



Université Mohammed V Rabat  
Faculté de Médecine et de Pharmacie



Centre d'Etudes Doctorales des Sciences de la Vie et de la Santé

ANNEE : 2019

THESE N° :14/18

**Etude Observationnelle clinique, moléculaire et  
thérapeutique des cancers du sein inflammatoires à  
l'Institut National d'Oncologie**

Equipe de Recherche en Oncologie Translationnelle (EROT)

Thèse présentée et soutenue publiquement le : 05.03.2019

Par

**Mlle Fouzia MAMOUCHE**

Pour obtenir le grade de :

**Doctorat**

Spécialité : **Biologie médicale, pathologie humaine et expérimentale et environnement**

**JURY**

<b>Pr. ICHOU Mohamed</b>	<b>Université Mohammed V Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Président</b>
<b>Pr. FETOHI Mohamed</b>	<b>Université sidi Mohammed ben Abdellah Fès</b>	<b>:</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. HACHI Hafid</b>	<b>Université Mohammed V Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. LARAQUI Abdelilah</b>	<b>Université Mohammed V (FSR)</b>	<b>:</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pr. ELKHANNOUSSI Basma</b>	<b>Université Mohammed V Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Pr. MEDDAH Bouchra</b>	<b>Université Mohammed V Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Dr. BERRADA Narjiss</b>	<b>Institut national d'oncologie Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Co-encadrante</b>
<b>Pr. ERRIHANI Hassan</b>	<b>Université Mohammed V Rabat</b>	<b>:</b>	<b>Directeur de thèse</b>

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

”قالوا سبحانك لا علم لنا إلا ما  
علمتنا إنك أنت العليم الحكيم“

صدق الله العظيم ( البقرة -32)

*Ce travail a été réalisé dans le cadre des projets de recherche  
de la fondation Lalla Salma.*

# *Dédicaces*

*\*A la mémoire de mon Père ; Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*\*A ma mère qui m'a donné tant d'amour et qui m'a appris la patience et le sens du sacrifice et du devoir. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte et la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.*

*\*A Mes frère et Mes sœurs, avec mon affection et mon estime. Puisse Dieu vous garder en bonne santé et vous donne beaucoup de bonheur. Mohamed, je ne pourrai jamais assez te remercier pour ton affection, ton amour et d'avoir pris soin de nous.*

*\*A Ilham et Zineb Je tiens à vous dire que je suis très fier de votre amitié, vous êtes plus que des amies mais des sœurs sur lesquelles je peux compter.*

*\*Docteur BERRADA, je n'oublierai jamais votre aide et tes conseils si précieux, vous êtes un exemple et une vraie 'sœur'.*

# Remerciements

*Ce travail a été effectué à institut national d'oncologie de Rabat.*

*Je remercie chaleureusement les membres du jury qui me font l'honneur de juger mon travail de thèse malgré leurs obligations professionnelles, la distance et leurs emplois du temps chargés.*

*Merci au Professeur **Mohamed ICHOU** (Professeur faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V de Rabat), c'est un grand honneur d'avoir accepté la présidence du jury de ma thèse.*

*Merci aux rapporteurs, Professeur **Mohamed FETOHI** (Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès), Professeur **Hafid HACHI** (Professeur faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V de Rabat) et professeur **Abdelilah LARAQUI** (Professeur Faculté des sciences de Rabat, Université Mohammed V de Rabat), d'avoir pris le temps de corriger le manuscrit. Votre amabilité et votre disponibilité m'ont énormément aidée à améliorer mon rapport de thèse. Je vous prie d'agréer l'assurance de ma haute considération, ma gratitude et mes sentiments les plus sincères.*

*Merci aux Professeure **Basma ELKHANNOUSI** (Professeure faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V de Rabat) et Professeure **Bouchera MEDDAH** (Professeure faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V de Rabat) d'avoir accepté d'être examinatrices de la soutenance. Qu'il me soit permis de vous exprimer ma gratitude et mon profond respect.*

*À mon directeur de thèse, Professeur **Hassan ERRIHANI**, je vous remercie pour m'avoir accueilli au sein de votre service et me donner l'opportunité de collaborer avec votre équipe et à participer à des manifestations scientifiques et médicales. Je ne remercierai jamais assez*

*Docteur Narjiss BERRADA qui m'a beaucoup aidé, pour ses précieux conseils et pour son soutien tout au long de mon travail de thèse.*

*Un grand et énorme merci aux docteur Rajae KENNAB, docteur Saad ANNAZ, docteur Mona KHMOU et docteur Siham LEMSANESS je n'oublierai jamais votre aide et votre disponibilité.*

*Je remercie Professeur Yassine SEKHSSOUKH de m'avoir permis de travailler au sein de leur plateforme.*

*Je remercie tous les membres du pôle gynéco-mammaire et du service d'anatomopathologie de l'Institut national d'oncologie, merci pour votre aide et votre serviabilité qui m'ont apporté la force pour accomplir ce travail.*

*Un grand et énorme merci pour Ibrahim, Fayçal, Souad, Bahia, Sanae ; Ilham ; Fatima, Keltoum ; Saidia, Safae, Mariam, Karima, Hafida, Fatima Ezzahrae, Khadija ; Nasser)*

*Je remercie les membres de service des archives ; Samir, Hassan ; Hicham, Mohamed ; Youssef, Bidar ; Abdelkarim ; Rabie dirigée par Docteur ERRAKI*

*Je remercie les membres du service d'oncologie médicale dirigé par le Professeur Hassan ERRIHANI, un grand merci à Soumia et toute équipe*

*Mes vifs remerciements à Samir tu es tout simplement unique et je n'oublierai jamais ton aide à tout instant et ta gentillesse éternelle. A Ilham et Sanae pareillement, merci pour votre aide à tout instant.*

*Je remercie tout le personnels médicale et paramédical de l'institut national d'oncologie de Rabat, Sans vous, ce travail n'a pas pu être réalisé. Permettez-moi de vous exprimer mes plus vifs remerciements, mon profond respect et mes sentiments les plus sincères.*

*Je souhaite également adresser mes sincères remerciements : À mes amies Zineb O.Fatima; Bouchra ; Mariam ; Najat ; Fadwa ; Meriam, Chaimae un Grand Merci pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble, a votre aide et votre générosité.*

*Je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.*

*Enfin, je dédie ce travail à tous les patients cancéreux*

## **Table des matières**

Liste des annexes .....	8
Liste des tableaux .....	9
Liste des figures .....	10
Liste des abréviations .....	11
<b>A. Introduction générale .....</b>	<b>14</b>
I. Contexte .....	15
II. Objectif(s) .....	16
III. Justificatif du travail .....	16
<b>B. Matériel et méthodes .....</b>	<b>17</b>
I. Type de l'étude .....	18
II. Méthodologie d'inclusion.....	20
III. Explorations .....	20
1. Bilan initial .....	20
2. Modalités du traitement .....	21
3. Bilan pour le suivi .....	21
IV. Etude du profil immunohistochimique .....	21
1. Les prélèvements .....	21
2. Etape macroscopique .....	22
3. Technique d'étude .....	22
4. L'étude en microscopie optique .....	23
5. Classification histologique .....	23
6. Etude immunohistochimique .....	24

IV. Biologie moléculaire .....	27
1. Extraction de l'ARN .....	27
2. Dosage de l'ARN élue .....	31
3. Amplification du gène ALDH1 par PCR en temps réel.....	32
4. Technologie de détection basée sur le SYBR Green .....	33
5. Stratégie de quantification .....	35
V. Traitement .....	38
1. Les stades localisés .....	38
2. Les stades métastatiques . .....	39
VI. Méthodologie statistique .....	40
3. 1.Saisie des donnes.....	40
4. 2. Analyse des données .....	41
VII. Le suivi des patientes .....	42
<b>C. RESULTATS</b> .....	44
I. La prévalence .....	45
II. La photothèque .....	45
III. Facteur socio démographique .....	46
IV. Antécédents et Facteurs de risque .....	47
V. Résultats cliniques .....	50
VI. Le bilan d'extension .....	52
VII. Résultats histologiques et immunohistochimique.....	54
VIII. Résultats biologie .....	55
IX. Traitements .....	56
XII. Evolution et survie .....	60

<b>D. Discussion</b> .....	61
I. L'incidence .....	62
II. L'âge .....	63
III. Facteurs de risque .....	63
IV. Niveau Socio-Economique .....	66
V. Le statut pondéral .....	66
VI. Délai de diagnostic .....	67
VII. Caractéristiques histologiques de la tumeur.....	69
VIII. Immunohistochimie et class moléculaire .....	70
IX. Le traitement pour CSI .....	72
X. L'évaluation de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante .....	75
<b>E. Conclusion</b> .....	77
Références bibliographiques .....	78
Liste des annexes .....	85
Articles et travaux scientifiques .....	110
Résumé .....	111
Abstract .....	112
ملخص .....	113



## Liste des annexes

**Annexe I :** Classification histopathologique pTNM du cancer du sein selon AJCC, 7ème édition, 2009

**Annexe II :** Classification histologique des tumeurs du sein selon l’OMS 2012

**Annexe III :** cahier d’observations

**Annexe VI :** consentements des patientes et accord de comite d’éthiques

## Liste des tableaux

- Tableau I** : Dosage des ARN extraits par Qubit 2.0 Qubit working
- Tableau II** : Mélange réactionnel I
- Tableau III** : Mélange réactionnel II
- Tableau IV** : Mélange réactionnel du mix PCR
- Tableau V** : Protocole d'amplification PCR
- Tableau VI** : Effectifs annuels des cancers du sein durant la période d'étude
- Tableau VII** : Répartition des patientes selon les Facteurs socio démographiques
- Tableau VIII** : Effectifs par tranche d'âge
- Tableau IX** : Répartition des patientes selon le statut de parité
- Tableau X** : Répartition des patientes selon Les antécédents médicaux
- Tableau XI** : Répartition des patientes selon les résultats de la mammographie
- Tableau XII** : Répartition des patientes selon les résultats du bilan d'extension
- Tableau XIII** : Tableau comparatif du résultat du type moléculaire des deux stades
- Tableau XIV** : Fréquence du cancer du sein inflammatoire à travers le monde
- Tableau XV** : Age moyen du cancer du sein inflammatoire à travers des série
- Tableau XVI** : les pourcentages des femmes non ménopausées à travers des série du cancer du sein inflammatoire
- Tableau XVII** : Incidence des antécédents familiale à travers trois séries du cancer du sein inflammatoire
- Tableau XVIII** : pourcentages des différents signes cliniques à travers des série du cancer du sein inflammatoire
- Tableau XIX** : pourcentages des réponses cliniques et pathologique au traitement à travers des série du cancer du sein inflammatoire

## Liste des figures

**Figure 1 :** Flow-chart du recrutement des patientes

**Figure 2 :** Schema d'étude

**Figure 3 :** Photo du Kit d'extraction d'ARN « PureLink™ FFPE, Total RNA Isolation Kit

Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Washington, USA »

**Figure 4 :** Le fluoromètre Qubit 2.0® et le kit du dosage de l'ARN, de l'ADN et des protéines

**Figure 5 :** Cinétique de la PCR en temps réel

**Figure 6 :** Détection basée sur l'agent fluorogène SYBR

**Figure 7 :** guidelines de traitement de cancer du sein inflammatoire (version 2014)

**Figure 8 :** méthodologie de Recueil des données

**Figure 9 :** photos du sein dans ordre chronologique de traitements

**Figure 10 :** Répartition des patientes selon les Facteurs socio démographiques

**Figure 11 :** Répartition des patientes selon l'âge a la ménarche

**Figure 12 :** Répartition des patientes selon l'utilisation des contraceptifs oraux

**Figure 13 :** Répartition des patientes selon statut ménopausique

**Figure 14 :** Répartition des patientes selon l'indice de masse corporelle

**Figure 15 :** Répartition des patientes selon les signes cliniques

**Figure 16 :** Répartition des patientes selon la topographie de la tumeur

**Figure 17 :** Répartition des patientes selon le siège des métastases

**Figure 19 :** Répartition des patientes selon la réponse histologique

**Figure 20 :** Survie sans progression des patientes avec CSI

## Liste des abréviations

**ACR:** American College of Radiology

**ASCO/CAP :** American Society of Clinical Oncology (ASCO)/College of American Pathologists (CAP)

**ADN:** Acide desoxyribonucléique

**AJCC:** American Joint Committee on Cancer

**ALDH1:** Aldehyde dehydrogenase 1

**ALK :** Anaplastic lymphoma kinase

**ARN:** Acide ribonucléique

**ATP:** Adénosine Tri-Phosphate

**BI-RADS:** Breast Imaging-Reporting and Data System

**CA15-3 :** Cancer Antigen 15-3

**CD :** Clusters de Différenciation

**CK :** kinases dépendantes des cyclines

**CNSS :** Caisse nationale de sécurité sociale

**CNOPS :** Caisse nationale des organismes de prévoyance sociale

**CMT:** Chimiothérapie

**CO:** Contraception orale

**CS:** Cancer du sein

**CSI:** Cancer du sein inflammatoire

**DEPC :** Diethylpyrocarbonate

**ddNTP:** Didésoxyribonucléotide

**dNTP:** Désoxyribonucléotide

**EDTA :** Éthylènediaminetétraacétique

**EGFR :** endothelial growth factor receptor

**ER** : Récepteur à l'oestrogène

**FISH/CISH:** Fluorescence *in situ* hybridization/Chromogenic *in situ* hybridization

**GAPDH** : Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

**GGT** : gamma-glutamyltranspeptidase

**HER2:** Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

**HT:** Hormonothérapie

**IHC:** Immunohistochimie

**IMC** : Indice de masse corporelle

**INO** : Institut National d'Oncologie

**NCCN** : National Comprehensive Cancer Network

**NFS** : Numération de la formule sanguine

**OMS:** Organisation mondiale de la santé

**P53:** Protéine 53

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**PEV:** Poussée évolutive

**pH:** potentiel hydrogène

**PR:** Progesterone Receptor

**RAMED** : Régime d'assistance médicale

**RCRC** : Registre des cancers de la région du grand Casablanca

**RECRAB** : Registre des cancers de Rabat

**RT** : Radiothérapie

**RT** : Reverse Transcriptase

**SBR** : Scarff Bloom Richardson

**TDM-TAP** : Tomodensitométrie thoraco-abdomino-pelvien

**TN** : Triple négatif

**TNBC** : Triple négatif breast cancer

**TNM** : Tumeur Nodul Métastase

**UICC** : Union internationale contre le cancer

**USA** : United States of America

# **INTRODUCTION**

# **GENERALE**

## A. Introduction générale

### I. Contexte

Le cancer inflammatoire du sein (CSI) est une forme rare et agressive du cancer du sein. IL est caractérisé essentiellement par sa présentation clinique et son potentiel de dissémination métastatique rapide. L'intégration d'une chimiothérapie néoadjuvante associant anthracyclines et taxanes, dans la stratégie thérapeutique, a permis d'améliorer le pronostic de l'CSI localisé. La survie à 5 ans est passée de 10% à 30% [1].

Le CSI représente 0.5 à 2 % de l'ensemble des cancers du sein en occident [2]. Son incidence semblait plus élevée en Afrique du nord où les séries historiques rapportaient des taux de 30 à 50% [3]. Les études récentes Tunisiennes et Egyptiennes rapportent un taux de 5 à 7% [4] [5]. Au Maroc, deux études réalisées à l'Institut National d'Oncologie, la première en 2005 et la deuxième entre 2007 et 2008, retrouvaient un taux de 6.2 et 5% respectivement [6] [7]. Ces pourcentages historiques élevés étaient probablement dû à la difficulté de distinguer le CSI de certaines formes localement avancées et/ou négligées, fréquemment rencontrées dans ces régions [4]. En effet, le diagnostic de l'CSI est basé essentiellement sur la clinique et reste donc très subjectif. Ce dilemme diagnostique a été confirmé encore une fois par une large étude prospective réalisée en Tunisie et en Egypte en collaboration avec des équipes américaines. Dans cette étude, on retrouvait des discordances diagnostiques entre les différentes équipes dans 25 à 45% des cas [8].

Un consensus international pour essayer de standardiser le diagnostic a été publié en 2008 puis actualisé en 2011 [9]. En plus des critères cliniques retenus, ils recommandent de réaliser 2 biopsies cutanées devant tous les cas suspects. Cependant la présence d'emboles lymphatiques cutanés ne représente pas un critère obligatoire pour le diagnostic de l'CSI. En effet, les emboles ne sont retrouvés que dans moins de 75% des cas [10].

Pour le diagnostic moléculaire, il n'y a actuellement aucun critère établi qui permet de distinguer ces cancers. Cependant le cancer inflammatoire de sein a un profil immunophénotypique plus agressif : il est souvent de haut grade avec un index mitotique élevé, les récepteurs hormonaux (RH) sont négatifs dans 56 à 83% des cas [11]. Leur absence d'expression est associée à une plus grande agressivité clinique et à une diminution de la survie globale et spécifique par rapport aux autres types de cancers du sein. L'HER 2 est positif dans 38-68%. Contrairement aux cancers non inflammatoires, la surexpression de HER2 n'est pas corrélée à la survie, mais reste un excellent facteur prédictif de réponse au



Trastuzumab [10]. L'utilisation de ce dernier en situation néoadjuvante dans 5 essais randomisés, a permis d'obtenir un taux de réponse complète histologique (pCR) entre 18 et 55%. Dans ces essais prospectifs les CSI représentaient 10 à 20% des cas. Dans l'essai NOAH, qui avait inclus le plus grand nombre de patients (76) la pCR atteignait les 54.8% avec une survie sans progression à 3 ans de 71% [12] .

L'CSI se caractérise aussi par une surexpression de l'EGFR, l'E-cadherine et du Rho GTPase et par une altération du gène Tp53. De nouvelles données de culture de cellules tumorales suggèrent une amplification de CD44, NOTCH3, ALDH1 et ALK dans les CSI [13] [14] [15].

## **II. Objectif(s) : Données prospectives sur les caractéristiques cliniques, biologiques et évolutives de cette maladie**

Etudier le profil biologique, diagnostic et thérapeutique du cancer du sein inflammatoire au Maroc et les comparer aux données scientifiques publiées pour évaluer la spécificité de ce cancer dans la population marocaine aussi bien sur le plan épidémiologique, biologique et évolutif.

## **III. Justificatif du travail**

La prévalence du ce type de cancer au Maroc nous permet d'envisager une étude de type registre observationnel non interventionnel. L'originalité de notre étude réside dans son caractère prospectif qui nous a permis un recueil exact des données cliniques et des caractéristiques biologiques des patients ainsi que le suivi personnalisé des patientes durant toutes les étapes du diagnostic, du traitement et de la surveillance. Les données marocaines et maghrébines disponibles proviennent essentiellement de séries rétrospectives ce qui a beaucoup de limites et d'autre part les données occidentales peuvent être différentes des données marocaines.

# **MATERIEL ET METHODES**

## B. Matériel et méthodes

### I. Type de l'étude :

Il s'agit d'une étude clinique observationnelle non interventionnelle de type registre prospectif (Data Base) qui s'était déroulée à l'Institut National d'Oncologie de Rabat (INO) sur une période de 3 ans entre le 13 juillet 2014 et le 13 juillet 2017.

La présente étude a été approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat en 2013. Toutes les patientes ont signé le consentement éclairé de l'étude.

Les objectifs de notre étude sont de :

- Objectif principal :
  - Définir l'incidence des cancers du sein inflammatoire à l'INO
- Objectifs secondaires :
  - Etudier les caractéristiques cliniques, biologiques et moléculaires des cancers du sein inflammatoires dans une population marocaine puis les comparer aux données internationales
  - Etudier l'apport de la biopsie cutanée pour le diagnostic.
  - Evaluation de l'évolution clinique des CSI par création d'une photothèque.

#### - **Promoteur**

Il s'agit d'une étude académique. Le promoteur était la Fondation Lalla Salma- prévention et traitement des cancer-.

#### - **Approbation éthique**

L'étude a été approuvée par le Comité d'éthique de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat de la recherche biomédicale, avec le consentement des patients et a été menée dans le respect aux aspects légaux.

### II. Méthodologie d'inclusion :

Tous les patientes qui s'étaient présentées à l'accueil du pôle d'excellence en oncologie gynéco-mammaire pour ouverture de dossier à INO ont été examinés par ou moins un oncologue médical afin d'inclure tous les cancers du sein inflammatoire cT4dNxMx au début de leur prise en charge.

> Nombre de patientes incluses : 83 patientes

- **Date de l'ouverture des inclusions** : 13/07/2014

- **Date de clôture des inclusions** : 13/07/2017

**- Critères d'éligibilité :**

Toutes les patientes présentant un cancer du sein inflammatoire avec diagnostic histologique de cancer du sein et un diagnostic clinique du caractère inflammatoire selon les critères

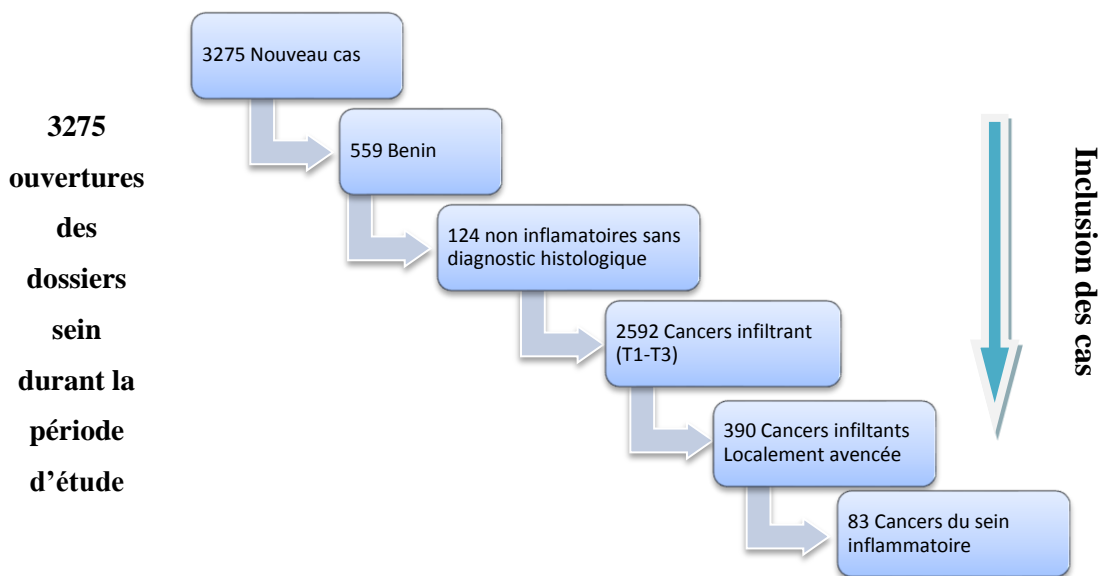
AJCC [9]:

1. L'érythème occupant au moins le tiers du sein.
2. L'œdème et / ou peau d'orange de la poitrine, et / ou un sein chaud.
3. Avec ou sans une masse palpable sous-jacente.
4. L'apparition de ces signes et symptômes devraient être rapide ; la durée lors de sa présentation initiale devrait être 6 mois.

- Signature du consentement éclairé

**- Critères de non éligibilité :**

- Homme
- Cancer du sein antérieurement traité
- Cancer autre que basocellulaire ou CIS du col durant les 5 dernières années
- Inclusion dans un autre essai Clinique



**Figure 1 :** Flow-chart du recrutement des patientes

### **III. Explorations**

#### **1. Bilan initial :**

- Examen clinique pour un diagnostic clinique du cancer du sein inflammatoire (Critères AJCC) + prise de photographie
- Mammographie et échographie mammaire bilatérale
- Imagerie par résonance magnétique des seins si accessible
- Biopsie cutanée (à la recherche d'emboles lymphatiques du derme)
- Biopsie de la tuméfaction mammaire si présente
- Immunohistochimie : Récepteurs hormonaux, hercept test, KI 67, CK14, CK5/6, EGFR
- Biologie moléculaire : FISH (Her2 si 2+ à l'IHC) RT-PCR (ALDH1 et Notch1 )
- TDM TAP, cérébrale et scintigraphie osseuse.
- Echo-cœur (étude de la fraction d'éjection du ventricule gauche)
- Bilan biologique : CA 15.3, NFS, Ionogramme, urée, créatinine, bilan hépatique (Bilirubine, GGT .....)

