

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



**Corrélation entre les aspects morphologiques et moléculaires du cancer du sein : expérience du service d'anatomo-pathologique au CHU HASSAN II
DE FES**

MEMOIRE PRESENTEE PAR :
Docteur LAMCHAHAB MERYEM

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALISTE EN MEDECINE
Option : Anatomie Pathologique

Sous la direction de :
Professeur HINDE EL FATEMI

Session Novembre 2014

**CORRELATION ENTRE LES
ASPECTS
MORPHOLOGIQUES ET
MOLECULAIRE DU CANCER DU
SEIN**

PLAN

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE :

A – LES ASPCTES ANATOMOPATHOLOGIQUES DU CANCER DU SEIN

I. Les aspects macroscopiques

1-1- Généralités

1-2- La biopsie

1-3- Exérèse partielle d'un cancer infiltrant

1-4- Mastectomie

1-5- Curage axillaire

II. Les aspects histologiques

1. Classification OMS 2012

2. Néoplasies mammaires in situ

2-1- Les proliférations de type canalaire

2-2- Les proliférations de type lobulaire

3. Carcinome infiltrant de type non spécifique

4. Carcinome lobulaire infiltrant

5. Carcinome tubuleux et cribriforme

6. Carcinome à différenciation médullaire

7. Carcinome mucineux

8. Carcinome adénoïde kystique ou cylindrome

9. Carcinome inflammatoire

III. Les facteurs histopronostiques du cancer du sein

- 1- L'envahissement des ganglions axillaires
- 2- La taille tumorale
- 3- Le type histologique
- 4- Le grade histologique
- 5- Les emboles vasculaires péri tumoraux

B- CLASSIFICATION MOLECULAIRE DU CANCER DU SEIN

DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE

I- MATERIELS

II- METHODES

- 1- Fiche d'exploitation
- 2- Etude technique et immunohistochimique
 - 3-1- L'obtention des coupes et la coloration standard
 - 3-2- L'étude immunohistochimique
- 3- Classification histologique
- 4- Saisie et analyse des données

III- RESULTATS

TROISIEME PARTIE : DISCUSSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES

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. La stratégie thérapeutique actuelle est guidée par l'utilisation de la classification clinique et anatomopathologique.

Actuellement il bénéficie d'un ciblage thérapeutique avec les récepteurs hormonaux (RH) et l'HER2. La classification anatomoclinique utilisée pour optimiser la thérapeutique est prise en défaut dans un certain nombre de cas, ce qui est source de surtraitements ou de traitements inappropriés. L'étude des altérations génomiques des cellules tumorales a mis en évidence leur relation avec le pronostic et l'efficacité des traitements. La classification moléculaire qui en découle a permis l'émergence de nombreux tests diagnostiques utilisant des approches technologiques et cliniques très différentes qui devraient permettre de mieux classer les tumeurs pour aboutir à une thérapie personnalisée.

Notre étude consiste à étudier l'évolution de 631 patientes atteintes de cancer du sein colligés au service d'anatomie pathologique entre 2008 et 2014.

Le but de cette étude est :

- D'établir une corrélation entre les aspects morphologiques et moléculaire du cancer du sein.
- Et de déterminer les facteurs influençant le pronostic et la survie de ces patientes.

A– LES ASPECTS ANATOMOPATHOLOGIQUES DU

CANCER DU SEIN

I. Les aspects macroscopiques

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.

1.1 – La biopsie:

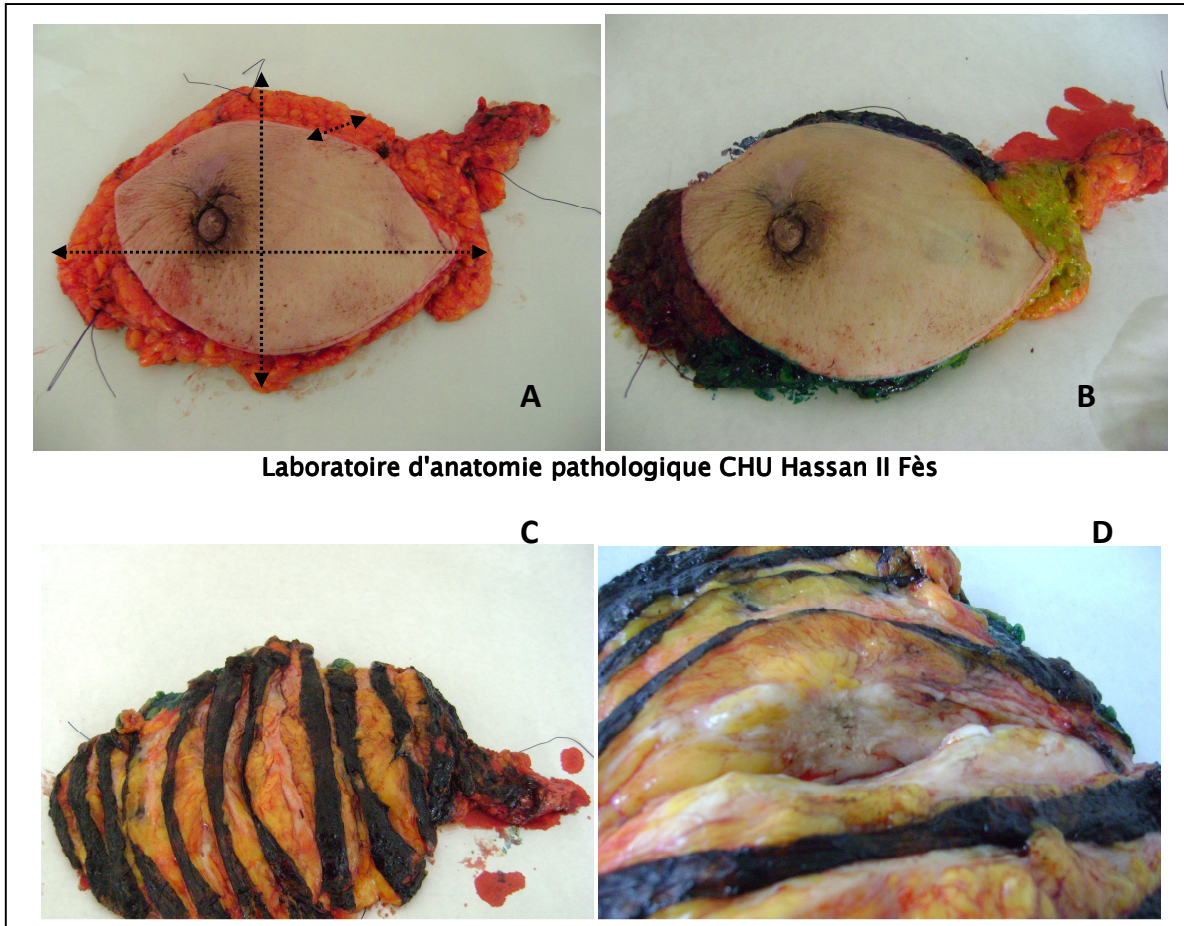
Les fragments sont mesurés et examinés en totalité.

1.2– 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.

2.2- Mastectomie



Laboratoire d'anatomie pathologique CHU Hassan II Fès

Figure 1 : 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

D: analyse de la pièce par la vue et le toucher, montrant une tumeur blanchâtre dure et spiculée

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-mammelonnaire parallèle au plan cutané.

Autres quadrants: prélèvements systématiques.

2.3– 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.

II. Les aspects histologiques

1. La classification OMS 2012

La classification actuelle utilisée est celle de l'OMS 2012. 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) [2].

Tumeurs épithéliales malignes

Néoplasies mammaires in situ

- Néoplasies Mammaires Intra épithéliales de type Canalaire
- Néoplasies Mammaires Intra épithéliales de type Lobulaire

Carcinome infiltrant de type non spécifique (invasive carcinoma TNS = ductal carcinoma NST OMS2003)

- Carcinome de type mixte
- Carcinome pléomorphe
- Carcinome avec cellules géantes ostéoclastiques
- Carcinome avec aspects choriocarcinomateux
- Carcinome avec aspects mélanocytaires

Carcinome lobulaire infiltrant

Carcinome tubuleux et cribriforme

Carcinome à différenciation médullaire

Carcinome mucineux et carcinome à cellules en bague à chaton

Carcinome à différenciation neuroendocrine

Carcinome papillaire infiltrant

Carcinome micropapillaire infiltrant

Carcinome à différenciation apocrine

Tumeurs des glandes salivaires et des glandes annexielles

Carcinome métaplasique

- Carcinome métaplasique de type épithélial pur
 - Carcinome épidermoïde
 - Adénocarcinome à cellules fusiformes
 - Carcinome adénoquameux de bas grade
 - Carcinome métaplasique fibromatose-like
- Carcinome métaplasique avec différenciation mésenchymateuse

Carcinome adénoïde kystique

Carcinome mucoépidermoïde

Carcinome polymorphe

Carcinome à cellules acineuses

Carcinome à cellules claires (riches en glycogène)

Carcinome à cellules riches en lipides

Carcinome sébacé

Carcinome sécrétant

Carcinome oncocytique
Carcinome inflammatoire
Carcinome bilatéral et non synchrone
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

Tableau 1: classification des tumeurs mammaires selon l'OMS 2012 [2]

2. Néoplasies mammaires in situ

2-1 – Les proliférations de type canalaire

❖ La Métaplasie Cyndrique Atypique (MCA)

La MCA correspond à un ensemble d'anomalies morphologiques du revêtement épithélial des lobules mammaires, dont les acini sont plus ou moins 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 [2-3].

❖ 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 [2-3].

❖ 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 [3].

2-2- 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 [4].

3. Carcinome 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 [2].

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 [3].

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 [2].

Histologiquement, 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.

4. Carcinome lobulaire infiltrant

C'est un carcinome invasif représentant 5 à 15 % des cancers [1].

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 [3].

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 [2].

5. Carcinome tubuleux et cribriforme

C'est un type spécial de carcinomes mammaires, qui se caractérise par un pronostic favorable. Il est composé de structures tubulaires ou cribriformes, tapissées par une seule couche de cellules épithéliales. C'est une entité rare qui représente moins de 2 % des cancers du sein [2-3].

6. Carcinome à différenciation 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 [2-3].

Microscopiquement, 5 critères sont essentiels pour le diagnostic [2]:

- 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.

7. 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 [2-3].

8. 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 [2-3].

9. 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 [3].

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

III. Les facteurs histopronostiques du cancer du sein

1 – 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 [4]. 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+ [5–6].

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 [4].

Les 6^{èmes} 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 (pN1 mi) 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 pas de signes d'agressivité.

Les micrométastases ganglionnaires (pN1 mi)

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 classification TNM des tumeurs du sein [6] 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 $\leq 0,2$ mm visibles en histologie ou détectées par immunohistochimie, îlots cellulaires tumoraux ≤ 0.2 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 ≤ 2 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.

2– Taille tumorale

La taille tumorale, mesurée à l'examen macroscopique et/ou microscopique, constitue un facteur pronostique important [4]. 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 [3]. 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 [5].

La classification TNM 2002 [6] 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 $0,1 \text{ cm} < T \leq 0,5$ cm dans sa plus grande dimension

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

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

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

pT3 Tumeur > 5 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.

