d'une méthode donnée.



Selon le type de biopuces à ADN utilisé, il sera possible d'étudier le génome ou le transcriptome d'un groupe homogène de cellules (ou un tissu). L'ADN génomique d'intérêt est extrait de deux groupes de cellules, un échantillon témoin et un échantillon de cellules d'intérêt. L'ADN d'intérêt, marqué en rouge par exemple, est co-hybridé sur la lame avec l'ADN génomique témoin coloré en vert. L'intensité et la couleur du signal émis en fin d'hybridation par chacun des spots d'ADN génomique permettent de déterminer le type d'altération génomique pour ce fragment d'ADN. Ainsi un spot rouge démontrera une sur-

représentation de cette région d'ADN génomique dans les cellules étudiées (amplification, duplication), tandis qu'un spot vert démontrera une perte de matériel génétique pour cette région d'ADN génomique (délétion, perte d'allèle).

Si la première publication rapportant le dépôt d'acide nucléique sur une lame de verre traitée date de 1991, la première application du dépôt d'ADN sur des lames de verre traitées, afin d'étudier en une seule expérimentation les échantillons complexes d'ADN, a été réalisée par le laboratoire de Patrick Brown à l'université de Stanford aux États-Unis, dès 1995 [42]. Cette même équipe a appliqué la technique des biopuces à ADN à l'étude des états d'expression d'un groupe cellulaire tumoral, à un moment donné [43]. Ces travaux constituent la base technique d'un grand nombre d'études utilisant les microarrays [44].

C'est en cancérologie que l'utilisation des biopuces est désormais la plus courante. Ainsi, il est possible de déterminer l'état d'expression de groupes tumoraux définis et homogènes (profiling) avec pour finalité une classification des tumeurs fondée sur ces profils d'expression (clustering) [45]. La plupart de ces classifications réalisées à partir des profils d'expression génique de tumeurs recoupent les classifications anatomopathologiques et/ou immunohistochimiques, mais font également apparaître de nouveaux sous-groupes tumoraux de définition ou d'évolution différentes des précédents [45]. Cela permet de confirmer en partie la réalité phénotypique des résultats des biopuces et d'appréhender la diversité biologique pour une même tumeur.

Pour des raisons essentiellement techniques (homogénéité tissulaire et facilité d'obtention des cellules tumorales), les leucémies et lymphomes ont été parmi les premières tumeurs étudiées, classées puis prédites [47]. Pour le cancer du sein, les premières études ont été effectuées sur des lignées cellulaires tumorales. Elles ont permis d'affiner les méthodologies expérimentales puis de montrer qu'il était possible de séparer deux lignées cellulaires sur la base de leurs différences d'expression génique. Elles ont permis aussi de caractériser certaines régions géniques cibles altérées dans les tumeurs du sein (régions chromosomiques 17q12 et 17q23) [48]. Les travaux ont été poursuivis sur des échantillons tumoraux et se classent en deux catégories : utilisation de profil d'expression

génique pour différencier des états tumoraux ou détermination de séries de gènes utilisables comme marqueurs prédictifs d'évolution tumorale.

Initialement, les auteurs ont choisi de décrire des différences d'expression génique entre tissu tumoral mammaire invasif sans distinction claire de sous-groupes histologiques et tissus mammaires sains [49]. Ces premières données montrent la corrélation de la surexpression du gène ERBB2 dans les tumeurs mammaires de mauvais pronostic (N+) et la distinction sur le profil d'expression génique entre tumeurs mammaires exprimant le récepteur aux œstrogènes (RE+) et celles ne le présentant pas (RE-). Puis cinq équipes ont publié des données de biopuces utilisées pour classer, corréler puis prédire l'évolution de cancers du sein.

Tout d'abord, l'équipe de Brown et Botstein (Stanford, États-Unis), en lien avec celle d'Anne-Lise Borresen-Dale (Oslo, Norvège), a choisi comme stratégie d'étude des tumeurs du sein la définition de sous-groupes de tumeurs fondée sur les profils d'expression génique de plusieurs centaines de gènes. Utilisant entre 496 et 534 gènes, ils ont documenté la possibilité de séparer des tumeurs RE+ et RE- et définissent, parmi ces catégories, quatre groupes de tumeurs du sein : basal-like, ERBB2 surexprimé, normal-like et luminal/epithelial RE+ [50]. Utilisant de nouvelles méthodes statistiques, ils ont précisé leurs groupes en divisant en deux sous-groupes A et B le groupe luminal/epithelial, puis en corrélant les groupes basal-like et luminal B à un mauvais pronostic [51]. Ces corrélations ont été précisées sur des groupes indépendants de tumeurs du sein déjà étudiés et publiés par les équipes de Bernards (Amsterdam, Pays-Bas) et Nevins (Durham, États-Unis), confirmant ainsi en partie la robustesse de leur approche statistique et la pertinence biologique de leurs groupes de tumeurs [52].

