

**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou**  
**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département Biochimie Microbiologie**



**THESE**

Présentée par

**GOUADFEL KAHINA**

Pour l'obtention du diplôme de

**Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle**

**Filière** : Sciences Biologiques

**Spécialité** : Biochimie, Microbiologie Et Sciences Alimentaires

**Thème**

**Etude de l'association EBV et cancer du sein**

---

**Thèse présentée devant le jury composé de :**

Pr. DAOUDI ZERROUKI Nacera	Présidente	UMMTO
Pr. HOUALI Karim	Directeur de thèse	UMMTO
Dr. TALEB AIT MENGUELET Kahina	Examinatrice	UMMTO
Pr. BOUMENDJEL Amel	Examinatrice	Univ. ANNABA
Pr. BENDALI Farida	Examinatrice	Univ. BEJAIA
Pr. ZIDANE Azdinia	Examinatrice	Univ. Chlef

**GEGEBEG**

## **Remerciements**

*En premier lieu, je remercie chaleureusement les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, Professeur HOUALI pour son soutien constant, ses conseils avisés et ses encouragements tout au long de ce travail. Il a su me guider avec rigueur et bienveillance dans la réalisation de ce projet de recherche. Je lui suis reconnaissante pour sa disponibilité, sa générosité et son ouverture d'esprit.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à madame DAOUDI ZERROUKI Nacera Professeur à l'UMMTO qui nous fait l'honneur de présider ce jury.*

*Mes sincères dévouements aux membres de jury : madame TALEB AIT MENGUELET Kahina, Maitre de conférences A à l'UMMTO ; madame Boumendjel Amel, Professeur à l'Université de Annaba ainsi que madame Bendali Farida professeur à l'université de Béjaia et madame Zidane Azdina Maitre de conférences A à l'université de Chlef, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Mes remerciements vont également vers toute l'équipe du laboratoire LABAB de l'université Mouloud Mammeri et du laboratoire d'Anatomie Pathologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou.,*

*Je remercie également l'ensemble de mes enseignants qui m'ont transmis leur savoir et leur expérience pour que je puisse atteindre le niveau scientifique nécessaire à la réalisation de ce travail de recherche.*

## *Dédicaces*

*Que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ma thèse de doctorat trouvent ici mes sincères remerciements.*

*Je ne remercierai jamais assez mes chers parents qui m'ont soutenue et encouragée durant toute la période de ma vie doctorale en m'apportant du soutien, de la motivation et du réconfort.*

*Je remercie très chaleureusement mon époux *SOFIANE* pour son amour et son humour, son dévouement et sa patience.*

*Je remercie plus particulièrement celle qui a été mon pilier, ma chère fille *SOPHIE* qui est ma source de bonheur et d'inspiration.*

*Je dédicace également ce travail à ma grande famille en commençant par mes défunts grands parents qui ont été à leur manière un exemple de sagesse, de noblesse et de bienveillance. Sans oublier mes oncles et tantes, cousins et cousines qui ont toujours été disponibles, aimables et d'un soutien sans faille.*

*Je remercie également ma belle-famille qui se compose de gens compréhensifs, aidants et bienveillants.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

AACR	American Association for Cancer Research
ADCC	Antibody-dependent cell-mediated Cytotoxicity.
AF	Activation fonction domain
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AP-1	Activator Protéin1
ASCO	American Society of Clinical Oncology
BAK	Bcl2- homologous agonist killer
BAX	Bcl2-associated x Protein.
BCL2	B-cell leukemia protein 2.
BRCA1	BReast Cancer1.
BRCA2	BReast Cancer2.
CAP	College of American pathologists.
CCI	Carcinome Canalaire Infiltrant.
CCIS	Carcinome Canalaire in situ.
CdK	Cyclin-dépendent Kinase.
CLI	Carcinome Lobulaire Infiltrant.
CLIS	Carcinome Lobulaire In Situ.
CLSI	<i>Certification Program for Immunohistochemistry</i>
CM	Carcinome métaphasique.
C-myc	Avian myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog.
CTAR	C-Terminal Activating Regions
DAB	Tétrahydrochlorure de 3, 3-diaminobenzidine.
DBD	DNA biding domain (domaine de liaison à l'ADN).
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane.
EA	Early antigen
EBER	Epstein-Barr Encoded small RNA
EBNA	EBV Nuclear Antigen
EBV	Epstein Barr Virus
EGF-R	Epidermal Growth factor receptor
ERE	Eléments de réponse aux œstrogènes.
ERP	Eléments de réponse de la progestérone.
FADD	Fas Associated Death Domain.
FAS	Apoptosis Stimulating Fragment (Fragment inducteur d'apoptose).
FDA	Food and Drug Administration.
FISH	Fluorescence in situ hybridization (hybridation in situ en fluorescence).
Gène Rb	Nom provenant d'un cancer le rétinoblastome.
GnRH	Gonadolibérine (Gonadotropin Releasing hormone)
Grade SBR	Grade de SCARFF, BLOOM et RICHARDSON

HER2	Human Epidermal Growth factor 2.
HHV4	Humain herpes virus 4
HSP 90	Heat shock protein (protéine de choc thermique).
hTERT	human Telomerase Revers Transcriptase
ID	Inhibiting Domain (domaine d'inhibition de la transcription).
IE	Immédiate Early
IGF1	Insulin-like Growth Factor 1
IHC	Immunohistochimie.
IMC	Indice de Masse Corporelle
IPS	Irradiation Partielle du Sein
IR	Internal Repeat
ISE	Irradiation du Sein Entier
JNK	c-Jun amino-terminal Kinase
LBD	Ligand Binding Domain
LH	Hormone Lutéinisante.
LH-RH	Luteinizing Hormone Releasing Hormone.
LMP	Latent Membrane Protein
MA	Membran Antigen
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase.
MCC	N-maleimidomethyl Cyclohexane-1-Carboxylate.
MMTV	Mouse Mammary Tumor Virus
NLS	séquence de localisation nucléaire.
NRG	Neuréguline.
PDGF-CC	Platelet-Derived Growth Factor CC
PI3k	Phosphatidyl-Inositol3'-Kinase.
PKR	Protein Kinase dependant RNA
Protéine Rb	protéine du Rétinoblastome.
PTEN	Phosphatase Tensin homolog
RE	Récepteur aux œstrogènes.
RH	Récepteurs hormonaux.
RP	Récepteurs à la progestérone
SBR	Scarff Bloom Richardson
SERD	Selective Estrogen Receptor Down regulator
SERM	Selective Estrogen Receptor Modulator
SORT1+	Récepteur à la sortiline
SP1	Specificity Protein 1.
SRC	Steroid Receptor Coactivator.
Tam	Tamoxifène.
T-DM1	Trastuzumab emtansine.
TGFβ	Transforming Growth Factor beta.

TNM	Tumor, Node, Metastasis.
TR	Terminal Repeat
TRADD	TNFR-Associated Death Domain
TRAF	TNFR-Associated Factor
TSG	Tumor Suppressing Gene
UICC	Union International Contre le Cancer
UQAM	Université du Québec à Montréal
VCA	Viral Capsid Anigen
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
V-erBb2	Virus de l'ErythroBlastose aviaire.
ZEBRA	Z-Epstein-Barr Replication Activator

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b>	Coupe transversale du sein et sa structure glandulaire.....	03
<b>Figure 02</b>	Structure des ganglions lymphatiques du sein.....	04
<b>Figure 03</b>	Structure des acini mammaires.....	05
<b>Figure 04</b>	Types histologiques de cancer du sein et de leur évolution.....	06
<b>Figure 05</b>	Evolution des stades anatomopathologiques du cancer du sein.....	13
<b>Figure 06</b>	Les processus cellulaires impliqués dans la tumorigénèse.....	15
<b>Figure 07</b>	Différence d'expression du récepteur HER2 entre les cellules normales et les cellules cancéreuses.....	18
<b>Figure 08</b>	Structure du récepteur HER2 ((ErbB2).....	19
<b>Figure 09</b>	Voies de signalisation intracellulaires médiées par HER2.....	20
<b>Figure 10</b>	Photographie comparative entre la mastectomie et la tumorectomie.....	21
<b>Figure 11</b>	Photographie représentative de la curiethérapie.....	22
<b>Figure 12</b>	Représentation schématique de l'action des deux types d'anti-aromatase.....	24
<b>Figure 13</b>	Mode d'action du Tamoxifène.....	24
<b>Figure 14</b>	Mode d'action du Trastuzumab (Herceptine).....	26
<b>Figure 15</b>	Mode d'action du Lapatinib.....	27
<b>Figure 16</b>	Mode d'action du Trastuzumab emtansine (T- DM1).....	28
<b>Figure 17</b>	A structure du virion d'Epstein Barr, B particule virale EBV observée en microscopie électronique .....	32
<b>Figure 18</b>	A représentation schématique de l'ADN linéaire d'EBV (infection lytique), B représentation schématique de l'ADN épisomal d'EBV (infection latente).....	33
<b>Figure 19</b>	Structure de la protéine LMP1 .....	34
<b>Figure 20</b>	Voies de signalisation activées par les domaines CTAR1 et CTAR2.....	37
<b>Figure 21</b>	Schéma représentatif de certains mécanismes d'attachement de l'EBV aux cellules épithéliales.....	39
<b>Figure 22</b>	Passage de la latence virale au cycle lytique (le cycle de vie biphasique)..	41
<b>Figure 23</b>	Représentation schématique du processus d'assemblage et de relargage du virion.....	42
<b>Figure 24</b>	Représentation schématique des interactions virus/cellule dans les cellules épithéliales malignes de carcinome nasopharyngé (NPC).....	43
<b>Figure 25</b>	Pièce de mastectomie montrant la présence d'une tumeur.....	47
<b>Figure 26</b>	Photographie représentative du résultat de l'enravage.....	49
<b>Figure 27</b>	Réaction immuno-enzymatique catalysée par la peroxydase de Raifort...	54
<b>Figure 28</b>	Micrographie d'un amas de cellules tumorales RE- avec un témoins interne positif.....	55
<b>Figure 29</b>	Méthode de scoring selon Allred.....	56

<b>Figure 30</b>	Micrographie d'un amas de cellules tumorales HER2- (score 1+) au faible et au fort grossissement.....	57
<b>Figure 31</b>	Micrographie d'un amas de cellules tumorales HER2 douteux (score 2+) montrant un marquage faible mais complet, au faible et au fort grossissement.....	58
<b>Figure 32</b>	Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2+ (score 3+) montrant un marquage fort et complet (flèche) au faible et au fort grossissement.....	58
<b>Figure 33</b>	Microphotographie d'un amas de cellules tumorales positives à LMP1 montrant une coloration nucléaire.....	59
<b>Figure 34</b>	Répartition des tumeurs (Sein droit, Sein gauche, Atteinte bilatérale.....	63
<b>Figure 35</b>	Répartition des patients par tranche d'âge.....	64
<b>Figure 36</b>	Répartition des patients selon le sexe.....	65
<b>Figure 37</b>	Répartition selon le type histologique.....	66
<b>Figure 38</b>	Répartition selon la taille T du TNM.....	67
<b>Figure 39</b>	Répartition selon l'atteinte des ganglions.....	68
<b>Figure 40</b>	Répartition des ganglions positifs selon le stade N du TNM.....	69
<b>Figure 41</b>	Répartition selon le statut métastatique.....	70
<b>Figure 42</b>	Répartition selon le grade SBR.....	71
<b>Figure 43</b>	Répartition des cas selon l'expression des RE.....	72
<b>Figure 44</b>	Répartition des cas selon l'expression des RP.....	73
<b>Figure 45</b>	Répartition des cas selon le statut HER2.....	74
<b>Figure 46</b>	Répartition des cas selon le profil LMP1.....	75
<b>Figure 47</b>	Corrélation des RH entre eux.....	78
<b>Figure 48</b>	Profil d'expression des RH et de l'oncoprotéine HER2.....	79
<b>Figure 49</b>	Profil d'expression des RH et de l'oncoprotéine LMP1.....	81

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	Tableau représentant les trois critères histologiques utilisés pour le grading SBR.....	07
<b>Tableau II</b>	tableau représentatif des trois grades SBR et de leurs pronostics.....	07
<b>Tableau III</b>	Stades de latence et principales fonctions des protéines de latence d'EBV.....	34
<b>Tableau IV</b>	Grille d'évaluation de l'intensité de la coloration par IHC.....	57
<b>Tableau V</b>	Tableau représentatif des corrélations entre l'expression de la protéine LMP1 et des déterminants clinico-pathologiques du carcinome mammaire.....	82

## Table des matières

INTRODUCTION.....	1
CANCER DU SEIN.....	3
1- Rappel anatomo-histologique du sein .....	3
1-1 Anatomie descriptive .....	3
1-2 Histologie .....	4
2-Définition du cancer du sein.....	5
3- Classification.....	6
3-1 Classification histologique des cancers du sein selon l’OMS 2002-2003 .....	6
3-2 La classification pTNM (2017, 8 <sup>ème</sup> édition) .....	7
3-3 Classification SBR : (Score de Scarff, Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis).....	8
4- Epidémiologie.....	9
5- Facteurs de risque .....	10
5-1 Sexe.....	10
5-2 Âge.....	10
5-3 Prédisposition génétique.....	10
5-4 Imprégnation ostrogénique .....	10
5-5 Facteurs environnementaux .....	11
6- Les types de cancer du sein .....	13
6-1 Cancer du sein familial héréditaire lié à BRCA1 et BRCA2.....	13
6-2 Cancer du sein sporadique.....	13
7- Cancérogénèse mammaire.....	14
8- Régulation et dysrégulation : rôle des récepteurs hormonaux et de l’oncogène HER2 dans le cancer du sein .....	17
8-1 Les récepteurs hormonaux (RE, RP).....	17
8-2-Oncogène HER2.....	19
9-Traitements du cancer du sein .....	22
9-1 La chirurgie .....	23
9-2 La Chimiothérapie.....	23
9-3 La radiothérapie .....	24
9-4 Hormonothérapie .....	25
9-5 Thérapie ciblée Anti HER2 .....	28
9-6 Traitement du cancer du sein type basal (triple négatif) .....	32
VIRUS D’EPSTEIN BARR (EBV).....	34
1-Présentation et classification du virus .....	34

2-Structure du virus d'Epstein-Barr.....	34
3-Structure du génome viral.....	35
4-Protéines virales.....	36
4-1 Protéines de latence.....	36
4-2 Protéines du cycle lytique.....	41
5-Cycle biologique du virus d'Epstein-Barr.....	42
5-1-Attachement et entrée du virus dans les cellules cibles .....	42
5-2-Latence et maintien du génome .....	44
5-3-Réactivation (cycle lytique).....	45
6-Mécanismes cellulaires de la transformation maligne dépendante d'EBV (carcinogénèse) et voies de signalisation impliquées.....	47
Matériel et méthodes.....	49
1 Matériel .....	49
1-1 Réactifs .....	49
1-2 Appareillage .....	50
1-3 Matériel biologique.....	50
2 Méthodes .....	51
2-1 Méthodes d'anatomie-pathologie.....	51
2- Résultats et discussion .....	66
2-1-Etude descriptive .....	67
2-2 Etude analytique .....	85
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	95
ANNEXES .....	127

# ***INTRODUCTION***

## INTRODUCTION

Il suffit de la rencontre d'un gamète male et d'un gamète femelle pour former la première cellule qui nous constitue. Elle seule donnera naissance aux milliards de cellules de notre organisme et ce, par des procédés finement régulés de mitoses (naissances) et d'apoptose (mort programmée). En effet, des milliards de cellules naissent et meurent de façon à maintenir notre homéostasie. Cependant, le propre du cancer est de briser cette harmonie. La base du cancer est la cellule cancéreuse, celle-ci naît suite à l'accumulation de mutations qui lui confèrent un avantage sélectif. Dotée d'un pouvoir de multiplication indéfinie et illimité, la cellule cancéreuse ne répond plus aux lois de l'homéostasie tissulaire conduisant à la formation d'une tumeur.

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Il est la première cause de mortalité par tumeur maligne chez la femme dans les pays les moins développés (INCa, 2016) et la deuxième cause après le cancer du poumon dans les pays développés (FERLAY *et al.*, 2015). Il constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle qui naît de l'échappement de cellules épithéliales mammaires aux mécanismes de contrôle de la prolifération. Il est délicat d'établir une théorie unifiée, du fait que la transformation maligne peut avoir pour origine de très nombreuses combinaisons d'activation d'oncogènes et d'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.

