



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

ANNEE 2016

THESE N°176

Profil phénotypique des marqueurs immunohistochimiques (p53, Bcl2 et CK5/6) du cancer du sein triple-négatif

THESE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 31 / 10 / 2016

PAR

M^{me}. OUAFA BOUAFFIA

Née le 16/01/1990 à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

Mots clés

Profil -Phénotype -Immunohistochimie -Cancer du sein -
Triple-négatif- p53-Ck5/6-Bcl2

JURY

M.	H. ASMOUKI	PRESIDENT
	Professeur de gynécologie-obstétrique	
M ^{me} .	H.RAIS	RAPPORTEUR
	Professeur agrégée d'anatomie-pathologique	
M ^{me} .	M.KHOUCHANI	JUGES
	Professeur agrégée d'oncologie médicale et radiothérapie	
M.	Y.AIT BENKADDOUR	
	Professeur agrégé de gynécologie-obstétrique	
M.	K.HAROU	
	Professeur agrégé de gynécologie-obstétrique	



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك
التي أنعمت عليّ وعلى والديّ
وأن أعمل صالحاً ترضاه
وأصلح لي في ذريّتي
إنّي تبنت إليك و إنّي من المسلمين"
صدق الله العظيم





Serment d'hypocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.





**LISTE DES
PROFESSEURS**



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI

Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Ag. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. EL FEZZAZI Redouane

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KISSANI Najib	Neurologie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	LMEJJATI Mohamed	Neurochirurgie
AMAL Said	Dermatologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie – générale
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique
ASRI Fatima	Psychiatrie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BENELKHAJAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
CHABAA Laila	Biochimie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie

CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DAHAMI Zakaria	Urologie	SAIDI Halim	Traumato- orthopédie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	SARF Ismail	Urologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	SBIHI Mohamed	Pédiatrie B
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique A/B
ETTALBI Saloua	Chirurgie réparatrice et plastique	YOUNOUS Said	Anesthésie- réanimation
FINECH Benasser	Chirurgie – générale	ZOUHAIR Said	Microbiologie

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie B	EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique A
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HADEF Rachid	Immunologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	HAOUACH Khalil	Hématologie biologique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique B
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique A	JALAL Hicham	Radiologie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire périphérique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ALJ Soumaya	Radiologie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie

AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato- orthopédie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
BAHA ALI Tarik	Ophtalmologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique A	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELKHOUE Ahlam	Rhumatologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique B	NOURI Hassan	Oto rhino laryngologie
BOUKHIRA Abderrahman	Toxicologie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOURRAHOUE Aicha	Pédiatrie B	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	RADA Nouredine	Pédiatrie A
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie A	RBAIBI Aziz	Cardiologie

EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie-réanimation	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SORAA Nabila	Microbiologie - virologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	TAZI Mohamed Ilias	Hématologie- clinique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	GHAZI Mirieme	Rhumatologie
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	GHOZLANI Imad	Rhumatologie
ADALI Nawal	Neurologie	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie - Cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	KADDOURI Said	Médecine interne
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
BELHADJ Ayoub	Anesthésie - Réanimation	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie

BENHADDOU Rajaa	Ophtalmologie	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MOUHADI Khalid	Psychiatrie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	MOUZARI Yassine	Ophtalmologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NADOUR Karim	Oto-Rhino - Laryngologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
DIFFAA Azeddine	Gastro- entérologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
EL HARRECH Youness	Urologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL MEZOUARI EI Moustafa	Parasitologie Mycologie	SERHANE Hind	Pneumo- phtisiologie
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
FADIL Naima	Chimie de Coordination Bioorganique	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
FAKHRI Anass	Histologie- embryologie cytogénétique	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- Vasculaire



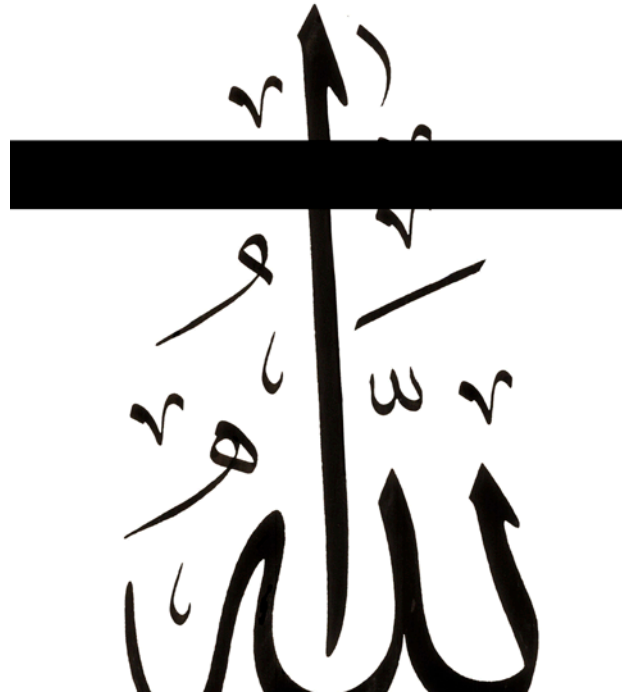
DÉDICACES



*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,
Le respect, la reconnaissance...
Aussi, c'est tout simplement que ...*



Je dédie cette Thèse...



*Louange à Dieu tout puissant,
Qui m'a permis de voir ce jour
tant attendu.*

*A cœur vaillant rien d'impossible. A conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre. Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessin. Tout devient facile pour arriver à nos
fins*

*Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent
Les études sont avant tout Notre unique et seul atout
Ils représentent la lumière de notre existence. L'étoile brillante de notre
réjouissance
Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal. Nous partons ivres d'un rêve
héroïque et brutal*

*Espérant des lendemains épiques Un avenir glorieux et magique
Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis Jour et nuit, nous mènerons vers le
bonheur fleuri*

*Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys, Nous prions dieu que cette
soutenance*

*Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré*

** □ Je dédie cette thèse ... ✎*

*A Mes Très Chers Parents Mr Salah Bouaffia
et Mme Fatima Hadhoumi*

*A ceux qui m'ont donné la vie
A ceux qui m'ont toujours tout donné sans rien compter
A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière, mon cher papa
A la plus belle perle du monde, ma tendre mère*

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous
porte ni la profonde gratitude que je vous témoigne. Nulle dédicace ne pourra
exprimer mes sincères sentiments, pour votre patience illimitée, votre
encouragement continu, votre grand amour, votre aide en témoignage de mon
profond amour et respect pour vos grands sacrifices.*

*Vous serez toujours le modèle
Papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté
Maman, dans ta bonté, ta tendresse, ta patience et ton dévouement pour nous
Vous m'avez supporté sans cesse et sans jamais vous plaindre
Vous m'avez appris l'honnêteté et le sens de la responsabilité
Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon
enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.
Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de
vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.
Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.
Je vous aime papa et maman.*

A mon très cher mari Anas

Quand je t'ai connu j'ai trouvé l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Merci pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur et ta grande patience. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. Merci pour tout.

Ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour. Puisse Dieu nous préserver du mal, nous combler de santé, de bonheur et nous procurer une longue vie paisible.

A mon cher grand frère Hamza et sa femme Meriem

Hamza, mon très cher, je suis si fier d'avoir un grand frère comme toi. En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, et que DIEU, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A ma petite sœur Kenza

Kniza, la prunelle de mes yeux, tu es ma sœur, ma confidente et mon amie. Tu es ce petit rayon de soleil qui procure chaleur et tendresse. Je ne pourrai jamais imaginer ma vie sans toi. Puisse nous rester unies et fidèles à l'éducation que nous avons reçue. Que Dieu te guide et t'aide à concrétiser tes désirs.

A ma tante adorée Naïma Hadhoumi

Rien au monde ne peut traduire l'affection que j'ai pour toi. Vous m'avez toujours encouragé et soutenue. Vous étiez toujours là pour moi dans les moments les plus difficiles. Merci pour la tante que tu es, merci pour tout l'amour et tous les conseils que tu ne cesses de m'offrir. Qu'il me soit permis aujourd'hui de t'assurer mon profond amour et ma grande reconnaissance. Que DIEU, le tout puissant, vous donne longue vie, santé et prospérité.

A ma très chère grand-mère maternelle

Qui m'a accompagné par ses prières et sa douceur, puisse DIEU, lui prêter longue vie et bonne santé et beaucoup de bonheur. Je t'aime« Mmi ».

A mes beaux-parents et mes beaux frères

Je remercie Dieu de m'avoir procuré une belle famille autant affectueuse et chaleureuse. Je vous dédie ce travail en guise de reconnaissance, d'amour et de respect.

Puisse Dieu, le tout puissant, vous donner santé, bonheur et longue vie.

*A ma chère tante Amína El chríquí, son mari ElHoucine, et mes cousins Ghíta,
Mouaad et Hafsa*

Je ne pourrai exprimer envers vous et votre famille qu'un amour profond. Vous vous êtes montrés de bons conseils. Vous avez toujours été à l'écoute. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon affection.

A la mémoire de mes grands parents paternels et mon grand-père maternel

Je ne vous ai jamais connu, mais votre souvenir chez ceux qui vous ont connu et l'éducation que j'ai reçue en héritage de vous à travers mon père et ma mère m'ont toujours guidé. Que vos âmes reposent en paix.

*A mes chers oncles et tantes et (Hamíd, Abdelmajíd, Mohamed, Youssef, Najía,
Sakína et Aicha)*

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

*A ma chère cousine Btissam et son mari et leurs petits poussins Mohamed Ali et
Jad*

Btissam, tu as toujours été pour moi, une meilleure amie, une confidente et une complice. J'espère que vous trouverez à travers ce travail l'expression de mes sentiments les plus chaleureux.

A toute ma famille maternelle et paternelle

Que ce travail vous apporte l'estime, et le respect que je porte à votre égard, et soit la preuve du désir que j'avais depuis toujours pour vous honorer.

A ma très chère amie d'enfance Yasmína Chhíh et sa famille

Cela fait bientôt une vingtaine d'années qu'on se connaît...Le temps passe, fait de rires, de confidences, de surprises, de larmes mais surtout de moments de bonheur partagés. Je ne pouvais espérer meilleure amie, sœur et confidente que toi. Tu as su me consoler quand je pleurais, m'encourager quand je doutais, me conseiller quand j'hésitais...Toujours présente et à l'écoute. Que la bonté de DIEU illumine ton chemin. Je t'aime fort Yasminti.

A ma très chère Imane Bentaïh

Imano, ton amitié a doublé mes joies et a réduit mes peines. Ce lien si spécial que nous avons tissé au fil du temps est éternellement incassable. Ta présence à mes côtés pimente ma vie, tu as su me comprendre, me calmer et me reconforter. Je te dédie ce travail en te souhaitant une longue vie bien prospère ; que dieu te bénisse ma très chère. A nous ! A jamais !

A ma chère Fatima Boukis

Ta compagnie a rendu ce long parcours plein de beaux souvenirs inoubliables. Nous avons partagé ensemble le meilleur et le pire. Ta présence à mes côtés m'a toujours honorée. Pour l'oreille attentive que tu m'as toujours prêtée, pour ton aide précieuse le long de toutes ces années, je te dédie cette thèse. Merci pour ton amitié si précieuse ma chère Fatima.

A ma chère amie Meriem Atar

Nos vies ont parfois pris des chemins parallèles, mais sans jamais vraiment se séparer. Je prie Dieu pour que notre amitié soit éternelle.

A tous mes collègues

A tous mes enseignants

Depuis ceux qui m'ont appris à écrire mon nom, en signe de vive gratitude et reconnaissance.

**A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS ET QUE J'AI OMIS DE CITER
INVOLONTAIREMENT**



REMERCIEMENTS



A NOTRE CHER MAITRE ET PRESIDENT DE JURY :

Professeur Asmouki Hamid

Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous faites en acceptant avec bienveillance de présider le jury de notre thèse.

Nous avons eu le privilège d'être un de vos élèves. Nous avons toujours admiré la simplicité, la facilité de votre abord et largement bénéficié de l'étendue de votre savoir et de vos hauts talents pédagogiques. Vos hautes qualités humaines et professionnelles ainsi que votre sérieux ont toujours suscité notre profond respect.

Veillez trouver dans ce travail, les marques de notre profonde gratitude et l'expression d'une infinie reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE :

Professeur Rais Hanane

Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous avez fait en témoignant un vif intérêt pour ce travail. Vous nous avez guidés en nous conseillant et en consacrant une partie de votre temps précieux.

Votre modestie et vos qualités professionnelles ne peuvent que susciter estime et respect.

En reconnaissance des efforts que vous avez fournis en dirigeant ce travail avec autant de simplicité que de sympathie, et en espérant être digne de votre confiance, veuillez trouver ici l'expression d'un très grand respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Professeur Khouchani Mouna

Vous avez accepté très spontanément de faire partie de notre jury. Nous vous remercions de votre enseignement et de l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Veuillez trouver ici, Professeur, l'expression de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Professeur Yassir Ait Benkaddour

Nous tenons à vous exprimer nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de siéger auprès de ce noble jury. Votre présence nous honore. Veuillez trouver ici, professeur, l'expression de notre profond respect.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Professeur Harou Karam

Nous vous remercions d'avoir répondu à notre souhait de vous voir siéger parmi nos membres du jury. En acceptant d'évaluer notre travail, vous nous accordez un très grand honneur. Veuillez trouver ici, cher Maître, l'assurance de mes sentiments respectueux et dévoués.

A Madame Sellami Souad

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.

**Au professeur Belbachir Anas, à Docteur Amouzoune Asmaa
et Docteur Khiraoui Hasna**

Merci infiniment pour votre aide, votre temps précieux, votre soutien. Je vous exprime ma haute considération et mon profond respect.

**A tout le personnel du service d'anatomie-pathologique du CHU
Mohamed VI de Marrakech**

A Tous mes professeurs de la faculté de médecine et de pharmacie de

**A TOUS CEUX QUI ONT AIDE DE LOIN OU DE PRES POUR
L'ELABORATION DE CE TRAVAIL**



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique
AR	: Auto-renouvellement
ARN	: Acide Ribonucléique
ASCO	: American society of clinical oncology
ATC	: Anthracycline
BCL2	: B cell-lymphoma2
BL	: Basal-like
BLBC	: Basal Like Breast Cancer
BRCA	: Breast Cancer susceptibility gene
BUB1	: Budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog
CCIS	: Carcinome Canalaire In Situ
CD117	: Proto-oncogène c-kit
CDH1	: Cadherin E
CGH	: Comparative Genomic Hybridization
CIS	: Carcinome In Situ
CISH	: Chromogenic In Situ Hybridization
CK	: Cytokératine
CLI	: Carcinome lobulaire infiltrant
CLIS	: Carcinome Lobulaire In Situ
CSTN	: Cancer du sein triple-négatif
CT	: Chimiothérapie
CTNS	: Carcinome de type non spécifique
DCIS	: Ductal Carcinoma In Situ
EGFR	: Epidermal Growth Factor
ER	: Estrogen Receptor
ESR1	: Estrogen Receptor 1
FABP7	: Fatty acid binding protein 7

FGF	: Fibroblast Growth Factor
FGFR	: Fibroblast Growth Factor Receptors
FISH	: Fluorescence In Situ Hybridation
FOXA1	: Forkhead box protein A1
GATA3	: GATA binding protein 3
GRB7	: Growth Factor Receptor Bound Protein 7
HER-2	: Human Epidermal growth factor Receptor 2
HES	: Hématoxyline–Eosine–Safran
HT	: hormonothérapie
IGF 1	: Insulin–like Growth Factor 1
IGF 1R	: Insulin–like Growth Factor 1 Receptor
IG G	: Immunoglobuline G
IHC	: Immunohistochimie
Ki-67	: cell cycle related nuclear protein
OMS	: Organisation mondiale de la santé
P53	: protéine 53
P63	: protéine 63
PAI1	: Plasminogen Activator Inhibitor–1
PR	: Progesteron receptor
RH	: Récepteurs Hormonaux
RT–PCR	: Reverse Transcriptase– Polymerase Chain Reaction
SBR	: Scarff Bloom et Richardson
TMA	: Tissue Microarray
TN	: Triple Négatifs
TNS	: Type Non Spécifique
SISH	: Silver in situ hybridization
UTDL	: Unité terminale ductulo–lobulaire



PLAN



INTRODUCTION	1
RAPPELS	4
I. Organisation Histologique, morphologique et immunohistochimique du sein.....	5
1. Structure générale du sein.....	5
2. Le lobe.....	7
3. Le lobule.....	7
II. Classification histo-moléculaire des cancers du sein OMS 2012.....	12
1. Type histologique.....	12
2. Classification pTNM des cancers du sein et stades cliniques (7ème édition 2009 AJCC).....	14
3. Classification moléculaire.....	16
III. Définition des tumeurs triple-négatives.....	18
1. Description morphologique.....	18
2. Description immunohistochimique : tumeurs triples négatives (tumeurs basal-like/ tumeurs apocrines).....	18
3. Description moléculaire et tumeur de type basal-like et claudin-low.....	20
Matériel et méthodes	24
I. Matériel du travail.....	25
II. Méthodes du travail.....	25
1. Sélection de la population étudiée.....	25
2. Etape technique et étude immunohistochimique.....	26
III. Recueil des données.....	33
Résultats	34
I. Caractéristiques clinico-pathologiques des carcinomes mammaires triple-négatifs.....	35
1. Age.....	35
2. Type histologique.....	35
3. Grade histopronostique SBR (modifié par Ellis et Elston).....	36
4. Taille TNM (selon AJCC).....	37
5. Association avec composante intra-canaulaire.....	37
6. Emboles vasculaires.....	38
II. Profil phénotypique des marqueurs immunohistochimiques des carcinomes mammaires triple-négatifs.....	38
1. CK5/6.....	38
2. KI67.....	40
3. P53.....	43
4. BCL2.....	44
5. CD117.....	47
III. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression des marqueurs immunohistochimiques chez les CSTN.....	49

DISCUSSION	51
I. Définitions.....	52
1. CK5/6	52
2. KI-67.....	52
3. P53	53
4. BCL2	53
5. CD117.....	53
II. Profil phénotypique des marqueurs immunohistochimiques des CSTN.....	54
1. Cytokératines 5et 6.....	54
2. Corrélation clinico-immuno-pathologique chez les carcinomes mammaires triple-négatifs.....	55
III. Au total.....	59
CONCLUSION	60
ANNEXE	62
RESUME	67
BIBLIOGRAPHIE	74



INTRODUCTION



Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent dans le monde, c'est la deuxième cause de décès par cancer. Il prend naissance des cellules épithéliales qui tapissent l'unité terminale ductulo-lobulaire, et on peut le classer comme carcinome invasif ou non invasif selon le franchissement ou non de la membrane basale [1].

Les traitements systémiques (Chimiothérapie, hormonothérapie, thérapeutiques ciblées) sont délivrés sur la base de facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse thérapeutique. Il est donc crucial d'améliorer la classification pronostique du cancer du sein pour affiner les indications thérapeutiques et améliorer les taux de survie [2].

Le cancer du sein apparaît aujourd'hui comme une maladie complexe caractérisée par l'accumulation de multiples altérations moléculaires qui confèrent à chaque tumeur un phénotype et un potentiel évolutif propres.

La prise en charge contemporaine du cancer du sein a évolué grâce aux progrès de la biologie moléculaire. IL est devenu une maladie hétérogène avec des sous-types selon la présence ou non des récepteurs hormonaux (RH) : aux estrogènes (RE), à la progestérone (RP), et l'amplification ou pas du gène HER2, sans compter les facteurs de prolifération [3].