IV. LES SOUS TYPES DES CANCERS DU SEIN

Comme l'on a déjà cité, Les études du développement canalaire du sein normal suggère l'existence d'une cellule progénitrice (souches ou basale) qui, par deux lignées séparées, donne naissance à deux types de cellules matures : la cellule épithéliale luminale interne (glandulaire) et la cellule myoépithéliale externe [53-54]. Les protéines de filaments intermédiaires nommées cytokératines sont exprimées en des combinaisons différentes dans ces deux distincts types cellulaires épithéliales. Par exemple, les cytokératines basales CK5, CK6, et CK14 sont exprimées dans la majorité des cellules myoépithéliales mammaires, tandis que les cytokératines CK8, CK18 et CK19 sont caractéristiques des cellules luminales. Les études immunohistochimiques ont suggéré de plus loin que l'expression des cytokératines est conservée pendant la cancérogenèse, ce qui permet la discrimination des sous types immunophénotypiques des cancers du sein : basal/myoépithélial et luminal.

Selon les études basées sur la génétique, plusieurs équipes ont proposé d'identifier les sous-types moléculaires en utilisant les outils diagnostiques conventionnels. Des sous-classes moléculaires ont été d'abord définies selon les récepteurs aux œstrogènes (ER), les récepteurs aux progestatifs (PR) et l'expression Her2 par l'immunohistochimie (IHC). Dans cet arrangement, le sous-type Her2 a été définie comme tumeurs de Her2+/ER-, les tumeurs basal-like sont désignées comme des cancers « triple-négatifs », c.-à-d. cancers d'ER-/PR-/Her2- ; les tumeurs luminal-like étaient toutes des tumeurs ER+.

Ces sous-types moléculaires et leurs corrélations histo-cliniques ont été confirmés ensuite par la même équipe sur plus de tumeurs. Ils ont également été démontrés ou validés sur des cancers in situ, des cancers invasifs localisés et le cancer du sein inflammatoire [55]. Ces sous-types moléculaires présentent une sensibilité différente à la chimiothérapie avec une sensibilité plus importante pour les tumeurs basales et ERBB2+ que pour les tumeurs luminales, avec par ailleurs des signatures moléculaires de réponse histologique différentes entre tumeurs basales et tumeurs ERBB2+.

De plus, ces signatures peuvent être facilement reproduites par immunohistochimie suggérant la robustesse de cette classification [51-56].

En pratique	
Statut des récepteurs aux oestrogènes	Sous-types
Positif	Luminal A Luminal B
Négatif	Basal-like Erb-B2 positif Normal ou « breast-like »

1. Répartition globale des sous types moléculaires

La prévalence des différents sous types moléculaires est différente en fonction de l'ethnie.

D'après Carey et al. [56], la prévalence des sous types basal et luminal A était de 27 et 47% respectivement, versus 13,6 et 30,5% dans la présente étude. On remarque que la prévalence du sous type basal était 2 fois inférieure que la littérature.

Le statut HER2+ /ER- était identique chez nos patientes (9,2 % versus 9%).

Notre étude montre que le sous type luminal B est le sous type moléculaire le plus fréquent représentant 41,8% des cas, contrairement aux données de la littérature où on trouve le sous type luminal A (population Malaisienne, Américaine et du Suède) [57-58]

Tableau 14 : répartition globale des différents sous types moléculaires en fonction de l'ethnie

	Luminal A	Luminal B	HER2	Basal
. Notre série (Maroc)	30,5 %	41,8 %	9,2%	13,6 %
. Carey et al. (Etats Unis) [56]				
Population afro-américaine	47,4 %	12,4 %	8,1 %	26,5 %
Population non afro-américain	54 %	17,3 %	5,6 %	16 %
. Chukwuemeka et al (Population afro-américaine) [59]	55,1 %	11,8 %	11,5 %	21,2 %
. Junichi et al. (Japon) [60]	63 %	20 %	7 %	8 %
. Munirah et al. (Malaisie) [58]	57,6 %	6,9 %	14,3 %	7,4 %
. Su et al. (Etats Unis) [61]	48.5 %	16.7 %	13.6 %	12.9 %
. Jonsson et al. (Suède) [57]	26 %	19 %	9 %	22 %
. Spitale et al. (Suisse) [62]	73,2 %	13.8 %	5,6 %	7,4 %

2. Type luminal

Les tumeurs ER+ sont rassemblées dans le sous type « luminal », caractérisé notamment par l'expression des gènes codant pour des protéines spécifiques des cellules épithéliales luminales (KRT18, MUC1), mais aussi par l'expression d'ESR1, et de gènes oestrogéno-régulés tels que HNF3, LIV1, GATA3, Ps2 ou XBP1 [64-65]. Ce sous-type a été ultérieurement subdivisé en deux voir trois sous-groupes appelés «luminal A», et «luminal B» qui inclue le sous groupe «luminal C» qui été décrit initialement [63]. Alors que les tumeurs «luminal A» sont caractérisées par la sur-expression des gènes oestrogéno-régulés, les tumeurs «luminal B» expriment par exemple les gènes CCNE1 et PRDX4 et les «luminal C» le gène MYBL2.

Le sous-type "luminal-like" est divisé aussi selon un grade histologique basé sur le profil d'expression génique en rapport avec les données de Loi et al : le sous-type luminal A (ER positif & grade 1 et 2) et le sous type luminal B (ER positif & grade 3). Les tumeurs de

grade histologique 1 et 2 sont groupées ensemble pour identifier clairement les tumeurs ER+ ayant un risque élevé (luminal B).

