

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHESCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU  
FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES  
AGRONOMIQUES



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

# *Mémoire de fin d'étude*

*En vue de l'obtention du diplôme de master en Sciences Biologiques*

*Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction*

*Thème*

*Etude histopathologique et immunohistochimique*

*Des*

*tumeurs mammaires chez la chienne*

**Réalisé par :**

- OULD DJOUDI Kenza
- ZEGHDOUD Nesrine

*Devant le jury composé de :*

<b>Présidente :</b> Mme TALEB AIT MENGUELLAT Kahina	MCA	UMMTO
<b>Promotrice :</b> Mme ZENNAD Ouahiba	MCB	ENSV
<b>Co-promotrice :</b> Mme DAOUIDI ZERROUKI Nacira	Professeur	UMMTO
<b>Examinatrice :</b> Mme AMROUN LAGA Thilali	MCA	UMMTO
<b>Examinatrice :</b> Mme AROUN Rebiha	Doctorante Enseignante	UMMTO



*Promotion 2022/2023*



## Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Tout d'abord, nous adressons toute notre reconnaissance à Mme ZENAD Ouahiba Maître de conférences classe B à l'ENSV pour son soutien constant et ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce mémoire. Votre expertise, votre patience et votre engagement envers notre travail ont été inestimables, et nous sommes reconnaissantes de vous avoir eu comme promotrice.

On tient également à remercier chaleureusement Mme DAOUDI ZERROUKI Nacira professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour sa contribution essentielle à ce mémoire. Votre expertise complémentaire a enrichi ce travail et nous a aidé à approfondir notre compréhension du sujet. Votre présence comme co-promotrice a été précieuse.

Un grand merci à Mme TALEB AIT MENGUELLAT Kahina Maître de conférences classe A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou d'avoir accepté la responsabilité de présider le jury de cette thèse. Votre présidence a apporté une dimension supplémentaire à la soutenance, et nous sommes honorées de votre rôle dans ce processus.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude envers Mme AMROUN LAGA Thilali Maître de conférences classe A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou pour avoir examiné ce mémoire avec attention et pour ses commentaires constructifs qui ont contribué à améliorer la qualité de notre travail.

On remercie tout autant Mme AROUN RBIHA Doctorante, Enseignante à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury et de juger ce travail en qualité d'examinatrice.

Nous tenons également à remercier Docteur LAKABI, notre encadrante au sein de l'Hôpital Mahmoudi, ainsi que le Docteur NAMAN pour leur précieuse contribution et leur dévouement exceptionnel. Votre expertise et votre soutien ont été inestimables, et nous sommes reconnaissantes d'avoir eu la chance de travailler avec vous. Votre professionnalisme et votre engagement ont fait de notre projet une réussite, et nous vous en sommes profondément reconnaissantes. Merci encore pour votre collaboration exceptionnelle.

Nous tenons à adresser nos plus chaleureux remerciements à toute l'équipe du laboratoire au sein de l'hôpital Mahmoudi. Votre dévouement et votre travail acharné sont véritablement remarquables. Grâce à votre collaboration nous avons pu atteindre nos objectifs et réaliser des avancées significatives dans nos recherches. Nous vous remercions pour votre contribution inestimable et pour avoir créé un environnement de travail si enrichissant et positif.

Enfin, nous souhaitons remercier les professeurs de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui nous ont fourni les outils nécessaires à la réussite de nos études universitaires, durant ces cinq dernières années. Ce fût un honneur pour nous d'accomplir nos études dans cette institution historique.

## *Dédicaces*

### *À mes très chers parents*

Vous avez toujours été mon point de mire. Vous avez fait de moi une personne imbue de très bonnes valeurs dont je peux citer le sens du travail et de la responsabilité. Je tenais à vous en remercier énormément. Votre soutien fut pour moi d'un apport considérable durant tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour vous. Je vous aime et j'implore le tout-puissant pour qu'il vous accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

### *À mes sœurs Oylia et Latifa*

En signe de l'affection et du grand amour que je vous porte, les mots sont insuffisants pour exprimer ma profonde estime. Votre encouragement tout au long de mes années d'étude, votre amour et affection ont été pour moi l'exemple ultime de persévérance. Je vous en serais éternellement reconnaissante. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus. Je vous aime.

### *À mes merveilleuses grand-mères,*

Vous êtes les piliers de notre famille, nos fontaines de sagesse. Vos câlins, vos histoires et vos recettes spéciales ont fait de mon enfance un trésor inestimable. Votre amour inconditionnel et votre douceur ont toujours été un refuge sûr. Que les années à venir vous combent de bonheur, de santé et de moments doux.

### *À mes cousines Ines et Lina*

Grace à votre soutien indéfectible, votre amour et sincérité, vos sourires bellissimes que je puisais la force de continuer et d'aller au bout. Vous êtes plus que des cousines, des sœurs. Je vous souhaite une vie remplie de bonheur, d'amour et de réussite.

### *À mes chères oncles et tantes,*

Vous êtes la source de tant de souvenirs précieux, de rires partagés et de sages conseils. Votre présence dans ma vie a toujours été un réconfort et une inspiration. Que notre lien familial continue à se renforcer, que nous partagions encore de nombreuses aventures ensemble, que les moments heureux se multiplient. Sans oublier mes précieux oncles partis trop tôt, que dieu puisse leurs accorder sa miséricorde.

*À mes acolytes préférés, mes amis de longues dates*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi une deuxième famille. Une famille, que j'ai choisi. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé, bonheur et réussite.

*Aux magnifiques rencontres que j'ai faites durant mes années à l'UBMCTO :*

Liza, Silina, Lamia, Nadia que je ne remercierai jamais assez pour leur présence et soutien moral durant toutes les années qu'on a passé ensemble et particulièrement durant cette période de préparation.

*À ma binôme Zenza*

Merci pour tout, tu as été parfaite.

*À toute ma famille.*

*À tous ceux qui m'ont soutenu et me soutiennent encore.*

*Du fond du cœur Merci.*

*Nesrine*

## *Dédicaces*

Je voudrais dédier ce travail à moi-même.

*Kenza*

## Liste des abréviations

**5-FU** : 5- fluorouracile

**CCI** : carcinome canalaire infiltrant

**DAB** : 3,3'Diaminobenzidine

**ENSV** : Ecole National Supérieure Vétérinaire d'Alger

**ER** : Estrogen receptor récepteur œstrogène

**GH** : Growth Hormone Hormone de croissance

**GHR** : Récepteur de l'Hormone de Croissance / Growth Receptor Hormone

**H&E** : Hématoxyline-Eosine

**HRP** : Horseradish Peroxydase

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

**IHC** : Immunohistochimie

**KI-67** : indicateur de prolifération cellulaire

**M1** : Mamelle 1

**M2** : Mamelle 2

**M3** : Mamelle 3

**M4** : Mamelle 4

**M5** : Mamelle 5

**MPA** : Médroxyprogestérone

**P63** : Proteine supresseur de tumeur 63

**Ph** : Potentiel hydrogene

**PR** : progesterone receptor progestérone récepteur

**SBR/sbr** : Scraff, Blomm et Richardson

**TMC** : Tumeur Mammaire Canine

**TNM** : Tumor-Node Metastasis Systeme

**TMH** : Tumeur Mammaire de l'Humain

**IGF-1** : Insulin-like Growth Factor One

## Liste des figures

Figure 1: Vue ventrale sur les mamelles chez la chienne (Anva ,2015).....	3
Figure 2: Structure histologique de la glande mammaire (Brassart,2008) .....	4
<b>Figure 3:</b> Réseau artériel des glandes mammaires chez la chienne (Silver,1966).....	5
Figure 4: Etapes de la mammogenèse en cas de gestation et les hormones impliquées dans le développement de la glande mammaire chez la chienne (Santos <i>et al.</i> ,2010).....	8
<b>Figure 5:</b> l'influence des progestatifs sur l'apparition des tumeurs mammaires (Bedu, 2003).....	11
<b>Figure 6:</b> Adénome simple (Bearss1 <i>et al.</i> ,2012).....	15
<b>Figure 7:</b> Adénome complexe (Toniti1 <i>et al.</i> ,2009).....	16
<b>Figure 8:</b> Papillome canalaire (Lakhani <i>et al.</i> , 2011).....	16
<b>Figure 9:</b> Fibroadénome (Lee <i>et al.</i> , 2007). .....	16
<b>Figure 10:</b> Tumeur bénigne mixte (Patel <i>et al.</i> ,2019). .....	17
<b>Figure 11:</b> Carcinome solide (Patel <i>et al.</i> ,2019). .....	17
<b>Figure 12:</b> Carcinome anaplasique (Patel <i>et al.</i> ,2019). .....	18
<b>Figure 13:</b> Carcinome mucineux (Munsef <i>et al.</i> ,2017).....	18
<b>Figure 14:</b> Carcinome fusiforme (Munsef <i>et al.</i> ,2017). .....	18
<b>Figure 15:</b> Carcinome canalaire (Toniti1 <i>et al.</i> ,2009).....	19
<b>Figure 16:</b> Ostéosarcome (Dolka1 <i>et al.</i> ,2013).....	19
<b>Figure 17:</b> Fibrosarcome (Dolka1 <i>et al.</i> ,2013).....	20
<b>Figure 18:</b> Tumeur mammaire canine. (A) Immunohistochimie pour ER d'un carcinome simple tubulo-papillaire. (B) Immunohistochimie d'un carcinome solide simple du récepteur de la progestérone (PR). (C) Immunohistochimie d'un carcinome complexe pour PR (Sanchez-Cespedes <i>et al.</i> ,2011). .....	25
<b>Figure 19:</b> Mode d'action HER2, PR et ER au niveau de la cellule (Lewis <i>et al</i> 2005).....	26
<b>Figure 20:</b> Interprétation, scores et la surexpression de la protéine HER2 déterminés par immunohistochimie (Penault et laurcat, 2015). .....	27
<b>Figure 21:</b> Glande mammaire d'une chienne atteinte d'un carcinome solide simple, traité par immunohistochimie pour HER2 (Seol H <i>et al.</i> , 2012). (A) Présence d'une coloration HER2 membranaire faible et incomplète (score 1+). (B) Coloration HER2 membranaire complète modérée et hétérogène dans plus de 10 % des cellules néoplasiques (score 2+). (C) Coloration membranaire forte, complète et homogène (motif en grillage) dans plus de 30 % des cellules néoplasiques (score 3+) (Seol H <i>et al.</i> , 2012). .....	28
<b>Figure 22:</b> Immunomarquage Ki-67 réalisé sur une chienne atteinte de carcinome. Les flèches indiquent 3 sites de marquage de Ki-67 (Nieto <i>et al.</i> ,2000). .....	29
<b>Figure 23:</b> Protocole expérimental (photo personnelle,2023).....	33
<b>Figure 24:</b> Fiche d'anamnèse d'un caniche (cas étudié), présentant une masse tumorale au niveau de l'abdomen (photo personnelle,2023).....	34
<b>Figure 25:</b> Examen clinique d'un berger allemand mettant une évidence une masse tumorale inguinale (photo personnelle,2023).....	35
<b>Figure 26:</b> Examen clinique d'un staff, mettant en évidence la masse tumorale thoracique (photo personnelle,2023).....	35
<b>Figure 27:</b> Cliché radiologique de métastases pulmonaire chez un berger croisé (cas étudié) (photo personnelle, 2023). .....	35
<b>Figure 28:</b> La technique chirurgicale (photos personnelles, 2023) .....	36
<b>Figure 29:</b> Masse tumorale de la chienne opérée (photo personnelle,2023) .....	37
<b>Figure 30:</b> Tumeur mammaire après conservation dans du formol à 10 % (photo personnelle,2023). .....	38
<b>Figure 31:</b> Les échantillons placés dans les cassettes (photo personnelle,2023).....	38
<b>Figure 32:</b> Traitement tissulaire avec automate (photo personnelle, 2023).....	38

<b>Figure 33:</b> Enrobage des échantillons et confection de blocs de paraffine (A) Échantillons disposés dans des moules en inox, (B) Plaque de refroidissement (HistoCore Arcaia C) (photo personnelle,2023).	39
<b>Figure 34:</b> Réalisation des coupes histologiques avec un microtome. / Microtome (LEICA2235) (photo personnelle,2023).	39
<b>Figure 35:</b> Bain marie et plaque chauffante (photo personnelle,2023).	40
<b>Figure 36:</b> Etuve (photo personnelle,2023)	40
<b>Figure 37:</b> Coloration hématoxyline-éosine (photo personnelle,2023).	41
<b>Figure 38:</b> Etapes du montage des lames (photo personnelle,2023)	42
Figure 39: Automate de l'immunohistochimie (photo personnelle,2023)	43
<b>Figure 40:</b> Coupe histologique d'une tumeur mammaire de type « carcinome tubulaire » observée sur microscope optique (HEX400) (photos personnelles, 2023). (A) Le stroma conjonctif, foyers hémorragiques (flèche bleue), vaisseaux sanguins (flèche rouge). (B) mise en évidence des lobules de la glande mammaire, prolifération des tubules (cercle noir).	45
<b>Figure 41:</b> Coupe histologique d'une TMC de type « adénome canalaire ». (A) un parenchyme mammaire montrant des canalicules lobulaires (cercle vert), un stroma (cadre orange), conduit lobulaire en fonte (flèche marron), débris kératiniques (cercle rouge). (B) présence de nécroses (carré noir) (x400) (photos personnelles, 2023).	46
<b>Figure 42:</b> Différents champs du carcinome canalaire infiltrant d'une chienne observée sous microscope optique. A : Prolifération tumorale, B : Anisocaryose tumorale marquée, C : Tumeur nécrosée, D : Nécrose bien visible (photos personnelles, 2023).	47
<b>Figure 43 :</b> Marquage RP du carcinome canalaire invasif observé sous microscope au grossissement (x400) (photos personnelles,2023).	48
<b>Figure 44:</b> Marquage RE du carcinome canalaire infiltrant observé sous microscope optique (x 400) (photos personnelles,2023).	49
<b>Figure 45:</b> marquage HER2 du carcinome canalaire infiltrant observé au microscope optique (x400) (photos personnelles,2023).	49
<b>Figure 46:</b> Marquage KI67 du carcinome canalaire infiltrant observé au microscope optique (x400) (photo personnelle,2023).	50
<b>Figure 47:</b> Marquage de la p63 sur un carcinome canalaire invasif observé au microscope optique (x100) (marquage positif pour le follicule pileux et négatif pour la tumeur) (photo personnelle,2023).	51

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Tableau récapitulatif du drainage lymphatique des glandes mammaires de la chienne (Hedlund <i>et al.</i> ,2002). .....	6
<b>Tableau 2</b> : Tableau démontrant l'impact du moment de l'ovariectomie sur le risque du développement de la tumeur mammaire (Hayes, 1977).....	10
<b>Tableau 3</b> : Classification des TNM pour les tumeurs mammaires chez les animaux établis par l'OMS (Magnol et al.,1998). .....	13
<b>Tableau 4</b> : Classification histologique des dysplasies (Mentiere, 2003).....	14
<b>Tableau 5</b> : Classification histologique des tumeurs mammaires bénignes (Lagadic et Cohn, 1995 ; Mentiere, 2003). .....	15
<b>Tableau 6</b> : Classification histologique des tumeurs mammaires malignes (Lagadic et Cohn, 1995 ; Mentiere, 2003). .....	17
<b>Tableau 7</b> : Mécanismes d'action de ER et PR au niveau de la cellule tumorale comparé à la cellule saine (De Las Mulas et al,2005). .....	23
<b>Tableau 8</b> : Survie en fonction du statut du récepteur à l'œstrogène (ER) et à la progestérone (PR) (Sartin el al,1992). .....	25
<b>Tableau 9</b> : Pourcentage de chiennes ayant développé des métastases durant le suivi post chirurgical en fonction de l'index Ki-67 (Pena <i>et al.</i> ,1998 et Nieto <i>et al.</i> ,2000). .....	30
<b>Tableau 10</b> : Intensité du marquage de la P63 en immunohistochimie selon le type cellulaire (Pena <i>et al.</i> ,2014). .....	31
<b>Tableau 11</b> : Matériels, consommable et réactifs.....	32

# Table des matières

Remerciements.

Dédicaces.

Liste des abréviations.

Listes des figures.

Liste des tableaux.

Introduction ..... 1

## Chapitre 01 : Glande mammaire

1 Glande mammaire .....3

1.1 Anatomie topographique de la glande mammaire.....3

2 Histologie de la glande mammaire chez la chienne .....4

2.1 Vascularisation .....4

2.1.1 Réseau artériel .....4

2.1.2 Réseau veineux .....5

2.2 Réseau lymphatique.....5

2.3 Innervation .....6

3 Physiologie de la glande mammaire .....7

3.1 Mammogénèse pubertaire.....7

3.2 Mammogénèse gestationnelle.....7

3.3 Lactation.....7

3.4 Involution de la glande mammaire .....7

## Chapitre 02 : Tumeurs mammaires

1 Tumeur mammaire .....9

1.1 Incidence .....9

2 Etude des facteurs de risque .....9

2.1 Âge .....9

2.2 Sexe .....9

2.3 Race.....9

2.4 Ovariectomie .....9

2.5 Facteurs hormonaux .....10

2.5.1 Hormones stéroïdiennes (œstrogène-progestérone) .....10

2.5.2 Hormone de croissance (GH).....10

2.5.3 Prolactine.....10

2.6 Traitements contraceptifs.....11

2.6.1	Progestatifs de synthèse .....	11
2.6.2	Œstrogènes et progestatifs .....	11
2.7	Influence du régime alimentaire .....	12
3	Classification des tumeurs mammaires.....	12
3.1	Classification TNM (Tumor-Node-Metastasis system) .....	12
3.2	Classification histologique des tumeurs mammaires .....	13
3.2.1	Dysplasies.....	13
3.2.2	Tumeurs bénignes.....	14
3.2.3	Tumeurs malignes.....	16
4	Grade histo-pronostique .....	19
4.1	Grade Scarff Bloom et Richardson .....	19
5	Traitement des tumeurs mammaires chez la chienne .....	20
5.1	Traitement chirurgical .....	20
5.2	Traitement médical .....	20
5.2.1	Radiothérapie.....	20
5.2.2	Chimiothérapie .....	21
Chapitre 03 : Marqueurs tumoraux		
1	Notion sur les marqueurs .....	22
2	Différents marqueurs utilisés dans l'identification des tumeurs mammaires .....	22
2.1	Récepteurs hormonaux ER et PR.....	22
2.1.1	Rôle des récepteurs aux œstrogènes et la progestérone.....	23
2.1.2	Immunohistochimie sur les récepteurs hormonaux .....	24
2.1.3	Valeur pronostique et diagnostique des récepteurs dans le cas des tumeurs mammaires canines	25
2.2	Biomarqueur HER2 .....	26
2.2.1	Valeur pronostique et diagnostique de HER2 dans le cas des tumeurs mammaires canines	27
	Comme chez l'humain, la corrélation entre l'expression des récepteurs du HER2 et le diagnostic/pronostic du patient est la même chez l'espèce canine (figure 20) (Lewis <i>et al.</i> , 2005).	
	.....	28
2.3	Biomarqueur Ki-67.....	29
2.3.1	Valeur pronostique et diagnostique.....	29
3	Diagnostiquer la présence de cellules myoépithéliales par immunohistochimie.....	30
3.1	Identification de la P63 grâce à l'intensité du marquage .....	31
Chapitre 04 : Matériel et méthodes		
1	Objectif.....	31
2	Lieu d'étude et population étudiée.....	31

3	Matériels et méthode .....	32
3.1	Matériels.....	32
3.2	Méthode.....	33
3.2.1	Commémoratifs et anamnèse .....	33
3.2.2	Examen clinique .....	34
3.2.3	Examens complémentaires .....	35
3.2.4	Technique chirurgicale .....	36
3.2.5	Étude histopathologique .....	37
4	Méthodologie de l'examen d'histopathologie.....	37
4.1	Examen macroscopique .....	37
4.2	Traitement tissulaire .....	39
4.3	Coloration à l'hématoxyline-éosine .....	41
4.4	Montage des lames .....	42
4.5	Première observation au microscope et interprétation des coupes histologiques .....	42
5	Immunohistochimie.....	42
5.1	Immunohistochimie manuelle.....	43
5.2	Deuxième observation au microscope .....	44
Chapitre 06 : Résultats		
1	Résultats .....	45
1.1	Résultats de la première observation (Histopathologie).....	45
1.1.1	Carcinomes tubulaires .....	45
1.1.2	Adénomes canauxiers .....	46
1.1.3	Carcinome canalaire infiltrant.....	46
1.2	Résultats de la deuxième observation (Immunohistochimie) .....	48
1.2.1	Récepteurs hormonaux RP, ER.....	48
1.2.2	Biomarqueurs HER2.....	49
1.2.3	Indice de prolifération KI67 .....	50
1.2.4	Marqueur P63 (distinguer les cellules myoépithéliales).....	50
Chapitre 07 : Discussion		
1	Discussion de la partie histopathologie.....	52
1.3	Carcinomes tubulaires .....	52
1.4	Adénome canalaire .....	52
2	Discussion partie immunohistochimie.....	53
2.1	Biomarqueurs HER2 .....	53
2.2	Récepteurs ER/PR .....	53
2.3	Marqueurs P63 .....	53

2.4	Index de prolifération KI-67 .....	53
	Conclusion.....	54
	Références bibliographiques	
	Annexes	
	Résumé	

Les tumeurs mammaires représentent un des types tumoraux les plus fréquents chez les chiennes (Thuroczy *et al.*, 2007). Une chienne sur deux risque d'avoir une tumeur mammaire, soit une incidence trois fois supérieure à celle de la femme (Moe, 2001).