Perou et Sorli ont utilisé la technique de puces à ADN pour créer la nouvelle classification du cancer du sein. Ils ont démontré que cette néoplasie peut être classée selon les profils d'expression génique en quatre groupes[4, 5] :

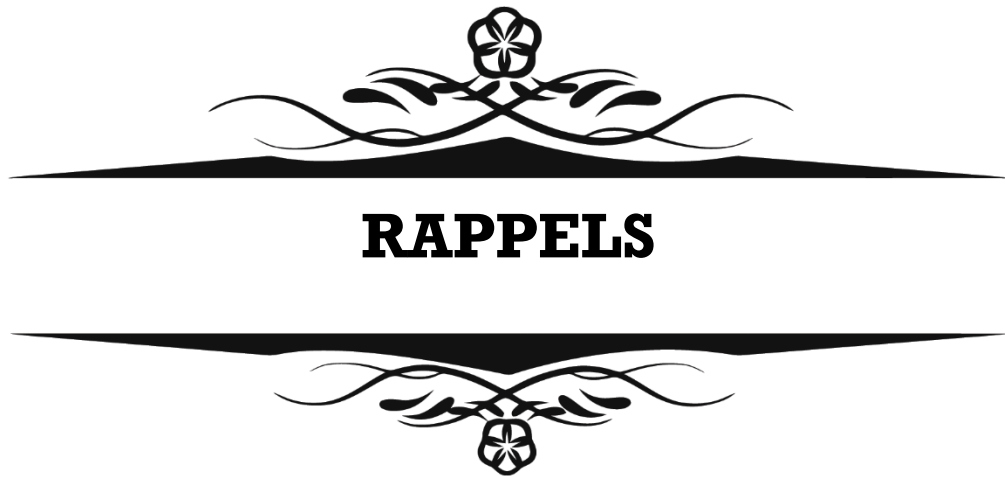
- Type **luminal** : tumeurs qui expriment les RH, classées en 2 catégories : **luminal A** et **luminal B**
- Type **HER2** ou **Erb-B2** : tumeurs qui sur-expriment l'HER2.
- Type « **triple-négatif** » : tumeurs qui n'expriment pas les récepteurs hormonaux et qui expriment les gènes trouvés normalement dans les cellules basales et myoépithéliales.
- Type **Normal breast-like** : il est artefactuel, provenant de la contamination des échantillons tumoraux par les tissus mammaires normaux, il n'est donc pas utilisé en clinique.

Les cancers du sein triple-négatifs (CSTN) sont définis par l'absence d'expression des RE, RP et l'absence de surexpression ou d'amplification d'HER2. La définition de l'absence de surexpression d'HER2, selon les dernières recommandations conjointes de l'ASCO (American society of clinical oncology) et du Collège des pathologistes américains, est maintenant largement diffusée et acceptée dans la communauté internationale : test immuno-histochimique (IHC) validé montrant un niveau d'expression 0 ou 1+, ou un niveau 2+ avec test d'hybridation in situ non amplifié. Il convient cependant de rappeler que le seuil de positivité des RE et RP par immunohistochimie (IHC) reste discuté selon les régions du monde. En Amérique du nord, l'expression des RE et des RP est considérée comme positive si au moins 1% des cellules tumorales sont positives, alors qu'en Europe et singulièrement en France, le seuil de 10% de positivité reste le plus souvent retenu [6].

Les cancers du sein triple-négatifs représentent environ 15% de tous les cancers du sein. Ce cancer est connu pour son mauvais pronostic et du fait qu'il ne bénéficie pas de thérapie ciblée à cause de sa négativité pour les récepteurs hormonaux et son profil HER2 négatif. Il est aussi connu par une grande hétérogénéité sur le plan moléculaire, notamment par l'expression différentielle caractéristique de certains marqueurs tumoraux.

Le cancer du sein triple-négatif ne correspond pas à une seule entité pathologique, mais à un statut immunohistochimique commun à un ensemble de tumeurs avec une carte d'identité tumorale et une évolution clinique différentes.

Notre étude est une étude rétrospective dans le cadre d'un projet de recherche, qui consiste à étudier l'expression IHC des marqueurs basaux cytokératines5/6 (CK5/6), d'agressivité Ki-67, p53, BCL-2 et le CD117 chez 25 patientes atteintes de CSTN colligées au service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech entre janvier 2005 et janvier 2016. Notre étude consiste aussi à confirmer le profil caractéristique de ce type de cancer connu par sa grande agressivité et le reclasser au sein de groupes histopronostiques différents par immunohistochimie pour traduire l'hétérogénéité tumorale au sein de ce groupe.



I. Organisation Histologique, morphologique et immunohistochimique du sein

1. Structure générale du sein

La glande mammaire est une glande sudoripare modifiée. C'est une glande « paire », symbole de féminité, qui a pour fonction, chez la femme, la sécrétion du lait permettant l'allaitement des nouveau-nés et nourrissons. Elle est à développement continu depuis le stade embryonnaire, à travers la puberté, les cycles menstruels et la grossesse, jusqu'à l'atrophie à la ménopause. Le sein existe également chez l'homme sous forme atrophiée.

Au sommet du mamelon s'abouchent 10 à 20 canaux. Certains sont rapidement borgnes mais la plupart vont (après une dilatation ampullaire fusiforme appelée sinus lactifère et située à hauteur de la plaque aréolaire) se ramifier en canaux de plus petit calibre jusqu'à aboutir aux structures terminales périphériques que sont les lobules.

L'organe renferme donc deux structures essentielles, une structure à visée sécrétoire qui est le lobule et une structure à visée excrétrice qui est le canal excréteur appelé canal galactophore [7].

La ramification d'une galactophore donne lieu à une arborescence qui (avec le tissu conjonctif ou adipeux qui l'entoure) est appelée lobe.

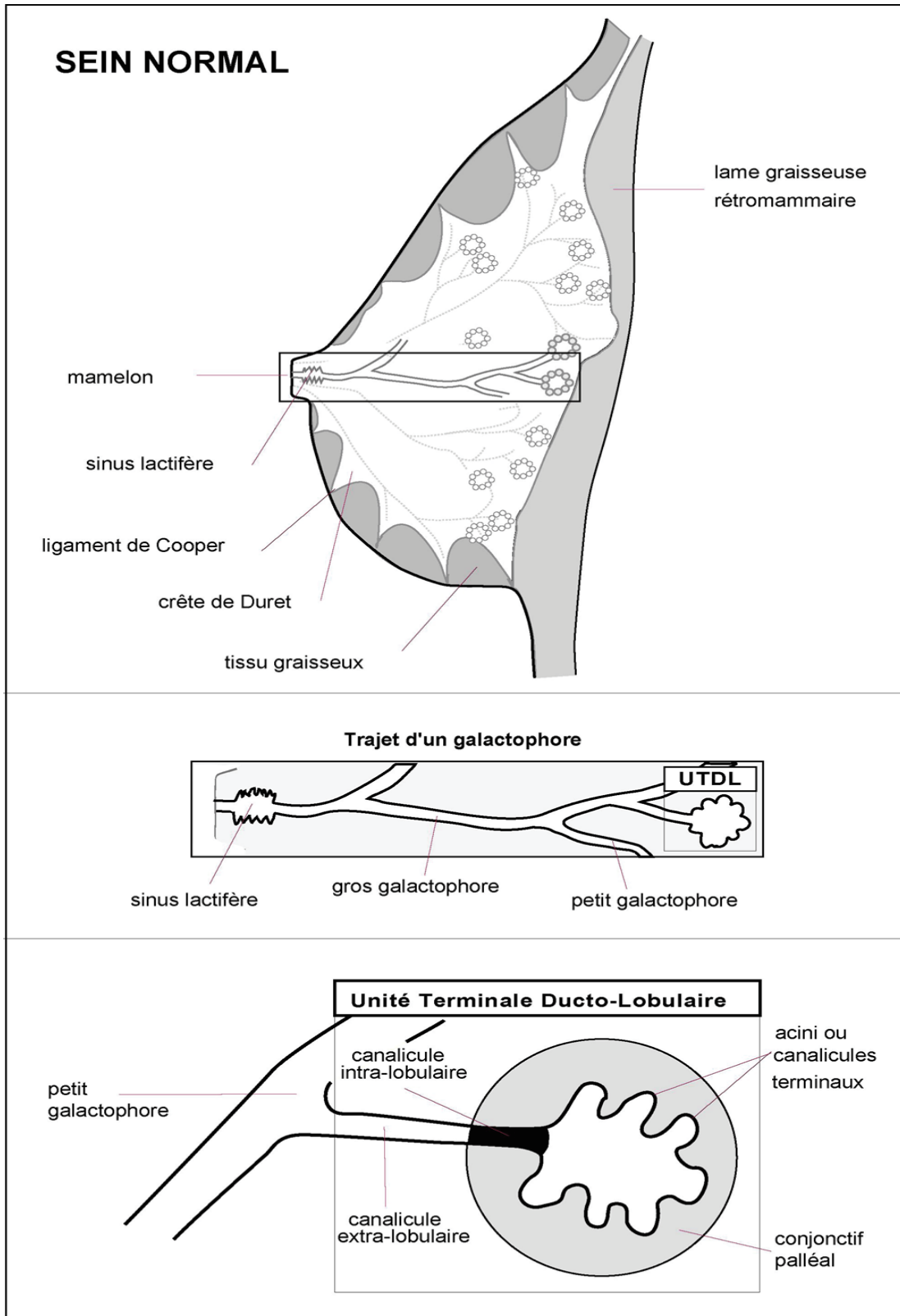


Figure 1 : Représentation schématique de la structure générale du sein [12]

2. Le lobe

Chaque glande mammaire est constituée de 10 à 20 lobes drainés par des canaux galactophores collecteurs « lactifères » s'ouvrant individuellement à la peau au niveau du mamelon. Chaque lobe est lui-même constitué de lobules, chaque lobule étant constitué de tubulo-alvéoles correspondant à la partie sécrétrice de la glande. Les lobes sont séparés par du tissu conjonctif dense et entourés par du tissu adipeux abondant, de même les lobules sont entourés par du tissu conjonctif dense alors que le tissu conjonctif intra-lobulaire (tissu conjonctif palléal) est lâche.[7]

3. Le lobule

3.1. Structure

Le lobule est une formation sphérique d'environ 0,5 à 1mm de diamètre constituée de petits tubes borgnes (appelés ductules terminaux) agencés de manière radiée autour d'un canal collecteur intra-lobulaire (le galactophore terminal intralobulaire).

Ces ductules terminaux, au nombre de 20 à 100, sont entourés par un tissu fibro-collagène lâche appelé tissu palléal et dont les limites périphériques séparent le lobule du tissu fibro-collagène de soutien. Le revêtement épithélial des lobules est à double couche, la couche interne faite de cellules épithéliales bordant la lumière, la couche externe de cellules myoépithéliales [9].

En 1975, Wellings a développé le concept de TDLU (terminal duct lobular unit ou unité terminale ductulo-lobulaire) qui englobe le lobule et le galactophore terminal extra lobulaire [10]. Ce galactophore terminal représente la dernière division du galactophore avant le lobule. Il est court et de longueur voisine de celle du diamètre lobulaire, soit environ 1mm. Ce TDLU, de par sa grande hormonoréceptivité, représente le lieu de développement de la plupart des proliférations épithéliales bénignes et malignes.

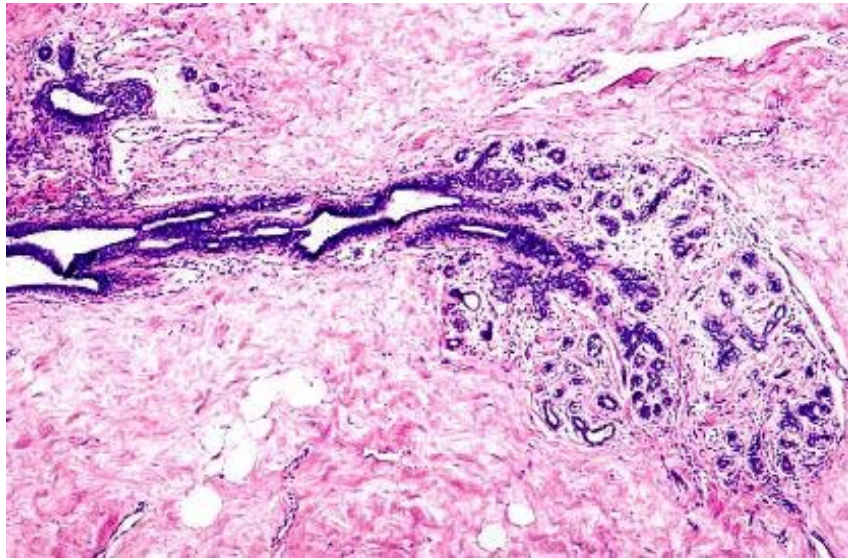


Figure 2 : Microphotographie d'une unité terminale ductulo-lobulaire comme vue dans un tissu mammaire normal[10]

3.2. La cellule épithéliale

Elle est le point de départ de la très grande majorité des carcinomes mammaires. Dans au moins 98% des cas le cancer du sein est un adénocarcinome développé à partir de l'épithélium glandulaire.

a. Aspect immunohistochimique

Les cellules épithéliales ou luminales expriment des marqueurs associés aux récepteurshormonaux (récepteurs des œstrogènes et de la progestérone) [8,9], certaines cytokératines (CK8, CK14, CK18) ainsi que des facteurs de transcription spécifiques comme GATA3 et FOXA1 [10, 11,14].

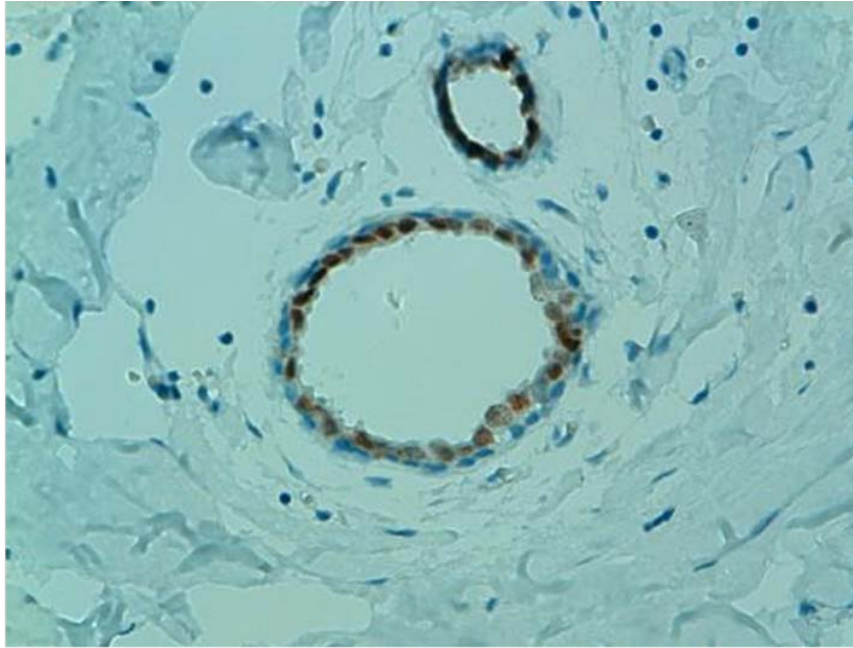


Figure 3: expression des récepteurs ostrogéniques par les cellules luminales des canaux normaux[15]

3.3. La cellule myoépithéliale (basale)

Cette cellule n'est pas spécifique du sein puisqu'on la retrouve également dans les glandes salivaires et sudorales. Elle est située entre les cellules épithéliales et la membrane basale.

La cellule myoépithéliale participe à l'élaboration de la membrane basale et a des propriétés contractiles qui favorisent l'éjection du lait et l'apparition d'espaces intercellulaires permettant de meilleurs échanges entre l'épithélium et le tissu palléal. Elle est absente dans les carcinomes mammaires infiltrants.

a. Aspect morphologique

Les cellules myoépithéliales (basales) sont morphologiquement hétérogènes, elles sont soit fusiformes ou cubiques, selon leur endroit dans le système canalaire du sein et selon le statut hormonal du tissu [15].

Les cellules myoépithéliales situées à la périphérie des canaux ont typiquement des hémidesmosomes, des filaments cytoplasmiques avec des densités focales et des vésicules de pinocytose le long de la membrane plasmique.

b. Profil immunohistochimique

Les cellules myoépithéliales sont le plus souvent définies par l'expression de l'actine muscle lisse, la vimentine, la glial fibrillary acid protein, le CD 10, la protéine 63, la myosine muscle lisse et la protéine S100. La calponine et le caldesmon peuvent aussi définir les cellules myoépithéliales [16].

En ce qui concerne les cytokératines, les cellules myoépithéliales possèdent des profils différents qui diffèrent de celui des cellules luminales. Elles expriment en général les cytokératines 5/6, 14 et 17 [11, 14,17].

3.4. La membrane basale

Il s'agit d'une structure membranaire soutenant l'épithélium, synthétisée par les cellules myoépithéliales.

La membrane basale est une zone d'échange et de contact entre les structures épithéliales et le tissu conjonctif. En cancérologie, la membrane basale s'oppose au passage des cellules cancéreuses et son respect par les cellules néoplasiques a permis de définir le concept de carcinome in situ. En immunohistochimie, la membrane basale exprime la laminine ou le collagène de type IV [12].

3.5. Le tissu palléal

Il s'agit d'un tissu conjonctif très vascularisé enveloppant les ductules terminaux et généralement bien séparé du tissu conjonctif inter-lobulaire environnant qui est plus dense [12,13]. Sa densité est variable, en fonction du cycle hormonal ou de l'âge.

Très actif, le tissu palléal est:

- un lieu d'échange où se produisent les modifications cycliques d'origine hormonale,
- un site privilégié de la croissance du tissu mammaire, en particulier à l'adolescence et chez l'adulte dans le phénomène d'adénose,
- propice au développement d'une réaction inflammatoire, en particulier dans les mastites ou au contact d'un carcinome insitu,
- à l'origine de tumeurs mixtes à prédominance conjonctive comme le fibroadénome ou la tumeur phyllode [12,13].

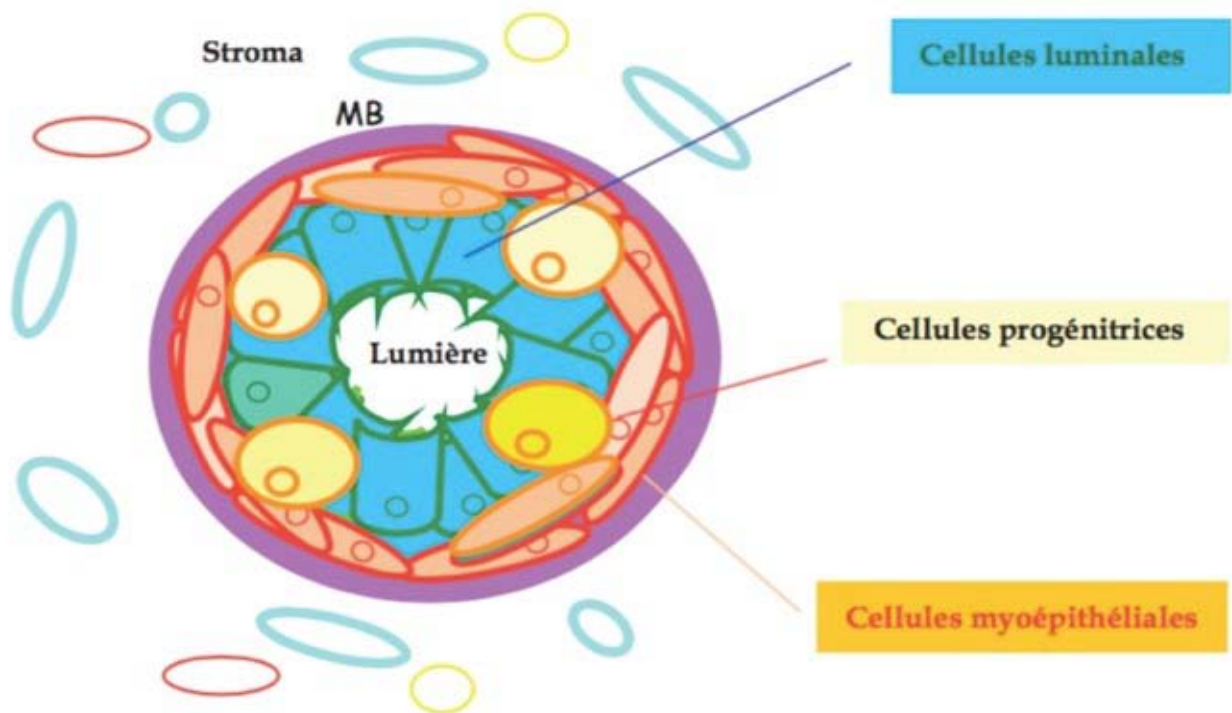


Figure 4: Représentation schématique de la cellule basale [8]

II. Classification histo-moléculaire des cancers du sein OMS 2012

1. Type histologique

La classification actuelle utilisée est celle de l'OMS 2012. Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la grande majorité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non épithéliales (sarcomes, lymphomes malins non hodgkiniens primitifs ...) sont rares (moins de 1% des cancers du sein) [18].