Actuellement, l'étude de Carolina a pu définir le sous type luminal B comme des tumeurs ER positives et Her-2 positive [56]. Ensuite, des études plus récentes ont pu l'identifier comme des tumeurs soit ER positives et Her-2 positive, soit ER positives, Her-2 négatif et Ki67 (index de prolifération) supérieur à 14% [67].

2-1 type luminal A:

1-1-1 Caractères morphologiques:

Les cancers du sein ER+ tendent à être morphologiquement bien différenciés et, en général les tumeurs exprimant des récepteurs aux œstrogènes sont majoritairement des tumeurs bas grade SBR et peu proliférants. Dans notre étude, on a trouvé une association significative entre ce sous type et l'association avec un carcinome in situ, ce qui souligne l'hypothèse d'un continuum lésionnel entre le carcinome in situ et le carcinome infiltrant de bas grade. On a réalisé également que le grade I de SBR était retrouvé dans 28,3 % des tumeurs luminal A contre seulement 4% pour tumeur de phénotype basal, ce qui concorde avec les données de la littérature où on trouve le grade I de SBR chez 26,3% des patientes de phénotype Luminal A [58].

2-1-2 Caractères immunohistochimiques:

Le sous-type luminal A montre une forte expression des récepteurs aux œstrogènes, et aux progestatifs, alors que l'hercept test est négatif [58].

Il montre également une positivité des cytokératines lumineales 8/18 et 19 [68] et le gène GATA3. Ce gène est impliqué dans le contrôle de la croissance et le maintien de la différenciation de ces tumeurs.

Dans la présente étude, le sous type luminal A était défini comme des tumeurs positives pour les récepteurs oestrogénique, négatives pour l'Her-2 et positive pour les cytokératines 8/18.

2-1-3 Corrélation histo-pronostique:

Le sous-groupe luminal A présente la meilleure évolution clinique, ils sont caractérisés par un meilleur pronostic (30 % de risque de récurrence et 25 % de décès à 15 ans) [69].

En ce qui concerne le risque de décès, alors qu'il est assez faible après 5 ans, de l'ordre de 10 %, il augmente considérablement jusqu'à atteindre 50 % à 15 ans.

L'envahissement ganglionnaire était retrouvé dans 52,4 % des cas, contre 86,7 % des cas pour le phénotype Her-2. Ce qui est comparable avec les données de la littérature (47.2%) [57].

2-1-4 Implications thérapeutiques:

Les tumeurs luminal A sont des tumeurs hormonosensibles pures et bénéficient de monothérapie anti-hormonale [57].

Néanmoins, malgré que le type luminal A garde un bon pronostic, ils sont moins chimiosensibles dans une étude incluant 82 patientes avec une chimiothérapie néoadjuvante à base de paclitaxel/5-fluorouracil-doxorubicin-cyclophosphamide (FAC) [71].

Des essais cliniques contrôlés sont en cours pour déterminer l'efficacité des inhibiteurs de l'aromatase en combinaison avec les inhibiteurs de mTOR dans le traitement du cancer du sein à récepteurs hormonaux positifs [72].

2-2 type luminal B:

2-2-1 Caractères morphologiques:

Le sous-type luminal B regrouperait des cas luminaux moins différenciés que les luminaux A et plus prolifératifs.

Ceci a été confirmé par notre étude en réalisant que le grade III de SBR était retrouvé dans 30,6 % des tumeurs de phénotype luminal B, contre seulement 12,5 % pour les tumeurs de phénotype luminal A (26.7% dans la littérature [58]). La taille tumorale était également plus élevée (le stade T2 était retrouvé dans 44,7% des cas contre 34,5% pour le phénotype luminal A), ce qui concorde avec les données de la littérature où on trouve 51.4% des patientes de ce sous type avec un stade T2, contre 48% pour le Luminal A [73].

2-2-2 Caractères immunohistochimiques:

Ce groupe possède le même profil immunohistochimique que le type précédant, cependant les récepteurs aux oestrogènes alpha sont moins exprimés dans la classe luminal A [64], en plus de l'expression de l'Her-2 [51].

1-2-3 Corrélation histo-pronostique:

Une forte prolifération dans ce phénotype entraîne un risque relatif de rechute de 19 (IC 95 %), par rapport aux tumeurs lumineales de faible prolifération [69].

Le pronostic de ce groupe ressemble à celui du groupe « Erb-B2 » : le risque de récidence est très important dès 5 ans avec une probabilité de 45 % de récidence puis évolue jusqu'à 65 % à 15 ans [73].

Dans cette série, l'envahissement ganglionnaire était retrouvé dans 68,8 % des tumeurs de phénotype luminal B, alors qu'il est évalué à 52,4 % pour les tumeurs de phénotype luminal A. Ces résultats sont supérieurs à ceux de la littérature où on trouve 42.5% de métastase ganglionnaire dans le sous type luminal B, contre seulement 27,5% pour le sous type luminal A [59].

Les métastases à distance sont présentes dans 12,5 % des cas, versus 4,5 % pour les tumeurs luminal A.

2-2-4 Implications thérapeutiques:

Les tumeurs luminal B sont également des tumeurs hormonosensibles, mais devraient bénéficier en plus de l'introduction de la chimiothérapie [74]. Ils représentent aussi une indication au traitement par le trastuzumab (Herceptine™) si l'HER2 est surexprimé [75].