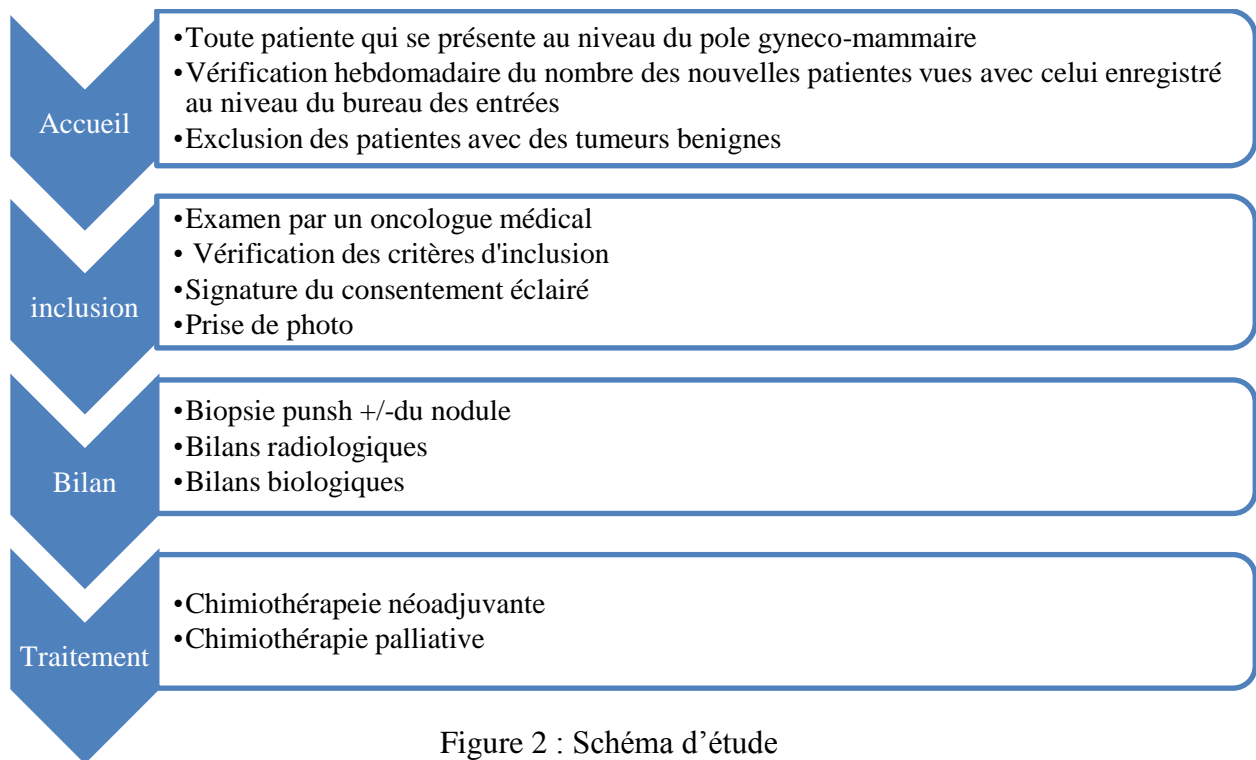


Figure 2 : Schéma d'étude

## 2. Modalités du traitement :

Cette étude évalue de façon non interventionnelle les modalités usuelles de soins pour ces patientes à l'institut national d'oncologie. Pour les patientes devant recevoir un traitement (chimiothérapie, thérapie ciblée, chirurgie, radiothérapie, et hormonothérapie) : Les indications, les contre-indications et précautions d'emploi ont été respectées.

Pour les patientes stade III reçoivent le traitement selon les recommandations de NCCN [16].

Pour les patientes stade IV reçoivent un traitement personnalisé.

## 3. Bilan pour le suivi :

- Examen clinique à chaque cycle
- Prise de photo à chaque cycle
- Echo-cœur tous les 3 mois pendant toute la durée du traitement puis tous les 6 mois pendant 2ans puis une fois par an (au total 5ans) : chez les patientes traitées par Trastuzumab
- NFS : à chaque cycle de traitement
- Mammographie : une fois par an

- En per-opérateur : imagerie si point d'appel
- Les cancers métastatiques seront suivis selon les modalités de chaque protocole.

#### **IV. Etude du profil immunohistochimique :**

##### **1. Les prélèvements :**

L'ensemble de nos patientes ont bénéficié d'une micro-biopsie au Tru-Cut® et d'une Punch-biopsie.

##### **Procédures :**

- Désinfection cutanée et sous condition d'asepsie stricte
- Anesthésie locale à la xylocaïne 1% de la zone suspecte
- Punch de 4 millimètres (Biopsy Punch) enfoncé verticalement avec un mouvement de rotation
- Micro biopsie à l'aiguille semi-automatique (Tru-Cut®), au calibre de 14 G (6 à 8 carottes)
- Mise dans le formol tamponné à 10%.
- Compression manuelle du point de biopsie
- Mise en place d'un stérilstrip pour rapprocher les berges

##### **2. Etape macroscopique**

Pour chaque prélèvement, il a été précisé le nombre de fragments biopsiques, les dimensions et l'aspect macroscopique. L'ensemble des fragments ont été inclus en totalité dans deux blocs ; le premier bloc est dédié à l'étude morphologique, le second pour l'étude immunohistochimique et pour la confirmation moléculaire ultérieure.

##### **3. Technique d'étude :**

###### **a) Fixation :**

Fixation de tous les prélèvements au formol tamponné à 10 %.

###### **b) Déshydratation :**

Déshydratation progressive 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.

**c) Inclusion en paraffine chauffée :**

Immersion de l'échantillon dans de la paraffine chauffée à une température dépassant juste son point de fusion.

**d) Refroidissement :**

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

**e) 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 3 à 5 microns d'épaisseur sont obtenues pour l'étude morphologique et immunohistochimique. Des coupes de 6 microns sont réalisées pour la vérification par PCR en temps réel, de l'expression de l'ALDH1 et NOTCH1.

**f) 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.

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

Elle s'effectue selon les étapes suivantes :

- La coloration par l'hématéine se fait pendant 5 à 7 min (teintant les noyaux en bleu).
- Rinçage à l'eau courante puis à l'eau distillée.
- Coloration dans une solution d'éosine à 1 % pendant 2 min (teintant le cytoplasme en rose ou en Rouge).
- Rinçage de façon rapide à l'eau courante.
- Déshydratation dans l'alcool à 100°.
- Coloration alcoolique pendant une minute (se fixe sur le tissu conjonctif).
- Passage rapidement dans les alcools (Méthanol - Ethanol pour éclaircissement).
- Montage au toluène.



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

#### **4. L'étude en microscopie optique :**

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

#### **5. Classification histologique :**

Au terme de cette étude morphologique, les échantillons ont été classés selon la classification histologique de l'OMS (2013) et gradés selon le grading de SBR modifié par Elston et Ellis.

#### **6. Etude immunohistochimique :**

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

Anticorps anti-récepteur aux oestrogènes

Anticorps anti-récepteur progestéroniques.

Anticorps anti-HER2.

Anticorps anti-Ki67.

Anticorps anti-CK5/6,

Anticorps anti- EGFR

Anticorps anti-ALDH1.

##### **➤ Protocole manuelle d'immunohistochimie**

- ➔ Faire des coupes de 3 à 4 cm
- ➔ Mettre les lames une nuit à 37°C ou 1h à 56°C
- ➔ Mettre au PT link 20 min à 98°C (faire le choix du pH, voir pH de démasquage)
- ➔ Mettre au PBS pendant 5 min
- ➔ Couvrir les lames par le peroxidase blocking pendant 5 min

- Egoutter les lames et les mettre au PBS pendant 5 min
- Couvrir les lames par **l'AC primaire** (voir pH de démasquage)
- Egoutter les lames et les mettre au PBS pendant 5 min
- Couvrir les lames par **l'AC secondaire** (HRP) pendant 30 min
- Egoutter les lames et les mettre au PBS pendant 5 min
- Couvrir les lames par la solution substrat chromogène (ajouter une goutte de chromogène à 1 ml de substrat)
  - **NB** : Préparer la solution juste avant l'utilisation et couvrir les lames pendant 3 min
- Egoutter les lames et les passer dans H2O ou dans l'eau du robinet
- Faire la contre coloration par l'hématoxyline pendant 2 min
- Faire passer les lames dans 3 bains d'alcool à des concentrations croissantes (70°, 96°, Absolu)
- Faire passer les lames dans un bain de toluène 3 seconde
  - Mettre les lames dans un 2ème bain de toluène pour le montage
  - Monter et répartir les lames

### pH de démasquage

pH 9	pH6	Sans démasquage
CK 5/6	EGFR CK 14	ALDH1

#### a) Lecture des récepteurs hormonaux

Le marquage considéré est un marquage nucléaire, portant sur plus de 1% des cellules carcinomateuses, selon les recommandations de l'ASCO/CAP 2013 [17].

L'analyse aboutit à déterminer le pourcentage de cellules marquées par rapport à l'ensemble des cellules carcinomateuses dans le contingent invasif et apprécier l'intensité moyenne de ce marquage

- Marquage faible 1 = visible seulement à un fort grossissement ;
- Marquage d'intensité moyenne 2 = marquage repérable à un faible grossissement ;
- Marquage de forte intensité 3= apparaissant très nettement dès le faible grossissement.

## b) Lecture de l'HER-2

Selon des recommandations de l'ASCO/CAP 2013 [17].

Un immunomarquage est considéré comme score HER2 3 + quand le marquage membranaire est complet et intense sur plus de 10 % des cellules tumorales invasives ;

Un immunomarquage est considéré comme score 2 + ou équivoque quand :

- Le marquage membranaire est complet modéré dans plus de 10 % des cellules.
- Le marquage est complet intense  $\leq 10$  %,
- Pour les marquages incomplets si :

Architecture micropapillaire : marquage incomplet basolatéral, excluant le pôle apical inversé, d'intensité modérée ou forte, et dans  $> 10$  % des cellules,

Marquage incomplet (intéressant au moins deux bords de la cellule) ou basolatéral (en U) dès lors qu'il est déjà visible au faible grossissement ( $\times 4-5$ ) et dans  $> 10$  % des cellules.

Un immunomarquage est considéré comme négatif, HER2 score 1 + quand le marquage membranaire est faible, complet ou incomplet, dans plus de 10 % des cellules tumorales invasives;

Un immunomarquage est considéré comme négatif, HER2 score 0 en l'absence de marquage ou quand le marquage est membranaire complet ou incomplet et faible ou modéré, dans moins de 10 % ( $\leq$ ) des cellules tumorales invasives.

Confirmation par techniques d'hybridation in situ :

L'analyse porte d'abord sur le nombre moyen de copies du gène HER2 :

- Si les signaux HER2 sont  $\geq 6$  en moyenne, le cas est dit amplifié, quel que soit le nombre de signaux pour la région centromérique du chromosome 17 (chromosome énumération probe/CEP17).
- Si les signaux HER2 sont  $< 4$  en moyenne, le cas est dit non amplifié quel que soit le nombre de signaux pour le centromère 17;
- Pour un nombre de copies  $4 \leq \text{HER2} < 6$ , il faut regarder le ratio HER2/CEP17 :

- Si le ratio HER2/CEP17 est  $\geq 2$ , le cas est considéré comme éligible à un traitement anti-HER2,
- Si le ratio HER2/CEP17 est  $< 2$ , le cas est dit équivoque/ambigu, il est alors recommandé de retester sur un autre bloc. Si le cas reste dans cette zone ambiguë, l'éligibilité à un traitement anti-HER2 est à discuter en RCP avec les données clinico-pathologiques. Si le cas est éligible à une chimiothérapie et équivoque après deux tests, un traitement anti-HER2 pourrait être envisagé en association.

### c) L'interprétation de l'ALDH1 :

Les témoins externes positifs utilisés, afin de valider la technique en immunohistochimie, sont le parenchyme hépatique et rénal sains.

L'interprétation des résultats est effectuée par un pathologiste confirmé.

Le marquage est considéré positif si c'est un marquage cytoplasmique, intéressant plus de 10% des cellules tumorales.

### d) L'interprétation de CK5/6 et EGFR :

#### ➤ CK5/6

Tout marquage cytoplasmique fort était considéré comme positif pour CK5 / 6

#### ➤ EGFR

Le marquage a été désigné comme positif si des cellules tumorales présentaient 1% du marquage positif

## 7. Classification moléculaire :

Dans cette étude, on s'est basé sur la classification moléculaire simplifiée tirée de la classification de Perou et Sorlie [18] :

- Le sous type RH+ / HER2 - : expression des récepteurs hormonaux (RE/RP), Her2 Score 0, 1+, 2+ non amplifié
- Le sous type HER2 : surexpression de l'oncogène HER2, avec ou sans expression des récepteurs hormonaux (RE/RP).
- Le sous type triple-négatifs / phénotype basal : absence d'expression des récepteurs hormonaux et de l'HER2.

#### IV. Biologie moléculaire :

La quantification de l'expression du gène ALDH1 (aldehyde dehydrogenase1) et le NOTCH est réalisée par la RT-PCR two steps en temps réel (qRT-PCR) en utilisant le SYBR Green comme agent fluorogène et  $2^{\Delta Ct}$  comme méthode d'expression et d'évaluation du gène. Cette technique permet de mesurer l'amplification en temps réel d'un ADNc d'intérêt, issu de la rétro-transcription d'un extrait d'ARNm extrait à partir des blocs de FFPE des patientes atteintes CSI.

##### 1. Extraction de l'ARN

Chacun des 82 blocs paraffinés a été soigneusement découpé en utilisant le microtome. Nous avons effectué 5-6 coupes de  $5\mu\text{m}$  tout en veillant à ne pas épuiser le bloc paraffiné. Ensuite, les coupes ont été soigneusement mises dans des tubes d'Eppendorff étiquetés puis stockés à  $+4^{\circ}\text{C}$ . Après chaque coupe, il est impératif de nettoyer le microtome, la lame et la pince à l'aide du xylène et de l'éthanol, puis changer de gants afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons. L'extraction de l'ARN a été réalisée à partir des échantillons FFPE par le kit « PureLink™ FFPE, Total RNA Isolation Kit ; Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Washington, USA » selon les recommandations du fournisseur.



**Figure 3 :** Photo du Kit d'extraction d'ARN « PureLink™ FFPE, Total RNA Isolation Kit ; Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Washington, USA » (Source : LRB-P3, 2017)

Cette extraction nécessite quatre sections de tissus paraffinés de  $6\mu\text{m}$  d'épaisseur chacun qui ont été mises dans des tubes Eppendorf stériles de 1,5 ml ensuite homogénéisées avec  $300\mu\text{l}$  de la solution de déparaffinage (Melting Buffer). L'ensemble est centrifugé à une vitesse maximale ( $15000g$ ) pendant 20 secondes.

La solution obtenue est incubée à  $72^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes en agitant toutes les 2 minutes. Après incubation, un volume de  $20\mu\text{l}$  de protéinase K ( $20\text{ mg/ml}$ ) est ajouté dans chaque tube

pour éliminer les débris de protéines et est incubé à 60 °C pendant 40 minutes afin d'assurer une lyse complète. Le mélange est immédiatement centrifugé à une vitesse maximale pendant une minute. Une couche mince de paraffine est obtenue au sommet et une couche liquide est obtenue au fond du tube renfermant le lysat. Ce dernier est ensuite récupéré à l'aide d'une pointe stérile et transféré dans un nouveau tube Eppendorf.

Un volume de 400 µl du tampon de liaison (Binding Buffer) et un volume de 800 µl d'éthanol absolu sont additionnés au mélange (tissu déparaffiné + protéinase K) pour créer un milieu optimal pour la liaison des ARNs sur la colonne d'un tube filtrant/tube collecteur.

Un volume de 700 µl de cette solution est transférée au tube filtrant/tube collecteur et est centrifugé à 800g. Nous avons éliminé le résidu et nous avons replacé le tube collecteur. Le volume restant de la solution sera traité de la même manière. Nous avons changé le tube collecteur par un autre et nous avons lavé les ARNs en solutions avec 500 µl de solution de lavage (reconstituée préalablement avec 80 ml d'éthanol). L'ensemble est centrifugé pendant une minute à une vitesse maximale puis élué dans 50µl d'eau ultra pure RNase-Free préchauffée préalablement à 65°C.

Afin d'éliminer les éventuels ADN résiduels, une unité (1U) de la solution DNase I est ajoutée au tube puis mélangée et laissée à température ambiante pendant 15 minutes. Ensuite, 1 µl de l'EDTA est ajouté à la solution pour inactiver l'enzyme et incubé pendant 10 minutes à 65°C. Les ARN extraits sont conservés à -80 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

## **2. Dosage de l'ARN élue**

Le dosage des quantités d'ARNs extraits dans notre étude est réalisé par technique fluorimétrique (Qubit 2.0 Fluorometer, Invitrogen Life Technologies, Washington, USA). Le kit utilisé pour le dosage de l'ARN élué est le Qubit RNA HS Assay kit ® (Life Technologies, Washington, USA)

### **• Principe du dosage**

Le système Qubit ® 2.0 quantifie l'ADN, l'ARN et les protéines avec une précision, une sensibilité et une simplicité de haute technologie. Ce système utilise la technologie fluorimétrique spécialement conçue à l'aide de colorants "Molecular Probes" pour quantifier les biomolécules d'intérêt. Ces colorants fluorescents émettent des signaux uniquement lorsqu'ils sont liés à des molécules cibles spécifiques, même à de faibles concentrations (10 pg/µL of DNA). Il est idéal pour le clonage, le séquençage, transfection, qPCR, les puces, les

gels de protéines, Western blot, et des dosages d'activité de la protéine. Ce système est opérationnel pour la recherche uniquement mais ne peut pas être utilisé dans les procédures de diagnostic.

Le Qubit est conçu pour les laboratoires de biologie moléculaire qui travaillent avec des échantillons rares ou difficiles à traiter, et les applications nécessitant des mesures précises telles que la PCR en temps réel.



**Figure 4 :** Le fluoromètre Qubit 2.0 ® et le kit du dosage de l'ARN, de l'ADN et des protéines (Source : LRB-P3, 2017)

**• Méthode de dosage :**

Nous avons préparé les tubes standards (S1 et S2) et les tubes à analyser. Les standards doivent être utilisés dans l'ordre requis (S1 et S2). La solution de travail contient 1 µl de Qubit RNA HS Reagent dans 200 de Qubit RNA HS Buffer. Les solutions standards contiennent 190 µl de la solution de travail « Qubit working » et 10 µl de standard. Chaque tube à analyser contient 190 µl de la solution de travail « Qubit working » et 10 µl de l'échantillon.

**Tableau 1: Dosage des ARN extraits par Qubit 2.0 Qubit working**

	<i>Qubit working</i>	Réactif ajouté
<b>Standard 1</b>	<b>190 µl</b>	10 µl du Qubit RNA HS Standard #1
<b>Standard 2</b>	<b>190 µl</b>	10 µl du Qubit RNA HS Standard #2
<b>Echantillon</b>	<b>190 µl</b>	10 µl de l'ARN extraite
<b>Volume total</b>	200 µl	

**• Calcul de la concentration de l'échantillon :**

Le Qubit 2.0 fournit la valeur de la concentration en ng/ml. La concentration est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \text{QF} \times 200/x$$

QF : la valeur donnée par l'instrument

## Réaction de la reverse -transcriptase

### • Principe

La réaction de la reverse -transcriptase ou la rétro-transcription (RT) des ARNs extraits à partir des blocs de FFPE, permet de synthétiser les ADNc correspondants par le kit « *Super Script First Strand Synthesis System for RT-PCR, Invitrogen* ® ». Cette synthèse d'ADNc se fait à l'aide d'amorces hexanucléotidiques aléatoires et d'une enzyme à activité ADN polymérase ARN dépendante : la reverse transcriptase III que dérive de la M-MLV-RT (*Moloney-Murine Leukemia Virus-Reverse transcriptase*). Ce kit contient en plus un mélange de protéines inhibitrices de ribonucléases.

### • Mélange réactionnel I :

Nous avons préparé le mélange réactionnel I en fonction du nombre des échantillons à analyser

(Le témoin négatif et le volume mort sont pris en considération dans nos calculs).

**Tableau II : Mélange réactionnel I**

Réactifs	Pour une réaction	Pour 85 échantillons
<b>Amorces hexa nucléotidiques randomisées</b>	4 µl	340 µl
<b>DEPC-TREATED WATER</b>	2µl	170 µl
<b>10 Mm Mix DNTP</b>	1µl	85 µl

Un volume de 7µl du mélange réactionnel I est mis dans les 85 tubes PCR (85 échantillons testés + témoin négatif). Nous avons ajouté 3µl d'ARN dans chacun des 85 tubes. Pour le tube témoin, nous avons ajouté 3 µL de l'eau DEPC-traitée. L'ensemble sera incubé à 65°C pendant 5 mn, puis mis dans la glace pendant 1mn.

### • Mélange réactionnel II :

Nous avons préparé un deuxième mélange à une concentration (2X) en ajoutant chacun des composants en respectant l'ordre suivant :

**Tableau III : Mélange réactionnel II**

Réactifs	Pour une réaction	Pour 85 échantillons
----------	-------------------	----------------------



<b>RT buffer</b>	2µl	170 µl
<b>25 Mm Mg Cl<sub>2</sub></b>	4µl	340 µl
<b>0,1 M DTT</b>	2µl	170 µl
<b>RNase OUT (40U / µl)</b>	1µl	85 µl

Un volume de 9µl du mélange réactionnel II est ajouté au 10µl du mélange réactionnel I. On incube l'ensemble à une température ambiante pendant 2mn. Nous avons ajouté par la suite un volume de 1µl de SuperScript™ 2RT dans chacun des tubes.

L'ensemble est incubé à une température ambiante pendant 10 mn. Les tubes sont déposés dans le thermocycleur pour subir le profil thermique suivant : 42 °C pendant 50 mn, ensuite à 70 °C pendant 15 mn.

Un volume de 1µl de RNaseH est ensuite ajouté dans chaque tube pour éliminer toute contamination par RNase post-PCR. L'ensemble est incubé à 37 °C pendant 20 mn.

### **3. Amplification du gène ALDH1 par PCR en temps réel**

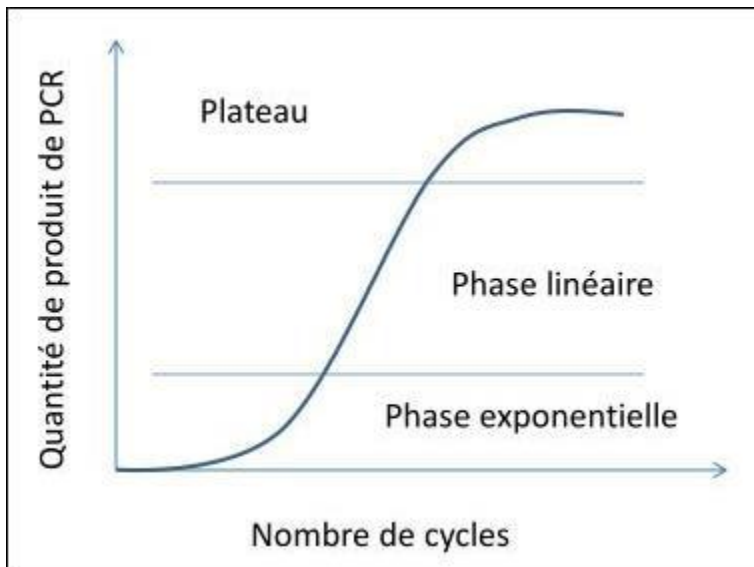
#### **• Principe de la PCR en temps réel**

La PCR en temps réel (Real-time PCR) est une révolution dans l'utilisation de la PCR, cette technique consiste à mesurer la quantité d'ADN polymérisé à chaque cycle (en temps réel) grâce à un marqueur fluorescent.

Le développement de la PCR quantitative en temps réel a éliminé les variabilités traditionnelles associées à la PCR quantitative permettant ainsi la quantification et le suivi de la fluorescence émise pendant la réaction avec un indicateur de la production des amplicons durant chaque cycle, à l'opposé de la PCR quantitative conventionnelle où les amplicons ne sont détectés qu'à la toute fin du processus.