Tableau I : Types histologiques selon classification OMS 2012[18]

Tumeurs épithéliales malignes
Carcinomes non infiltrants
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Carcinome canalaire in situ (intra-canalaire) (CCIS): bas grade, grade intermédiaire, haut grade</i> • <i>Carcinome lobulaire in situ (CLIS)</i>
Carcinome mammaire de type non spécifique (NST) (40 à 75%)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Carcinome pléomorphe</i> • <i>Carcinome à stroma à cellules géantes "osteoclast-like"</i> • <i>Carcinome avec aspects choriocarcinomateux</i> • <i>Carcinome avec aspects mélanocytaires</i>
Carcinome spécifique de type lobulaire (5 à 15%)
<ul style="list-style-type: none"> • Carcinome tubuleux (2 à 7%) • Carcinome cribriforme (0,8 à 3,5%) • Carcinome mucineux (2%)
Carcinome avec aspects médullaires (1 à 7%)
<ul style="list-style-type: none"> • Carcinome médullaire • Carcinome médullaire atypique • Carcinome infiltrant NST avec aspects médullaires
Carcinome apocrine
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Carcinome à cellules en bague à chaton</i> • Carcinome micropapillaire infiltrant (<2%)
Carcinome métaplasique de type non spécifique (<5%)
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Carcinome adéno-squameux de bas grade</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Carcinome métaplasique pseudo fibromatosique</i> ▪ <i>Carcinome épidermoïde</i> • <i>Carcinome à cellules fusiformes</i> • <i>Carcinome avec différenciation (mésenchymateuse, chondroïde, osseuse et autres)</i> • Carcinome métaplasique mixte • Carcinome myoépithélial

Tableau 1 : Types histologiques selon classification OMS 2012[18] « suite »

Tumeurs épithéliales malignes
Types rares
Carcinome à différenciation neuroendocrine <ul style="list-style-type: none"> • Tumeur neuroendocrine bien différenciée • Tumeur neuroendocrine peu différenciée • Carcinome à différenciation neuroendocrine
Carcinome sécrétant
Carcinome papillaire infiltrant
Carcinome à cellules acineuses <ul style="list-style-type: none"> • Carcinome muco-épidermoïde
Carcinome polymorphe
Carcinome riche en lipides
Carcinome à cellules claires riches en glycogène
Carcinome oncocytaire
Carcinome sébacé
Carcinome de type glande salivaire
Carcinome de type glande annexielle cutanée
Carcinome adénoïde kystique (0,5%)
Carcinome inflammatoire
Maladie de Paget du mamelon
Tumeursmyoépithéliales
Myoépithéliomemalin
Tumeursmésenchymateusesmalignes
Hémangiopéricytome
Fibrosarcome
Schwannome malin
Angiosarcome
Liposarcome
Rhabdomyosarcome
Ostéosarcome
Léiomyosarcome
Tumeurs malignes mixtes épithéliales et conjonctives
Sarcome phyllode
Carcinosarcome
Lymphomes malins
Lymphome B diffus à grandes cellules
Lymphome de Burkitt
Lymphome du MALT de la zone marginale
Lymphome folliculaire
Métastases mammaires
Tumeurs du sein de l'homme
Carcinome infiltrant
Carcinome in situ

2. Classification pTNM des cancers du sein et stades cliniques (7^{ème} édition 2009, AJCC)

2.1. Classification tumorale

Tableau II : Classification pTNM des cancers du sein

Rang	Description
T0	Pas de tumeur primitive
Tis	Carcinome in situ de type canalaire (Tis DCIS) ou lobulaire (Tis LCIS), maladie de Paget du mamelon (Tis Paget)
T1	Tumeur ≤ 2cm
	T1mi : lésion micro-invasive ≤ 1mm
	T1a : 1mm < tumeur ≤ 5mm
	T1b : 5mm < tumeur ≤ 10mm
	T1c : 10mm < tumeur ≤ 20mm
T2	20 mm < tumeur ≤ 50mm
T3	Tumeur > 50 mm
T4	Tumeur avec atteinte directe (a) de la paroi thoracique, (b) de la peau, (c) ou aux deux ou (d) carcinome de type inflammatoire

Note : Définition du 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. La présence d'embolies ou d'une lésion de grande taille ne sont pas suffisants pour le définir mais peuvent s'y rencontrer.

2.2. Classification adénopathies régionales

- pN0 : Absence de métastase ganglionnaire régionale détectée en histologie standard (y compris un amas de cellules tumorales de <0,2mm).

Un suffixe i+ indique la présence de cellules détectées en HE ou en immunohistochimie et dont la taille globale est de moins de 0.2mm et de moins de 200 cellules.

Un suffixe mol+ indique la détection de cellules tumorales par des techniques de biologie moléculaire.

- pN1mi : Micro métastases (entre 0,2 mm et/ou plus de 200 cellules ET < à 2,0mm)
- pN1a : Atteinte de 1 à 3 ganglions axillaires (dont au moins une métastase >2mm)
- pN2a : Atteinte de 4 à 9 ganglions axillaires (dont au moins une métastase >2mm)
- pN3a : Atteinte d'au moins 10 ganglions axillaires (dont au moins une métastase >2mm)

Note 1 : (sn) ajout pour qualifier qu'il s'agit de ganglions sentinelles ; si plus de 6 ganglions sentinelles ou non examinés ne plus mettre (sn).

Note 2 : y préfixe pour l'évaluation post thérapeutique néo-adjuvante.

2.3. Classification métastases à distance

- M0 : Absence de métastases à distance
- M1 : Métastase à distance

2.4. Classification des reliquats

- R0 : Absence de reliquat tumoral
- R1 : Présence d'un reliquat tumoral de découverte microscopique
- R2 : Présence d'un reliquat tumoral macroscopique

2.5. Classification des stades tumoraux

Tableau III : Stades tumoraux des cancers du sein

Rang	Description
Stade 0	Tis N0M0
Stade IA	T1N0M0
Stade IB	T0N1miM0
	T1N1miM0
Stade IIA	T0N1M0
	T1N1M0 (ne comprend pas N1mi/ T1 comprend T1mi)
Stade IIB	T2N1M0
	T3N0M0
Stade IIIA	T0N2M0
	T1N2M0 (T1 comprend T1mi)
	T2N2M0
	T3, N1 ou N2 M0
Stade IIIB	T4, N0 ou N1 ou N2 M0
Stade IIIC	Quelques soient T, N3, M0
Stade IV	Quelques soient T et N, M1

3. Classification moléculaire[19]

3.1. Analyse par microarrays

Récemment, toutes les tumeurs mammaires ont été classifiées sur base de leur expression génétique par analyse microarrays (puces à ADN). Différents groupes ont été identifiés permettant de déterminer une signature pronostique [19, 20] :

- **Luminal A ou B** : ER et/ou PR positifs
- Type **HER2** : avec forte expression de l'oncogène HER2.
- Type **triple-négatif** : n'exprimant ni les RH ni HER2.
- Type **normal breast-like** : provenant de la contamination des échantillons tumoraux par les tissus mammaires normaux.

Les types luminaux expriment les cytokératines des cellules luminales normales (cytokératines CK7/8, 18 et 19). Par contre, le sous-type triple-négatif n'exprime pas les récepteurs hormonaux ni certains gènes comme l'alpha-actine et certaines intégrines. Dans certains carcinomes de type basal, les cytokératines CK5/6, l'epidermal growth factor receptor (EGFR) et l'insulin growth factor sont notamment exprimées [19, 20].

3.2. Analyse immunohistochimique

Les outils simples de pathologistes permettant de classer les carcinomes infiltrants du sein dans les grands groupes moléculaires :

Tableau IV : critères utilisés pour la classification moléculaire intrinsèque du cancer du sein[19]

Sous type moléculaire	Expression immunohistochimique
Luminal A	RO>10%,RP<20%, Ki67<14%
Luminal B	RO>10%, RP<20%, HER2 possible ki67>14%
Her-2	RO<10% HER2 (3+)
Triple-négatifs	RO<10%, RP<10%,HER2 (-) et ki67 très élevé

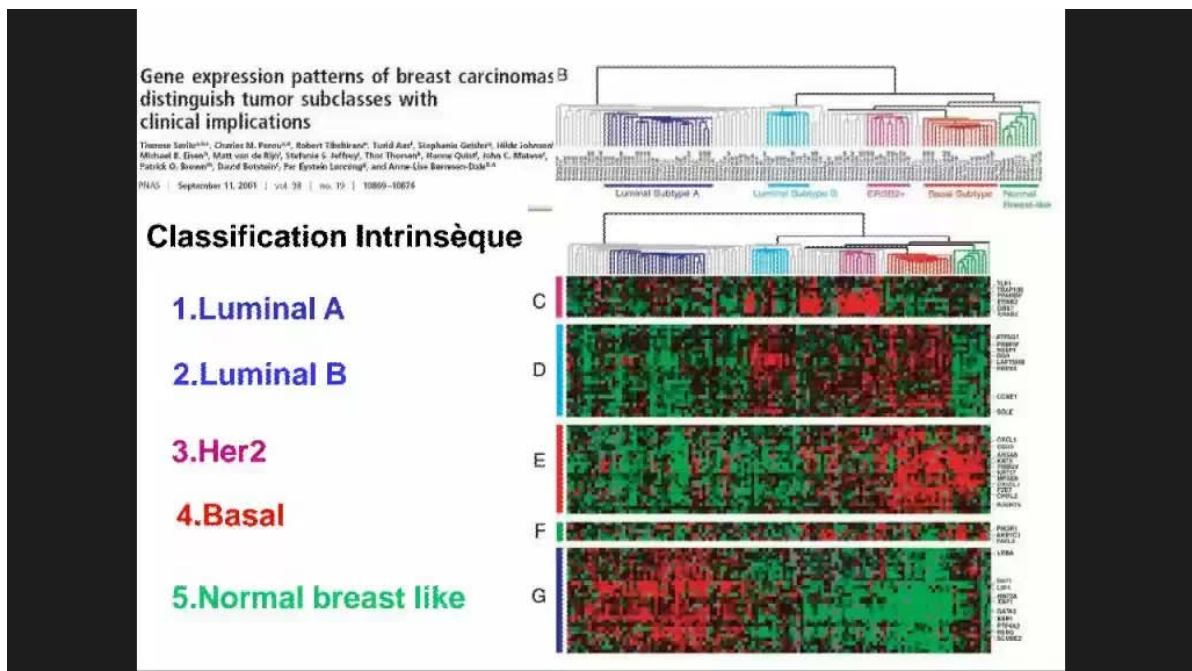


Figure 5: Classification moléculaire intrinsèque des cancers du sein [21]

III. Définition des tumeurs triple-négatives

1. Description morphologique

Le cancer du sein triple-négatif ne correspond pas à une seule entité pathologique mais à un profil immunohistochimique commun à un ensemble de tumeurs avec une carte d'identité tumorale et une évolution clinique différentes.

Sur le plan morphologique, 17 % des cancers du sein triple-négatifs, sont majoritairement constitués de carcinomes mammaires de type non spécifique de haut grade. Il existe aussi des types rares de cancer du sein, dont le pronostic est moins péjoratif comme : les carcinomes sécrétants juvéniles, les carcinomes adénoïdes kystiques, les carcinomes médullaires et les carcinomes métaplasiques [20-21-23].

2. Description immunohistochimique : tumeurs triples négatives (tumeurs basal-like/ tumeurs apocrines)

Le terme tumeur « triple-négative » (TN) est une définition immunohistochimique correspondant à l'absence d'expression des récepteurs à l'œstrogène, à la progestérone et à l'absence de surexpression ou d'amplification du récepteur HER2, et il est utilisé en pratique clinique.

En France, les seuils de négativité retenus sont de moins de 10 % de cellules marquées pour les récepteurs hormonaux (RH), et un marquage membranaire d'HER2 de score 0 ou 1+ ou bien 2+ maissans amplification en hybridation in situ (CISH, FISH ou SISH pour HER2). En Amérique du nord, l'expression des RE et RP est considérée comme positive si au moins 1% des cellules tumorales sont positives [6]. Cependant, il paraît important de rappeler ici, à l'instar des recommandations de plusieurs groupes internationaux [22], que la définition retenue pour les CSTN correspond bien à une parfaite négativité des RH (absence de toute cellule marquée) et à l'absence d'expression ou d'amplification de HER2.

2.1. Tumeur basal-like (BL)

Les tumeurs BL sont habituellement RO-négatives, RP-négatives et HER2-négatives, avec une forte expression des cytokératines de haut poids moléculaire CK5/6,14, EGFR et c-Kit [23].

Les tumeurs ainsi identifiées comme BL par l'immunohistochimie constituent un groupe très hétérogène et il faut distinguer 2 sous-groupes :

- les BL de phénotype BL pur exprimant les cytokératines basales,
- les BL de phénotype myoépithélial exprimant la P63, l'actine muscle lisse ou la PS100.

En pratique les tumeurs BL sont souvent assimilées aux CSTN. Or, dans le groupe CSTN, on retrouve le groupe **BL**, qu'il soit pur, ou de phénotype myoépithélial, et le groupe **apocrine** [26]. En effet, il semble plus exact de dire que la majorité, et non la totalité, des tumeurs TN ont un phénotype BL et que la majorité, et non la totalité, des tumeurs BL ont un phénotype TN.

Les études extrapolant les résultats et les conclusions portant sur des CSTN aux tumeurs BL ou inversement sont maintenant perçues comme inexactes.

Les derniers chiffres de la littérature internationale montrent que 80 % des tumeurs TN ont un phénotype BL [27], et qu'au moins 20 % des tumeurs BL expriment les RO ou surexpriment HER2, ces chiffres pouvant aller de 18 % à 40% [28].

Sur le plan génomique, les carcinomes basal-like présentent de nombreuses altérations génomiques, avec plusieurs gains et pertes de segments chromosomiques (9), des mutations du gène p53 dans presque 100% des cas [24], une activation de la voie AKT avec fréquentes mutations de PTEN [25] et très souvent une inactivation somatique (c'est à dire survenant dans la tumeur au cours de la carcinogénèse) du gène BRCA1.

2.2. Tumeur de phénotype apocrine

Si un CSTN n'exprime ni les cytokératines de haut poids moléculaire, ni EGFR, ni c-KIT, on retient un phénotype apocrine [29] se définissant par une positivité aux récepteurs aux

androgènes (RA) à l'immunohistochimie.

Sur le plan génomique, ce groupe présente une signature de type « apocrine » avec, en particulier, l'activation de la voie de signalisation de récepteur des androgènes. Cette observation ouvre des perspectives de nouvelles possibilités thérapeutiques hormonales anti androgène [30].

3. Description moléculaire et tumeur de type basal-like et claudin-low

L'étude de Perou et Sorlie en 2000 [31] sur le seul groupe triple-négatif a permis de dégager deux groupes moléculaires différents : Basal-like et Claudin-low. Elle a ainsi aidé à mieux comprendre les différentes formes de présentation clinique et profils de rechute, de métastases ou de survie.

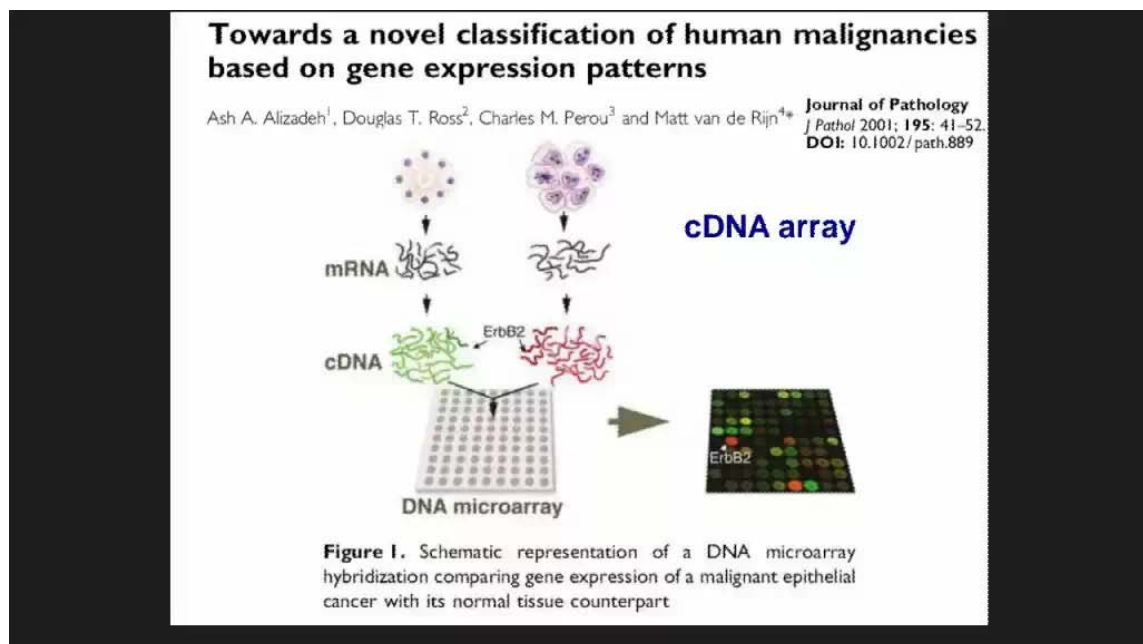


Figure 6: Représentation schématique de la puce à ADN

[*Journal of pathology* 2001 ; 195 : 41-52]

3.1. Tumeur de type basal – like

Les tumeurs BL, issues des cellules basales/myoépithéliales, se caractérisent par :

- la sous-expression de gènes de la signature luminaire correspondant aux gènes des RO ou des RP ainsi qu'une sous expression des gènes GATA3, LIV1 ou BCL2 ;
- l'absence de surexpression du gène HER2 ;
- une forte expression des gènes des CK de haut poids moléculaire, dites basales (CK5/6, 14 et 17), des gènes EGFR, CKIT, FABP7, cavéolines 1 et 2. Le gène de la P-cadhérine est également fortement exprimé.
- l'expression forte de gènes de prolifération comme STK6, BUB1 et TOPOisomérase 2alpha.

Une mutation de P53 est mise en évidence dans 95 à 100 % des carcinomes BL [27]. Il existe aussi très souvent des pertes d'expression ou des altérations du gène PTEN avec activation de la voie AKT/mTOR [28]. Les analyses par puces d'hybridation génomique comparative (aCGH) ont montré des remaniements du génome très variés et nombreux, représentés par des anomalies de nombres des chromosomes liés à des gains ou des pertes mais peu d'amplifications géniques majeures [32] (voir figure 7).