3- 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 – [4].

Le "grading" de Scarff Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis (grade de Nottingham) est actuellement le plus utilisé en Europe [8]. 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.

- **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.

4. L'activité mitotique

Depuis 1985, au moins 9 études pronostiques portant sur plus de 3 000 femmes présentant un cancer infiltrant du sein opérable d'emblée ont démontré que la détermination de l'activité mitotique était statistiquement corrélée à la survie sans rechute ou à la survie globale chez des patientes N+ ou N-. L'activité mitotique était un facteur pronostique indépendant des autres facteurs tels que le statut des ganglions axillaires, la taille, le grade histologique.

L'activité mitotique prise isolément ou intégrée dans le grading SBR est un facteur pronostique déterminant pour le cancer infiltrant du sein. Ces dernières années, d'importants efforts ont été entrepris pour standardiser la technique de comptage des mitoses. Il persiste néanmoins un manque de consensus sur les seuils permettant de séparer les patientes en groupes de bon ou de mauvais pronostic en fonction du nombre de mitoses comptées.

A noter que plusieurs études récentes ont démontré que l'index mitotique était également un facteur prédictif important de réponse à la chimiothérapie, en situation adjuvante comme en situation néo adjuvante [6].

5– Le type histologique

Certains types histologiques de carcinomes infiltrants du sein ont fait la preuve de leur bon pronostic, tels les carcinomes tubuleux, mucineux, adénoïde kystique, papillaire, et cribriforme [9]. Les carcinomes lobulaires infiltrants ont globalement le même pronostic que les carcinomes infiltrants SAI., mais il existe des différences suivant les variantes morphologiques des CLI.

6– 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 [7].

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 emboles des phénomènes de rétraction artéfactuelle souvent observés dans les CIC (particulièrement dans la variante micropapillaire) et les CCI.
- On recherche les emboles dans le tissu mammaire adjacent à la tumeur, en bordure ou un peu plus à distance, mais pas dans la tumeur elle-même.
- Les emboles sont représentés par des agrégats de cellules carcinomateuses flottant dans la lumière des vaisseaux. On ne prend en compte que les images évidentes.

B– LA CLASSIFICATION MOLECULAIRE 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 [3]:

- 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.

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

Sous type moléculaire	Critères utilisés dans cette étude
Luminal A	ER (+) et Her-2 (-) et Ki67<20%
Luminal B	ER (+) et Her-2 (+) ou ER (+), Her-2 (-) et Ki67>20%
Her-2	ER (-) et Her-2 (+)
Basal	ER (-) et Her-2 (-)

Tableau 2 : critères utilisés pour la classification moléculaire du cancer du sein [3]

1 – Altérations génétiques et somatiques dans le cancer du sein

1-1 Méthode d'étude des altérations somatiques

Plusieurs méthodes sont utilisées pour détecter les anomalies génétiques observées dans les cancers du sein :

- Mesure du contenu en ADN
- Analyse cytogénétique
- Hybridation in situ
- Analyse moléculaire

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 [10]
- 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 [11]. 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 [9].

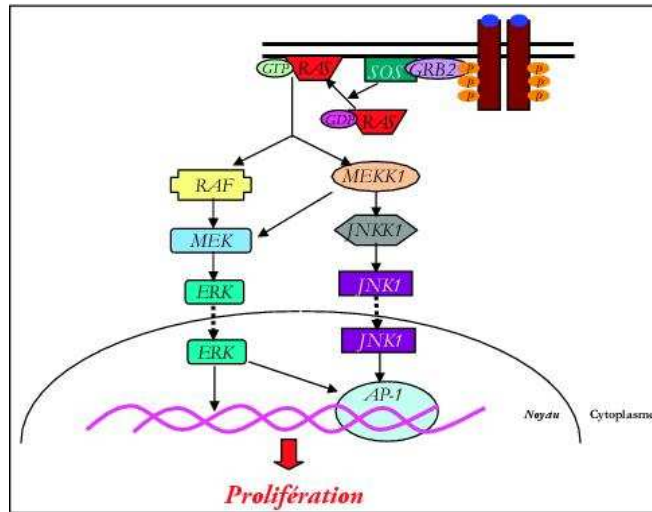


Figure 2 : voie de signalisation de l'Her-2

- 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) [9].

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 [12].
- Le gène TP53 localisé sur le chromosome 17p [16-17]. 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 [18].
- Le gène ATM, localisé sur le chromosome 11q22-23 [19].

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 [9].

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 « tissu microarrays » (TMA) permet d'établir 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).

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 [20–21–22–23].

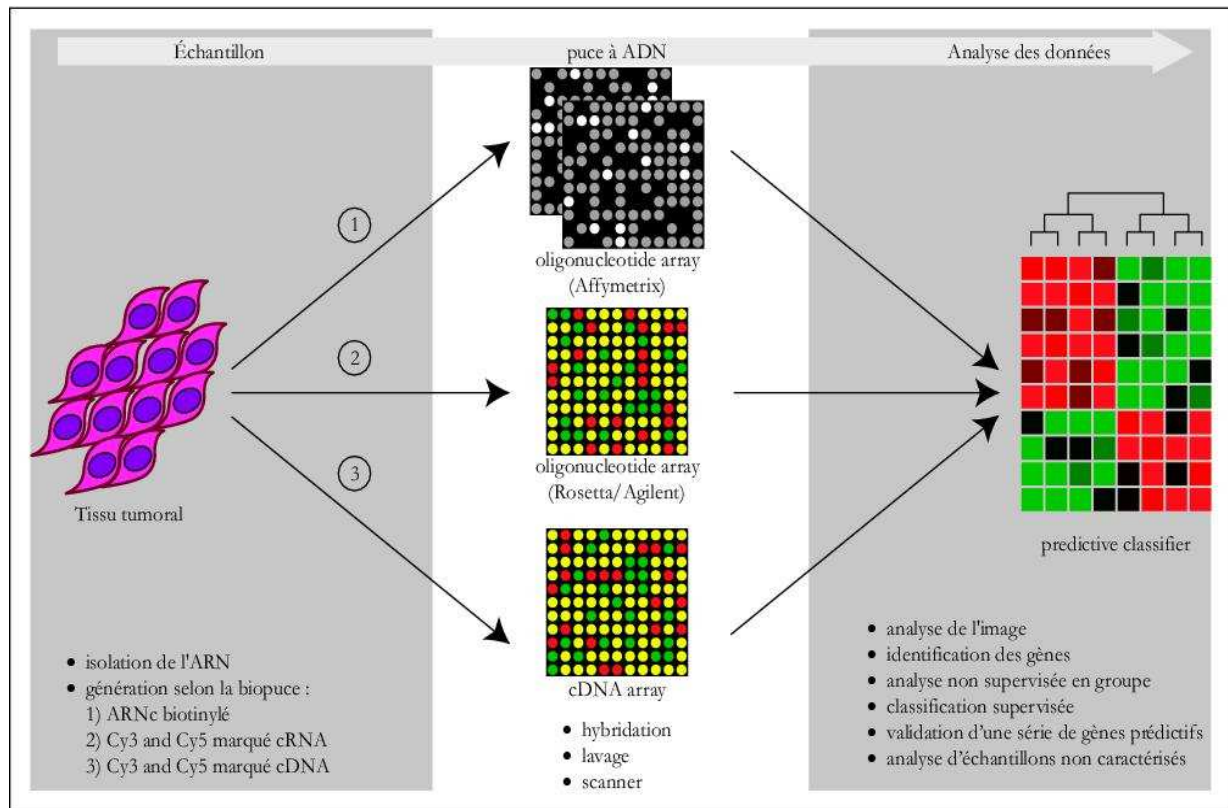


Figure 3 : vue schématique des différentes étapes d'analyse des cellules tumorales par les biopuces d'expression. Le marquage de la cible diffère selon le type de biopuce utilisé tandis que l'analyse des résultats d'hybridation n'est pas spécifique d'une méthode donnée.

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).

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) [26]. 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 [26]. Cela permet de confirmer en partie la réalité phénotypique des résultats des biopuces et d'appréhender la diversité biologique pour une même tumeur.

La définition de sous-groupes de tumeurs fondée sur les profils d'expression génique de plusieurs centaines de gènes a utilisée entre 496 et 534 gènes, a documentée la possibilité de séparer des tumeurs RE+ et RE- et a établi quatre groupes de tumeurs du sein : basal-like, ERBB2 surexprimé, normal-like et luminal/epithelial RE+ [30]. Utilisant ainsi de nouvelles méthodes statistiques, précisant 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 [31]. 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 [32].

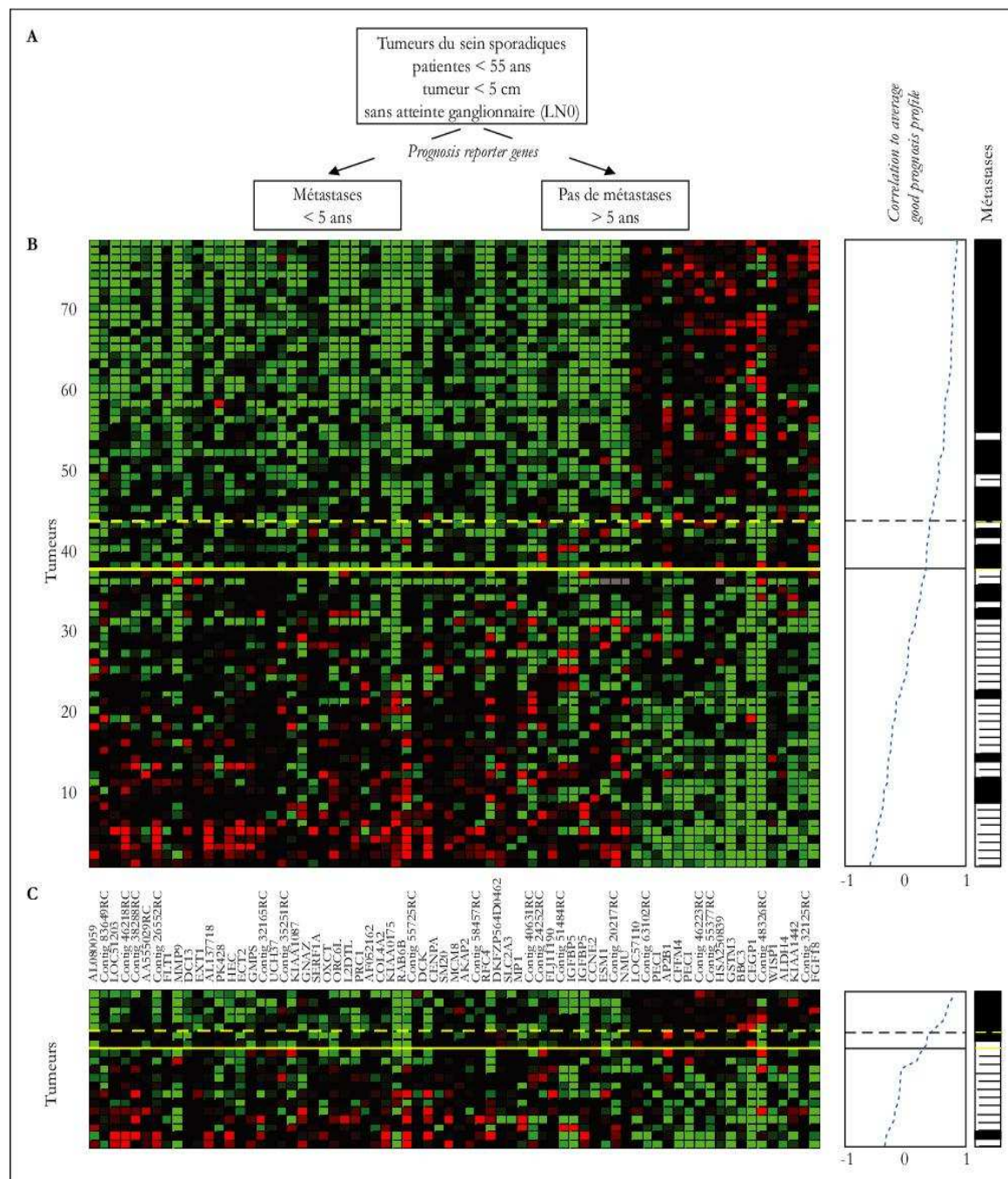


Figure 4 : étude de la corrélation entre le profil génomique de 78 cas de cancer du sein et leur potentiel métastatique: les tumeurs exprimant certains gènes "d'agressivité" comme FGF sont associées à un risque métastatique plus important [33]

MATERIELS ET METHODES

I- Matériels :

C'est une étude rétrospective 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 histologiquement au service d'Anatomopathologie entre le 1er Janvier 2008 et le 30 Mars 2014.