Les facteurs cliniques et pathologiques comme l'âge, le type histologique, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, le grade histopronostique de SCARFF, BLOOM et RICHARDSON (SBR), l'expression des récepteurs hormonaux ou encore la surexpression de l'oncogène HER2 sont des facteurs prédictifs connus dans le cancer du sein. En effet, ils apportent au clinicien des informations d'ordre pronostic et thérapeutique. Cependant, plusieurs cancers humains peuvent être causés par des virus. Il est connu que le virus de la tumeur mammaire de la souris (MMTV), provoque le cancer du sein chez la souris (HENNIGHAUSEN, 2000). Par conséquent, nous avons émis l'hypothèse qu'une exposition tardive (à l'âge adulte plutôt que dans l'enfance) à un virus commun tel que le virus d'Epstein-Barr (EBV) pourrait provoquer un cancer du sein chez la femme.

En effet, l'EBV est aujourd'hui bien reconnu dans la cancérisation de certains tissus, notamment dans le carcinome indifférencié du nasopharynx et le lymphome de BURKITT.

Dans ce travail, nous nous intéressons particulièrement à l'expression de l'une de ses protéines latentes, LMP1. Cette dernière est en effet essentielle dans le pouvoir oncogène d'EBV en déclenchant diverses voies de signalisation telles que les voies NF-kappa B, AP1 et STAT. Cette capacité lui est conférée par son domaine C-terminal qui est subdivisé en trois régions activatrices de la signalisation cellulaire, les CTAR (*C-Terminal Activating Regions*) : ainsi CTAR1 et CTAR2 qui activent la voie NF- $\kappa$ B, favorisant la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et donc l'immortalisation cellulaire, CTAR3 augmente l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) favorisant l'invasion et les métastases et ce, en stimulant la voie Jak3/STAT (ZHENG et al., 2007).

Notre intérêt porte sur l'étude d'un lien possible entre l'infection à EBV et la cancérisation mammaire chez des patientes atteintes de cancer du sein en Algérie.

# ***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

# CANCER DU SEIN

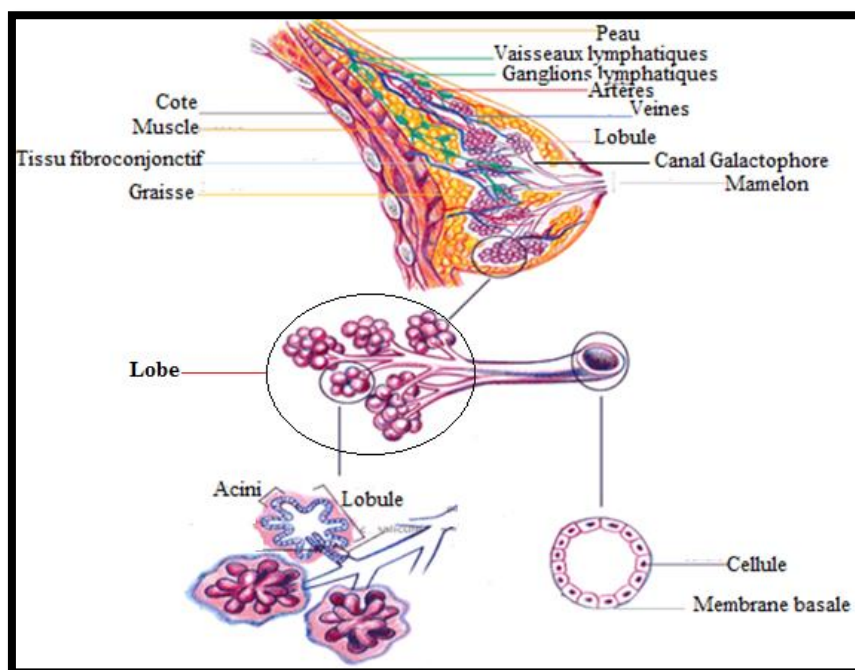
## 1- Rappel anatomo-histologique du sein

### 1-1 Anatomie descriptive

Le sein est un organe pair et globuleux situé en avant et en haut du thorax. Il est constitué d'un tissu hétérogène où coexiste une structure adipeuse, glandulaire, canalaire et fibro-conjonctive (**Figure N°01**).

La structure adipeuse est un ensemble de cellules graisseuses. La structure glandulaire présente 15 à 20 lobes. Chacun d'eux est composé de plusieurs lobules où se trouvent 10 à 100 acini qui produisent le lait. Les lobes ainsi que les lobules sont connectés à la structure canalaire c'est-à-dire aux canaux galactophores qui comportent des sinus lactifères qui transportent le lait vers le mamelon.

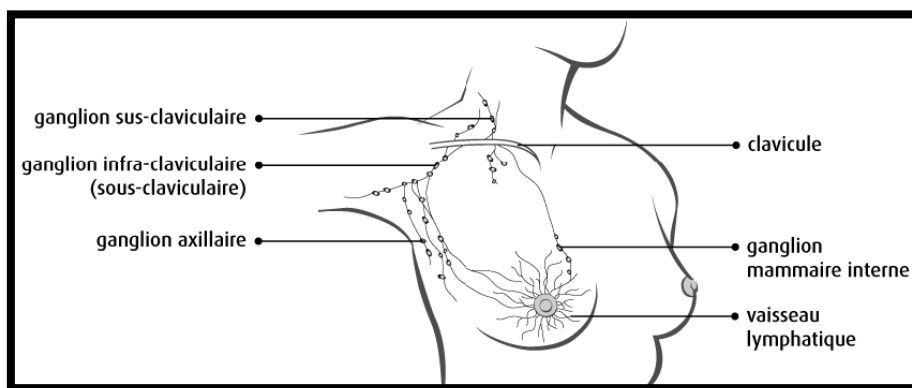
L'organe est innervé par des rameaux mammaires qui proviennent des nerfs intercostaux et qui convergent vers la plaque aréolo-mamelonnaire. Il est richement vascularisé et son irrigation provient de trois sources : artères thoracique interne (mammaire interne), artère axillaire et les artères intercostales dorsales et ventrales. Son drainage veineux quant à lui est assuré par des réseaux veineux superficiels et profonds ([KHAN et al. 2019](#)).



**Figure N°01** : Coupe transversale du sein et sa structure glandulaire ([NETTER, 2009](#))

Le système lymphatique du sein via ses vaisseaux, s'occupe d'éliminer les déchets, les cellules mortes et autres débris en les acheminant vers les ganglions lymphatiques qui sont au nombre de 35 répartis de manière variable autour de chaque sein. Ils sont groupés comme suit (**Figure N°02**) :

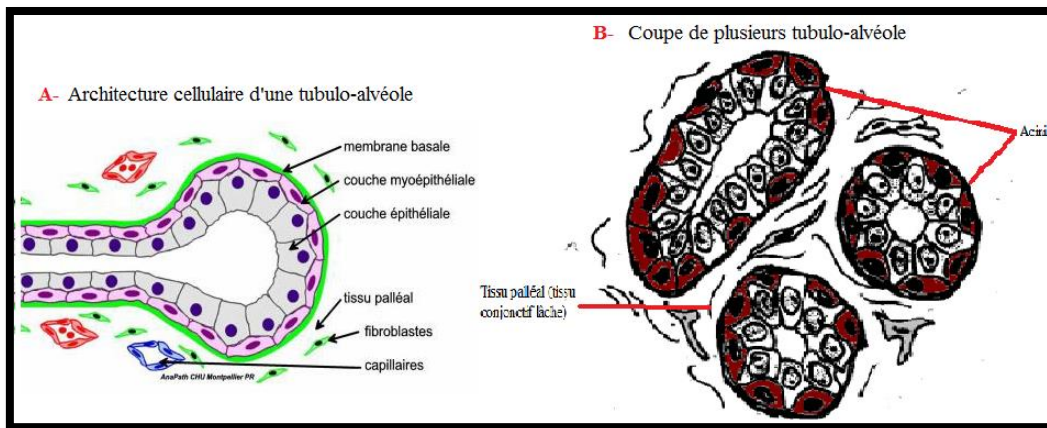
- Ganglions axillaires (sous le bras) ;
- Ganglions sus-claviculaires (sur la clavicule) ;
- Ganglions sous claviculaires (sous la clavicule) ;
- Ganglions mammaires internes (derrière le sternum, à l'intérieur du thorax) ([KHAN et al., 2019](#)).



**Figure N°02** : Structure des ganglions lymphatiques du sein  
([OLIVIER et al., 2006](#))

## 1-2 Histologie

Le sein est un dérivé ectodermique de composition très hétérogène. La structure canalaire ainsi que la structure glandulaire, dont la plus petite unité est représentée par les acini, présentent une double assise cellulaire (**Figure N°03-A**). Le tissu conjonctif, quant à lui, se différencie en deux parties au moment de la puberté, le tissu interstitiel banal (tissu conjonctif inter-lobulaire) : il constitue le support des lobes et comporte de nombreux adipocytes et le tissu palléal (tissu conjonctif intra-lobulaire) (**Figure N° 3-B**) : c'est un tissu conjonctif lâche, pauvre en adipocytes et sensible aux modifications hormonales (spécialisé).

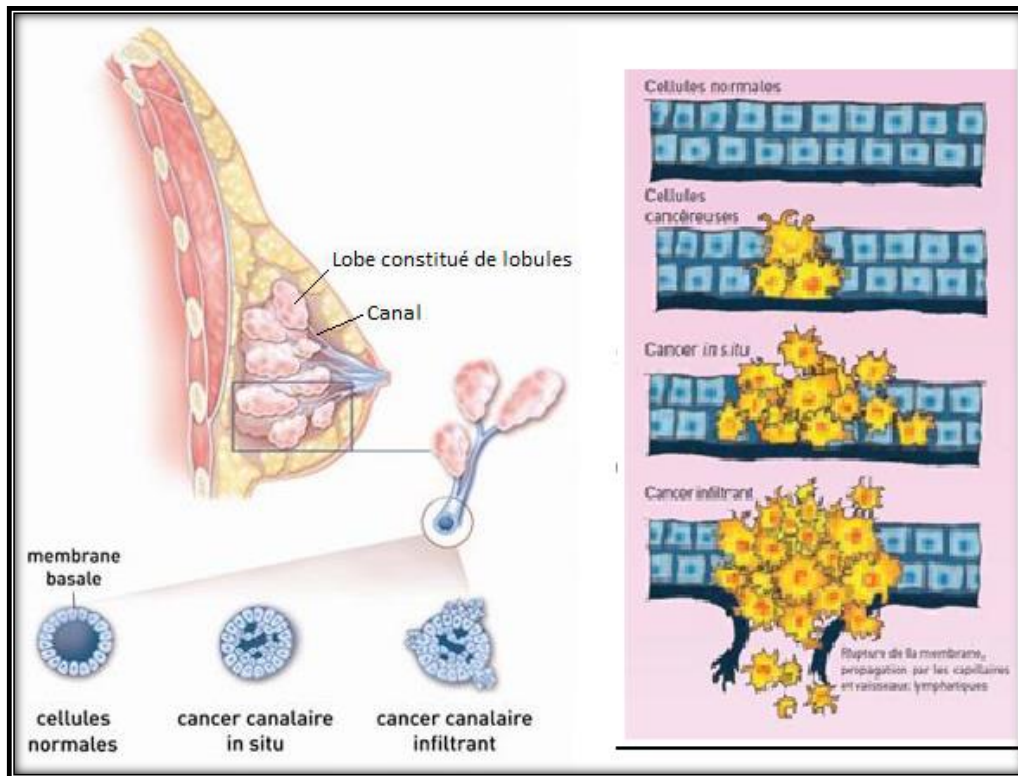


**Figure N° 03** : Structure des acini mammaires (VISVADER, 2009) (Modifiée).

## 2-Définition du cancer du sein

Le cancer du sein ou « carcinome mammaire » se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'il s'agisse des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire » ou de celles des lobules « carcinome lobulaire », on parle « d'Adénocarcinome » c'est-à-dire d'un cancer du tissu glandulaire. Le carcinome peut être « *in situ* » ou « infiltrant » selon qu'il y est ou non effraction de la membrane basale et possède ou non un potentiel métastatique.

Moins souvent (moins de 10% des cas de tumeur du sein), la tumeur se développe dans le tissu conjonctif du sein. On parle alors de cancer non glandulaire ou « sarcome Phyllode ». Ces différents types histologiques sont représentés dans la **Figure N°04**.



**Figure N°04 :** Les types histologiques de cancer du sein et de leur évolution (INCa, 2016)

### 3- Classification

Vu l'hétérogénéité du cancer, la décision thérapeutique est conditionnée par le type, les caractéristiques et le grade du cancer. De ce fait, plusieurs classifications sont apparues dans le but de toujours mieux cibler la thérapie. Les plus utilisées sont au nombre de trois :

#### 3-1 Classification histologique des cancers du sein selon l'OMS 2002-2003

Cette classification est essentiellement basée sur l'aspect histologique des cellules cancéreuses vues sous microscope (voir annexe I). De manière générale on distingue :

- Les tumeurs épithéliales non infiltrantes (*in situ*) ;
- Les tumeurs épithéliales infiltrantes (invasives).

### 3-2 La classification pTNM (2017, 8<sup>ème</sup> édition)

La classification pathologique TNM est un système reconnu internationalement, il décrit l'extension d'une tumeur maligne à un moment donné dans un organe particulier (ABDOU *et al.*, 2017).

Cette classification a été mise à jour pour la dernière fois en 2017 par l'UICC (Union International Contre le Cancer). Elle prend en compte trois critères : T : *Tumor* (taille et extension de la tumeur), N : *Nodes* (envahissement ganglionnaire), M : *Metastasis* (présence de métastases à distance) (BRIERYL *et al.*, 2017).

#### **-Extension de la tumeur T1-T4**

Ce paramètre prend en compte la taille de la tumeur, mais pas seulement. Aujourd'hui l'extension aux tissus adjacents est également prise en considération.

Dans le cas du cancer du sein par exemple, une taille tumorale de 3 cm sans infiltration est classée p T2, alors qu'une tumeur de même taille qui infiltre directement la peau ou la paroi thoracique est classée p T4.

#### **-Extension dans les ganglions N0-N3**

La classification de l'envahissement ganglionnaire prend en compte le nombre de ganglions envahis, mais également la localisation de cet envahissement (la chaîne ganglionnaire).

Pour l'exemple du sein, 05 ganglions axillaires atteints classe la tumeur en p N2a, alors que l'envahissement d'un seul ganglion de la région infraclaviaire (relai ganglionnaire suivant) la classera en p N3a.

#### **-Métastases à distance M0-M1**

M0 : pas de métastases ;

M1 : présence de métastases à distance.

Les détails de classification TNM 8<sup>e</sup> édition sont donnés dans l'annexe II.

### 3-3 Classification SBR : (Score de Scarff, Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis)

Cette classification permet de déterminer un indice d'activité proliférative à l'aide d'un grade histopronostique SBR noté de 1 à 3. Cette activité proliférative est estimée par trois critères histologiques (HERON, 2010) (**Tableau I**) :

- Architecture tumorale : la cellule devient indifférenciée, perd progressivement sa fonction d'origine et son apparence. Plus elle est indifférenciée, plus elle est agressive.
- Anisonucléose (Polymorphisme des noyaux cellulaires).
- Activité mitotique

**Tableau I** : Tableau représentant les trois critères histologiques utilisés pour le grading SBR.

Critères histologiques	Note 1	Note 3
Architecture	Tumeur riche en structures bien formées et différenciées.	Tumeur riche en structures ayant changé de forme et indifférenciées
Noyaux (anisonucléose)	Petits et uniformes	Gros avec des formes variables.
Activité mitotique	Division lente et faible, faible nombre de mitoses.	Division rapide, nombre important de mitoses.

Le grade histopronostique d'une tumeur correspond à la somme des notes obtenues pour les trois critères. Le score global est classé en trois grades I, II, III. (**Tableau II**).