Environ la moitié de ces tumeurs se révèlent être malignes selon Thuroczy *et al.* (2007). Cela souligne l'importance de s'intéresser à cette pathologie qui suscite l'inquiétude des propriétaires d'animaux et suscite l'intérêt des médecins vétérinaires et des biologistes. D'un côté, elle constitue un modèle d'étude crucial pour comprendre l'étiologie et les traitements des tumeurs du sein chez la femme. D'un autre côté, les thérapies appliquées chez la femme pourraient être bénéfiques dans le contexte de la médecine vétérinaire.

Notre travail a été réalisé au niveau de l'hôpital Chehids Mahmoudi sur six (06) cas de tumeurs mammaires canines de l'ENSV d'Alger. Il sera constitué de deux parties, une revue bibliographique exhaustive sur les tumeurs mammaires chez les chiennes, suivie d'une étude histopathologique et immunohistochimique sur des tumeurs mammaires canines.

L'objectif de notre travail est d'étudier la classification histologique des tumeurs mammaires chez la chienne de comparer leur profil immunohistochimique à celui de l'homme grâce aux marqueurs tumoraux (ER/PR, HER2, KI67) et de récolter des données importantes sur les tumeurs mammaires canines, afin de pouvoir utiliser la chienne comme modèle d'étude pour le cancer du sein.

L'utilisation de la chienne comme modèle d'étude pour le cancer du sein permettra un échange de bénéfices, d'un côté les nouveaux traitements hormonaux seront essayés sur la chienne pour vérifier leur efficacité, d'un autre côté, ces chiennes vont bénéficier de traitements adjuvants.

Cette étude comprend deux parties :

La première partie, "Étude bibliographique", va aborder trois (03) chapitres, le premier sera consacré à des rappels sur la glande mammaire, le deuxième va traiter des tumeurs mammaires chez la chienne, et le troisième va introduire le concept des marqueurs tumoraux utilisés en immunohistochimie sur lesquels on va travailler durant notre étude afin de nous renseigner sur le diagnostic et le pronostic de cette pathologie dans le cas canin.

La deuxième partie, "Partie expérimentale" va traiter deux axes, le premier axe est l'étude histopathologique de masses tumorales mammaires canines ce qui va nous orienter sur

## Introduction

---

le type histologique de ces dernières. Le deuxième axe portera sur l'immunohistochimie, nous nous concentrerons sur les principaux marqueurs utilisés en médecine humaine dans le cadre de la tumeur du sein : les récepteurs hormonaux ER (récepteurs aux œstrogènes) et PR (récepteurs à la progestérone), le récepteur HER2 (human epidermal growth factor 2), et le KI67 (indicateur de prolifération), afin de classer ces tumeurs mammaires sur la base de ces différents profils immunohistochimiques.

Compte tenu de l'augmentation de la médicalisation des chiennes, du développement de la cancérologie en médecine vétérinaire, et de la similitude qui existe entre le carcinome mammaire chez la chienne et chez la femme, une compréhension de cette pathologie est indispensable.

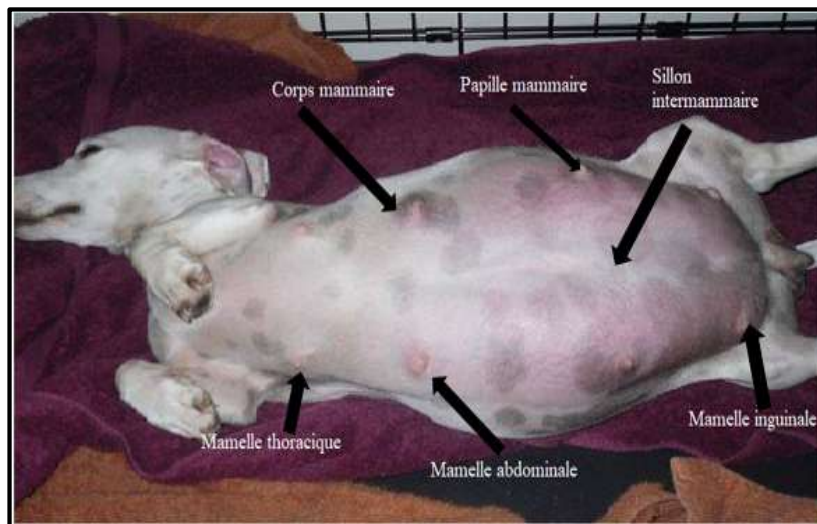
## 1. Glande mammaire

Les mamelles font partie des glandes exocrines retrouvées chez les mammifères (Rudland *et al.*,1995). Elles restent rudimentaires chez les mâles mais elles sont adaptées à la sécrétion du lait chez les femelles (Aspinall *et al.*,2019). La glande mammaire chez la chienne est particulière à cause de l'existence de deux chaînes mammaires présentes sous forme d'un système linéaire (Lagadic et Cohn, 1995).

### 1.1 Anatomie topographique de la glande mammaire

Le nombre de mamelles chez les chiennes diffère d'une race à une autre, allant de 4 paires à 6 paires. Les chiennes ont en général 5 paires réparties le long de la ligne médiane du thorax jusqu'à la région pubienne, selon cet axe (figure 1) :

- Une paire thoracique crâniale (M1).
- Une paire thoracique caudale (M2)
- Une paire abdominale crâniale (M3)
- Une paire abdominale caudale (M4)
- Une paire inguinale (M5) (Barone, 2001).

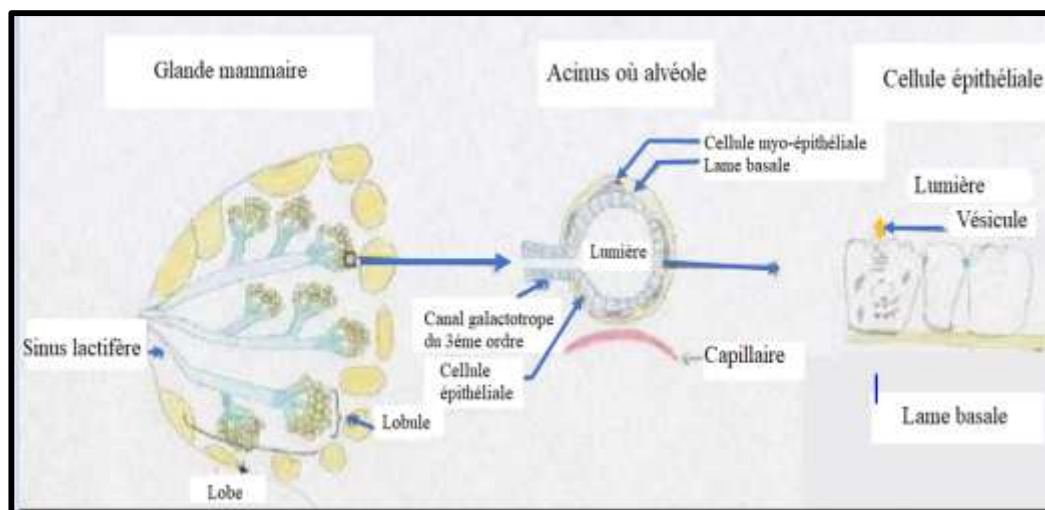


**Figure 1:** Vue ventrale sur les mamelles chez la chienne (Anva ,2015).

## 2 Histologie de la glande mammaire chez la chienne

La glande mammaire est une glande sudoripare, son unité fonctionnelle est le lobule. Il est composé d'un ensemble d'alvéoles tapissées par un épithélium sécrétoire polarisé ; un pôle apical orienté vers la lumière de l'alvéole où le liquide nutritif est sécrété et un pôle basal en lien direct avec une couche de cellules myoépithéliales contractiles. L'ensemble est entouré d'un tissu conjonctif, de fibroblastes et de cellules adipeuses. Les lobules sont reliés à des canaux eux même reliés à des canaux excréteurs, ces derniers sont en lien avec le mamelon (figure2) (Aspinall *et al.*,2019).

Le développement mammaire chez les chiennes débute dès la sixième semaine de vie foetale, mais il ne devient complet qu'à la première gestation de la femelle plus précisément à J40 de gestation (Aspinall *et al.*,2019).



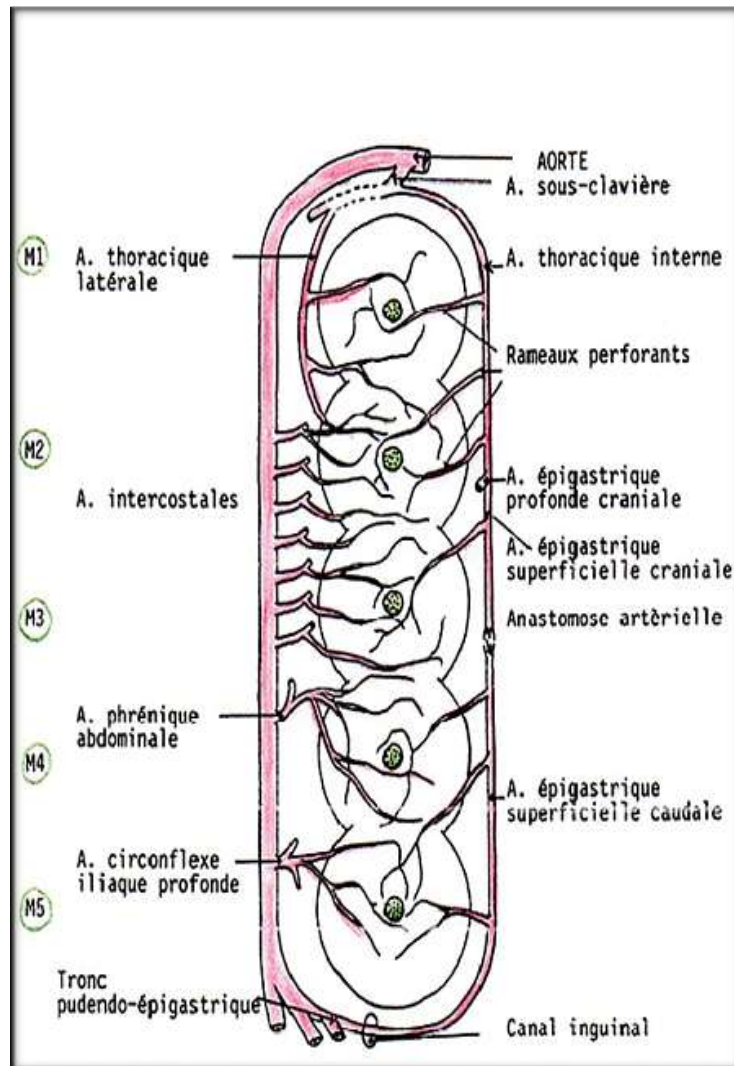
**Figure 2:** Structure histologique de la glande mammaire (Brassart,2008)

### 2.1 Vascularisation

#### 2.1.1 Réseau artériel

Les vaisseaux sanguins qui alimentent les mamelles pectorales sont les suivants : Au niveau crânial, ils proviennent de branches perforantes de l'artère thoracique interne, qui passe par la partie ventrale des espaces intercostaux. Au niveau médial, ils sont issus de l'artère épigastrique crâniale superficielle, et latéralement, des banches mammaires des artères intercostales, ainsi que de l'artère thoracique latérale. Pour ce qui est des mamelles abdominales et inguinales, elles sont approvisionnées en sang par les artères épigastriques superficielles, caudales et crânielles, qui se trouvent à leurs faces dorsales et s'anastomosent entre elles. Les

mamelles inguinales reçoivent également quelques branches provenant des rameaux labiaux ventraux des artères honteuses externes. (Figure 3) (Andrade *et al.*,2010).



**Figure 3:** Réseau artériel des glandes mammaires chez la chienne (Silver,1966).

## 2. Réseau veineux

Le réseau veineux est lié au réseau artériel, en effet les vaisseaux traversent la ligne médiane pour relier une mamelle à une autre. Les veines sont plus richement anastomosées et plus volumineuses que les artères. Les deux paires de glandes mammaires crânielles sont drainées par les veines épigastriques superficielles caudales et honteuses externes et la paire intermédiaire est drainée par les deux systèmes (Andrade *et al.*,2010).

### 2.2 Réseau lymphatique

Les glandes mammaires possèdent chacune un réseau de petits vaisseaux lymphatiques qui se connecte pour former un réseau similaire de plus large ampleur, se connecte à son tour au

nœud lymphatique de drainage (Barone,2001). Le tableau présente le drainage lymphatique des glandes mammaires.

**Tableau 1** : Tableau récapitulant du drainage lymphatique des glandes mammaires de la chienne (Hedlund *et al.*,2002).

Mamelle	Nœuds lymphatiques
Thoracique antérieure ou M1	-Nœud lymphatique axillaire
Thoracique postérieure ou M2	-Nœud lymphatique sternal crânial
Abdominale antérieure ou M3	-Nœud lymphatique axillaire essentiellement mais aussi drainage caudal (nœud lymphatique inguinal superficiel)
Abdominale postérieure ou M4	-Nœud lymphatique inguinal superficiel
Inguinales ou M5	-Nœud lymphatique inguinal superficiel - Nœud lymphatique ilio-sacré

Des variations dans la topographie du drainage lymphatique ont été mises en évidence, ce qui a permis de montrer l'avantage, lorsque des glandes mammaires sont touchées par un processus tumoral, de caractériser le drainage lymphatique individuel de chaque glande atteinte. La présence d'un phénomène néoplasique peut changer la topographie du drainage lymphatique en disséminant des cellules tumorales par la formation de nouveaux canaux (Pereira *et al.*,2008).

### 2.3 Innervation

L'innervation de la mamelle chez la chienne est issue :

- Des rameaux cutanés latéraux et médiaux ventraux des nerfs intercostaux.
- Des rameaux superficiels des trois premiers nerfs lombaires des rameaux mammaires des nerfs génito- fémoraux (Pereira *et al.*,2003).

### 3 Physiologie de la glande mammaire

La glande mammaire a pour fonction la production de lait. Son activité sécrétoire n'est pas constante, mais suit un cycle évolutif morphologique et fonctionnel régulé par des hormones internes et des stimuli sensoriels externes. Elle passe par des phases de développement, de sécrétion, d'involution et de repos (Sorenmo *et al.*,2011).

#### 3.1 Mammogenèse pubertaire

La puberté est déclenchée par la sécrétion des œstrogènes par les ovaires, elle se divise en deux phases le pro-œstrus ou la glande mammaire est inactive et se compose uniquement de canaux inter lobulaires ; durant l'œstrus l'épithélium des canaux prolifère, remplaçant le tissu conjonctif des lobules grâce à la libération d'œstrogènes par les ovaires ainsi que l'hormone de croissance (GH) (Sorenmo *et al.*,2011).

#### 3.2 Mammogenèse gestationnelle

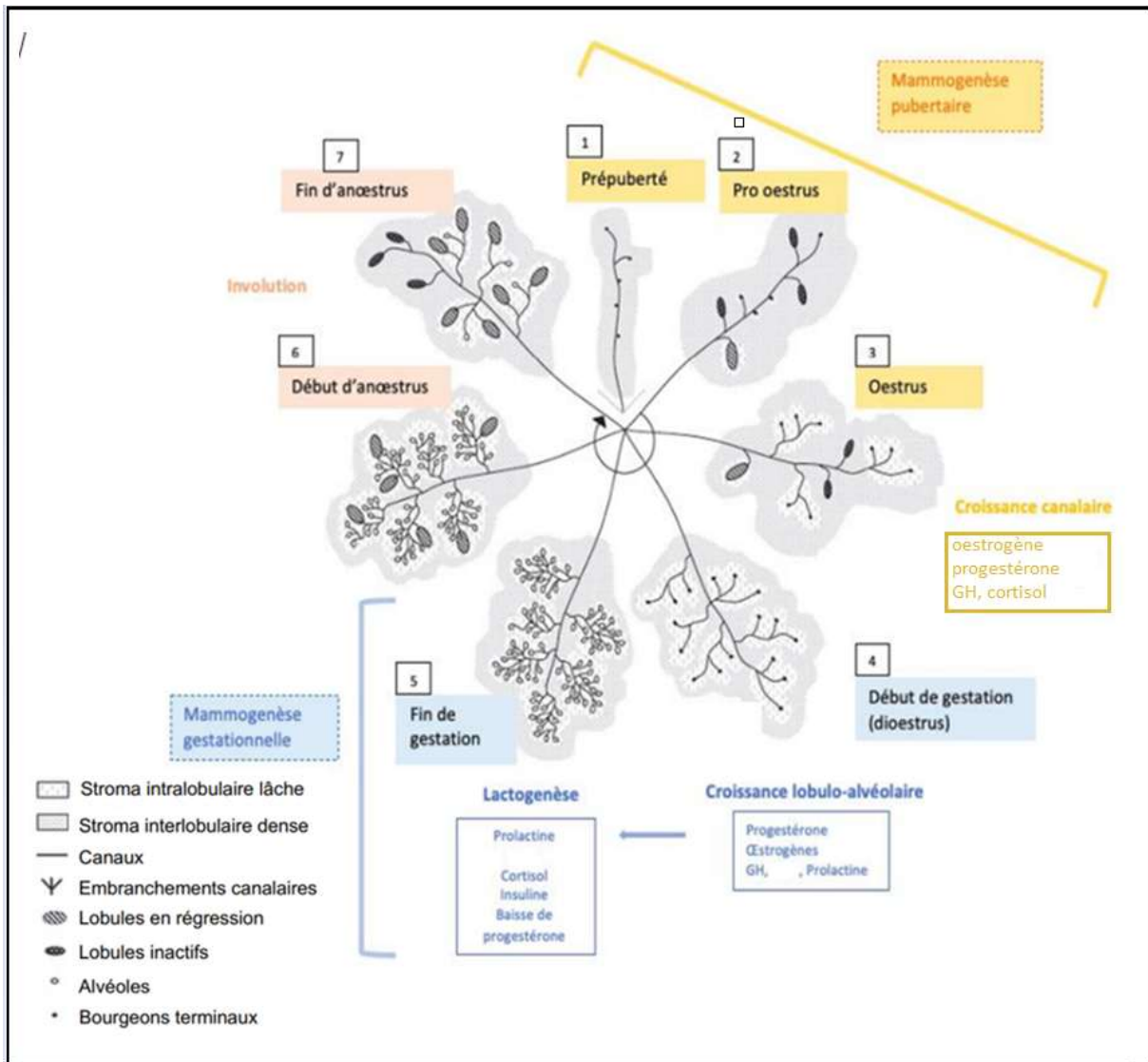
La mammogenèse gestationnelle réfère au développement que subit la glande mammaire durant la gestation ou le diœstrus grâce à la progestérone. Cette phase est caractérisée au début par le développement des canaux et la formation de lobule. Vers la fin de cette phase les alvéoles pré sécrétoires sont formées à l'extrémité des canaux inter lobulaires accompagné d'une baisse de progestérone. Ensuite sous l'influence de la prolactine les cellules des alvéoles pré sécrétoires se transforment en alvéoles sécrétoires (Sorenmo *et al.*,2011).