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.
- La survie des malades a été recueillie à partir des données de l'exploration clinique et paraclinique notée sur son dossier médical.

2- Etape technique et immunohistochimique :

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

2.1 – Obtention des coupes et coloration standard

- ✓ Fixation par le formol tamponé à 10%.
- ✓ Déshydratation
- ✓ Inclusion en paraffine chauffée
- ✓ Refroidissement :
- ✓ Réalisation de coupes
- ✓ Réhydratation
- ✓ La coloration standard des coupes utilisée est Hématéine–Eosine–Safran (HES)

2.2– 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)

3– 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.

4 – Saisie et d'analyse des données :

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.

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.

Une analyse des données de la survie sans métastases a été réalisée pour rechercher l'apport pronostique des différents facteurs histopronostiques par rapport à la survie de la population de notre étude.

Nous avons utilisé les tests paramétriques (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 SPSS 18 pour Windows 7.

La survie sans métastase a été calculé par la méthode de Kaplan–Meier

RESULTATS

I- Caractéristiques épidémiologiques de la population :

Dans notre étude, on a noté 631 cas de carcinomes mammaires au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Hassan II de Fès confirmés par étude immunohistochimique pour établir la classification moléculaire entre le 1^{er} Janvier 2008 et le 30 Mars 2014.

1- Répartition selon l'âge

L'âge moyen était de 48 ans avec des extrêmes de 22 à 99 ans. Seulement 12.4% des femmes jeunes de moins de 35 ans sont atteintes de cancer de sein dans notre étude.

Age	Effectifs	Pourcentage
<35 ans	75	12,4%
>35 ans	532	87,6%

TABLEAU 3 : répartition des tumeurs mammaires selon l'âge

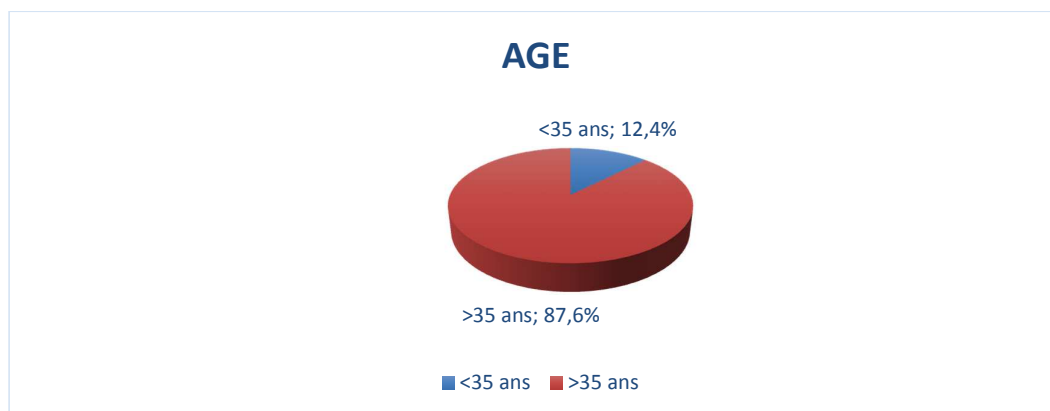


Figure 5 : répartition des tumeurs mammaires selon l'âge

2- Type de prélèvement

42.7% des diagnostics a porté sur des biopsies, suivis par pièces de mastectomie avec curage ganglionnaire dans 39.6 % des cas.

La tumorectomie était réalisée dans 12.7 % des cas.

La mastectomie seule a été réalisée dans 1.6% des cas.

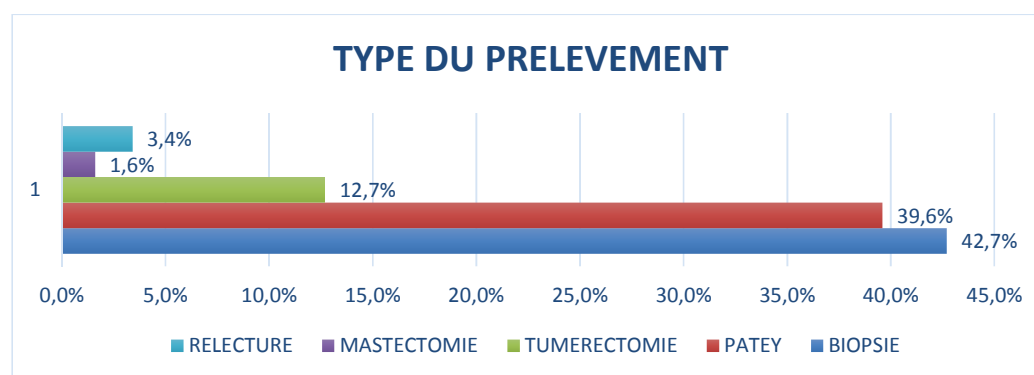


Figure 6 : répartition des tumeurs mammaires selon le type de prélèvement

II- Caractéristiques morphologiques de la population :

1- Type histologique :

Sur le plan histologique, le carcinome canalaire infiltrant était prédominant représentant 89.1 % des cas, suivis par le carcinome lobulaire infiltrant qui représentait 4.9 % des cas. Le carcinome métaplasique était présent dans 2.3 % des cas et le carcinome micropapillaire infiltrant dans 1.9 % des cas. Le reste des tumeurs était représenté par des cas rares :

Carcinome mucineux : 1 % des cas.

Carcinome papillaire : 0.9 % des cas.

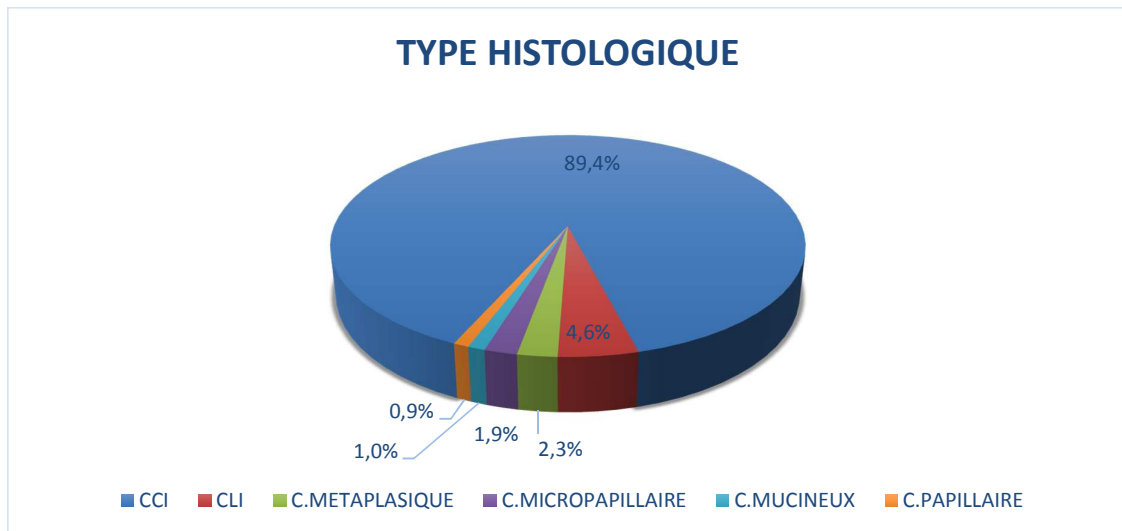


Figure 7 : répartition des tumeurs mammaires selon le type histologique

2- Le grade SBR:

Selon la présente série, 30.6 % des cas étaient de grade III.

Les tumeurs de grade II étaient majoritaires, ils représentaient 54.3 % des cas.

Les tumeurs de grade I ne représentaient que 15.2 % des cas.

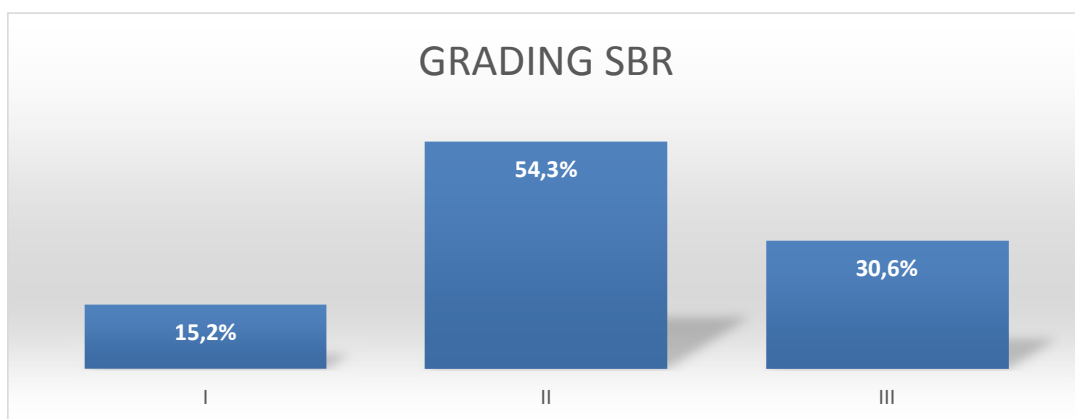


Figure 8 : répartition des tumeurs mammaires selon le grade SBR

3- La taille TNM:

Dans cette étude, on a noté un pourcentage élevé des tumeurs classées en T2 qui représentait 48.2 %, suivi par les tumeurs classées en T1 représentant 27.3 %. Les classes T3 et T4 viennent en troisième position avec un taux de 13.9 % et 10.6 % respectivement.