Au début de la réaction PCR, les réactifs sont en excès mais en concentration assez faible afin d'éviter que la renaturation des amplicons n'entre en compétition avec l'hybridation des amorces. L'amplification est alors réalisée de façon constante à un taux exponentiel à l'aide d'une ADN polymérase thermostable. Après la phase exponentielle, la réaction d'amplification entre dans une phase linéaire où le taux d'amplification devient extrêmement variable, même au niveau de l'amplifiat d'un même échantillon, à cause d'une compétition

entre la renaturation des amplicons et l'hybridation des amorces. Suit ensuite une phase plateau où le taux d'amplification décroît à près de zéro générant très peu d'amplicons



**Figure 5:** Cinétique de la PCR en temps réel

Afin de recueillir des données quantitatives avec précision, chacun des échantillons doit être analysé dans sa phase exponentielle d'amplification qui est la phase la plus reproductible de la réaction de PCR [19].

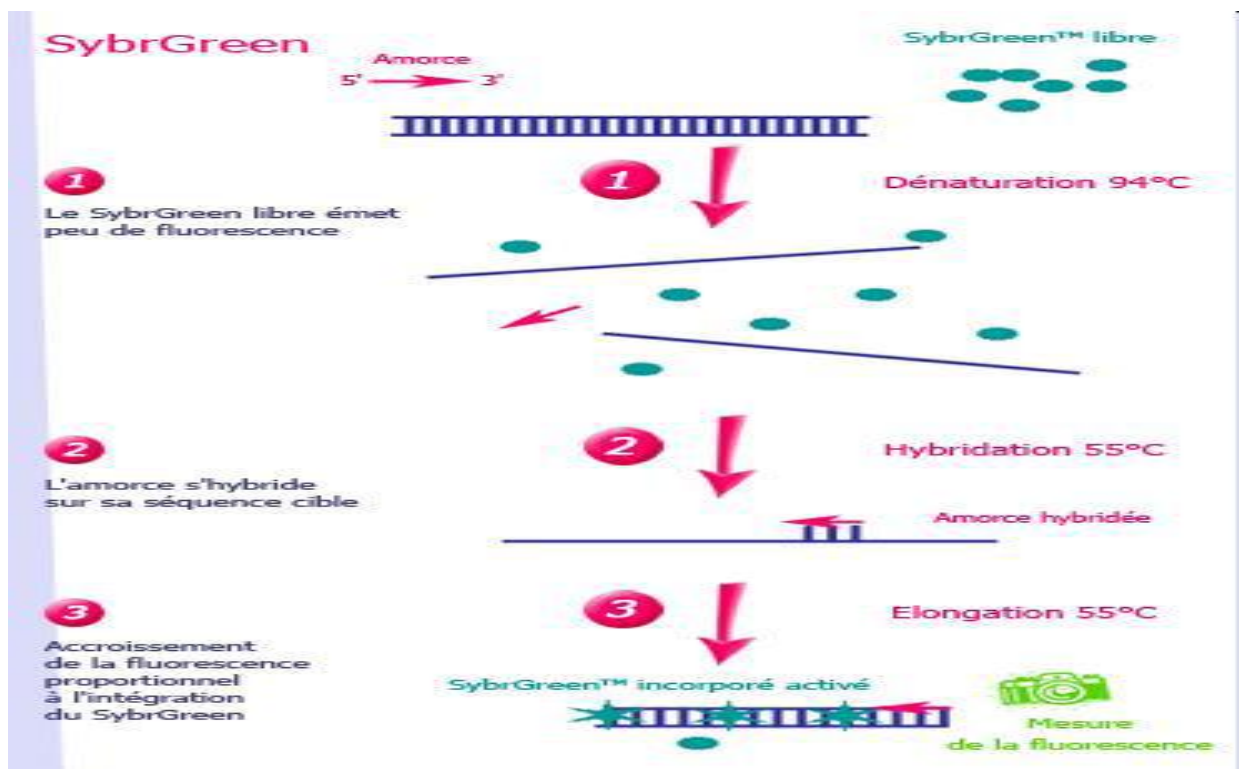
#### **4. Technologie de détection basée sur le SYBR Green**

La technologie de la PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un « *reporter* » fluorescent. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR. En observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa phase exponentielle où la première augmentation significative dans la quantité d'amplicons est en corrélation directe avec la quantité initiale de la matrice originale cible (*template*). Les appareils de PCR en temps réel, utilisent généralement un système en tubes fermés et la quantification ne requiert aucune manipulation post-amplification, ce qui minimise ou élimine les problèmes de contamination par les amplicons suite à la réaction de PCR et réduit le temps d'analyse.

Le processus complet est donc automatisé du début à la fin rendant ainsi cette technologie intéressante pour des applications d'analyses à grande échelle (*high-throughput*).

Pour notre étude, nous avons utilisé le SYBR Green comme agent fluorogène, son émission fluorescente augmente lorsque qu'il est lié à l'ADN double brin. Parmi ses avantages, il est économique, facile à utiliser et possède plus de sensibilité sans inhiber la réaction d'amplification.

Lors de la réaction d'amplification par PCR, le colorant libre en solution exhibe peu de fluorescence. Durant l'étape d'élongation, une augmentation de la fluorescence est associée à la quantité de colorant se fixant à l'ADN double brin naissant. Ensuite, une augmentation du signal de fluorescence est observée pendant l'étape de polymérisation et l'émission fluorescente décroît complètement lorsque l'ADN est dénaturé à l'étape suivante.



**Figure 6** : Détection basée sur l'agent fluorogène SYBR

Conséquemment, l'émission de fluorescence est mesurée à la fin de chaque étape d'élongation pour chacun des cycles par un système de lecture intégré à l'appareil de PCR en temps réel qui permet de suivre l'augmentation de la quantité d'ADN amplifié durant la réaction [19].

• **Concept du « cycle seuil » (*Threshold cycle*)**

Le concept du « cycle seuil » est à la base d'une quantification précise et reproductible pour les techniques fluorescentes en PCR. Les valeurs de fluorescence sont enregistrées au cours de chaque cycle et représentent la quantité d'amplicons produits en un point précis dans la réaction. Plus il y a de matrices (*template*) à amplifier au départ de la réaction PCR, moins élevé sera le nombre de cycle requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement significatif plus élevé que le bruit de fond.

Ce point est défini comme étant le cycle seuil (Ct) et apparaîtra toujours au cours de la phase exponentielle d'amplification. Par conséquent, la quantification n'est pas affectée par l'épuisement d'un des réactifs comme lors de la phase plateau ce qui explique pourquoi le système en temps réel est si reproductible. La valeur du Ct peut être traduite en un résultat quantitatif en la comparant avec les valeurs du Ct générées avec des matrices de quantification connues.

## **5. Stratégie de quantification**

La PCR quantitative en temps réel s'appuie sur des mesures faites pendant la phase dite exponentielle de la PCR. Les principes de la quantification par PCR en temps réel s'appuient sur deux concepts de base différents :

- La quantification absolue est utilisée pour déterminer le nombre de particules infectieuses (virus, bactéries) dans des échantillons biologiques.
- La quantification relative ou comparative est recommandée pour les expressions de gènes et le dosage de gène. La concentration du gène cible est exprimée par rapport à un gène référence (obtenu à partir du même échantillon biologique).

Elle s'appuie sur les efficacités respectives des gènes référence et cible et les Ct obtenus pour les échantillons et le calibrateur, sans courbe de calibration (méthode des  $\Delta\Delta Ct$ ).

Dans notre étude, nous avons choisi la stratégie de quantification relative par la méthode des  $\Delta\Delta Ct$ , qui fait intervenir un gène de référence qui va servir de normalisateur : ce gène est en effet considéré comme stable dans le modèle présenté, il ne subira pas de changement d'expression en fonction des conditions analysées.

Ce gène va permettre de compenser d'éventuels biais de PCR provenant de :

- variations dans la quantité et la qualité des échantillons

- rendement d'extraction différent entre échantillons
- variations dans les erreurs de pipetage
- variations d'efficacité de RT.

La méthode des  $2^{-\Delta C_t}$  (quantification relative) permet l'expression de gènes cible et référence en fonction de l'efficacité de la PCR, qui représente un facteur important pour la reproductibilité des résultats : plus l'efficacité PCR est grande, plus la PCR sera robuste, et du  $C_t$  enregistré. Nous avons quantifié l'expression du gène *ALDH1* comme gène cible et le gène référence choisi le *Notch*. Le gène *GAPDH* est choisi au tant que contrôle interne qui va nous indiquer la présence ou l'absence de l'ADN.

Nous avons posé l'hypothèse que la PCR est efficace à 100% et noté les  $C_t$  obtenus pour chaque gène dans chaque échantillon. On pose :

- T (*Target*) : gène cible
- R (Référence) : gène référence
- S (*Sample*) : échantillon
- C (Contrôle) : gène de contrôle interne

Pour calculer :  $\Delta C_t = C_t T - C_t R$

$$\Delta \Delta C_t = \Delta C_t T - (\Delta C_t S - \Delta C_t C)$$

Les résultats sont exprimés par un rapport gène cible (*ALDH1*) / gène référence (*Notch*) de chaque échantillon. Dans cette méthode, la précision du résultat dépend des efficacités de PCR des gènes cible et référence.

Pour l'*ALDH1*, nous avons utilisé deux amorces spécifiques (sens et antisens) :

**Amorce sens (F) :** 5' TCCTGGTTATGGGCCTACAG 3'

**Amorce anti-sens (R) :** 5' CTGGCCCTGGTGGTAGAATA 3'

Nous avons préparé un mélange réactionnel en fonction du nombre des échantillons analysés tout en préconisant un témoin négatif et un volume mort.

**Tableau IV :** Mélange réactionnel du mix PCR

	<b>Volume pour 1 échantillon (µl)</b>	<b>Volume pour 85 échantillons (µl)</b>
<b>Power SYBR Green Master mix</b>	25	2125
<b>Primer sens (PA ALDH1)</b>	3	255
<b>Primer anti-sens (PS ALDH1)</b>	3	255
<b>H2O</b>	14	1190

Pour contrôler la réaction PCR nous avons utilisé un gène endogène ou endogenous gene (gène de référence: NOTCH). Les séquences des amorces utilisées du gène de référence sont :

Amorce sens (F) : 5' GACCTCATCAACTCACACGC 3'

Amorce anti-sens (R) : 5' CGGCATCCACATTGTTCA 3'

Pour contrôler la réaction PCR, nous avons utilisé un contrôle interne (gène cellulaire : GAPDH). Les séquences des amorces utilisées du gène cellulaire sont :

Amorce sens (F) : 5' TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG 3'

Amorce anti-sens (R) : 5' TCCTTGAGGCCATGTGGGCAT 3'

Un volume de 90 µl de ce mélange est distribué dans 82 tubes correspondants (81 échantillons à tester + témoin négatif). Nous avons ajouté 5 µl d'ADNc soit une concentration de 53 ng/ µl dans chacun des tubes. Dans le tube témoin négatif, nous avons ajouté 5 µL de l'eau-DEPC traitée. Le tube contenant le mélange réactionnel plus ADNc est placé dans le 7500 Fast Real-Time PCR system (ABI system) selon le profil thermique suivant :

**Tableau V:** Protocole d'amplification PCR

<b>Etape</b>	<b>Activation Taq polymérase</b>	<b>PCR</b>

<b>Cycles</b>	40 cycles		
<b>Etape d'amplification</b>		Dénaturation	Hybridation/extension
<b>Température</b>	95°C	95°C	60°C
<b>Temps</b>	10 min	15 sec	1 min
<b>Volume Total</b>	50 ml		

## V. Traitement

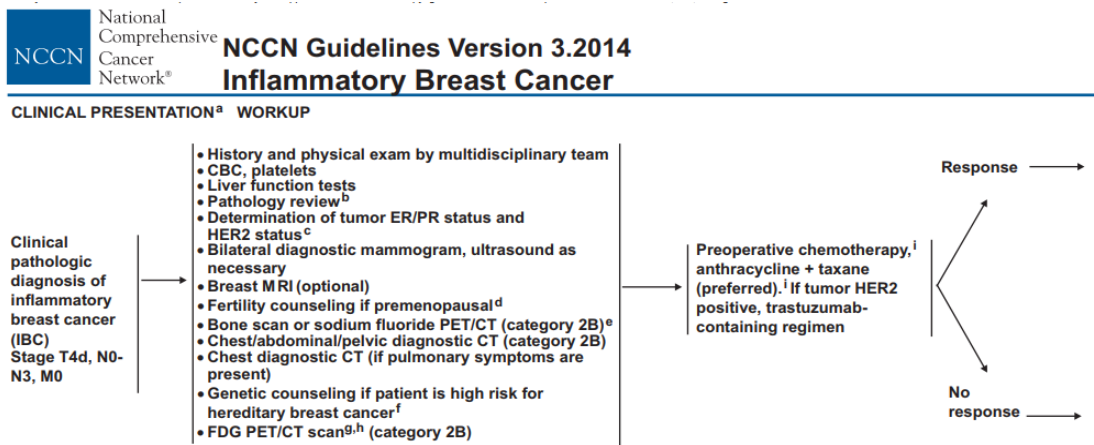
Après le bilan initial, les patients ont été classés selon la classification TNM [20] en maladie localisée (stade III) ou métastatique (stade IV)

### 5. Les stades localisés

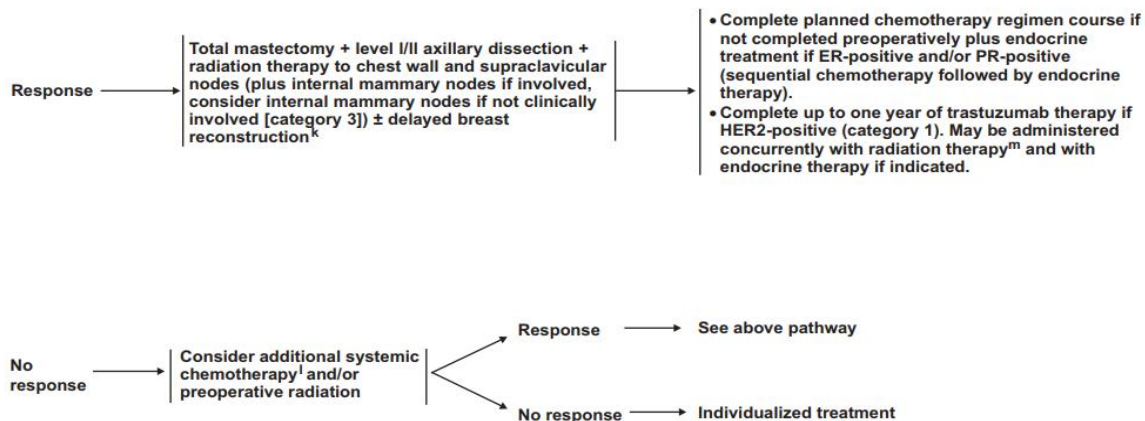
- Dans les stades localisés III selon les recommandations de NCCN 2014 [16]:
  - Les patientes vont recevoir en premier une chimiothérapie néo-adjuvante selon les protocoles suivants :
- Dans les cancers her2 négatif :
  - 4 cycles d'AC60 (doxorubicine 60 mg/m<sup>2</sup> + cyclophosphamide 600mg/m<sup>2</sup>) suivis par 4 Docetaxel (100 mg/m<sup>2</sup>)
  - Ou
  - 4 cycles d'AC60 (doxorubicine 60 mg/m<sup>2</sup> + cyclophosphamide 600mg/m<sup>2</sup>) suivis par 12 Paclitaxel hebdomadaire (80 mg/m<sup>2</sup>)
- Dans les cancers sur-exprimant l'her2 :
  - 4 cycles d'AC60 (doxorubicine 60 mg/m<sup>2</sup> + cyclophosphamide 600mg/m<sup>2</sup>/ toutes les 3 semaines) suivis par 4 Docetaxel toutes les 3 semaines (100 mg/m<sup>2</sup>) associé au trastuzumab toutes les 3 semaines puis 14 cycles de Trastuzumab en monothérapie

seront administrés en post opératoire. La dose du Trastuzumab est de 8mg/kg pour la 1ère cure puis 6mg/kg les cures suivantes.

- 4 cycles d'AC60 (doxorubicine 60 mg/m<sup>2</sup> + cyclophosphamide 600mg/m<sup>2</sup>) suivis par 12 Paclitaxel hebdomadaire (80 mg/m<sup>2</sup>) associé au trastuzumab toutes les 3 semaines puis 14 cycles de Trastuzumab en monothérapie seront administré en post opératoire. La dose du Trastuzumab est de 8mg/kg pour la 1ère cure puis 6mg/kg les cures suivantes.
- La chirurgie a été réalisée entre la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine après la fin de la chimiothérapie. Le geste standard était la mastectomie avec curage axillaire homolatéral
- La radiothérapie était démarrée à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine après la chirurgie dose, schéma  
(Une radiothérapie sur le lit du sein « paroi », l'aire ganglionnaire et sous claviculaire avec un total de 42 Gy et 2,8 par fraction «15 séances»).
- L'hormonothérapie a été prescrite à toutes les patientes avec des tumeurs ayant des RH +. Le type d'hormonothérapie dépendait du statut ménopausique :
  - Le Tamoxifène a été prescrit à toutes les patientes non ménopausées
  - Les patientes ménopausées recevait des antiromatases ( Anastrozole, Letrozole ou Exemestane)







**Figure 7 :** guidelines de traitement de cancer du sein inflammatoire (version 2014)

## 6. Les stades métastatiques :

- Le choix de la première ligne de chimiothérapie dépendait du statut Her2
- Si Her2 +: les patientes recevaient le docetaxel+ Trastuzumab pdt 6 à 8 cures puis entretien par trastuzumab
- Si Her2-: les patientes recevaient 6 à 8 cures d'AC60
- Une hormonothérapie d'entretien a été prescrite chez toutes les patientes ayant des RH +, à la fin de la chimiothérapie
- Les lignes ultérieures dépendaient des traitements déjà reçus, du délai de progression et des toxicités.

## VI. Méthodologie statistique :

### 1. Saisie des données :

Les données des patientes ont été collectées à partir des dossiers personnels des malades archivés au sein de la salle des essais cliniques et les cahiers d'observation. Chaque donnée a été soigneusement recueillie et directement saisie sur le logiciel statistique SPSS 13.0 (IBM).

Chaque variable a été codifiée numériquement, 0/1 pour non/oui, et 1/2/3/... pour les variables à plusieurs classes. Les données manquantes correspondaient à des cases laissées vides.

La réponse clinique à la chimiothérapie néo-adjuvante était décrite

- Complète si les signes inflammatoires et cliniques initiaux avaient totalement disparus
- Partielle si on mettait en évidence une régression d'au moins 50% de la surface tumorale
- Stabilité : pas de différence avec l'aspect clinique initial
- Progression : augmentation des lésions, apparition de nouvelles lésions.

Le résultat mammographique a été exprimé en fonction de la classification ACR (American college of Radiology).

La classification pathologique pTNM (pathologic Tumor Node Mestastasis) a été faite selon la 7ème édition d'AJCC (American Joint Committee on Cancer) publiée en 2009 [20]

Le type histologique a été actualisé selon la plus récente classification de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), qui est celle de 2012.

Le grade de la tumeur a été évalué selon le grade SBR de Scarff-Bloom & Richardson modifié par Ellis et Elston.

Les sous types moléculaires du cancer du sein ont été déterminés sur la base du statut ER, PR et HER2 et classés selon 3 sous types.

Les variables recueillies depuis les fiches d'interrogatoire, le cahier d'observation et les dossiers médicaux des patientes concernaient les informations suivantes :

- Identification des patientes** : Numéro de dossier et numéro de la patiente dans étude.
- Données épidémiologiques** : Age, profession, scolarité, statut marital, ville de résidence, origine géographique, niveau socio-économique, poids (Kg), Taille (m).
- Antécédents gynécologique** : Age à la ménarche, contraception orale, âge à la première grossesse, nulliparité, nombre de grossesse, nombre d'accouchements, ménopause, traitement hormonal substitutif à la ménopause, antécédents personnels et familiaux des cancer gynéco-mammaires
- Antécédents non gynéco-obstétricaux** : Médicaux, Chirurgicaux, Allergies, Tabac Alcool, ATCD familiaux de cancer non gynéco-mammaires, traitements concomitants
- Caractéristiques cliniques** : date de début des signes cliniques, signes inflammatoires (peau d'orange, rougeur, ulcération, chaleur, oedème), rétraction et/ou écoulement

mamelonnaire, Mastodynie, induration, palpation de la masse, mobilité de la masse, examen des aires ganglionnaires, bilatéralité, signes généraux, poids et la taille, OMS.

date de bilan, taille mammographique (si présente), classification ACR,

**Bilan d'extension** : date et résultat de la mammographie bilatérale, échographie mammaire IRM mammaire, TDM TAP, TDM cérébrale, Scintigraphie osseuse et CA15/3, Echo-cœur NFS, Ionogramme, Fonction rénale, Bilan hépatique :

**Résultats anatomopathologiques et immunohistochimique sur la biopsie**: date de la biopsie, Type histologique Grade, KI 67; CK5/6, RE ; RP ; EGFR ; Her2 ( $\pm$  FISH/CISH) ; ALDH1 ; Autres

**Résultats de punch biopsie** : Emboles lymphatiques du derm

**Résultats de biologie moléculaire** ; étude d'expression de ALDH1 et le NOTCH par RT-PCR

**Traitement** : date de début et date de fin de chaque thérapie et l'évaluation de réponse au traitement, type et nombre de cycles de chimiothérapie, Radio-chimiothérapie concomitante type de chirurgie, évaluation de la réponse à la chimiothérapie, type de radiothérapie, type de thérapie ciblée, type d'hormonothérapie.

**Suivi** : Surveillance «3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30, 36 mois » ; progression (rechute, métastase), date de progression, traitement de la progression, date de la dernière consultation, statut de la patiente à la dernière consultation, date de décès.

## 2. Analyse des données

1) La première étape de l'analyse consistera à décrire les caractéristiques biomoléculaires

2) La 2ème étape consistera en une comparaison des différents paramètres relevés

3) La 3ème étape interviendra après maturité des données de survie sans progression et consisteront en un calcul des données de survie.

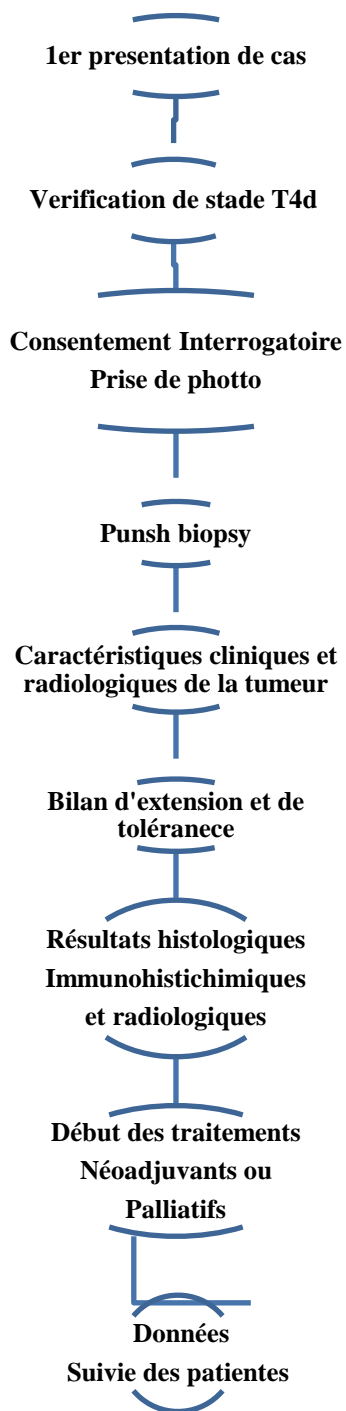
L'analyse descriptive des caractéristiques cliniques, histologiques et immunohistochimiques patientes a été effectuée. Pour les variables quantitatives nous avons calculé la moyenne, et le pourcentage pour les variables qualitatives. Lors de la comparaison de groupes, nous avons utilisé les tests paramétriques 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 SPSS version 20.0.

## **VII. Le suivi des patientes**

Les patientes ont été suivies prospectivement jusqu'au mois de Avril 2018. Nous avons été en mesure de calculer la survie globale pendant 3 ans.

Etant donné que les patientes sont suivies par l'équipe d'oncologie régulièrement la date de décès est mentionnée sur les dossiers des patientes ou bien par des appels téléphoniques pour calculer la survie globale des patientes.