#### 3.3 Lactation

Au moment de la mise bas, la glande mammaire est constituée d'une structure alvéolaire ducto-lobulaire. Les cellules alvéolaires secrètent le liquide nutritif grâce à la prolactine, qui ensuite est acheminé vers le sinus de la mamelle à travers les canaux pour être éliminé par la portée (Sorenmo *et al.*,2011).

#### 3.4 Involution de la glande mammaire

La phase d'involution ou l'anœstrus est caractérisée par des alvéoles avec peu de sécrétions et des cellules épithéliales vacuolaires avec une membrane basale plus proéminente, les lobules subissent des changements du tissu conjonctif intra lobulaire. La fin de cette phase est due à une diminution du taux de prolactine ainsi que des stéroïdes sexuelles induisant l'involution de la glande mammaire. Il existe une diminution du diamètre des canaux ainsi que la taille des lobules, le tissu interstitiel est plus abondant, aussi sont observés une densification des fibres de collagène et le développement du tissu interlobulaire. Ce processus d'involution est plus lent à se produire sur les mamelles inguinales (figure 4) (Sorenmo *et al.*,2011).



**Figure 4:** Etapes de la mammogenèse en cas de gestation et les hormones impliquées dans le développement de la glande mammaire chez la chienne (Santos *et al.*,2010).

## 1 Tumeur mammaire

Une tumeur mammaire est une masse tissulaire résultant d'une multiplication cellulaire excessive de cellules normales (tumeur bénigne) ou anormales (tumeur maligne) (Crespeau, 1999).

### 1.1 Incidence

Les TMC, sont l'une des tumeurs les plus courantes chez les chiennes. L'incidence chez la chienne est trois fois plus élevée que chez l'homme (Pastor *et al.*, 2018). Les cancers représentent 50% des TMC cependant la moitié sont faiblement agressifs et sont curatifs après une simple exérèse. Le risque de développer une nouvelle TMC après apparition de la première est de 65% (Patsikas *et al.*, 2006).

## 2 Etude des facteurs de risque

La recherche des facteurs de risque pouvant être à l'origine de l'apparition des tumeurs mammaires permettra de décrire le profil des chiennes susceptibles d'en développer (Patsikas *et al.*, 2006).

### 2.1 Âge

Les TMC apparaissent chez des chiennes ayant entre 10 et 11ans (Lana *et al.*, 2007). L'âge augmente le risque de développer une tumeur mammaire de 1.625 fois par année (Santos *et al.*, 2020).

### 2.2 Sexe

Les tumeurs mammaires sont retrouvées chez les femelles, néanmoins la proportion chez les males est estimée à 2,7% (Rutteman *et al.*, 2001).

### 2.3 Race

Selon Vascellari *et al* (2016), il existe une corrélation entre les tumeurs mammaires et les races de chiens, ils ont conclu que les TMC sont plus fréquentes chez les races pures que chez les races croisées. Comme c'est le cas des Fox Terrier, Cocker, Teckel, Caniche, Labrador.

### 2.4 Ovariectomie

Les chiennes non stérilisées ont un risque sept fois plus élevé de développer des cancers mammaires, cependant le moment de l'ovariectomie est décisif (tableau 2), à noter que celle-ci n'a pas d'impact sur la progression de la tumeur une fois apparue (Hayes, 1977).

**Tableau 2** : Tableau démontrant l'impact du moment de l'ovariectomie sur le risque du développement de la tumeur mammaire (Hayes, 1977).

Moment d'ovariectomie	Taux du risque
Avant-première chaleur	0.05%
Entre première et deuxième chaleur	8%
Après deuxième chaleur	26%

## 2.5 Facteurs hormonaux

Les tumeurs mammaires chez la chienne sont hormonodépendantes, tout comme chez l'humain. Les hormones jouent un rôle important dans le développement de ces tumeurs. (Hayden et Neilson, 1971).

### 2.5.1 Hormones stéroïdiennes (œstrogène-progestérone)

Les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone jouent un rôle dans la croissance des tumeurs mammaires canines. Les tissus tumoraux présentent des proportions différentes de ces récepteurs par rapport aux tissus sains. Les métastases ont généralement une faible présence de récepteurs hormonaux. Les œstrogènes peuvent exercer une double toxicité génétique : d'une part, ils augmentent le risque de prolifération des cellules endommagées, ce qui peut conduire à une instabilité génomique et à une initiation de la malignité. D'autre part, l'administration de fortes doses de progestagènes de synthèse, associées ou non à de faibles doses d'œstrogènes, peut favoriser l'apparition de lésions mammaires. Cependant, le lien entre ces lésions mammaires et la malignité n'est pas clairement établi (Benavente *et al.*, 2016).

### 2.5.2 Hormone de croissance (GH)

L'excès de production de la GH induit par la progestérone pourrait influencer le développement des tumeurs mammaires. La GH agit directement sur la croissance du tissu mammaire (Cohen *et al.*, 2000). Selon Van *et al* (1997), la production de GH a été observée dans la plupart des tumeurs mammaires, cette production pourrait être un marqueur de la tumorigenèse et agir sur la prolifération des cellules épithéliales mammaires sensibilisées et transformées.

### 2.5.3 Prolactine

Selon Queiroga *et al* (2005), les niveaux de prolactine étaient significativement plus élevés dans les tissus mammaires tumoraux (bénins ou malins) par rapport aux tissus sains.

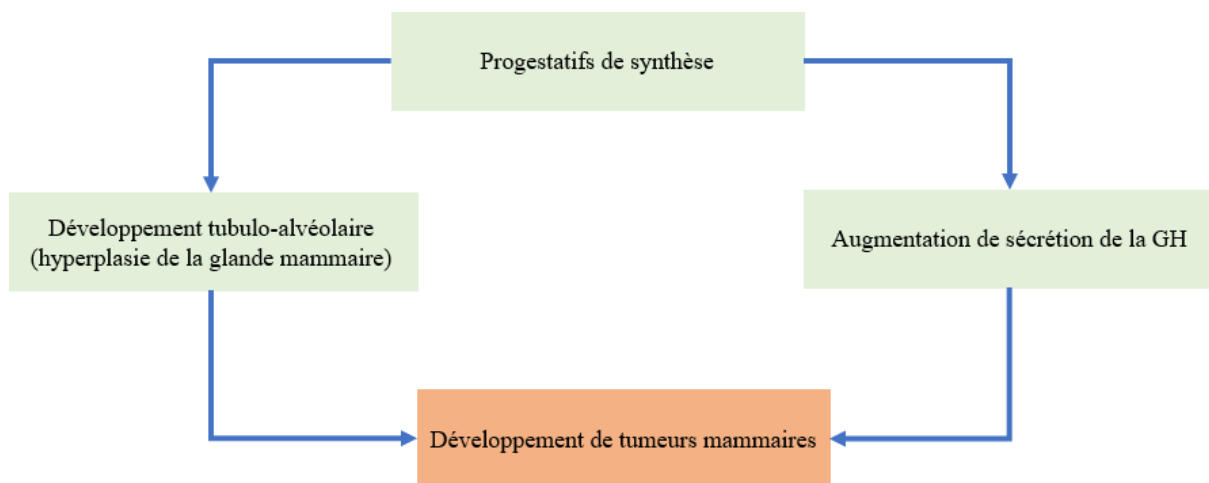
Cependant, les concentrations sériques de prolactine chez les chiennes présentant des tumeurs mammaires bénignes n'étaient pas significativement différentes de celles présentant des tumeurs malignes.

## 2.6 Traitements contraceptifs

L'utilisation combinée d'œstrogènes et de progestérone chez la chienne peut augmenter l'incidence des tumeurs mammaires. La progestérone favorise le développement complet de la glande mammaire, tandis que les œstrogènes stimulent la croissance des canaux mammaires. (Rutteman *et al.*, 2001).

### 2.6.1 Progestatifs de synthèse

Les progestatifs de synthèse peuvent avoir des effets sur la glande mammaire et peuvent également augmenter le risque de tumeurs mammaires, surtout avec l'acétate de médroxyprogestérone (MPA) (figure 5) (Rutteman *et al.*, 2001 ; Bedu, 2003).



**Figure 5** : l'influence des progestatifs sur l'apparition des tumeurs mammaires (Bedu, 2003)..

### 2.6.2 Œstrogènes et progestatifs

Le risque de développer des TMC chez les chiennes augmente après une administration prolongée d'œstrogènes combinés avec des progestatifs à forte dose ou lors de l'utilisation de médicaments ayant une activité progestativo-œstrogénique combinée. À l'inverse, l'administration de progestérone à de jeunes femelles beagles conduit à l'apparition d'un plus grand nombre de nodules bénins. Seule l'association d'œstrogènes et de progestérone sur de longues périodes, ou l'utilisation de progestérone à forte dose, provoque expérimentalement une augmentation de l'incidence des tumeurs mammaires (Rutteman *et al.*, 2001 ; Lana *et al.*, 2007).

## 2.7 Influence du régime alimentaire

L'incidence des tumeurs mammaires chez les chiennes est étroitement liée à leur alimentation. Tout d'abord une alimentation excessive en graisses augmente le risque de tumeurs mammaires. Cette alimentation riche en gras induit l'obésité qui constitue une prédisposition aux tumeurs mammaires car le tissu adipeux, qui est une source importante d'œstrogènes en raison de son activité enzymatique aromatasase, contribue à l'exposition accrue des glandes mammaires aux œstrogènes, favorisant ainsi la tumorigènese mammaire, (Benavente *et al.*, 2016).

## 3 Classification des tumeurs mammaires

La classification des tumeurs mammaires canine en différents stades cliniques permet de définir l'extension du processus tumoral, il devient alors possible de donner le pronostic et le traitement le plus approprié. Il existe plusieurs classifications ;

### 3.1 Classification TNM (Tumor-Node-Metastasis system)

Le TNM est un système de classification largement utilisé pour évaluer l'extension tumorale dans le cancer (tableau 3). Il se base sur trois principaux critères : la taille de la tumeur primaire (T), l'implication des ganglions lymphatiques régionaux (N) et la présence de métastases à distance (M). Ce système permet d'évaluer la situation oncologique d'un patient et de prédire son pronostic en fonction de l'étendue anatomique de la tumeur. (Sorenmo, 2003 ; Vail *et al.*, 2019).

Les différents stades TNM sont regroupés en stades cliniques : Stade I : T1N0M0 /Stade II : T2N0M0 ; Stade III : T3N0M0 ; Stade IV : TxN1M0 ; Stade V : TxNxM1 (Magnol *et al.*,1980).

**Tableau 3** : Classification des TNM pour les tumeurs mammaires chez les animaux établis par l'OMS (Magnol et al.,1998).

<b>T : Tumeur primitive</b>	
T0 : pas de tumeur décelable	
T1 : tumeur < 3cm	a : non fixée à la peau
	b : fixée à la peau
	c : fixée aux muscles
T2 : tumeur de 3 à 5 cm	a : non fixée à la peau
	b : fixée à la peau
	c : fixée aux muscles
T3 : tumeur > 5cm	a : non fixée la peau
	b : fixée à la peau
	c : fixée aux muscles
T4 : tumeurs de toutes tailles avec extension directe à la peau et aux parois thoraciques où abdominale	
<b>N : Nœuds lymphatiques régionaux</b>	
N0 : pas d'adénopathies perceptibles cliniquement	
N1 : une ou plusieurs adénopathies unilatérales	a : non fixée
	b : fixée
N2 : adénopathies bilatérales	a : non fixée
	b : fixée
<b>M : Métastase</b>	
M0 : absence de métastases à distance	
M 1 : présence de métastase à distance	

### 3.2 Classification histologique des tumeurs mammaires

Un modèle de classification histologique a été proposé pour les tumeurs mammaires chez la chienne, basé sur des critères morphologiques et histologiques similaires à ceux utilisés chez la femme.

Les tumeurs mammaires du point de vue histologique peuvent être classées en trois groupes de types histologiques différents, les dysplasies, les tumeurs bénignes, les tumeurs malignes (Lagadic et Cohn,1995).

#### 3.2.1 Dysplasies

Les dysplasies sont la conséquence d'une altération des mécanismes de prolifération et d'involution du tissu glandulaire, au cours de ses modifications cycliques. Selon le degré de différenciation des cellules épithéliales, il existe les dysplasies typiques et les dysplasies atypiques (Lagadic et Cohn, 1995).

Le tableau (tableau 4) présente les différentes classifications histologiques des dysplasies.

**Tableau 4** : Classification histologique des dysplasies (Mentiere, 2003).

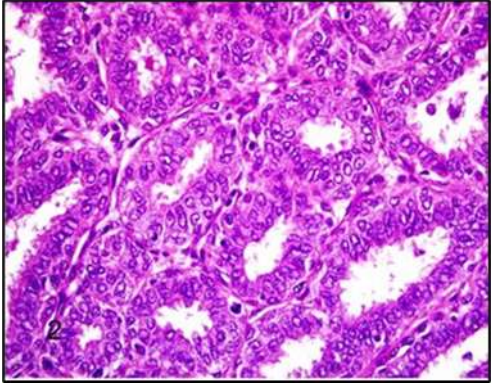
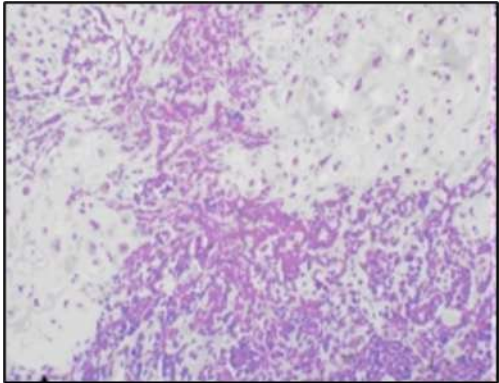
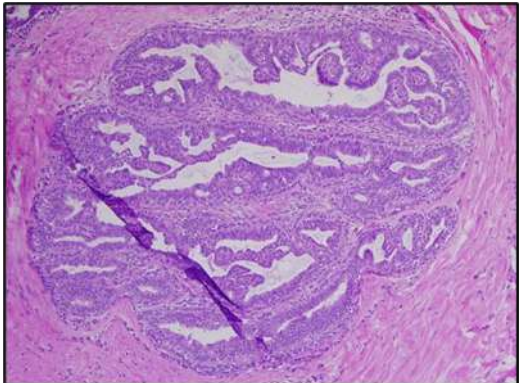
<b>Classification histologique des dysplasies</b>	
Type de dysplasie	Caractéristiques histologiques
Hyperplasie lobulaire	C'est une augmentation du nombre d'alvéoles où une hyperplasie des cellules qui tapissent les canalicules et les alvéoles.
Hyperplasie canalaire	C'est une lésion précancéreuse, qui se manifeste par une prolifération des cellules épithéliales à l'intérieur des canaux, entraînant l'obstruction totale ou partielle de la lumière du conduit.
Kyste	Papillaire où non papillaire, ils ne possèdent pas de double couche et sont difficile à distinguer des glandes dilatées.
Adénose	Prolifération anormale des alvéoles et du tissu conjonctif.
Ectasie canalaire	C'est une transformation des conduits lactifères et du tissu mammaire en une masse spongieuse.
Fibroadénomateuse	C'est une lésion proliférative bénigne, régresse avec le temps, hormonodépendante, affecte les conduits inter lobulaires dans le stroma fibreux et œdémateux.

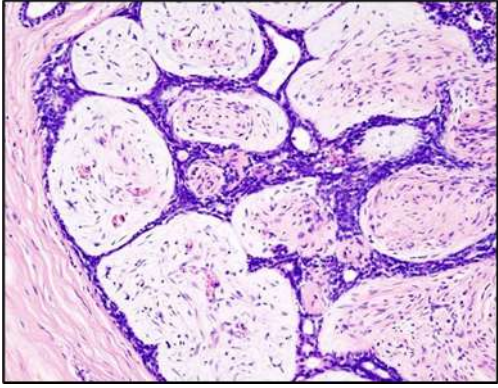
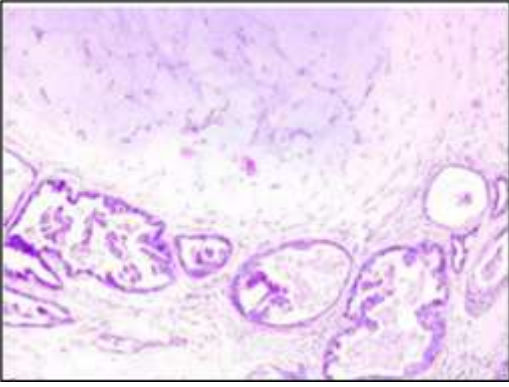
### 3.2.2 Tumeurs bénignes

La tumeur bénigne est une lésion du massif tissulaire néoformé caractérisée par une croissance lente, souvent bien délimitée par une capsule. La tumeur bénigne est très différenciée et reproduit le tissu matriciel avec une architecture et cytologie proches des tissus sains (Feye,2009).

Le tableau (5) présente les différentes classifications histologiques des tumeurs mammaires bénignes.

**Tableau 5** : Classification histologique des tumeurs mammaires bénignes (Lagadic et Cohn, 1995 ; Mentiere, 2003).

<b>Classification histologique des tumeurs mammaires bénignes</b>	
Type de tumeur (Caractéristiques histologiques)	Figure
<p><b>Adénome simple</b></p> <p>De type tubulaire, constitué soit de cellules épithéliales luminales ou myoépithéliales bien différenciées</p>	 <p><b>Figure 6</b> : Adénome simple (Bearss1 <i>et al.</i>,2012)</p>
<p><b>Adénome complexe</b></p> <p>Constitué de cellules épithéliales et myoépithéliales</p>	 <p><b>Figure 7</b> : Adénome complexe (Toniti1 <i>et al.</i>,2009).</p>
<p><b>Papillome canalaire</b></p> <p>Caractérisée par une excroissance du tissu glandulaire à l'intérieur des canaux dilatés</p>	 <p><b>Figure 8</b> : Papillome canalaire (Lakhani <i>et al.</i>, 2011)</p>

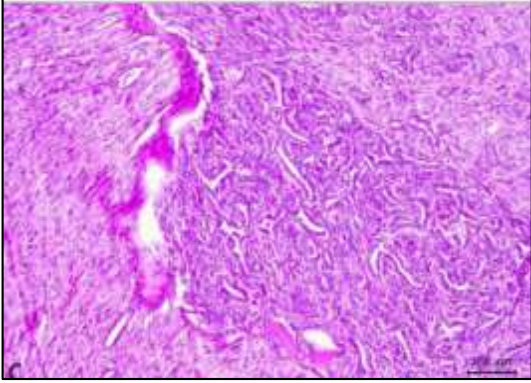
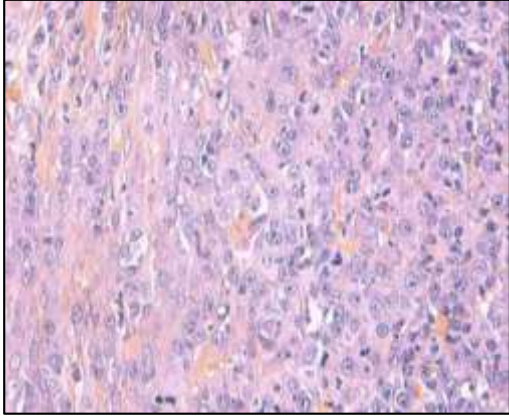

<p style="text-align: center;"><b>Fibroadénome</b></p> <p>C'est un mélange de cellules épithéliales et des fibroblastes du stroma avec parfois des cellules myoépithéliales rendant la différenciation des adénomes plus difficile</p>	 <p><b>Figure 9:</b> Fibroadénome (Lee <i>et al.</i>, 2007).</p>
<p style="text-align: center;"><b>Tumeur bénigne mixte</b></p> <p>Composée de cellules d'aspect bénin, ressemblant à des composés épithéliaux et cellules du stroma ayant produit du cartilage ou de l'os ou du tissu adipeux avec éventuellement du tissu fibreux</p>	 <p><b>Figure 10:</b> Tumeur bénigne mixte (Patel <i>et al.</i>, 2019).</p>

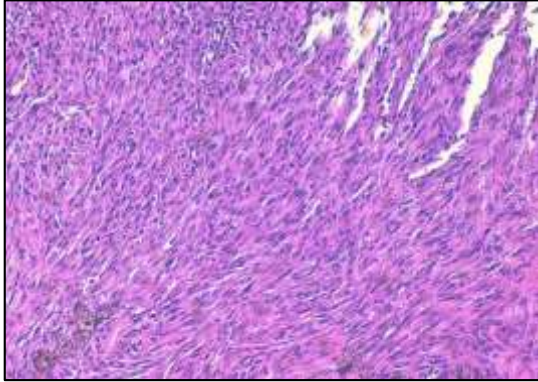
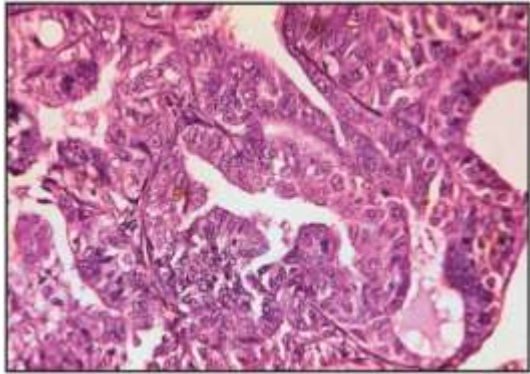
### 3.2.3 Tumeurs malignes

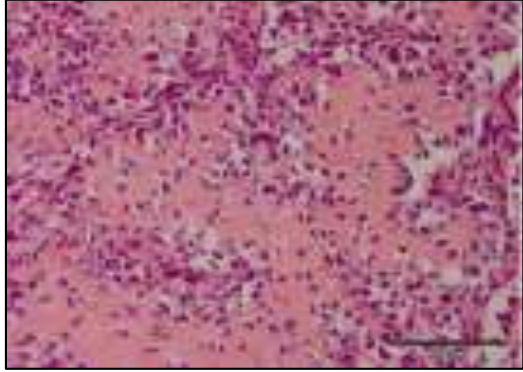
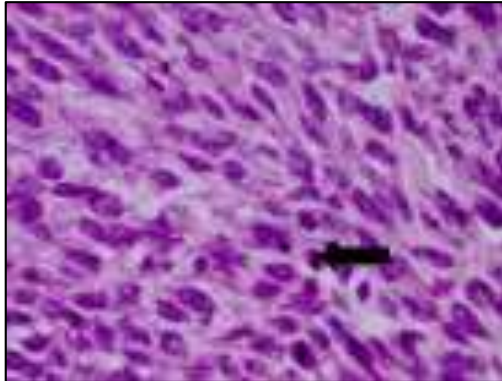
Les tumeurs malignes réunissent les carcinomes et les sarcomes. Les carcinomes sont des tumeurs épithéliales, qui représentent près de 85% des tumeurs mammaires malignes. Dont les adénocarcinomes (tubulopapillaires) qui sont les plus fréquents. Les sarcomes sont des tumeurs mésenchymateuses (Mentiere, 2003).