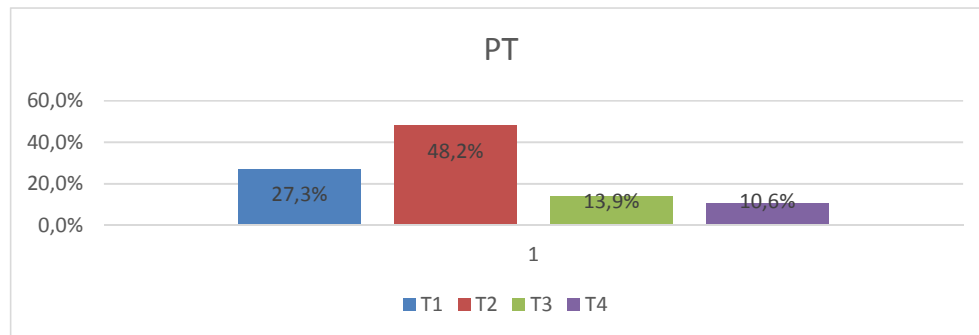


Figure 9 : répartition des tumeurs mammaires selon la taille tumorale

4- L'envahissement ganglionnaire:

33.4 % des patientes avaient des ganglions non envahis. Les métastases ganglionnaires étaient classées en N1 chez la majorité des patientes, soit 42.2 % des cas. La classe N2 est retrouvée chez 16.4 % des cas. La classe N3 ne représente que 7.9 % des curages ganglionnaires réalisés.

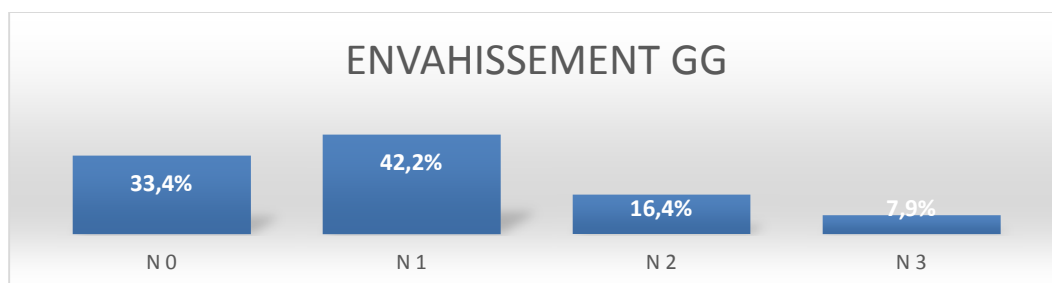


Figure 10 : répartition des tumeurs mammaires selon l'envahissement ganglionnaire

5– Les embolies vasculaires

Les embolies vasculaires péri-tumorales étaient présentes dans 30.5% des cas.

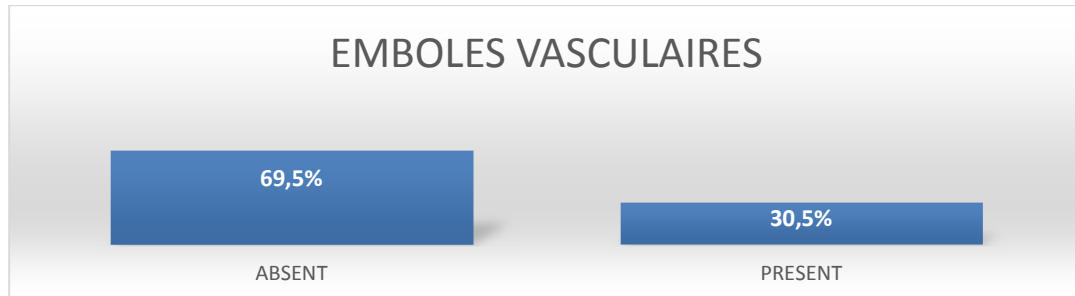


Figure 11 : répartition des tumeurs mammaires selon les embolies vasculaires

6– 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 70.6 % des cas contre 71.7 % pour les récepteurs progestatifs.

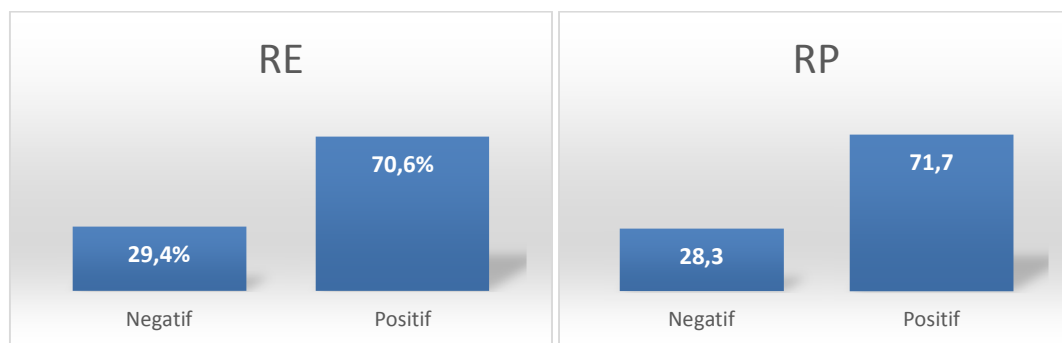


Figure 12 : répartition des tumeurs mammaires selon le profil des récepteurs hormonaux

En ce qui concerne l'Her2, il est positif dans 23.9% des cas (score 3+, ou score 2+ avec une étude FISH positive), et il est négatif dans 72.5 % des cas.

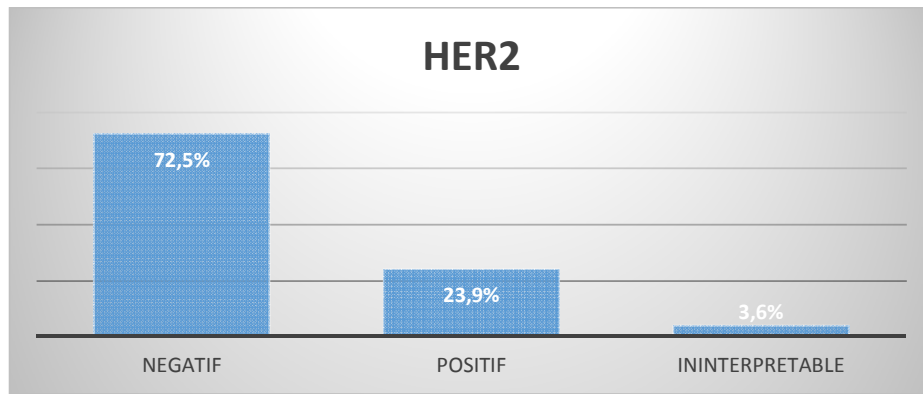


Figure 13 : répartition des cas du cancer du sein selon les résultats du test Her-2

III- Classification moléculaire du cancer du sein

Des 631 tumeurs analysées, 134 (21.2 %) étaient classées de type luminal A, 353 (56%) de type luminal B, 57(9%) de type Her-2, et 87 (13.8%) de type basal.

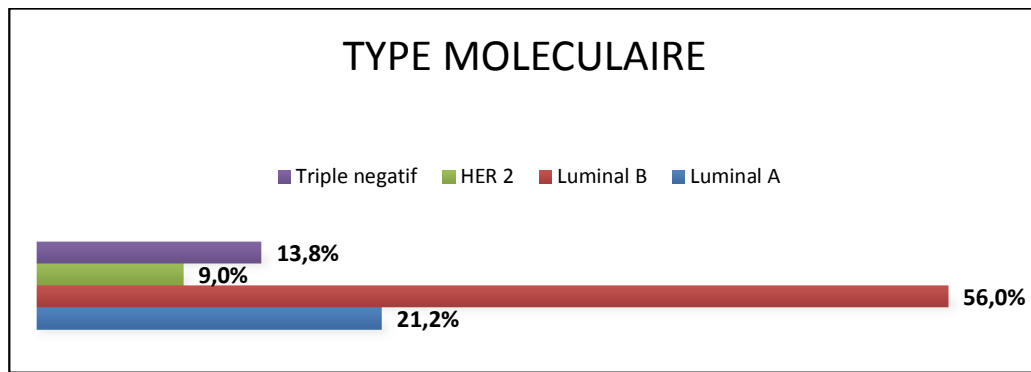


Figure 14 : répartition des cas du cancer du sein selon le type moléculaire

1 – Selon l'âge:

L'âge jeune des patientes (moins de 35 ans) est surtout observé dans le sous type luminal B et le sous type triple négatif.

Les sous types moléculaires du sein présentaient une différence significative selon l'âge du diagnostic, avec un $p=0,02$.

2– selon le type histologique

Quand ils étaient groupés selon le type histologique, les sous types moléculaires présentaient une différence significative ($p<0.0001$). 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.

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 luminales qui se caractérisaient par un bas grade SBR.

4– Selon la présence d'emboles vasculaires:

On n'a pas noté de différence significative entre les différents sous types moléculaires en ce qui concerne la présence d'emboles vasculaires ($p=0,13$). Le sous type Her2 représente le taux le plus élevé des emboles vasculaires dans notre série.

5– Selon la taille tumorale:

Les sous types moléculaires présentaient une différence significative selon la taille tumorale ($p=0,05$). Les tumeurs luminales sont caractérisées par une taille $< 2\text{cm}$ dans notre série.

6– Selon la présence de nécrose tumorale:

On a noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon la présence de nécrose tumorale ($p= 0,0001$). Les tumeurs basales et her2 positif se caractérisent par la présence de nécrose tumorale par rapport aux tumeurs luminales.

7– Selon l'envahissement ganglionnaire:

On n'a pas noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire ($p= 0,5$). Il est surtout observé dans les tumeurs luminales B et her2 positif.

8– Selon la présence de métastase à distance:

On n'a pas noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon la présence de métastase à distance ($p= 0.4$).

9– Selon la survenue de récurrence locale :

On a noté une différence significative entre les sous types moléculaires selon la survenue de récurrence locale ($p= 0,007$). Les tumeurs her2 sont les tumeurs les plus récidivantes dans notre série.

10– Selon le profil d'expression des récepteurs hormonaux

L'association sous types moléculaires et le profil d'expression des récepteurs hormonaux montre une différence significative ($p< 0.0001$) aussi bien pour les récepteurs œstrogéniques que pour les récepteurs progestatifs. Ils sont positifs dans les tumeurs luminales et négatifs dans les tumeurs basales et her2.

11 – Selon le profil d'expression de l'Her2

L'association sous types moléculaires et le profil d'expression de l'Her2 montre une différence significative ($p < 0.0001$).

12 – Selon l'index de prolifération tumorale (ki67)

L'association sous types moléculaires et l'index de prolifération tumorale évalué par le ki67 montre une différence significative ($p < 0.0001$). En effet, les tumeurs basales représentent un taux élevé (strictement supérieur à 40%) de l'index de prolifération (ki67).

13 – Selon le stade tumoral initial cTNM

L'association sous types moléculaires et la stadification clinique initiale (cTNM) montre une différence significative ($p = 0.031$). Les tumeurs lumineuses sont découvertes souvent à des stades cliniques élevés.