Les inhibiteurs de mTOR (analogues de rapamycin) sont en cours d'évaluation, pour le traitement du cancer du sein ER+ avec surexpression de l'HER2 ou avec la perte de PTEN [72].

3. Type normal

Il s'agit d'un sous-groupe intitulé « semblable au sein normal », qui exprime les gènes des adipocytes et des autres cellules mammaires d'origine non épithéliale. Ces tumeurs montrent également une forte expression des gènes des cellules basales et une faible expression des gènes des cellules luminales [52].

Ces cancers sont de meilleur pronostic, mais leur description morphologique reste encore floue.

4. Type HER-2

Le gène HER-2/neu, membre de la famille des récepteurs tyrosine kinase est impliqués dans la voie de transduction du signal qui règle la croissance cellulaire, la différenciation, l'apoptose, et les métastases. Il a été découvert indépendamment dans quatre laboratoires différents, par conséquent il possède des noms alternatifs comme neu, HER-2 ou c-erbB-2.

La surexpression de la protéine HER-2 est trouvée dans près de 25 à 30 % des carcinomes mammaires. Chez l'être humain, la surexpression de l'HER-2 n'a pas été observée dans le tissu mammaire normal, ni dans les lésions bénignes y compris les hyperplasies, mais elle est habituellement observée dans les carcinomes canalaire in situ, pratiquement le double de ce qui est observé dans les carcinomes invasifs [76].

Pour le type HER-2 des carcinomes mammaires, il est caractérisé par l'expression d'un groupe de gènes incluant ERBB2, GRB7, et FLOT2 [77]. Il est distingué par les caractéristiques suivantes :

4-1 Caractères morphologiques:

Pour les carcinomes canauxaux infiltrants, la surexpression de HER2 est associée à un phénotype particulier : haut grade, nombreuses mitoses, nécrose avec un infiltrat lymphoïde [77].

Ce travail a montré que ce sous groupe est significativement associé à une taille tumorale élevée, contrairement aux données de la littérature où on trouve une taille comparable à celle du sous type luminal B [73].

Pour le grade SBR, il est proche de celui des tumeurs de phénotype luminal B (34,1% des tumeurs sont de grade III de SBR versus 30,6% pour les tumeurs de phénotype luminal B).

La nécrose tumorale était retrouvée dans 22,2% des cas, mais avec un p non significatif.

4-2 Caractères immunohistochimiques:

Le sous-type her-2 est défini comme des tumeurs positives en immunohistochimie pour l'her-2 et négatives pour les récepteurs oestrogéniques [78].

4-3 Corrélation histo-pronostique:

Plusieurs études ont établi la relation entre l'expression de l'HER-2 et le mauvais pronostic des cancers du sein, la survie à 5 ans est estimée à 62.1% [69].

Notre étude a montré que ces tumeurs sont également associées au taux le plus élevé d'envahissement ganglionnaire (86,7 % des cas).

Le taux des métastases à distance était en deuxième position (17,9%) après celui des tumeurs de phénotype basal (26,7 %).

4-4 Implications thérapeutiques:

L'HER-2 représente une thérapeutique ciblée idéale pour le cancer du sein du fait de son rôle fonctionnel dans la croissance tumorale, de son accessibilité comme un récepteur situé en surface de la cellule et de son niveau d'expression élevé dans le cancer du sein, contrairement à ce qu'il est dans le tissu mammaire normal.

Ce sous-type peut être traité par un anticorps qui inhibe la voie ERBB2 comme le trastuzumab (Herceptine™) ou un inhibiteur de tyrosine kinase comme le lapatinib [79].

5. Type basal

Ces dernières années ont permis de mieux caractériser les cancers de type basal (basal like breast cancer, BLBC) et triples négatifs (TN) et d'en illustrer l'hétérogénéité morphologique et pronostique.

5-1 Caractères morphologiques:

Ces cancers sont généralement de haut grade avec un haut index mitotique. Ils sont souvent associés à une nécrose centrale et un infiltrat lymphocytaire [80].

Notre étude montre que le sous type basal est associé à un haut grade SBR et aux types histologiques de mauvais pronostic comme le carcinome métaplasique, et le carcinome peu différencié. Ces associations ont été confirmées par d'autres études [56-73], où on trouve le grade III de SBR dans 78.9% des cas (64% dans la présente étude).

5-2 Caractères immunohistochimiques:

Les carcinomes de type basal-like sont définis comme des tumeurs triple négatives, c'est-à-dire RO-RP-HER2 (0 % des cellules positives) et exprimant de plus soit des cytokératines de haut poids moléculaire (cytokératines 5/6/14/17), soit l'EGFR, soit KIT [81-82-83].

Si tous les cancers de type basal-like sont triples négatifs, une certaine proportion de carcinomes triple négatifs n'exprime pas de marqueurs basal-like. Cette caractérisation a permis de remettre en perspective cette catégorie des cancers du sein « triple négatifs » qui représente 10 à 25 % des cancers du sein. Ces tumeurs sont généralement mutées pour le gène TP53 [84].

5-3 Corrélation histo-pronostique:

C'est un sous type important où le pronostic est le plus défavorable [79].

Sur le plan clinique, les cancers TN affectent le plus souvent les femmes jeunes (moins de 40 ans). Ils présentent un pic de rechute avant la deuxième année et entraînent majoritairement le décès avant 5 ans. À 10 ans cependant, le pronostic global des cancers TN rejoint celui des autres formes du cancer du sein.