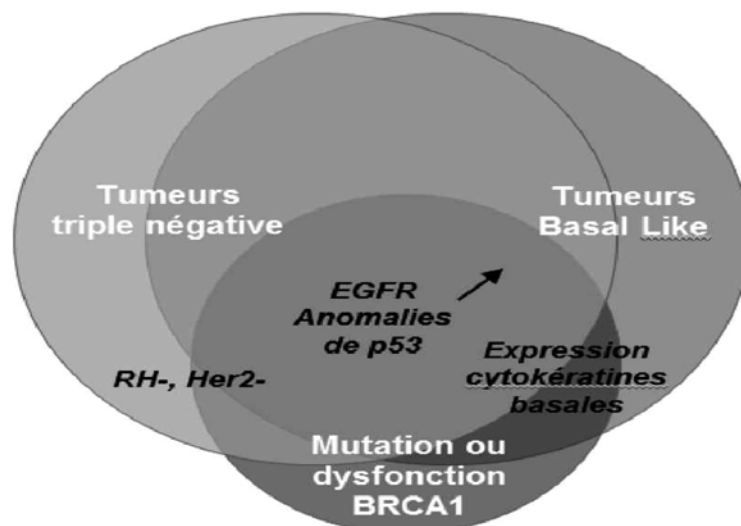


Figure 7 : Recouvrement des formes de cancer du sein TN et BL [31]

3.2. Tumeur de type claudin-low

Très récemment, un nouveau sous-groupe moléculaire bas en claudin a été mis en évidence, appelé **claudin-low**. Ces tumeurs expriment faiblement les protéines des jonctions

intercellulaires et se caractérisent par une expression basse ou absente des marqueurs de différenciation luminaire [31].

Par ailleurs, elles expriment fortement les marqueurs de transition épithélio-mésenchymateuse, les gènes de la réponse immunitaire et les marqueurs des cellules souches cancéreuses (ALDH1...). Il s'agit du sous-type moléculaire le moins fréquent (12-14 %). Morphologiquement, ce sont des tumeurs typiquement de haut grade, souvent richement infiltrées par des lymphocytes. La plupart des tumeurs claudin-low sont des carcinomes de type non spécifique auxquels s'ajoutent de fréquents carcinomes médullaires et métaplasiques.

Finalement, au sein des CSTN, les deux sous-types moléculaires les plus fréquemment identifiés seraient :

- le type **BL**, plus tardif dans la carcinogénèse
- le type **claudin-low**, proche du phénotype des cellules souches, correspondant à la première étape de différenciation d'une cellule tumorale.

Ce groupe récent **claudin-low** n'est pas admis par tous et est encore largement discuté.

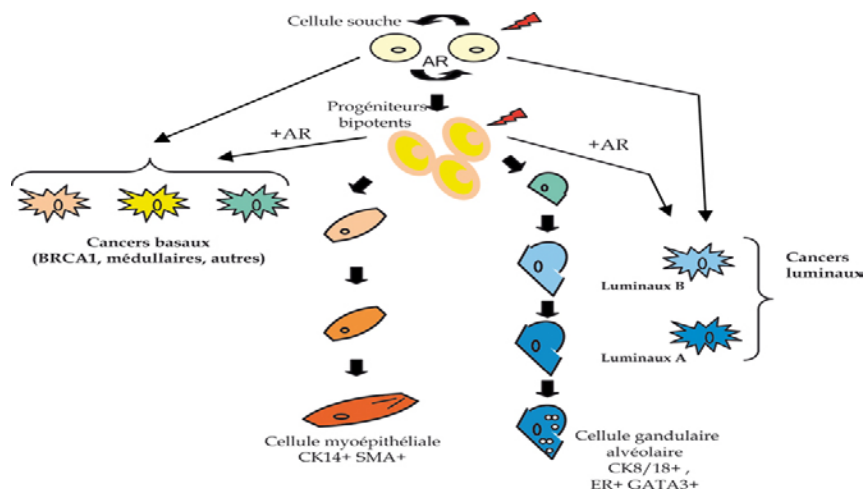


Figure 8 : Schéma de la différenciation épithéliale mammaire normale et tumorale [8]

Les CSTN représentent un groupe hétérogène, sur le plan clinique, morphologique, moléculaire et immunohistochimique. Notre travail a pour but l'individualisation de sous groupes pronostiques différents des cancers du sein triple-négatifs en se basant sur une étude immunohistochimique utilisant les anticorps basaux anti-CK5/6, les anticorps d'agressivité anti-p53, anti-Bcl2, anti-Ki-67 et le proto-oncogène CD117.



Matériel et méthodes



I. Matériel du travail

C'est une étude rétrospective dans le cadre d'un projet de recherche, qui permet de reclasser les carcinomes triple-négatifs au sein de groupes pronostiques hétérogènes en réalisant une étude immunohistochimique utilisant les anticorps basaux CK5/6 et les anticorps d'agressivité p53, BCL2, Ki67 et le CD117.

Pour réaliser ce travail, nous avons recueilli 25 cas des cancers du sein triple-négatifs diagnostiqués au service d'Anatomie-pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech, entre Janvier 2005 et Janvier 2016.

II. Méthodes du travail

1. Sélection de la population étudiée

1.1. Critères d'inclusion

Nous avons sélectionné dans notre étude les blocs de paraffine des biopsies mammaires ou pièces opératoires des patientes présentant un cancer du sein triple négatif avec :

- Absence d'expression des récepteurs hormonaux (récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone RO/RP) ou avec un seuil de négativité de <1% des R0 et des RP
- Absence d'expression du facteur de croissance épidermique HER 2 ou avec un score 1+ ou 2+ non amplifié par hybridation in situ (CISH, FISH ou SISH)

1.2. Critères d'exclusion

Nous avons exclu dans notre étude les patientes avec :

- RO >1% ou RP >1%

2. Etape technique et étude immunohistochimique

2.1. Réalisation du TMA(Tissu MicroArrayer)

a. Principe du TMA

La technique des TMA est un outil indispensable pour la validation à grande échelle, des nouvelles découvertes concernant les altérations des gènes. Cette technique permet de prendre en compte aussi les informations relatives aux taux d'expression et de localisation tissulaire des produits d'expression de ces gènes.

La technologie des TMA consiste à collecter en un seul bloc d'inclusion en paraffine des centaines d'échantillons tissulaires, sous forme de carottes cylindriques prélevées à partir de plusieurs blocs de paraffine classiques. Le recours à des petits échantillons, qui varient entre 600µm et 2mm, permet la préservation des blocs donneurs, qui sont souvent des ressources précieuses. De ce fait, les blocs donneurs peuvent être ultérieurement intégrés dans de nouvelles études [33].

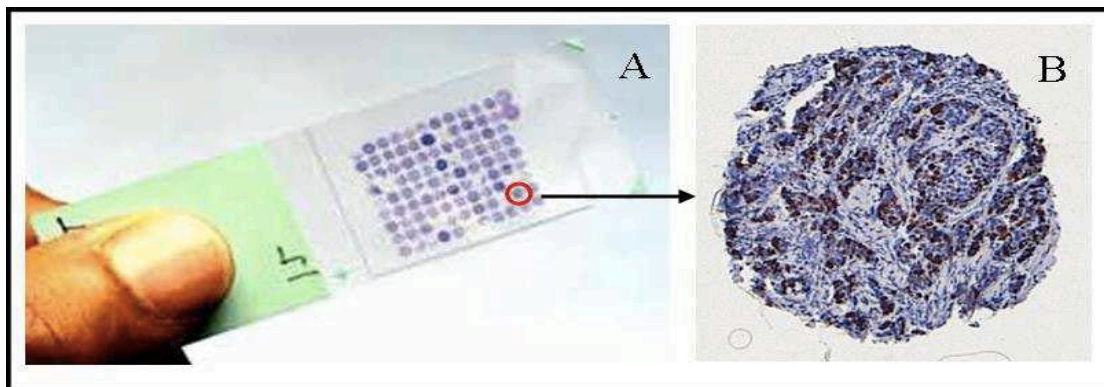


Figure 9 : Coupe histologique d'un bloc TMA.

A : lame histologique d'un bloc TMA / B : image d'un seul spot (coupe d'une seule carotte) [33]

Le bloc TMA, peut être utilisé comme n'importe quel bloc d'archive classique. Des coupes histologiques peuvent être pratiquées pour monter des lames de microscope comprenant plusieurs dizaines à plusieurs centaines de coupes de tissus (Figure 1). Ainsi, l'utilisation des

méthodes d'IHC sur les coupes de TMA rend envisageable les études sur de très grands nombres de tissus en même temps.

Les protocoles classiques d'IHC s'appliquent sans modification sur les lames de TMA. Il ne faut changer ni la concentration ni le volume des produits déposés par lame. Dès lors, les économies de réactifs sont considérables et directement proportionnelles au nombre de tissus par lame. Des études à grande échelle deviennent réalisables avec des budgets plus restreints et un gain important de temps [33]



Figure 10 : Le TMA Micro Arrayer : instrument pour réaliser des blocs TMA [33]

b. Plan de construction des TMA

b.1. Elaboration du plan de construction des TMA

Cette phase préliminaire comporte plusieurs étapes :

- formulation d'un objectif : tel que le notre qui consiste à étudier le profil d'expression des marqueurs ki67, p53, BCL2, CK5/6 et CD117 des tumeurs triple-négatives.
- choix des blocs d'archives donneurs à inclure pour la confection du bloc TMA. Ces archives doivent être suffisamment documentées (ex. données cliniques des patients et le grade de la tumeur),
- élaboration d'un plan détaillé, concernant le nombre et l'emplacement des carottes à prélever au niveau de chaque bloc donneur, puis leurs emplacements futurs sur le bloc TMA.

Une fois le plan établi et avant de procéder à la construction du bloc TMA, une coupe de 4µm est pratiquée au niveau de chaque bloc d'archive donneur. A l'aide d'une coloration standard, HES (Hématoxyline-Eosine-Safran), le pathologiste observe les structures tissulaires des blocs donneurs. C'est une étape nécessaire qui permet d'une part, le contrôle de la qualité des blocs recrutés, et d'autre part la délimitation des zones d'intérêts, où le technicien peut après réaliser le carottage.

c. Confection du bloc TMA

L'appareil permettant de construire des blocs TMA est le « MicroArrayer ». Celui-ci est constitué d'une tourelle comportant 2 aiguilles, ayant un diamètre de 2 mm. Le Micro Arrayer Manuel est mobile selon deux axes équipés de micromètres à affichage digital pour définir les points de carottage avec une précision de 1 µm. Il se compose d'un carrousel à 4 positions qui permet la construction en parallèle et simultanément de 4 blocs TMA. Ce carrousel facilite les opérations et réduit les manipulations de blocs. Il permet aussi de maintenir la précision de positionnement sur l'ensemble des blocs même avec la rotation [33].



Figure 11 :Construction d'un bloc TMA. Les carottes sont prélevées à l'aide de l'aiguille du microArrayer, à partir des blocs de biopsies donneurs. Ensuite ces carottes sont transférées vers le bloc de TMA receveur
[Laboratoire d'immunohistochimie du Centre de Recherche Clinique au sein du CHU Mohammed VI de Marrakech].

De manière générale, la confection du bloc TMA est réalisée suivant 3 étapes :

- **Préparation du bloc receveur** : des trous sont pratiqués dans le bloc à l'aide de la première aiguille du MicroArrayer. Les trous sont pratiqués généralement au fur et à mesure de l'avancement du plan expérimental et selon les coordonnées calculées et définies par celui-ci.
- **Prélèvement des carottes des blocs de biopsies donneurs** : la deuxième aiguille est enfoncée dans les blocs donneurs, au niveau des zones de carottages définies auparavant par le pathologiste. Puis l'aiguille est retirée prélevant ainsi une carotte ayant le même diamètre que l'aiguille. Soulignons que 600 µm est le diamètre le plus utilisé pour la réalisation des carottes.
- **Transfert des carottes dans le bloc TMA receveur**: l'aiguille comportant la carotte prélevée est amenée à proximité de la surface du bloc TMA receveur, directement au-dessus du trou préalablement percé. Puis, la carotte est poussée hors de l'aiguille et transférée dans le trou du bloc receveur. L'opération est répétée jusqu'au transfert total des carottes.

Une fois fabriqué, le bloc TMA est incubé à 37°C pendant 10 à 15 minutes. Cela permet de réchauffer la paraffine afin d'établir une bonne cohésion entre les carottes et la paraffine du bloc receveur. Cette température ne devra pas dépasser une plage de valeurs prédéfinies afin de ne pas détériorer les protéines des tissus à étudier [30-33].

d. Réalisation des coupes TMA



Figure 12 : Notre bloc TMA

2.2. Etape technique

Bloc de cancer du sein triple-négatif, après fixation par le formol tamponné à 4% et inclusion en paraffine, archivé au sein du service :

- Microtomie : réalisation de coupes fines de 4 μ m d'épaisseur par microtome semi-automatique : 6 rubans montés sur 6 lames, 1 pour coloration standard à l'Hématéine-Eosine, et 5 pour étude immunohistochimique des marqueurs **CK5/6, CD117, p53, Bcl2 et Ki-67**.
- Incubation dans l'étuve pendant une nuit à 37°C pour fixation
- Démasquage et déparaffinage au bain marie à 98,9°C pendant 20min
- Immunohistochimie par automate

Huit cas des CSTN de notre étude (entre 2005 et 2013) ont été réalisés ainsi.

Suite à la réception au service d'anatomie-pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech de la technologie du **Tissu Micro-Arrayer (TMA)** en 2015, nous avons réalisé les 17 cas de triple-négatifs restants en un seul bloc TMA.

2.3. Etude immunohistochimique

L'appareil AutostainerLink48 (Dako) a permis d'effectuer la technique immunohistochimique automatisée sur les coupes de tissus fixés et inclus en paraffine. La description des marqueurs ciblés et des protocoles d'immunohistochimie figurent au tableau 1.

Tableau V : marqueurs utilisés en technique immunohistochimique

Marqueurs	Fabricant	clone	Isotype	Localisation
ER	Cellmark	SP1	IgG	Nucléaire
PR	Cellmark	SP2	IgG1	Nucléaire
HER-2	Dako (kit)	RBT-HE	IgG	Membranaire
CK5/6	Dako	D51684	IgG1 & IgG1	Membranaire/Cytoplasmique
KI-67	Dako	MIB-1	IgG1/K	Nucléaire
P53	Dako	DO-7	IgG2b/k	Nucléaire
BCL2	Dako	124	IgG1/k	Cytoplasmique
CD117	Dako	YR145	IgG	Cytoplasmique /Membranaire

Les protocoles d'immunohistochimie permettent d'évaluer l'expression des marqueurs CK5/6, BCL2, P53, Ki-67 et CD117 des carcinomes mammaires triple-négatifs. Les anticorps primaires correspondant ont été incubés pendant 30 minutes. Après lavage, un complexe correspondant au polymère HRP Rabbit /Mouse reconnaissant la partie non spécifique (ou commune) de l'anticorps primaire, a été appliqué pendant 20 minutes.

La réaction anticorps/antigène, ainsi amplifiée, est révélée à l'aide de la Diaminobenzidine de couleur brune (chromogène DAB (Kit Dako) préparée en extemporané en le diluant dans son substrat (à raison de 10 ul/ml de substrat de chromogène). Les témoins négatifs, sans l'ajout de l'anticorps primaire ont été testés au préalable. A la fin, les coupes sont contre-colorées par l'Hemaluen de Mayer pour visualiser le marquage immunohistochimique quand il existe.

Tableau VI : protocole d'immunohistochimie pour la révélation des protéines utilisées

Anticorps primaire	Prétraitement	Dilution	Temps d'incubation	Anticorps secondaire	Dilutionn	Temps d'incubation	Révélation
Anti ki-67	Tampon prêt à l'emploi	1 :75 Dako	30 min	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	20 min	DAB (Kit Dako)
Anti-CK5/6	Tampon prêt à l'emploi	01 :50 Dako	30 min	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	20 min	DAB (Kit Dako)
Anti- P53	Tampon prêt à l'emploi	1 :25 Dako	30 min	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	20 min	DAB (Kit Dako)
Anti-BCL2	Tampon prêt à l'emploi	01 :50 Dako	30 min	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	20 min	DAB (Kit Dako)
Anti-CD117	Tampon prêt à l'emploi	1 :300 Dako	30min	Polymère HRP-conjugué (Dako)	Prêt à l'emploi	20min	DAB (Kit Dako)



Figure 13 : Lames histologiques de notre bloc TMA : marqueur CK5/6, CD117, p53 et Bcl2

III. Recueil des données

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

- L'âge de la patiente
- Le type de prélèvement
- Les caractéristiques anatomopathologiques (type histologique, grade histopronostique SBR modifié par Ellis et Elston, taille TNM, envahissement ganglionnaire, association avec composante intra canalaire et emboles vasculaires péri-tumoraux)
- Les résultats de l'étude immunohistochimique :
 - ✓ Les cytokératines 5 et 6
 - ✓ La protéine CD117
 - ✓ Le marqueur Ki-67
 - ✓ La p53
 - ✓ La protéine BCL-2

Ces données ont été recueillies et notées sur la fiche d'exploitation (cf. annexe).



RÉSULTATS



I. Caractéristiques clinico-pathologiques des carcinomes mammaires triple-négatifs

1. Age

L'âge moyen était de 51 ans avec des extrêmes de 24 à 70 ans. 84% des femmes âgées de >35 ans sont atteintes de CSTN.

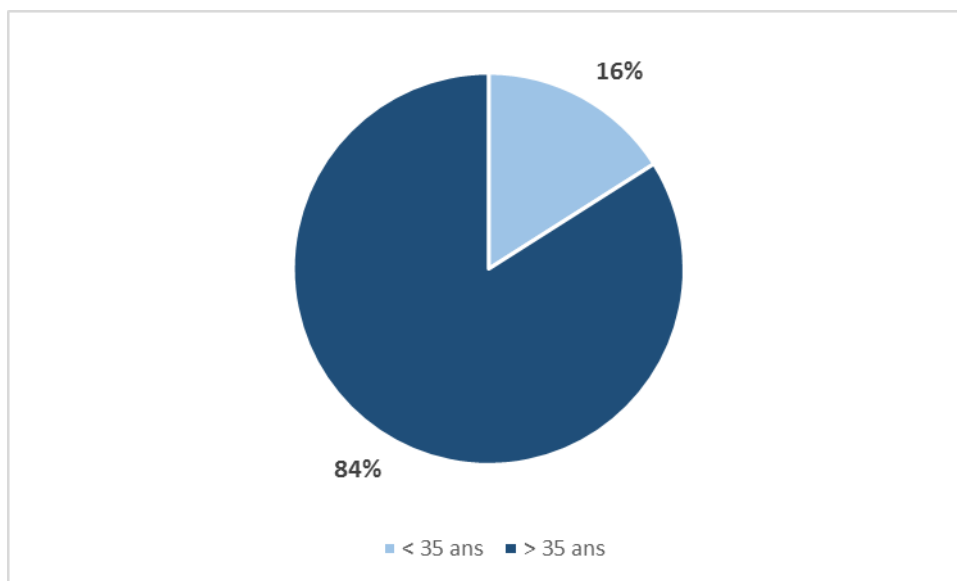


Figure 14 : Répartition des CSTN selon l'âge

2. Type histologique

Sur le plan histologique, le carcinome mammaire de type non spécifique était prédominant avec 22 cas (88%), suivi par le carcinome de type spécifique lobulaire, le carcinome à différenciation médullaire et le carcinome micro papillaire infiltrant avec 1 seul cas pour chacun de ces types.