Caracteristiques %	Luminal A	Luminal B	Her 2	Triple negatif	p
AGE					
<35 ans	8,5	14,4	10,7	11,1	.02
>35 ans	91,5	85,6	89,3	88,9	
Type histologique					
CCI	85,8	91,2	94,7	84	<.000
LCI	9	4,5	0	1	
AUTRES	5,2	4,3	5,3	15	
Grading SBR					
I	38,2	10,3	5,3	5,9	<.000
II	54,2	59,7	52,6	28,2	
III	7,6	30	42,1	65,9	
Embols vasculaires					
Present	33,6	25,2	36,8	30	.135
Absent	66,4	74,8	63,2	70	
Taille umorale					
≤2cm	35,3	26,7	15,4	16	.05
>2cm	64,7	73,3	84,6	84	
Necrose tumorale					
Present	5,2	6	28	21,8	<.000
Absent	94,8	94	72	78,2	
Envahissement gg					
Present	66	71,5	65,2	56	.5
Absent	34	28,5	34,8	44	
Metastases à distance					
Present	33,3	42,6	44	35,7	.4
Absent	66,7	57,4	56	64,3	
Recidive locale					
Present	4,3	12,8	28	5,3	.007
Absent	95,7	87,2	72	94,7	
Recepteurs hormonaux					
RE					
Positif	99,2	89	0	0	<.000
Negatif	0,8	11	100	100	
RP					
Positif	88	95	0	0	<.000
Negatif	12	5	100	100	
HER2					
Positif	0	69,7	100	0	<.000
Negatif	100	25,1	0	100	
Ki67					
<40%	79,2	52,3	34	29,3	<.000
>40%	20,8	47,7	66	70,7	

Tableau 3 : Caractéristiques clinico-pathologiques des sous-types moléculaires du cancer du sein

IV- Evolution et survie des malades

1 – Survie globale

On a étudié l'évolution des malades de façon rétrospective sur toute la période étudiée.

La survie moyenne est de 1071 jours avec un intervalle de confiance à

95% entre 831 et 1311 jours .la survie sans métastase est de 56.3%. La survie moyenne et la survie sans métastase ont été étudiées par la méthode de Kaplan-Meier.

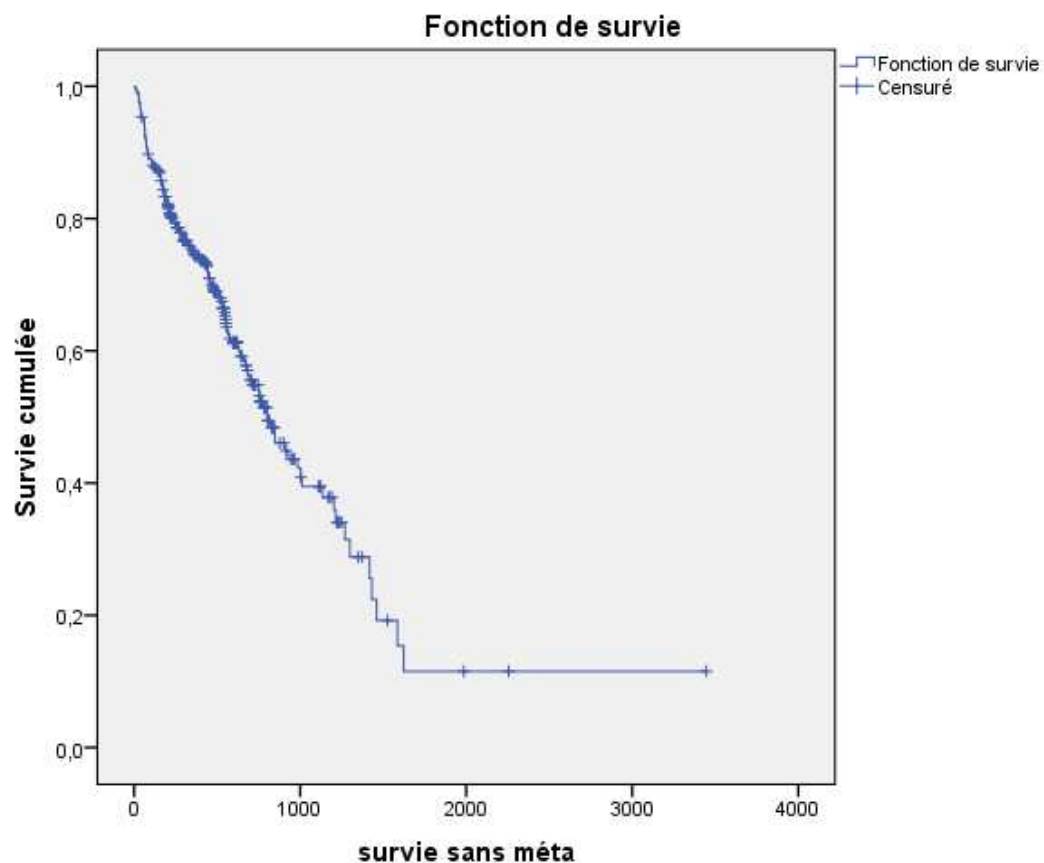


Figure 15 : survie globale des pat2ientes de notre série.

2– Facteurs prédictifs de la diffusion métastatique

2.1– Selon le traitement chirurgical reçu

On a noté la présence d'un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance du type de traitement chirurgical reçu (tumorectomie, patey, mastectomie) avec un $p= 0.0001$. les métastases sont plus importantes chez les patientes ayant reçu un traitement radical par rapport aux patientes ayant un traitement conservateur ou une mastectomie précédée d'un traitement adjuvant.

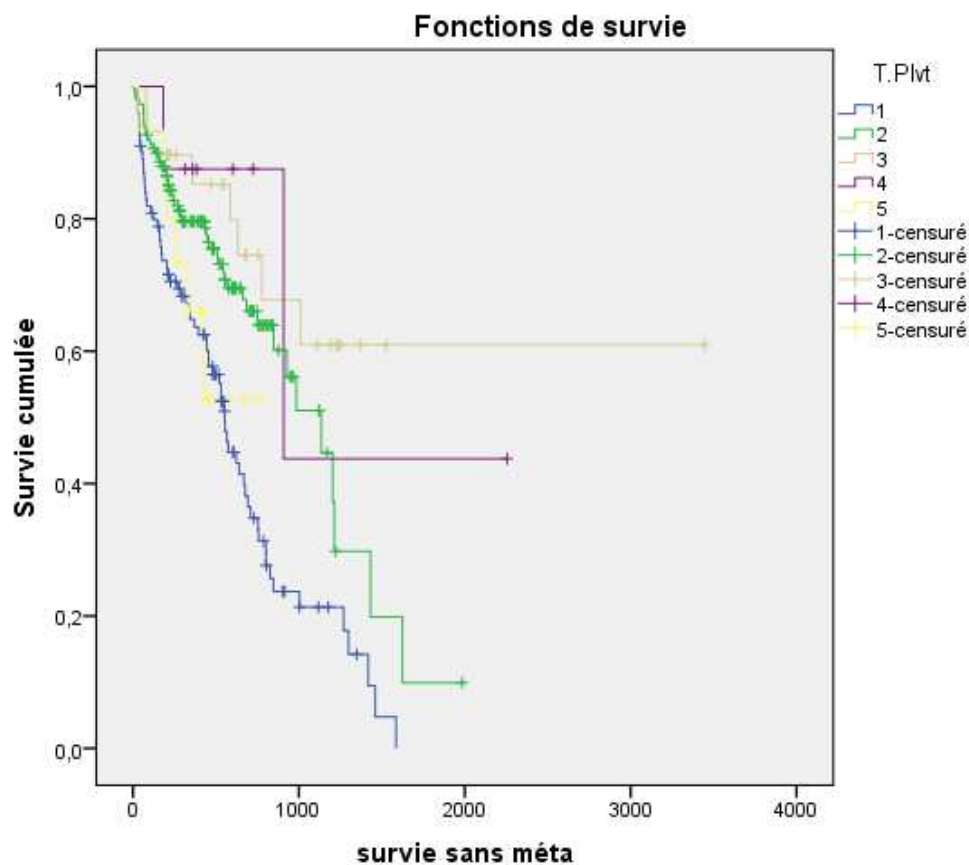


Figure 16 : survie sans métastase en fonction du type du traitement chirurgical reçu.

2.2– Selon la taille tumorale

On a noté la présence d'un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance de la taille tumorale pT ($p= 0.0001$). La survie sans métastase diminue de façon décroissante en passant de pT1 à pT4. En effet, plus la taille tumorale est importante plus la survie sans métastase diminue.

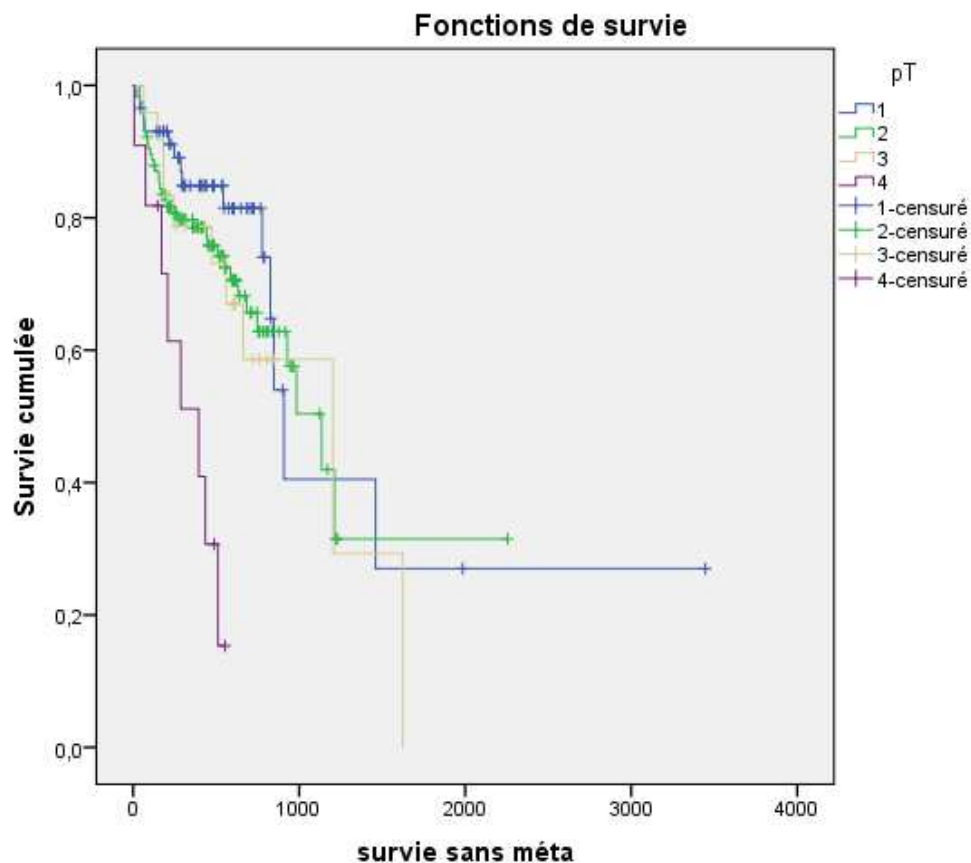


Figure 17 ; survie sans métastase en fonction de la taille tumorale.