Les métastases à distance sont beaucoup plus fréquentes que dans autres catégories tumorales [84]. Dans cette étude, on a noté une association significative entre ce phénotype

et la présence de métastases à distance, qui sont retrouvées dans 26% des cas contre 4,5% pour le sous type luminal A.

5-4 Implications thérapeutiques:

La réponse à la chimiothérapie néoadjuvante des cancers du sein TN est plus importante, en particulier car les TN ont une prolifération plus élevée [66]. En revanche, ils ne répondent pas aux deux principales thérapeutiques ciblées actuellement disponibles (les traitements hormonaux et le traitement par trastuzumab). Ils constituent des indications privilégiées pour des essais thérapeutiques étudiant de nouvelles approches (agents anti-EGFR, agents anti-angiogéniques, taxanes, etc.) [85]. Ces approches sont en cours d'évaluation [72].

V. Limites de cette classification :

Il reste cependant des tumeurs ne correspondant à aucune de ces catégories, en particulier les tumeurs triples négatives non basales, pour lesquelles les ressources thérapeutiques sont limitées. D'autres sous-types moléculaires ont également été constatés dans les cancers du sein triple négatif, y compris le sous-groupe claudin-low, le sous-groupe interféron-rich, et le sous groupe molecular apocrine [86-87-88].

Les tumeurs de phénotype claudin-low sont caractérisées par l'absence ou la faible expression des marqueurs de différenciation luminales, par la forte expression des marqueurs de transition épithéliale-mésenchymateuse, des gènes de réponse immunitaire et par l'acquisition des caractéristiques des cellules souches du cancer du sein [86].

Les tumeurs de phénotype interféron-rich englobe des tumeurs avec un pronostic meilleur que celui associé avec d'autres cancers du sein triple négatif [87].

Le cancer du sein de phénotype molecular apocrin est caractérisé par surexpression de la voie de signalisation des androgènes, avec une amplification fréquente du gène ERBB2 [88].

Par ailleurs, parmi les tumeurs de phénotype basal, il en existe de bon pronostic reconnu comme les carcinomes médullaires.

La classification en luminal A et B ne tient pas compte des récepteurs progestéroniques dont l'importance clinique et probablement thérapeutique est incontestable.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans un futur proche, la classification moléculaire du cancer du sein va permettre d'entrevoir une nouvelle ère dans la prise en charge des cancers du sein, avec une approche plus individualisée, patiente par patiente. Des études multicentriques sont en cours pour valider le profil génomique comme facteur prédictif d'évolution et de réponse thérapeutique avec l'avènement du test diagnostique MammaPrint qui a été approuvé pour une utilisation clinique en 2007 (Agendia™) [89].

Les cancers du sein peuvent ainsi être classés en différentes classes, luminal A, luminal B, basal, et HER2, avec des différences dans les aspects cliniques, morphologiques. Ceci nous aidera à choisir des traitements "à la carte", potentiellement plus efficaces et moins toxiques.

Cette étude a permis de ressortir le sous type luminal B comme un sous type prédominant, ce qui constitue une particularité de notre série.

On a également noté que les tumeurs de phénotype basal et Her-2 étaient associées à des caractéristiques cliniques et histopathologiques plus agressives que les tumeurs de phénotype luminal.

Nos patientes sont en cours de surveillance, ceci nous permettra de faire des études de survie à 5 ans.

Le succès de ces études dépendra de collaborations étroites entre chercheurs de différentes disciplines (gynécologues, anatomo-pathologistes, oncologues et épidémiologistes...) et de la qualité du suivi des patientes sans lequel toutes ces études seraient peu contributives à la compréhension de cette pathologie et à la prise en charge des malades dans notre contexte.

RESUME

Introduction:

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent au Maroc et dans le monde. Sorlie et Perou ont défini récemment 5 sous types de pronostic et de réponse thérapeutique différents: luminal A, luminal B, normal, Her-2, et basal.

Le but de notre travail prospectif 2008 – 2011 (392 cas), est de corrélérer ces différents sous types moléculaires avec les données cliniques et histopathologiques.

Matériel et méthode:

C'est une étude prospective menée dans le service d'Anatomie pathologique du centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès. Pour réaliser ce travail, nous avons recueillis les cas des cancers du sein diagnostiqués au service d'Anatomopathologie entre Janvier 2008 et septembre 2011. Une analyse descriptive des caractéristiques cliniques, histologiques et immunohistochimiques des patientes a été effectuée.

Résultats

Des 390 tumeurs analysées, 119 (30,5 %) étaient classées de type luminal A, 163 (41,8%) de type luminal B, 36 (9,2%) de type Her-2, et 53 (13,6%) de type basal.

Les tumeurs basales se caractérisaient par le grade histologique le plus haut, contrairement aux tumeurs luminales qui se caractérisaient par un bas grade SBR ($p < 0,0001$). Le sous type luminal A est significativement associé avec un contingent de carcinome in situ que les autres sous types ($p = 0,0013$).

Parmi les tumeurs de phénotype Her-2; 86,7% étaient associées à un envahissement ganglionnaire, suivies par les tumeurs de phénotype basal (81,3%), avec un $p = 0,0066$.