Le tableau (6) présente les différentes classifications histologiques des tumeurs mammaires malignes.

**Tableau 6** : Classification histologique des tumeurs mammaires malignes (Lagadic et Cohn, 1995 ; Mentiere, 2003).

Type de tumeur (Caractéristiques histologiques)	
Carcinome	
<p><b>Carcinome solide</b></p> <p>Les cellules sont disposées en feuillets et ne possèdent pas de lumière.</p>	 <p><b>Figure 11</b> : Carcinome solide (Patel <i>et al.</i>,2019).</p>
<p><b>Carcinome anaplasique</b></p> <p>Les cellules sont larges et multinucléées, le stroma est collagénique.</p>	 <p><b>Figure 12</b> : Carcinome anaplasique (Patel <i>et al.</i>,2019).</p>
<p><b>Carcinome mucineux</b></p> <p>Les cellules cancéreuses sont entourées d'une substance mucineuse</p>	 <p><b>Figure 13</b>: Carcinome mucineux (Munsef <i>et al.</i>,2017)</p>

<p><b>Carcinome fusiforme</b></p> <p>C'est la cancérisation des cellules myoépithéliales.</p>	 <p><b>Figure 14:</b> Carcinome fusiforme (Munsef <i>et al.</i>,2017).</p>
<p><b>Carcinome canalaire</b></p> <p>Il conserve l'architecture tubulaire originale.</p>	 <p><b>Figure 15:</b> Carcinome canalaire (Toniti1 <i>et al.</i>,2009).</p>
<p><b>Sarcome</b></p>	

<p style="text-align: center;"><b>Ostéosarcome</b></p> <p>Les cellules sont fusiformes à étoilées à ovoïdes, associées à des îlots de tumeur ostéoïde et/ou de formation osseuse.</p>	 <p><b>Figure 16</b> : Ostéosarcome (Dolka1 <i>et al.</i>,2013)</p>
<p style="text-align: center;"><b>Fibrosarcome</b></p> <p>Les cellules sont fusiformes, leurs noyaux sont ovales à allongés. Les cellules néoplasiques ont des bordures indistinctes avec un cytoplasme fibrillaire à très faible quantité .</p>	 <p><b>Figure 17</b> : Fibrosarcome (Dolka1 <i>et al.</i>,2013)</p>

#### 4 Grade histo-pronostique

Le grade histo-pronostique est un système de classification de Scarff, Bloom et Richardson (sbr), applicable uniquement sur les carcinomes. C'est un grade qui nous permet d'évaluer l'agressivité de la tumeur par un pathologiste (Genestie *et al.*,1998).

##### 4.1 Grade Scarff Bloom et Richardson

La classification de SBR repose sur l'évaluation de trois critères tumoraux, pour lesquels on attribue un score de 1 à 3. Ces critères sont la différenciation des structures tubulo-glandulaire, atypies cyto-nucléaires et mitoses (Genestie *et al.*,1998).

Le grade SBR est calculé en additionnant les scores attribués aux trois critères, comme indiqué dans le tableau (annexe 01). C'est une méthode qui permet de déterminer le grade de la tumeur en fonction du score obtenu, un score total de 3 à 5 indique une tumeur bien

différenciée de bas grade (grade I), 6 à 7 correspond à une tumeur de grade intermédiaire modérément différenciée (grade II), tandis qu'un score de 8 à 9 désigne une tumeur de haut grade, indifférenciée (grade III). Un grade élevé suggère une tumeur plus agressive avec un pronostic moins favorable. Le grade SBR est également corrélé positivement à la taille de la tumeur et au stade TNM (annexe 01) (Genestie *et al.*, 1998).

## **5 Traitement des tumeurs mammaires chez la chienne**

La médecine vétérinaire est actuellement en retard de 10 à 20 ans par rapport à la médecine humaine, en ce qui concerne les avancées thérapeutiques contre le cancer.

Cette situation s'explique principalement par des contraintes financières et éthiques, ce qui fait que la chimiothérapie est rarement choisie par les propriétaires d'animaux. Il est important de noter que trois années de survie chez un chien équivaut approximativement à 12 années chez un être humain (Dutra *et al.*, 2004).

Le traitement des TMC dépend de plusieurs facteurs tel que les types de tumeurs, leurs stades de développement, la présence de métastases et sur l'état général de santé (Dutra *et al.*, 2004).

### **5.1 Traitement chirurgical**

L'exérèse chirurgicale constitue le traitement le plus communément pratiqué pour la grande majorité des TMC. Plusieurs types d'exérèse peuvent être effectuées sur les tumeurs mammaires chez la Chienne : la mammectomie locale, la mammectomie unilatérale complète, la mammectomie bilatérale complète et la mammectomie régionale (Doliger, 2003).

### **5.2 Traitement médical**

Bien que le traitement le plus courant des TMC soit l'acte chirurgical, il existe certains cas où la chirurgie ne peut pas remédier, et où le vétérinaire doit recourir à d'autres alternatives médicales et ce dans le cas des : carcinomes inflammatoires et des métastases à distance (Novosaid, 2003).

#### **5.2.1 Radiothérapie**

La radiothérapie est conseillée pour diminuer la taille des tumeurs très volumineuses, détruire les cellules malignes en cas de doute sur une infiltration cancéreuse, diminuer le taux de récurrence locale en post opératoire, traitement palliatif des carcinomes inflammatoires et elle constitue une partie du traitement des sarcomes (Novosaid, 2003 ; Sorénmo 2003).

### 5.2.2 Chimiothérapie

L'objectif de la chimiothérapie est de réduire le risque de récurrence et de formation des métastases en éliminant les cellules tumorales disséminées dans l'organisme.

Les molécules de choix sont la doxorubicine (Adriamycine<sup>TM</sup>) (par voie intraveineuse stricte toutes les trois semaines, pour 4 à 6 cycles). La mitoxantrone (Novantrone<sup>TM</sup>) ou le 5-fluorouracile(5-FU) 5-fluorouracile (Doliger,2003).

En raison de la grande similitude entre les TMC et les tumeurs mammaires de l'humain (TMH), les biomarqueurs des TMH sont également détectables dans le cas des TMC (Doliger, 2003).

## 1 Notion sur les marqueurs

Les marqueurs tumoraux sont des molécules produites en réponse au cancer par des cellules cancéreuses ou saines de l'organisme. Ils peuvent être détectés dans le sang, les urines, les selles ou les tissus tumoraux. La plupart des marqueurs tumoraux sont des protéines et sont associés à certains types de cancer. Bien qu'il n'existe pas de marqueur universel pour tous les cancers, ils sont utilisés pour le diagnostic, le pronostic, le choix du traitement et l'évaluation de la réponse au traitement (Doliger, 2003).

## 2 Différents marqueurs utilisés dans l'identification des tumeurs mammaires

Dans le cas des tumeurs mammaires on utilise les marqueurs suivants :

- Récepteurs aux œstrogènes (RE)
- Récepteurs à la progestérone (RP)
- HER2 (récepteur du facteur de croissance épidermique 2)
- Ki-67 (indicateur de la prolifération cellulaire)
- P63 (protéine suppresseur de tumeur 63) (Illera *et al.*, 2006).

Il est important de noter que la sélection des marqueurs tumoraux en immunohistochimie peut varier en fonction des caractéristiques spécifiques de chaque tumeur et des protocoles de laboratoire. Les marqueurs tumoraux supplémentaires, tels que la p53, le récepteur des androgènes, le récepteur des cellules souches (CD44/CD24), peuvent également être évalués en fonction des besoins cliniques et de la classification tumorale (Illera *et al.*, 2006 ; Vance *et al.*, 2009).

### 2.1 Récepteurs hormonaux ER et PR

La plupart des cancers du sein sont classés comme étant hormono-dépendants. Les cellules cancéreuses expriment des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone, et leur prolifération est stimulée en présence d'hormones (Clarke *et al.*, 2004).

On les retrouve au niveau de :

- Epithélium des canaux lactifères
- Epithélium des lobules mammaires
- Compartiment épithélial des cellules tumorales (certaines ne présentent pas ces récepteurs, elles sont dites ER et PR négatives) (Zuccari *et al*,2004).

Rappel : dans les sarcomes, les cellules, n'étant pas d'origine épithéliale, n'expriment pas ces récepteurs (Zuccari *et al*,2004).

### 2.1.1 Rôle des récepteurs aux œstrogènes et la progestérone

Les récepteurs aux œstrogènes et la progestérone ont un mécanisme d'action physiologique mais aussi un mécanisme d'action diffère de celui-ci quand il y'a une atteinte tumorale (tableau 7), (De Las Mulas *et al*,2005).

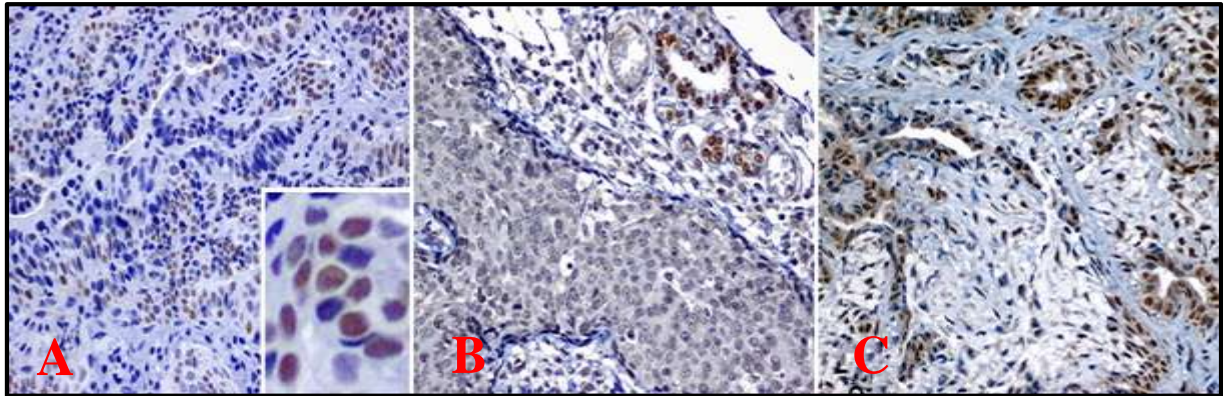
**Tableau 7** : Mécanismes d'action de ER et PR au niveau de la cellule tumorale comparé à la cellule saine (De Las Mulas *et al*,2005).

<b>Mécanismes d'action d'ER et PR dans une cellule saine.</b>	<b>Mécanismes d'action de ER et PR dans une cellule tumorale.</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Les récepteurs ER et PR dans les cellules saines du sein régulent la croissance et le développement du tissu mammaire.</b></li> <li>• <b>Les hormones se lient aux récepteurs ER et PR, formant un complexe récepteur-hormone.</b></li> <li>• <b>Le complexe récepteur-hormone se déplace dans le noyau cellulaire et se fixe à l'ADN aux sites spécifiques appelés HRE.</b></li> <li>• <b>Cela active la transcription des gènes cibles, régulant la croissance</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les cellules tumorales peuvent présenter une surexpression, une amplification ou des altérations génétiques des récepteurs.</li> <li>• Ces changements peuvent rendre les cellules tumorales hypersensibles aux hormones ou induire une prolifération indépendante des hormones.</li> <li>• Cibler spécifiquement les récepteurs ER et PR est essentiel dans le traitement du cancer du sein hormono-dépendant.</li> <li>• Des stratégies thérapeutiques peuvent moduler ou bloquer les effets des hormones sur la croissance tumorale</li> </ul>

### 2.1.2 Immunohistochimie sur les récepteurs hormonaux

Un marquage nucléaire en immunohistochimie pour les récepteurs ER et PR est uniquement observé dans le noyau des cellules épithéliales tumorales et normales, et non dans le noyau des cellules myoépithéliales, cartilagineuses, fusiformes et osseuses dans les tumeurs mixtes et complexes. Le marquage peut être très différent d'une tumeur à une autre et au sein d'une même tumeur (De Las Mulas *et al.*,2005). La méthode de comptage total d'Allred (Allred *et al.*,1998) est recommandée en médecine vétérinaire (Camacho *et al.*,2014). Il s'agit d'additionner la note donnant le pourcentage de cellules marquées positivement (note sur 5) et celle qui quantifie l'intensité du marquage (note sur 3). Le score total est une note sur 8. Un résultat sera positif si la note totale est supérieure ou égale à 3 sur 8 (annexe 02).

- Le score Allred (score total) est la somme du score du pourcentage de cellules marquées positivement (0 = pas de marquage, 1 = marquage dans <1% des cellules, 2 = 1% à 10%, 3 = 10% à 33 %, 4 = 33 % à 66 %, et 5 = 66 % à 100 %) et un score pour l'intensité du marquage (absent = 0, faible = 1, modéré = 2 et fort = 3). Les scores possibles vont de 0 ou 2 à 8.
- Le score H est la somme du pourcentage de cellules faiblement positives, du pourcentage de cellules modérément positives multiplié par 2 et du pourcentage de cellules fortement positives multiplié par 3. Cela donne une plage de scores de 0 à 300.
- Le score Quick est la somme du score du pourcentage de cellules étiquetées (pas de marquage = 0, marquage dans 1% à 25% des cellules = 1, 26% à 50% = 2, 51% à 75% = 3, et 76 % à 100 % = 4) et le score d'intensité (absent = 0, faible = 1, modéré = 2 et fort = 3) (figure 18) (Allred *et al.*,1998)



**Figure 18:** Tumeur mammaire canine. (A) Immunohistochimie pour ER d'un carcinome simple tubulo-papillaire. (B) Immunohistochimie d'un carcinome solide simple du récepteur de la progestérone (PR). (C) Immunohistochimie d'un carcinome complexe pour PR (Sanchez-Cespedes *et al.*,2011).

### 2.1.3 Valeur pronostique et diagnostique des récepteurs dans le cas des tumeurs mammaires canines

Comme chez l'humain, la corrélation entre l'expression des récepteurs hormonaux et le diagnostic/pronostic du patient est la même chez l'espèce canine (tableau 8) (Sartin *et al.*,1992).

**Tableau 8 :** Survie en fonction du statut du récepteur à l'œstrogène (ER) et à la progestérone (PR) (Sartin *et al.*,1992).

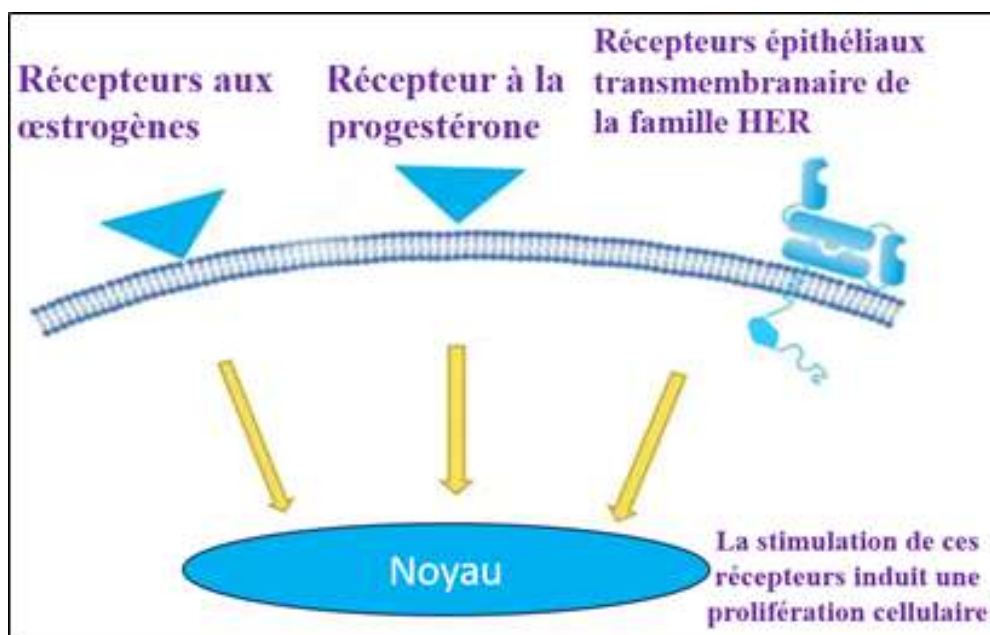
Statut en récepteurs	Survie
ER+ et PR-	Longue (environ 2 ans)
ER+ et PR+	Longue (environ 3 ans)
ER- et PR+	Intermédiaire (environ 1 an : entre 5 mois et 2 ans)
ER- et PR-	Courte (< 2mois)

En médecine vétérinaire, des études ont montré que l'expression de l'un ou des deux récepteurs était plus fréquente dans les tumeurs bénignes et qu'en général cette expression était liée à un pronostic plus favorable (Chang *et al.*, 2009). Dans d'autres études l'expression des hormones stéroïdiennes étaient plus élevée chez les patients atteints de tumeurs malignes mais au même temps les tumeurs ER- Et PR- avaient le pire facteur pronostic de tous (Nieto *et al.*, 2000).

## 2.2 Biomarqueur HER2

HER2 (Humain Epidermal Growth Factor Receptor 2) est un récepteur transmembranaire qui fait partie d'une famille de récepteurs HER (HER1, HER2, HER3, HER4). Sa fonction est d'activer un signal intracellulaire en réponse à une activation extracellulaire. Le récepteur HER2 est codé par le gène ERBB2 et est impliqué dans le contrôle de la prolifération cellulaire normale. Cependant, certaines altérations génétiques peuvent entraîner une surexpression du récepteur HER2, cette surexpression est associée à une croissance et une division cellulaire accrues comme c'est le cas dans les TMC (figure 19) (Lewis *et al.*, 2005).