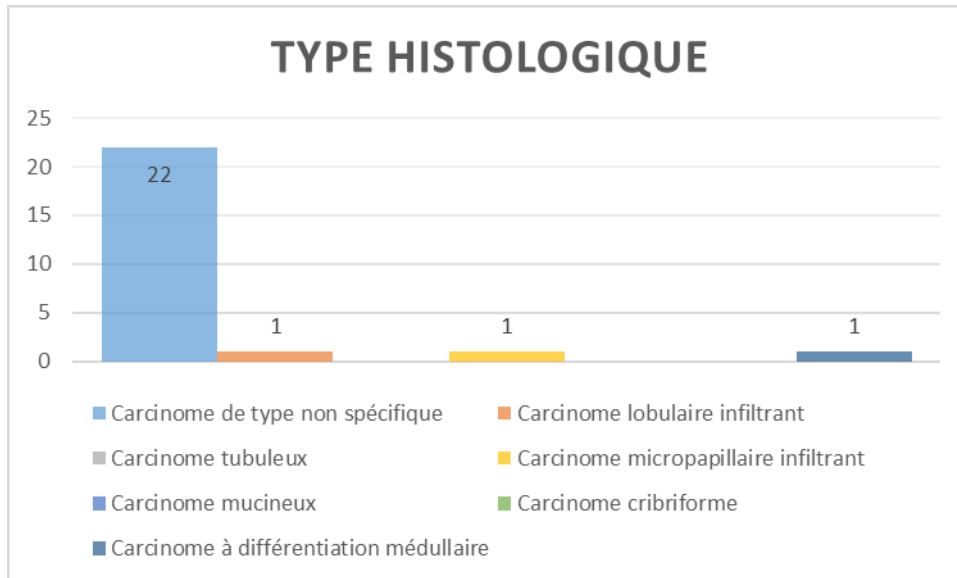


Figure 15 : Répartition des CSTN selon le type histologique

3. Grade histopronostique SBR (modifié par Ellis et Elston)

Les tumeurs de grade II étaient majoritaires avec 54% des cas.

Les tumeurs de grade III représentaient 46% des cas et on a noté l'absence de tumeurs de grade I.

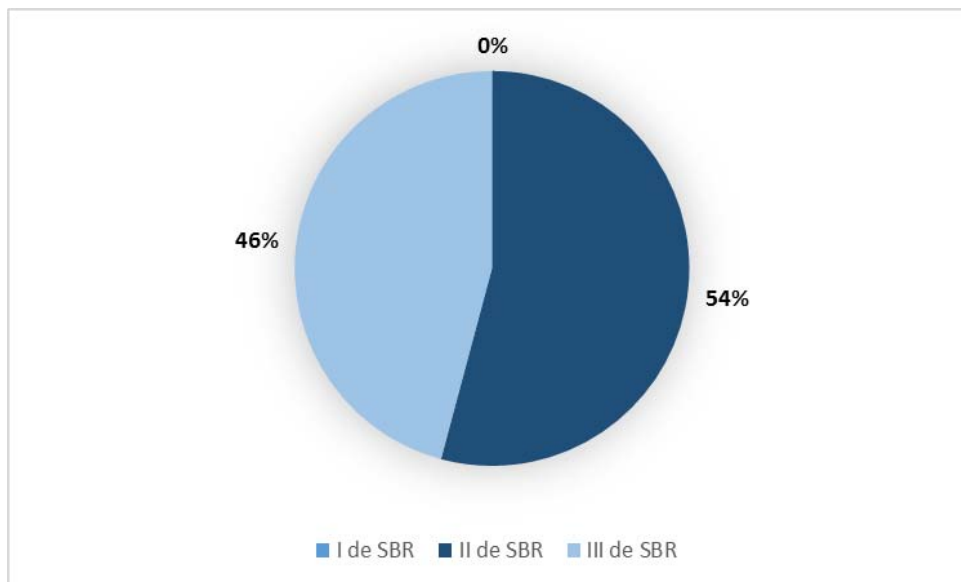


Figure 16: Répartition des CSTN selon le grade histopronostique SBR

4. Taille TNM (selon AJCC)

Dans cette étude, on a noté un pourcentage élevé des tumeurs classées en T2 qui représentaient 72% des cas, suivis par les tumeurs classées en T1 avec 16% puis les tumeurs classées en T3 avec 12% des cas ,et on n'a pas noté de cas classés en T4.

Tableau VII: Répartition des CSTN selon la taille

Taille TNM	Effectifs
T1	4
T2	18
T3	3
T4	0

5. Association avec composante intra-canalair

80% des CSTN n'étaient pas associés à une composante intra-canalair, et seulement 20% des cas présentaient cette association.

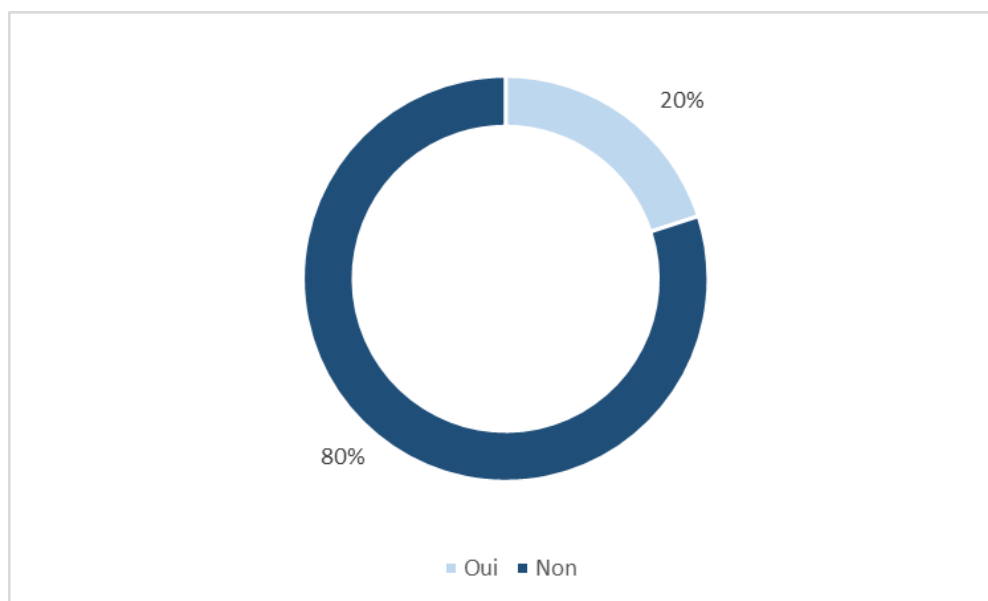


Figure 17: Répartition des CSTN selon l'association avec composante intra-canalair

6. Emboles vasculaires

Les emboles vasculaires péri-tumoraux étaient présents dans 56% des cas.

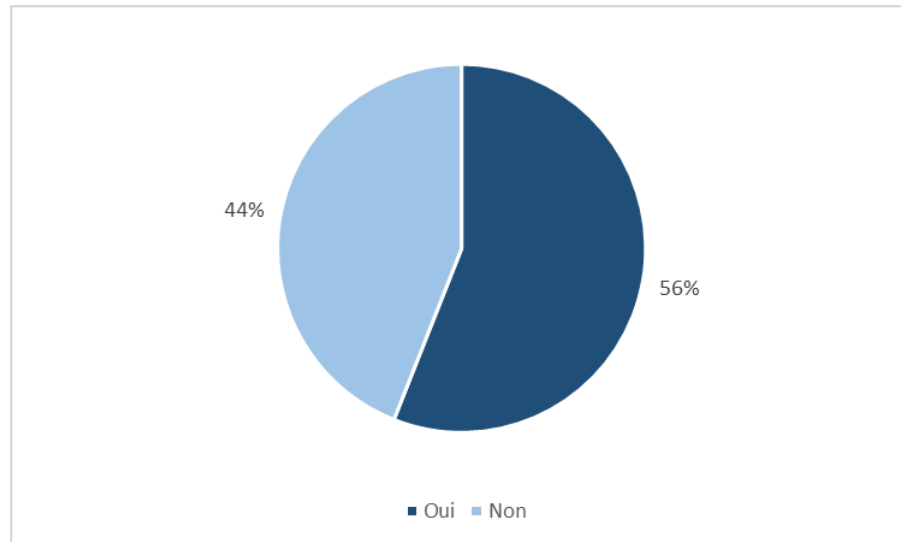


Figure 18 : Répartition des CSTN selon les emboles vasculaires

II. Profil phénotypique des marqueurs immunohistochimiques des carcinomes mammaires triple-négatifs

Dans notre étude, on a noté 25 cas de CSTN au sein du service d'anatomie pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech entre Janvier 2005 et Janvier 2016 confirmés par étude immunohistochimique, pour établir leur profil phénotypique.

1. CK5/6

Seize cas de CSTN étudiés n'ont pas exprimé les CK5/6. Seulement 9 cas ont exprimé les CK5/6, avec un marquage faible dans 8 cas et un pourcentage de cellules marquées variant entre 1 et 10%, et un marquage modéré dans un seul cas avec un pourcentage de cellules marquées de 50%.

Tableau VIII : Expression des CK5/6 chez les CSTN

Cas	Marqueur			
	CK5/6			
	-	+	%	Intensité
1		+	<5%	Faible
2		+	<5%	Faible
3		+	<5%	Faible
4	-			Absent
5		+	<5%	Faible
6	-			Absent
7		+	1%	Faible
8		+	10%	Faible
9		+	1%	Faible
10	-			Absent
11	-			Absent
12	-			Absent
13	-			Absent
14	-			Absent
15	-			Absent
16	-			Absent
17	-			Absent
18	-			Absent
19	-			Absent
20		+	50%	Modérée
21	-			Absent
22		+	5%	Faible
23	-			Absent
24	-			Absent
25	-			Absent
Total	16	9		

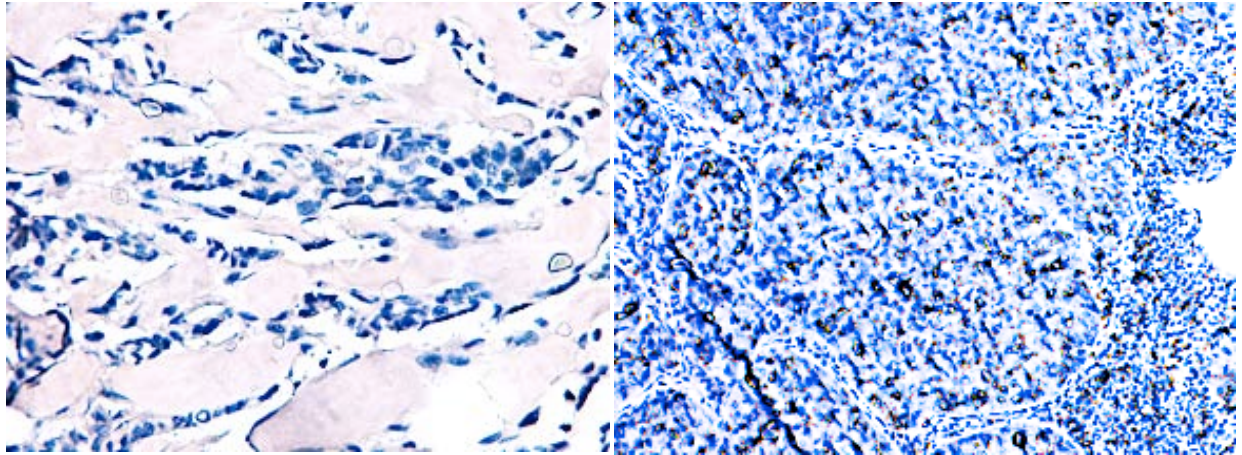


Figure 19: Expression cytoplasmique faible du marquage des cytokératines 5 et 6 (CK5/6) dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

2. KI67

L'intensité du marquage de l'index de prolifération Ki-67 était modérée chez 21 cas de nos CSTN étudiés avec un pourcentage de cellules marquées allant de 10 à 30%.

Une intensité du marquage forte retrouvée chez 3 cas avec un pourcentage de cellules marquées entre 70 et 90%.

Tableau IX : Expression du Ki-67 chez les CSTN

Cas	Marqueur	
	Ki-67	
	%	Intensité
1	30%	Modérée
2	30%	Modérée
3	30%	Modérée
4	30%	Modérée
5	30%	Modérée
6	30%	Modérée
7	30%	Modérée
8	25%	Modérée
9	25%	Modérée
10	25%	Modérée
11	20%	Modérée
12	20%	Modérée
13	20%	Modérée
14	70%	Forte
15	70%	Forte
16	60%	Modérée
17	60%	Modérée
18	40%	Modérée
19	40%	Modérée
20	15%	Modérée
21	15%	Modérée
22	90%	Forte
23	50%	Modérée
24	35%	Modérée
25	10%	Faible

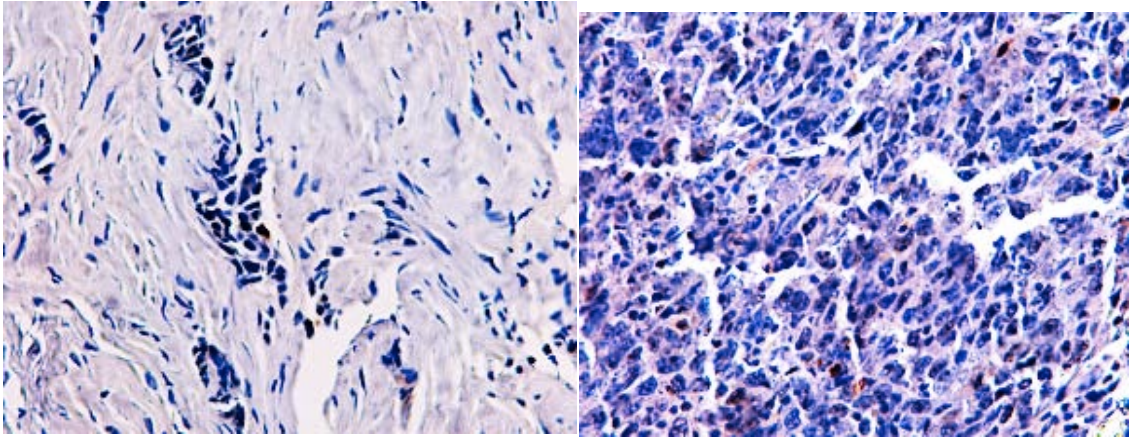


Figure 20: Expression nucléaire faible du marquage de Ki-67 dans tumeurs du CSTN étudiées

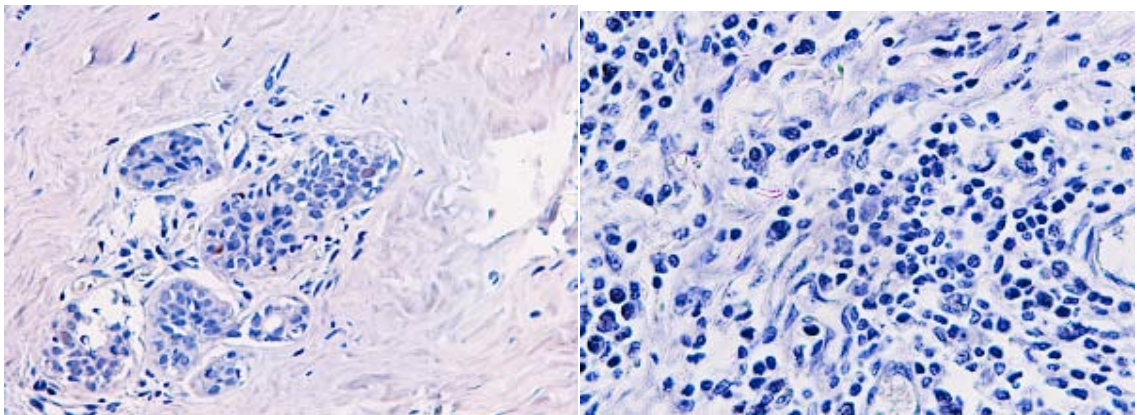


Figure 21 : Expression nucléaire modérée du marquage de ki-67 dans Les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. Original x 200).

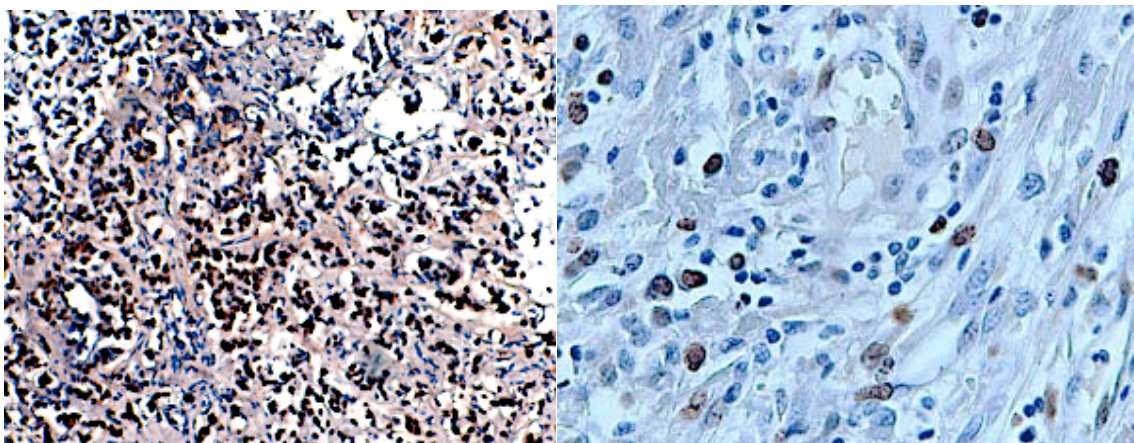


Figure 22: Expression nucléaire forte du marquage de Ki-67 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross.Originalx 200).

3. P53

Dix-neuf cas de notre étude étaient positifs pour la p53 avec une expression forte dans 10 cas et un pourcentage de cellules marquées variant entre 70 et 90%.

Trois cas avaient une expression modérée et un pourcentage de cellules marquées entre 50 et 60%.

Six cas ont montré une expression faible avec un pourcentage de cellules marquées entre 1 et 10% Seulement 6 cas n'ont pas exprimé la p53.