**Tableau II** : Tableau représentatif des trois grades SBR et de leurs pronostics (HERON, 2010).

Grades	Score total	Pronostic
I	3 à 5	Tumeurs les moins agressives
II	6 et 7	Tumeurs moyennement agressives
III	8 et 9	Tumeurs les plus agressives

## 4- Épidémiologie

Le cancer du sein occupe le premier rang en termes d'incidence à l'échelle du globe avec 2,2 millions de cas recensés en 2020. Il représente également la première cause de mortalité féminine par cancer dans le monde. En effet, près de 685 000 femmes sont mortes du cancer du sein cette même année [OMS \(2020\)](#). Selon cette même source, environ 1 femme sur 12 risque de développer un cancer mammaire au cours de sa vie.

Aux États-Unis, environ 246 660 nouveaux cas de cancer du sein ont été diagnostiqués en 2016 et 40 450 femmes en seraient mortes [\(SIEGEL et al., 2016\)](#).

En France, 54 062 nouveaux cas ont été enregistrés en 2015 avec une mortalité de 12 492 [\(LEONE et al., 2015\)](#).

Le taux de survie à moins 5 ans après le diagnostic varie considérablement selon les pays. En effet, ce taux frôle les 90 % dans les pays à revenu élevé tel que la France ou le Canada et n'est que d'environ 40% pour les pays Africains [OMS \(2020\)](#).

En Algérie, une tendance défavorable de l'incidence du cancer du sein a été observée entre 1996 et 2019 [\(RAIAH et al., 2022\)](#). Le cancer du sein est également devenu un véritable problème de santé publique et vient en première position des cancers les plus fréquents chez la femme avec 14000 nouveaux cas enregistrés chaque année, dont un taux important apparaît avant l'âge de 40 ans, contrairement au pays occidentaux où le cancer mammaire apparaît après l'âge de 60 ans et plus [\(HAMDI CHERIF et al., 2020\)](#).

Des enquêtes nationales approfondies et une attention particulière devraient être entreprises pour comprendre les facteurs de risque pouvant expliquer cette survenue précoce des cancers du sein chez les femmes algériennes.

Depuis les années 2000, la mortalité est en diminution particulièrement dans les pays développés et ce grâce à des diagnostics plus précoces, une meilleure prise en charge thérapeutique en plus de la diminution des prescriptions des traitements substitutifs de la ménopause [\(MERIAUX et al., 2014\)](#).

## 5- Facteurs de risque

Parmi les facteurs de risques les plus incriminés, nous avons :

**5-1 Sexe** : le cancer du sein présente une prédominance féminine. Il touche donc essentiellement les femmes. En effet, seulement 1% d'hommes sont concernés (INCa, 2016).

**5-2 Âge** : la probabilité de développer un cancer du sein augmente avec l'âge. Le jeune âge (inférieur à 35 ans) est un facteur de mauvais pronostic indépendant car la majorité des patientes présentent des tumeurs triples négatives et ne peuvent donc bénéficier d'aucune thérapie ciblée. En effet, une étude de CANCELLO et son équipe (2002) effectuée sur 2970 patientes montre que les patientes âgées de moins de 35 ans présentaient plutôt des tumeurs triples négatives. Cependant le cancer du sein est plus rare avant 30 ans.

**5-3 Prédisposition génétique** : seul 5 à 10% des cancers du sein sont d'origine génétique (STRATTON et al., 2008). 80% des cas seraient liés à des altérations du gène suppresseur de tumeur BRCA1 (BRCA1) localisé sur le chromosome 17 codant une protéine de 1863 acides aminés et 15% à l'altération de BRCA2 localisé sur le chromosome 13 codant une protéine de 3418 acides aminés. La mutation d'un seul des allèles d'un de ces deux gènes augmente le risque du cancer du sein.

**5-4 Imprégnation oestrogénique** : Les études épidémiologiques ont clairement montré une association entre les facteurs hormonaux, la vie reproductive et le risque de développer un cancer du sein (MOMENIMOVAHED et al., 2019). Une puberté précoce, une ménopause tardive augmentent le risque du cancer du sein (CLAVEL CHAPELON et al., 2002). Ces deux facteurs sont liés au nombre de cycles menstruels vécus par une femme et donc à la stimulation des seins par les œstrogènes à chaque cycle.

Selon une étude récente, l'âge de la ménarche et de la thélarche sont des facteurs importants. En effet, un développement précoce des seins (moins de 10 ans) au lieu de 12 à 13 ans est associé à un risque 23% plus élevé de cancer du sein. Une ménarche précoce (avant 12 ans) est associée à une augmentation de 10% du risque de cancer du sein. Une combinaison d'une thélarche précoce et d'une ménarche précoce est associée à une augmentation de 30% du risque (GOLDBERG et al., 2020).

Les femmes ayant eu au moins une grossesse à terme ont moins de risque de développer un cancer du sein que les femmes nullipares. Cette diminution du risque est due à la différenciation des lobules qui passent du stade Lob 1 au stade Lob 4 (différenciés) perdant alors leur capacité proliférative. Donc plus le nombre de grossesses est élevé plus il y a diminution du risque du cancer du sein (HINKULA *et al.*, 2001). Toutefois, l'âge de la première grossesse est également important. Les femmes accouchant après l'âge de trente ans ont un risque cinq fois plus élevé que celles accouchant avant l'âge de vingt ans, car c'est le premier accouchement qui induit la différenciation et la perte de la capacité proliférative des lobules qui ont donc moins tendance à développer des mutations. Donc, plus tard, les seins atteignent leur maturité plus ils sont susceptibles de développer un cancer.

L'allaitement offre un effet protecteur additionnel significatif contre le cancer du sein. En effet, ce dernier est un facteur différenciant des cellules mammaires et ce en plus du niveau d'œstrogène faible pendant cette période qui réduit la durée d'exposition de la glande mammaire à l'œstradiol (MOMENIMOVAHED *et al.*, 2019).

L'avortement pourrait être un facteur de risque. L'hypothèse étant que l'épithélium canalaire et glandulaire mammaire laissé en état de prolifération (augmentation du nombre de cellules indifférenciées en début de grossesse sous l'action des œstrogènes) serait plus sensible aux carcinogènes (MOMENIMOVAHED *et al.*, 2019).

**5-5 Facteurs environnementaux** : Il est clair que le risque de développer un cancer du sein est influencé par l'environnement et le mode de vie (EL FOUHI *et al.* 2020). Nous pouvons citer :

- **La sédentarité** est un facteur de risque. En effet, l'activité physique et le risque de cancer du sein sont inversement corrélés. La protection serait proportionnelle à l'intensité et la fréquence des exercices (MONNINKHOF *et al.*, 2007). Selon une étude américaine récente, présentée lors de la conférence de l'*American Association for Cancer Research* (AACR), un niveau élevé de masse corporelle augmente le risque de développer un cancer du sein invasif malgré un IMC (Indice de masse corporelle) normal particulièrement chez les femmes ménopausées (Anonyme 3). Pour chaque augmentation de cinq kilogrammes de graisse, le risque de cancer du sein RE+ (Récepteurs d'œstrogènes) augmente de 35% malgré un IMC normal, rapporte l'étude ». D'ailleurs, l'un des objectifs du Plan Cancer 2014-2019, recommande de pratiquer une activité physique à toute âge pour réduire le risque de survenu du cancer.

- **L'alimentation** influence également. La consommation de sucreries, de viande, en particulier rouge et de matières grasses insaturées est un facteur potentiellement aggravant à l'inverse des fruits et légumes et des huiles (olives, tournesol, arachide...). Cela concorde avec l'impact de l'obésité, sans doute en raison de la production supérieure d'hormones par le tissu adipeux (DANDAMUDI et al., 2018). L'augmentation du risque avec la consommation d'alcool est due au fait que ce dernier augmente le niveau des facteurs de croissance circulants l'*Insulin-like Growth Factor* (IGF) et allonge la demi-vie de l'œstradiol (FEIGELSON et al., 2011). Une étude suédoise a révélé qu'une consommation excessive (2 portions ou plus de lait par jour) à long terme est associée à un sur-risque de 30% de cancer du sein RH positifs (KALUZA et al., 2020).
- **Le travail nocturne** : les études sont formelles, le travail de nuit favorise le cancer du sein chez la femme, en particulier chez celles ayant travaillé plus de 20 ans (BENABU et al., 2015). En effet, le travail de nuit entraîne des perturbations du rythme chronobiologique à l'origine de la sécrétion de la mélatonine, qui en plus de ses rôles protecteurs de l'ADN et antioxydant connus, aurait un rôle dans le blocage du développement tumoral. Des expériences *in vitro* sur des cellules cancéreuses et *in vivo* sur des souris génétiquement modifiées pour développer un cancer du sein ont démontré que les tumeurs étaient beaucoup plus petites quand les souris avaient reçu de la mélatonine. Le bénéfice de la supplémentation en mélatonine reste à évaluer (BENABU et al., 2015).
- Plusieurs **agents chimiques** sont considérés comme étant carcinogènes pour le sein : les organochlorés (DDT, dioxine...) sont des xénoestrogènes c'est à dire qu'ils ont une activité œstrogénique ou antiœstrogénique par la liaison aux RE, ils interfèrent donc avec les voies de signalisation des œstrogènes.
- Une étude rétrospective récente a mis le doigt sur un lien entre les maladies bénignes du sein et le risque de cancérisation. Les résultats ont révélé que le risque de cancer du sein était trois fois plus élevé chez les femmes qui présentent une maladie mammaire bénigne proliférative (ROMAN et al., 2020).
- Selon une étude réalisée aux Etats-Unis, l'exposition au soleil serait bénéfique et négativement corrélée à la mortalité par le cancer du sein. Il est donc supposé que la vitamine D jouerait un rôle protecteur (GUIGON, 2006). Cependant, des essais cliniques restent indispensables pour déterminer la dose de vitamine D qui jouerait un rôle protecteur (SHAO et al., 2012).

## 6- Les types de cancer du sein

Il est, depuis longtemps, admis que le cancer est une maladie des gènes. Ainsi, on distingue deux groupes de cancer du sein. Quand l'anomalie génétique est constitutionnelle il s'agit d'un cancer du sein familial héréditaire, si elle est somatique elle aboutit à un cancer du sein sporadique.

### 6-1 Cancer du sein familial héréditaire lié à BRCA1 et BRCA2

Le cancer héréditaire représente 5 à 10% des cas de cancer du sein (STRATTON *et al.*, 2008). Il est le résultat d'une mutation d'un des deux allèles d'un gène suppresseur de tumeur (BRCA1-BRCA2). Cette mutation est présente dans les cellules germinales des parents et se transmet sur un mode autosomique dominant. BRCA1 (chromosome 17) et BRCA2 (chromosome 13) sont des gènes codants des protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, la régulation négative du cycle cellulaire et l'apoptose, en plus de la suppression des tumeurs. Plus de 500 mutations ont été identifiées pour chacun d'eux. Elles entraînent une perte de la fonction de la protéine (COUCH *et al.*, 2002). La majorité des cancers héréditaires (80%) ne sont pas hormono-dépendants c'est-à-dire négatifs pour les récepteurs aux œstrogènes et récepteurs à la progestérone (RE et RP).

### 6-2 Cancer du sein sporadique

Les cancers sporadiques représentent la majorité des cas de cancer du sein. Ils sont généralement hormono-sensibles. Les cellules cancéreuses présentent alors des récepteurs hormonaux et leur prolifération est sous la dépendance des stimulations hormonales. Ce type de cancer est le résultat d'une accumulation d'altérations dans les gènes somatiques des cellules de la glande mammaire, sans implication des cellules germinales. C'est un cancer très hétérogène car il résulte de combinaisons d'altérations géniques diverses (altération des gènes suppresseurs de tumeurs, des gènes régulant l'apoptose ... etc.). Dans les cancers sporadiques, la positivité des récepteurs atteint les 70%. La formation de métastases a pour origine la dissémination des cellules cancéreuses à partir de la tumeur primaire infiltrante dans tout l'organisme via la circulation sanguine et/ou lymphatique. Des tumeurs secondaires apparaissent alors dans des tissus distants de la tumeur primaire (JULIEN *et al.*, 2004).

En général, dans 70 à 80% des cas, le développement métastatique débute par un envahissement des ganglions axillaires et s'étend par la suite vers le reste de l'organisme. Cette étape n'est cependant pas obligatoire, 20 à 30% des patientes présentant un cancer invasif présentent des

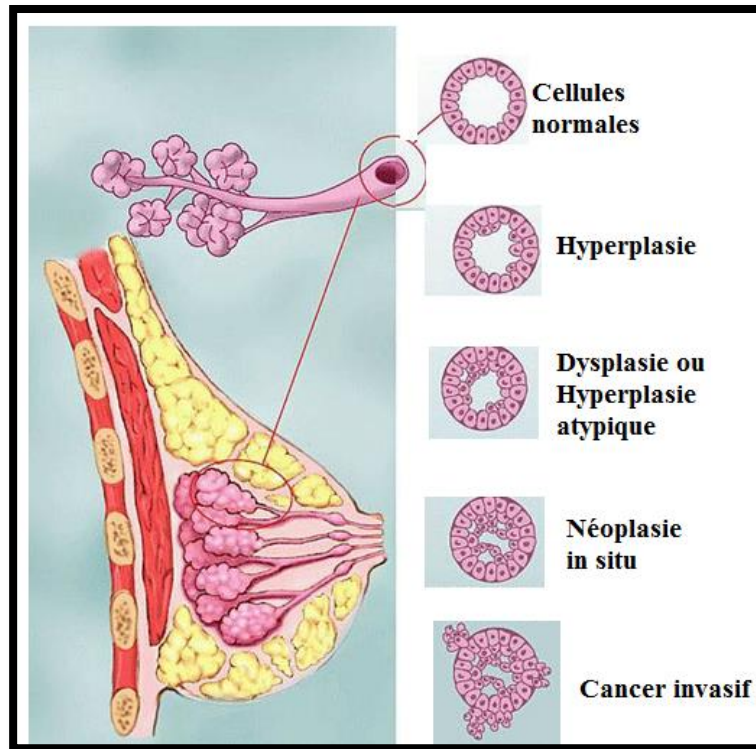
métastases distantes sans envahissement ganglionnaire. En plus des ganglions, les organes touchés par les métastases du cancer du sein sont les os (moelle osseuse), les poumons et le foie (KIM, 2021).

## 7- Cancérogénèse mammaire

La cancérogénèse mammaire est un phénomène multifactoriel, lent et progressif impliquant des anomalies de plusieurs gènes qui aboutissent à des altérations permettant aux cellules d'acquérir un pouvoir prolifératif transmis de la cellule mère aux cellules filles, favorisant donc la croissance clonale rapide.

Il existe des anomalies génétiques constitutionnelles dans les formes héréditaires et anomalies génétiques somatiques dans les formes sporadiques. Dans les deux cas, le processus passe par plusieurs stades anatomo-pathologiques (**Figure N° 05**).

Le premier stade est qualifié d'hyperplasie qui est un simple épaissement de l'épithélium concerné, due à une prolifération excessive de cellules qui gardent des rapports normaux ainsi que leur morphologie. Le second stade est la dysplasie ou hyperplasie atypique où les cellules proliférantes commencent à présenter des anomalies morphologiques. Le stade suivant est la néoplasie *in-situ* (stade pré-cancer) qui se caractérise par une prolifération de cellules ayant une désorganisation architecturale marquée et des anomalies nucléo-cytoplasmiques. Le dernier stade, le plus évolué est le cancer invasif où les cellules tumorales franchissent la membrane basale et envahissent les structures adjacentes (Mc SHERRY *et al.*, 2007).