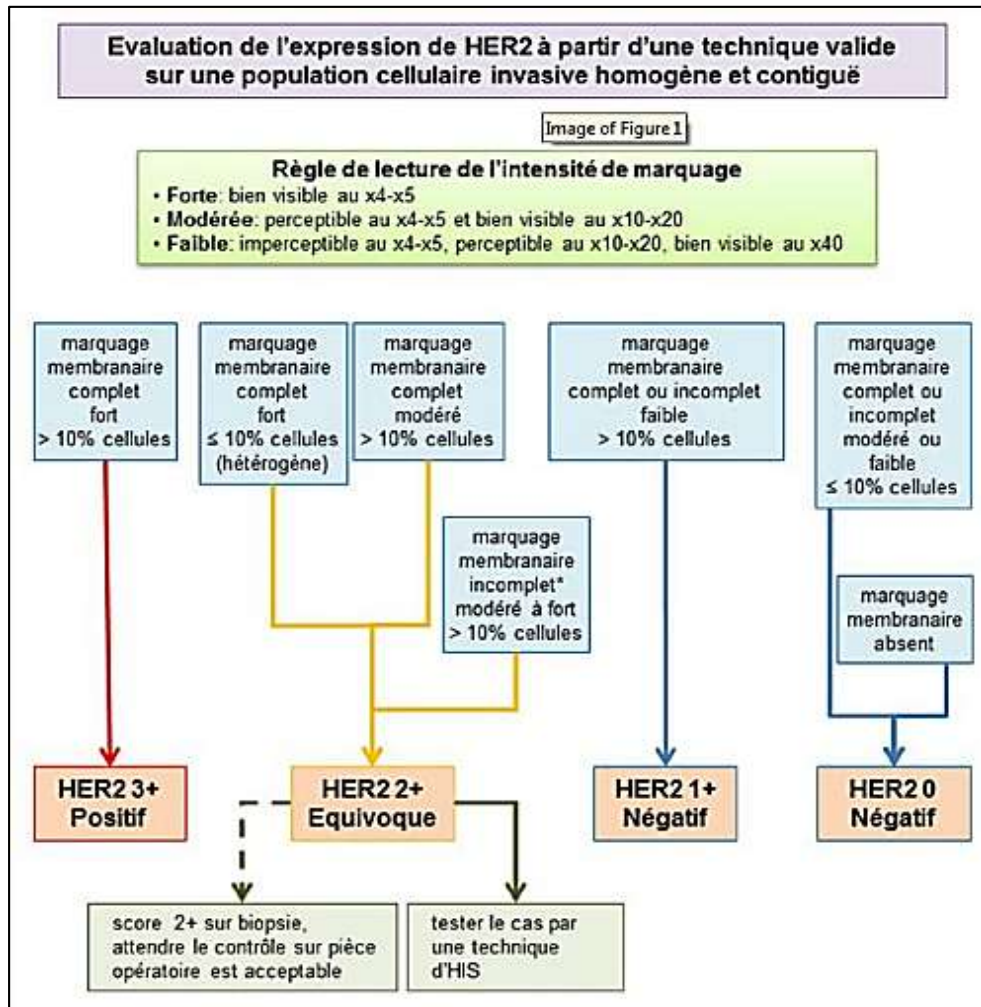
Le récepteur HER2 est présent sur les cellules normales où il joue un rôle dans la régulation de la croissance de ces cellules. Dans le cancer du sein humain, l'expression de HER2 est couramment utilisée comme facteur pronostique et prédictif (Jimenez *et al.*, 2000).



**Figure 19** : Mode d'action HER2, PR et ER au niveau de la cellule (Lewis *et al.*, 2005).

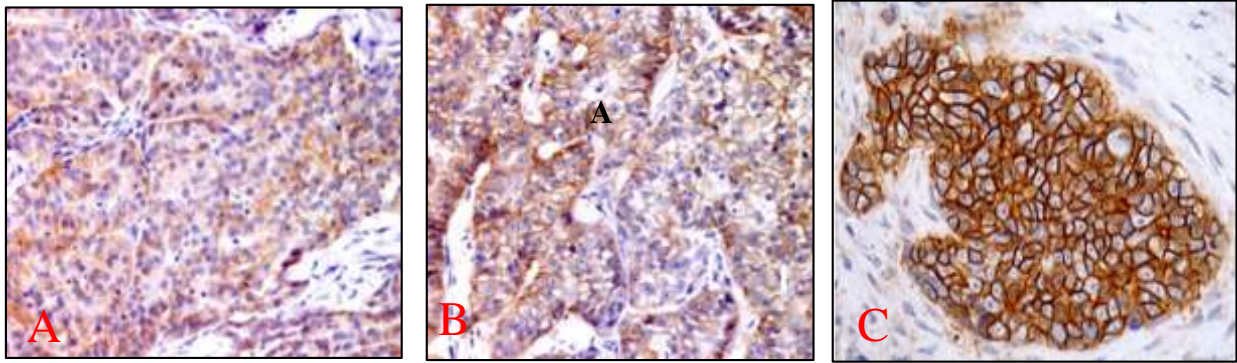
**2.2.1 Valeur pronostique et diagnostique de HER2 dans le cas des tumeurs mammaires canines**

Comme chez l'humain, la corrélation entre l'expression des récepteurs du HER2 et le diagnostic/pronostic du patient est la même chez l'espèce canine (figure 20) (Lewis *et al.*, 2005).



**Figure 20:** Interprétation, scores et la surexpression de la protéine HER2 déterminés par immunohistochimie (Penault et laurcat, 2015).

Le marquage de HER2 en immunohistochimie est représenté dans la figure ci-dessous (figure 21) :



**Figure 21:** Glande mammaire d'une chienne atteinte d'un carcinome solide simple, traité par immunohistochimie pour HER2 (Seol H *et al.*, 2012). (A) Présence d'une coloration HER2 membranaire faible et incomplète (score 1+). (B) Coloration HER2 membranaire complète modérée et hétérogène dans plus de 10 % des cellules néoplasiques (score 2+). (C) Coloration membranaire forte, complète et homogène (motif en grillage) dans plus de 30 % des cellules néoplasiques (score 3+) (Seol H *et al.*, 2012).

### 2.3 Biomarqueur Ki-67

Le Ki-67 est un antigène nucléaire exprimé dans les phases G1, S, G2 et M du cycle de division cellulaire, mais pas en G0. Le taux de cellules exprimant l'antigène est établi par immunohistochimie. Il est uniquement détecté dans les cellules en division, jamais dans les cellules ayant quitté temporairement ou définitivement le cycle cellulaire. Ceci en fait donc un marqueur hautement spécifique de la prolifération cellulaire (Tsuda *et al.*, 2000).

#### 2.3.1 Valeur pronostique et diagnostique

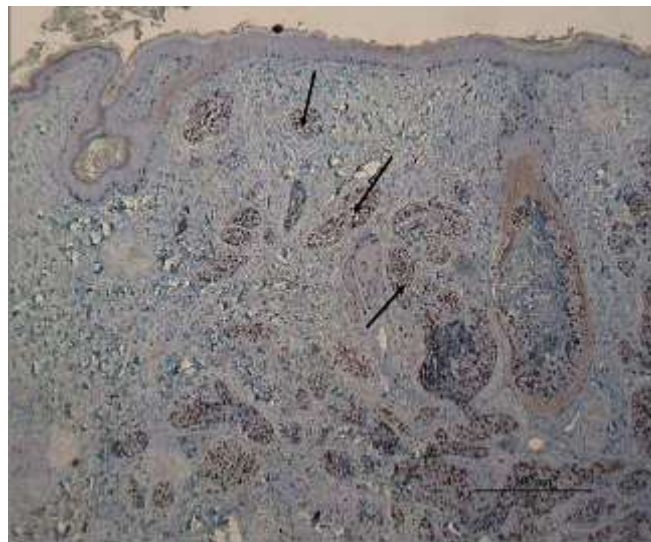
Différentes études ont été menées, chez la chienne, afin de quantifier par immunohistochimie cette protéine. Le but de ces travaux était de préciser la valeur pronostique de l'index Ki-67 en recherchant de possibles corrélations avec des paramètres cliniques et histologiques (Pena *et al.*, 1998 et Nieto *et al.*, 2000).

Des études menées par Pena *et al.* (1998) et Nieto *et al.* (2000), ont comparé le taux du Ki-67 et le comportement post-chirurgical des TMC. Ils ont montré que plus l'index de prolifération Ki-67 augmente, plus l'apparition de métastases dans le suivi post-opératoire est probable (Tableau 9).

**Tableau 9:** Pourcentage de chiennes ayant développé des métastases durant le suivi post chirurgical en fonction de l'index Ki-67 (Pena *et al.*,1998 et Nieto *et al.*,2000).

Index Ki-67	Probabilité d'apparition de métastases durant le suivi post chirurgical
>24%	99%
Entre 11,5% et 24%	25%
<11,5%	5%

Le marquage de KI67 en immunohistochimie est représenté dans la figure ci-dessous (figure22)



**Figure 22 :** Immunomarquage Ki-67 réalisé sur une chienne atteinte de carcinome. Les flèches indiquent 3 sites de marquage de Ki-67 (Nieto *et al.*,2000).

### 3 Diagnostiquer la présence de cellules myoépithéliales par immunohistochimie

La protéine p63 partage une homologie avec la protéine p53 codée par le gène suppresseur de tumeur Trp53 qui a une importante fonction dans la prolifération cellulaire, la différenciation, la senescence et l'adhérence des cellules épithéliales stratifiées. La protéine p63 est également un marqueur spécifique des cellules myoépithéliales ; elle est usuellement associée à l'histogenèse de tumeurs mammaires canines complexes et mixtes. Chez la femme, la protéine p63 n'est pas seulement exprimée par les cellules myoépithéliales mais aussi par les cellules épithéliales des tumeurs du sein malignes (Gama *et al.*,2008).

Chez la chienne, la disparition de l'intégrité de la couche de cellules myoépithéliales ne permet pas de poser un diagnostic définitif de tumeur mammaire maligne car elle est observée

dans les carcinomes in situ et invasifs. L'utilisation de p63 est recommandée pour asseoir l'existence d'une infiltration du stroma. Les carcinomes simples ne présentent pas de prolifération de cellules myoépithéliales (Pena *et al.*,2014).

### 3.1 Identification de la P63 grâce à l'intensité du marquage

En médecine humaine, on qualifie le test de positif quand plus de 10% des cellules sont marquées et que la localisation cellulaire de l'antigène est correcte, les mêmes critères sont utilisés en médecine vétérinaire (tableau10) (Gama *et al.*,2008).

**Tableau 10:** Intensité du marquage de la P63 en immunohistochimie selon le type cellulaire (Pena *et al.*,2014).

Anticorps	Myofibroblastes	Vaisseaux	Cellules des tumeurs épithéliales
P63	Négatif	Négatif	Rare

## 1 Objectif

L'objectif de notre travail est d'étudier la classification histologique des tumeurs mammaires canines grâce aux techniques de l'histopathologie et la classification immunohistochimique afin de poser un diagnostic et d'établir un pronostic de ces pathologies complexes.

## 2 Lieu d'étude et population étudiée

L'étude s'est déroulée durant l'année 2023, sur cinq (05) chiennes atteintes de tumeurs mammaires au niveau de la wilaya d'Alger, elles ont été reçues au niveau de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger (ENSV) où s'est déroulée la première étape de notre étude.

Les chiennes ont été reçues au niveau de l'ENSV pour : Examen clinique + examens complémentaires + opération chirurgicale + étude d'histopathologie au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'école.

La deuxième partie de notre étude s'est déroulée au niveau de l'Hôpital Chahids MAHMOUDI de la wilaya de Tizi-Ouzou, plus précisément, au service d'anatomopathologie pour une étude d'immunohistochimie sur les masses tumorales prélevées durant l'opération à l'ENSV, et ce en travaillant avec des marqueurs tumoraux, qui vont représenter l'élément central de notre étude.

### 3 Matériels et méthode

#### 3.1 Matériels

**Tableau 11:** Matériels, consommable et réactifs.

Consommable	Réactifs	Matériels
Lames	Formol	Automate de déshydratation
Lamelles	Ethanol	Automate d'inclusion
Cassettes	Xylène	Plaque de refroidissement
Gants	Eosine	Microtome
Compressees	Hématoxyline	Bain marie
	Eosine	Plaque chauffante
	Résine (Eukitt)	Etuves
	Eau courante	Microscope optique
	Paraffine	Moules métalliques
	Eau distillée	Bacs de coloration
	Anticorps (HER2 ; P63 ; KI-67 ; PR/ER)	Automate d'immunohistochimie
	Réactifs de l'automate	PT-Link
		Porte lames

### 3.2 Méthode



**Figure 23 :** Protocole expérimental (photo personnelle,2023).

#### 3.2.1 Commémoratifs et anamnèse

Cette partie consiste à récolter les coordonnées du propriétaire du chien : Nom, prénom, numéro de téléphone et adresse. Les renseignements sur l'animal : l'âge, le sexe, la race, les caractéristiques de la robe et le poids. Également, sur le mode de vie ou l'environnement de l'animal à savoir l'habitat, l'alimentation, l'entretien, le traitement, le déparasitage et le calendrier vaccinal.

Il est important de recueillir en détail les informations concernant les caractéristiques de l'animal, son statut hormonal (stérilisé ou non), ses antécédents médicaux et chirurgicaux. Généralement, les chiennes ayant des tumeurs mammaires présentent une apparente bonne santé, excepté celles pour lesquelles le stade de la maladie est avancé(figure24).





**Figure 25** : Examen clinique d'un berger allemand mettant en évidence une masse tumorale inguinale (photo personnelle,2023).



**Figure 26** : Examen clinique d'un staff, mettant en évidence la masse tumorale thoracique (photo personnelle,2023).

### 3.2.3 Examens complémentaires







Une radiographie est demandée afin de confirmer le diagnostic posé et vérifier la présence ou l'absence de métastases (figure 27).



**Figure 27** : Cliché radiologique de métastases pulmonaire chez un berger croisé (cas étudié) (photo personnelle, 2023).

### 3.2.4 Technique chirurgicale

Les cinq chiennes sur lesquelles notre étude s'est basée sont toutes passées au bloc opératoire au niveau du service de chirurgie de l'ENSV pour une exérèse de la masse tumorale mammaire (figure28).

<p>➤ Inciser la peau et les tissus sous-cutanés du côté médial par rapport aux glandes mammaires.</p>	
	
<p>➤ Séparer les tissus cutanés et ligaturer les vaisseaux.</p>	
	
<p>➤ Fermer la peau et mise en place d'un pansement stérile.</p>	
	

**Figure 28** : La technique chirurgicale (photos personnelles, 2023).

### 3.2.5 Étude histopathologique

Durant l'opération chirurgicale, pratiquée par Dr. Zenad, nous avons prélevé la masse tumorale de l'une des chiennes reçues, les tissus prélevés sont mis dans du formaldéhyde afin de préserver sa structure et ses composants cellulaires, puis, sont envoyés au laboratoire d'étude histopathologique (ENSV) pour analyse. L'opérateur s'assure que l'ensemble du tissu tumoral a été correctement retiré et recherche également des signes de propagation éventuelle remarquable à l'œil nu, avant de procéder au prélèvement.

## 4 Méthodologie de l'examen d'histopathologie

### 4.1 Examen macroscopique

24h après l'opération, la masse tumorale fixée, est reçue au niveau du laboratoire d'anapath accompagnée d'informations cliniques pertinentes, telles que la localisation de la lésion et les symptômes du patient (figure29).



**Figure 29:** Masse tumorale de la chienne opérée (photo personnelle,2023)

Accompagnée d'un biologiste, on commence par une observation extérieure de l'échantillon. On examine la taille, la forme et la couleur du tissu, puis on procède à la dissection de l'échantillon pour obtenir la partie spécifique à examiner (lésion tumorale et tissus environnant). Pendant l'examen macroscopique, une description détaillée de l'échantillon est consignée, en incluant les caractéristiques macroscopiques telles que la consistance (molle, ferme, nécrotique, etc.), la présence de lésions visibles à l'œil nu, la couleur, les limites et les rapports avec les structures environnantes, cette description va contribuer à la formulation d'un diagnostic histopathologique plus précis, qui sera complémentaire aux observations microscopiques

- La masse tumorale reçue est disséquée pour obtenir des échantillons à analyser(figure30).



**Figure 30** : Tumeur mammaire après conservation dans du formol à 10 % (photo personnelle,2023).

- Les échantillons disséqués sont placés dans des cassettes(figure31).



**Figure 31** : Les échantillons placés dans les cassettes (photo personnelle,2023).

#### 4.2 Traitement tissulaire

- Le traitement tissulaire se fait par plusieurs étapes grâce à un automate(figure32) (annexe03).



**Figure 32** : Traitement tissulaire avec automate (photo personnelle, 2023).

- Formation de blocs de paraffine à l'aide de paraffine liquide et de moules en inox pour l'enrobage et d'une plaque de refroidissement pour la formation de blocs (figure 33).



**Figure 33** : Enrobage des échantillons et confection de blocs de paraffine (A) Échantillons disposés dans des moules en inox, (B) Plaque de refroidissement (HistoCore Arcaia C) (photo personnelle, 2023).

- Réalisation de coupes histologiques à l'aide d'un microtome (figure 34).



**Figure 34** : Réalisation des coupes histologiques avec un microtome. / Microtome (LEICA2235) (photo personnelle, 2023).

- Les coupes sont mises dans un bain marie puis séchées sur une plaque chauffante (figure 35).



**Figure 35** : Bain marie et plaque chauffante (photo personnelle, 2023).

- Les lames sont placées dans l'étuve pour une durée de 1H30 à une température d'environ 71° (figure 36).



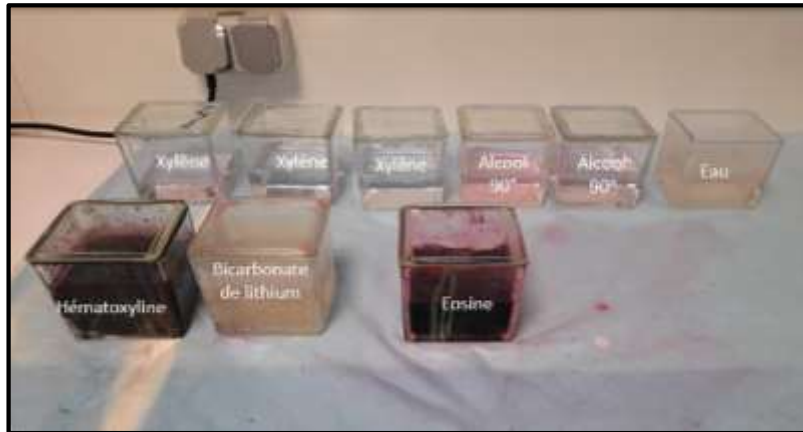
**Figure 36** : Etuve (photo personnelle, 2023)

### 4.3 Coloration à l'hématoxyline-éosine

La coloration à l'hématoxyline-éosine (H&E) est l'une des techniques de coloration histologique les plus couramment utilisées en pathologie pour examiner les échantillons de tissus sous microscope optique. Les étapes de cette coloration sont représentées ci-dessous (Tableau 2). Cette coloration permet de visualiser la structure et la morphologie des cellules et des tissus, ce qui est essentiel pour le diagnostic histopathologique.

En combinant l'hématoxyline et l'éosine, la coloration H&E permet aux pathologistes de visualiser différentes caractéristiques des échantillons de tissus, telles que la taille, la forme et la densité des cellules, la présence d'inclusions cytoplasmiques, les réactions inflammatoires, les changements dégénératifs, les altérations néoplasiques et d'autres anomalies cellulaires (annexe 04).