On a également noté une association significative entre ce phénotype et la présence de métastases à distance, qui sont retrouvées dans 26% des cas contre 4,5% pour le sous type luminal A.

Conclusion

Cette étude a permis de ressortir le sous type luminal B comme un sous type prédominant, ce qui constitue une particularité de notre série. On a également noté que les tumeurs de phénotype basal et Her-2 étaient associées à des caractéristiques cliniques et histopathologiques plus agressives que les tumeurs de phénotype luminal.

REFERENCES

- [1] Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov). SEER*Stat Database: Incidence-SEER 9 Regs Public Use, Nov 2004 Sub (1973-2002), National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch. April 2005, based on the November 2004 submission.
- [2] Boyle P. Breast cancer control: signs of progress, but more work required. *Breast* 2005;14:429-38.
- [3] Wiencke JK. Opinion: Impact of race/ethnicity on molecular pathways in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:79.
- [4] Bertucci F. Profils d'expression génique et Puces à ADN dans le cancer du sein : choix du patient, choix du protocole. Springer Paris 2006. p 267-276
- [5] P. Fumoleau, M. Campone, N. Isambert, E. Bourbouloux, F.Mayer et B. Coudert. Les nouvelles cibles thérapeutiques. Les nouvelles thérapeutiques ciblées. Springer Paris 2006.
- [6] Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lonning P and Borresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10869-10874.
- [7] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO and Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-752.
- [8] Tavassoli F.A. Correlation between gene expression profiling-based molecular and morphologic classification of breast cancer. *Int J Surg Pathol* 2010;18:167S-169S.
- [9] Tavassoli F.A, Devilee P. WHO. Pathology and genetics. Tumors of the breast and female genital organs. 2003
- [10] EPU sein. 2010
- [11] Dabakuyo TS, et al. Population-based study of breast cancer survival in Cote d'Or (France): prognostic factors and relative survival. *Ann Oncol.* 2008 ;19(2):276-83.

- [12] Carter CL et al. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* 1989, 63 : 181-187
- [13] Singletary SE, et al. Revision of the american joint committee on cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002 ;20 : 3628-36
- [14] Elston CW et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term followup. *Histopathology* 1991; 19 : 403-410.
- [15] DE Mascarel I et al. Obvious peritumoral emboli : an elusive prognostic factor reappraised. Multivariate analysis of 1320 node-negative breast cancers. *Eur J Cancer* 1998 ; 34 : 58-65.
- [16] Bertucci F, Nasser V, Houlgatte R, Birnbaum D. Profils d'expression génique et puces à ADN dans le cancer du sein : intérêt pronostique. *Bulletin du Cancer*. Volume 89. N° 6. 571-4. 2002
- [17] Bièche I. Tozlu S. Girault I. Lidereau R. Identification of a three-gene expression signature of poor-prognosis breast carcinoma. *Molecular Cancer* 2004, 3:37
- [18] Bertucci F, Houlgatte R, Nguyen C et al. Gene expression profiling of cancer by use of DNA arrays : how far from the clinic? *2001 Lancet Oncol* 2: 674-82
- [19] BELLOCQ JP. Les pratiques ACP en cancérologie mammaire : quels moyens pour quels besoins ? *Ann Pathol* 2007 ; 27 : 1S64-1S68
- [20] JENSEN V, LAKEDARL M. Immunohistochemical quantitation of oestrogen receptors and proliferative activity in oestrogen receptor positive breast cancer. *J Clin Pathol* 1995 ; 48 : 429-32.
- [21] MAC GROGAN G, SOUBEYRAN I, DE MASCAREL I, WAFFLART J, BONICHON F, DURAND M, AVRIL A, MAURIAC L, TROJANI M, COINDRE JM. The immunohistochemical detection of progesterone receptors in breast invasive ductal carcinomas. A correlative study on 942 cases. *Appl Immunohistochem* 1996 ; 4 : 219-27.

- [22] PERTSCHUK LP, FELDMAN JG, KIM Y-D, BRAITWAITE L, SCHNEIDER F, BRAVERMAN AS, AXIOTIS C. Estrogen receptor immunocytochemistry in paraffin embedded tissues with ER1D5 predicts breast cancer endocrine response more accurately than H222Spg in frozen sections or cytosol-based ligandbinding assays. *Cancer* 1996 ; 77 : 2514-9.
- [23] Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000 ; 124 : 966-78.
- [24] Penault-Llorca F, Balaton A, Sabourin J.C, Le Doussal V, et le Groupe d'évaluation des facteurs pronostiques par immunohistochimie dans les cancers du sein (GEFPICS). Évaluation immunohistochimique du statut HER2 dans les carcinomes mammaires infiltrants : mise au point du protocole technique et de la lecture des résultats-recommandations. Masson, Paris, 2002. 150 – 157
- [25] Bièche I. Biologie moléculaire des cancers. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 19 (2004) 13–22
- [26] Tirkkonen M, Tanner M, Karhu R, Kallioniemi A, Isola J, Kallioniemi OP. Molecular cytogenetics of primary breast cancer by CGH. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;2:177–84.
- [27] Lacave R, Larsen C-J, Robert J. *Cancerologie Fondamentale*. John Libbey Eurotext, 2005 p197
- [28] Kim C, Bryant J, Horne Z et al. Trastuzumab sensitivity of breast cancer with co-amplification of HER2 and cMYC suggests pro apoptotic function of dysregulated cMYC in vivo. C-myc amplification and response to trastuzumab in NSABP 31 trial. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 94(Suppl. 1):abstr. 46.
- [29] Reis-Filho JS, Savage K, Lambros MB, et al. Cyclin D1 protein overexpression and CCND1 amplification in breast carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridisation analysis. *Mod Pathol* 2006;19:999–1009.
- [30] Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science*. 1994; 5181: 2088-90.