**Figure 8** : méthodologie de Recueil des données

# RESULTATS

## C. RESULTATS

### I. La prévalence

83 patientes ont été retenues dans l'étude :

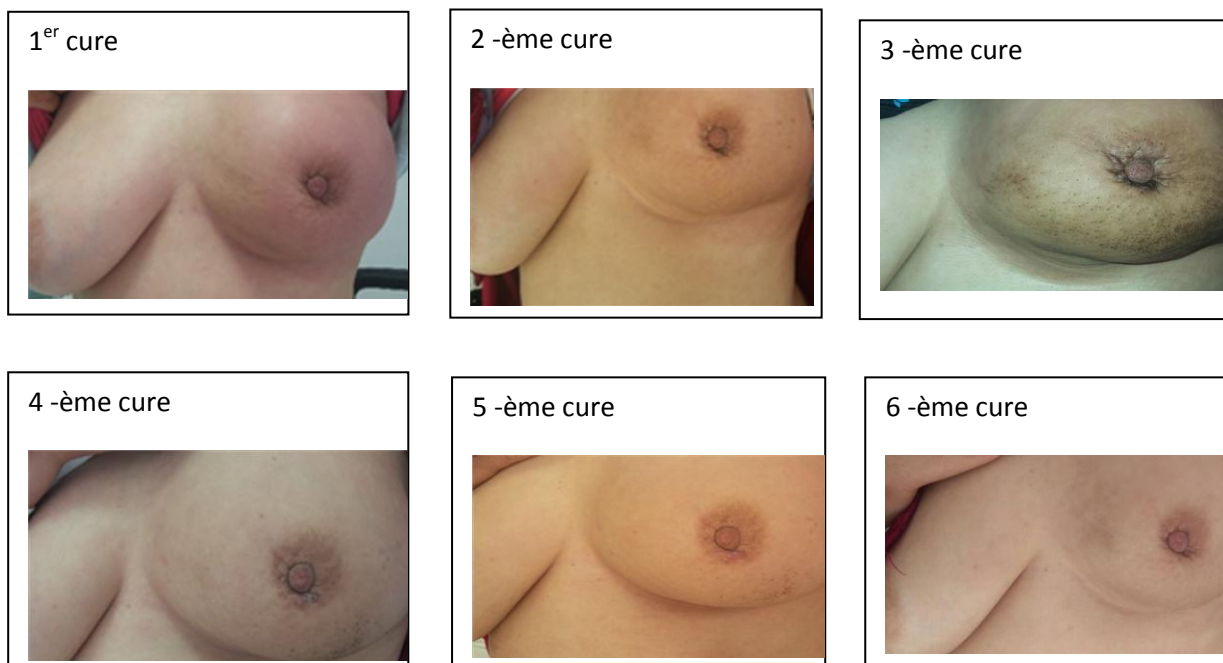
Tableau VI : Effectifs annuels des cancers du sein durant la période d'étude

Période	Du 13.07.2014 AU 31.12.2014	2015	2016	Du 01.01.2017 AU 13.07.2017
Effectifs	469	970	868	409

La prévalence sur toute la période d'étude pour les patientes avec un CIS est de 3,05%.

### II. La photothèque :

La réponse clinique au cours des traitements

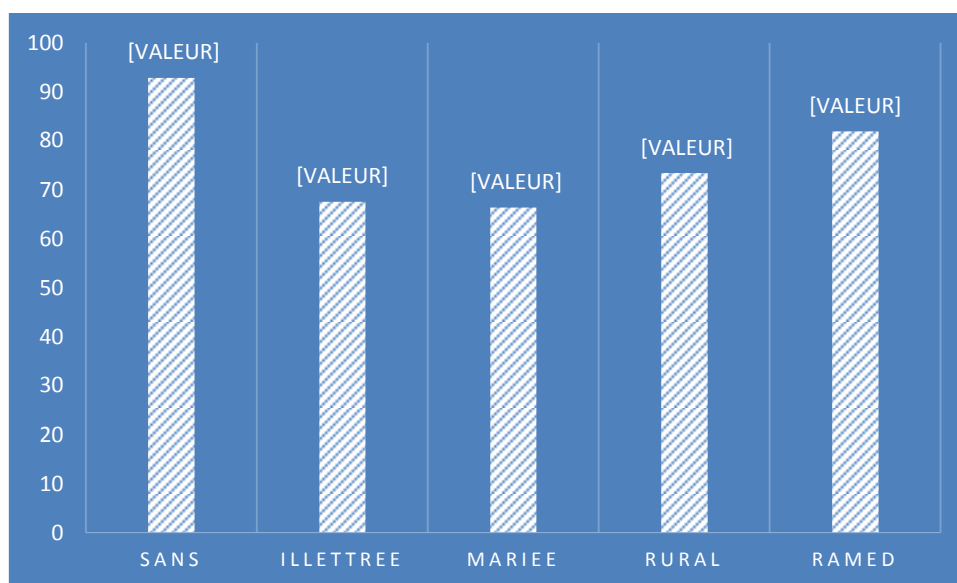


**Figure 9 :** photos du sein dans ordre chronologique de traitements

### III. Facteur socio démographique

**Tableau VII :** Répartition des patientes selon les Facteurs socio démographiques

Facteur socio démographique		Nombre	%
Profession	Active	6	7.2
	Sans	77	92.8
Scolarité	Illettré	56	67.5
	Primaire	8	9.6
	Secondaire	14	16.9
	Supérieur	5	6
Statut marital	Célibataire	12	14.5
	Marie	55	66.3
	Veuve ou divorcée	16	19.3
Milieu d'habitat	Urbain	22	26.6
	Rural	61	73.4
Couverture sociale	RAMED	68	81.9
	CNOPS	6	7.2
	CNSS	4	4.8
	Prive	5	6



**Figure 10 :** Répartition des patientes selon les Facteurs socio démographiques

Dans notre série 92.8% des patientes sans profession, la majorité des patientes sont mariées avec pourcentage de 67.5%, et (56 cas) 67.5% sont illettrée. La plupart des patientes sont de prévenance rurale 73.4% et la couverture sociale la plus dominat est la RAMED 81.9.



#### IV. Antécédents et Facteurs de risque

##### L'âge

Dans notre série l'âge médian au diagnostic était 48.2. L'âge minimum au diagnostic est de 28 ans et l'âge maximum est de 80 ans.

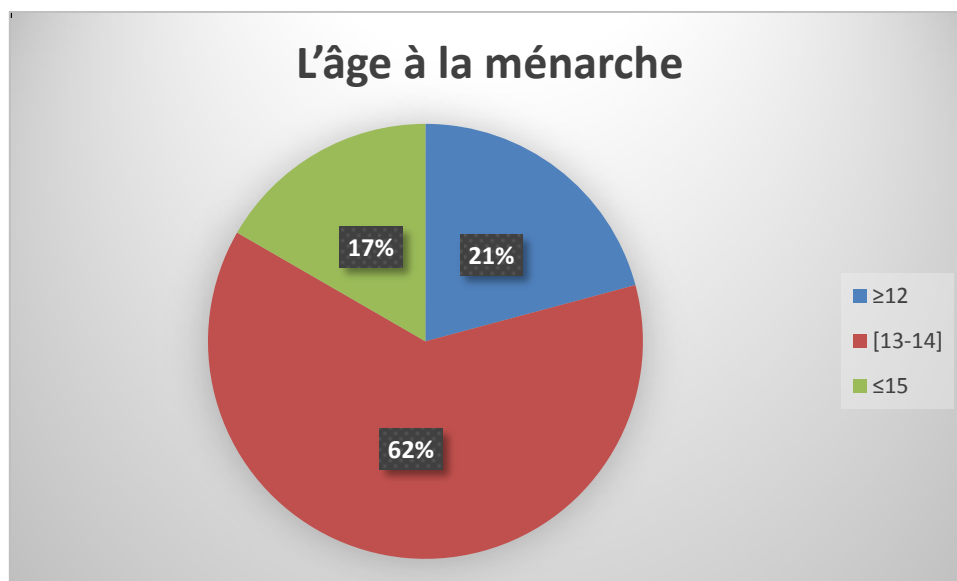
- 20.5% de la population de l'étude a moins de 40 ans.
- 62.7% a entre 40 et 59 ans.
- 16.8% a plus de 60 ans.

**Tableau VIII** : Effectifs par tranche d'âge

Tranche d'âge (années)	Effectifs	Pourcentage %
[20-29 ]	2	2.4
[30-39 ]	15	18.1
[40-49 ]	33	39.8
[50-59 ]	19	22.9
[60-69 ]	10	12
≤70	4	4.8

##### L'âge à la ménarche

Uniquement 24 patientes ont pu rapporter de façon exacte l'âge à la ménarche. Chez ces patientes ; il était entre 13 et 14 ans dans 62% des cas.



**Figure 11** : Répartition des patientes selon l'âge a la ménarche

## La parité

Les données de parité sont retrouvées pour 69 patientes. 2 patientes sont en post partum et 3 patientes été enceinte au moment du diagnostic :

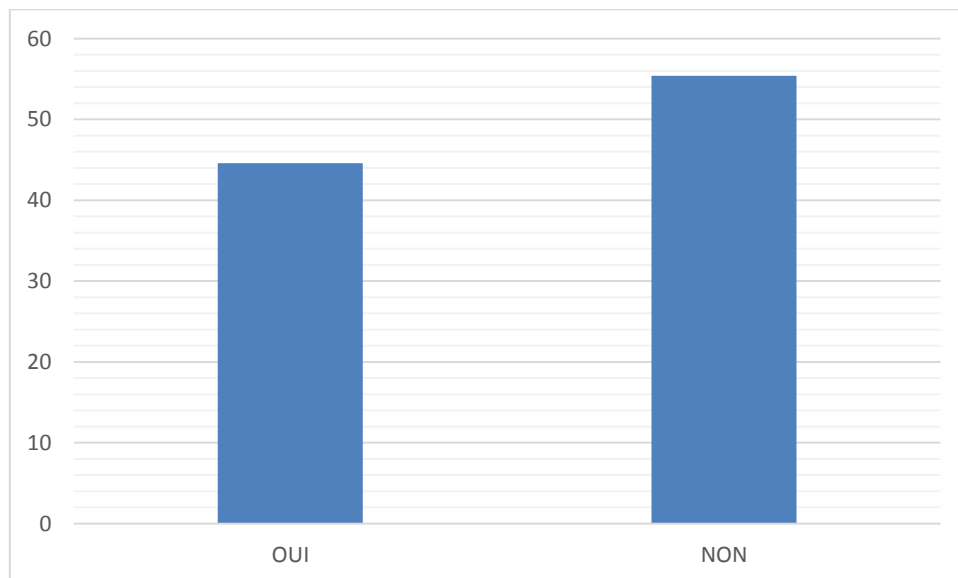
**Tableau IX** : Répartition des patientes selon le statut de parité

Parité	Nombre	%
0	16	24.1
1	20	30.1
2-3	25	26.5
≥ 4	22	19.3
Total	83	100

L'âge au premier enfant est retrouvé pour 55 des 69 patientes qui ont eu des enfants, soit dans 79,7% des cas. La moyenne d'âge au premier enfant est de 24,2 ans

## La contraception orale

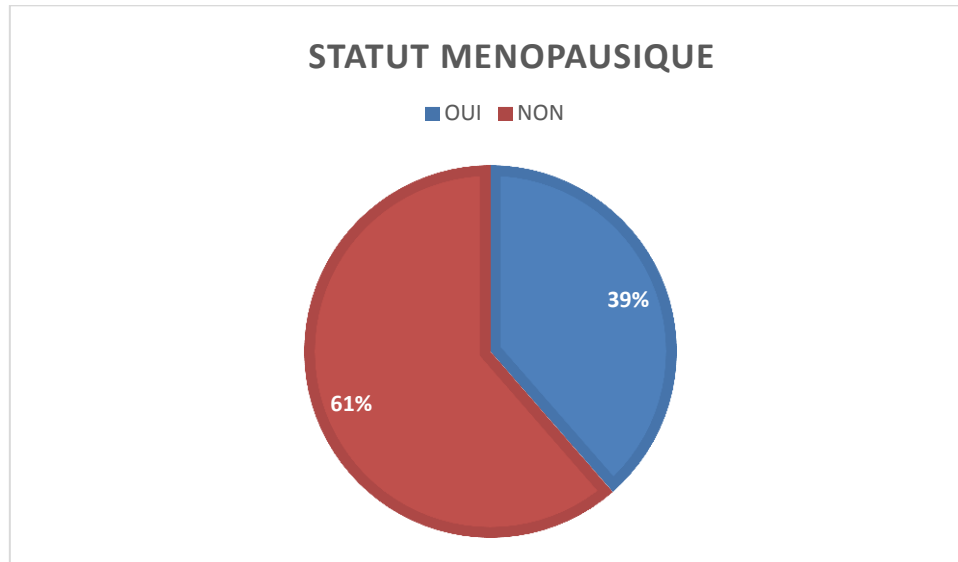
44.6% des patientes ont confirmé leur prise de contraceptifs oraux.



**Figure 12** : Répartition des patientes selon l'utilisation des contraceptifs oraux

## Le statut hormonal

Dans notre série, 61% des patientes ont été non ménopausées au moment du diagnostic.



**Figure 13** : Répartition des patientes selon statut ménopausique

## Les antécédents médicaux familiaux

12% des patientes avaient rapporté la présence d'un antécédent familial de cancer du sein. Et 6 avaient rapporté la présence d'un antécédent familial de cancer non gyneco-mammaire. Deux patientes bénéficié une consultation d'oncogénétique.

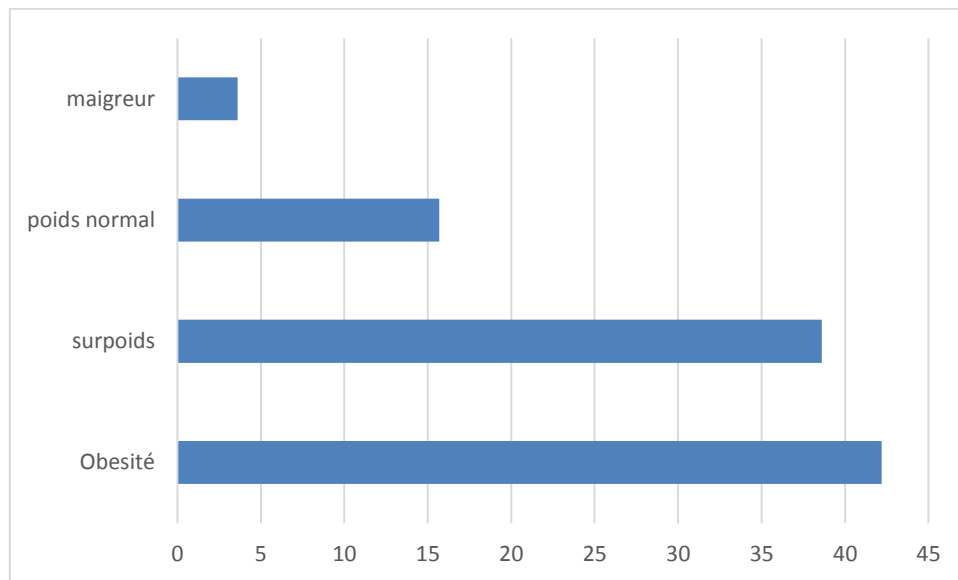
26.5% avaient des maladies concomitantes au moment du diagnostic.

**Tableau X** : Répartition des patientes selon Les antécédents médicaux

<i>Les antécédents</i>		Effectif	Pourcentage
ATCD personnel	Oui	1	1.2
	Non	83	98.8
ATCD familiaux	Oui	10	12
	Non	73	87.9
ATCD médicaux	Oui	22	26.5
	Non	61	73.5
ATCD chirurgicaux	Oui	5	6
	Non	78	94
ATCD familiaux non gyneco-obstétrico	Oui	5	6
	Non	78	94

## L'indice de masse corporelle (IMC)

L'IMC est en moyenne de 28,8 kg/m<sup>2</sup> qui signifie le surpoids selon les critères de l'OMS. La 38.6% des patientes ayant un IMC supérieur à 25 kg/m<sup>2</sup> et 42.2% des patientes ayant un IMC supérieur à 30 kg/m<sup>2</sup>.



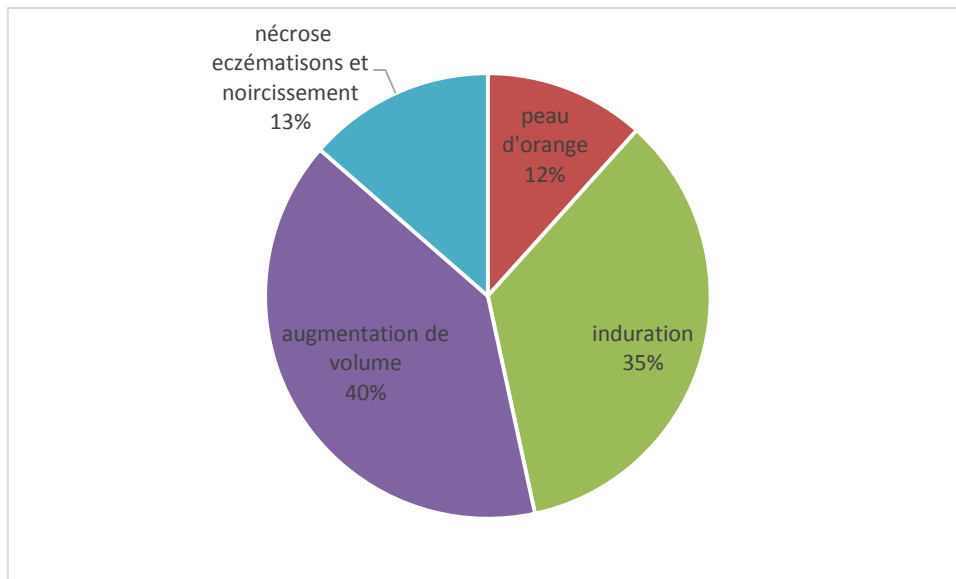
**Figure 14** : Répartition des patientes selon l'indice de masse corporelle

## V. Résultats cliniques

### Le délai de diagnostic

Le délai entre les premiers symptômes et la première consultation d'un médecin spécialiste est précisé pour toutes les patientes avec un signe clinique d'appel. Ce délai est de moins de 3mois dans 86,4% des cas. Ainsi, le délai moyen était de 3.4 mois avec des extrêmes de 1 jour et 9 mois.

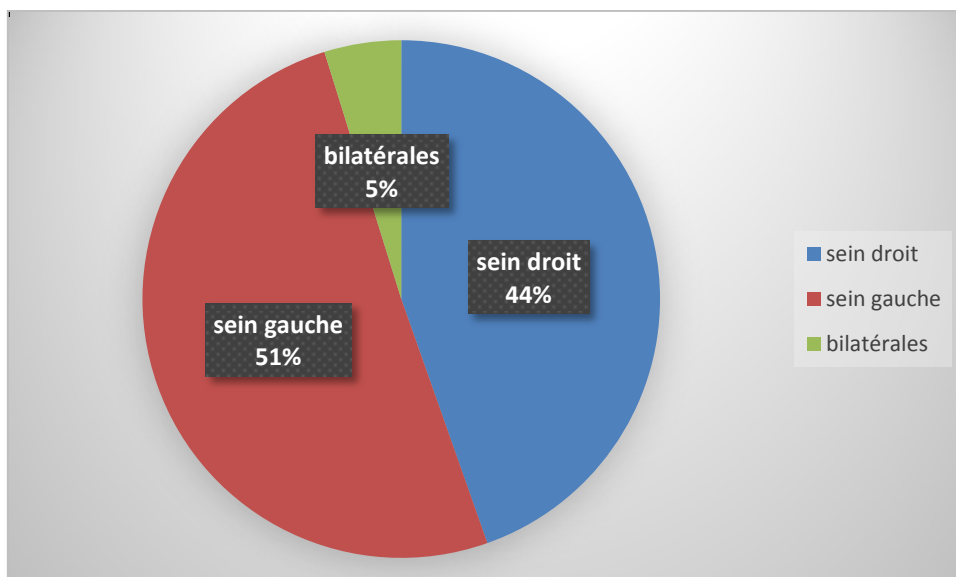
Sur le plan clinique, tous **les signes** qui définissent le cancer inflammatoire du sein étaient présents, mais de façon inconstante surtout la rougeur dans 83 cas, la peau d'orange dans 12 cas, la tumeur diffuse à la palpation dans 36 cas, nécrose eczématisons et noircissement dans 14 cas et l'augmentation de volume dans 41 cas



**Figure 15** : Répartition des patientes selon les signes cliniques

### Topographie de la tumeur

La topographie de la tumeur a montré une légère prédominance d'atteinte du sein gauche (51%), et nous avons trouvé que les tumeurs bilatérales sont présentes chez (4.8%)



**Figure 16** : Répartition des patientes selon la topographie de la tumeur

## VI. Le bilan d'extension

### Résultats de la mammographie

On retrouve des modifications du sein, spécifiques de l'inflammation à savoir :

L'épaississement cutané et l'augmentation diffuse de la densité. Dans notre étude, on retrouve des anomalies mammographiques dans 97 % avec prédominance de microcalcification dans 31,3%.

**Tableau XI** : Répartition des patientes selon les résultats de la mammographie

Anomalies mammographiques		<i>Nombre</i>	<i>Pourcentage</i>
Epaississement cutané		<b>54</b>	<b>65.6</b>
Augmentation diffuse de la densité		<b>8</b>	<b>9.6</b>
Microcalcifications		<b>26</b>	<b>31.3</b>
Mastite		<b>25</b>	<b>30.1</b>
Adénopathies axillaires		<b>47</b>	<b>56.6</b>
Cancer controlatéral synchrone		<b>4</b>	<b>4</b>
<i>Multifocal</i>		<b>8</b>	<b>9.6</b>
<i>ACR</i>	<i>ACR4</i>	<b>12</b>	<b>14.4</b>
	<i>ACR5</i>	<b>71</b>	<b>85.5</b>

### Un bilan d'extension

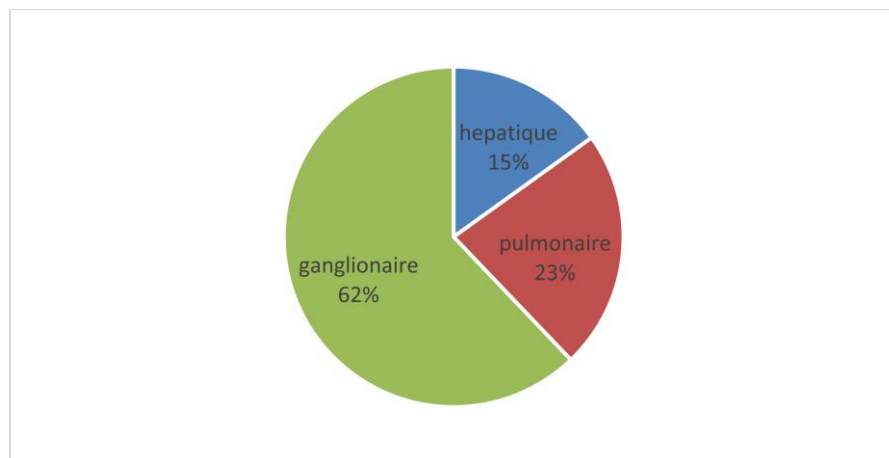
Un bilan d'extension est réalisé pour toutes patientes. Il consiste, Dans la majorité des cas, le en l'association tomодensitométrie (TDM) thoraco-abdomino-pelvienne (TAP), cérébrale et scintigraphie osseuse.

**Tableau XII** : Répartition des patientes selon les résultats du bilan d'extension

Type d'imagerie		<b>Nombre</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>TDM-TAP</b>	<b>Normale</b>	<b>62</b>	<b>74.6</b>
	<b>Anormale</b>	<b>21</b>	<b>25.3</b>
<b>TDM-cérébrale</b>	<b>Normale</b>	<b>78</b>	<b>94</b>
	<b>Anormale</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Scintigraphie osseuse</b>	<b>Normale</b>	<b>76</b>	<b>91.6</b>
	<b>Anormale</b>	<b>7</b>	<b>8.4</b>

## Siège des métastases

Les métastases hépatiques étaient enregistrées dans 18% des cas. Alors qu'il s'agissait de métastases ganglionnaires et de métastases pulmonaires respectivement chez 62% et 23% des patientes



**Figure 17** : Répartition des patientes selon le siège des métastases

En comparant les résultats du type moléculaire avec les deux stades (Tableau XII), nous n'avons pas trouvé une différence significative ( $p = 0.3$ ).