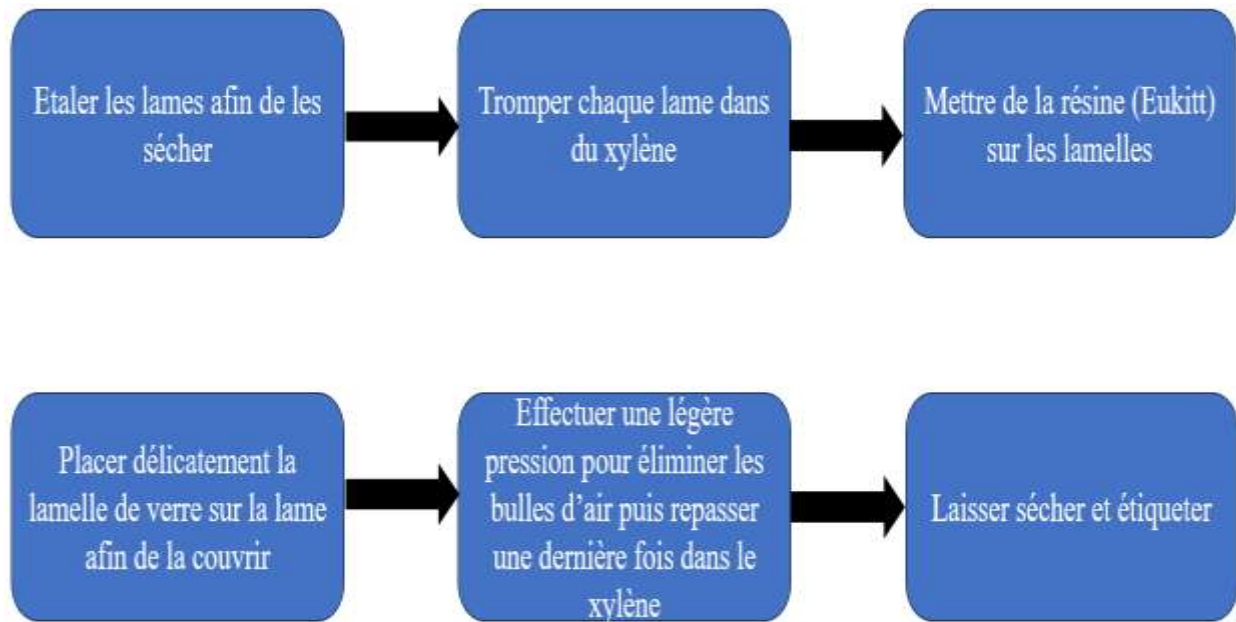
Nous avons réalisé cette étape principale de l'IHC au niveau de l'Hôpital MAHMOUDI (Figure37).



**Figure 37** : Coloration hématoxyline-éosine (photo personnelle,2023).

#### 4.4 Montage des lames

Cette étape consiste à la préparation des échantillons tissulaires sur des lames de verre, afin de pouvoir les examiner au microscope. Elle est cruciale pour nous permettre d'observer notre échantillon via microscope (Figure 38).



**Figure 38** : Etapes du montage des lames (photo personnelle2023).

#### 4.5 Première observation au microscope et interprétation des coupes histologiques

L'observation microscopique des coupes nous permet la visualisation des structures cellulaires telles que les noyaux, les organites, les membranes, les vaisseaux sanguins, les fibres de collagènes et d'autres composantes cellulaires, afin de confirmer la présence de tumeur, d'identifier le degré de différenciation de cellules tumorales, de déterminer la nature de la lésion tumorale et son extension.

Nous avons réalisé cette étape au niveau du service d'anatomopathologie de l'hôpital en présence de deux médecins pathologistes : Dr. Lakabi et Dr. Namane.

### 5 Immunohistochimie

Après avoir effectué l'observation sous microscope, on passe à l'étude immunohistochimique, où l'on va cibler les molécules suivantes : HER2 ; PR/ER et le Ki-67

Durant cette étape :

- On reprend les blocs sur lesquels on a réalisé l'étude histopathologique.
- On réalise des coupes histologiques (comme expliqué précédemment) mais sur des lames spéciales à cette étude qu'on appelle lames silanisées.
- On les conserve dans l'étuve pendant 1h30.
- On prépare les réactifs ainsi que les enzymes nécessaires sur les portoirs spéciaux de l'automate d'immunohistochimie (figure 39).
- On transfère ces lames dans l'automate d'immunohistochimie afin qu'elles soient scannées et enregistrées par l'ordinateur relié à l'automate en définissant quel réactif sera utilisé pour chaque lame suivi de son protocole spécifique.
- Après observation d'absence de panne signalé par l'automate, l'immunohistochimie débute.
- Une fois que l'immunohistochimie est terminée, les lames sont retirées, mises dans un bain d'alcool, et montées afin que la lecture des résultats se fasse sur un microscope.



**Figure 39** : Automate de l'immunohistochimie (photo personnelle, 2023).

### 5.1 Immunohistochimie manuelle

Les étapes de l'immunohistochimie manuelle :

- Préparer une solution de démasquage à pH spécifique aux marqueurs utilisés par la suite (pH=6, pH=9).
- Préchauffer les solutions de démasquage dans un appareil (PT-Link), le temps est déterminé selon le Ph, de 20 à 60 min à 95°C - 98°C.

- Une fois que la solution ait atteint la température voulue, les lames sont retirées de l'étuve et mise dans la solution de démasquage pour 20 min.
- Sortir les lames de solution du démasquage et les mettre dans du Wach Buffer (B-Wach) pendant 5 min.
- Préparer la paillasse, l'humidifier et déposer les lames dessus après les avoir séchées.
- Délimiter la coupe sur la lame avec un stylo délimitateur (hydrophobe Pap Pen).
- Déposer 100µl de Réactif bloquant la peroxydase FLEX (RTU) sur la zone délimitée, couvrir et laisser 5 min avant de procéder à un rinçage rapide avec du B-Wach.
- Mettre 100µl de l'anticorps (marqueur Ki-67) sur la lame, recouvrir et laisser 30 min ensuite rincer rapidement avec du B-Wach.
- Rajouter 100µl de l'anticorps secondaire HRP (*horseradish peroxidase/ peroxydase de raifort*), recouvrir laisser 20 min.
- Procéder à un rinçage rapide ensuite un laisser dans le B-Wach pendant 5 min.

## 5.2 Deuxième observation au microscope

Cette deuxième observation est différente de la première car cette technique nous permet de détecter et de visualiser spécifiquement des protéines ou des antigènes dans les tissus biologiques.

Durant cette observation, on va pouvoir :

- Déterminer les sous-types de TMC en détectant l'expression de certains marqueurs hormonaux et de protéines spécifiques dans les cellules tumorales. La présence ou l'absence de ces marqueurs permet de classer les cancers du sein en sous-types distincts, tels que les cancers du sein hormonodépendants (récepteurs positifs) ou les cancers du sein HER2 positifs.
- Pronostic et prédiction de la réponse au traitement : L'expression des marqueurs hormonaux et du récepteur HER2 est également utilisée pour évaluer le pronostic des TMC et prédire la réponse au traitement.
- Évaluation de la prolifération tumorale : L'IHC permet également d'évaluer la prolifération tumorale en mesurant l'expression du marqueur Ki-67. Un taux élevé de Ki-67 est associé à une croissance tumorale plus rapide et à un pronostic potentiellement moins favorable.

## 1 Résultats

### 1.1 Résultats de la première observation (Histopathologie)

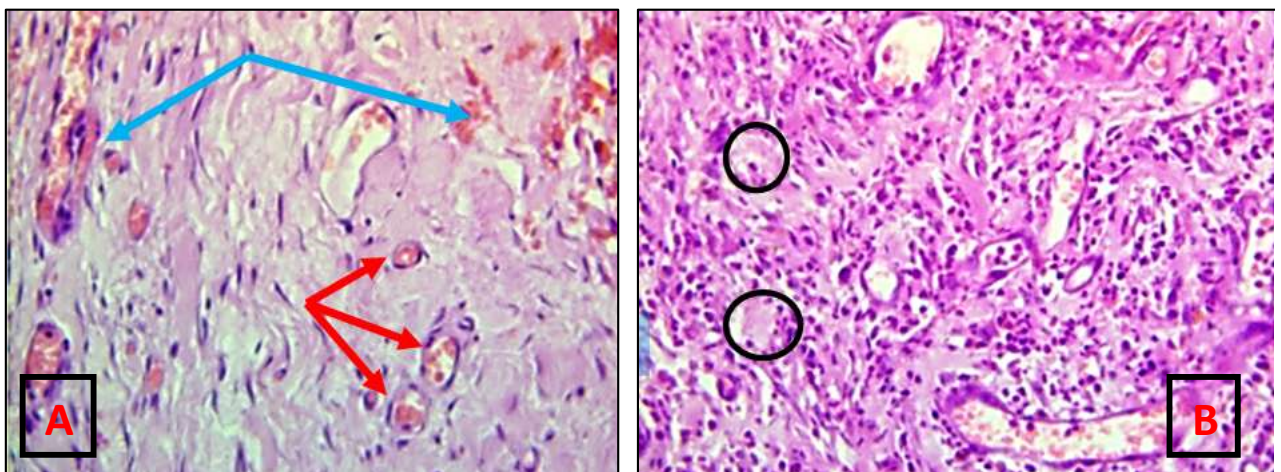
Après avoir effectué une première observation sous microscope optique sur les lames des 5 cas de chiennes atteintes de tumeurs mammaires, les résultats obtenus sont :

- 3 cas de carcinomes tubulaires.
- 1 cas d'un adénome canalaire.
- 1 cas de carcinome canalaire infiltrant.

#### 1.1.1 Carcinomes tubulaires

Les lames ont été observées au microscope optique après coloration à l'hématoxyline-éosine, dans 3 cas des chiennes examinées, il s'agit de carcinomes tubulaires. Les résultats ont effectivement montré l'existence de tissus tumoraux.

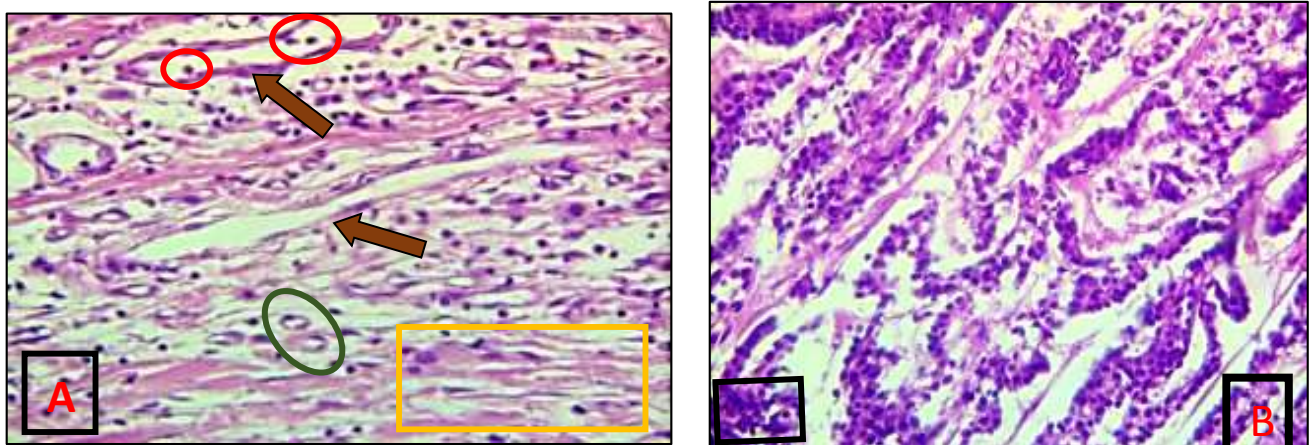
Après l'observation microscopique des masses tumorales qui appartiennent aux trois chiennes, nous avons remarqué qu'elles présentent toutes un seul type appelé « **carcinome tubulaire** », où l'on a une prolifération massive des tubules et les cellules sont de morphologie variable avec un cytoplasme acidophile, les noyaux ont des formes différentes et à chromatine dense, avec une activité mitotique élevée, et un stroma qui est constitué d'un tissu conjonctif très vascularisé avec des foyers hémorragiques et une atypie cellulaire modérée (figure 40).



**Figure 40** : Coupe histologique d'une tumeur mammaire de type « carcinome tubulaire » observée sus microscope optique (HEX400) (photos personnelles, 2023). (A) Le stroma conjonctif, foyers hémorragiques (flèche bleue), vaisseaux sanguins (flèche rouge). (B) mise en évidence des lobules de la glande mammaire, prolifération des tubules (cercle noir).

### 1.1.2 Adénomes canaux

La suite des examens microscopiques sur les autres tumeurs a révélé un deuxième type appelé « **adénome canalaire** » retrouvé chez une chiennes (figure 40, A, B), qui se caractérise par la présence de cellules épithéliales de tailles uniformes avec des noyaux ronds à ovales et hyperchromatiques, ainsi qu'une dilatation des conduits lobulaires mais aussi absence d'anisocytose. Le stroma montre une quantité limitée en tissus conjonctifs et un taux faible de mitoses (figure 40, A), mais également l'absence de formation de nouveaux vaisseaux sanguins ainsi que de foyers hémorragique. Par contre quelques zones de nécrose sont présentes (figure40, B).



**Figure 41** : Coupe histologique d'une TMC de type « adénome canalaire ». (A) un parenchyme mammaire montrant des canalicules lobulaires (cercle vert), un stroma (cadre orange), conduit lobulaire en fonte (flèche marron), débris kératiniques (cercle rouge). (B) présence de nécroses (carré noir) (x400) (photos personnelles, 2023).

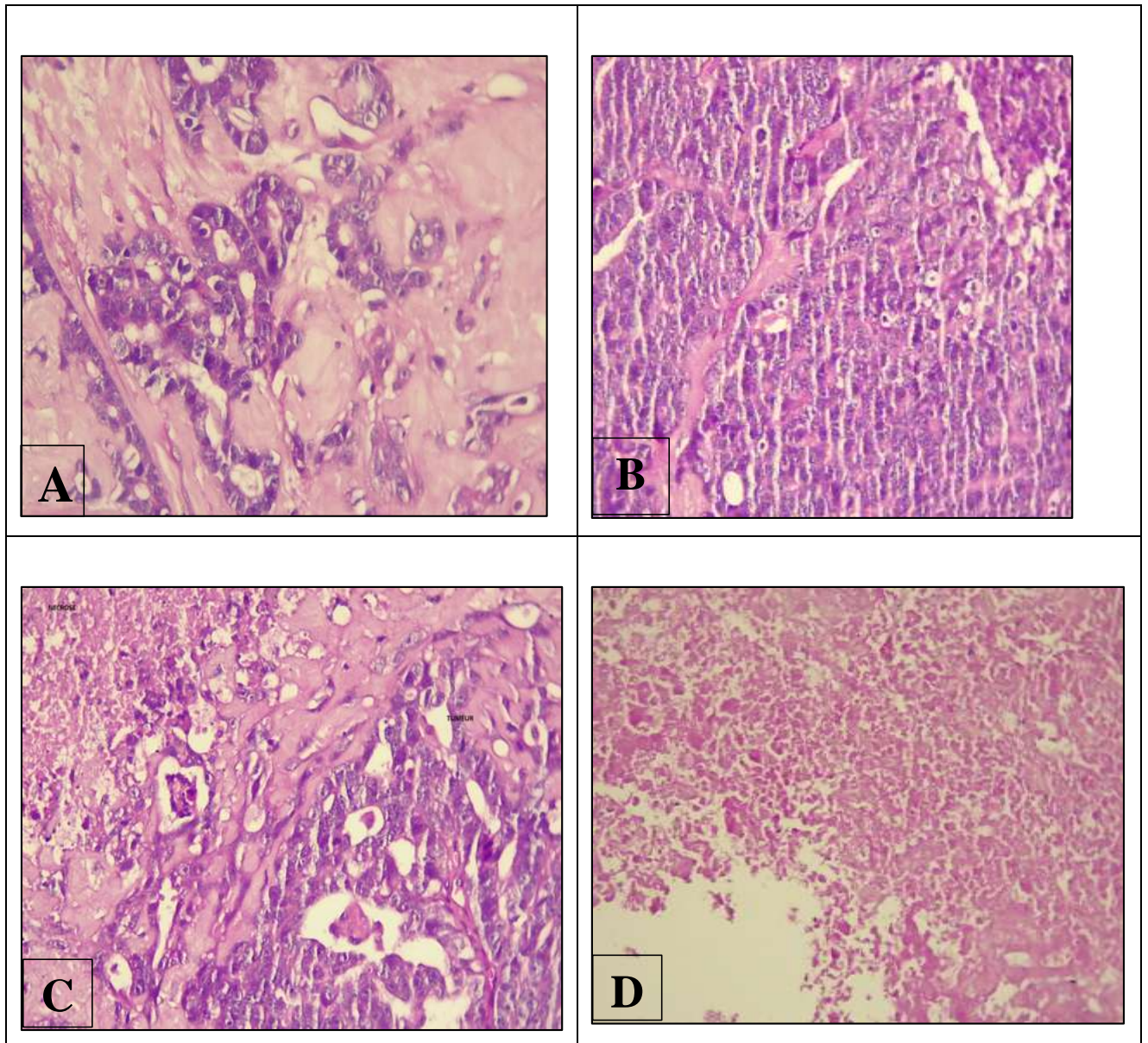
### 1.1.3 Carcinome canalaire infiltrant

Parmi les chiennes opérées, une chienne présentait une tumeur mammaire de type « carcinomes canalaire infiltrant ». Ce type tumoral est un néoplasme présentant une différenciation en canaux interlobulaires .

Ce type de carcinome est caractérisé par la présence de prolifération tumorale maligne de nature carcinomateuse invasive, organisée en glandes.

Les cellules tumorales sont cubocylindrique à cytoplasme éosinophile et noyaux ronds à ovales hyperchromatiques, nucléolés, le stroma est fibreux peu inflammatoire (A). En balayant plusieurs champs, on constate des anisocaryoses marquées et un index mitotique élevé (B). Notre tumeur est organisée en glandes qui ont fusionnées avec des lumières ouvertes, c'est ce

qui caractérise notre tumeur et qui la différencie de la nécrose (C). Dans notre échantillon, on observe la présence de nécrose, ceci est dû à la destruction de cellules tumorales à cause d'une inflammation, c'est des cellules tumorales non vascularisées, non nourries (figure 42) (après le traitement, c'est l'effet de la chimiothérapie) (D).



**Figure 42** : Différents champs du carcinome canalaire infiltrant d'une chienne observée sous microscope optique. A : Prolifération tumorale, B : Anisocaryose tumorale marquée, C : Tumeur nécrosée, D : Nécrose bien visible (photos personnelles, 2023).

## 1.2 Résultats de la deuxième observation (Immunohistochimie)

Notre étude immunohistochimique s'est déroulée au niveau de l'hôpital Chahids MAHMOUDI, au laboratoire d'anatomopathologie, avec l'aide de deux médecins spécialistes.

Le principe de cette étape est de réaliser les scorings des principaux marqueurs :HER2, RP/ER, KI67 et P63 afin de réaliser un profil immunohistochimique du type : carcinome canalaire invasif qui va permettre de poser un diagnostic plus précis, un pronostic et l'orientation thérapeutique ,

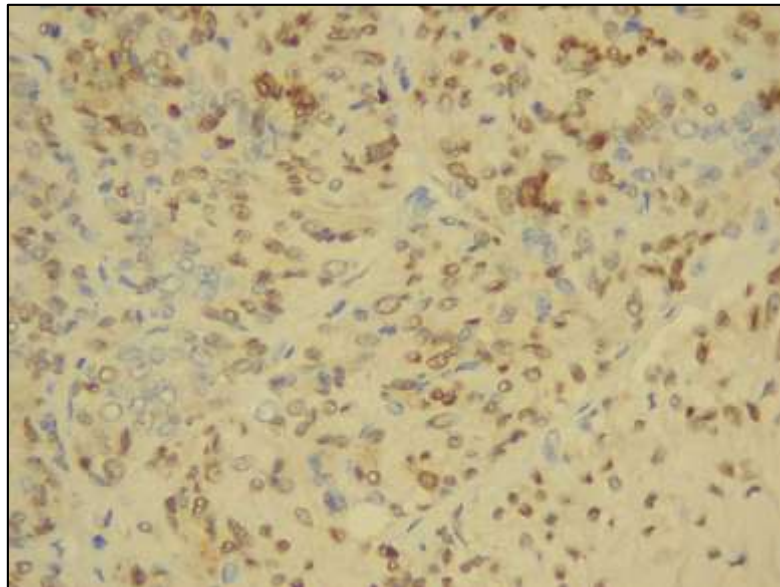
### 1.2.1 Récepteurs hormonaux PR, ER

Nos résultats ont montré que notre carcinome est hormonodépendant.