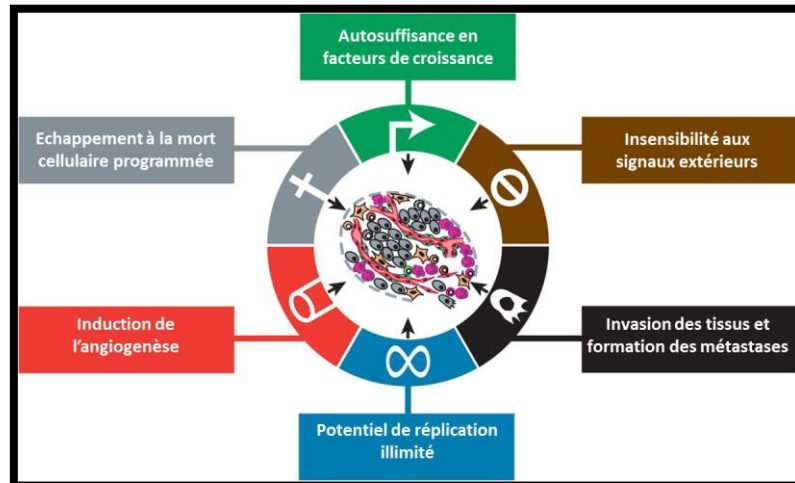


**Figure N°05** : Evolution des stades anatomopathologiques du cancer du sein (Mc SHERRY *et al.*, 2007).

Ces diverses altérations génétiques confèrent aux cellules certaines capacités (HANAHAN *et al.*, 2011) (**Figure N°06**) :

- Insensibilité au rétrocontrôle et aux inhibiteurs physiologiques de la croissance cellulaire par inactivation du récepteur ou de la chaîne de transduction de signaux antiprolifératifs tels que TGF $\beta$  (*Transforming Growth Factor bêta*) qui a pour rôle le contrôle de la prolifération cellulaire et l'inactivation des mécanismes de contrôle du cycle cellulaire (altération des inhibiteurs de cdk (*cyclin-dependent kinase*, altération des protéines Rb, p53...etc.)
- Echappement à l'apoptose par expression anormale des protéines intervenant dans la mort cellulaire (P53 qui détecte les dommages cellulaires, surexpression de la protéine anti-apoptotique BCL2 (*B-Cell Leukemia protein 2*), expression anormale des protéines pro-apoptotiques BAX, BAK...etc.)
- Croissance exagérée indépendante des stimuli externes par surexpression d'un ou plusieurs maillons des chaînes de transduction des signaux mitogènes, la production autocrine des facteurs de croissance (boucle de rétrocontrôle positive) ainsi qu'une surexpression des récepteurs des facteurs de croissance avec induction de la production de ces facteurs par le stroma tumoral.

- Echappement au système immunitaire par répression de l'expression de la protéine FADD (*Fas Associated Death Domain*) impliquée dans la transduction des messages d'apoptose transmis par les récepteurs de mort cellulaire « Fas », l'induction de l'apoptose des effecteurs de l'immunité par expression des ligands des récepteurs de mort ainsi qu'une sécrétion de cytokines inhibant la réponse Th1 et une diminution de l'expression du CMH1.
- Immortalité cellulaire par surexpression du gène de la télomérase hTERT (*human Telomerase Revers Transcriptase*). Il y a donc réactivation de l'activité télomérase empêchant le raccourcissement des télomères. Les séquences répétées situées aux extrémités des chromosomes sont compensées par ajout de répétitions télomériques grâce à la télomérase, permettant aux cellules de proliférer indéfiniment.
- Néo-angiogenèse (Angiogenèse tumorale) par modification de l'équilibre entre activateurs et inhibiteurs de l'angiogenèse.
- Pouvoir envahissant et métastatique par modulation de l'expression des molécules d'adhésion intercellulaires (cadhérines) et d'adhésion à la matrice (intégrines) et sécrétion d'enzymes protéolytiques capables de dégrader la membrane basale et la matrice extracellulaire.



**Figure N°06 :** Les processus cellulaires impliqués dans la tumorigenèse (HANAHAN *et al.*, 2011).

## 8- Régulation et dysrégulation : rôle des récepteurs hormonaux et de l'oncogène HER2 dans le cancer du sein

### 8-1 Les récepteurs hormonaux (RE, RP)

La croissance des seins au moment de la puberté est sous l'influence des hormones stéroïdiennes notamment, l'œstrogène et la progestérone (GUPTA *et al.*, 2006). Ces dernières agissent via des voies de signalisation cellulaires suite à leur fixation sur leurs récepteurs nucléaires, respectivement récepteur à l'œstrogène (RE) et récepteur à la progestérone (RP). Cette fixation influence de manière directe ou indirecte sur l'expression de certains gènes.

Ces hormones et plus particulièrement les œstrogènes modifient le contrôle du cycle cellulaire en diminuant l'action apoptotique et en augmentant la prolifération cellulaire (YAGER *et al.*, 2006).

La majorité des cancers du sein sont hormono-dépendants avec une prédominance dans les cancers sporadiques. A ce niveau, des RE et RP sont exprimés dans les cellules cancéreuses. La prolifération de ces dernières est donc stimulée par l'imprégnation hormonale (CLARK *et al.*, 2004). L'évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux dans les cancers mammaires invasifs est systématique depuis plus de trente ans (HAMMOND *et al.*, 2010).

#### 8-1-1 Influence des hormones stéroïdiennes sur le cancer du sein héréditaire

Sur le plan biologique, de multiples interactions entre le gène BRCA1 et les œstrogènes ont été mises en évidence. Dans les conditions normales nous avons :

- Les œstrogènes induisent la prolifération cellulaire mais également l'expression de BRCA1 qui corrige les erreurs du génome liées à la prolifération (BRETTESS *et al.*, 2007) ;
- BRCA1 bloque le RE en inhibant la synthèse de l'isoforme RE $\alpha$  responsable de la prolifération cellulaire (BRETTESS *et al.*, 2007) ;
- Une des fonctions essentielles de BRCA1 pourrait être de protéger le sein durant la puberté et la grossesse contre l'instabilité génétique secondaire à la prolifération induite par les œstrogènes. En effet l'augmentation du taux d'œstrogènes induit une augmentation de la transcription de BRCA (MAUDELONDE *et al.*, 2007).

La protéine BCRA1 normale s'oppose donc à l'effet mitogène des œstrogènes, en plus de réparer les lésions de l'ADN.

Une mutation de BRCA1 avec perte de la fonction de sa protéine implique :

- Une perte du contrôle de la synthèse RE $\alpha$  et de son inhibition ;
- Une perte de la protection du sein contre l'instabilité génomique induite par les œstrogènes et leurs effets mutagènes ;
- Perte de la propriété de réparation de l'ADN, rendant les cellules plus sensibles aux effets mutagènes indirects ou directs des œstrogènes (effet promoteur). Cet effet promoteur est médié par le rôle initiateur que peuvent avoir les œstrogènes en provoquant des lésions directes sur l'ADN via leurs métabolites appelés adduits de l'ADN (MARTIN *et al.*, 2007).

#### *8-1-2 influences des hormones stéroïdiennes sur le cancer du sein sporadique*

Les mécanismes d'action de ces hormones et de leurs récepteurs dans la carcinogénèse mammaire ne sont pas encore bien élucidés. Cependant, plusieurs hypothèses sont émises :

- Augmentation de la production d'œstrogènes dans les cellules cancéreuses et le tissu adipeux qui entoure la tumeur par augmentation de l'activité aromatasé provoquée par des facteurs sécrétés par les cellules tumorales ou inflammatoires (facteurs de croissance, prostaglandines...) (BRETTEES *et al.*, 2007). Globalement, ces œstrogènes agissent en raccourcissant la durée de la phase G1 c'est à dire en accélérant l'entrée des cellules en phase S, ce qui entrave le processus de réparation ;
- Surexpression du RE $\alpha$  suite à une mutation augmentant ainsi la sensibilité aux œstrogènes (HOPP *et al.*, 2002) ;
- Surexpression d'un coactivateur ou sous-expression d'un corépresseur du RE dérégulant ainsi son activité (MURPHY *et al.*, 2003) ;
- Augmentation du ratio RE $\alpha$ /RE $\beta$  par diminution de l'expression du RE $\beta$  lors des étapes précoces de la tumorigénèse. Le RE $\beta$  étant un dominant négatif du RE $\alpha$ , sa diminution entraîne l'augmentation de l'activité proliférative dont est responsable le RE $\alpha$ . Cette dérégulation est due au fait que la cellule cancéreuse produit ses propres RE $\alpha$  (régulation autocrine) (BRETTEES *et al.*, 2007) ;

- RE $\alpha$  couplé aux œstrogènes stimule la prolifération cellulaire via la modulation de l'expression des régulateurs du cycle cellulaire tel que Kinase cycline-dépendantes, cycline D1, C-Myc...etc. (REID *et al.*, 2005) ;
- Les œstrogènes présentent un effet prolifératif sur les cellules de la glande mammaire. Ces dernières étant soumises à une prolifération cyclique lors du cycle mensuel, augmente le risque d'erreur lors de la réplication de l'ADN (CLARK *et al.*, 2004). Lorsque ces mutations ont lieu dans les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, la prolifération cellulaire ou l'apoptose, le processus tumoral est enclenché ;
- L'acide gras synthase est une enzyme surexprimée dans le cancer du sein. Elle est induite par les progestatifs, plusieurs facteurs de croissance et produits d'oncogènes tels que Neu/HER2. Cette enzyme facilite la croissance tumorale et son inhibition stimule l'apoptose des cellules cancéreuses ;
- Dans les cancers du sein il y a surexpression du RPA et donc dérégulation du ratio RPA/RPB. Cette surexpression entraîne un changement morphologique cellulaire et une perte de l'inhibition de contact (JACOBSON *et al.*, 2003).

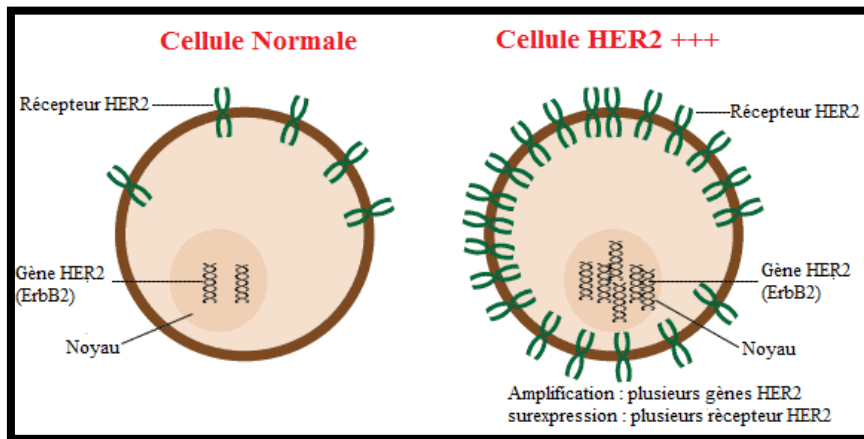
## 8-2-Oncogène HER2

Le gène (HER2) *Human Epidermal growth factor 2* a été identifié pour la première fois en 1981, suivi de la découverte du récepteur HER2 localisé à la surface des cellules en 1987. C'est également en 1987 que SLAMON décrit son importance biologique dans le cancer du sein (BARTLETT *et al.*, 2003). En 1998, la thérapie ciblée voit le jour avec l'apparition de l'herceptine qui est un anticorps murin humanisé anti-HER2.

### 8-2-1 Description du proto-oncogène HER2 et des mécanismes de son activation en oncogène

Le proto-oncogène HER2-neu situé sur le chromosome 17 code la protéine HER2 aussi appelé erbB2 en raison de sa similarité de séquence avec l'oncogène viral V-erbB2 (virus de l'érythroblastose aviaire) (MANNER *et al.*, 2004). Cette dernière est un composant normal exprimé par un grand nombre de cellules épithéliales. La transformation de ce proto-oncogène en un oncogène qui initie la survenue du cancer, se fait dans 95 % des cas par amplification génique, c'est-à-dire par une surexpression due à la production de plusieurs copies du gène (PEREZ, 1999) (Figure N°07). D'autres altérations génétiques peuvent être à l'origine de cette

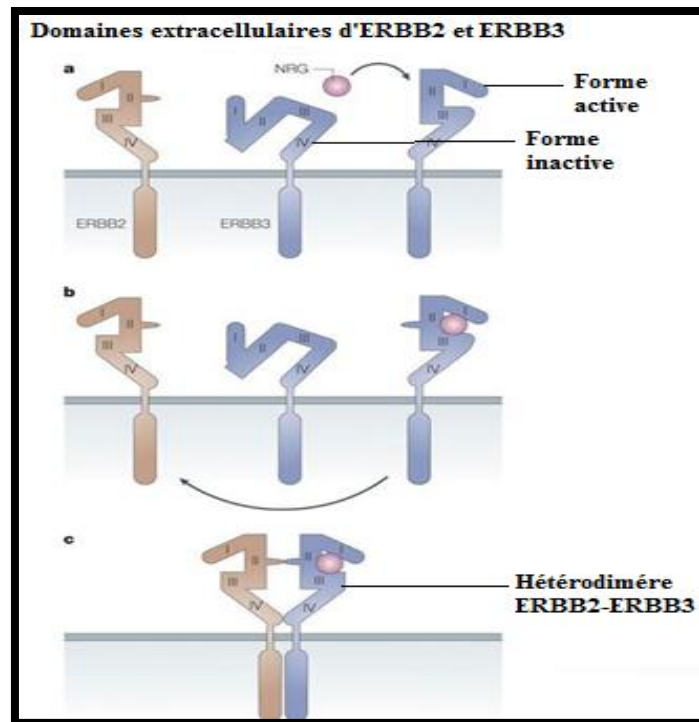
activation telle que la mutation du gène, altération au niveau transcriptionnel, troncation de la protéine...etc.



**Figure N°07 :** Différences d'expression du récepteur HER2 entre les cellules normales et les cellules cancéreuses (PENAUULT-LLORCA et al., 2004)

#### 8-2-2 Description du récepteur HER2, des mécanismes de son activation et signalisation intracellulaire

Le récepteur HER2 fait partie de la famille des EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*). Cette glycoprotéine de 185kDa possède 3 domaines : une région intracytoplasmique à activité tyrosine kinase, une région transmembranaire composée d'un segment lipophile qui permet l'ancrage du récepteur aux membranes cellulaires et une région extracellulaire composée de quatre sous unités (I-IV) liant le ligand (MAADI et al., 2021). Cependant, aucun ligand ayant une grande affinité pour HER2 n'a été découvert (récepteur orphelin). De plus, la conformation de son domaine extracellulaire est fixe et ressemble à celle de l'état activé par le ligand (**Figure N°08.**) Son activation peut être alors expliquée par le fait qu'il soit le partenaire de choix dans les hétérodimères, il est donc transactivé par le ligand reconnu par l'autre sous unité (BURGESS et al., 2003).



**Figure N°08 :** Structure du récepteur HER2 (ErbB) (GARRETT *et al.*, 2002).

La région extracellulaire de chaque ERBB est composée de 4 domaines (I-IV). En l'absence de ligand, l'ERBB3 a une structure particulière (a). Quand les domaines I et III lient la neuréguline (NRG), le bras de dimérisation du domaine II est exposé (b) ce qui entraîne une réaction récepteur-récepteur (c). L'ERBB2 a une conformation fixe qui ressemble à l'état de l'ERBB3 activé par le ligand.

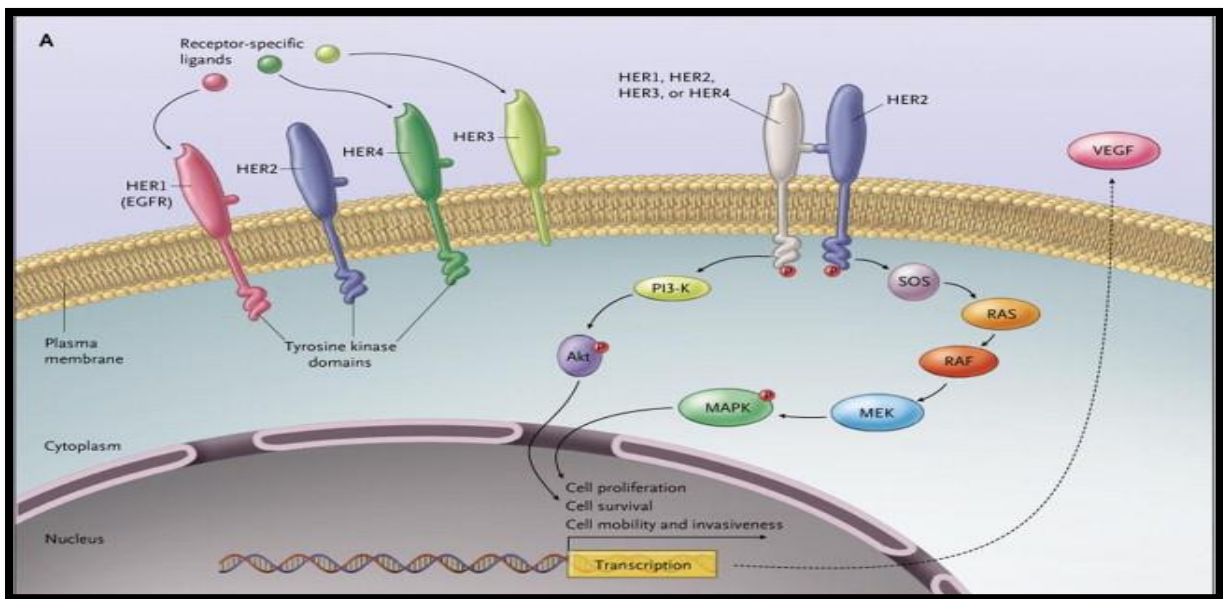
L'hétérodimérisation d'HER2 avec un autre récepteur de la famille ErbB est suivie d'une autophosphorylation des résidus tyrosine kinase. Les phosphotyrosines servent de site de reconnaissance pour des protéines intracellulaires à l'origine de l'activation des voies de signalisation. Les voies de signalisation activées sont la voie IP3Kinsae et la voie Ras/MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). Ces voies permettent d'activer des protéines impliquées dans la survie, la prolifération et la migration cellulaire, le pouvoir métastatique ainsi que l'angiogénèse (Figure N° 09) (MAADI *et al.*, 2021).