2.3– Selon l’envahissement ganglionnaire

On a noté la présence d'un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance de l'envahissement ganglionnaire ($p=0.00001$). la survie sans métastase est diminuée pour les patientes présentant un envahissement ganglionnaire par rapport aux patientes sans envahissement ganglionnaire.

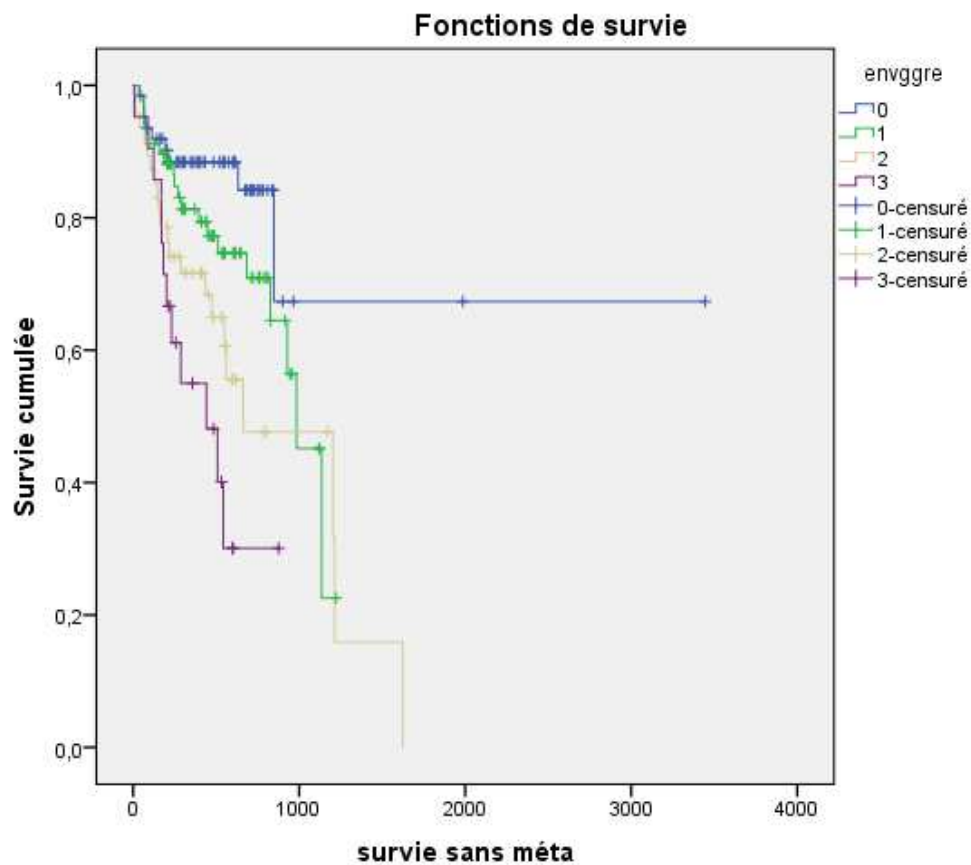


Figure 18 : survie sans métastase en fonction de l’envahissement ganglionnaire.

2.4– Selon le profil d'expression de récepteurs oestrogéniques

On a noté la présence d'un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance du profil de l'expression des récepteurs oestrogéniques ($p= 0.042$).

La survie sans métastase diminue chez les patientes ayant une tumeur n'exprimant pas les récepteurs oestrogéniques.

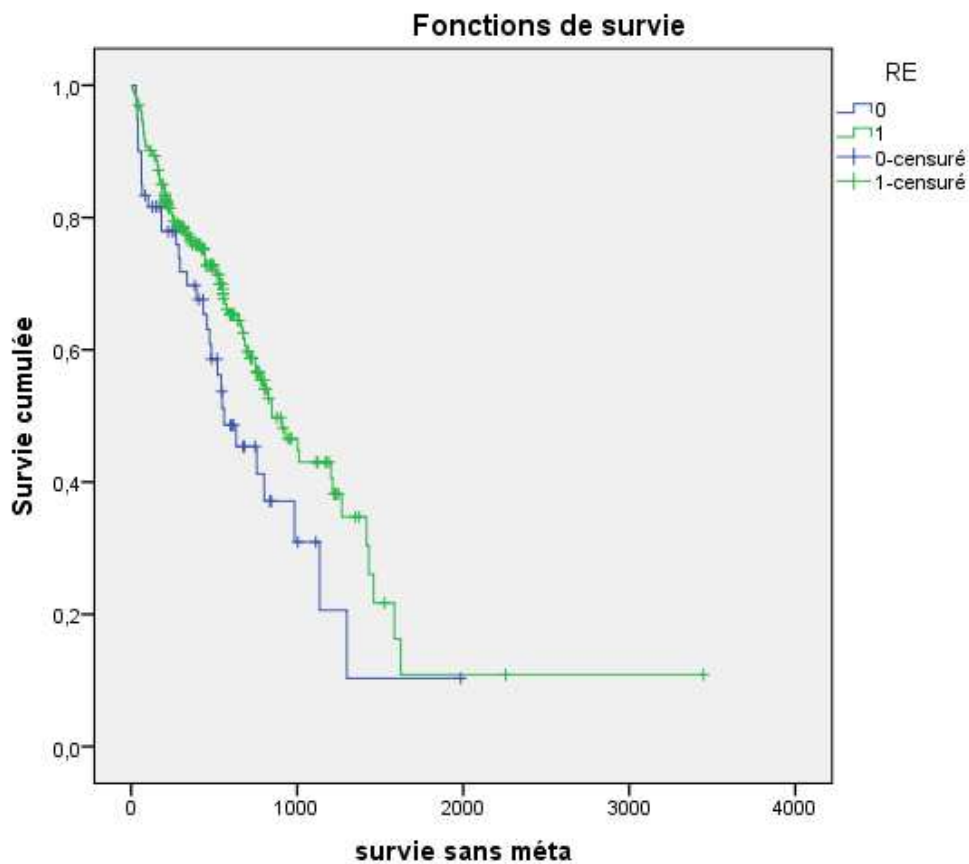


Figure 19 : survie sans métastase en fonction du profil d'expression des récepteurs oestrogéniques.

2.5– Selon le type moléculaire

On a noté un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance du type moléculaire ($p = 0.01$). La survie sans métastase est diminuée pour les tumeurs basales, les tumeurs her2, les tumeurs lumineales B par rapport aux tumeurs lumineales A. En effet, les tumeurs lumineales A sont de meilleur pronostic suivies des tumeurs lumineales B puis des tumeurs Her2 positifs. Les tumeurs basales sont de mauvais pronostic dans notre série.

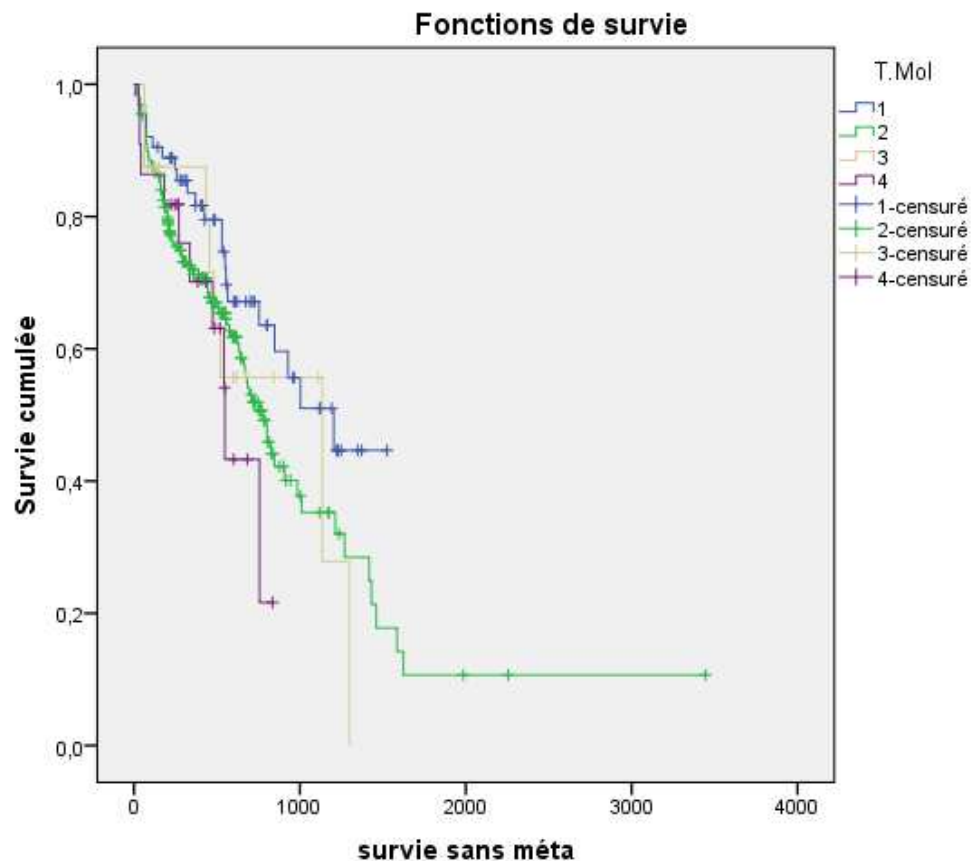


Figure 20 : survie sans métastase en fonction des sous-types moléculaires.

2.6– Selon le stade clinique initial cTNM

On a noté la présence d'un impact significatif sur la diffusion métastatique à distance du stade clinique initial cTNM ($p= 0.0001$). la survie sans métastase diminue considérablement en passant du stade I au stade IV selon le stade clinique cTNM.

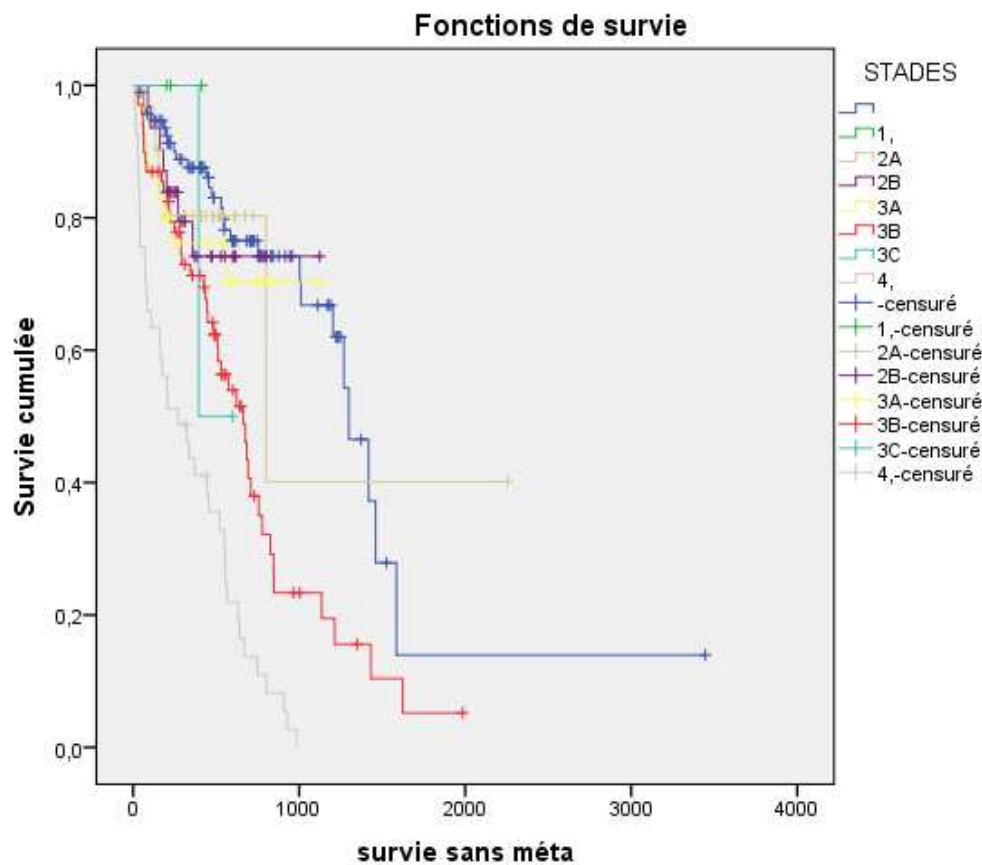


Figure 21 : survie sans métastase en fonction du stade TNM initial.