#### 1.2.1.1 Récepteurs à la progestérone (RP) :

- Pourcentage des cellules positives : 55% = 4
- Intensité du marquage : Moderé = 2
- Score d'Allred : 6 (4+2)

Comme le score est de 6, donc la tumeur est RP+ (figure 43).

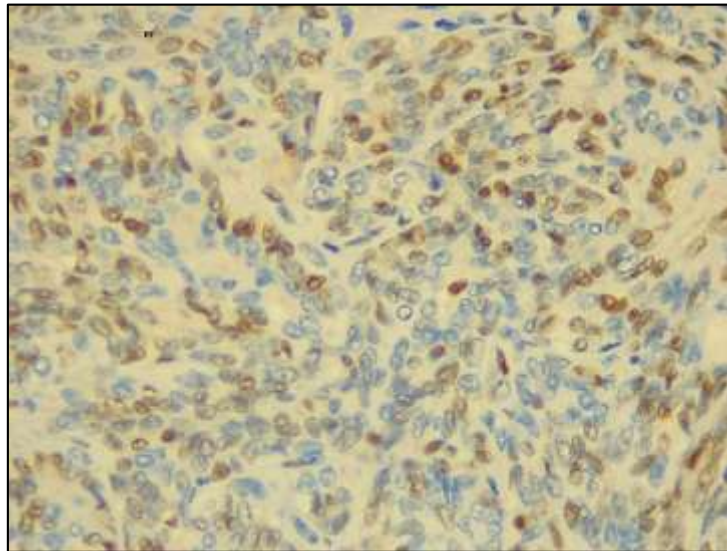


**Figure 43** : Marquage RP du carcinome canalaire invasif observé sous microscope au grossissement (x400) (photos personnelles,2023).

### 1.2.1.2 Récepteur aux œstrogènes (RE)

- Pourcentage des cellules positives : 45% = 4
- Intensité du marquage : Moderé = 2
- Score d'Allred : 6 (4+2)

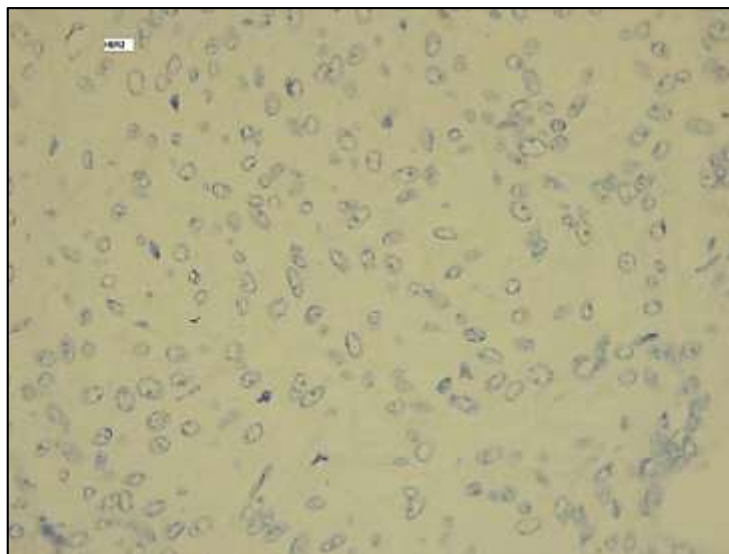
Comme le score est de 6, le carcinome est RE+ (figure44).



**Figure 44 :** Marquage RE du carcinome canalaire infiltrant observé sous microscope optique (x 400) (photos personnelles,2023).

### 1.2.2 Biomarqueurs HER2

Comme le marquage n'est pas présent (couleur bleue), on dit que le score est de 0 (figure 45). Score 0 : absence de marquage, ou  $\leq 10\%$

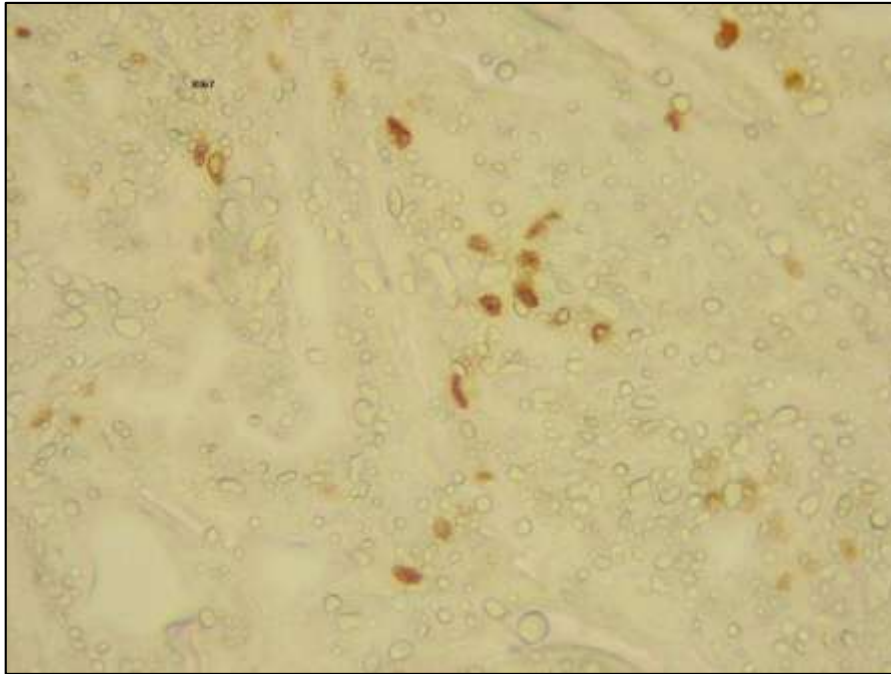


**Figure 45 :** marquage HER2 du carcinome canalaire infiltrant observé au microscope optique (x400) (photos personnelles,2023)

### 1.2.3 Indice de prolifération KI67

Afin de déterminer l'index mitotique, on se porte aux zones les plus mitotiques, critères stricts afin d'éviter les noyaux en apoptose et hyperchromatiques, on a effectué un balayage sur plusieurs champs sur notre lame et on compte les noyaux marqués divisés sur 4 pour avoir un pourcentage (figure 46).

Notre résultat est de  $56/4= 14\%$

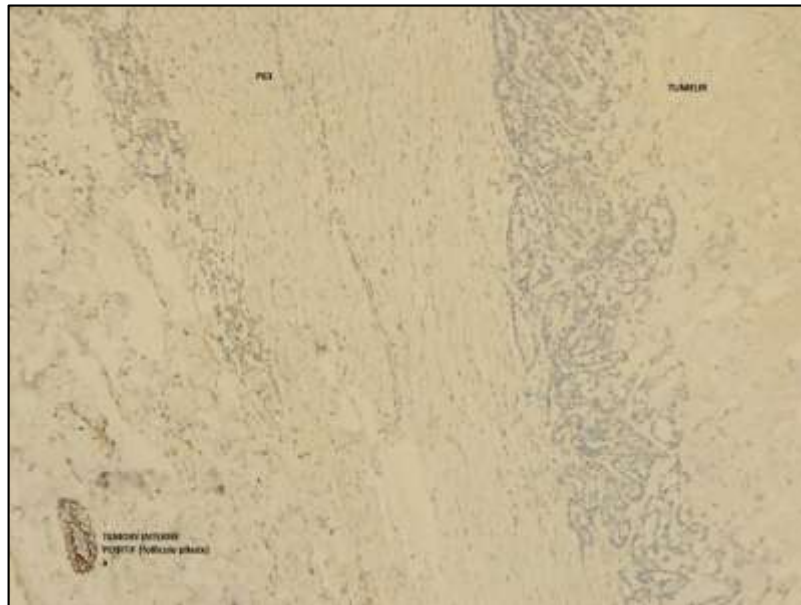


**Figure 46:** Marquage KI67 du carcinome canalaire infiltrant observé au microscope optique (x400) (photo personnelle,2023)

### 1.2.4 Marqueur P63 (distinguer les cellules myoépithéliales)

Durant notre étude sur le carcinome, on a douté de la présence de cellules myoépithéliales durant notre observation, ce qui ne concorde pas avec les caractéristiques d'un carcinome canalaire invasif, pour avoir un diagnostic définitif, on a traité nos lames avec de la P63 pour voir les résultats.

Le marquage était positif (couleur marron) au niveau du follicule pileux (poils de la chienne), car il y avait effectivement des cellules myoépithéliales, néanmoins il était négatif dans la tumeur (couleur bleu), par conséquent le diagnostic définitif est le carcinome canalaire invasif (figure 47).



**Figure 47** : Marquage de la p63 sur un carcinome canalaire invasif observé au microscope optique (x100) (marquage positif pour le follicule pileux et négatif pour la tumeur) (photo personnelle, 2023).

## 1 Discussion de la partie histopathologie

Durant la réalisation de notre étude on a pu observer différents types de tumeurs mammaires particulièrement le carcinome tubulaire, l'adénome canalaire et le carcinome canalaire infiltrant chacun présentant des caractéristiques spécifiques.

### 1.1 Carcinomes tubulaires

Nos résultats montrent que la fréquence des tumeurs malignes (4/5) est plus élevée que les tumeurs bénignes (1/5) en accords avec ce qu'ont observé Moulton *et al.*, (1986) à 73,09% ainsi que ceux obtenus par Mansar *et al.* (2008) à 50% sur le nombre total qu'ils ont étudié.

Le carcinome tubulaire, un sous type de carcinome simple est revenu plus souvent, cela concorde avec les résultats de Ežerskytė *et al.* (2011) avec un pourcentage de 46 %, mais également ceux de Tavasoly *et al.*, (2013) avec 56,8 % enregistré sur l'ensemble des cas étudiés.

Goldschmidt *et al.* (2011) ont observé dans le groupe des CMT (10/15) des cas présentant des hémorragies localisées dans les différentes régions du tissu tumoral ce qui a été également observé sur (3 /5) des tumeurs de notre étude. Ces mêmes auteurs ont observé un infiltrat de plasmocytes, de lymphocytes et de macrophages signe d'inflammation ce qui n'a pas été le cas pour nos tumeurs.

Dans nos résultats, les carcinomes tubulaires présentent une prolifération massive des tubules et des cellules de morphologie variable ce qui a été confirmé aussi par Goldschmidt *et al.* (2011), ces mêmes auteurs décrivent des cellules avec un cytoplasme éosinophile ainsi qu'une activité mitotique variable ce qui contredit nos résultats ou l'on a observé un cytoplasme acidophile ainsi qu'une activité mitotique élevée dans chacun des cas traités.

### 1.2 Adénome canalaire

Goldschmidt *et al.* (2011) ont noté la présence de plusieurs conduits lobulaires dilatés avec des lumières en forme de fonte, ainsi que la présence de débris kératiniques, ce qui est cohérent avec nos observations. Ils ont également noté l'absence d'anisocytose et d'anisocaryose, avec des noyaux hyper chromatiques, ce qui concorde avec nos résultats.

Cependant, il convient de noter que contrairement à notre étude, Goldschmidt *et al.* (2011) n'ont pas signalé de foyers de nécrose. De plus, ils ont observé un cytoplasme éosinophile, tandis que nos résultats décrivent un cytoplasme acidophile.

## 2 Discussion partie immunohistochimie

En immunohistochimie, Mottolose *et al.* (171) ont montré une similitude entre le profil antigénique tumoral des carcinomes mammaires de la chienne et celui des carcinomes du sein. En outre le carcinome mammaire canin pourrait être un bon modèle pour l'immunothérapie.

### 2.1 Biomarqueurs HER2

Dans notre étude le marquage du HER2 sur le carcinome canalaire invasif était négatif contrairement aux études de Chang *et al.* (2009) qui selon eux, les cellules mammaires cancéreuses surexpriment le gène HER2. Les résultats de notre travail plaident en faveur de l'intérêt de déterminer le statut du HER2 afin de poser un diagnostic précis pour avoir un profil immunohistochimique comme cela a été confirmé par les mêmes auteurs.

### 2.2 Récepteurs ER/PR

Nos résultats ont révélé un marquage positif aux ER/PR et nous a permis d'établir un pronostic, cela correspond à ce qu'ont affirmé De Las Mulas *et al.* (2005) dans leur résultat concernant ces mêmes récepteurs. Chang *et al.* (2009) et Peña *et al.* (2013) ont rapporté que ce seuil de positivité n'a pas été établi chez les chiens.

### 2.3 Marqueurs P63

Le marquage de la p63 dans notre étude nous a permis d'éliminer le doute sur la malignité ou non de notre tumeur avec un marquage négatif et poser un diagnostic définitif, ce qui a été aussi observé dans les résultats de Barbreschi,(2003) confirmant que l'absence du marquage de la p63 nous dirige vers la confirmation de la présence de tumeurs mammaires malignes, comme c'est le cas dans les carcinomes invasifs qui sont caractérisé par la disparition de l'intégralité de la couche myoépithéliale. A travers le marquage du témoin (follicule pileux) la spécificité de l'anticorps p63 aux cellules myoépithéliales a été confirmée, comme l'ont aussi observé Gama *et al* (2003) .

### 2.4 Index de prolifération KI-67

Nos résultats montrent un index de prolifération (ki-67 ) intermédiaire à faible dans le carcinome canalaire infiltrant qui est une tumeur maligne, cela a été décrit par Peña *et al.*(1998) ainsi que Rim *et al.*(2019) qui observé un ki-67 faible pour une tumeur de grade 2 .

## Conclusion

---

Les tumeurs mammaires sont les plus fréquentes des tumeurs chez la chienne, elles représentent 50%, avec une incidence de 205 cas pour 100 000 chiennes (Sorenmo et al, 2013).

Il existe une grande similitude entre les tumeurs mammaires canines et les cancers du sein, les techniques qui permettent un diagnostic, un pronostic et une orientation thérapeutique sont également les mêmes chez les deux espèces.

Une nouvelle classification moléculaire des tumeurs du sein chez la femme voit le jour en 2001. Elle est basée sur l'expression ou la non-expression de trois principaux marqueurs, ces marqueurs sont HER2, RP, ER. Les tumeurs du sein sont classées selon cinq profils : luminal A (ER+ et/ou PR+, HER2<sup>-</sup>), luminal B (ER+ et/ou PR+, HER2<sup>+</sup>), HER2 (ER<sup>-</sup> et/ou PR<sup>-</sup>, HER2<sup>+</sup>), basal-like (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup> et au moins un marqueur basal positif) et profil normal-like (négatif pour ces marqueurs).

Au vu de la possibilité que le chien soit un modèle d'étude pour le cancer du sein, nous avons exploré la littérature pour savoir si ces marqueurs pourraient être utilisés en médecine vétérinaire. Notre étude bibliographique expose des rappels sur la glande mammaire, sur la classification des tumeurs mammaires canines et sur le concept des marqueurs tumoraux, cette partie bibliographique nous a servi de support afin de mener d'une part une étude histopathologique et d'une autre part une étude d'immunohistochimie, et ce sur cinq (05) chiennes atteintes de tumeurs mammaires canines.

A travers l'étude histopathologique, la classification des tumeurs étudiées était comme suit : 3 cas de carcinomes tubulaires, 1 cas d'adénome canalaire et 1 cas de carcinome canalaire infiltrant.

A travers l'étude immunohistochimique, réalisée sur le carcinome canalaire invasif, considéré comme le carcinome le plus représenté, chez l'humain, comme chez la chienne, nous avons analysé le profil immunohistochimique de celui-ci et il s'agit d'un carcinome canalaire invasif luminal A (HER2 négatif, PR positif et RE positive), c'est un carcinome hormonodépendant, dont le KI67 est faible.

Les cas de tumeurs mammaires sur lesquels cette étude s'est portée se sont avérés être, des cas qu'on retrouve chez l'humain, sans différence significative, spécialement pour le carcinome canalaire infiltrant, l'immunohistochimie nous a permis de mettre en évidence l'existence de profils immunohistochimiques dans le cancer mammaire canin, mais aussi de mettre en lumière les similitudes immunologiques qui existent entre l'homme et le chien dans

## Conclusion

---

ce cas de cancer. Ce modèle spontané serait utile dans la recherche en cancérologie, car l'étiologie, la physiopathologie et la cinétique des tumeurs spontanées sont plus proches des modèles de cancers humains, que les tumeurs induites chez les animaux de laboratoire, chimiquement, par des vecteurs viraux ou par transplantation.

Pour la médecine vétérinaire, l'utilisation de la chienne comme modèle pour le cancer du sein apporterait des progrès dans l'efficacité et le choix des thérapies contre le cancer mammaire de la chienne. En effet, la recherche et le développement de nouvelles thérapies, pour le seul bénéfice de l'animal de compagnie, sont très limités par le rapport coût/bénéfice pour les laboratoires pharmaceutiques. En intégrant la chienne dans des programmes de recherche en thérapeutique, la médecine vétérinaire pourrait bénéficier de nouveaux traitements, de par sa contribution au développement de nouveaux moyens thérapeutiques contre le cancer du sein.

Il est donc légitime de continuer à exploiter cet animal comme modèle d'étude afin d'en faire bénéficier la médecine vétérinaire, l'espèce en elle-même, et la médecine humaine, mais encore faudrait-il que des efforts soient déployés pour remédier au principal problème de ces études, le rapport coût/bénéfice pour les industriels pharmaceutiques, qui les financent.

## Références de la bibliographie

**Allred M., Harvey J.M. et Bèrardo M.(1998).** Facteurs pronostiques et prédictifs du cancer du sein par analyse immunohistochimique. *Mod Pathol.* 11(2) : 155-68

**Andrade F.H., Figueiroa F.C., Bersano P.R., Denise Z., Bissacot et Noeme S.R.(2010).** Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. *Diagn Pathol.* 45(5).

**ANVA (2014)** Origine du bouvier bernois. In Tout sur les chiens[[http://www.toutsurleschiens.com/Race/bouvier\\_bernois/origine-du-bouvier-bernois.php](http://www.toutsurleschiens.com/Race/bouvier_bernois/origine-du-bouvier-bernois.php)].

**Aspinall V., Cappello M. et Phillips C. (2019).** Introduction to animal and veterinary anatomy and physiology. 4 ème édition. CABI: 286p.

**Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG, Macri E, Rizzo A, Viale G et Doglioni C (2003):** p63, un homologue de p53, est un marqueur nucléaire sélectif des cellules myoépithéliales du sein humain. *Am J Surg Pathol* 25 : 1054-1060.

**Barone R. (2001).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 4 : splanchnologieTT. Edigion Virgot frères : 241-516.

**Bedu N.(2003).** Les apports de la génétique moléculaire à la cancérologie vétérinaire : exemple des tumeurs mammaires chez la chienne. Thèse pour obtenir le grade de Médecin Vétérinaire, Alfort : 259p.

**Benavente M. A., Bianchi C. P. et Aba M. A. (2016).** Canine Mammary Tumors : Risk Factors, Prognosis and Treatments. *J. Vet. Adv.* 6(8) : 1292-1300.

**Benhamza M. L., Watrelot D., Sarsat J.C. et Gastellu J.(2008).** Les tumeurs mammaires chez la chienne : etude histologique . *Sciences et Technologie* .27 : 57-66

**Brassart G. (2008).** Les tumeurs mammaires chez la chienne : données bibliographiques récentes concernant l'approche diagnostique et la proposition d'un pronostic fiable. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon : 117p.

**Camacho L., Pena L., González Gil A., Martin-Ruiz A., Dunner S. et Illera J.C. (2014).** Expression du facteur vasculaire immunohistochimique dans le carcinome mammaire inflammatoire canin. *Vet Pathol.* 51(4) : 737-748.

**Chang C.C., Tsai M.H., Liao J.W.(2009).** Évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux à utiliser pour prédire la survie des chiennes atteintes de tumeurs malignes des glandes mammaires. *J Suis Vet Med Assoc.* 235 : 391-396.

**Chang S.C., Chang C.C., Chang T.J. et Wonh M.L. (2009).** Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors : 79 cases (1998-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227 : 1625-1629.

**Clarke R.B., Anderson E. et Howell A.(2004).** Steroid receptors in human breast cancer. *Trends Endocrinol. Metab.* 15 (7) : 316-323.