**Tableau XII** : Tableau comparatif du résultat du type moléculaire des deux stades

	STADE		P
	III (71.1%)	IV (28.9%)	
Luminal	20.6	8.4	0.3
HER2	22	9	
TN	14.9	6.1	
Inconnu	1.4	0	

## VII. Résultats histologiques et immunohistochimique :

Toutes les patientes ont bénéficié d'une biopsie de la tumeur. Les résultats immunohistochimie et classification moléculaire dans le tableau.

**Tableau XII** : Répartition des patientes selon le profil immunohistochimie

		Effectif (n)	Pourcentage%
Type histologique	CCI	78	94
	CLI	2	2.4
	Autre	3	3.6
Grade SBR	II	48	57.8
	III	33	39.8
Emboles lymphatiques du derme	Présente	14	19.1
	Absente	57	80.1
EV	Positif	23	27.7
	Négatif	58	69.9
CIC	Positif	64	77.1
	Négatif	17	20.5
RE	Positif	45	54.2
	Négatif	37	44.6
RP	Positif	40	48.2
	Négatif	42	50.6
HER2	Positif	31	37.3
	Négatif	50	60.2
HER2 score 2	Amplifie	4	0.4
	Non amplifie	6	0.6
Type moléculaire	Luminal	29	34.9
	HER	32	38.3
	Triple négatif	21	25.3
	Inconnu	1	1.4
KI67	Faible	15	19.2
	Élevé $\geq$ 20	65	80.7
EGFR *	Positif	14	16.9
	Négatif	34	41
CK5/6**	Positif	7	8.4
	Négatif	48	57.8
ALDH1	Positif	21	60
	Négatif	60	21

\*/\*\* recherche seulement dans le triple-négatifs



### **Type histologique :**

Le type histologique prédominant est le carcinome canalaire infiltrant retrouvé chez 94% des patientes. Le carcinome lobulaire infiltrant n'est présent que chez 2 patientes. Le reste est représenté par des autres types avec un pourcentage de 3.6%.

### **Grade histo-pronostique SBR :**

La quasi-totalité des tumeurs sont de mauvais pronostic, avec grade SBR II dans 48 cas, grade SBR III dans 33 cas.

### **Emboles vasculaires :**

Des emboles vasculaires ont été mis en évidence dans 27,7 % de tumeurs analysées.

### **Composante intra canalaire :**

La CIC est observée chez 64 patientes soit 77.1% des cas

### **Récepteurs hormonaux :**

Les récepteurs hormonaux étaient négatifs dans 48.1% des cas, dont 44.6% pour les RE et 50.6% pour les RP.

### **L'expression de la protéine HER 2 par IHC et/ou FISH:**

L'analyse a porté sur 82 cas. Parmi les cas étudiés pour l'expression de l'onco-protéine HER2, on retrouve une surexpression dans 37,3% des cas.

### **Le marqueur de prolifération Ki67 :**

Dans notre série, l'expression du marqueur de prolifération Ki67 a été effectuée pour 80 cas et 80.7% des tumeurs avaient un index de prolifération élevé ( $\geq 20$  %).

### **Classification moléculaire basée sur IHC :**

Dans notre série, la classe Her2+ est la classe moléculaire retrouvée la plus fréquente avec 38,38% des cas, suivi des cancers Luminal 34.9%, et en dernier lieu vient le type triple négatif qui représente 25.3% de l'ensemble des cas étudiés.

### **Aldehyde dehydrogenases 1 :**

La recherche de l'expression du marqueur ALDH1 a été effectuée pour 80 cas. 75% des tumeurs avaient une expression positive.

## EGFR et CK5/6 :

La recherche de l'expression de l'EGFR et du CK5/6 a été exclusivement réalisée pour les tumeurs de type triple négatif. La positivité d'expression de CK5.6 et EGFR est retrouvée dans 8.5% et 16.3% des cas, respectivement.

## VIII. Résultats biologie moléculaire :

**Tableau XIII :** Mesure de l'expression de l'ALDH1A1 et le NOTCH1 avec PCR en temps réel

Expression	-	+	+++	+++
ALDH1 (%)	12	48	24	16
NOTCH (%)	13.8	29.3	20.6	36.3

Tous les échantillons ont été classés en fonction du statut d'expression ALDH1 et NOTCH1, comme décrit dans la section Matériels et méthodes.

La RT-PCR quantitative en temps réel a montré une expression de ALDH1 (ALDH1 +) et NOTCH 1 (NOTCH +) dans 44 (88%) et 50 (87,2%) cas, respectivement. Tandis que 6 (12%) et 8 (13,8%) cas étaient négatifs pour l'expression de ALDH1 et NOTCH1, respectivement. Parmi les ALDH +, 24 (48%) ont une expression de ALDH1 faible, 12 (24%) modérée et 8 (12%) forte. Pour NOTCH1 +, 17 (29,3%) ont une expression de NOTCH1 faible, 12 (20,6%) modérée et 21 (36,2%) forte.

## IX. Traitements

### Traitements reçus

La décision thérapeutique a été basée sur les résultats du bilan d'extension. Les traitements administrés dans notre série sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	Effectif	Pourcentage
Chimiothérapie néoadjuvante	59	71.08
Chimiothérapie palliative	14	16.8
Hormonothérapie néoadjuvante	1	1.2
Chirurgie de propreté	0	0
Radiothérapie palliative	4	4.8
Néant	5	6.02

### **Chimiothérapie Néoadjuvante :**

59 des patientes en situation non métastatique ont reçu une chimiothérapie néoadjuvante.

6 patientes n'ont pas reçu aucuns traitements, à cause d'un mauvais état général ou un décès.

Un protocole d'association séquentielle avec anthracyclines et taxanes a été délivré chez toute patientes non métastatiques dont 36 patientes ont une réponse clinique complète à la chimiothérapie néoadjuvante, bénéficiant d'une mastectomie totale avec un curage axillaire.

Les patientes ont reçu en moyenne 4 cycles en néoadjuvant avec un minimum de 3 cycles et un maximum de 9. 20 patientes ont reçu le trastuzumab en néoadjuvant, en concomitance avec les taxanes, dont dix ont été poursuivi pendant un an.

### **La radio-chimiothérapie concomitante**

3 patientes ont été candidates pour une RCC, cependant une seule patiente a pu bénéficier de ce type de traitement.

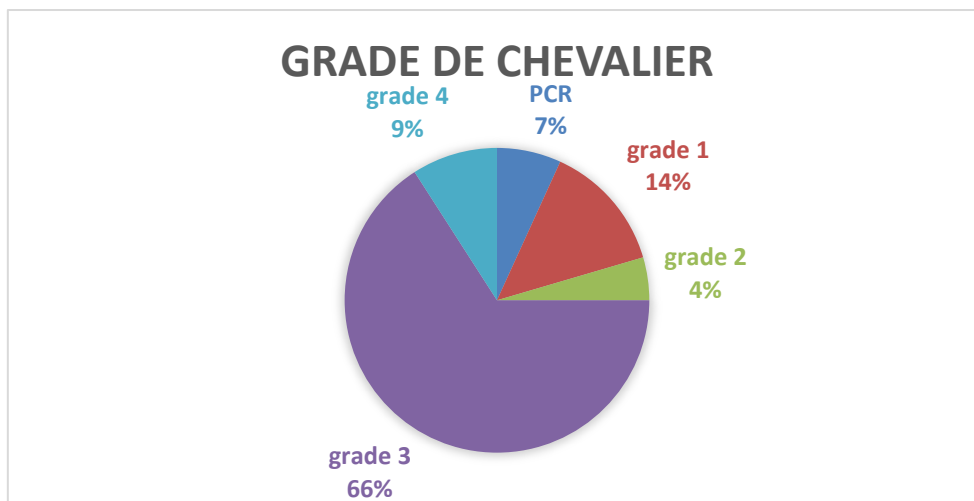
### **Chirurgie :**

Parmi 83 patientes incluses, 49.3% ont pu être opéré avec réalisation d'un Patey ou mastectomie de propreté (6 cas). Le reste des patientes étaient non opérables, soit à cause de l'absence de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante ou d'une progression clinique.

Seule une patiente avec un cancer du sein métastatique a pu exceptionnellement bénéficier d'une mastectomie de propreté, vu le saignement important et l'infection au niveau de la tumeur.

### **X. Etude de la réponse histologique :**

L'évaluation histologique était faite en se basant sur le grade de chevalier. Dans notre série, 6.8% des patientes ayant reçu une chimiothérapie néoadjuvante ont obtenu une réponse histologique complète (pCR) au niveau du sein et 66% avec une réponse de grade 3 de chevalier.



**Figure 19** : Répartition des patientes selon la réponse histologique

### **La radiothérapie**

La radiothérapie a été pratiquée chez 14/36 patientes soit 36,1%. Le reste des patientes n'ayant pas bénéficié d'une radiothérapie ont, soit connu une rechute avant la radiothérapie, soit qu'elles n'étaient pas candidates à l'irradiation.

### ***Hormonothérapie adjuvante :***

66.6% des patientes opérées étaient RH (+), dont une hormonothérapie à base de Tamoxifène, ou Anti-aromatase, a été administrée chez 94%.

### **Traitements métastatiques :**

#### ***Sites métastatiques :***

23 patientes étaient métastatiques d'emblée.

Les différentes localisations métastatiques variaient, avec un ordre d'atteinte décroissant, entre l'os, le poumon, le foie, et enfin une localisation cérébrale qui était retrouvée chez 3 patientes.

#### ***Chimiothérapie :***

14 patientes d'emblée métastatiques ont reçu une chimiothérapie palliative.

Les protocoles étaient hétérogènes, essentiellement à base d'anthracyclines (85% des cas).

## XI. Caractéristiques clinico-pathologiques des cas associés à l'expression de ALDH1

**Tableau : Corrélations de l'expression de l'ALDH1 avec les caractéristiques histo-cliniques**

Paramètres		ALDH1 POSITIF	ALDH1 NEGATIF	p-value
Age au diagnostic (ans)	≥50	39.6	13.4	0.45
	>50	22.4	7.6	
Grossesse antérieure	Oui	11.2	3.8	0.89
	Non	50.8	17.2	
Comorbidités	Oui	45.6	15.4	0.45
	Non	16.4	5.6	
ATCD familial	Oui	7.4	2.6	0.77
	Non	54.6	18.4	
Contraception oral	Oui	27.6	9.4	0.85
	Non	34.4	11.6	
Obésité	Oui	35.9	12.1	0.14
	Non	26.1	8.9	
Stades	IV	17.9	6.1	0.65
	III	44.1	14.9	
Type Histologique	canalair	58.3	19.7	0.79
	Lobulair	1.2	0.5	
	Autre	2.1	0.9	
Embol Lympho-vasculaire	Oui	10.5	3.5	0.27
	Non	44.1	14.9	
	NA	7.4	2.6	
Grade SBR	II	35.8	13.1	0.78
	III	24.7	8.3	
Ki67	Faibl	8.7	3.3	0.36
	forte	47.3	17.7	
Statue ER	Positive	27.5	9.5	0.45
	Negative	33.5	11.5	
Statue PR	Positive	31.2	10.8	0.37
	Negative	29.8	10.2	
Statue HER2 (ERBB2)	Positive	35.2	16.6	0.58
	Negative	29.7	8.3	
Sous type moléculaire	L.B	15.6	5.4	0.27
	HER	21.5	7.4	
	TN	23	8	
Reponse au traitement	Oui	35.1	11.9	0.33
	Non	26.9	9.1	

Nous avons cherché des corrélations entre l'expression de ALDH1 en IHC et les caractéristiques histo-cliniques de nos patientes. Comme le montre le **Tableau** aucune corrélation significative n'a été établie avec les paramètres étudiés des patientes, entre les échantillons L'ALDH1 négatifs et L'ALDH1 positifs

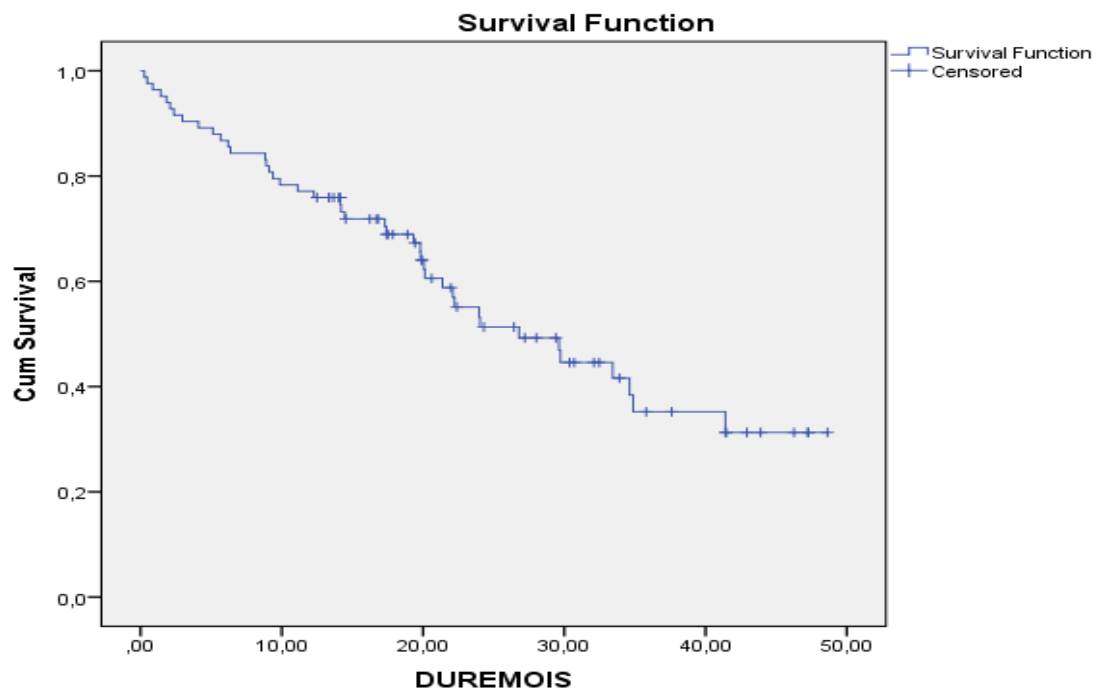
## XII. Evolution et survie

### Modalités de surveillance :

L'ensemble de nos patientes ont été surveillées chaque trois à 3mois durant les 2 premières années, puis tous les six à douze mois. Les examens complémentaires étaient demandés en fonction des signes d'appels.

### Survie globale (SG) :

La médiane de survie globale chez nos patientes été de 19,2 mois.



**Figure 20** : Survie sans progression des patientes avec CSI

# DISCUSSION

## D. Discussion

### I. L'incidence

L'incidence du cancer du sein est 4 à 6 fois inférieure dans les pays développés par rapport aux pays en voie de développement. Une estimation de 2,08 millions de nouveaux cas diagnostiqués en 2018 et de 626.679 décès par an [21].

Au Maroc, comme dans le reste du monde le cancer du sein est le premier cancer chez la femme, avec 36,4 nouveaux cas / 100 000 habitants par an selon le RCRC et 43,4 nouveaux cas / 100 000 habitants selon le RECRAB [22] [23].

La classification en sous-groupes du CS a concerné le profil biomoléculaire, mais également le contexte épidémiologique, clinique et évolutif. Parmi les entités cliniques particulièrement agressives associées aux CS, on retrouve les cancers du sein de femme jeune ( $\leq 35$  ans) et les cancers du sein inflammatoires ou CSI.

Les fréquences les plus élevées sont enregistrées dans le Nord de l'Afrique. Les premières publications tunisiennes sur le CSI rapportent une incidence élevée. Les résultats de ces publications ont montré que 50% des patientes avaient un CSI, mais il s'est avéré que ces études confondaient la classe T4d avec les cancers du sein localement avancés ou négligés.

Selon la base de données du SEER (Surveillance, Epidemiology and End results), l'incidence du CSI entre les années 1992-1999 aux États-Unis a été de 1,3% [2]. La même incidence a été enregistrée en Europe[22]. Comparativement aux autres pays du Maghreb, Boussen et al. ont montré, après réévaluation des registres tunisiens, une diminution de l'incidence du CSI en Tunisie à environ 7% [4]. En Turquie, une incidence de 5,1% est enregistrée entre 1988 et 2000 [23].

Dans notre série, tu mets les résultats et tu dis que nous avons trouvé une incidence inférieure plus proche de l'occident. Cela peut être dû soit à une sélection prospective plus rigoureuse des patientes ou à une modification de l'épidémiologie du cancer du sein dans notre région.

**Tableau XIV** : Fréquence du cancer du sein inflammatoire à travers le monde

Série	USA [2]	Europe [22]	Turquie [23]	Tunisie [4]	Maroc (autres série) [7]	Maroc (notre serie)
Incidences	1.3%	2%	5.1%	7%	4%	3%



## I. L'âge

La survenue à un âge jeune est l'une des principales caractéristiques du cancer du sein inflammatoire[24]. Selon Wingo et Al, l'incidence du cancer inflammatoire du sein varie selon l'appartenance ethnique et l'âge [25]. Une moyenne d'âge de l'ordre de 42 ans a été retrouvée au sein de la population Tunisienne à travers la série d'Emmanuelle Charaffe [26]. Comparativement aux autres études Sherry et al ont trouvé un âge moyen de 52 ans en USA, alors que l'étude de Brooks et al en Jamaïque et l'étude de Gunhen en Turquie a montré un âge moyen de 60.8 et 48 ans respectivement [23] [27] [28].

Cette grande disparité de moyen d'âge des patientes atteintes CSI entre les continents et les pays peut être expliquée par la différence des pyramides d'âge entre les populations et surtout la fréquence de la tranche jeune par rapport à la tranche âgée.

**Tableau XV** : Age moyen du cancer du sein inflammatoire à travers des série

Série	Charaffe Tunisie [26]	Gunhen Turquie [23]	Sherry USA [27]	Brooks Jamaïque [28]	Maroc
Age moyen	42 ans	48 ans	52 ans	60.8 ans	48.2

## II. Facteurs de risque

### L'âge aux premières règles (ménarche)

Plusieurs études suggèrent que l'âge des premières règles est un facteur de risque de CS, plus les règles surviennent tôt (<12ans) plus le risque de cancer du sein est augmenté. Pour chaque deux ans de retard à la puberté, le risque de cancer du sein diminuerait de dix pourcent [29]. Dans la série Tunisienne récente de 208 femmes, 56% avaient eu leurs premières règles avant 12 ans [30]. Des études ont rapporté que les patientes ayant un CSI étaient plus jeunes à la ménarche et au moment de leur première grossesse, et qu'une proportion plus élevée de ces patientes étaient en pré-ménopause [31]. Dans notre série, l'âge moyen de la ménarche était 13,51 ans.

## **Contraception hormonale**

Une étude (2012) de type cas témoin a été conduite par les chercheurs américains du Centre de Prévention et de Contrôle des Maladies (Center for Disease Control and Prevention) et de l'Institut national de Santé (National Institute of Health) sur un échantillon de 4575 femmes atteintes de CS. Ils ont conclu que 77 % des femmes prenaient ou avaient pris la pilule. Cette étude indique à nouveau que le risque de cancer du sein était élevé chez les femmes qui ont pris la pilule contraceptive pendant plusieurs années [32]. Nos résultats ne sont pas comparables à ceux de cette dernière étude puisque seulement 44,6% de nos patientes prenaient la pilule pendant une longue durée (8ans et 8mois en moyenne).

## **L'âge à la première grossesse**

L'âge de la première grossesse a un rôle important dans la genèse du cancer du sein. Ce risque est élevé quand la première grossesse est supérieure à 30 ans. Ce risque semble diminuer si la première grossesse survient avant 30 ans. Une méta-analyse a conclu qu'une femme qui a sa première grossesse après 35 ans présentait un risque d'environ 1,5 fois supérieur à celle qui l'avait à 20 ans[33]. Plus cette première grossesse survient tôt, mieux son effet protecteur augmente [34] [35]. L'association cancer inflammatoire du sein et grossesse a été observée chez 4 femmes soit 5% des cas.

## **L'allaitement**

L'allaitement pendant une longue période est associé à un risque réduit de cancer du sein inflammatoire et ce même chez les patientes porteuses de la mutation BRCA1. La plupart des études épidémiologiques ont trouvé une relation inversée entre la durée d'allaitement et le risque du cancer du sein. Ainsi une méta-analyse faite en 2002 incluant 47 études cas témoins et cohortes a conclu que le risque de cancer du sein diminue de 4.3 % tous les 12 mois d'allaitement et que cette diminution n'est pas influencée par les autres facteurs de risque[36] [37]. Plusieurs hypothèses ont été avancées concernant les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la réduction de risque du cancer chez la femme allaitante à savoir la diminution du nombre de cycle ovulatoires, la différenciation cellulaire de l'épithélium mammaire pendant la lactation et l'excrétion d'agents carcinogène par le lait [38]. Dans une étude récente, l'allaitement semble être un facteur de risque associé aux CSI [39]. Dans notre étude la fréquence de allaitement est de 54% avec une durée moyenne de 2.4 ans.

### Statut hormonal

Un âge avancé à la ménopause (après 55 ans) se trouve souvent comme facteur de risque de développement d'un cancer du sein. Le risque de cancer du sein semble augmenter de 3 % par année de retard à la ménopause après l'âge de 55 ans [40]. Dans la série, Nord-Africaines et moyens orient, l'âge moyen jeune des patientes, ayant un CSI, fait que plus de 50% d'entre elles sont pré ménopausées[41]. Ceci peut être expliqué par l'incidence plus importante du cancer du sein inflammatoire chez les jeunes patientes.

Dans notre étude on note une prédominance des femmes en période d'activité génitale (58,7%), ceci rejoint les résultats de la série tunisienne de Boussen [30] , contrairement à d'autres séries européennes, ou le pourcentage des patientes ménopausées est supérieur.

**Tableau XVI** : les pourcentages des femmes non ménopausées à travers des série du cancer du sein inflammatoire

Série	% des patiente non ménopausées
USA	41.8
CANADA	40.9
TUNISIE	75%
MAROC	61.1%

### Les facteurs familiaux

Le risque relatif de développer un cancer du sein pour tout lien de parenté de parente est de 1.9 et l'excès de risque est plus marqué chez les femmes plus jeunes et quand la maladie touche un parent proche de 1<sup>er</sup> degré avant l'âge de 50 ans (68).

Le rôle des facteurs génétiques dans l'épidémiologie et la pathogénie du carcinome mammaire sporadique et du carcinome héréditaire du sein est maintenant bien établi.

**Tableau XVII** : Incidence des antécédents familiale à travers trois séries du cancer du sein inflammatoire

Pays	MAROC	TUNISIE	France
Incidence	12%	9%	19%

### III. Niveau Socio-Economique

Le niveau de vie élevé et la vie urbaine semblent augmenter l'incidence du CS mais la mortalité liée au cancer du sein est plus élevée chez les femmes de statut socioéconomique plus faible et dans les pays moins riches. Toutes les études statistiques prouvent que ce cancer frappe nettement plus les pays industrialisés que les pays en voie de développement ou sous-développés où le niveau de vie est bas [42]. Les descriptions initiales de CSI concernaient des femmes jeunes-très jeunes (<45 ans - <35 ans), d'origine rurale et de conditions socio-économiques modestes [43]. Dans notre série 60.2% des patientes avaient un NSE bas. Cependant Il existe de nombreuses raisons pour lesquelles le NES peut contribuer à des résultats plus médiocres tel que l'accès aux soins de santé, le traitement adéquats et la comorbidité.

### IV. Le statut pondéral :

L'OMS définit le surpoids et l'obésité comme « une accumulation anormale ou excessive de graisse qui présente un risque pour la santé ». L'obésité chez les femmes ménopausées augmente le risque de cancer du sein. Par contre chez les patientes non ménopausées, elle n'a pas d'effet sur ce risque. Un indice de masse corporelle (IMC) élevé supérieur à 25 voir 30, semble être associer aux CSI [33] [39]. Ces liens peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs à savoir le surpoids qui favorise la prolifération des cellules et l'inflammation chronique.