Les signaux transmis par le biais des hétérodimères contenant HER2 sont beaucoup plus puissants car HER2 diminue la vitesse de dissociation du ligand prolongeant ainsi la durée du signal d'une part et ralentit l'internalisation du complexe favorisant son recyclage à la surface cellulaire au lieu de sa dégradation d'autre part. Cela est dû à un couplage inefficace entre HER2 et la ligase Cbl-E3 qui permet la dégradation protéique dépendante de l'ubiquitine.

Les cancers du sein suréxprimant HER2 (HER2<sup>+</sup>) sont donc plus agressifs et ce par la formation de nombreux hétérodimères contenant HER2 dont découlent des signaux mitotiques très

puissants. Le test de la surexpression de la protéine HER2 est recommandé dans tous les cancers du sein invasifs car dans le cas où l'HER2 est positif, la patiente bénéficiera d'un traitement ciblé auquel nous reviendrons plus tard. La positivité de l'HER2 était donc de mauvais pronostic jusqu'à l'avènement de la thérapie anti-HER2 (WOLFF *et al.*, 2013).

Dans les cellules normales où HER2 est normalement exprimé (environ 10000 récepteurs par cellules), les hétéro-dimères contenant HER2 sont peu nombreux. Leur internalisation et leur dégradation par le protéasome est plus aisée, leurs signaux sont donc contrôlables et la croissance cellulaire est normale.



**Figure N°09 :** Les voies de signalisation intracellulaires médiées par HER2 (PINES *et al.*, 2010)

## 9-Traitements du cancer du sein

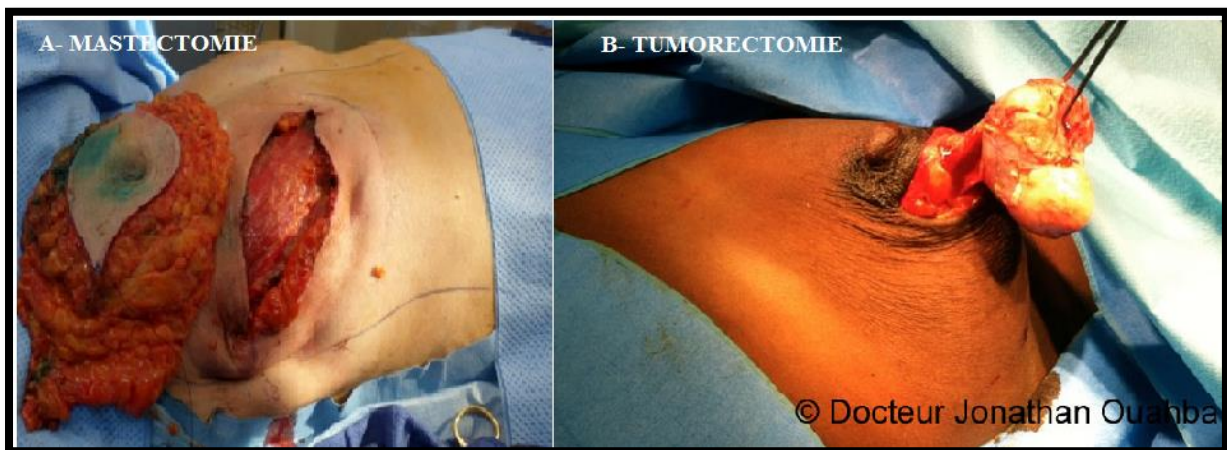
L'arsenal thérapeutique pour lutter contre le cancer du sein est efficace. En plus du traitement chirurgical local s'ajoutent des traitements néo-adjuvants (préopératoire) ou adjuvants (post opératoire) que sont la chimiothérapie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la thérapie ciblée, seule ou en association. Malgré leur bénéfice certain, ils engendrent de lourds effets secondaires.

## 9-1 La chirurgie

La chirurgie est en général la première ligne de prise en charge thérapeutique. Elle varie en fonction du stade et du potentiel évolutif de la tumeur.

Dans les cas les plus agressifs, on réalise une mastectomie radicale qui consiste en une ablation complète du sein, des muscles pectoraux avec curage axillaire systématique (**Figure N°10 A**). Cependant, on favorise des traitements de plus en plus conservateurs pour les cancers les moins avancés. On peut réaliser une mastectomie partielle qui consiste en l'exérèse d'une partie seulement de la glande mammaire avec une exploration par la procédure du ganglion sentinelle du creux axillaire afin d'éviter son évidement complet et ses conséquences potentiellement invalidantes.

Une tumorectomie peut également être réalisée (tumeur de petite taille  $\leq 2\text{cm}$ ). Elle consiste en une exérèse locale de la tumeur, en préservant au maximum la glande mammaire (**Figure N°10 B**) ([MARIE, 2019](#)).



**Figure N°10 :** Photographie comparative entre la mastectomie et la tumorectomie ([Anonyme 02](#))

## 9-2 La Chimiothérapie

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus chimio-sensibles ([SAGLIER et al., 2003](#)). La chimiothérapie peut être utilisée en situation néo-adjuvante pour réduire la taille de la tumeur et permettre ainsi un traitement chirurgical conservateur, en situation adjuvante ainsi qu'en situation métastatique.

Le principe de la chimiothérapie est d'empêcher la division des cellules engagées dans le cycle cellulaire. Les substances utilisées à cet effet sont capables d'endommager les cellules, elles sont dites cytotoxiques. Dans l'objectif de réduire les résistances précoces, la poly-

chimiothérapie est plus souvent utilisée par rapport à la mono-chimiothérapie (ARNAUD *et al.*, 2013).

Malgré l'efficacité de cette thérapie, sa non spécificité est un inconvénient majeur car les agents chimiothérapeutiques attaquent l'ensemble des cellules en division sans aucune distinction entre les cellules saines et les cellules tumorales. Elle présente donc de nombreux effets secondaires tels que l'alopécie, anémie, immunodépression, diarrhées et vomissements...etc.

Les principaux médicaments antimétabolites utilisés dans le cancer du sein sont :

- Les **Taxanes** qui stabilisent exagérément le fuseau mitotique empêchant ainsi les cellules de se séparer ;
- Les **Antracyclines** qui s'intercalent entre les brins d'ADN et inhibent l'activité de la topoisomérase II qui permet la fusion des brins préalable à leur réplication ;
- Les **Antimétabolites** qui inhibent la synthèse de l'ADN en bloquant l'activité de la thymidylate synthase dont le rôle est la biosynthèse de la thymidine.

Une méta analyse regroupant des essais randomisés sur l'usage de la chimiothérapie adjuvante a démontré que cette dernière pouvait réduire le risque de mortalité par cancer mammaire de 30 à 40% par rapport aux patientes sans chimiothérapie (PETO *et al.*, 2012). De nos jours, 60 à 70% des patientes atteintes de cancer du sein bénéficient systématiquement d'une chimiothérapie en post chirurgie (BENDIB, 2023).

### 9-3 La radiothérapie

La radiothérapie est un traitement locorégional utilisant des rayons ciblés pour détruire les cellules tumorales et ce en lésant leurs chromosomes ce qui bloque leur division et induit la mort cellulaire. Il existe deux types de radiothérapies :

- La radiothérapie externe : elle est réalisée par un accélérateur linéaire de particules (Rayons X ou électrons). La destruction des cellules cancéreuses se fait à travers la peau. Elle représente la technique la plus utilisée.
- La curiethérapie : elle utilise des rayonnements gamma délivrés par des sources radioactives placées dans la tumeur et à son voisinage (**Figure N°11**). Elle est utilisée pour des tumeurs accessibles et de petit volume.



**Figure N° 11** : Photographie représentative de la curiethérapie ([Anonyme 02](#))

La radiothérapie peut être préopératoire permettant la régression tumorale, mais le plus souvent elle est délivrée après la chirurgie, qu'elle soit conservatrice ou pas. Les sites irradiés peuvent être le sein opéré, le lit tumoral, les aires ganglionnaires (axillaires, sus-claviculaires, mammaires internes), la paroi thoracique et certaines localisations métastatiques ([MOUSSEAU et al., 2002](#)). Le but de la radiothérapie est de limiter le risque de récurrence locale et régionale ainsi que la diminution du risque de métastases secondaires.

Il peut s'agir d'une IPS (Irradiation Partielle du sein) ou d'une ISE (Irradiation du Sein Entier). Dans ce domaine-là, une méta-analyse très récente incluant 9758 patientes a été réalisée en effectuant une recherche dans la base de données de MEDLINE (2005-2020). L'objectif est de comparer l'efficacité et la toxicité de l'IPS et de l'ISE en évaluant le taux de récurrence de la tumeur dans le sein ipsilatéral. L'étude a conclu que l'IPS n'est pas moins efficace que l'ISE, mais elle est moins toxique. De plus, le type d'IPS n'a eu aucun impact sur la conclusion de la méta-analyse, qu'elle soit faite en curiethérapie ou en radiothérapie externe ([SHAH et al., 2021](#)).

#### **9-4 Hormonothérapie**

L'hormonothérapie est indiquée dès que la tumeur est positive pour les RH. Le but de l'hormonothérapie est de priver les cellules tumorales de cette influence hormonale inhibant ainsi la prolifération tumorale et/ou entraînant la mort des cellules cancéreuses. Il existe deux types d'hormonothérapie :

#### 9-4-1 Hormonothérapie suppressive

Il existe deux types d'hormonothérapie suppressive, selon que la femme soit ménopausée ou pas (SAGLIER *et al.*, 2003).

**Chez la femme non ménopausée**, la suppression de la production ovarienne d'œstrogènes peut se faire par castration irréversible (chirurgicale ou radiothérapique) ou par castration réversible (castration médicale) en utilisant des agonistes de la LH-RH (*Luteinizing Hormone Releasing Hormone* (ou GnRH : *Gonadotropin Releasing Hormone*) (JONES *et al.*, 2004). Ce sont des médicaments présentés sous forme galénique à libération prolongée tel que la **triptoreline** (DECAPEPTYL®).

**Chez la femme ménopausée**, la suppression de la synthèse périphérique des œstrogènes (conversion des androgènes surrénaliens) se fait via des inhibiteurs de l'aromatase (anti-aromatases) qui représentent l'hormonothérapie de référence pour cette catégorie de patiente. En effet, plusieurs auteurs rapportent une bonne survie sans rechute avec une bonne survie globale (BLISS *et al.*, 2012).

Les anti-aromatases sont des médicaments qui entrent en compétition avec l'aromatase. **Les anti-aromatases de nature stéroïdienne** (type I) inhibent directement l'enzyme aromatase (exemestane AROMASINE®) alors que ceux **de nature non stéroïdienne** agissent sur le coenzyme du complexe enzymatique c'est-à-dire sur la réductase tel que l'**Anastozole** (ARIMIDEX®). Dans les deux cas, l'androgène T (figure 12) ne sera pas converti en œstrogène.

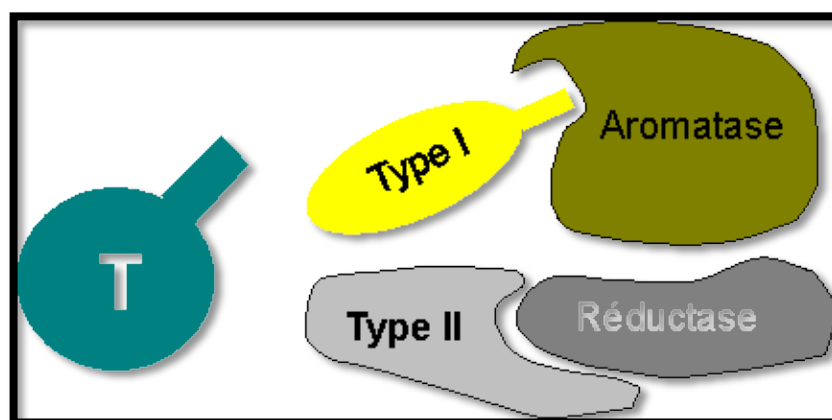


Figure N°12 : Représentation schématique de l'action des deux types d'anti-aromatase

#### 9-4-2 Hormonothérapie compétitive

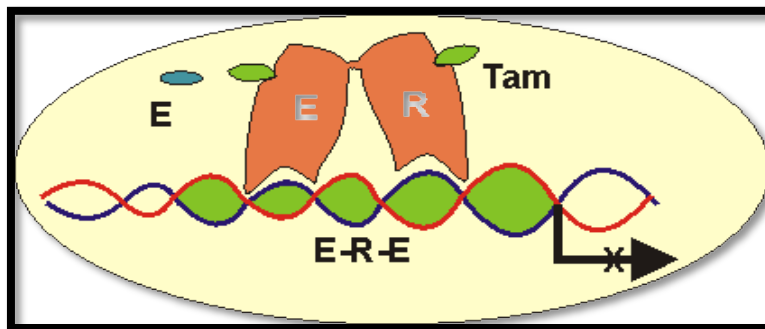
L'hormonothérapie compétitive repose sur l'utilisation d'anti-œstrogènes qui sont des inhibiteurs compétitifs des œstrogènes. Il existe deux types d'anti-œstrogènes :

- **Les anti-œstrogènes partiels** : SERM (*Selective Estrogen Receptor Modulator*) (modulateurs sélectifs des RE)

Leur mécanisme d'action est assez complexe et est dû à leur structure tridimensionnelle qui favorise un effet antagoniste dans la glande mammaire et les cellules tumorales. En effet, la molécule se lie au récepteur œstrogénique dans le cytoplasme, migre vers le noyau mais il n'y a pas de transcription comme dans le cas de fixation des œstrogènes (**figure N°13**).

Les SERM sont des agonistes-antagonistes, tissus et promoteurs spécifiques. En effet, le RE présente une fonction ligand-dépendante (inhibée par les SERM) et une fonction ligand-indépendante. Or les SERM activent cette dernière dans certains tissus et présentent ainsi, une activité œstrogénique sans fixation des œstrogènes. Cela dépend également de la quantité de coactivateurs et de corépresseurs présents dans le tissu (SHANG *et al.*, 2002). Cette activité agoniste est bénéfique dans l'os par exemple (préservation du capital osseux) mais néfaste dans l'utérus (augmentation du risque d'adénocarcinomes)

La molécule la plus utilisée est le **Tamoxifène** (NOLVADEX) : Il présente une affinité pour le RE équivalente à 2,5% de celle du 17 $\beta$ -œstradiol.



**Figure N° 13** : Mode d'action du Tamoxifène (DE CREMOUX *et al.*, 2004).

- **Les anti-œstrogènes totaux** : SERD (*Selective Estrogen Receptor Degradation*). Les anti-œstrogènes totaux sont des antagonistes pures à activité exclusivement antagoniste. Ils se fixent sur les RE avec une meilleure affinité que les anti-œstrogènes partiels. Cependant, ils ne permettent ni la dimérisation du récepteur ni sa translocation et bloquent même son recrutement au niveau des éléments de réponse aux œstrogènes (ERE) sur l'ADN. Cela est dû à l'instabilité du complexe « RE-anti-œstrogènes totaux »

qui est rapidement dégradé par le protéasome suite à sa polyubiquitylation, diminuant ainsi le niveau de RE cellulaire (BERRY *et al.*, 2008).