- [31] Agnès Chompret¹, Catherine Noguès², Dominique Stoppa-Lyonnet³. Consultation d'oncogénétique pour le cancer du sein. Presse Med. 2007; 36: 357–63
- [32] Monteiro AN. BRCA1: the enigma of tissue specific tumor development. Trends Genet. 2003; 6: 312-5.
- [33] Lakhani SR, Jacquemier J, Sloane JP, et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations. J Natl Cancer Inst 1998;90:1138–45
- [34] Prives C, Hall PA. The p53 pathway. J Pathol 1999 ; 187 : 112-26.
- [35] Hurlimann J, Chaubert P, Benhattar J. p53 gene alterations and P53 protein accumulation in infiltrating ductal breast carcinomas : correlation between immunohistochemical and molecular biology techniques. Mod Path 1994 ; 7 : 423-8
- [36] Soussi T, Dehouche K, Bérout C. L'analyse des mutations du gène p53 dans les cancers humains : le lien entre l'épidémiologie et la carcinogénèse. Médecine/sciences 2000 ; 16 : 1387-96
- [37] Tommiska J, Jansen L, Kilpivaara O, Edvardsen H, Kristensen V, Tamminen A, Aittomäki K, Blomqvist C, Børresen-Dale AL, Nevanlinna H. ATM variants and cancer risk in breast cancer patients from Southern Finland. BMC Cancer 2006;6:209.
- [38] Wildsmith SE, Elcock FJ. Microarrays under the microscope. Mol Pathol 2001;54:8–16.
- [39] Bertucci F, et al. DNA arrays: technological aspects and applications. Bull Cancer 2001 ; 88 : 243-52.
- [40] SÉVENET N, COTTU P-N. Génomique et cancer du sein : apport des puces à ADN. Bull Cancer 2004 ; 91 (special) : S226-31
- [41] Shalon D, Smith SJ, Brown PO. A DNA microarray system for analyzing complex DNA samples using two- color fluorescent probe hybridization. Genome Res 1996 ; 6 : 639-45.
- [42] Tirkkonen M, Tanner M, Karhu R, Kallioniemi A, Isola J, Kallioniemi OP. Molecular cytogenetics of primary breast cancer by CGH. Genes Chromosomes Cancer 1998;2:177–84.

- [43] DeRisi J, et al. Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet* 1996 ; 14 : 457-60.
- [44] Sherlock G, et al. The Stanford Microarray Database. *Nucleic Acids Res* 2001 ; 29 : 152-5.
- [45] Golub TR, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999 ; 286 : 531-7.
- [46] SÉVENET N, COTTU P-N. Génomique et cancer du sein : apport des puces à ADN. *Bull Cancer* 2004 ; 91 (special) : S226-31
- [47] Wright G, et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100 : 9991-6.
- [48] Monni O, et al. Comprehensive copy number and gene expression profiling of the 17q23 amplicon in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 5711-6.
- [49] Bertucci F, et al. Gene expression profiling of primary breast carcinomas using arrays of candidate genes. *Hum Mol Genet* 2000 ; 9 : 2981-91.
- [50] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO and Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406:747-752.
- [51] Y. Belkacémi, F. Penault-Llorca, J. Gligorov, D. Azria. Intérêt des classifications moléculaires pour prédire la rechute locale et la diffusion métastatique des cancers du sein. Elsevier Masson SAS 2008. 1278-3218.
- [52] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Johnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lonning PE, Brown PO, Borresen-Dale AL and Botstein D. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100: 8418-8423.
- [53] Ponti D, Zaffaroni N, Capelli C, Daidone MG. Breast cancer stem cells: an overview. *Eur J Cancer* 2006;42(9):1219-24.

- [54] Paguirigan A, Beebe DJ, Liu B, Alexander C. Mammary stem and progenitor cells: tumour precursors? *Eur J Cancer* 2006;42(9):1225-36.
- [55] Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT, Gaudet J, Enright E, McQuary P, et al. Gene expression profiles of human breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:5974–9.
- [56] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295:2492-2502.
- [57] Goran Jonsson, Johan Staaf. Genomic subtypes of breast cancer identified by array-comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics. *Breast Cancer Research* 2010, 12:R42
- [58] M. A. Munirah, M. A. Siti-Aishah. Identification of different subtypes of breast cancer using tissue microarray. *Rom J Morphol Embryol* 2011, 52(2):669–677
- [59] Chukwuemeka U. Ihemelandu, LaSalle D. Leffall. Molecular Breast Cancer Subtypes in Premenopausal and Postmenopausal African-American Women: Age-Specific Prevalence and Survival. *Journal of Surgical Research*. 2007;143, 109–118
- [60] Junichi Kurebayashi, Takuya Moriya, Takanori Ishida, et al. The prevalence of intrinsic subtypes and prognosis in breast cancer patients of different races. *The Breast* 16 (2007) S72–S77
- [61] Yinghao Su, Ying Zhen2, Wei Zheng, Kai Gu. Distinct distribution and prognostic significance of molecular subtypes of breast cancer in Chinese women: a population-based cohort study. *BMC Cancer* 2011, 11:292
- [62] A. Spitale, P. Mazzola, D. Soldini, L. Mazzucchelli, A. Bordoni. Breast cancer classification according to immunohistochemical markers: clinicopathologic features and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland. *Annals of Oncology* 20: 628–635, 2009
- [63] Rulla M Tamimi, Stuart J Schnitt. Luminal B breast tumors are not HER2 positive - authors' response. *Breast Cancer Research* 2008, 10:405
- [64] Sorlie T, Wang Y, Xiao C et al. Distinct molecular mechanisms underlying clinically relevant subtypes of breast cancer: gene expression analyses across three different platforms. *BMC Genomics* 2006;7:127.