Ceci ne concorde pas avec nos résultats, puisque parmi les 41% de cas d'obésité observé dans notre échantillon 29,4% d'entre elles n'étaient pas ménopausées alors qu'il y avait seulement 11,6% d'obésité de post ménopausiques.

Physiologiquement, le tissu adipeux n'intervient que très peu dans la production d'oestrogènes (avant la ménopause). Par contre, une augmentation de la masse grasse corporelle est responsable d'une augmentation du taux d'aromatases (adipeuses) et d'une conversion excessive d'androgènes en oestrone. L'augmentation des taux d'oestrogènes sanguins et d'oestrogènes intra tumoraux qui en découlent majorent l'imprégnation ostrogénique des tissus et expliquent en partie que les cancers hormono-dépendants soient plus fréquents chez les femmes obèses [44]. Il est admis que l'Indice de Masse Corporelle (IMC) ainsi que le pourcentage de masse grasse sont des facteurs favorisant l'apparition de cancers. Une surcharge pondérale est responsable d'une augmentation du risque de cancer du sein de 30% [45] et une prise de 15 à 20 kilogrammes par rapport à un poids stable ( $\pm 2$  kg), entraînerait une augmentation du risque relatif de 15 % [Risque Relatif 1,5 (1,06 ; 2,13)] [46]. Selon les experts, l'obésité serait liée à un risque plus élevé de cancer du sein après la

ménopause alors qu'elle aurait un impact plus favorable avant la ménopause [47]. Le rôle de l'IMC dans l'augmentation du risque de récurrence chez les femmes ménopausées était expliqué par la production excessive d'œstrogènes par aromatisation périphérique de corticostéroïdes dans le tissu adipeux [48]. Cependant, il y a un nombre croissant de preuves indiquant que l'IMC est un facteur pronostique indépendant du statut ménopausique [49]. Schairer et al. ont observé une association entre l'obésité et le CSI, avec 32,6% versus 26,1% de femmes obèses dans le groupe CSI et CSLA non inflammatoires respectivement (56). Une autre cohorte rapportée par Dawood et al stipule qu'un IMC > 30 est associé au CSI ( $p=0,01$ ) [50]. Cette dernière étude suggère aussi une valeur pronostique de l'IMC.

Dans notre série, le surpoids/obésité a été retrouvé chez 59% des patientes. L'examen d'une cohorte de patients CSI au MD Anderson Cancer Center a révélé que 50% des patients étaient obèses (IMC supérieur à 30) [51]. Une étude monocentrique de Chang et al. a montré que l'indice de masse corporelle élevé (IMC) était fortement et significativement associé à un risque accru de CSI (OR 2,45, 95% IC (1,05 - 5,73)) [49].

## V. Délai de diagnostic

Il est important de reconnaître qu'il n'existe pas en générale des variations dans la présentation entre les vrais cancers du sein inflammatoire, et les cancers du sein localement avancé CSLA, le seul critère de distinction est le délai d'apparition des symptômes selon AJCC[9]. Pour les CSI (T4d) ce délai est moins de 6 mois alors au-delà de ce délai ce sont de CSLA généralement négligés. Dans notre série ce délai est de moins de 3 mois dans 86,4% des cas.

### Les critères diagnostiques du CSI :

Cliniquement, les patientes atteintes du CSI se présentent à un âge précoce par rapport à celles avec un carcinome non inflammatoire [31]. La progression tumorale est rapide estimée en moyenne à six mois avec des signes inflammatoires. La masse tumorale est inconstante.

De même pour la série de Gunhan Belgen, sauf que l'augmentation de volume n'a pas été recherché. Pourtant, la série de Lucas [52] s'est caractérisée par un taux élevé d'érythème diffus ainsi qu'à la rétraction mamelonnaire et œdème étendu.

L'étude Schairer suggère que les critères de diagnostic des CSI varient selon les médecins et les établissements [53].

**Tableau XVIII** : pourcentages des différents signes cliniques à travers des série du cancer du sein inflammatoire

Critère clinique	Hagenseen (USA) <sup>53</sup>	Gunhan (Turkie) [23]	Lucas [52] (Colombie)	Kyung (Korea) [54]	Notre serie
	%				
Épaississement cutané	57	96	82	100	<b>66</b>
Augmentation diffuse de la densité	48	-	59	77	<b>96</b>
Mastite	57	73	-	-	<b>31</b>
Mastodynie		-	51	-	<b>30</b>
Peau d'orange	29	--	67	-	<b>56</b>
Prolongement axillaire	-	73	68	55	62

#### **Bilan d'extension :**

Les progrès significatifs dans les techniques d'imagerie ont amélioré le diagnostic et la classification du CSI par conséquent le rôle de l'imagerie pour les femmes suspectées d'un CSI est celui d'identifier une tumeur primaire du sein pour faciliter la biopsie et aussi comme moyen d'évaluation de la réponse au traitement [55].

Le signe le plus souvent observé de CSI à la mammographie est, sans surprise, un épaissement de la peau. La présence d'une masse semble être la plus variable constatation dans la mammographie du CSI. Alors qu'une masse est souvent palpable cliniquement (82% selon Dershaw et al 97% par Tardivon et al, et 62% par Gunhan-Bilgen et al), une masse correspondante est) souvent invisible sur la mammographie. Ceci peut être attribué à l'augmentation globale de la densité de la poitrine, qui masque les masses, et la nature infiltrante de la tumeur. Des études plus anciennes sur le CSI semblent inclure un pourcentage plus grand de cancers bilatéraux Haagensen (1971) a signalé 30% de cancers bilatéraux <sup>53</sup>. Les études les plus récentes présentent uniformément un taux beaucoup plus bas de cancer bilatéral, peut-être en raison de la séparation de l'CSI de cancer du sein localement avancé

Le rôle de l'échographie dans le cancer du sein inflammatoire est limité ; cependant, cela peut être utile en tant que localisation outil dans la biopsie des patients avec des masses visibles,

Il est bien établi que 20% à 30% des femmes nouvellement diagnostiquées d'un CSI ont des métastases à distance au moment du diagnostic, l'imagerie peut également être utile dans l'identification de ces métastases à distance [56]

Notre étude a montré que 78% des patientes avec CSI présentaient des métastases ganglionnaire et 25% présentaient des métastases a distance. Les sites de métastase comprenaient les os, le foie, l'aisselle controlatérale, les poumons et la paroi thoracique.

## **VI. Caractéristiques histologiques de la tumeur**

Le CSI n'est pas considéré comme un sous-type histologique spécifique des carcinomes du sein particuliers. il est plus souvent caractérisé par un phénotype canalaire et haute grades nucléaires [57]. Cependant, la combinaison pertinente des données histo-pathologiques du sein avec les signes cliniques caractéristiques du CSI peuvent confirmer le diagnostic du CSI. Il n'y a pas de corrélation directe entre la présence, le nombre, ou la taille des emboles et le degré de rougeur de la peau chez les patientes avec CSI [58]. Bien que la preuve pathologique cutanée d'envahissement ganglionnaire ne soit pas considérée comme un critère diagnostique définitif pour CSI, la biopsie de la peau est recommandée en cas de suspicion comme une aide au diagnostic, et l'absence d'emboles dermique n'exclut pas le diagnostic [59].

Le type histologique prédominant dans toutes les séries est le carcinome canalaire infiltrant. Il représente en effet 94,5% de l'ensemble des CIM dans la série d'Emmanuelle [26] ; 88,3% dans la série de Rory Smoot [58] et 87% dans la série de Bertucci [60] . Dans notre étude, ce type est similaire de celui de la série tunisienne son taux est de (94%).

En général , le cancer inflammatoire du sein est de haut grade (SBR II ou III). En fait, 100% des CIM sont de haut grade dans la série de Bertucci ; 96,6% dans la série d'Emmanuelle Charaffe et 96,5% dans la série de Rory. Dans notre série, le CIM est de grade II ou III était de 100%.

Pour toute patiente présentant une tumeur mammaire classé cT4d, la réalisation de biopsie cutanée est recommandée afin de confirmer le diagnostic 75% des cas présente des EV [61], Le ciblage des lésions pour les biopsier est parfois difficile, la biopsie cutanée s'effectue « à l'aveugle » sur la zone cutanée présentant un aspect clinique inflammatoire. L'analyse histologique de la biopsie cutanée va retrouver le plus souvent quelques emboles

carcinomateux dans des vaisseaux lymphatiques cutanés. Dans certains cas il faudra répéter les biopsies pour mettre en évidence ces embolies. Dans notre cas la répétition de push en cas d'absence d'embolie vasculaire n'est pas possible puisque les patientes ont déjà démarré leur traitement. Dans notre population seulement 19.1% présentaient des EV

## **VII. Immunohistochimie et class moléculaire**

### **Récepteurs hormonaux**

Les déterminants actuels des récepteurs hormonaux disponibles dans la pratique quotidienne comprennent les récepteurs d'œstrogène (ER) et les récepteurs de progestrone (PR). Les CSI se caractérisent par une expression réduite du récepteur hormonal par rapport au cancer du sein non inflammatoire (NCSI), qui a été associé à un cours plus agressif et à une survie réduite [62]. Jusqu'à 83% des tumeurs des CSI sont dépourvues de récepteur aux œstrogènes (37% ER) par rapport à d'autres formes de cancers du sein localement avancés qui sont pour la plupart positifs pour ER [63]. L'analyse de 2000 patients atteints de CSI du California Cancer Registry a montré que l'expression de ER et de PR était plus faible chez les patients CSI que chez les carcinomes non T4 (56% de ER, 45% de PR, 80% de ER et 68% de PR). Dans la série de Bertucci, ce cancer est ER- dans 52% et PR- dans 62% des cas, dans la série d'Emmanuelle Charaffe, il est ER- dans 53,8% et PR- dans 52,8% des cas ; dans la série de Rory, il est ER- dans 48,4% et PR- dans 52,3% et dans notre série, plus de la moitié des CIM n'expriment pas les récepteurs hormonaux (56%).

### **Récepteur Her2/neu ou ERBB2 récepteurs de facteurs de croissance**

La famille de récepteurs de facteurs de croissance épidermique joue un rôle important dans la prolifération, la survie, la migration et la différenciation cellulaires et comprend quatre membres à savoir le facteur de croissance (EGFR), le récepteur des facteurs de croissance épidermique humain 2, 3 et 4 (HER2, HER3 et HER4) [63].

Le récepteur du facteur de croissance épidermique humain (HER2) est un récepteur transmembranaire tyrosine kinase et est impliqué dans les voies de transduction du signal menant à la croissance cellulaire et à la différenciation [63]. La surexpression de HER2 dans le cancer du sein est associée à une agressivité accrue, à des taux de récurrence plus élevés et à une mortalité plus élevée [64]. Une surexpression de EGFR a été détectée chez 30% des patients atteints de CSI et s'est révélée être associée à une aggravation du taux de survie globale sur un an comparé à un CSI à EGFR négatif [64] [65]. Les patients CSI présentaient



une proportion plus élevée de patients HER2-positifs par rapport aux patients non-T4 et comparés au LABC [63] .

Malgré l'association avec le stade tumoral avancé, le statut HER2-positif n'est pas un facteur pronostique inverse indépendant pour la survie des patients CSI [66].

Le récepteur Her2/neu est surexprimé dans 44,1% des cas de la série de Rory. ERBB2 est positif dans 33,3% des cas dans la série d'Emmanuelle Charaffe et dans 43% des cas dans la série de Bertucci.

Le sous-type luminal est moins commun dans le CSI. Cependant, il présente également une fréquence plus élevée du sous-type enrichi en HER2 par rapport au non-CSI tumeurs du sein. Dans notre groupe, les chiffres étaient 34,9% (N = 29) luminal, 25,3% (N = 21) triple négatif et 38,9% (N = 32) HER 2 (+).

### **L'aldéhyde déshydrogénase**

L'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) a récemment fait l'objet d'un intérêt particulier, en raison de son rôle dans la prolifération des cellules souches cancéreuses (CSC) [67]. Il joue un rôle crucial non seulement dans l'initiation et la progression de la tumeur, mais également dans la résistance aux médicaments et les rechutes ou les récurrences de divers types de cancer. Plusieurs études ont établi le rôle similaire de l'expression de ALDH1 dans les résultats cliniques des patientes atteintes d'un cancer du sein. Certaines études ont rapporté l'association de l'expression de ALDH1 avec un mauvais pronostic et des facteurs associés à une maladie agressive, tels que la négativité des récepteurs aux œstrogènes (ER) et l'expression de marqueurs de type basal [68] . L'étude de MD Anderson en a montré que ALDH1 est exprimé chez 32% des patientes mais il n'est pas corrèle avec aucun paramètre ni clinico--pathologique ni de survie [69] .Dans notre étude 21% des patientes ont exprimé ALDH1.

### **VIII. Le traitement pour CSI :**

Avant l'ère de la chimiothérapie, le CSI a été traité par chirurgie et / ou la radiothérapie et 5% des patientes survivaient cinq ans [79]. Dans l'année 1950, une étude de 29 patientes avec CSI traité avec mastectomie radicale a rapporté une durée moyenne de seulement 19 mois de survie, aucune des patientes n'a survécu jusqu'à cinq ans [80]. Dans une étude de la 'Joint Center for Radiation Therapy', le traitement du CSI avec la radiothérapie définitive a donné un taux de survie de 5 ans sans récurrence et le taux de survie globale 17% et 28%, respectivement [81]. Aujourd'hui, le consensus général est que les patientes atteintes du CSI sans preuve de métastase à distance au moment du diagnostic devraient recevoir une chimiothérapie systémique suivie d'une chirurgie puis d'une radiothérapie. Dans notre étude les patientes ont pu bénéficier de traitements selon les lignes directrices de NCCN.

#### **Chimiothérapie :**

En raison de la rareté de la maladie, il n'y a pas de suffisantes preuves définitives interprétées des essais cliniques randomisés prospectifs pour une chimiothérapie optimale pour CSI. Une série couvrant une période de 20 ans au centre de M.D. Anderson a démontré l'efficacité de la chimiothérapie à base d'anthracycline pour les patientes atteintes CSI [82]. Un total de 178 patientes avec CSI ont été traitées à M.D. Anderson avec des régimes contenant l'anthracycline suivie d'un traitement local avec irradiation avec ou sans mastectomie. Le taux de survie globale à 5 ans était de 40% des cas et 10 ans pour 33% [83]. Ces résultats indiquent qu'une thérapie primaire contenant une anthracycline systémique a entraîné un bénéfice de survie pour les patientes atteintes de CSI comme le cas en non-CSI. L'intégration des taxanes en chimiothérapie a montré une efficacité dans le traitement néo-adjuvant du CSI [83]. Dans une étude de cohorte de 68 patientes avec CSI dans 2 essais prospectifs randomisés, le traitement avec soit 3 cycles de FEC (cyclophosphamide, épirubicine, et 5-fluoro-uracile), suivie d'une intervention chirurgicale, une thérapie adjuvante et la radiothérapie ont abouti à la survie globale -de 5 ans chez 44% et de 10 ans chez 32% des cas [84]. Dans notre série 62% des femmes ont pu bénéficier de chimiothérapie néoadjuvante dont 19% de ces cas n'ont pas complété les cycles de traitement.

## **Thérapie ciblée**

Plusieurs molécules candidates pour la thérapie ciblée de CSI ont été étudiées ; jusqu'à présent, les thérapies ciblées pour HER-2 (récepteur du facteur de croissance épidermique) se sont avérées cliniquement bénéfiques. Ce récepteur est surexprimé dans 36% à 60% des cas de CSI [84]. Le trastuzumab en combinaison avec la chimiothérapie systémique pour un cancer du sein localement avancé, y compris le CSI, a été l'objet de plusieurs études prospectives. Les essais cliniques ont montré que le Lapatinib a une efficacité similaire à celle du trastuzumab chez les patientes atteintes de cancer sein avec une expression HER-2. Lapatinib est utilisé pour le traitement de CSI qui a un taux de positivité de HER-2 plus élevé que celui de la non-CSI [85]. Les résultats préliminaires d'un essai de Lapatinib et paclitaxel de phase II comme traitement néoadjuvant chez les patientes nouvellement diagnostiquées avec CSI ont montré que 95% des patientes avec l'HER-2+ ont présenté une réponse clinique [86]. Actuellement, l'Organisation Européenne pour la Recherche et le Traitement du Cancer a mené une étude randomisée phase I / II des essais de Lapatinib et le Docétaxel en tant que traitement néoadjuvant chez les patientes atteintes du cancer de sein localement avancé, du CSI, ou du cancer de sein opérable avec une expression HER-2 [87]. Par ailleurs les résultats des études de MD Anderson en phase II de Lapatinib avec chimiothérapie néoadjuvante systémique (séquentielle 5-fluoro-uracile, d'épirubicine, de cyclophosphamide et de paclitaxel) chez les patientes atteintes d'un CSI dont HER-2+ est en cours de progrès [88]. La haute expression de facteurs angiogéniques a été observée dans l'CSI, et les thérapies anti-angiogéniques (bevacizumab et sémoxanib) ont montré un effet clinique dans les essais [89].

Dans des études précliniques l'utilisation d'inhibiteurs de farnésyl à moduler l'expression RhoC ce qui montre qu'il dispose d'un potentiel thérapeutique en tant que nouveau traitement ciblé pour les tumeurs ayant une surexpression RhoC, y compris le CSI [90].

## **Chirurgie**

La chirurgie joue un rôle important dans le traitement multimodal de CSI. Historiquement, la mastectomie comme traitement exclusif n'a pas produit un bénéfice de survie chez les patientes atteintes du CSI avec un taux qui ne dépasse pas 5 ans chez 0% à 10% [91]. En revanche, plusieurs études rétrospectives ont enregistré un taux de survie plus élevé chez les patientes qui ont subi une chirurgie après une réponse à la CMT ainsi qu'un bon contrôle local. La procédure chirurgicale optimale pour les patientes qui répondent à la

chimiothérapie néoadjuvante est la mastectomie avec curage des ganglions axillaires. Le but de la chirurgie doit être la résection complète de la maladie résiduelle [92]. L'atteinte des ganglions axillaires est notée dans 55% à 85% dans le CSI au moment de diagnostic [93]. L'état des ganglions axillaire est un facteur prédictif des résultats de la survie, par conséquent, le curage des ganglions axillaire est une norme de soins pour les patientes atteintes de CSI [91]. Dans une étude, les patientes avaient une réponse clinique complète ou partielle à la chimiothérapie primaire, elles ont bénéficié d'une mastectomie suivie d'une radiothérapie, tandis que les patientes dont la maladie n'a pas répondu à l' induction de la chimiothérapie doit être prise en considération pour la radiothérapie et puis la réévaluation pour opérabilité [94].

### **Radiothérapie**

Lorsque la mastectomie est possible après une chimiothérapie néoadjuvante, l'approche standard pour les patientes atteintes de CSI est de prescrire une mastectomie suivi d'une radiothérapie.

Actuellement, la radiothérapie hyper fractionnée accélérée devrait être réservée aux patientes ayant une maladie résiduelle après la chimiothérapie, celles avec des marges chirurgicales positives ou proches, et les patientes âgées de moins de 45 ans [94]. Pour évaluer l'effet de dose de rayonnement la plus efficace, 32 patientes ont été traité par radiothérapie deux fois par jour à une dose totale de 60 Gy et ont été comparés avec les résultats pour les 39 patientes traités deux fois par jour pour un total dose de 66 Gy. Un meilleur taux de contrôle locorégional a été atteints dans le groupe à dose élevée que dans le groupe à dose standard (84% vs 58% à 5 année et 77% vs 58% à 10 ans) [95]. De même l'analyse à court et à long terme des réactions toxiques à ce traitement ont été examinées, le risque plus élevé de développer des complications tardives a été observée dans le groupe à dose élevée que dans le groupe à dose standard (29% vs 15%, respectivement). Cette approche est réservée pour les patientes avec des caractéristiques suggérant un risque élevé de récurrence [94].

Les essais de radiothérapie préopératoire ont montré que le taux de complications est plus élevé chez les patientes qui reçoivent de la radiothérapie préopératoire et le risque de complications postopératoires est dépendant de la dose [96]. Dans des essais de radiothérapie préopératoire à MD Anderson pour évaluer le contrôle local à 5 ans et la survie sans métastases à distance pour 42 patientes avec CSI, les taux étaient de 75% et 20%, respectivement, et 8 patientes ont survécues sans métastase à distance pour plus de 40 mois (données non publiées). Cependant, des taux plus élevés de complications ont été rapportés

chez les patientes qui ont reçu du rayonnement préopératoire. La radio-chimiothérapie concomitante préopératoire n'est pas indiquée dans le cancer du sein comme dans les autres cancers.

## **IX. L'évaluation de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante**

### **L'évaluation clinique**

La réponse à la chimiothérapie néoadjuvante peut être évaluée cliniquement et /ou histologiquement. La réponse clinique est principalement appréciée par des techniques conventionnelles, portant sur la mesure clinique ou radiologique. La réduction de la taille tumorale et la diminution de la rougeur sont des bons indicateurs de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante.

Plusieurs directives ont été proposées pour définir cette réponse tumorale à noter les critères de l'OMS [71], [72] et les critères d'évaluation de la réponse des tumeurs solides RECIST [73], [74]. Selon ces directives, les réponses peuvent être subdivisées en réponse complète, réponse partielle, progression et stabilisation de la maladie.

#### **a. Les critères de l'OMS :**

- Réponse clinique complète: Disparition de la tumeur initiale à la clinique
- Réponse clinique partielle: Diminution d'au moins 50% de la surface tumorale
- Progression de la maladie: Augmentation estimée à 25% ou plus des lésions existantes, ou apparition de nouvelles lésions.
- Stabilisation de la maladie: Diminution de moins de 50% ou augmentation de moins de 25%.

#### **b. Les critères de RECIST :**

- Réponse complète: Disparition de toutes les lésions cibles
- Réponse partielle: Diminution d'au moins 30% de la somme des plus grands diamètres des lésions prises en référence.
- Progression: Augmentation d'au moins 20% de la somme des plus grands diamètres des lésions de référence.

- Stabilisation: Absence de réponse partielle et sans progression.

Les critères RECIST sont plus spécifiques que ceux de l'OMS. En fait, ils exigent des précisions de taille pour les lésions mesurables et distinguent entre lésions cibles et non cibles.

### c. L'évaluation anatomopathologique

En plus de la clinique et la radiologie, la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante est évaluée par l'analyse macroscopique et histopathologique de la pièce opératoire. Il n'existe à ce jour aucun consensus concernant les protocoles de prélèvement à effectuer et les paramètres histopathologiques à évaluer. Les classifications les plus utilisées sont celles de Chevallier et Sataloff. elles intègrent les reliquats mammaires et axillaires dans une même réponse [75]. Dans notre série 53% des patientes ont pu bénéficier de chirurgie mammaire (85.3% de mastectomie plus curage axillaire et 14.6% mastectomie de propreté)

**Tableau XIX** : pourcentages des réponses cliniques et pathologique au traitement à travers des série du cancer du sein inflammatoire

	Swain [76] *	Chevallier [77]	Baldini [78]	Notre serie
Réponse clinique	93%	94%	73%	86%
Réponse pathologique	62%	25%	9%	25%

## E. Conclusion

Le cancer inflammatoire mammaire demeure une entité rare au pronostic sévère. Les données concernant ses caractéristiques cliniques et pathologiques sont actuellement bien cernées. Mais malheureusement, aucun facteur pronostique n'est actuellement connu sur le plan biologique. Le management optimal nécessite une coordination pluridisciplinaire entre oncologue, chirurgien, radiothérapeute et pathologiste.

L'association de la chimiothérapie néo-adjuvante, de la mastectomie curage axillaire et de la radiothérapie (+/-l'hormonothérapie et l'immunothérapie en fonction du profil tumoral) semblent être le traitement optimal, avec un bénéfice sur la survie globale et la survie sans récurrence. En conclusion, au terme de cette étude nous pouvons conclure que le cancer du sein inflammatoire dans notre série en comparaison avec les autres séries de CSI dans le monde semblait avoir les particularités suivantes: une incidence de 3% -un aspect épidémiologique particulier puisqu'il atteint des femmes jeunes. - un aspect anatomopathologique comparable à celui décrit dans la littérature (haut grade SBR, métastases, surexpression de HER2 etc...). Ainsi, nous avons montré une surexpression importante de ALDH1 dans les CSI.