Ex : FASLODEX (ICI 182.780) : Il présente une affinité pour le RE équivalente à 89% de celle du 17β-œstradiol.

Il existe certains cancers hormono-dépendants résistants aux traitements hormonaux. Heureusement de nouvelles molécules ont été développées pour palier à ce problème. Parmi elles les inhibiteurs des CDK 4/6 (plabociclib, ribociclib, abemociclib), qui couplées à d'autres molécules tel que le fluvstrant ont abouti à un gain thérapeutique confirmé (LE DU *et al.*, 2019).

### 9-5 Thérapie ciblée Anti HER2

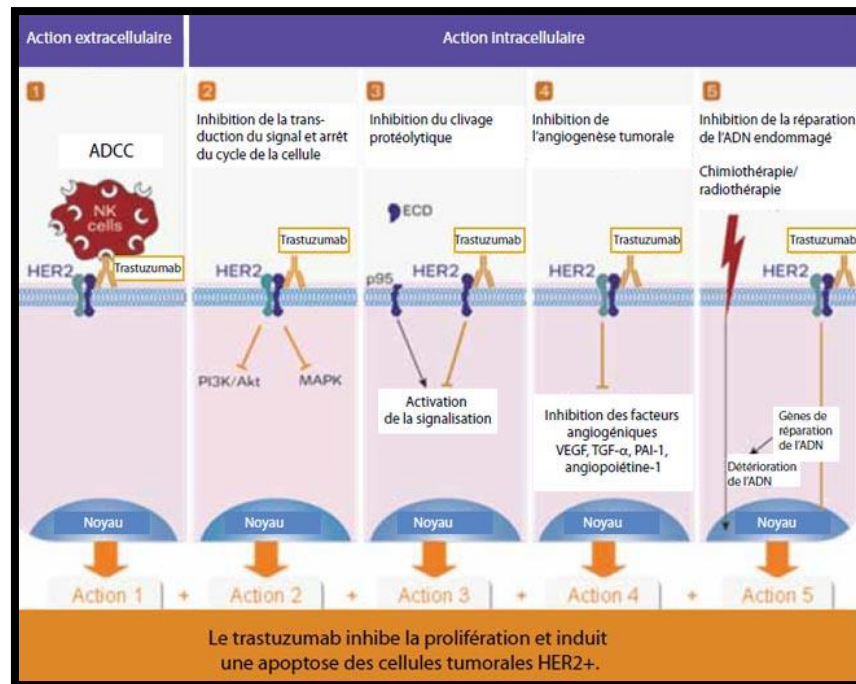
L'amplification du gène et donc de la surexpression du récepteur de facteur de croissance HER2 dans certains cancers du sein a conduit au développement d'un traitement ciblé. Différentes molécules sont utilisées telles que :

**-Le Trastuzumab (HERCEPTINE)** : Il s'agit d'un anticorps monoclonal murin de type IgG1 humanisé dirigé contre le domaine extracellulaire de HER2. Il a été approuvé par *United States Food and Drugs Administration* (FDA) en 1998. Initialement utilisé pour tous les types de cancer du sein HER2+, aujourd'hui il est plutôt prescrit dans ces types de tumeurs aux stades précoces conformément aux recommandations de la haute Autorité de Santé de l'Agence Européenne du médicament. Sinon en association avec d'autres molécules récemment découvertes, en cas de cancer métastatique ou localement récidivant (COTTU *et al.*, 2020).

Les mécanismes les plus connus de son effet anti-tumoral sont (Figure N° 14) :

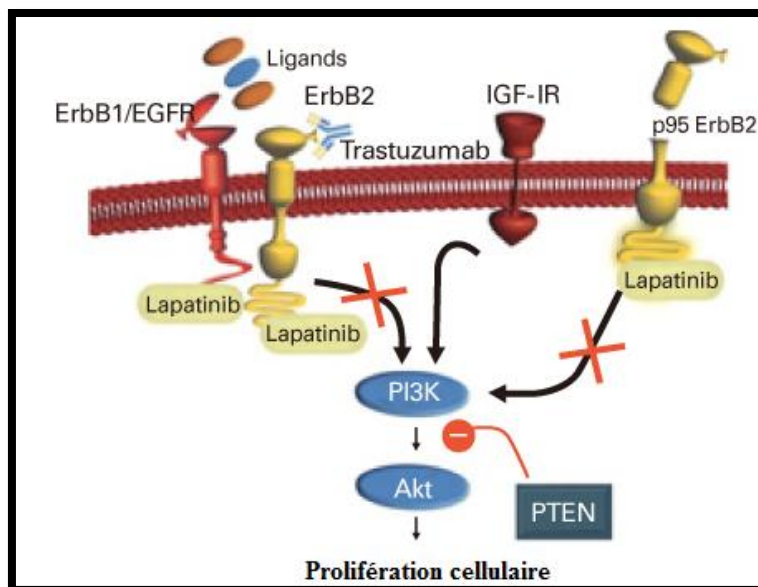
- Régulation négative de la synthèse du récepteur HER2 ;
- Interaction synergique avec des molécules cytotoxiques (sels de platine et les taxanes) (PEGRAM *et al.*, 2004) ;
- Le trastuzumab favorise l'internalisation du complexe anticorps-récepteur, puis sa dégradation par le protéasome par la voie Cbl-E3 ligase en inhibant la dimérisation d'HER2 (VALABREGA *et al.*, 2005) ;
- Propriétés très cytostatiques par inhibition de la voie de survie PI3K/AKT et de la voie de prolifération MAPK (SILWKOWSKI *et al.*, 1999) ;
- Inhibition du clivage du domaine extracellulaire (MOLINA *et al.*, 2001) ;

- Inhibition de l'angiogénèse par diminution des facteurs angiogéniques (VEGF, TGF- $\alpha$ ...) (IZUMI *et al.*, 2002) ;
- Inhibition des gènes de réparation de l'ADN (préalablement détériorés par chimiothérapie et/ou radiothérapie) ;



**Figure N°14 :** Mode d'action du Trastuzumab (Herceptine) (SINGER *et al.*, 2008).

**-Le Lapatinib :** Le Lapatinib est une petite molécule de la famille des 4 anilinoquiazoline qui inhibe l'activité tyrosine Kinase des récepteurs HER1 et HER2. Il agit sur plusieurs effecteurs intracellulaires, inhibe les signaux de prolifération en neutralisant la voie MAPkinase et les signaux de survie cellulaire en inhibant la voie PI3K /AKT (**Figure N°15**) (VOIGTLAENDER *et al.*, 2018).

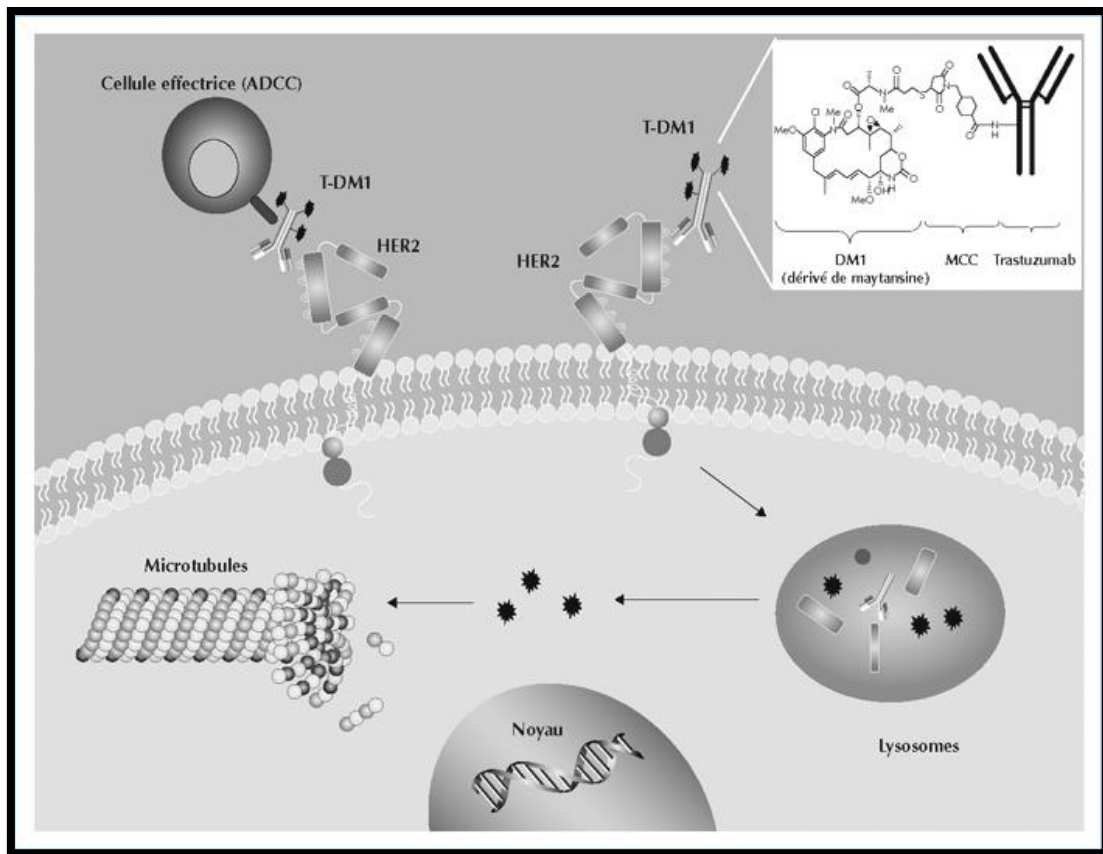


**Figure N°15** : Mode d'action du Lapatinib (VOGEL *et al.*, 2010)

**-Trastuzumab emtansine T-DM1 (KADCYLA)** : Le trastuzumab emtansine (T-DM1) approuvé en 2013, est une combinaison de deux molécules (médicament conjugué) : le Trastuzumab et le DM1 dérivé de la maytansine lié par une liaison thioéther stable MCC (N-maleimidométhyl cyclohexane-1-carboxylate). Le trastuzumab est donc l'anticorps monoclonal humanisé dirigé contre HER2. Il conserve l'intégrité de ses mécanismes anticancéreux malgré sa conjugaison à DM1.

Le DM1 est un puissant agent cytotoxique dont le mécanisme d'action consiste à inhiber la polymérisation de la tubuline provoquant la mort cellulaire. La toxicité de DM1 est plusieurs fois supérieure à celle des agents de chimiothérapie. De plus, après plusieurs cycles de traitements, aucune accumulation de TDM1 n'a été observée (HUNTER *et al.*, 2020).

La séquence thioéther MCC est stable dans la circulation et ne se désintègre qu'après dégradation lysosomale. En bref, l'anticorps se fixe sur le récepteur HER2 des cellules tumorales puis le complexe TDM1-HER2 est endocyté. Cette internalisation est suivie de la libération d'enzymes protéolytiques qui, avec l'environnement acide du compartiment lysosomal, induisent la dégradation de la liaison MCC et donc la libération de DM1 dont l'action anti-microtubulaire induit la mort de la cellule cancéreuse (**Figure N° 16**) (ERICKSON *et al.*, 2006).



**Figure N° 16 :** Mode d'action du Trastuzumab emtansine (T-DM1) (VACHER *et al.*, 2012)

Le T-DM1 est généralement prescrit en cas de cancer HER2+ métastatique ou localement avancé (COTTU *et al.*, 2020).

Cette molécule a fait l'objet d'un essai clinique de grande envergure, des travaux ont montré que le groupe T-DM1, comparativement au groupe Trastuzumab a obtenu une amélioration de 50% de la survie sans maladie et un risque 40% plus faible de récurrences à long terme. Suite à ces résultats, l'ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) a ajouté une recommandation en 2020, en modifiant la pratique courante et en appelant à administrer du T-DM1 en cas de maladie résiduelle chez les patientes souffrant de cancer du sein précoce après avoir terminé une chimiothérapie préopératoire standard et un traitement ciblant l'HER2 (DENDULURI *et al.*, 2020).

**-Pertuzumab (PERJETA) :** Le pertuzumab est un anticorps humanisé recombinant qui cible spécifiquement le domaine de dimérisation extracellulaire (sous domaine II) du récepteur HER2. Cela induit un blocage de l'hétérodimérisation ligand-dépendante avec les autres

récepteurs HER (HER3, HER4...). Le pertuzumab permet donc d'inhiber l'activation des voies de signalisation ligand-dépendante entraînant un arrêt de la prolifération cellulaire et l'apoptose. Initialement, le pertuzumab faisait partie uniquement de l'arsenal thérapeutique des cancers HER2+ au stade métastatique, en accord avec les recommandations Européennes de 2017 (COTTU *et al.*, 2020).

Plus récemment, la molécule a obtenu une nouvelle autorisation de mise sur le marché (AMM) Européenne, en association au Trastuzumab et à une chimiothérapie dans les traitements adjuvants des cancers HER2+ précoces à haut risque de récurrence (TESCH *et al.*, 2020).

L'importance des nouvelles thérapies qui ont été récemment autorisées a été évaluée par une étude américaine menée sur plusieurs années de 2000 à 2016. Cette dernière a prouvé une nette réduction de la mortalité grâce aux nouvelles molécules. Dans le cas du cancer du sein le nombre de décès évité était de 127874 ( $P < 0,001$ ) (MAC EWAN *et al.*, 2020).

## 9-6 Traitement du cancer du sein type basal (triple négatif)

Une étude suédoise a été publiée dans la revue *Nature Medicine* en 2018. Les chercheurs se sont penchés sur une nouvelle stratégie de prise en charge des cancers de type basal dits également triples négatifs. En effet, ces derniers représentent 10 à 15% des cancers du sein et sont plus agressifs car insensibles à l'hormonothérapie et à la thérapie ciblée anti-HER2.

La base du traitement repose sur la communication entre les cellules cancéreuses et le tissu conjonctif qui entoure la tumeur. En effet, un facteur de croissance PDGF-CC qui transmet l'information entre les cellules tumorales et les cellules du tissu conjonctif a été mis en évidence à un niveau élevé dans les cellules tumorales. Ce dernier a été associé à un mauvais pronostic. Les modèles expérimentaux ont donc porté sur l'inhibition du facteur de croissance PDGF-CC via un médicament. Suite à cette inhibition, le cancer du sein triple négatif est devenu sensible aux traitements hormonaux (ROSWALL *et al.*, 2018).

Les immunothérapies sont également en cours d'étude telles que : les anticorps anti-HER1, les anti-VEGF (bévacizumab)..., ces derniers sont également à l'étude associés à des protocoles de chimiothérapie (PASSILDAS, 2019).

Une nouvelle stratégie thérapeutique contre les cancers réfractaires de type basal est également en cours d'étude et a reçu l'approbation de la FDA pour une première phase d'essai clinique en 2021. Les recherches ont été menées à l'université du Québec à Montréal (UQAM). En effet, le professeur Annabi et son équipe ont travaillé sur une plateforme de vectorisation de médicaments et ont mis au point le TH1902. Ce dernier est une combinaison de deux molécules, le docétaxel qui est un médicament faisant déjà partie de l'arsenal thérapeutique anti-cancéreux et un peptide qui cible spécifiquement les récepteurs de la sortiline (SORT1+). Les récepteurs de la sortiline sont surexprimés dans plusieurs types de cancer, dont le cancer du sein triple négatif. La technologie mise au point cible donc spécifiquement les protéines SORT1+ surexprimées à la surface des cellules cancéreuses, servant ainsi de porte d'entrée pour amener le médicament à l'intérieure des cellules.

Les résultats précliniques du TH1902 ont été très prometteurs dans les cancers du sein de type basal. Il a été démontré que chez les animaux, le traitement ralentit la croissance tumorale, voir même l'élimine complètement et ce, sans causer les effets secondaires redoutés de la chimiothérapie tels que la neutropénie, la perte de poids...etc ([DEMEUL et al., 2021](#))

# VIRUS D'EPSTEIN BARR (EBV)

## 1-Présentation et classification du virus

Le virus d'Epstein-Barr qui porte le nom de ceux qui l'on découvert en 1964 appartient à la famille des *Herpesviridea*, sous famille des *Gammaherpesvirinae*, genre *lymphocryptovirus* (virus caché dans les lymphocytes).