Tableau X : Expression de la p53 chez les CSTN

Cas	Marqueur			
	P53			
	-	+	%	Intensité
1		+	90%	Forte
2		+	<5%	Faible
3		+	10%	Faible
4		+	1%	Faible
5		+	<5%	Faible
6		+	>90%	Forte
7		+	<1%	Faible
8		+	80%	Forte
9		+	>90%	Forte
10	-			Absent
11	-			Absent
12	-			Absent
13	-			Absent
14	-			Absent
15		+	>70%	Forte
16		+	>70%	Forte
17		+	>70%	Forte
18		+	5%	Faible
19	-			Absent
20		+	80%	Forte
21		+	50%	Modérée
22		+	80%	Forte
23		+	60%	Modérée
24		+	50%	Modérée
25		+	80%	Forte
Total	6	19		

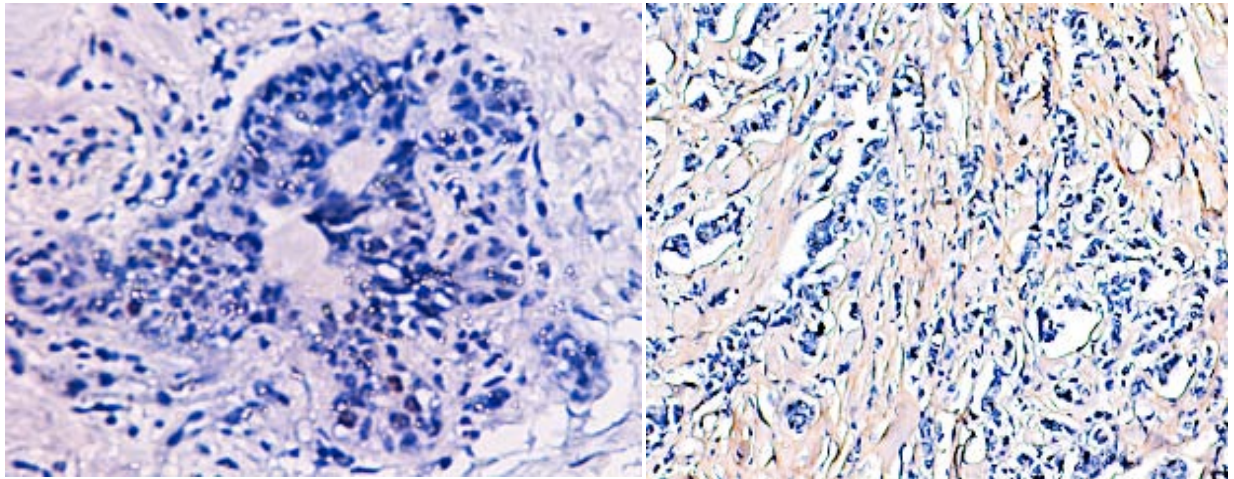


Figure 23 : Expression nucléaire faible du marquage de la p53 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

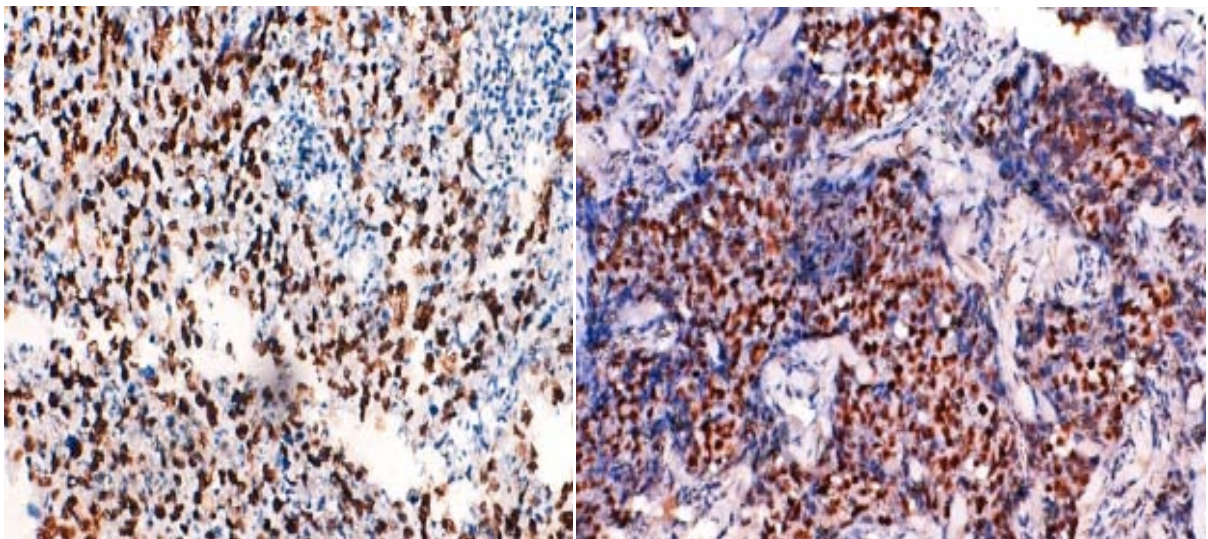


Figure 24 : Expression nucléaire forte du marquage de la p53 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

4. BCL2

Le marquage des cellules tumorales était positif pour la BCL2 dans 13 cas, dont 6 cas ont présenté un marquage fort, avec un pourcentage de cellules marquées entre 70 et 80%.

Cinq cas avaient un marquage modéré et un pourcentage de cellules marquées variant entre 30 et 60%. 2 cas ont présenté un marquage faible.

12 cas n'ont pas exprimé la BCL2.

Tableau XI : Expression de la BCL2 chez les CSTN

Cas	Marqueur			
	BCL2			Intensité
	-	+	%	
1	-			Absent
2	-			Absent
3	-			Absent
4	-			Absent
5	-			Absent
6		+	80%	Forte
7		+	60%	Modérée
8		+	80%	Forte
9		+	30%	Modérée
10	-			Absent
11	-			Absent
12		+	60%	Modérée
13		+	50%	Modérée
14		+	>70%	Forte
15		+	>70%	Forte
16		+	>70%	Forte
17		+	>70%	Forte
18	-			Absent
19	-			Absent
20		+	5%	Faible
21	-			Absent
22	-			Absent
23		+	60%	Modérée
24		+	5%	Faible
25	-			Absent
Total	12	13		

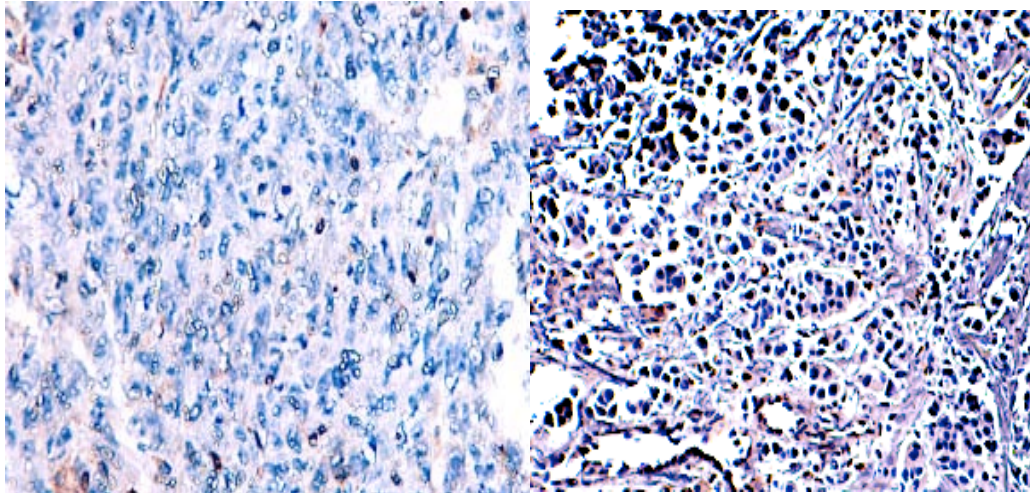


Figure 25 : Expression cytoplasmique faible du marquage de la Bcl-2 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

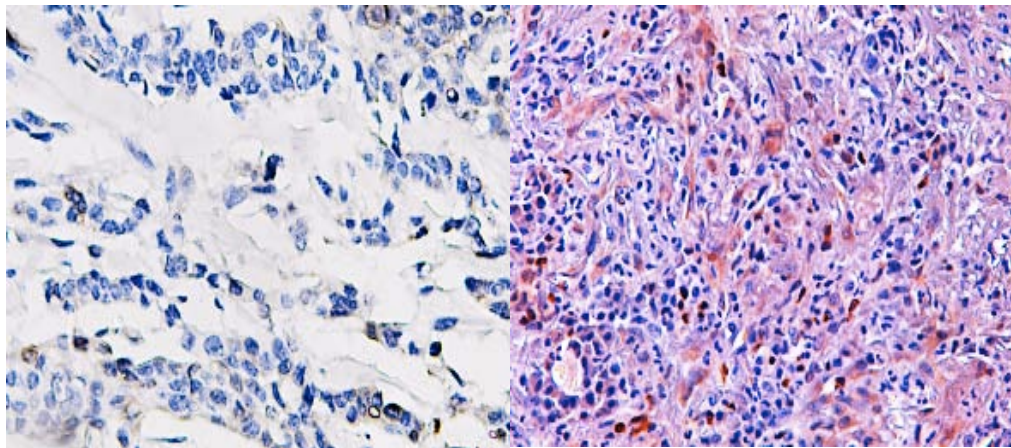


Figure 26 : Expression cytoplasmique modérée du marquage de la Bcl2 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

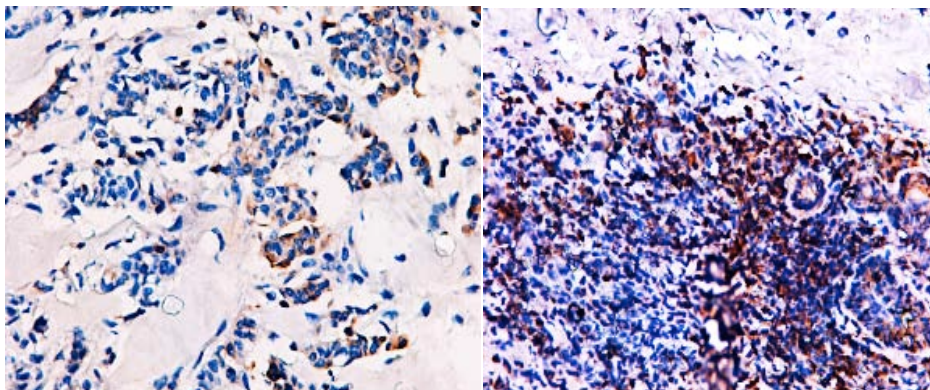


Figure 27 : Expression cytoplasmique forte du marquage de la Bcl2 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. original x 200).

5. CD117

CD117 était positif chez 9 cas des tumeurs triple-négatives de notre étude, avec une intensité de marquage modérée et un pourcentage de cellules marquées de 50% chez un seul cas et un marquage faible avec un pourcentage de cellules marquées entre 5 et 10% chez les huit cas restants.

Seize cas de notre série n'ont pas exprimé le CD117.

Tableau XII : Expression de CD117 chez les CSTN

Cas	Marqueur			
	CD 117			
	-	+	%	Intensité
1	-			Absent
2	-			Absent
3		+	5%	Faible
4	-			Absent
5		+	5%	Faible
6		+	10%	Faible
7		+	5%	Faible
8	-			Absent
9		+	5%	Faible
10	-			Absent
11	-			Absent
12		+	5%	Faible
13	-			Absent
14		+	5%	Faible
15	-			Absent
16	-			Absent
17	-			Absent
18	-			Absent
19	-			Absent
20	-			Absent
21		+	5%	Faible
22	-			Absent
23		+	50%	Modérée
24	-			Absent
25	-			Absent
Total	16	9		

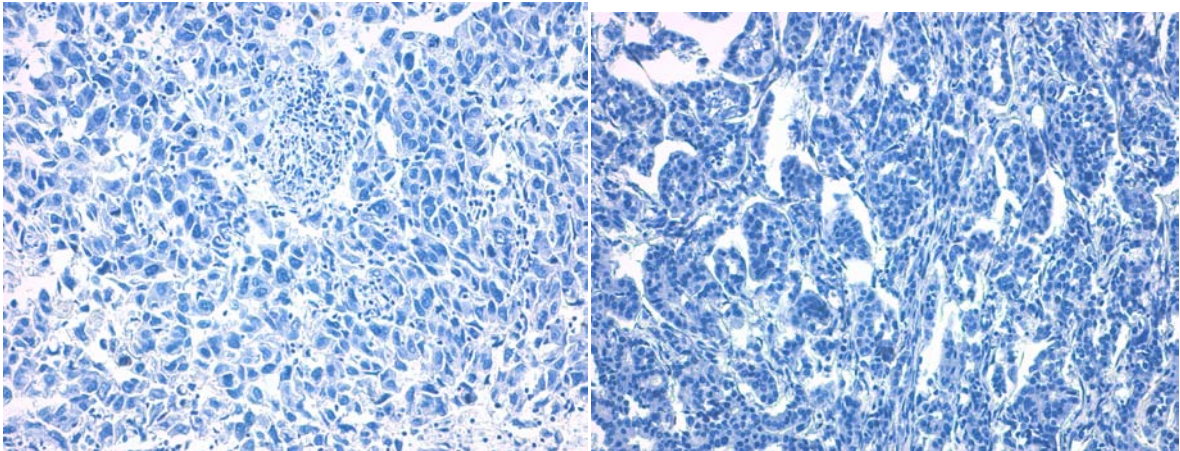


Figure 28 : Expression négative du marquage de CD117 dans les tumeurs du CSTN étudiées (Gross. Original x 200).

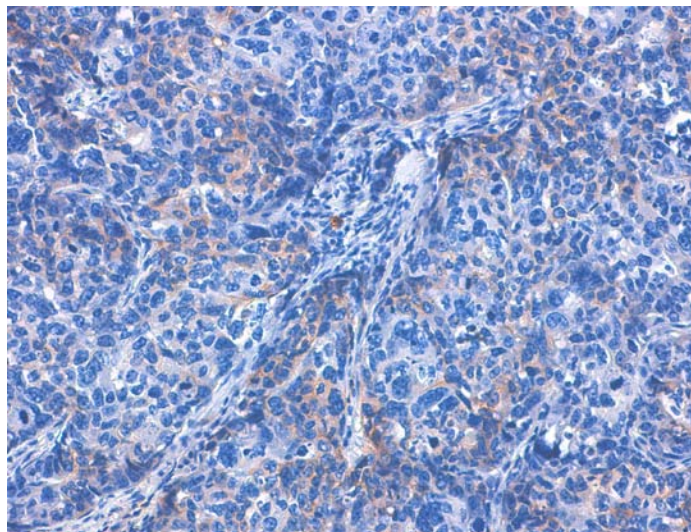


Figure 29 : Expression cytoplasmique modérée du marquage de CD117 dans les tumeurs du CSTN étudiées

III. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression des marqueurs immunohistochimiques chez les CSTN

Tableau XIII : Comparatif des facteurs clinico-pathologiques en fonction de l'expression des cytokératines 5 et 6 chez les CSTN étudiés

Paramètre clinicopathologique	GLOBALE		CK 5/6 +		CK 5/6 -	
	N	%	N	%	N	%
Age						
<35 ans	4	16,0	2	22,2	2	12,5
>35 ans	21	84,0	7	77,8	14	87,5
Type Histologique						
Carcinome de type non spécifique	22	88,0	7	77,8	15	93,8
Carcinome de type spécifique lobulaire	1	4,0	1	11,1	0	0,0
Carcinome micropapillaire infiltrant	1	4,0	0	0,0	1	6,3
Carcinome à différenciation médullaire	1	4,0	1	11,1	0	0,0
Grade Histo pronostique SBR						
Grade II	13	54,0	5	62,5	8	50,0
Grade III	11	46,0	3	37,5	8	50,0
Taille TNM						
T1	4	16,0	1	11,2	3	18,8
T2	18	72,0	8	88,8	10	62,5
T3	3	12,0	0	0,0	3	18,8
In situ haut grade						
Oui	5	20,0	2	22,8	3	18,8
Non	20	80,0	7	77,2	13	81,2
Emboles vasculaires						
Oui	14	56,0	3	33,3	8	50,0
Non	11	44,0	6	66,7	8	50,0

Tableau XIV : comparatif des facteurs clinico-pathologiques en fonction de l'expression de p53, Bcl2 et CD117

Paramètre clinicopathologique	P53		BCL2		CD 117	
	N	%	N	%	N	%
Age						
<35 ans	4	21,1	3	23,1	2	22,2
>35 ans	15	78,9	10	76,9	7	77,8
Type Histologique						
Carcinome de type non spécifique	17	89,5	11	84,6	9	100,0
Carcinome de type spécifique lobulaire	1	5,3	1	7,7	0	0,0
Carcinome micropapillaire infiltrant	0	0,0	1	7,7	0	0,0
Carcinome à différenciation médullaire	1	5,3	0	0,0	0	0,0
Grade Histo pronostique SBR						
Grade II	10	55,6	9	69,2	8	88,9
Grade III	8	44,4	4	30,8	1	11,1
Taille TNM						
T1	3	15,8	3	23,1	0	0,0
T2	14	73,7	9	69,2	8	88,9
T3	2	10,5	1	7,7	1	11,1
In situ haut grade						
Oui	5	26,3	2	15,4	2	22,2
Non	14	73,7	11	84,6	7	77,8
Emboles vasculaires						
Oui	8	42,1	6	46,2	6	66,7
Non	11	57,9	7	53,8	3	33,3



DISCUSSION

Le CSTN se caractérise par une absence d'expression des récepteurs hormonaux et absence d'amplification du HER2. Il est associé à un comportement particulièrement agressif [35,37] et ne bénéficie, actuellement, d'aucun traitement ciblé, la seule thérapeutique systémique, validée, est la chimiothérapie (CMT). Malgré l'utilisation des schémas récents de CMT, son pronostic reste sombre [36,38]

I. Définitions

1. CK5/6 :

Le marquage des protéines cytokératines 5 et 6 se retrouve à la fois dans le cytoplasme et dans la membrane plasmique. Le sein normal exprime ces CK de masse moléculaire élevée dans les cellules myoépithéliales et les cellules souches et progénitrices de l'assise basale, d'où la supposition de leur liaison particulière au phénotype basal-like [31, 34, 39].

2. KI-67 :

La protéine ki-67 est le marqueur de prolifération le plus utilisé en IHC, pour mettre en évidence des cellules en cycle cellulaire [40]. Elle s'exprime lors de la prolifération cellulaire et se retrouve sélectivement dans le noyau. Un indice de marquage élevé est associé à un niveau élevé de prolifération cellulaire, souvent en phase mitotique. Dans le cancer du sein, l'expression du marqueur ki-67 s'associe à un plus haut risque de récives tumorales et à une diminution sensible de la survie [41,42]. Elle est très peu exprimée dans les cellules épithéliales du sein normal et est généralement associée aux carcinomes de haut grade [43].

3. P53 :

La protéine P53 est responsable du contrôle du cycle cellulaire, en inhibant la prolifération permettant l'arrêt du cycle cellulaire ou apoptose. Elle favorise le processus de réparation des structures cellulaires endommagées, comme l'ADN. Les p53 mutées sont accumulées dans le noyau des cellules tumorales ce qui permet leur détection par IHC [43].

4. BCL2 :

La BCL2 est une protéine exprimée dans le cytoplasme des cellules. Elle se retrouve essentiellement dans les cellules progénitrices des tissus lymphoïdes et est considérée comme un facteur pronostique clinico-pathologique pour les carcinomes invasifs notamment les carcinomes mammaires [44].

5. CD117

CD117, aussi connu sous les noms de proto-oncogène c-Kit, tyrosine-protein kinase Kit, est une protéine, codée par le gène kit.

CD117 est un récepteur tyrosine kinase trouvé sur les cellules interstitielles de Cajal, les cellules germinales, l'épithélium du sein et les mastocytes. Ce récepteur est trouvé sur une large variété de cellules tumorales. Il est exprimé dans 31% des cancers du sein avec un profil basal-like [37,45].

II. Profil phénotypique des marqueurs immunohistochimiques des CSTN

1. Cytokératines 5 et 6

Seuls 36 % de nos carcinomes triple-négatifs ont exprimé ce marqueur avec un marquage faible dans 78% des cas.

Ce type de kératine, est généralement exprimé par les cellules basales des épithéliums pavimenteux malpighiens tels que les cellules myoépithéliales des acini, d'où la supposition de leur liaison particulière au phénotype basal [31, 34, 39,6]. Le carcinome de phénotype basal, est une entité définie initialement par un profil d'expression génique, au sein des CSTN en utilisant des marqueurs IHC additionnels, au delà de la triple-négativité [6]. L'une des définitions les plus connues a été proposée par **Nielsen et al.** et incluait la négativité des récepteurs ostrogéniques (RE) et HER2, associée à une positivité de CK5/6 et/ou de l'EGFR.

Nos résultats ne concordent donc pas parfaitement avec ceux de **Perou et al.**, **J.Clerc et al.**, **Nielsen et al.**, **A. Gonçalves et al.** .