## REFERENCES:

- [1] N. T. Ueno *et al.*, "Combined-modality treatment of inflammatory breast carcinoma: twenty years of experience at M. D. Anderson Cancer Center," *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 40, no. 4, pp. 321–329, Jun. 1997.
- [2] K. W. Hance, W. F. Anderson, S. S. Devesa, H. A. Young, and P. H. Levine, "Trends in Inflammatory Breast Carcinoma Incidence and Survival: The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program at the National Cancer Institute," *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 97, no. 13, pp. 966–975, Jul. 2005.
- [3] N. Mourali *et al.*, "Rapidly progressing breast cancer (poussée Évolutive) in Tunisia: Studies on delayed hypersensitivity," *Int. J. Cancer*, vol. 22, no. 1, pp. 1–3, Jul. 1978.
- [4] H. Boussen, H. Bouzaiene, J. Ben Hassouna, A. Gamoudi, F. Benna, and K. Rahal, "Inflammatory Breast Cancer in Tunisia: Reassessment of Incidence and Clinicopathological Features," *Semin. Oncol.*, vol. 35, no. 1, pp. 17–24, 2008.
- [5] A. S. Soliman *et al.*, "High Proportion of Inflammatory Breast Cancer in the Population-Based Cancer Registry of Gharbiah, Egypt," *Breast J.*, vol. 15, no. 4, pp. 432–434, Jul. 2009.
- [6] N. Ismaili, H. Elyaakoubi, Y. Bensouda, and H. Errihani, "Demographic, clinical, pathological, molecular, treatment characteristics and outcomes of nonmetastatic inflammatory breast cancer in Morocco: 2007 and 2008," *Exp. Hematol. Oncol.*, vol. 3, no. 1, pp. 2–5, 2014.
- [7] M. Slaoui *et al.*, "Outcome of inflammatory breast cancer in Moroccan patients: Clinical, molecular and pathological characteristics of 219 cases from the National Oncology Institute (INO)," *BMC Cancer*, vol. 18, no. 1, pp. 1–9, 2018.
- [8] C. Schairer *et al.*, "Assessment of diagnosis of inflammatory breast cancer cases at two cancer centers in Egypt and Tunisia," *Cancer Med.*, vol. 2, no. 2, pp. 178–184, 2013.
- [9] S. B. Edge and C. C. Compton, "The American Joint Committee on Cancer: the 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual and the Future of TNM," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 17, no. 6, pp. 1471–1474, Jun. 2010.
- [10] E. R.-S. in oncology and U. 2008, "Pathologic aspects of inflammatory breast carcinoma: part 1. Histomorphology and differential diagnosis," *Elsevier*.
- [11] H. A. Harvey *et al.*, "Estrogen receptor status in inflammatory breast carcinoma," *J. Surg. Oncol.*, vol. 21, no. 1, pp. 42–44, Sep. 1982.
- [12] L. Gianni, W. Eiermann, V. Semiglazov, A. M.-T. Lancet, and undefined 2010, "Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally," *Elsevier*.
- [13] A. C. Lo *et al.*, "Analysis of RhoC expression and lymphovascular emboli in inflammatory vs non-inflammatory breast cancers in Egyptian patients," *Breast*, vol. 18, no. 1, pp. 55–59, 2009.
- [14] E. Charafe-jauffret *et al.*, "Aldehyde Dehydrogenase 1 – Positive Cancer Stem Cells Mediate Metastasis and Poor Clinical Outcome in Inflammatory Breast Cancer," pp. 45–56, 2009.
- [15] N. Kapucuo, K. Kürs, H. E. Ero, and M. Akc, "Pathology – Research and Practice The clinicopathological and prognostic significance of CD24 , CD44 , CD133 , ALDH1 expressions in invasive ductal carcinoma of the breast CD44 / CD24 expression in breast cancer," vol. 211,



pp. 740–747, 2015.

- [16] N. Clinical, P. Guidelines, and N. Guidelines, “Breast Cancer,” 2018.
- [17] Z. Varga and A. Noske, “Impact of Modified 2013 ASCO/CAP Guidelines on HER2 Testing in Breast Cancer. One Year Experience.,” *PLoS One*, vol. 10, no. 10, p. e0140652, 2015.
- [18] T. Sørliie *et al.*, “Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 98, no. 19, pp. 10869–74, Sep. 2001.
- [19] E. Poitras and A. Houde, “By The Moroccan Society of Biology in Canada,” 2002.
- [20] M. B. Amin, “Validating science. Improving patient care. AJCC Cancer Staging System, 8 th Edition: UPDATE Creating the Bridge from a &quot;Population Based&quot; to a More &quot;Personalized&quot; Approach,” 2013.
- [21] “Bray\_et\_al-2018-CA%3A\_A\_Cancer\_Journal\_for\_Clinicians.” .
- [22] S. Sutherland, S. Ashley, G. Walsh, I. E. Smith, and S. R. D. Johnston, “Inflammatory breast cancer-The Royal Marsden Hospital experience,” *Cancer*, vol. 116, no. S11, pp. 2815–2820, Jun. 2010.
- [23] I. Günhan-Bilgen, E. E. Üstün, and A. Memiş, “Inflammatory Breast Carcinoma: Mammographic, Ultrasonographic, Clinical, and Pathologic Findings in 142 Cases,” *Radiology*, vol. 223, no. 3, pp. 829–838, Jun. 2002.
- [24] S. Chang, S. L. Parker, T. Pham, A. U. Buzdar, and S. D. Hursting, “Inflammatory breast carcinoma incidence and survival,” *Cancer*, vol. 82, no. 12, pp. 2366–2372, Jun. 1998.
- [25] P. A. Wingo, P. M. Jamison, J. L. Young, and P. Gargiullo, “Population-Based Statistics for Women Diagnosed with Inflammatory Breast Cancer (United States),” *Cancer Causes Control*, vol. 15, no. 3, pp. 321–328, Apr. 2004.
- [26] E. Charafe-Jauffret, K. Mrad, S. LABIDI, A. H.-T. Breast, and undefined 2007, “Inflammatory breast cancers in Tunisia and France show similar immunophenotypes,” *Elsevier*.
- [27] M. Sherry, D. Johnson, D. Page, ... F. G.-T. A. journal, and undefined 1985, “Inflammatory carcinoma of the breast. Clinical review and summary of the Vanderbilt experience with multi-modality therapy,” *amjmed.com*.
- [28] H. Brooks, N. Mandava, W. Pizzi, S. S.-J. of the A. College, and undefined 1998, “Inflammatory breast carcinoma: a community hospital experience,” *Elsevier*.
- [29] H. Ma, L. Bernstein, M. C. Pike, and G. Ursin, “Reproductive factors and breast cancer risk according to joint estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis of epidemiological studies.,” *Breast Cancer Res.*, vol. 8, no. 4, p. R43, 2006.
- [30] N. Mejri, H. Boussen, ... S. L.-A. P. J., and undefined 2015, “Inflammatory breast cancer in Tunisia from 2005 to 2010: epidemiologic and anatomoclinical transitions from published data,” *pdfs.semanticscholar.org*.
- [31] K. W. Hance, W. F. Anderson, S. S. Devesa, H. A. Young, and P. H. Levine, “Trends in Inflammatory Breast Carcinoma Incidence and Survival: The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program at the National Cancer Institute,” *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 97, no. 13, pp. 966–975, Jul. 2005.

- [32] N. Hamajima *et al.*, “Menarche, menopause, and breast cancer risk: Individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies,” *Lancet Oncol.*, vol. 13, no. 11, pp. 1141–1151, 2012.
- [33] S. Chang, J. R. Alderfer, L. Asmar, and A. U. Buzdar, “Inflammatory Breast Cancer Survival: The Role of Obesity and Menopausal Status at Diagnosis,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 64, no. 2, pp. 157–163, Nov. 2000.
- [34] J. Faupel-Badger, K. Arcaro, ... J. B.-J. of the, and undefined 2012, “Postpartum remodeling, lactation, and breast cancer risk: summary of a National Cancer Institute–sponsored workshop,” *academic.oup.com*.
- [35] R. Merrill, S. Fugal, L. Novilla, M. R.-G. oncology, and undefined 2005, “Cancer risk associated with early and late maternal age at first birth,” *Elsevier*.
- [36] C. Freund, L. Mirabel, K. Annane, & C. M.-G. obstétrique, and undefined 2005, “Allaitement maternel et cancer du sein,” *Elsevier*.
- [37] C. Mathelin, C. Youssef, J. Brettes, & M. R.-G. obstétrique, and undefined 2007, “Effets paradoxaux de la grossesse sur le cancer du sein,” *Elsevier*.
- [38] M. M.-M. d’Afrique Noire and undefined 1996, “Les tumeurs du sein: épidémiologie, clinique, anatomie pathologique et pronostic,” *santetropicale.com*.
- [39] R. L. Atkinson *et al.*, “Epidemiological risk factors associated with inflammatory breast cancer subtypes,” *Cancer Causes Control*, vol. 27, no. 3, pp. 359–366, Mar. 2016.
- [40] C. G. on H. F. in B.-T. Lancet and undefined 1996, “Breast cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53 297 women with breast cancer and 100 239 women without breast,” *Elsevier*.
- [41] A. Soliman, C. Kleer, K. Mrad, ... M. K.-B., and undefined 2012, “Inflammatory breast cancer in North Africa: comparison of clinical and molecular epidemiologic characteristics of patients from Egypt, Tunisia, and Morocco,” *content.iospress.com*.
- [42] J. Ferlay, H.-R. Shin, F. Bray, D. Forman, C. Mathers, and D. M. Parkin, “Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008,” *Int. J. Cancer*, vol. 127, no. 12, pp. 2893–2917, Dec. 2010.
- [43] J. A. Schlichting, A. S. Soliman, C. Schairer, D. Schottenfeld, and S. D. Merajver, “Inflammatory and non-inflammatory breast cancer survival by socioeconomic position in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database, 1990–2008,” *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 134, no. 3, pp. 1257–1268, Aug. 2012.
- [44] F. Bianchini, R. Kaaks, H. V.-T. lancet oncology, and undefined 2002, “Overweight, obesity, and cancer risk,” *Elsevier*.
- [45] P. H. Lahmann *et al.*, “Body size and breast cancer risk: Findings from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC),” *Int. J. Cancer*, vol. 111, no. 5, pp. 762–771, Sep. 2004.
- [46] P. Lahmann, M. Schulz, K. Hoffmann, ... H. B.-B. journal of, and undefined 2005, “Long-term weight change and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC),” *nature.com*.

- [47] C. Magnusson, A. Roddam, ... M. P.-B. journal of, and undefined 2005, "Body fatness and physical activity at young ages and the risk of breast cancer in premenopausal women," *nature.com*.
- [48] M. Protani, M. Coory, and J. H. Martin, "Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-Analysis," *Breast Cancer Research and Treatment*, vol. 123, no. 3. pp. 627–635, 23-Oct-2010.
- [49] S. Chang, A. U. Buzdar, and S. D. Hursting, "Inflammatory breast cancer and body mass index.," *J. Clin. Oncol.*, vol. 16, no. 12, pp. 3731–3735, Dec. 1998.
- [50] S. Chang, S. Parker, ... T. P.-... J. of the, and undefined 1998, "Inflammatory breast carcinoma incidence and survival: the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program of the National Cancer Institute, 1975-1992," *Wiley Online Libr.*
- [51] S. R. Stecklein *et al.*, "Lack of breastfeeding history in parous women with inflammatory breast cancer predicts poor disease-free survival," *J. Cancer*, vol. 8, no. 10, pp. 1726–1732, 2017.
- [52] F. V. Lucas and C. Perez-Mesa, "Inflammatory carcinoma of the breast," *Cancer*, vol. 41, no. 4, pp. 1595–1605, Apr. 1978.
- [53] C. Schairer *et al.*, "Assessment of diagnosis of inflammatory breast cancer cases at two cancer centers in Egypt and Tunisia," *Cancer Med.*, vol. 2, no. 2, pp. 178–184, Apr. 2013.
- [54] C. C.K., "Imaging in inflammatory breast carcinoma," *Breast Dis.*, vol. 22, pp. 45–54, 2005.
- [55] S. Dawood *et al.*, "International expert panel on inflammatory breast cancer: Consensus statement for standardized diagnosis and treatment," *Ann. Oncol.*, vol. 22, no. 3, pp. 515–523, 2011.
- [56] C. Féger, I. Leconte, L. F.-I. de la Femme, and undefined 2006, "Imagerie des cancers du sein inflammatoires," *Elsevier*.
- [57] B. Chevallier, B. Asselain, A. Kunlin, C. Veyret, P. Bastit, and Y. Graic, "Inflammatory breast cancer. Determination of prognostic factors by univariate and multivariate analysis," *Cancer*, vol. 60, no. 4, pp. 897–902, Aug. 1987.
- [58] P. Bonnier *et al.*, "Inflammatory carcinomas of the breast: A clinical, pathological, or a clinical and pathological definition?," *Int. J. Cancer*, vol. 62, no. 4, pp. 382–385, Aug. 1995.
- [59] Y. Xiao, Y. Ye, K. Yearsley, ... S. J.-T. A. journal of, and undefined 2008, "The lymphovascular embolus of inflammatory breast cancer expresses a stem cell-like phenotype," *Elsevier*.
- [60] F. Bertucci *et al.*, "Gene expression profiling identifies molecular subtypes of inflammatory breast cancer.," *Cancer Res*, vol. 65, no. 6, pp. 2170–2178, 2005.
- [61] N. Chafer *et al.*, "Molecular and epidemiological characteristics of inflammatory breast cancer in Algerian patients," *Breast Cancer Res. Treat.*, vol. 131, no. 2, pp. 437–444, 2012.
- [62] C. G. Kleer, K. L. van Golen, and S. D. Merajver, "Molecular biology of breast cancer metastasis. Inflammatory breast cancer: Clinical syndrome and molecular determinants," *Breast Cancer Res.*, vol. 2, no. 6, pp. 423–429, 2000.
- [63] M. Guérin *et al.*, "Structure and expression of c-erbB-2 and EGF receptor genes in inflammatory and non-inflammatory breast cancer: Prognostic significance," *Int. J. Cancer*,

vol. 43, no. 2, pp. 201–208, Feb. 1989.

- [64] E.-M. Fuchs *et al.*, “High-level *ERBB2* gene amplification is associated with a particularly short time-to-metastasis, but results in a high rate of complete response once trastuzumab-based therapy is offered in the metastatic setting,” *Int. J. Cancer*, vol. 135, no. 1, pp. 224–231, Jul. 2014.
- [65] D. Slamon, G. Clark, S. Wong, ... W. L.-, and undefined 1987, “Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene,” *science.sciencemag.org*.
- [66] K. van Golen, S. Davies, Z. Wu, ... Y. W.-C. C., and undefined 1999, “A novel putative low-affinity insulin-like growth factor-binding protein, LIBC (lost in inflammatory breast cancer), and RhoC GTPase correlate with the inflammatory,” *AACR*.
- [67] E. Kang, H. Jung, O. Woo, K. Park, S. W.- Neoplasma, and undefined 2014, “Association of aldehyde dehydrogenase 1 expression and biologically aggressive features in breast cancer.,” *europemc.org*.
- [68] E. Charafe-Jauffret, C. Ginestier, F. Iovino, ... C. T.-C. cancer, and undefined 2010, “Aldehyde dehydrogenase 1–Positive cancer stem cells mediate metastasis and poor clinical outcome in inflammatory breast cancer,” *AACR*.
- [69] Y. Gong, J. Wang, L. Huo, W. Wei, N. T. Ueno, and W. A. Woodward, “Aldehyde Dehydrogenase 1 Expression in Inflammatory Breast Cancer as Measured by Immunohistochemical Staining,” *Clin. Breast Cancer*, vol. 14, no. 3, pp. e81–e88, 2014.
- [70] D. Van Uden *et al.*, “Molecular subtypes in inflammatory breast cancer: A descriptive analysis using the Netherlands cancer registry,” *Eur. J. Cancer*, vol. 92, no. March, pp. S120–S121, 2018.
- [71] W. H. Organization, “WHO handbook for reporting results of cancer treatment,” 1979.
- [72] A. B. Miller, B. Hoogstraten, M. Staquet, and A. Winkler, “Reporting results of cancer treatment,” *Cancer*, vol. 47, no. 1, pp. 207–214, Jan. 1981.
- [73] “New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1),” *Elsevier*.
- [74] A. R. Padhani and L. Ollivier, “The RECIST criteria: implications for diagnostic radiologists,” *Br. J. Radiol.*, vol. 74, no. 887, pp. 983–986, Nov. 2001.
- [75] B. Chevallier, H. Roche, J. Olivier, ... P. C.-A. journal of, and undefined 1993, “Inflammatory breast cancer. Pilot study of intensive induction chemotherapy (FEC-HD) results in a high histologic response rate.,” *europemc.org*.
- [76] S. M. Swain *et al.*, “Neoadjuvant chemotherapy in the combined modality approach of locally advanced nonmetastatic breast cancer.,” *Cancer Res.*, vol. 47, no. 14, pp. 3889–94, Jul. 1987.
- [77] B. Chevallier, “[Inflammatory breast cancer],” *Bull Cancer*, vol. 80, no. 12, pp. 1024–1034, 1993.
- [78] E. Baldini, G. Gardin, G. Evagelista, T. Prochilo, P. Collecchi, and R. Lionetto, “Long-term results of combined-modality therapy for inflammatory breast carcinoma.,” *Clin. Breast Cancer*, vol. 5, no. 5, pp. 358–63, Dec. 2004.

- [79] F. Bozzetti, R. Saccozzi, M. De Lena, and B. Salvadori, "Inflammatory cancer of the breast: Analysis of 114 cases," *J. Surg. Oncol.*, vol. 18, no. 4, pp. 355–361, 1981.
- [80] C. Haagensen, A. S.-A. of surgery, and undefined 1951, "Carcinoma of the breast. III. Results of treatment, 1935-1942," *ncbi.nlm.nih.gov*.
- [81] C. Lamb, T. E.-... journal of surgery, and undefined 1991, "Results of radical radiotherapy for inflammatory breast cancer," *americanjournalofsurgery.com*.
- [82] N. T. Ueno *et al.*, "Combined-modality treatment of inflammatory breast carcinoma: twenty years of experience at M. D. Anderson Cancer Center," *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 40, no. 4, pp. 321–329, Jun. 1997.
- [83] M. Cristofanilli *et al.*, "Paclitaxel in the multimodality treatment for inflammatory breast carcinoma," *Cancer*, vol. 92, no. 7, pp. 1775–1782, Oct. 2001.
- [84] L. Gianni, W. Eiermann, V. Semiglazov, A. M.-T. Lancet, and undefined 2010, "Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally," *Elsevier*.
- [85] M. Cristofanilli, H. Boussen, ... J. B.-... C. R., and undefined 2006, "A phase II combination study of lapatinib and paclitaxel as a neoadjuvant therapy in patients with newly diagnosed inflammatory breast cancer (IBC)," *insights.ovid.com*.
- [86] C. E. Geyer *et al.*, "Lapatinib plus Capecitabine for HER2-Positive Advanced Breast Cancer," *N. Engl. J. Med.*, vol. 355, no. 26, pp. 2733–2743, Dec. 2006.
- [87] M. Kaufmann *et al.*, "Recommendations from an International Consensus Conference on the Current Status and Future of Neoadjuvant Systemic Therapy in Primary Breast Cancer," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 19, no. 5, pp. 1508–1516, May 2012.
- [88] S. B. Wedam *et al.*, "Antiangiogenic and Antitumor Effects of Bevacizumab in Patients With Inflammatory and Locally Advanced Breast Cancer," *J. Clin. Oncol.*, vol. 24, no. 5, pp. 769–777, Feb. 2006.
- [89] L. Cohen, E. Pieterman, ... R. van L.-B., and undefined 2000, "Inhibitors of prenylation of Ras and other G-proteins and their application as therapeutics," *Elsevier*.
- [90] J. Sparano, S. Moulder, A. Kazi, ... D. C.-C. C., and undefined 2009, "Phase II trial of tipifarnib plus neoadjuvant doxorubicin-cyclophosphamide in patients with clinical stage IIB-IIIC breast cancer," *AACR*.
- [91] R. Y. D. Fleming *et al.*, "Effectiveness of mastectomy by response to induction chemotherapy for control in inflammatory breast carcinoma," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 4, no. 6, pp. 452–461, Sep. 1997.
- [92] I. Bristol, W. Woodward, ... E. S.-I. J. of, and undefined 2008, "Locoregional treatment outcomes after multimodality management of inflammatory breast cancer," *Elsevier*.
- [93] M. Kell, M. M.-B. disease, and undefined 2006, "Surgical aspects of inflammatory breast cancer," *content.iospress.com*.
- [94] Z. Liao, E. Strom, A. Buzdar, ... S. S.-... J. of R., and undefined 2000, "Locoregional irradiation for inflammatory breast cancer: effectiveness of dose escalation in decreasing recurrence," *Elsevier*.

- [95] S. Damast, A. Ho, L. Montgomery, ... M. F.-I. J. of, and undefined 2010, "Locoregional outcomes of inflammatory breast cancer patients treated with standard fractionation radiation and daily skin bolus in the taxane era," *Elsevier*.
- [96] T. Pisansky, D. Schaid, ... C. L.-A. journal of, and undefined 1992, "Inflammatory breast cancer: integration of irradiation, surgery, and chemotherapy.," *europemc.org*.

# Annexe I

Classification histopathologique pTNM du cancer du sein selon AJCC, 7ème édition, 2009

<b>T : Tumeur primitive</b>	
Tx	
T0	pas de tumeur primitive décelable
Tis	carcinome in situ
Tis (CCIS)	carcinome canalaire in situ
Tis (CLIS)	carcinome lobulaire in situ
Tis (Paget)	maladie de Paget du mamelon
T1	tumeur ≤ 2 cm
T1mi	micro-invasion ≤ 0,1 cm
T1a	0,1 cm ≤ tumeur ≤ 0,5 cm
T1b	0,5 cm ≤ tumeur ≤ 1 cm
T1c	1 cm ≤ tumeur ≤ 2 cm
T2	2 cm ≤ tumeur ≤ 5 cm
T3	tumeur ≥ 5 cm
T4	tumeur de n'importe quelle taille avec extension directe
T4a	à la paroi thoracique
T4b	à la peau (ulcération, nodules satellites homolatéraux, œdème et "peau d'orange")
T4c	association de T4a et T4b
T4d	cancer du sein inflammatoire*
<b>N : Adénopathies régionales</b>	
pN0	Absence de métastase ganglionnaire régionale détectée en histologie standard (y compris un amas de cellules tumorales de moins de 0.2 mm)
pN1mi	Micro-métastase (entre 0.2mm et/ou plus de 200 cellules ET < à 2.0mm)
pN1a	Atteinte de 1 à 3 ganglions axillaires (dont au moins une métastase > 2 mm)
pN2a	Atteinte de 4 à 9 ganglions axillaires (dont au moins une métastase > 2 mm)
pN3a	Atteinte d'au moins 10 ganglions axillaires (dont au moins une métastase > 2 mm)
<b>M : Métastases à distances</b>	
M0	absence de métastase à distance
M1	présence de métastase(s) à distance
<b>Reliquat tumoral :</b>	
R0	Absence de reliquat tumoral
R1	Présence d'un reliquat tumoral de découverte microscopique
R2	Présence d'un reliquat tumoral macroscopique

\*Note : définition d'un carcinome inflammatoire : définition basée sur une peau d'orange (érythème et œdème de la peau) intéressant au moins un tiers de la surface cutanée mammaire et évoluant en moins de 6 mois. La présence d'emboles ou une lésion de grande taille ne sont pas suffisants pour le définir mais peuvent s'y rencontrer.