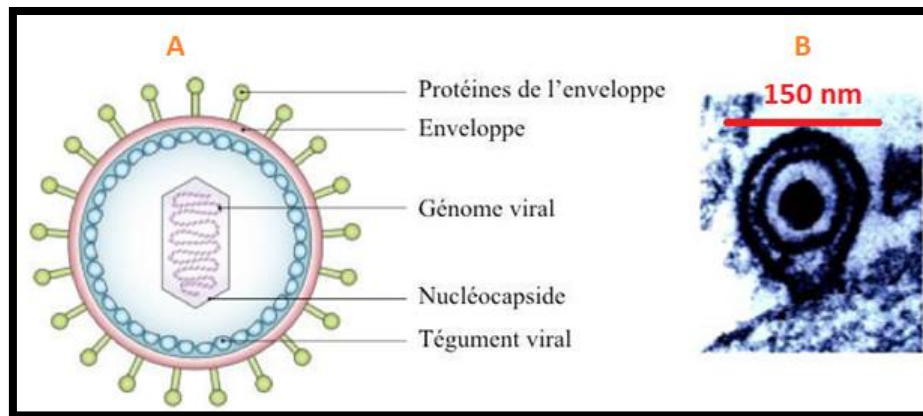
Ce virus ubiquitaire se transmet essentiellement par voie salivaire et est responsable d'infections dites latentes (persiste tout au long de la vie de l'individu infecté) de manière asymptomatique.

Au laboratoire, l'EBV ou HHV4 (*Human Herpes Virus 4*) est capable de transformation maligne des cellules épithéliales, d'immortalisation des lymphocytes B et d'induction de cancer chez l'animal (WEN *et al.*, 2022).

## 2-Structure du virus d'Epstein-Barr

La structure d'EBV est semblable à tous les herpes-virus. D'un diamètre d'environ 150 nm, il est organisé de l'intérieure vers l'extérieure comme suit (KIEFF *et al.*, 2007) (figure N°17) :

- Un **génom**e viral sous forme d'ADN linéaire double brin ;
- Une **nucléocapside** de forme icosaédrique qui entoure le génome et qui comprend 162 capsomères (sous-unités), elle mesure 100nm environ ;
- Un **tégument** qui est un ensemble fibrillaire asymétrique de phosphoprotéines entourant la capside. Il est composé de protéines virales et cellulaires telles que la tubuline, protéines de choc thermique 70 et 90 et cofiline qui sont impliquées dans les étapes de maturation de la protéine virale et dans les étapes précoces de l'infection (JOHANNSEN *et al.*, 2004) ;
- Une **enveloppe lipidique** dérivant des membranes nucléaire ou plasmique de la cellule hôte au niveau de laquelle le virus exprime ses antigènes membranaires de nature glycoprotéique qui conditionnent l'infectiosité du virus dans les premières étapes de l'infection (adsorption, fusion, pénétration). L'EBV perd son pouvoir infectieux dès lors que cette membrane est endommagée.



**Figure N°17 : A.** structure du virion d'Epstein-Barr

**B.** particule virale EBV observée en microscopie électronique (YOUNG et al., 2004).

### 3-Structure du génome viral

Le génome d'EBV est un ADN linéaire double brin d'environ 172 Kb. Il est organisé de façon semblable à celui des autres lymphocryptovirus.

Il est constitué de deux domaines uniques :

- Une région codante courte US (*Short Unique region*) de 1500 pb ;
- Une région codante longue UL (*Long Unique region*) de 150 000 pb qui comporte les séquences répétées IR2, IR3 et IR4 qui la divisent en quatre domaines uniques U2, U3, U4 et U5.

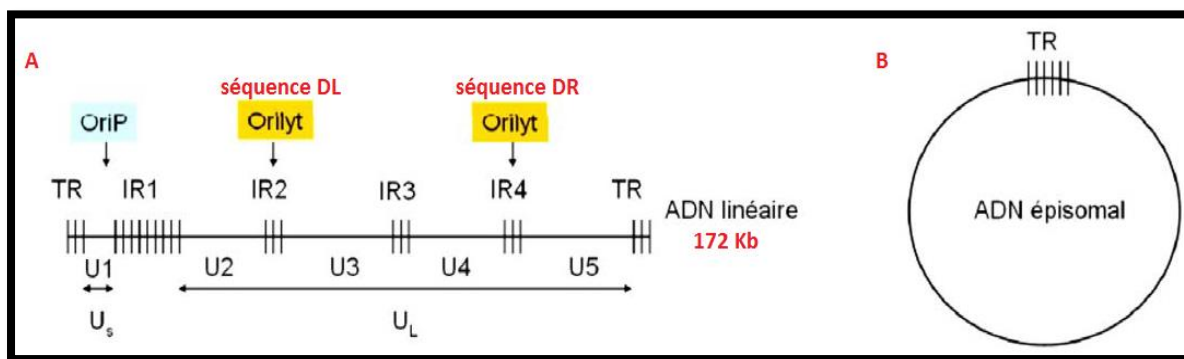
Ces deux domaines sont séparés par des séquences répétées en tandem appelées IR1 (*Internal Repeat 1*). Le tout est bordé à ses extrémités par deux séquences répétitives TR (*Terminal Repeat*), qui permettent la circularisation du génome viral (YOUNG et al., 2007) (**figure 18A**). En effet, dans la particule virale, le génome se trouve sous forme linéaire. En revanche, dans les cellules hôtes, le virus se circularise grâce à la fusion des TR et persiste sous forme épisomale (KIEFF et al., 2007) (**figure N°18B**).

Des séquences homologues de 1Kpb ont été détectées. L'une à côté de IR2 (séquence DL), l'autre à côté de IR4 (séquence DR). Elles représentent les deux origines de réplication lytique d'EBV (Ori Lyt) fonctionnelles durant la phase productive. L'EBV possède également une origine de réplication latente (Ori P) qui permet le maintien du virus sous forme épisomale (**figure N°18A**). Cette forme peut persister tout au long de la vie de l'hôte de manière latente,

le génome viral se réplique donc de manière synchrone au génome de la cellule infectée en utilisant l'origine de répllication Ori P (HAMMERSCHMIDT *et al.*, 1988). Dans cet état, quelques gènes viraux continuent à s'exprimer et contribuent à l'apparition des cancers.

Dans de rares cas, l'ADN d'EBV semble même pouvoir s'intégrer dans le génome de la cellule hôte (TAKAKUWA *et al.*, 2005).

Le génome d'EBV code pour environ quatre-vingt protéines. Certaines sont responsables de la latence permettant la persistance du virus dans la cellule en absence de synthèse de nouvelles particules virales. D'autres du cycle lytique et sont principalement des protéines de structure, des enzymes de transcription et de répllication virale (TSELIS, 2013).



**Figure N°18 : A.** Représentation schématique de l'ADN linéaire d'EBV (infection lytique)  
**B.** Représentation schématique de l'ADN épisomal d'EBV (infection latente) (YOUNG *et al.*, 2003).

## 4-Protéines virales

L'EBV étant capable d'exécuter deux programmes d'expression géniques distincts (cycle lytique et cycle latent), il synthétise deux groupes de protéines :

### 4-1 Protéines de latence

La latence virale permet la persistance du virus dans la cellule hôte sans production de virus et avec une expression réduite d'antigènes viraux.

On compte onze gènes de latence, regroupés en trois principales familles :

- La famille de gènes codant pour les six protéines nucléaires **EBNA** (*EBV Nuclear Antigen*) : **EBNA1, EBNA2, EBNA 3A, EBNA 3B, EBNA 3C, EBNA LP.**

- La famille de gènes codant pour les trois protéines membranaires **LMP** (*Latent Membrane Protein*) : **LMP1, LMP 2A, LMP2B**.
- La famille de gènes transcrits en deux ARN **EBER** (*Epstein-Barr Encoded small RNA*) : **EBER1** et **EBER2** qui ne sont pas traduits en protéines.

Différents profils d'expression de ces gènes ont été décrits *in-vivo* et *in-vitro* aboutissant à différents stades de latence. Ces stades ainsi que les principales fonctions de ces protéines sont résumés dans le tableau ci-dessous (**tableau III**) ([LARRAT, 2010](#)).

**Tableau III** : Stades de latence et principales fonctions des protéines de latence d'EBV.

<b>Protéines</b>	<b>Localisation</b>	<b>Latence</b>	<b>Fonctions principales</b>
<b>EBNA1</b>	Nucléaire	I, II, III	Maintien du génome viral sous forme épisomale.
<b>EBNA2</b>	Nucléaire	III	Immortalisation des lymphocytes B ; Activateur de transcription cellulaire et virale.
<b>EBNA 3A (EBNA3)</b>	Nucléaire	III	Répresseur de l'action d'EBNA2 ; Se lie à RBP-jkappa ; Participe à l'immortalisation des lymphocytes B.
<b>EBNA 3B (EBNA4)</b>	Nucléaire	III	Inconnue ; Se lie à RBP-jkappa.
<b>EBNA 3C (EBNA6)</b>	Nucléaire	III	Répresseur de l'action d'EBNA2 ; Action sur le cycle cellulaire ; Se lie à RBP-jkappa ; Participe à l'immortalisation.
<b>EBNA LP (EBNA5)</b>	Nucléaire	III	Cofacteur d'EBNA2 ; Interagit avec p53 et Rb.
<b>LMP1</b>	Membranaire	II, III	Oncogène majeur transducteur de signaux via TRAF vers NF-κB et JNK ; Induit bcl2.
<b>LMP 2A</b>	Membranaire	II, III	Prévient la réactivation virale.
<b>LMP 2B</b>	Membranaire	II, III	Inconnue.

Il existe des transcrits de la région BAMH1A qui sont exprimés quel que soit la forme d'infection (latente ou lytique), ces derniers codent pour des protéines BARF0, RK-BARF0, A73 et RPMS1 dont les rôles sont encore mal connus.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée plus particulièrement à la protéine LMP1 qui est l'oncoprotéine majeur de l'EBV, c'est pour cette raison qu'elle sera décrite de façon plus approfondie.

#### - Description de la protéine de latence LMP1

LMP1 (*Latent Membran Protein 1*) est une protéine membranaire de 62 KDa, composée de 386 acides aminés. Elle comprend 3 régions (**figure N° 19**) :

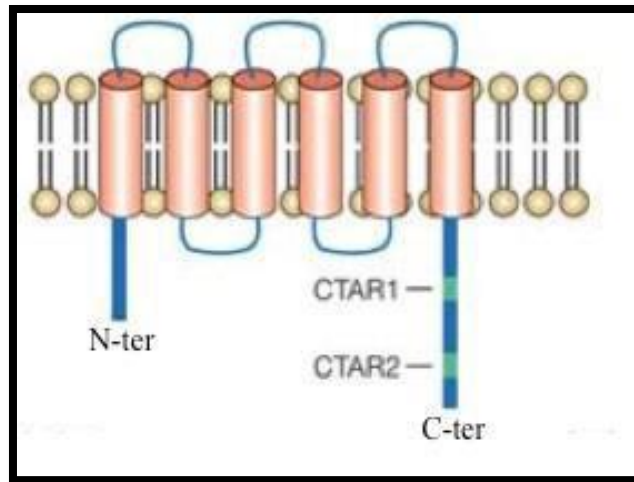
- Une courte région N-terminale cytoplasmique de 24 acides aminés qui permet l'orientation de la protéine dans la membrane et son ubiquitinylation ([AVIEL et al., 2000](#)) ;
- Six domaines transmembranaires hydrophobes impliqués dans l'oligomérisation de la protéine, l'encrage dans la partie lipidique et la signalisation ([HIGUCHI et al., 2001](#)) ;
- Une longue queue C-terminale cytoplasmique de 200 acides aminés, composée de deux domaines CTAR1 et CTAR2.

Les deux domaines CTAR permettent l'engagement de molécules effectrices, responsables de la signalisation de LMP1. En effet, ces derniers interagissent directement avec les membres de la famille TRAF (*TNFR-Associated Factor*) via CTAR1 grâce à son site de liaison (PQQAT) qui est également impliqué dans la signalisation du récepteur CD40, récepteur considéré comme l'équivalent cellulaire de LMP1 ([MAINOU et al., 2007](#)).

CTAR2, quant à lui, interagit avec TRADD (*TNFR-Associated Death Domain*) et RIP (*Receptor-Interacting Protein*). Grâce au recrutement de ces adaptateurs, LMP1 peut interagir avec diverses protéines et activer plusieurs voies de signalisation cellulaire.

Les CTAR sont donc responsables de la transduction des signaux de la protéine LMP1 ([KILGER et al., 1998](#)).

LMP1 est un récepteur qui ne nécessite pas de ligand et qui est considéré comme constitutivement actif (ligand indépendant), ce qui le rend apparenté à la famille des TNFR (*Tumor Necrosis Factor Receptor*) notamment au CD40. En effet, LMP1 a pu partiellement substituer le CD40 chez des souris transgéniques qui en sont dépourvus ([HÖMIG-HÖLZEL et al., 2008](#)).



**Figure N°19** : Structure de la protéine LMP1 (KHANNA et *al.*, 2005).

#### - Rôles de la protéine de latence LMP1

L'expression de LMP1 dans les cancers associés à l'EBV est positivement corrélée à la prolifération et l'immortalisation des cellules tumorales, ainsi qu'à l'invasion et l'angiogenèse (DAWSON et *al.*, 2012).

LMP1 étant un récepteur ligand-indépendant, il interagit avec diverses protéines cellulaires, affectant ainsi la croissance, la différenciation cellulaire et l'apoptose. Cette interaction se fait via les CTAR qui recrutent les TRAF, soit directement grâce à CTAR1 ou indirectement via les TRADD, les RIP et B69 dans le cas de CTAR2 (KILGER et *al.*, 1998) (**figure N°20**).

La famille des TRAF recrute par la suite des molécules de signalisation qui permettent à LMP1 l'induction des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP1 qui sont fortement impliqués dans le développement embryonnaire et l'oncogenèse (ELIOPOULOS et YONG, 1998).

Les voies PI3K (Phosphatidylinositol 3 Kinase) et JNK (c-Jun amino-terminal Kinase), sont également consécutivement activées (**figure N°20**), permettant respectivement la survie et la prolifération des cellules infectées (HÖMIG-HÖLZEL et *al.*, 2008).

LMP1 peut agir sur l'expression d'autres gènes tels que EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*), les molécules de la voie de transduction JAK/STAT et les facteurs anti-apoptotiques bcl2 (*B-cell lymphoma 2*), mcl-1 (*Myeloid cell leukemia 1*) et A20 protégeant ainsi les cellules de l'apoptose (FRIES et *al.*, 1996).

LMP1 pourrait aider à l'échappement au système immunitaire en contrôlant l'expression des chimiokines CCL17 et CCL22, les ligands de ces dernières permettent le recrutement de cellules Treg, qui sont un sous type de lymphocyte CD4 qui suppriment l'activité des lymphocytes CD8 empêchant la réponse immunitaire (JORAPUR *et al.*, 2022).