**Cohen P., Clemmons D.R. et Rosenfeld R.G. (2000).** Does the GH-IGF axis play a role in cancer pathogenesis. *Growth Horm IGF Res.* 10(6): 297–305.

**Crespeau F. (1999)** Tome 2: Pathologie par troubles vasculaires, pathologie inflammatoire : étude générale. Pathologie tumorale. Polycopié. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, unité pédagogique d'histologie, d'embryologie et anatomie pathologique vétérinaires : 150p.

**De Las Mulas J.M., Millany M. et Dios R.(2005).** À prospective analysis of immunohistochemically determined estrogen receptor a and progesterone receptor expression and host and tumor factors as predictors of disease-free period in mammary tumors of the dog. *Veterinary Pathology Online.* 42 : 200-212.

**Doliger S. (2003).** Vade-Mecum de cancérologie Vétérinaire. Éditions Med'com, Paris : 224p.

**Doliger S.** Vade-Mecum de cancérologie vétérinaire. 1ère édition. Vade-mecum. France : 224p.

**Dolka I., Sapierzyński R. et Król M.(2013).** Retrospective study and immunohistochemical analysis of canine mammary sarcomas. *BMC Veterinary Research.* 9 (248) : 1-9 .

**Ežerskytė A., Zamokas G. et Grigonis A.(2011).** L'analyse rétrospective des tumeurs mammaires chez le chien. *Vétérinaire Med Zoot.* 53 (75):3-8.

**Faye R.(2009)** .Principales Affections Tumorales Du Chien à Dakar (Senegal). Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. École Inter-états des sciences et médecines vétérinaire de Dakar : 102p.

**Gama A, Alves A, Gartner F et Schmitt F(2003)**. p63 : Un nouveau marqueur de cellules myoépithéliales dans les tissus mammaires canins. *Pathologie vétérinaire* ;40(4):412-420.

**Gama A., Alves A.et Schmitt. (2008)**. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Arch.* 453(2): 123-132.

**Genestie C.,Zafrani B.,Asselain B.,Fourquet A., Rozan S.,Valider P.,Vincent-Salomon A et Sastre-Garau X.(1998)**. Comparaison de la valeur pronostique des grades histologiques de Scarff-Bloom-Richardson et de Nottingham dans une série de 825 cas de cancer du sein : importance majeure du nombre de mitotiques comme composante des deux systèmes de gradation. *Recherche anticancéreuse*.

**Goldschmidt M., Peña L., Rasotto R. et Zappulli V.(2011)**.Classification and Grading of Canine Mammary Tumors.*Veterinary Pathology*.48(1):117-131.

**Hameed O., Chhieng D.C. et Adams A.L. (2007)**. L'utilisation d'un seuil plus élevé pour le pourcentage de cellules positives améliore-t-elle la spécificité de l'analyse immunohistochimique HER-2 dans le carcinome du sein. *Suis J Clin Pathol* .128 : 825-829.

**Hayden D.W. et Neilson S.W.(1971)**. Tumeurs mammaires féline. *J Petite pratique d'animation*. 12(12) : 687-698.

**Hedlund C.S., Welch F.T., Hulse D.A., Johnson A.L., Seim III H.B., Willard M.D. et Carroll G.L.** Surgery of the female reproductive trad. In : *Small Animal Surgery*. 2 ème edition. Mosby: 1400p.

**Illera J.C., Perez-Alenza M.D., Nieto A., Maria A.J., Gema S., Susana D. et Laura P. (2006)**. Stéroïdes et récepteurs dans le cancer mammaire canin. *Pub Med*. 71(7) : 541-548.

**Jimenez R.E., Wallis T. et Tabasczka. (2000)**. Détermination du statut Her-2/Neu dans le carcinome du sein : analyse comparative de l'immunohistochimie et de l'hybridation fluorescente in situ. *Mod Pathol*. 13 : 37-45.

**Jorgensen J.T., Moller S., Rasmussen B.B., Jan T.J. Susane M., Birgitte B.R., Henrik W., Andreas S. et Ann K. (2011).** High concordance between two companion diagnostics tests: a concordance study between the HercepTest and the HER2 FISH pharmDx kit. *Am J Clin Pathol.* 136(1) :145–151.

**Lagadic M. et Cohn-Bendit F. (1995).** Les tumeurs mammaires dans l'espèce canine. *Prat. Med. Chir. Anim. Cie.* 30(4) : 437-451.

**Lakhani S.R. E.I., Schnitt S.J., Tan P.H. et van de Vijver M.J.(2011).** WHO classification of tumours of the breast. 4<sup>eme</sup> édition.IARC .Lyon, France.

**Lana S.E., Rutteman G.R. et Withrow S.J. (2007).** Tumors of mammary gland. In : Small animal clinical oncology . 4<sup>eme</sup> édition. MacEwen EG editors : 619-635.

**Lee J.M., Kaplan J.B, Murray M.P., Bartella L., Morris E.A., Joo S., David D.D. et Liberman L. (2007).**Imaging histologic discordance at MRI-guided 9- gauge vacuum-assisted breast biopsy. *AJR Am J Roentgenol.* 189(4): 852-859.

**Lewis J.T., Ketterling R.P., Halling K.C., Jason T.L., Rhett P.K., Kevin C., Halling., Reynolds C., Jenkins R.B. et Visscher D.W. (2005).** Analyse de l'hétérogénéité intratumorale et du statut d'amplification dans les carcinomes du sein avec immunomarquage HER-2 équivoque (2+). *Suis J Clin Pathol.* 124(2): 273-281.

**Magnol J.P., Marchal T., Delisle F., Devauchelle P. et Fournel C. (1998).** Cancérologie clinique du chien. Saint-pierre la palud, France : Th Marchal : 217-229 et 317-318.

**Mentiere C. (2003).** Intérêt du marqueur de prolifération Ki-67 pour le pronostic des tumeurs mammaires chez la chienne : étude bibliographique et proposition d'un protocole. Thèse pour obtenir le grade de médecin vétérinaire. Toulouse : 74p.

**Moe L.(2001).** Population-based incidence of mammary tumours in some dog breeds. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57: 439–443.

**Moulton J.E., Rosenblatt L. et Goldman M.(1986).** Mammary tumors in a colony of beagle dogs. *Vet Pathol.* 23 :741–749.

**Munsef A., Al-Mansour ., Mahir A.G., Kubba., Seham A., Al-Azreg. et Sausen A. Dribika.(2017).**Comparative histopathology and immunohistochemistry of human and canine mammary tumors.*Open Veterinary Journal* . 8(3) : 243-249.

**Nieto A., Pena L., Perez-Alenza M.D., Sanchez M.A., Fores J.M. et Castano M.(2000).**Immunohistologie détection of estrogen receptor alpha in canine mammary tumors: clinical and pathologie associations and prognostic significance. *Veterinary Pathology Online*. 37 : 239-247.

**Novosad C.A.(2003).** Principles of Treatment for Mammary Gland Tumors. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.*18 (2) : 107-109.

**Patel M.P., Ghodasara D.J., Raval S.H. et Joshi B.P.(2019)** .Incidence, Gross Morphology, Histopathology and Immunohistochemistry of Canine Mammary Tumors.*Ind J of Vet Sci and Biotech* . 14 (4) : 40-44.

**Patsikas M.N ., Karayannopoulou M., Kaldrymidoy E., Papazoglou LG., Papadopoulou PL., Tzegas SI., Tziris NE., Kaitzis D.G., Dimitriadis A.S. et Dessiris A.K.(2005).** The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anat histol Embryol*. 35 : 228–234.

**Patsikas M.N., Karayannopoulou M., Kaldrymidoy E., Papazoglou L.G., Papadopoulou P.L., Tzegas S.I., Tziris N.E., Kaitzis D.G., Dimitriadis A.S. et Dessiris A.K.(2006).** The lymph drainage of the neoplastic mammary glands in the bitch: a lymphographic study. *Anat histol Embryol*. 35 : 228–234.

**Peña L., De Andres P.J., Clemente M.(2013).**Valeur pronostique du grade histologique dans les carcinomes mammaires canins non inflammatoires dans une étude prospective avec un suivi de deux ans : relation avec les caractéristiques cliniques et histologiques. *Vétérinaire Pathol* . 50 : 94-105.

**Peña L.L, Nieto A.I, Pérez-Alenza D, Cuesta P et Castaño M.(1998).** Détection immunohistochemique du Ki-67 et du PCNA dans les tumeurs mammaires canines : relation avec les variables cliniques et pathologiques. *J Vet Diagn Invest.*;10(3):237-46.

**Peña L.L., Nieto A.I., Pérez-Alenza D., Cuesta P.et Castaño M. (1998).** Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathologic variables. *J Vet Diagn Invest*. 10(3): 237-246.

**Penault-Llorca M.P., Chetritt J., Bruno P., Chenard M.P., Lacroix-Triki M., Arnould L. , Gaétan Mac G., Jean-Pierre B.(2015).**Evolution des pratiques de test HER2 dans le cancer du sein en France de 2005 à 2015 : Résultats de l'enquête nationale PartenHER. *Journal of Clinical Oncology*. 34(15).

**Pereira C., Rahal S., Balieiro J. D. C. et Ribeiro A. (2003).** Lymphatic drainage on healthy and neoplastic mammary glands in female dogs: can it be really altered?. *anatomia, histologia, embryologia.* 32(5) : 282-90.

**Pereira C.T., Luiz Marques Navarro F., Williams J., Wladimir Martin D.B. et Primo B.(2008)** .P.99mTclabeled dextran for mammary lymphoscintigraphy in dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 49(5) : 487-491.

**Quiroga F.L.,Perez-Alenza M.D., Silvan G., Penal.,Lopes C. et Illera J.C. (2005).** Role of steroid hormones and prolactin in canine mammary cancer. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 94(1-3) : 181-187.

**Rimm D.L, Leung S.C.Y, McShane L.M, Bai Y, Bane A.L et Bartlett J.M.S. (2019)**An international multicenter study to evaluate reproducibility of automated scoring for assessment of Ki67 in breast cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc.* janv ;32(1):59- 69.

**Rossi V., Sarotto I., Maggiorotto F., Paola B., Franziska K., Nicoletta T., Stefania R., Rossella M., Giorgio V.,Massimo A., Riccardo P. et Filippo M. (2012).**Moderate immunohistochemical expression of HER-2 (2+) without HER-2 gene amplification is a negative prognostic factor in early breast cancer. *Oncologist.*17(11) :1418–1425.

**Rutteman G.R., Withrow S.J. et Mac Ewen E.G.(2001).** Tumors of the mammary gland. In : Small animal clinical oncology. 3<sup>ème</sup> Edition. Saunders Elsevier, Philadelphia : 455-477.

**Sanchez-Cespedes R., Millan Y., Guil-Luna S., García-Monterde J.,Reymundo C.,Espinosa de los A., Monteros J. et Martín de las Mulas .(2011).** Intégrité de la couche de cellules myoépithéliales dans le carcinome mammaire canin. *J Comp Pathol* . 145 : 25-30.

**Santos M., Marcos R., Faustino A.M.R.(2010).**histological study of canine mammary gland during the oestrous cycle. *Reprod Dom Anim.* 45(5) : 146-154.

**SantosT. R., Castro J. R., Andrade J. C., Silva A. C. R., Silva G. M. F., Ferreira F. A., Selwyn H. et Saut J. P. E. (2020).** Risk factors associated with mammary tumors in female dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 40(6) : 466-473.

**Sartin E.A., Barnes S., Kwapien R.P. et Wolfe L.G.(1992).**Estrogen and progesterone receptor status of mammary carcinomas and correlation with clinical outcome in dogs. *AM JVet Res* . 53(11): 2196-2200.

**Seol H., Lee H.J. et Choi Y.(2012).**Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance. *Mod Pathol*. 25:938–948.

**Seol H., Lee H.J.,Choi Y., Hee E.L.Yu J.K., Jee H.K., Eunyoung K., Sung-Won K. et So Yeon P.(2012).** Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance. *Mod Pathol*. 25(7):938–948.

**Shafiee R., Javanbakht ., Atyabi N.,Kheradmand P., Kheradmand D.,Bahrami A., Daraei H. et Khadivar F.(2016).** Diagnosis, classification and grading of canine mammary tumours as a model to study human breast cancer: an Clinico-Cytohistopathological study with environmental factors influencing public health and medicine. *Cancer Cell Int*. 469 : 70- 79.

**Silver I.A.(1966).**Symposium on mammary neoplasia in the dog and cat : I. The anatomy of the mammary gland of the dog and cat. *J. Small. Anim. Pract*. 7 : 689-696

**Sorenmo K. (2003).** Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 33(3) : 573-596 .

**Sorenmo K.U., Rasotto R., Zappulli V et Goldschmidt M.H.(2011).** Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. *Vet Pathol*. 48(1) : 85-97.

**Tavasoly A., Golshahi H., Rezaie A. et Farhadi M. (2013).**Classification and grading of canine malignant mammary tumors. *Vet Res Forum*. 4(1):25-30.

**Thuroczy J., Reisvaag G.J.K., Perge E., Tibold A., Szilágyi J. et Balogh L. (2007).** Immunohistochemical detection of progesterone and cellular proliferation in canine mammary tumors. *J. Comp. Pathol*. 137: 122-129.

**Toniti W., Buranasinsup S., Kongcharoen A ., Charoonrut P., Puchadapirom P. et Kasorndorkbua C. (2009).** Immunohistochemical Determination of Estrogen and Progesterone Receptors in Canine Mammary Tumors.*Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 10(5) : 907-911.

**Tsuda H., Akiyama F., Kurosumi M., Sakamoto G., Katsushige Y., Tetsunari O., Takahiro H., Kaori K., Tadashi H., Shinobu U., Keiichi H., Takachika O., Keiko S., Hideo M. et Shozo O. (2000).** Evaluation of the interobserver agreement in the number of mitotic figures of breast carcinoma as simulation of quality monitoring in the Japan National Surgical Adjuvant Study of Breast Cancer protocol. *Jpn J Cancer Res.* 91:451-457.

**Vail, D. M., Thamm, D., Liptak, J. (2019).** Withrow and Mac Ewen's Small Animal Clinical Oncology-E-Book. 6<sup>ème</sup> Edition. Elsevier Health Sciences : 864p.

**Van Garderen E., Dewit M., Voorhout W.F., Rutteman G.R., Mol J.A., Nierderbragt H. et Misdorp W. (1997):** Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors: evidence for a potential autocrine/paracrine stimulatory loop. *American Journal of Pathology* 150 : 1037-1047.

**Vance G.H., Barry T.S., Bloom K.J., Patrick L.F., David G.H., Robert B.J., Diane L.P., Raymond R.T. et Hammond H. (2009).** Genetic heterogeneity in HER2 testing in breast cancer: panel summary and guidelines. *Arch Pathol Lab Med.* 133: 611–612.

**Vascellari M., Capello K., Karminato A., Zanardello C., Baioni E. et Mutinelli F. (2016).** Incidence of mammary tumors in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy) : Risk factors and similarities to human breast cancer. *Preventive Veterinary Medicine.* 126 : 183-187.

**Verstegen J., et Onclin K.K. (2003).** Etiopathogeny, classification and prognosis of mammary tumors in the canine and feline species. *Proceedings Congress SFT.* 4(1) : 230-238.

**Zuccari D.A., Santana A.E., Cury P.M. et Cordeiro J.A. (2004).** Immunohistochemical study of Ki-67 as a prognostic marker in canine mammary neoplasia. *Vet. Clin. Pathol.* 33(1) : 23-28.

## Annexes

### Annexe 01 : **Grade Scarff Bloom et Richardson (Genestie *et al.*,1998).**

<b>Architecture Proportion des structures tubulo-glandulaire dans la tumeur</b>	<b>Atypies cyto-nucleaires</b>	<b>Nombre de mitoses</b>
Bien différencié (supérieur à 75% de la tumeur) <b>1</b>	Noyaux réguliers entre eux et de taille inférieure à 2 fois la taille de noyaux de cellules normales <b>1</b>	0 à 9 mitoses <b>1</b>
Moyennement différencié (10 à 75%) <b>2</b>	Atypies modérées <b>2</b>	10 à 18 mitoses <b>2</b>
Peu différencié (inférieur à 10% de la tumeur) <b>3</b>	Noyaux irréguliers avec anisocaryose ou de taille > à trois fois celle de noyaux normaux, avec nucléoles proéminents <b>2</b>	Plus de 18 mitoses <b>3</b>

### Annexe 02 : **Score de Allred (Allred *et al.*,1998).**

<b>% de cellules marquées</b>	<b>Intensité du marquage</b>
0 : 0%	0 : absence de marquage
1 : <1%	1 : marquage faible
2 : de 1 à 10%	2 : marquage modéré
3 : de 11 à 33%	3 : marquage fort
4 : de 34 à 66%	/
5 : >67%	/

Annexe 03 : **Traitement tissulaire.**

<b>Traitement tissulaire</b>		
<b>Etape</b>	<b>Durée</b>	<b>But</b>
<b>Déshydratation</b>	Bac d'éthanol 1H Bac d'éthanol 1H30 Bac d'éthanol 1H30 Bac d'éthanol 2H Bac d'éthanol 2H	Déshydrater et préparer les tissus à l'inclusion de la paraffine.
<b>Eclaircissement</b>	Bac de xylène 1H Bac de xylène 1H Bac de xylène 1H Bac de xylène 2H30	Eliminer les traces d'éthanol et éclaircir les tissus.
<b>Imprégnation</b>	Bac de paraffine 2H30 Bac de paraffine 2H30	Inclure la paraffine dans les tissus afin de de les conserver de la dégradation.

Annexe 04 : **Etapes de coloration hématoxyline –éosine.**

<b>Etape</b>	<b>Technique</b>	<b>Durée</b>
Déparaffinage (xylène)	2 bains	3 min x 2
Réhydratation (éthanol 90°)	2 bains	30 s x 2
Rinçage	Passage rapide dans l'eau	/
Hématoxyline	1 bain	20 s
Rinçage	Passage à l'eau courante	1 min
Bicarbonate de lithium	Passage rapide	/
Rinçage	Passage rapide dans l'eau	/
Eosine	1 bain	10 min
Rinçage	Passage à l'eau courante	1 min

## **Résumé**

Les tumeurs mammaires représentent le type de cancer le plus retrouvé chez les chiennes, avec un taux de mortalité très élevé. Des études récentes ont démontré que cette tumeur peut servir comme modèle d'étude pour le cancer du sein, toutefois, le sujet reste controversé. A travers cette étude réalisé au niveau des deux établissements l'ENSV d'Alger et l'hôpital Chahids MAHMOUDI, nous allons exploiter cette piste en effectuant un travail de recherche sur l'histopathologie et l'immunohistochimie des tumeurs mammaires canines. Cette présente étude a été réalisée sur cinq (5) chiennes, atteintes de tumeurs mammaires, après avoir effectué le diagnostic et la chirurgie, nous avons procédé à notre étude d'histopathologie qui nous a permis d'observer 3 types différents de tumeurs : trois carcinomes tubulaires, un adénome canalaire et un carcinome canalaire infiltrant. L'étude d'immunohistochimie a été réalisée en utilisant les principaux marqueurs tumoraux du cancer sur sein (Her2, récepteurs hormonaux, KI67 et P63). On a conclu la présence de similitudes entre le cancer mammaire chez la chienne et le cancer du sein.

**Mots clés :** Tumeurs mammaires, immunohistochimie, histopathologie, chiennes, carcinome.

## **Abstract**

Mammary tumors represent the most common type of cancer in female dogs, with a very high mortality rate. Recent studies have demonstrated that this tumor can serve as a study model for breast cancer, however, the subject remains controversial. Through this study carried out at the two establishments, the ENSV of Algiers and the Chahids MAHMOUDI hospital, we will exploit this avenue by carrying out research work on the histopathology and immunohistochemistry of canine mammary tumors. This present study was carried out on five (5) female dogs, suffering from mammary tumors, after having carried out the diagnosis and surgery, we carried out our histopathology study which allowed us to observe 3 different types of tumors: three tubular carcinomas, ductal adenoma and infiltrating ductal carcinoma. The immunohistochemistry study was carried out using the main tumor markers of breast cancer (Her2, hormone receptors, KI67 and P63). It was concluded that there are similarities between mammary cancer in dogs and breast cancer.

**Key words:** Mammary tumors, immunohistochemistry, histopathology, female dogs, carcinoma.