3– Analyse multivariée des facteurs prédictifs du cancer du sein

On a réalisé une analyse multivariée et a montré que : le type de prélèvement, l'envahissement ganglionnaire, le profil d'expression des récepteurs ostrogéniques, le type moléculaire ainsi que le stade clinique initial cTNM représentent des facteurs pronostiques dans notre série (p significatif).

Facteurs pronostiques	Valeur du p
Type de prélèvement	,073
Envahissement gg	,009
Profil RE	,059
Type moléculaire	,052
Stade cTNM	,087

Tableau 4 : facteurs prédictifs de notre série

DISCUSSION

I. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

1. Selon l'âge

Le cancer de sein est peu fréquent chez la femme jeune. En effet, les femmes de moins de 35 ans ne représentent que 2 à 25 ans de l'ensemble des femmes atteintes de cancer de sein selon les séries [34]. Ces taux sont spécialement élevés dans les pays de l'Afrique du Nord, ils sont de 11% en Tunisie, 24% en Algérie contre 12.4% dans notre série au Maroc [34].

AGE	Notre série	Ihemelandu et al. [35]	El hawary et al. [36]	Cheang et al. [37]	Maalej (N=1437) [38]	Ben ahmed (N=729) [39]
Age <35 ans (%)	12.4	4	14.6	7.1	10.2	–
Age médian	48 ans	-	50 ans	-	51 ans	50 ans

Tableau 5 : répartition globale en fonction de l'âge

2- Type de prélèvement :

Le diagnostic positif du cancer du sein repose sur la confirmation histologique réalisée sur biopsie. Le traitement chirurgical est une mastectomie avec curage0 ganglionnaire. L'indication d'une tumorectomie d'emblée associée à un examen extemporanée reste cependant limitée ce qui concorde avec les résultats de notre série.

II. CARACTERISTIQUES ANATOMOPATHOLOGIQUES DU

CANCER DU SEIN

1– Type histologique :

Sur le plan histologique, le carcinome canalaire infiltrant est le plus fréquent représentant 89.4%, ce qui est comparable avec les données de la littérature [35,36,37].

TYPE HISTOLOGIQUE	Notre étude	Ihemelandu et al.	El hawary et al.	Cheang et al.
CCI	89,1%	84,8	83,2	91,8
CLI	4,9%	9,3	9,1	7,5
Autres	6%	5,9	7,7	0,7

Tableau 6 : répartition globale en fonction du type histologique

2– Le grade SBR:

Les tumeurs de grade II étaient majoritaires, ils représentaient 54.3 % des cas ce qui concorde avec les données de la littérature [35,36,37].

SBR	Notre étude	Ihemelandu et al.	El hawary et al.	Cheang et al.
I	15,2%	10,32	12,47	51,4
II	54,3%	38,8	58	44
III	30,6%	50,9	29,6	4,6

Tableau 7 : répartition globale en fonction du grade SBR

3– La taille TNM:

Dans différentes séries, la taille tumorale est supérieure à 2cm. Ceci dit que la plupart des tumeurs mammaires est de découverte tardive et surtout dans les pays en voie de développement contrairement au pays où le dépistage des tumeurs mammaires par mammographie fait partie de leur politique sanitaire [35,36,37].

TAILLE (pT)	Notre étude	Ihemelandu et al.	El hawary et al.	Cheang et al.
T1	27,3%	34	29,6	54,5
T2	48,2%	52	59,5	44,6
T3	13,9%	14	10,9	0,9

Tableau 8 : répartition globale en fonction de la taille tumorale

4– L'envahissement ganglionnaire:

L'envahissement ganglionnaire prédomine dans notre série de même que la série de El hawary et al. [36].

ENVAHISSEMENT GG	Notre étude	El hawary et al.
ABSENT	33,6	32 ,1
PRESENT	65,4	67 ,9

Tableau 9 : répartition globale en fonction de l'envahissement ganglionnaire

5– Les embolies vasculaires

Les embolies vasculaires péri-tumoraux étaient présents dans 30.5% des cas. Notre étude présente un taux légèrement plus élevé que ceux de la littérature [36,37].

6– Profils d'expression des récepteurs hormonaux et de l'Her2:

Les récepteurs hormonaux sont exprimés dans la plupart des cas selon les séries (32,33) de même que pour l'Her2, il est souvent positif . Ce qui confirme la fréquence de sous types luminaux et la rareté des tumeurs basales. [37].

Notre étude présente des résultats similaires à ceux de la littérature.

III– Classification moléculaire du cancer du sein

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

D'après Carey et al. [40], la prévalence des sous types basal et luminal A était de 27 et 47% respectivement, versus 13,8 et 21.2% 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%).

Notre étude montre que le sous type luminal B est le sous type moléculaire le plus fréquent représentant 55.9% des cas, contrairement aux données de la littérature où on trouve le sous type luminal A (population Malaisienne, Américaine et du Suède) [41–42].

En effet, il y a une nette différence entre les populations arabes, dans l'Arabie Saoudite le sous type Her2 est le sous type prédominant suivi du sous type luminal B et le triple négatif et le sous type luminal A vient en dernière position. En Tunisie, le sous type luminal A est le plus fréquent suivi du triple négatif, puis le luminal B et l'Her2 [38–39].

	Luminal A	Luminal B	HER2	Basal
. Notre série (Maroc)	21.2 %	55.9 %	9%	13,8%
. Carey et al. (Etats Unis) [40]				
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) [43]	55,1 %	11,8 %	11,5 %	21,2 %
. Junichi et al. (Japon) [44]	63 %	20 %	7 %	8 %
. Munirah et al. (Malaisie) [42]	57,6 %	6,9 %	14,3 %	7,4 %
. Su et al. (Etats Unis) [45]	48.5 %	16.7 %	13.6 %	12.9 %
. Jonsson et al. (Suède) [41]	26 %	19 %	9 %	22 %
. Spitale et al. (Suisse) [46]	73,2 %	13.8 %	5,6 %	7,4 %

Tableau 10: répartition globale des différents sous types moléculaires en fonction de l'ethnie

Plusieurs études ont pu identifier plusieurs facteurs pronostiques dans le cancer du sein : l'âge, la taille tumorale, l'atteinte ganglionnaire, l'infiltration lymphovasculaire, le degré de différenciation selon Bloom (grade I à III), la présence des récepteurs hormonaux aux oestrogènes et à la progestérone, et la surexpression de HER-2. Les facteurs histo-pronostiques, en particulier l'hormonosensibilité et le statut HER-2 de la tumeur, sont devenus les déterminants de l'attitude thérapeutique au détriment de l'ancienne classification TNM (51). Ils permettent une approche individualisée dans le traitement du cancer du sein en sélectionnant le traitement le plus efficace correspondant à un type particulier de cancer mammaire.

Les corrélations réalisées dans notre série avec les sous types moléculaires ont permis de confirmer les différents facteurs histo-pronostiques : l'âge, le type histologique, la taille tumorale, le degré de différenciation selon Bloom (grade I à III), la présence des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone, et la

surexpression de HER-2, l'index de prolifération (ki67) et le stade clinique initial cTNM. (voir tableau)

caracteristiques %	Luminal A	Luminal B	Her 2	TN	P
AGE <35 Ans					
Notre serie	8,5	14,4	10,7	11,1	.02
Ihemelandu et al.	3,4	9,1	2,3	20,3	<.000
El hawary et al.	11,5	10,5	11,2	23,1	.05
Cheang et al.	5,4	9,7	9,5	19	
Type histologique: CCI					
Notre serie	85,8	91,2	94,7	84	<.000
Ihemelandu et al.	80,6	65,1	81,4	84,8	.117
El hawary et al.	82,3	76,3	91,1	83,3	.11
SBR III					
Notre serie	7,6	30	42,1	65,9	<.000
Ihemelandu et al.	32	56,5	71,9	78,9	<.000
El hawary et al.	18,6	21,1	26,7	51,3	<.000
Taille ≤2cm					
Notre serie	35,3	26,7	15,4	16	.05
Ihemelandu et al.	40,1	35,1	19,4	25	.128
El hawary et al.	33,6	34,2	28,9	21,8	.4
Necrose tumorale					
Notre serie	5,2	6	28	21,8	<.000
El hawary et al.	4,4	13,2	22,2	26,9	<.000
Envahissement GG					
Notre serie	66	71,5	65,2	56	.5
Cheang et al.	38,6	50	59,9	-	-
Metastase a distance					
Notre serie	33,3	42,6	44	35,7	.4
El hawary et al.	54,3	18,8	46,9	42,2	.009
Recepteurs hormonaux					
RE+					
Notre serie	99,2	89	0	0	<.000
Cheang et al.	76,7	97,3	-	-	-
RP+					
Notre serie	88	95,1	0	0	<.000
Cheang et al.	68	61,7	-	-	-

Tableau 11 : Les caractéristiques clinicomorphologiques comparés avec les données de la littérature.

IV– Evolution et survie

Des études rétrospectives récentes se sont intéressées aux valeurs pronostiques locorégionale et prédictive des sous-types moléculaires dans le cancer du sein [52–53]. Malgré des résultats contradictoires, un certain nombre suggèrent un risque accru de rechute locorégionale pour les sous-types HER2+, triple négatif (et plus particulièrement basal-like, c'est-à-dire exprimant les marqueurs basaux tels que les cytokératines 5 et 6 [CK5/6] et l'épidermal growth factor receptor [EGFR]) et luminal B. La quasi-totalité des études s'accordent sur le pronostic très favorable des cancers luminaux A. Ces différentes séries ont été reprises dans une récente revue de la littérature qui confirme ces tendances [54].