## **Annexe II**

### **Classification histologique des tumeurs du sein selon l'OMS 2012**

#### **Epithelial tumours**

Microinvasive carcinoma

Invasive breast carcinoma

#### **Invasive carcinoma of no special type (NST)**

- Pleomorphic carcinoma
- Carcinoma with osteoclast-like stromal giant cells
- Carcinoma with choriocarcinomatous features
- Carcinoma with melanotic features

#### **Invasive lobular carcinoma**

- Classic lobular carcinoma
- Solid lobular carcinoma
- Alveolar lobular carcinoma Pleomorphic lobular carcinoma
- Tubulolobular carcinoma
- Mixed lobular carcinoma

Tubular carcinoma

Cribriform carcinoma

Mucinous carcinoma

#### **Carcinoma with medullary features**

- Medullary carcinoma
- Atypical medullary carcinoma
- Invasive carcinoma NST with medullary features

Carcinoma with apocrine differentiation

Carcinoma with signet-ring-cell differentiation

Invasive micropapillary carcinoma



### **Metaplastic carcinoma of no special type**

- Low-grade adenosquamous carcinoma
- Fibromatosis-like metaplastic carcinoma
- Squamous cell carcinoma
- Spindle cell carcinoma
- Metaplastic carcinoma with mesenchymal differentiation
- Mixed metaplastic carcinoma
- Myoepithelial carcinoma

### **Rare types**

#### **Carcinoma with neuroendocrine features**

- Neuroendocrine tumour, well-differentiated
- Neuroendocrine tumour, poorly-differentiated
- Carcinoma with Neuroendocrine differentiation

Secretory carcinoma

Invasive papillary carcinoma

Acinic cell carcinoma

Mucoepidermoid carcinoma

Polymorphous carcinoma

Oncocytic carcinoma

Lipid-rich carcinoma

Glycogen rich clear cell carcinoma

Sebaceous carcinoma

Salivary gland/skin adnexal type tumours

- Cylindroma
- Clear cell hidradenoma

Epithelial-myoepithelial tumours

Pleomorphic adenoma

Adenomyoepithelioma

- Adenomyoepithelioma with carcinoma

Adenoid cystic carcinoma

## **Precursor lesions**

Ductal carcinoma in situ

Lobular neoplasia

- Lobular carcinoma in situ
- Classic lobular carcinoma in situ
- Pleomorphic lobular carcinoma in situ
- Atypical lobular hyperplasia

Intraductal proliferative lesions

Usual ductal hyperplasia

Columnar cell lesions including flat epithelial atypia

Atypical ductal hyperplasia

Papillary lesions

Intraductal papilloma

- Intraductal papilloma with atypical hyperplasia
- Intraductal papilloma with ductal carcinoma in situ
- Intraductal papilloma with lobular carcinoma in situ

Intraductal papillary carcinoma

Encapsulated papillary carcinoma

- Encapsulated papillary carcinoma with invasion

Solid papillary carcinoma

- In situ
- Invasive

## **Benign epithelial proliferations**

Sclerosing adenosis

Apocrine adenosis

Microglandular adenosis

Radial scar/complex sclerosing lesion

Adenomas

- Tubular adenoma
- Lactating adenoma
- Apocrine adenoma
- Ductal adenoma

Mesenchymal tumours

Nodular fasciitis

Myofibroblastoma

Desmoid-type fibromatosis

Inflammatory myofibroblastic tumour

Benign vascular lesions

- Haemangioma
- Angiomatosis
- Atypical vascular lesions

Pseudoangiomatous stromal hyperplasia

Granular cell tumour

Benign peripheral nerve-sheath tumours

- Neurofibroma
- Schwannoma

Lipoma

- Angiolipoma

Sarcoma

Liposarcoma

Angiosarcoma

Rhabdomyosarcoma

Osteosarcoma

Leiomyoma

Leiomyosarcoma

Fibroepithelial tumours

Fibroadenoma

Phyllodes tumours

- Benign
- Borderline
- Malignant
- Periductal stromal tumour, low grade

Hamartoma

Tumours of the nipple

Nipple adenoma

Syringomatous tumour

Paget disease of the nipple

Malignant lymphoma

Diffuse large B-cell lymphoma

Burkitt lymphoma

T-cell lymphoma

- Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative

Extranodal marginal-zone B-cell lymphoma of MALT type

Follicular lymphoma

Metastatic tumours

Tumours of the male breast

Gynaecomastia

Carcinoma

- Invasive carcinoma

- In situ carcinoma

### **Clinical patterns**

Inflammatory carcinoma

Bilateral breast carcinoma

# Annexe III



INSTITUT NATIONAL D'ONCOLOGIE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

## Etude Observationnelle clinique, moléculaire et thérapeutique des cancers du sein inflammatoires à l'Institut National d'Oncologie

---

### Cahier d'observation

Prénom (1ère lettre)      |    |  
Numéro de la patiente    |    |    |    |

Promoteur : Fondation Lalla Salma Prévention et Traitement des cancers  
Coordonnateur: Pr Errihani Hassan  
Service d'oncologie médicale

Version du .../.../.....

Comité éthique.....

## Coordonnées des personnes référentes

### 1. Coordonnateur du projet :

#### Professeur Errihani Hassan

Institut national d'Oncologie sidi Mohamed ben Abdellah.

Avenue Allal Al Fassi, Hay Riad, 10100 Rabat.

[h\\_errihani@yahoo.fr](mailto:h_errihani@yahoo.fr)

### 2. Promoteur :

#### La Fondation lalla Salma Prévention et Traitement des Cancers.

Villa N°1, Touarga Fouaka, Méchouar Said - Rabat - Maroc

Tél. +212 (0) 5 37 66 10 55

Fax. +212 (0) 5 37 66 10 66

E-mail. [contact@alsc.ma](mailto:contact@alsc.ma)

### 3. Responsables et personnels impliqués dans le projet

Nom	Téléphone E-mail
<b>Equipe 1</b> <b>Investigateur principal :</b> Pr Errihani Hassan <b>Co-investigateur :</b> MrabtiHind BoutayebSaber Elghissassi Ibrahim <b>Coordinatrice :</b> Berrada Narjiss	<b>Oncologie Médicale INO</b>  <a href="mailto:mrabtih@yahoo.fr">mrabtih@yahoo.fr</a> <a href="mailto:boutayebdr@yahoo.fr">boutayebdr@yahoo.fr</a> <a href="mailto:i.elghissassi@voila.fr">i.elghissassi@voila.fr</a>  <a href="mailto:berradanarjiss@yahoo.fr">berradanarjiss@yahoo.fr</a>
<b>Equipe 2 :</b> Responsable Pr El Khanoussi Basma	<b>Anatomi-pathologique INO</b> <a href="mailto:dr_basma_2@hotmail.com">dr_basma_2@hotmail.com</a>
<b>Equipe 3 :</b> Responsable Pr Boujida Najib	<b>Radiologie INO</b> <a href="mailto:boujidamn@yahoo.fr">boujidamn@yahoo.fr</a>
<b>Equipe 4 :</b> Responsable Pr Hachi Hafid	<b>Chirurgie pôle gynéco-mammaire INO</b>
<b>Equipe 5 :</b> Responsable Abdelilah Iraqui	<b>Hôpital militaire d'instruction Mohammed V</b>

### 3. Data manager

Fouzia MAMOUCHE

## Instructions pour remplir les cahiers d'observations

1. Remplissez les feuilles en utilisant un stylo bille noir pour une bonne lisibilité.
2. Ecrire en lettres capitales
3. N'inscrivez qu'un caractère par case
4. Lorsque le résultat doit être reporté dans des cases ouvertes, remplir toutes les cases à partir de la droite.
5. Lorsque le résultat doit être reporté dans des cases fermées, cochez la case appropriée
6. Chaque erreur doit être barrée d'un trait de manière à la laisser visible, corrigée, paraphée et datée. N'utilisez pas de correcteur.
7. Quand une donnée est manquante (Ne jamais laisser de case vide), mettez
  - ➔ soit NF pour un examen / bilan non fait
  - ➔ soit NA quand ce n'est pas applicable
  - ➔ soit DM pour une donnée manquante (non disponible)
8. En cas d'évènements indésirables, remplir les feuillets EI/EIG correspondants
9. En cas d'arrêt prématuré, et à la fin de l'étude remplir la feuille « Bilan de fin d'étude et/ou arrêt prématuré »
10. Prévoir en fin de chaque visite la signature de l'investigateur ou prévoir une attestation à la fin du cahier à signer par l'investigateur pour valider les données recueillies.
11. Documents à insérer dans le CRF
  - Les consentements éclairés.
  - Fiches des coordonnées des patients.
  - Carnet de RDV patients
  - Les feuilles de route et étiquettes destinées aux plateaux techniques.
  - Les échelles d'évaluation, les questionnaires patients ...
  - Planning des visites



## Critères d'inclusion

<b>1. Critères d'inclusion*</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
- Diagnostic histologique de cancer du sein infiltrant	I I	I I
- Cancer du sein inflammatoire selon les critères AJCC	I I	I I
- Examinés par 2 experts différents (Equipe INO)	I I	I I
- Age de 18 ans et plus.	I I	I I
- Consentement éclair	I I	I I

\*Si une case est cochée NON à l'un de ces critères, le patient ne peut pas être inclus

<b>2. Critères de non inclusion**</b>		
- Cancer du sein antérieurement traité	I I	I I
- Patient suivi pour un autre cancer autre que basocellulaire ou CIS du col	I I	I I
- Trouble cognitive majeure	I I	I I
- Inclusion dans un autre essai Clinique	I I	I
-		

\*\*Si une case est cochée OUI à l'un de ces critères, le patient ne peut pas être inclus

<b>3. Date de signature du consentement</b>	<b>I I I I</b>
---	----------------

## Visite de screening

### 1. Données démographiques :

Age	
Genre	
Profession	
Scolarité	
Statut marital	
Adresse	
Niveau socio-économique	
Ville d'origine	
Couverture sociale	
Date d'ouverture de dossier	

### 2. Antécédents :

Antécédent	Oui /durée	Non	NA : résultat
Age à la ménarche			
Contraception orale/ <b>durée</b>			
THS			
Grossesse antérieure			
Age 1 <sup>ère</sup> grossesse			
Nombre de grossesses			
Nombre d'accouchements			
Allaitement/ <b>durée</b>			
Ménopause/ <b>durée</b>			
ATCD personnels (sein, ovaire)			
ATCD familiaux (sein, ovaire)			

### 3. Antécédents non gynéco-obstétricaux :

Antécédent	Oui lesquelles	Non	NA
Médicaux			
Chirurgicaux			
Allergies			
Tabac			
Alcool			
ATCD familiaux kc non gynéco-mammaires			

### 4. Traitements concomitants :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

### 5. Examen clinique :



**6. Bilan d'extension :**

<b>Bilan</b>	<b>Résultats</b>	<b>Date</b>
<b>Mammographie bilatérale</b>		
<b>Echographie mammaire</b>		
<b>IRM mammaire</b>		
<b>TDM TAP</b>		
<b>TDM cérébrale</b>		
<b>Scintigraphie osseuse</b>		
<b>CA15/3</b>		
<b>Autres</b>		

**7. Stade :**

<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>T4d</b>		

### 8. Profil biomoléculaire :

	Résultats	Date	Laboratoire	Numéro de référence
Type histologique				
Grade				
Emboles lymphatiques du derme				
KI 67				
CK14				
CK5/6				
RE				
RP				
EGFR				
Her2				
ALK				
ALDH1				
Autres				

### 9. Bilan de tolérance :

Bilan	Résultat
<b>Echo-cœur :</b>	
<b>NFS :</b> - Hb : - GB : - PNN - Plq :	
<b>Ionogramme :</b>	
<b>Fonction rénale :</b> - Urée - Créatinine	
<b>Bilan hépatique :</b> - Bilirubine T - Bili directe - Bili indirecte - ASAT - ALAT - GGT	
<b>Autres</b>	

## Visite de traitement

10. Chimiothérapie Néoadjuvante :    Applicable [ ]

NA [ ]

Cure	Date	EIG	Evaluation clinique /2 cycles	Observation	Médecin
C1 AC60					
C2 AC60					
C3 AC60					
C4 AC60					
C1' Docetaxel					
C2' Docetaxel					
C3' Docetaxel					
C4' Docetaxel					

11. Chimiothérapie de première ligne métastatique :    Applicable [ ]  
]

NA [ ]

Cure/protocole	Date	EIG	Evaluation C3 – C6	Observation	Médecin
C1.....					
C2 .....					
C3 .....					
C4 .....					
C5 .....					
C6.....					
C7 .....					
C8 .....					

12. Trastuzumab : Néoadjuvant / Adjuvant [ ] métastatique [ ] NA [ ]

Cure	Date	EIG	Echo card FEVG/4 cycles	Observation	Médecin
H1					
H2					
H3					
H4					
H5					
H6					
H7					
H8					
H9					
H10					
H 11					
H 12					
H 13					
H 14					
H 15					
H 16					
H 17					
H 18					

**13. Chimiothérapie de deuxième ligne : néoadjuvante [ ] métastatique [ ] NA [ ]**

Cure/protocole	Date	EIG	Evaluation C3 - C6 - C9	Observation	Médecin
C1.....					
C2 .....					
C3 .....					
C4 .....					
C5 .....					
C6.....					
C7 .....					
C8 .....					
C9 .....					

**14. Chimiothérapie de 3<sup>e</sup> ligne : néoadjuvante [ ] métastatique [ ] NA [ ]**

Cure/protocole	Date	EIG	Evaluation C3 - C6 - C9	Observation	Médecin
C1.....					
C2 .....					
C3 .....					
C4 .....					
C5 .....					
C6.....					
C7 .....					
C8 .....					
C9 .....					



**15. Radio-chimiothérapie concomitante : exclusive [ ] néoadjuvante [ ] NA [ ]**

	<b>RCC</b>
<b>Date début</b>	
<b>Date fin</b>	
<b>DT</b>	
<b>Chimio</b>	
<b>N cycles</b>	
<b>EIG</b>	
<b>Evaluation</b>	
<b>Observation</b>	

**16. Chirurgie du sein : Applicable [ ] NA [ ]**

	<b>Chirurgie</b>
<b>Date</b>	
<b>Délai fin chimio</b>	
<b>Type chirurgie</b>	
<b>EIG</b>	
<b>Observation</b>	

### 17. Résultats histologiques post chirurgie

	<b>Histologie post op</b>
<b>Evaluation histologique</b>	
<b>pT</b>	
<b>pN</b>	
<b>RH</b>	
<b>HER2</b>	
<b>SBR grade +score</b>	
<b>Ki67</b>	
<b>Observation</b>	

### 18. Radiothérapie adjuvante : Applicable [ ] NA [ ]

	<b>Radiothérapie Adjuvante</b>
<b>Date début</b>	
<b>Date fin</b>	
<b>Délai chir</b>	
<b>Zones irradiées</b>	
<b>DT</b>	
<b>EIG</b>	
<b>Observation</b>	

**19. Hormonothérapie : adjuvante [ ] métastatique [ ] NA [ ]**

	<b>Hormonothérapie</b>
<b>Date début</b>	
<b>Date fin</b>	
<b>Délai RTHadj</b>	
<b>Type</b>	
<b>EIG</b>	
<b>Observation</b>	

**20. Hormonothérapie de deuxième ligne : adjuvante (switch) [ ] métastatique [ ] NA [ ]**

	<b>Hormonothérapie</b>
<b>Date début</b>	
<b>Date fin</b>	
<b>Type</b>	
<b>Cause de chgt</b>	
<b>EIG</b>	
<b>Observation</b>	

## Planning de Surveillance

Visite	3 mois	6 mois	9 mois	12 mois	15 mois	18 mois	21 mois	24 mois	30 mois	36 mois
Date										
Ex clinique										
Echo card /FEVG*										
Mammo										
Rx P										
Echo AbdPelv										
TDM thorax										
TDM Abdpelv										
SO										
CA15-3										
EIG										
Etat										
Observation										
Médecin										

\*Si trastuzumab pour les patientes HER2+

## **Visite de fin d'étude**

**Raison de sortie de l'étude :**

**Examen clinique :**

**OMS :**

**Signes fonctionnels :**

**Signes généraux :**

**Examen physique :**

**Examens complémentaires :**

**Signature de l'investigateur :**

## Annexe IV

### إعلام المريض و موافقته المستتيرة

عنوان الدراسة : " دراسة رصدية حول سرطان الثدي الاتهابي "

رقم CRTN:

إسم المؤسسة : المعهد الوطني لانكلوجيا

العنوان: المعهد الوطني لانكلوجيا سيدي محمد بن عبد الله , شارع علال الفاسي، حي الرياض ، 10100 الرباط .

الحرف الاولي من اسم المريض: [ ] [ ] [ ] [ ] .

إنكم مدعوون للمشاركة في الدراسة الرصدية التي يلي بعده ملخص بمحتواها .

1. تاريخ الدراسة :

إن هذه الدراسة في طور الإنجاز من قبل طبييكم لدى المستشفى أو المصحة المحلية التي توجدون بها.في إطار مبادرة جمعية للا سلمى للوقاية و علاج السرطان.

من المهم قبل التقرير في رغبتكم بالمشاركة في هذه الدراسة من عدمها، فهم السبب الذي تنجز من أجله. المرجو قراءة هذه الوثيقة قراءة متأنية، و إن كانت لكم أسئلة فالمرجو طرحها علي طبييكم أو على منسق الدراسة.

# Production scientifique

1. Inflammatory Breast Cancer: Literature Review. World J Oncol. 2018;9(5-6):129-135 (1eme position)
2. Expression of aldehyde deshydrogenase 1 (ALDH1) in inflammatory breast cancer: A cohort study. Journal of Clinical Oncology 2018 36:15\_suppl, e13064-e13064 (1eme position)
3. Breast cancer in Morocco: Results from the first prospective database. JCO.2016.34.15\_suppl.e13097 Journal of Clinical Oncology 34, no. 15 ( 2eme position)
4. Access to care for advanced breast cancer in middle-income country: example of morocco [https://doi.org/10.1016/S0960-9776\(15\)30138-7](https://doi.org/10.1016/S0960-9776(15)30138-7) (3eme position)
5. Is there an impact of body mass index on the breast cancer stage at initial diagnosis? Annals of Oncology, Volume 27, Issue suppl\_6, 1 October 2016, 195P (2eme position)
6. Modulatory effect of Syzygium aromaticum and Pelargonium graveolens on oxidative stress and inflammation [doi.org/10.1101/362426](https://doi.org/10.1101/362426) (4eme position)
7. Serum levels of Selenium and C-reactive protein in comatose patients with severe traumatic brain injury during the first week of hospitalization: case-control study Published online 2018 Jan 16. doi: 10.11604/pamj.2018.29.36.10945 (5eme position)
8. Le cancer du sein inflammatoire dans le nord d’Afrique. Publier dans Bulletin Marocain de l’Oncologie BMO 7 Edition (1eme position)
9. “Aldehyde Dehydrogenase 1 Expression in inflammatory breast cancer tumor of Moroccan patients Correlate with clinical characteristics: prospective study” Soumis dans la revue “Cancer Management and Research” (1eme position)
10. Conservation Surgery for Breast Cancer in Morocco. Soumis dans le journal Cureus (3eme position)

## Résumé :

Le cancer du sein inflammatoire (CSI) est l'un des cancers du sein les plus agressifs en raison de son potentiel métastatique élevé. Le diagnostic positif du CSI repose sur des signes cliniques et des symptômes requis qui sont l'érythème occupant au moins le tiers du sein, l'œdème et / ou peau d'orange de la poitrine, et / ou un sein chaud, avec ou sans une masse palpable sous-jacente. L'apparition de ces signes et symptômes devraient être rapide et la durée lors de sa présentation initiale devrait être de 3 mois. Malgré les progrès réalisés dans la prise en charge de CSI grâce au traitement multimodal, le pronostic reste médiocre avec une survie globale faible. L'incidence de CSI est variable. Elle est rare en Europe et aux États-Unis, représentant moins de 2% des cancers du sein (CS), et plus fréquente en Afrique du Nord où l'incidence représente plus de 5% des CS. Il n'y a pas de critère de diagnostic moléculaire ou pathologique définitif pour le CSI. Nous nous sommes intéressés particulièrement au gène Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) responsable de l'oxydation des aldéhydes.

Dans le cadre de ce travail, nous avons :

(i) Essayé de mieux comprendre les aspects épidémiologiques et cliniques uniques des CSI. Notre étude prospective a pu déterminer l'incidence exacte de CSI qui était de 3%. Dans notre série nous n'avons pas pu montrer l'utilité de la biopsie cutanée pour la confirmation du diagnostic de CSI.

(ii) Evalué si L'ALDH1 pourrait être un nouveau marqueur spécifique pour le CSI. Pour cela, des analyses par RT-PCR a ont été réalisées sur des échantillons de tumeurs de CSI (N = 82). Des corrélations entre l'expression d'ALDH1 et des critères cliniques et biologiques ont été établies.

**Mots clés :** Cancer du sein inflammatoire ; biopsie cutanée ; profil biomoléculaire

**Structure de recherche accréditée :** Equipe de Recherche en Oncologie Translationnelle



## **Abstract:**

Inflammatory breast cancer (IBC) is one of the most aggressive breast cancers because of its high potential metastatic. The positive diagnosis of (IBC) is based on the clinical signs and symptoms required which are erythema occupying at least a third of the breast, edema and / or dermal edema (peau d'orange) of the chest, and / or a warm breast, with or without an underlying palpable mass. The appearance of these signs and symptoms should be rapid and its duration at initial presentation should be 3 months. Despite the progress made in the management of IBC through multimodal treatment, the prognosis remains poor with low overall survival. The incidence of IBC is variable. It is rare in Europe and the United States, accounting for less than 2% of breast cancers (BC), and more common in North Africa where incidence accounts for more than 5% of BC. There are no definitive molecular or pathological diagnostic criteria for IBC. We were particularly interested in the Aldehydedehydrogenase 1 (ALDH1) gene responsible for the oxidation of aldehydes.

As part of this work, we have:

(i) Tried to better understand the unique epidemiological and clinical aspects of IBC.

Our prospective study was able to determine the exact incidence of IBC that was 3%. In our series we could not show the usefulness of the punch biopsy for the confirmation of the diagnosis of IBC.

(ii) Evaluated whether ALDH1 could be a new specific marker for IBC. For this, RT-PCR analyzes were performed on IBC tumor samples (N = 82). Correlations between ALDH1 expression and clinical and laboratory criteria have been established

**Keywords:** Inflammatory breast cancer; punch biopsy; molecular profile

**Accredited Research Structure:** Translational Oncology Research Team

## ملخص:

سرطان الثدي الالتهابي هو احد انواع سرطانات الثدي الأكثر عدوانية ذلك لأنه يتطور و ينتشر بسرعة عالية، ويعتمد تشخيص سرطان الثدي الالتهابي على علامات و اعراض سريرية و من بين هذه الاعراض التلون حيث يصبح الثدي باللون الأحمر بمظهر يشبه الكدمة، ظهور ترصع أو نتوء بجلد الثدي المصاب، يشبه قشرة البرتقالة وارتفاع حرارة الثدي المصاب مع أو بدون كتلة الكامنة، و يجب أن تكون بداية هذه العلامات والأعراض سريعة وتكون مدة الاعرض الأولية 3 أشهر .

وعلى الرغم من التقدم المحرز في علاج سرطان الثدي الالتهابي من خلال العلاج المتعدد لا يزال التكهن ضعيفا مع البقاء على قيد الحياة العام منخفض. حالات الإصابة بسرطان الثدي الالتهابي متغيرة. حيث انها نادرة في أوروبا والولايات المتحدة ، حيث تمثل أقل من 2% من سرطانات الثدي ، وأكثر شيوعاً في شمال إفريقيا حيث تمثل الإصابة أكثر من 5% من حالات سرطانات الثدي حيث لا توجد معايير جزيئية أو مرضية محددة لتشخيص سرطان الثدي الالتهابي كنا مهتمين بشكل خاص بالجين المحدد الألدهيد ديزودوجيناز 1 (ALDH1) مسؤولة عن أكسدة الألدهيدات.

خلال هذا البحث قمنا :

- أ. محاولة فهم الجوانب الوبائية والسرييرية المميزة لسرطان الثدي الالتهابي . كانت دراستنا المرتقبة قادرة على تحديد معدل الإصابة بسرطان الثدي الالتهابي بدقة حيث كانت بنسبة 3%. في هذه التجربة لم نتمكن من إظهار نجاعة خزعة الجلد لتأكيد تشخيص سرطان الثدي الالتهابي.
- ب. تقييم إذا كان ALDH1 محدد جديد ومميزة لسرطان الثدي الالتهابي. لهذا ، أجريت تحليلات RT-PCR على عينات الورم سرطان الثدي الالتهابي (N = 82) تم تبين علاقات الربط بين تعبير ALDH1 والمعايير السرييرية والمخبرية.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الثدي الالتهابي؛ خزعة الجلد؛ الملف الجزيئي

**هيكل البحث المعتمد:** فريق أبحاث الأورام متعددة