Cette absence d'expression des CK5/6 chez 64% des carcinomes mammaires triple-négatifs étudiées, peut suggérer une orientation vers la catégorie « **apocrine** ». Ainsi, on pourra suggérer que dans les tumeurs triple-négatives étudiées, 36% ont un phénotype basal-like sous la base d'expression des CK5/6, et 64% ont un phénotype **apocrine** en se basant sur la définition de **Nielsen et al.**

Dans notre étude, nous avons essayé de reclasser les CSTN au sein de groupes pronostiques hétérogènes, en comparant l'expression des marqueurs d'agressivité p53 et Bcl-2, de prolifération Ki-67 et le CD117 pour caractériser les CSTN de phénotype basal-like ou basal et ceux de phénotype apocrine.

2. Corrélation clinico-immuno-pathologique chez les carcinomes mammaires triple-négatifs

2.1. CSTN de phénotype basal-like

Les CSTN constituent l'un des groupes les plus difficiles du cancer du sein par son hétérogénéité et sa complexité [46].

Dans notre étude, 36% des CSTN ont exprimé les cytokératines 5 et 6 et sont donc de phénotype basal-like, selon la définition de **Nielsen et al.** . Il a été montré que c-Kit (CD117) est exprimé préférentiellement dans les tumeurs du sein triple-négatives de phénotype basal-like [47].

Tous les CSTN ayant exprimé les CK5/6 dans notre étude, ont également exprimé le CD117. Ce résultat est en accord avec la définition **d'A.vincent-salomon et al.** des carcinomes de type basal-like qui dit que : « Le type basal-like est caractérisé en analyse transcriptomique par un très faible niveau d'expression des gènes des RO,HER2, associé à une expression forte des gènes tels que les cytokératines 5 et 6 et 17, C-Kit et EGFR » [65].

Ce type tumoral est associé au pronostic le plus défavorable [6].

La signalisation par c-Kit semble jouer un rôle majeur dans la transformation cellulaire et la différenciation. L'expression du c-Kit dans les tumeurs malignes est d'un grand intérêt thérapeutique, car Kit est l'une des cibles d'une thérapie ciblée : l'imatinib mesylate (Gleevec), qui est un inhibiteur de l'activité tyrosine-kinase de c-Kit [46-47].

Le marqueur Ki-67 fait partie des facteurs de pronostic classiques des carcinomes mammaires [43]. Ce marqueur peut ainsi être utile dans la caractérisation immunohistochimique du profil de CSTN en l'utilisant en routine pour des fins pronostiques dans ce type de cancers. **Kutomi et al.**avaient montré que le Ki-67 est fortement lié au CSTN et plus spécifiquement le CSTN de phénotype basal-like.

Dans notre série, nous avons noté une expression élevée du marqueur de la prolifération Ki-67 avec une mutation de p53 chez 100 % des cas de CSTN de phénotype basal-like. Cela est comparable aux résultats de la littérature [48-49].

M.Boisserie-Lacroix et al. ont observé aussi une expression élevée des gènes liés à la prolifération (surexpression de l'EGFR) et une mutation de la p53 dans 82% des cas chez les carcinomes mammaires triple-négatifs de phénotype basal-like.

Notre étude montre une association significative entre le grade tumoral, la taille tumorale TNM et la positivité du Ki-67, du p53 et de CD117. Ceci est en accord avec les résultats de **Tahany M et al.** [46].

Notre travail avait pour objectif d'évaluer également l'expression de la protéine Bcl-2 comme un marqueur pronostique dans le cancer du sein triple-négatif.

Plusieurs études antérieures (**Callagy et al. ; Dawson et al. ; Abdel-Fatah et al.**)[44-50-51] ont étudié le potentiel important de la Bcl-2 comme facteur pronostique dans le cancer du sein. Nos résultats ont montré que seulement 44,4% des CSTN de phénotype **basal-like** ont exprimé la Bcl-2. Nous avons noté une corrélation entre l'expression de bcl-2 et les variables clinico-pathologiques. La Bcl-2 a été plutôt exprimée chez les femmes de plus de 35ans et dans les carcinomes de type non spécifique.

Ces résultats sont en accord avec ceux avancés par **AbdEl-Mageed et al.** où 86% des femmes de moins de 50 ans ont montré une expression élevée de la Bcl-2.

La Bcl-2 est aussi corrélée à d'autres facteurs pronostiques notamment l'agressivité, le caractère pro métastatique et la résistance à la chimiothérapie (**Subhawong et al. ; Pinkas et al. ; Mimori et al.**)[52-53-54].

Des études [56-57-58-59] regroupant 538 tumeurs se sont acharnées à évaluer à quels sous-types histologiques correspondaient les CSTN de phénotype basal-like. Toutes ont montré que 81% à 96% d'entre eux sont des carcinomes de type non spécifique.

Les patientes ayant un phénotype basal-like dans notre étude, avaient un âge de plus de 35 ans dans la plupart des cas (77,8%), et leur sous-type histologique le plus fréquent était le carcinome de type non spécifique dans 77,8% des cas suivi d'un seul cas de carcinome médullaire et un cas de carcinome de type spécifique lobulaire. Ces résultats concordent aussi avec ceux de **Bertucci et al.**[55].

Notre étude a montré également que les patientes ayant CK5/6 positifs (phénotype basal-like), avaient un grade I I de SBR dans 62,5% des cas, étaient classées T2 selon TNM dans 88,9% des cas, 22% seulement présentaient une association avec composante intra-canaulaire et 33,3% des cas avaient des embolies vasculaires. Nos résultats concordent avec ceux de la littérature [57-58-49-60-61].

Les tumeurs triple-négatives forment un groupe hétérogène dans leur expression génique et leur pronostic. Bon nombre d'entre eux sont de type basal-like (56 à 85%) selon **M.Boisserie-Lacroix et al., A. Gonçalves et al.**

Les résultats de notre étude sont différents de ceux de la littérature, puisque seulement 36% de nos tumeurs triple-négatives ont un phénotype basal-like. Cette différence pourrait s'expliquer par un profil spécifique de nos cas limités au périmètre géographique de la région de Marrakech. Mais, elle pourrait aussi s'expliquer par la petite taille de notre échantillon.

2.2. CSTN de phénotype apocrine

L'absence d'expression des CK5/6 et de CD117 chez 64% des carcinomes mammaires triple-négatifs que nous avons étudié, peut suggérer une orientation vers la catégorie **apocrine**, comme il a été proposé par **Bertucci.F et al.**[29].

Ce phénotype « apocrine » correspondrait à un phénotype histologique de tumeurs agressives, selon les résultats de notre étude : Carcinome de type non spécifique (93,8%), de grade III (50%), classé T3 dans 18,8% des cas avec des embolies vasculaires (50%).

Selon **A. Gonçalves et al.** , la discordance entre CSTN basaux et CSTN non basaux ou apocrines est estimée à seulement 25 à 30%, en se basant sur les facteurs histopronostiques et moléculaires.

Dans notre étude, nous avons essayé aussi de mettre en évidence cette discordance entre ces deux entités.

Le marqueur de prolifération Ki-67 montrait aussi un marquage élevé chez toutes les patientes qui n'ont pas exprimé les CK5/6. Les altérations de p53 étaient présentes chez 62,5% de ces patientes. Les patientes ayant un phénotype apocrine (CK5/6 négatif, CD117 négatif) dans notre étude, ont aussi montré une expression de BCL-2 dans 56,25% des cas.

Concernant le caractère prolifératif, le phénotype apocrine présente donc des similarités avec le phénotype basal.

L'étude de **Sorlie et al.** confirme que les altérations de p53 sont plus fréquentes dans les sous-types agressifs de cancers mammaires tels que les CSTN [62].

D'après **Stephen et al.**, dans le cadre de CSTN/BCL-2 positif, les tumeurs présentent une résistance à la ATC-CT (Anthracycline), sans préciser s'il s'agit de phénotype basal-like ou apocrine [63].

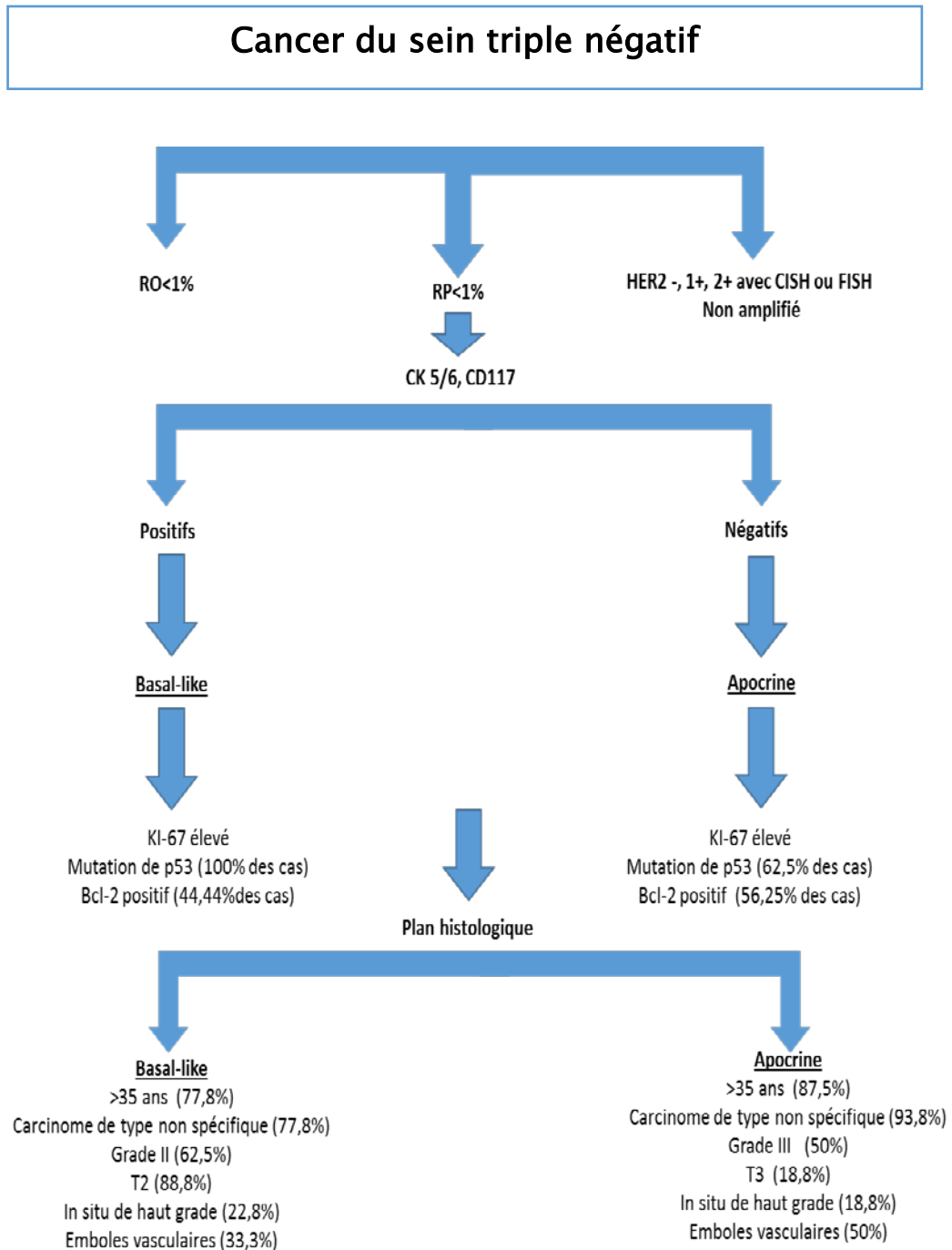
L'expression de la Bcl-2 est ainsi un facteur pronostique indépendant des carcinomes triple-négatifs dans le cas d'un traitement par chimiothérapie néoadjuvante à ATC.

Récemment, selon **A. Gonçalves et al.**, de nouvelles formes de CSTN non basaux ont été isolées, tels que le sous-type *Claudin-low*, qui pourrait représenter jusqu'à 30% des CSTN. Cette variété est caractérisée par une faible expression des claudines, protéines impliquées dans les jonctions serrées intercellulaires épithéliales et dans les processus d'adhésions. Ces tumeurs présentent également une faible expression des gènes luminaux et des gènes de prolifération, mais un haut niveau d'expression de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse, la biologie des cellules souches et la réponse immunitaire [64]. Elles sont associées à un pronostic plutôt défavorable.

Nous avons essayé de caractériser les CSTN et les reclasser au sein de groupes pronostiques hétérogènes, mais, d'autres analyses, sur un plus large panel de cas étudiés, seront nécessaires pour confirmer les résultats trouvés dans notre étude.

III. Au total :

Le Schéma ci-dessous constitue le résultat de notre étude :





CONCLUSION



Le cancer du sein « triplénégatif » est une pathologie rare, mais de mauvais pronostic. L'absence de thérapie ciblée vis-à-vis de cette catégorie de cancer du sein a poussé de nombreuses équipes à mener des recherches afin d'améliorer la prise en charge et le suivi des patientes atteintes par ce type de cancer agressif. De nombreux facteurs histologiques et pronostiques sont en cours d'évaluation. Ces derniers sont sujets à de très nombreuses études dans la littérature et peuvent être des candidats potentiels à la thérapie ciblée. Beaucoup de ces facteurs correspondent à des molécules directement impliquées dans le cycle cellulaire, d'autres correspondent à des protéines reflétant les capacités d'invasivité des cellules tumorales ou à des facteurs de croissance. D'autres protéines peuvent être impliquées dans la survie ou l'apoptose des cellules tumorales.

Ainsi, les marqueurs Bcl-2, p53, Ki-67, les CK5/6 et CD117 peuvent être considérés comme des facteurs pronostiques pour les carcinomes mammaires de phénotype triple-négatif et peuvent ainsi être ajoutés à l'ensemble des marqueurs utilisés dans les pratiques cliniques pour la caractérisation tumorale de ce type de cancer en utilisant la technique immunohistochimique.

D'autres marqueurs pourraient être évalués (ex EGFR et CK14, BRCA1, RA) en vue d'une caractérisation complète de ce type de cancer. Leur combinaison aux autres techniques de biologie moléculaire et la technique des tissus Array, équivalent morphologique des micropuces à ARN, sera sans doute un outil très utile pour l'analyse de ce profil tumoral. La connaissance des différents sous-types qui composent cette entité clinico-pathologique de définition purement négative, devrait probablement bénéficier des progrès dans les technologies d'analyse moléculaire des tumeurs telles que les approches de séquençage génomique à haut débit. Il est espéré que cette connaissance débouche sur l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques, permettant enfin des avancées dans la prise en charge de cette forme agressive de cancer du sein.

Notre travail constitue donc un travail préliminaire. On propose une étude pluridisciplinaire (immunohistochimie, biologie moléculaire et génétique) propre à la région de Marrakech voire même au Maroc avec NGS (séquençage nouvelle génération), nécessitant une collaboration impliquant anatomopathologistes, oncologues et chercheurs fondamentaux.



Fiche d'exploitation :

Antécédents du patient

+ Age du patient

+Catégorie d'âge

- 35 ans
- > 35 ans

Antécédents decancers

+ Personnels

- Oui
- Non

+ Familiaux

- Oui
- Non

Cancer

+ Siège

- Sein droit
- Sein gauche

+Matériel d'étude

- Biopsie
- Pièce opératoire

+ Biopsie

- Chirurgicale
- Trocut

+ Pièce opératoire

- Mastectomie
- Pyramidectomie

+ CURAGE GGAIRE

- Positif
- Négatif

+ Type Histologique

- Carcinome de type non spécifique
- Carcinome lobulaire de type spécifique
- Carcinome tubuleux
- Carcinome micropapillaire infiltrant

- Carcinome mucineux
- Carcinome cribriforme
- Carcinome à différenciation médullaire

 **Grade histologique**

- I de SBR
- II de SBR
- III de SBR

 **Taille tumorale**


- <1 mm 1-5 mm
- 5-10 mm
- 10-20 mm
- 20-50 mm
- >50 mm

 **Limites**

- Saines
- Non Saines

 **Emboles vasculaires**

- Oui
- Non

 **In situ haut grade**

- Oui
- Non

 **GG**

- PN 0
- PN1 mi
- PN1a
- PN2a
- PN3a

 **Métastases**

- M0
- M1

 **Stade**

- 0
- IA
- IB
- IIA
- IIB
- IIIA
- IIIB
- IIIC

- IV

Récepteurshormonaux

- R0**
 - Négatif
 - <10%
- RP**
 - Négatif
 - <10%
- HER 2**
 - 0
 - 1+
 - 2+
- CISH**
 - Négatif
 - Positif

Marqueurs

- KI67**
 - Réaction**
 - Négatif
 - Positif
 - Siège**
 - Nucléaire
 - %

 - Intensité**
 - <10%
 - 10% << 70%
 - >70%
- P53**
 - Réaction**
 - Négatif
 - Positif
 - Siège**
 - Nucléaire
 - %

 - Intensité**

- <10%
- 10% << 70%
- >70%

 **BCL-2**

- **Réaction**
 - Négatif
 - Positif
 - **Siège**
 - Nucléaire
 - %
-

- **Intensité**
 - <10%
 - 10% << 70%
 - >70%

 **CK5/6**

- **Réaction**
 - Négatif
 - Positif
 - **Siège**
 - Nucléaire
 - %
-

- **Intensité**
 - <10%
 - 10% << 70%
 - >70%

 **CD117**

- **Réaction**
 - Négatif
 - Positif
 - **Siège**
 - Cytoplasmique / membranaire
 - %
-

- **Intensité**
 - <10%
 - 10% << 70%
 - >70%



RESUME

Le cancer du sein triple négatif (CSTN), un sous-type représentant environ 15% de tous les cancers du sein, est caractérisé par l'absence d'expression des récepteurs hormonaux aux estrogènes(ER) et aux progestérones (PR) et par l'absence de surexpression ou d'amplification de HER2. 10 à 24% des cancers du sein invasifs entrent dans cette catégorie. Ces tumeurs présentent un risque élevé de rechute, quelque soit le grade et le stade, et représentent pour une grande partie le sein métastatique. La définition de nouveaux facteurs prédictifs de la réponse thérapeutique et l'apport des thérapies ciblées sont deux pistes susceptibles d'améliorer la prise en charge et la survie des patientes.

Notre étude porte sur l'expression des anticorps basaux CK5/6 et anticorps d'agressivité ou indicateurs pronostiques Bcl-2, p53, Ki-67 et CD117. Ces marqueurs sont évalués par immunohistochimie sur des tissus fixés et inclus en paraffine. Il s'agissait de vingt-cinq carcinomes mammaires triple-négatifs. Ces cas ont été colligés au service d'anatomie pathologique au CHU Mohammed VI de Marrakech.

Les résultats ont montré que les carcinomes étudiés étaient de phénotype basal-like dans 36% des cas sous la base d'expression des cytokératines 5 et 6 et l'expression de CD117. Une expression cytoplasmique de la protéine Bcl-2 a été retrouvée chez 44% des cas de ce phénotype. L'expression nucléaire élevée de Ki-67 et de l'anticorps Anti p53 a été retrouvée chez toutes les tumeurs triple-négatives de phénotype basal-like. Sur le plan histologique les CSTN de phénotype basal étaient des carcinomes de type non spécifique (77,8%), de grade II dans 62,5% des cas, classés T2 chez 88,8% avec association à une composante intra-canaulaire chez 22,8% et des embolus vasculaires chez 33,3% des cas.

Le phénotype apocrine (CK5/6 négatif, CD117 négatif) a été retrouvé chez 64% des CSTN étudiés. Une expression cytoplasmique de la protéine Bcl-2 a été notée chez 56,25% des cas de ce phénotype. L'expression nucléaire du Ki-67 a été élevée chez toutes les patientes, et les mutations de p53 ont été retrouvées chez 62,5% des tumeurs triple-négatives de phénotype

apocrine. Histologiquement, les CSTN de phénotype apocrine étaient des carcinomes de type non spécifique (93,8%), de grade III dans 50% des cas, classés T2 chez 18,8% avec association à une composante intra-canalaire chez 18,8% et des embolies vasculaires chez 50% des cas.