- [65] Usary J, Llaca V, Karaca G et al. Mutation of GATA3 in human breast tumors. *Oncogene* 2004;23(46):7669-78.
- [66] Rohit Bhargava, Joan Striebe, Sushil Beriwal, John C. Flickinger, Agnieszka Onisko, Gretchen Ahrendt and David J. Dabbs. Prevalence, Morphologic Features and Proliferation Indices of Breast Carcinoma Molecular Classes Using Immunohistochemical Surrogate Markers. *Int J Clin Exp Pathol* (2009) 2, 444-455
- [67] Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:736-50.
- [68] Abd El-Rehim DM, Pinder SE, Paish CE et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004;203(2):661-71.
- [69] Jacquemier J, Ginestier C, Rougemont J et al. Protein expression profiling identifies subclasses of breast cancer and predicts prognosis. *Cancer Res* 2005;65(3):767-79.
- [70] Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al. Meeting highlights: updated international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:3357-65.
- [71] Ayers M, Symmans WF, Stec J, Damokosh AI, Clark E, Hess K, et al. Gene Expression Profiles Predict Complete Pathologic Response to Neoadjuvant Paclitaxel and Fluorouracil, Doxorubicin, and Cyclophosphamide Chemotherapy in Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:2284-93.
- [72] Lei Fanga, Zeinab Barekatia, Bei Zhanga, Zhiyong Liub, Xiaoyan Zhonga. Targeted therapy in breast cancer: what's new? *Swiss Med Wkly*. 2011;141:w13231
- [73] Durbecq V. Ameye L. Veysc I. Paesmans M. Desmedt C. Sirtaine N. Sotiriou C. Bernard-Marty C. Nogaret J.M. Piccart M. Larsimont D. A significant proportion of elderly patients develop hormone-dependant "luminal-B" tumours associated with aggressive characteristics. *ONCH-1150*; 2007; p13
- [74] Kaklamani VG, Gradishar WJ. Gene expression in breast cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2006;7(2):123-8.

- [75] Penault-Llorca F. Personnalisation des traitements : y a-t-il de nouveaux facteurs prédictifs ? 28es journées de la SFSPM, Lille, novembre 2006
- [76] Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:127–37.
- [77] Hui Liu MD. PhDa. Qinhe Fan MD. PhDb. Zhihong Zhang MD. PhDb. Xiao Lib. Huiping Yu MSc. Fangqing Meng MDd. Basal-HER2 phenotype shows poorer survival than basal-like phenotype in hormone receptor-negative invasive breast cancers. *Human Pathology* (2008) 39, 167–174
- [78] Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, Caldas C. Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *J Clin Oncol* 2005;23(29):7350-60.
- [79] Marty M, Cогnetti F, Maraninchi D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: results of a randomized phase II trial by the M77001 study group. *J Clin Oncol* 2005.
- [80] Silva L Da. Clarke C. Lakhani S R. Demystifying basal-like breast carcinomas. *J. Clin. Pathol.* 2007;60;1328-1332
- [81] Livasy CA, Karaca G, Nanda R et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 2006;19(2):264-71.
- [82] Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ et al. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2005;7(4):143-8.
- [83] Matos I, Dufloth R, Alvarenga M et al. P63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch* 2005;447(4):688-94.
- [84] Haffty BG, Yang Q, Reiss M, Kearney T, Higgins SA, Weidhaas J, et al. Locoregional relapse and distant metastasis in conservatively managed triple negative early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5652–7.

- [85] Rouzier R. Perou CM. Symmans WF et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. Clin Cancer Res 2005;11(16):5678-85.
- [86] Aleix Prat¹, Joel S Parker, Olga Karginova. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. Breast Cancer Research 2010, 12:R68
- [87] William D. Foulkes, Ian E. Smith, Jorge S. Reis-Filho. Triple-Negative Breast Cancer. N Engl J Med 2010;363:1938-48.
- [88] Guillaume Banneau, Mickaël Guedj, Gaëtan MacGrogan. Molecular apocrine differentiation is a common feature of breast cancer in patients with germline PTEN mutations. Breast Cancer Research 2010, 12:R63
- [89] Jadwiga R. Gul S. Franak B. Normand A. Ronenn R. Peter K. John P. Convergent random forest predictor: Methodology for predicting drug response from genome-scale data applied to anti-TNF response. Genomics 94 (2009) 423–432