La place de la nouvelle classification moléculaire dans la prédiction du risque de diffusion métastatique est étroitement liée à l'efficacité des traitements systémiques (à condition de le recevoir de façon optimale) et de ce fait à la prédiction de réponse. Nguyen et al. [20] ont montré, en analyse multifactorielle, l'impact significatif sur la diffusion métastatique à distance, des phénotypes luminal B (hazard ratio : 2,9 ; $p = 0,007$) et basal-like (hazard ratio : 2,3 ; $p = 0,035$). Or, l'interprétation des résultats en ce qui concerne le type luminal B, défini comme avec des récepteurs hormonaux et un statut HER2+, s'avère délicate puisque ces lésions sont reconnues pour leur sensibilité au trastuzumab que les patientes n'ont pas reçu durant la période considérée. De plus, le trastuzumab administré en situation adjuvante réduit l'incidence de métastases et améliore la probabilité de survie de 46 à 50% dans les populations de patientes atteintes de tumeur exprimant HER2 en général [55,56].

Pour ce qui est du phénotype triples négatifs/basal-likes comparé aux autres phénotypes, c'est le délai de survenue des métastases qui semble être plus court. Ces phénotypes sont retrouvés comme des facteurs indépendants de risque de survenue précoce de métastases à distance en analyse multifactorielle [57,58].

Actuellement, des signatures géniques pronostiques et prédictives évaluent un ensemble de gènes situés dans les voies des récepteurs aux estrogènes (Oncotype Dx), de la prolifération (grade génomique). Ainsi, le test des 21 gènes ou oncotype Dx a pu être utilisé pour une stratification du risque de rechutes locale et métastatique [59]. Avec un screening de profils géniques ayant démontré une valeur prédictive pour la survenue de métastases, Nuyten et al. [60] ont rapporté, en plus de la taille tumorale, l'âge et l'effet-dose de la radiothérapie, l'impact d'une signature génique sur la rechute locale.

En analyse uni variée dans notre série plusieurs facteurs prédictifs de la diffusion métastatique ont pu être mis en évidence: le traitement chirurgical reçu, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, le profil d'expression des récepteurs oestrogéniques, le type moléculaire, et le stade clinique initial cTNM.

Egalement en analyse multivariée, les facteurs pronostiques du cancer du sein dans notre série sont : le type de prélèvement, l'envahissement ganglionnaire, le profil d'expression des récepteurs oestrogéniques, le type moléculaire ainsi que le stade clinique initial cTNM.

ETUDE	PERIODE DE TTT	NOMBRE DE PATIENTES	FACTEURS PRONOSTIQUES EN ANALYSE MULTIVARIEE
NOTRE ETUDE	2008-2014	631	Type de prélèvement Tumeur N + Expression positive des RO Sous types moléculaires Stade clinique CTNM
Ihemelandu et al. 2008 [34]	1998-2005	372	Taille tumorale Tranche de section atteinte
Gabos et al. 2010 [61]	1998-2003	618	Taille tumorale Tumeur N + Sous types moléculaires
Voduc et al. 2010 [62]	1986-1992	2000	Taille tumorale Tumeur de grade 3 Tumeur N + Sous types moléculaires
Millar et al. 2009 [63]		498	Tumeur de grade 3 Tumeur N + Carcinome canalaire in situ extensif
Sanpaolo et al. 2011 [64]	2000-2008	774	Age Taille tumorale Marges ou limites positives Tumeur de grade 3
Selz et al. 2014 [65]	2001-2008	699	KI 67 >40 (P<0.0215)

Tableau 12 : Facteurs pronostiques en analyse multivariée avec revue de la littérature

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

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.

Les cancers du sein peuvent ainsi être classés en différents sous types, 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.

Cette étude a permis de ressortir le sous type luminal B comme un sous type prédominant, ayant des caractéristiques histopathologiques plus agressives en se rapportant au même sous type dans d'autres séries de la littérature.

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.

Actuellement, l'un des futurs défis est de mettre en évidence des facteurs prédictifs pour identifier des patientes qui peuvent bénéficier de traitements de plus en plus adaptés.

Dans notre série plusieurs facteurs prédictifs de la diffusion métastatique ont pu être mis en évidence (le traitement chirurgical reçu, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, le profil d'expression des récepteurs ostrogéniques, le type moléculaire, et le stade clinique initial cTNM).

On a soulevé également des facteurs pronostiques du cancer du sein en analyse multivariée (le type de prélèvement, l'envahissement ganglionnaire, le profil d'expression des récepteurs oestrogéniques, le type moléculaire ainsi que le stade clinique initial cTNM).

Cependant, le bénéfice de traitements adjuvants pour nos patientes devra faire l'objet d'une étude prospective ultérieure.

Les traitements adjuvants doivent évoluer vers une adaptation fine aux profils des patientes, tenant compte des acquis et des nouvelles données biologiques tumorales afin de permettre des thérapies de plus en plus ciblées.

REFERENCES

- [1] Tavassoli F.A. Correlation between gene expression profiling-based molecular and morphologic classification of breast cancer. *Int J Surg Pathol* 2010;18:167S–169S.
- [2] WHO Pathology and genetics. Tumors of the breast and femal genital organs. 2012.
- [3] 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.
- [4] Carter CL et al. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24740 breast cancer cases. *Cancer* 1989, 63 : 181–187
- [5] Singletary SE, et al. Revision of the american joint committee on cancer staging system for breast cancer. *J Clin Oncol* 2002 ;20 : 3628–36
- [6] EPU sein. Casablanca Maroc 2011.
- [7] 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.
- [8] 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
- [9] Tirkkonen M, Tanner M, Karhu R, Kallioniemi A, Isola J, Kallionier OP. Molecular cytogenetics of primary breast cancer by CGH. *Genes Chromosomes Cancer* 1998;2:177–84.
- [10] Lacave R, Larsen C–J, Robert J. *Cancerologie Fondamentale*. John Libbey Eurotext, 2005 p197
- [11] 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.

- [12] 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.
- [13] Agnès Chompret¹, Catherine Noguès², Dominique Stoppa-Lyonnet³. Consultation d'oncogénétique pour le cancer du sein. Presse Med. 2007; 36: 357-63
- [14] Monteiro AN. BRCA1: the enigma of tissue specific tumor development. Trends Genet. 2003; 6: 312-5.
- [15] 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
- [16] Prives C, Hall PA. The p53 pathway. J Pathol 1999 ; 187 : 112-26.
- [17] 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
- [18] Soussi T, Dehouche K, Bérout C. L'analyse des mutations du gène p53 dans les cancers humains : le lien entre l'épidémiologie et la carcinogenèse. Médecine/sciences 2000 ; 16 : 1387-96
- [19] 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.
- [20] Wildsmith SE, Elcock FJ. Microarrays under the microscope. Mol Pathol 2001;54:8-16.
- [21] Bertucci F, et al. DNA arrays: technological aspects and applications. Bull Cancer 2001 ; 88 : 243-52.
- [22] SÉVENET N, COTTU P-N. Génomique et cancer du sein : apport des puces à ADN. Bull Cancer 2004 ; 91 (special) : S226-3.

- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] Sherlock G, et al. The Stanford Microarray Database. *Nucleic Acids Res* 2001 ; 29 : 152–5.
- [26] Golub TR, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999 ; 286 : 531–7.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] Bertucci F, et al. Gene expression profiling of primary breast carcinomas using arrays of candidate genes. *Hum Mol Genet* 2000 ; 9 : 2981–91.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.

- [33] 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.
- [34] Bouzid N, Lahmar R, Tebra S et al. Cancer du sein chez la femme jeune de moins de 35 ans en tunisie (124 cas) : Gynecologie obstetrique et fertilite 2013. 2441:5.
- [35] Ihemelandu CU et al. Molecular breast cancer subtypes in premenopausal and post menopausal african american Women; *J of surgical research*; 143. 109-118 (2007).
- [36] El hawary Amira et al; Molecular subtypes of breast cancer in egyptian women clinicopathological features. *PATHOLOGY-RESEARCH AND PRACTICE* 2012. 382-386.
- [37] Cheang et al; Ki67 index, Her2 status and prognosis of patients with luminal B breast cancer. vol101 issue 10; May 20 2009.
- [38] Maalaj et al. Breast cancer in tunisia in 2004 : a comparative clinical and epidemiological study. *Bull cancer* 200;95 :e5-9.
- [39] Ben Ahmed et al. Cancer du sein de la femme de moins de 35 ans et chimiothérapie post opératoire immédiate. Présentation au 25^e forum de cancerologie. Palais des congrès . Paris 21-23 juin 2009.
- [40] 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.
- [41] 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
- [42] 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
- [43] 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
- [44] 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.

- [45] 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.
- [46] 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.
- [47] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2010 (345-50).
- [48] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci* 2003;100:8418-23.
- [49] Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA* 2006;295:2492-502.
- [50] Wärnberg F, Nordgren H, Bergkvist L, Holmberg L. Tumour markers in breast carcinoma correlate with grade rather than with invasiveness. *Br J Cancer* 2001;85:869-74.
- [51]. Goldhirsch A, Wood WC, Gelber RD, et al.— Progress and promise : highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann Oncol*, 2007, 18, 1133-1144.
- [52] Albert JM et al. Estrogen-progesterone receptor negativity and her2 positivity predict locoregional recurrence in patients with T1a, bN0 breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010;77 :1296-302.
- [53] Wang SL et al. triple negative or her2 positive status predicts higher rates of locoregional recurrence in node positive breast cancer patients after mastectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2010;80:1095-101.
- [54] Lowary AJ, Kell MR et al. Locoregional recurrence after breast cancer surgery: a systematic review by receptor phenotype. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 133:831-72.
- [55] Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer Jr CE, Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive

breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673–84.

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

[57] 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.

[58] Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, Niemierko A, Abi Raad RF, Boon WL, et al. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:2373–8.

[59] Mamounas EP, Tang G, Bryant J, Paik S, Shak S, Costantino J, et al. Association between the 21-gene recurrence score assay (RS) and risk of locoregional failure in node-negative, ER-positive breast cancer: Results from NSABP B-14 and NSABP B-20. 28th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium Meeting, December 8–11, 2005, San Antonio, TX. *Breast Cancer Treat Rev* 2005; 94 (Suppl. 1): S16. [abst 29].

[60] Nuyten DS, Kreike B, Hart AA, Chi JT, Sneddon JB, Wessels LF, et al. Predicting a local recurrence after breast-conserving therapy by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 2006;8:R62.

[61] Gabos Z, Thoms J, Ghosh S, Hanson J, Deschênes J, Sabri S, et al. The association between biological subtype and locoregional recurrence in newly diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;124:187–94.

[62] Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J Clin Oncol* 2010;28:1684–91.

[63] Millar EK, Graham PH, O'Toole SA, McNeil CM, Browne L, Morey AL, et al. Prediction of local recurrence, distant metastases, and death after breast-conserving therapy in early-stage invasive breast cancer using a five-biomarker panel. *J Clin Oncol* 2009;27:4701–8.

[64] Sanpaolo P, Barbieri V, Genovesi D. Prognostic value of breast cancer subtypes on breast cancer specific survival, distant metastases and local relapse rates in

conservatively managed early-stage breast cancer: a retrospective clinical study. Eur J Surg Oncol 2011;37:876-82.

[65] Selz et al. Valeur pronostique des sous types moléculaires et du ki67 pour le cancer du sein indemnes d'envahissement ganglionnaire après mastectomie : expérience de l'institut Curie et revue de la littérature. cancer/ radiothérapie 18 (2014) 35-46.