L'expression de Bcl-2 et p53 pourrait être due à la résistance à l'apoptose et à l'agressivité tumorale. L'exploration de ces marqueurs et du CD117, en relation avec la prolifération tumorale, la différenciation cellulaire et la résistance à l'apoptose, pourra constituer un chantier de réflexion sur un ciblage thérapeutique.

SUMMARY

Triple negative breast cancer, subtype accounting for approximately 15% of all breast cancers, is characterized by the lack of expression of estrogen receptor and progesterone and the absence of overexpression of HER2. 10 to 24% of invasive breast cancers fall into this category. These tumors have a high risk of relapse, regardless of the grade and stage. They account for a large part of the metastatic breast cancer. The definition of new predictors of therapeutic response and the provision of targeted therapies are two tracks that could improve the care and survival of patients.

Our study focuses on the expression of basal antibody CK5/6 and aggression, or prognostic indicators Bcl2, p53, Ki-67 and CD117. Those markers are assessed by immunohistochemistry on fixed tissues and paraffin. This was twenty five triple-negative breast carcinomas. These cases have been collected in pathological anatomy department at the university hospital of Marrakech Mohammed VI.

The results showed that the carcinomas studied were of basal-like phenotype in 36% of cases, in the basis of expression of cytokeratins 5 and 6 and the expression of CD117. Cytoplasmic expression of the protein Bcl2 was found in 44% of cases of this phenotype. The high nuclear expression of Ki-67 and anti p53 antibody was found in all triple-negative tumors basal-like phenotype. Histologically, cancers of triple-negative breast basal phenotype were non specific-type of carcinoma (77,8%), grade 2 in 62,5% of cases classified T2 at 88,8% with combination with intraductal component in 22,8% and vascular emboli in 33,3% of cases.

The apocrine phenotype (CK5/6 negative, CD117 negative) was found in 64% of triple-negative breast cancers studied. Cytoplasmic expression of Bcl2 was found in 56,25% of cases of this phenotype. Nuclear expression of Ki-67 was elevated in all patients, and p53 mutations were noted in 62,5% of triple-negative tumors apocrine phenotype. Histologically, triple-negative breast cancers of apocrine phenotype were non specific-type of carcinoma (93,8%),

grade 3 in 50% of cases classified T2 in 18,8% with combination with intraductal component at 18,8% and vascular emboli in 50% of cases.

Expression of Bcl2 and p53 could be due to the resistance to apoptosis and tumor aggressiveness. The exploration of these markers and CD117, in connection with tumor proliferation, cell differentiation and apoptosis resistance, may be a reflection of a site on therapeutic targeting.

ملخص

يتميز سرطان الثدي ثلاثي السلبية، وهو ما يمثل نوع فرعي لحوالي 15% من جميع سرطانات الثدي، بسبب غياب التعبير عن مستقبلات هوموب الأستروجين والبروجشبيرون وغياب تضخيم مستقبلات عامل نمو البشرة البشري 2. 10 إلى 25% من سرطانات الثدي الغازية تندرج تحت هذه الفئة. هذه الأورام لديها مخاطر عالية من الانتكاس، بغض النظر عن الدرجة والمرحلة، وتمثل حزا كبيرا من سرطان الثدي النقيلي. تعريف عوامل جديدة الاستجابة العلاجية وتوفير العلاجات المستهدفة يعتبر مسارا قد يعمل على تحسين الرعاية والبقاء على قيد الحياة.

دراسةنا تركز على التعبير عن الأجسام المضادة القاعدية والعدوانية أو مؤشرات النذير بروتين 53

Bcl2, سيتوكيراتين 5 و 6, KI67 و CD117.

يتم تقييم هذه العلامات المناعية على أنسجة ثابتة تحتوي على البارافين. كان هذا خمسة وعشرين سرطان الثدي ثلاثي السلبية. وقد تم جمع هذه الحالات في خدمة عام التشريح المرضي في المستشفى الجامعي محمد السادس بمراكش.

أظهرت النتائج حالات السرطان التي درست كانت من النمط الظاهري مثل القاعدية في 36% من الحالات وفقا لمبدأ التعبير عن السيتوكيراتين 5 و 6 والتعبير عن CD117. تم العثور على التعبير حشوية من البروتين بي سي ال 2 في 44% من الحالات من هذا الظاهري. تم العثور على التعبير النووي عالي من كي-67 ومكافحة الأجسام المضادة للبروتين p53 في جميع الأورام ثلاثية السلبية ذات النمط الظاهري مثل القاعدية. تشريحيا، كانت سرطانات الثدي ثلاثية السلبية ذات النمط الظاهري مثل القاعدية سرطانات الخلايا الغير المحددة (77,8%)، والدرجة 2 في 62,5% من الحالات المصنفة 2 في 88,8% مع الجمع مع عنصر ينترادوكتال في 22,8% والصمات الأوعية الدموية في 33,3% من الحالات.

تم العثور على النمط الظاهري المفرفة (سيتوكيراتين 5 و 6 سلبية، CD117 سلبية) في 64% من حالات سرطان الثدي ثلاثية السلبية التي شملتها الدراسة.

تم العثور على التعبير حشوية من البروتين BL-2 في 56,25% من الحالات من هذا النمط الظاهري. التعبير النووي عن كي-67 كان عاليا عند جميع الحالات وطفرة تشريحيا، كانت سرطان النمط الظاهري الثلاثي السلبية لسرطان الثدي المفرفة غير محددة سرطان الخلايا (93,8%)، من الدرجة 3 في 50% من الحالات المصنفة T₂ في 18,8% مع الجمع مع عنصر ينترادوكتال في 18,8% والصمات الأوعية الدموية في 50% من الحالات.

التعبير عن البي سي ال2 والبروتين 53 يمكن أن يغوي إلى المقاومة لموت الخلايا البرمج وعدوانية الورم. استكشاف هذه العلامات و CD117، في اتصال مع انتشار الورم، وتمايز الخلايا ومقاومة موت الخلايا المبرمج، قد يكون موقع انعكاس للاستهداف للعلاج.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Surveillance, Epidemiology, and end Results (SEER)Program**
(www.seer.cancer.gov). SEER*Stat Database: Incidence-SEER 9 Regs Public Use, Nov 2004 Sub (1973-2002), National Cancer Institute, DCCPS, Surveillance Research Program, Cancer Statistics Branch.
April 2005, based on the November 2004 submission.
2. **Boyle P.**
Breast cancer control: signs of progress, but more work required.
Breast 2005; 14:429-38.
3. **Martine Boisserie-Lacroix, Gaetan Mac Grogan, Marc Dedbled, Stéphane Ferron, Nicolas Lippa, Gabrielle Hurtevent-Labrot.**
Le cancer du sein triple-négatif est fréquent chez les patientes mutées : comment ne pas le rater, Comment le caractériser, De manière plus générale, l'imagerie peut-elle orienter vers le diagnostic histologique.
Journal de la femme 2014 ; 24 :105-112.
4. **Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Eystein Lonning P and Borresen-Dale AL.**
Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.
Proc National Academy of Science USA2001; 98:10869-10874
5. **Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lonning PE, Borresen-Dale AL, Brown PO and Botstein D.**
Molecular portraits of human breast tumors.
Nature 2000; 406:747-752.
6. **Gonçalves A, Sabatier R, Charafe-Jauffert E, Gilabert M, Provansal M, Tarpin C, Extra JM, Viens P, Bertucci F.**
Cancer du sein triple-négatif : caractéristiques histocliniques et moléculaires, prise en charge et perspectives thérapeutiques.
Bull Cancer 2013 ; 100 :453-64.
7. **BELLOCQ J-P, CHENARD M-P.**
Traité d'histologie. 2006
8. **Gaëtan MAC GROGAN, Anne VINCENT-SALOMON, Laurent ARNOULD.**
EPU de pathologie mammaire 2011 ; 336-2

9. **Pawlina MHRW.**
Female reproductive system.
Histopathology 2006 :804-6.
10. **Cardiff, R. D. and S. R. Wellings.**
"The comparative pathology of human and mouse mammary glands."
J Mammary Gland Biol Neoplasia 1999 ; 4 :105-22.
11. **Rosemary A.**
Use and assessment of diagnostic and predictive markers in breast pathology.
Current Diagnostic Pathology (2007) 13,126-134
12. **Clarke, R.B., Howell, A., Potten, C.S., Anderson, E.**
Dissociation between steroid receptor expression and cell proliferation in the human breast.
Cancer Research 1997 ; 57 : 4987-4991.
13. **Petersen, O.W., Hoyer, P.E., van Deurs, B.**
Frequency and distribution of estrogen receptor-positive cells in normal, non lactating human breast tissue.
Cancer Research 1987 ;47 :5748-5751.
14. **Moll R, Franke WW, Schiller DL, et al.**
The catalog of human cytokeratins : patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells.
Cell 1982 ; 31 :11-24.
15. **Hamperl H.**
The myoethelia (myoepithelial cells). Normal state ; regressive changes ; hyperplasia ; tumors.
Current Top Pathology 1970 ; 53 :161-220.
16. **Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG et al.**
P63, a p53 homologue, is a selective nuclear marker of myoepithelial cells of the human breast.
American Journal of Surgery Pathology 2001 ; 25(8): 1054-60.
17. **Dairkee SH, Blayney C, Smith HS, et al.**
Monoclonal antibody that defines human myoepithelium.
Proc National Academic Science USA 1985 ; 82 :7409 13.

18. **Académie Internationale de pathologie**
Juin 2013 ; 57 : 31.
19. **Académie Internationale de pathologie**
Juin 2013 ; 57 : 33.
20. **Christine Galant, M. Berlière, Isabelle Leconte, E. Marbaix.**
Nouveautés dans les facteurs histopronostiques des cancers du sein.
Imagerie de la femme 2010 ; 20 ; 9-17.
21. **Rakha et al.**
European Journal of Cancer 2009 ; 45 :1780-1785.
22. **Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thurlimann B, Senn HJ.**
Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer.
Highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Oncology
23. **Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Paish EC, Lee AH, Ellis IO.**
Breast carcinoma with basal differentiation : a proposal for pathology definition based on basal cytokeratin expression.
Histopathology 2007 ; 50(4):434-438.
24. **Manie E, Vincent-Salomon A, Lehmann-Che J et al.**
High frequency of TP53 mutation in BRCA1 and sporadic basal-like carcinomas but not in BRCA1 luminal breast tumors.
Cancer RES 2009 ; 69 :4116-24.
25. **Marty B, Maire V, Gravier E et al.**
Frequent PTEN genomic alterations and activated phosphatidylinositol 3-kinase pathway in basal-like breast cancer cells.
Breast Cancer Research 2008 ; 10 : R101.
26. **Rakha EA, Tan DS, Foulkes WD, Ellis, Tutt A, Nielsen TO, Reis-Filho JS.**
Are triple negative tumors and basal-like breast cancer synonymous ?
Breast Cancer Research 2007 ; 9(6):404-405.
27. **Weigelt B, Reis-Filho JS.**
Molecular profiling currently offers no more than tumour morphology and basic immunohistochemistry.
Breast Cancer Research 2010 ; 12(4): S5.

28. **Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS.**
Triple-negative breast cancer.
The New England Journal of Medicine 2010 ; 363(20):1938-1948.
29. **Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Birnbaum D.**
Prognostic classification of breast cancer and gene expression profiling.
Medecine sciences 2008 ; 24(6-7) :599-606.
30. **Farmer P, Bonnefoi H, Becette V et al.**
Identification of molecular apocrine breast tumours by microarrays analysis.
Oncogene 2005 ; 24 :4660-71.
31. **Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA et al.**
Molecular portraits of human breast tumours.
Nature 2000 ; 406(6797) :747-752.
32. **Prat A, Perou CM.**
Deconstructing the molecular portraits of breast cancer.
Molecular Oncology 2011 ; 5(1):5-23.
33. **Redha Heus.**
Approches virtuelles dédiées à la technologie des puces à tissus "Tissue MicroArrays"
TMA : Application à l'étude de la transformation tumorale du tissu colorectal.
Sciences du Vivant [q-bio]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009.
34. **Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al.**
Immunohistochemical and clinical characterisation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.
Clinical Cancer Research 2008 ; 10 : 5367-74.
35. **Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, et al.**
Triple-negative breast cancer : clinical features and patterns of recurrence.
Clinical Cancer Research 2007 ; 13 : 4429-4434.
36. **Reis-Filho JS, Tutt AN.**
Triple negative tumours : a critical review.
Histopathology 2008, 52, 108-118.

37. **Stockmans G, Deraedt K, Wildiers H, Moerman P, Paridaens R.**
Triple-negative breast cancer.
Current Opinion Oncology 2008, 20, 614-620
38. **Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al.**
Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.
Proc National Academic Science U S A, 2001, 98, 10869- 10874.
39. **J. Clerc, M.-P Sunyach, M. Duruisseaux, H. Mignotte, A. Bajard, O. Tredan, A. Arnaud.**
Récidives régionales chez les patientes présentant un cancer du sein triple-négatif : intérêt d'une irradiation ganglionnaire adjuvante systématique.
Gynécologie obstétrique et fertilité 41 (2013) 90-95
40. **Gerdes J, Schlüter C1, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MH, Key G, Flad HD.**
The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67 : a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cellular cycle-maintaining proteins.
Journal Cellular Biology. 1993 November ; 123(3):513-22.
41. **Urruticoechea A, Smith IE, Dowsett M.**
Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer.
Journal of Clinical Oncology 2005 ; 23 :7212-20.
42. **Reis-Filho JS, Simpson PT, Turner NC et al.**
FGFR1 emerges as a potential therapeutic target for lobular breast carcinomas.
Clinical Cancer Research 2006 ; 12 :6652-62.
43. **Mac-Grogan G. Vincent Salomon A., Arnould L.,**
EPU pathologie mammaire 2010
44. **Callagy G, Cattaneo E, Daigo Y, Happerfield L, Bobrow LG, Pharoah PD, Caldas C.**
Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays.
Diagnostic Molecular Pathology 2003 ; 12 : 27-34.
45. **Wasserman EJ, Tan AR.**
Revolving Strategies for the Treatment of « Triple-Negative» Breast Cancer.
American Society of Clinical Oncology, 2008,120-126.

46. **Tahany M, Mohamed E et al.**
Overexpression of c-Kit (CD117) in triple-negative breast cancer.
Egyptian Journal of Pathology 2011 ; 31 :113-117.
47. **Cristofanilli M, Morandi P, Krishnamurthy S, et al.**
Imatinib mesylate (Gleevec) in advanced breast cancer-expressing C-Kit or PDGFR-beta : clinical activity and biological correlations.
Proc National Academic Science U S A, 2001, 97, 10800- 10814.
48. **Birnbaum D, Bertucci F, Ginestier C, Tagett R, Jacquemier J, Charafe- Jauffret E.**
Basal and luminal breast cancers : basic or luminous ? (Review).
International Journal of Oncology 2004 ; 25 :249-58.
49. **Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS, Sofronis A, Gillett CE, Lakhani SR, Hanby A.**
Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast.
Histopathology. 2006 ; 49 :22-34.
50. **Dawson SJ, Makretsov N, Blows FM et al.**
BCL2 in breast cancer : a favourable prognostic marker across molecular subtypes and independent of adjuvant therapy received.
British Journal of Cancer 2010 ; 103 : 668-675.
51. **Abdel-Fatah TM, Powe DG, Ball G et al.**
Proposal for a modified grading system based on mitotic index and Bcl2 provides objective determination of clinical outcome for patients with breast cancer.
Journal of Pathology 2010 ; 222 : 388-399.
52. **Subhawong AP, Nassar H, Halushka MK et al.**
Heterogeneity of Bcl-2 expression in metastatic breast carcinoma.
Molecular Pathology 2010 ; 23,1089-96.
53. **Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N.**
Triple negative breast carcinoma and the basal phenotype : from expression pro ling to clinical practice.
Adv Anatomic Pathology, 2007, 14, 419-430.
54. **Mimori K, Kataoka A, Yoshinaga K et al.**
Identification of molecular markers for metastasis-related genes in primary breast cancer cells.
Clinical Experiences Metastasis 2005 ; 22, 59-67.

55. **Bertucci F, Finetti P, Cervera N, et al.**
How basal are triple-negative breast cancers.
International Journal of Cancer 2008 ; 123 : 236-40.
56. **Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM, Paish C, Green AR, Powe DG, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO.**
Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation.
Journal of Pathology 2006 ; 208 :495-506.
57. **Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, Perou CM.**
Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma.
Mod Pathology 2006 ; 19 :264-71.
58. **Kim MJ, Ro JY, Ahn SH, Kim HH, Kim SB, Gong G.**
Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer : a comparison with hormone receptor and Her2/neu-overexpressing phenotypes.
Human Pathology. 2006 ; 37 :1217-26.
59. **Laakso M, Tanner M, Nilsson J, Wiklund T, Erikstein B, Kellokumpu- Lehtinen P, Malmström P, Wilking N, Bergh J, Isola J.**
Basoluminal carcinoma : a new biologically and prognostically distinct entity between basal and luminal breast cancer.
Clinical Cancer Research.2006 ; 12 :4185-91.
60. **A.Alaoui, M. Driss, L. Charfi, K. Mrad, R. Dhouib, R.Doghri, I.Abbes, S.Sassi, N.Ben Hamida, K. Ben Rhomdane.**
La valeur pronostique de la p53 et du ki67 dans les carcinomes triple-négatifs.
2011 P07-138
61. **Subhawong AP, Nassar H, Halushka MK et al.**
Heterogeneity of Bcl-2 expression in metastatic breast carcinoma.
Molecular Pathology 2010 ; 23,1089-96.
62. **Sorlie T, et Perou CM, Tibshirani R, et al.**
Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.
Proc National Academic Science U S A. 2001 ; 98 :10869-74.

63. Stephen Y.T. Chan et al.

Bcl2 is an independent pronostic marker of triple negative breast cancer (TNBC) and predicts response to anthracycline combination neoadjuvant settings.

Clinical Oncology Departement, University of Nottingham city Hospital. Nottingham UK.

64. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Stemke-hale K, et al.

Characterization of a naturally occuring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cellular characteristics.

Cancer Research 2009 ; 69 : 4116-24

65. A. Vincent-Salomon, B.Sigal-Zafrani et al.

Vers une nouvelle classification des cancers du sein : apport de la biologie moléculaire.

3

1es journées de la SFSPM, novembre 2209 ; 50, 41-45.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلة وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.

وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني،

وأكون اختاً لكل زميل في المهنة الطبية

متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي، نقيّة مما يشينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

**الملف الشخصي المظهري من علامات المناعي
البروتين 53 سيتوكيراتين 5 و6، وبي سي ال 2
في سرطان الثدي ثلاثي السلبية**

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2016/10/31

من طرف

السيدة وفاء بو عافية

المزودة في 16 يناير 1990 بمراكش

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية :

الملف المظهري - علامات المناعي - سرطان الثدي - ثلاثي السلبية - بروتين 53 -
سيتوكيراتين 5 و 6 - BCL2.

اللجنة

الرئيس

السيد ح. أسموكي

استاذ في أمراض النساء والتوليد

المشرف

السيدة ح. رايس

استاذة مبرزة في علم التشريح المرضي

السيدة م. خوشاتي

أستاذة مبرزة في علم الأورام الطبية

الحكام

السيد أيت بنقدور ياسر

أستاذ مبرز في أمراض النساء والتوليد

السيد هارو كرم

أستاذ مبرز في أمراض النساء والتوليد