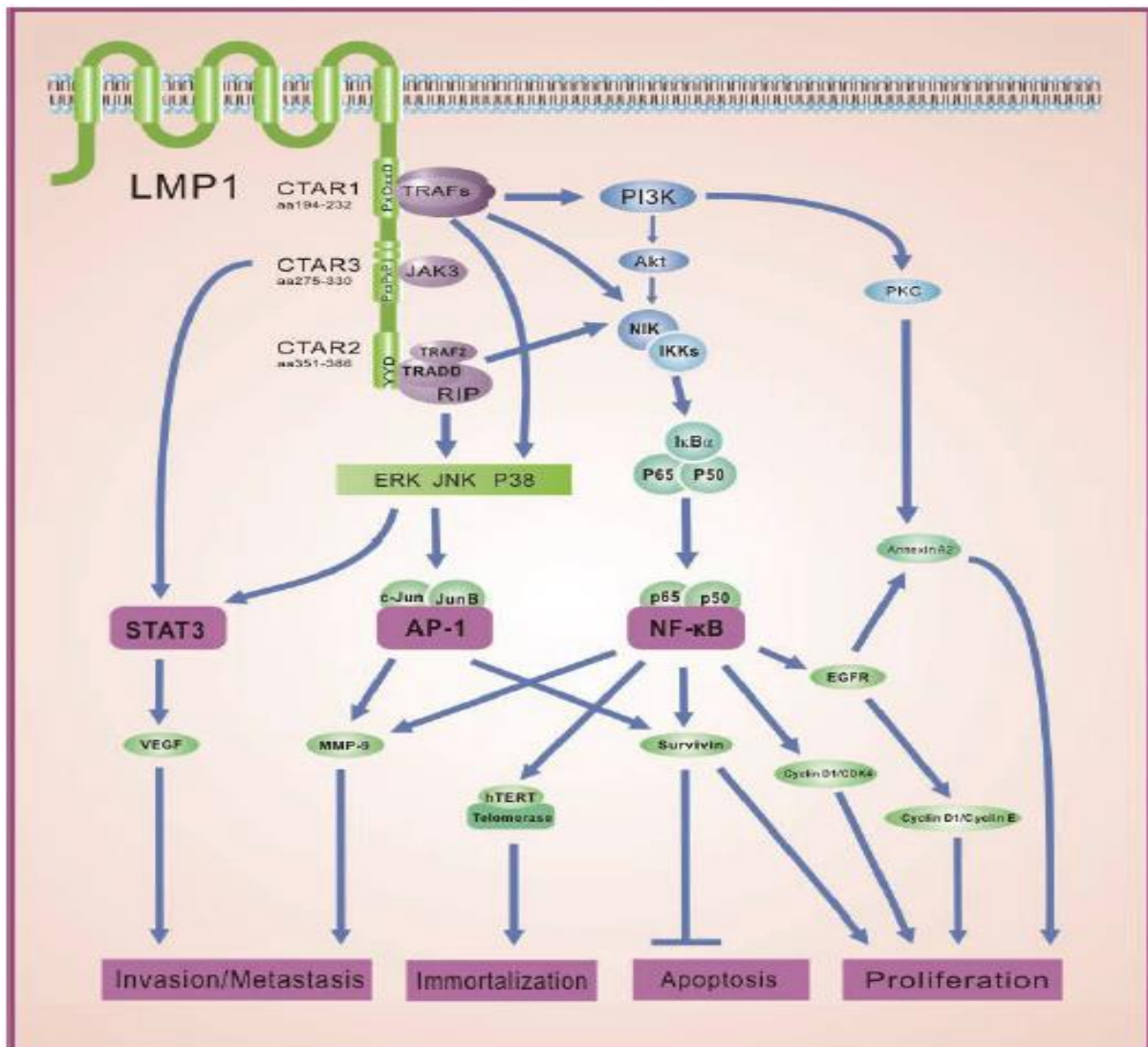
L'oncogénicité de LMP1 est aussi due à son pouvoir de régulation positive de l'expression de la protéine TAZ qui est essentielle à la prolifération des cellules (HE *et al.*, 2016).

LMP1 contribue au pouvoir métastatique des cellules infectées en induisant l'expression de certains facteurs angiogéniques (VEGF, FGF2, Cox 2...) et en inhibant l'expression des supresseurs de métastases tel que l'E-cadhérine par exemple (HAYASHI *et al.*, 2003).

LMP1 peut également se retrouver dans les exosomes, c'est-à-dire dans des vésicules extracellulaires altérant ainsi leurs fonctions. En effet, les exosomes modifiés par LMP1 améliorent la croissance, la migration et le pouvoir invasif des cellules malignes. Ce mouvement de LMP1 à travers les exosomes permet d'améliorer la progression des tumeurs liées à l'EBV. Cela signe également un certain contrôle de l'EBV du microenvironnement tumoral (HOUALI *et al.*, 2007, HURWITZ *et al.*, 2017).

L'expression de la protéine LMP1 est associée à un mauvais pronostic de survie dans le cas des lymphomes non hodgkiniens, ce qui n'est pas encore prouvé dans le cas des cancers du sein associé à l'EBV.

Une expérimentation prometteuse réalisée sur des souris a prouvé qu'un vaccin thérapeutique ciblant LMP1 pourrait supprimer la croissance tumorale et les métastases *in vivo* (LIN *et al.*, 2017).



**Figure N°20** : Voies de signalisation activées par les domaines CTAR1, CTAR2 et STAR3 (DAMANIA, 2004).

#### 4-2 Protéines du cycle lytique

La fabrication d'une particule virale d'EBV nécessite l'expression séquentielle des gènes du cycle lytique. Il s'agit d'un processus très ordonné où il y a d'abord expression des gènes très précoces IE (*Immédiate Early*) dont le produit active l'expression des gènes précoces EA (*Early Antigens*) qui à leur tour induisent la réplication du génome viral nécessaire à la transcription des gènes tardifs.

Ces protéines tardives (protéines de structure) sont essentielles à l'assemblage et à la maturation des particules virales infectieuses. Cependant, l'entrée en cycle lytique est liée en premier lieu à l'expression de la protéine transactivatrice **ZEBRA** (*Z-Epstein-Barr Replication Activator*) (ABID, 2017). En effet ; ZEBRA permet :

- L'activation de la transcription de son propre gène ;
- L'induction de l'expression des gènes très précoces et précoces ;
- L'induction de l'expression des gènes de structure ;
- La réplication de l'ADN viral.

## 5-Cycle biologique du virus d'Epstein-Barr

L'EBV possède un spectre d'hôte restreint à l'Homme (réservoir strictement humain). Plus de 90% de la population mondiale est infectée par le virus. La primo-infection est en général asymptomatique mais peut entraîner chez le jeune adulte une mononucléose infectieuse. L'Homme héberge donc en général le virus à l'état latent à l'intérieur des lymphocytes ou excrété de manière asymptomatique dans la salive, éventuellement dans les sécrétions génitales. Ce virus ubiquitaire se transmet donc essentiellement par la salive (maladie du baiser) et les relations sexuelles.

L'infection par EBV passe par trois principales étapes :

### 5-1-Attachement et entrée du virus dans les cellules cibles

Le virus pénètre dans l'épithélium oropharyngé et infecte ses cellules cibles notamment les lymphocytes B et les cellules épithéliales (NICOLAS, 2002).

L'infection est initiée par l'attachement du virus sur les lymphocytes B grâce à leur CD21 qui se lie à la glycoprotéine gp350/220 de l'enveloppe virale externe (FINGEROTH *et al.*, 1984). Ce mode d'attachement existe également pour les cellules épithéliales (**figure N°21a**) Cependant, certaines d'entre elles ne possèdent ni le CD21 ni le CMH II, ainsi, des études ont démontré que leur mécanisme d'infection pouvait être différent de celui des lymphocytes B.

Pour les besoins de notre étude nous nous intéresserons seulement à l'infection des cellules épithéliales dont le mécanisme n'est pas tout à fait clair. Cependant, plusieurs mécanismes de fixation ont été décrits :

-L'attachement d'EBV aux cellules épithéliales peut se faire par l'intermédiaire du complexe gp25/gp85 du virus avec un récepteur des cellules épithéliales non identifié présentant une fonction comparable au CMHII. Des auteurs ont pu démontrer qu'un virus déficient pour l'expression de la gp85 ne peut pas infecter les cellules épithéliales, d'où l'importance de cette glycoprotéine (MOLESWORTH *et al.*, 2000). La pénétration du virus se fait suite à la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire permettant la libération des nucléocapsides dans le cytoplasme. Après décapsidation, le génome viral linéaire migre vers le noyau, où il se circularise par recombinaison au niveau des TR pour établir un état de latence (HAAN *et al.*, 2000).

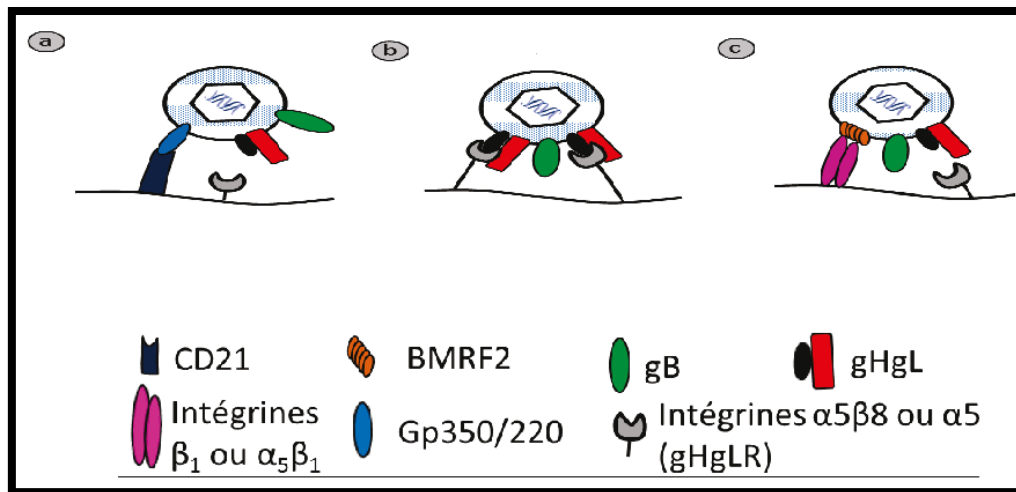
- Plus tard, il a été démontré que l'EBV peut également s'attacher aux cellules épithéliales grâce à son dimère gHgL qui se lie aux intégrines  $\alpha 5\beta 6$  et  $\alpha 5\beta 8$  cellulaires (**figure N°21b**) ou encore grâce à sa glycoprotéine BMRF2 qui se lie à l'intégrine  $\beta 1$  ou  $\alpha 5\beta 1$  (**figure N° 21c**) (HUTT-FLETCHER, 2007).

-L'infection peut se faire par l'intermédiaire des IgA anti-EBV. En effet, ces derniers peuvent pénétrer dans la cellule par endocytose via l'interaction de la molécule sécrétoire transmembranaire SC exprimée à la surface des cellules épithéliales (endocytose du complexe IgA/EBV permettant l'infection des cellules épithéliales).

-L'entrée de l'EBV dans les cellules épithéliales peut également se faire par la fixation des cellules B qui se lient aux cellules épithéliales induisant ainsi leur infection. Ce mécanisme de transfert d'infection (infection de cellules épithéliales par des cellules B déjà infectée) nécessite les gp85/gp25 (SHANNON-LOWE *et al.*, 2011 ; CHEN *et al.*, 2019).

-L'EBV est capable de se propager entre les cellules épithéliales adjacentes en traversant les membranes latérales au niveau des jonctions serrées (TUGIZOV *et al.*, 2003).

-Une étude récente a également identifié le facteur NRPI (Neutropilin1) comme facteur d'entrée d'EBV dans les cellules épithéliales (WANG *et al.*, 2015 ; CHEN *et al.*, 2019).



**Figure N°21** : Schéma représentatif de certains mécanismes d'attachement de l'EBV aux cellules épithéliales (HUTT-FLETCHER, 2007).

### 5-2-Latence et maintien du génome

La mise en place d'un programme de latence virale repose sur deux phénomènes interdépendants (MRIZAK, 2013) :

- Le premier est la répression du cycle lytique et le maintien du génome viral en situation intracellulaire, sous forme épisomale circularisée ;
- Le second est l'expression des gènes dits de latence dont les produits permettent entre autres, l'immortalisation des cellules infectées.

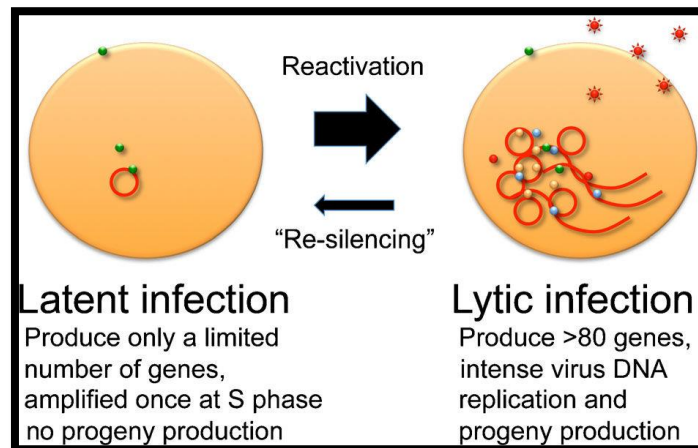
La réplication virale pendant cette phase est synchronisée avec celle de l'ADN cellulaire. Le maintien des épisomes viraux dans les cellules infectées se fait grâce à la protéine EBNA1 qui reconnaît des motifs ADN spécifiques, localisés sur l'origine de réplication plasmidique ORI P. Cette dernière contient des régions essentielles à la réplication en plus d'être spécifique à l'ADN polymérase cellulaire. Ainsi, la fixation d'EBNA1 sur ces séquences pourrait être à l'origine de l'initiation de la réplication et donc du maintien du génome viral.

Lors de cette phase de latence, un nombre limité de gènes est exprimé : les gènes de la famille EBNA, de la famille LMP ainsi que les gènes codant pour les ARN EBER et BART. Cependant, le profil d'expression de ces gènes de latence n'est pas identique dans tous les types cellulaires infectés par l'EBV. C'est ainsi qu'on distingue plusieurs types de latence (0, I, II et III).

La latence de type II est caractéristique du carcinome indifférencié du nasopharynx par exemple et est caractérisée par l'expression des protéines EBNA1, LMP1, LMP 2A et LMP 2B.

### 5-3-Réactivation (cycle lytique)

Le cycle lytique se caractérise par la réplication de l'ADN viral, la production des protéines de la phase lytique et la production de nouvelles particules virales, le tout en utilisant le bagage enzymatique cellulaire et viral. Le processus s'achève par la mort des cellules hôtes d'où le nom de cycle lytique. Cette phase permet au virus de renouveler son pool de cellules infectées ainsi que sa transmission interhumaine (MURATA, 2014) (figure N°22).



**Figure N°22** : Passage de la latence virale au cycle lytique (le cycle de vie biphasique de l'EBV) (MURATA, 2014).

En vert, les produits des gènes de latence exprimés de manière très limitée

En rouge, jaune et bleu, les produits des gènes du cycle lytique (plus de 80 gènes exprimés)

La réactivation virale peut être spontanée dans 2 à 5% des cellules infectées ou survenir suite à des stimuli extérieurs (hypoxie, stress...). Cette faible proportion de cellules qui entrent en cycle lytique est due aux protéines exprimées lors de la latence virale telle que LMP1 qui s'oppose en inhibant fortement le cycle lytique.

Il a été démontré que la protéine ZEBRA, également nommée Zta codée par le gène très précoce BZLF1 joue un rôle primordial dans le passage de l'état latent au cycle lytique. Elle est donc initiatrice de la réactivation et joue un rôle de commutateur (PETOSA *et al.*, 2006).

En effet, durant cette phase, les deux gènes viraux très précoces (*Immediate Early*) BZLF1 et BRLF1 qui codent respectivement pour les facteurs de transcription Zta (ZEBRA) et Rta (également appelée protéine R) sont exprimés. Ceci conduit à l'activation des gènes précoces tels que BMLF1 qui code la protéine Mta ou encore d'autres gènes dont les produits sont l'ADN polymérase virale..., .Ces derniers, vont permettre la formation du complexe de réplication

viral (synthèse de l'ADN) à partir de l'origine de réplication lytique (ori-lyt). C'est à partir de ces molécules d'ADN viral linéaires néoformées que sont transcrits les antigènes tardifs en l'occurrence ceux de la capside VCA (*Viral Capsid Antigen*) et de l'enveloppe MA (*Membran Antigen*) (KENNEY *et al.*, 2014).

Les précurseurs de la capside virale (pc) s'assemblent dans le noyau. L'ADN obtenu après réplication (ADN linéaire) est incorporé à l'intérieur de la capside formant une nucléocapside, un assemblage qui se fait dans le noyau. Les nucléocapsides mûres migrent vers la surface de la cellule et acquièrent leurs enveloppes à partir des membranes nucléaires et cytoplasmiques qu'elles traversent par bourgeonnement. Par ailleurs, la glycosylation des glycoprotéines membranaires se fait dans le réticulum puis dans le golgi au même temps que se met en place le tégument. La fusion des vésicules post golgiennes et de la membrane plasmidique permet la libération des virions et la lyse de la cellule (GRUNWALD *et al.*, 2003) (figure N°23).

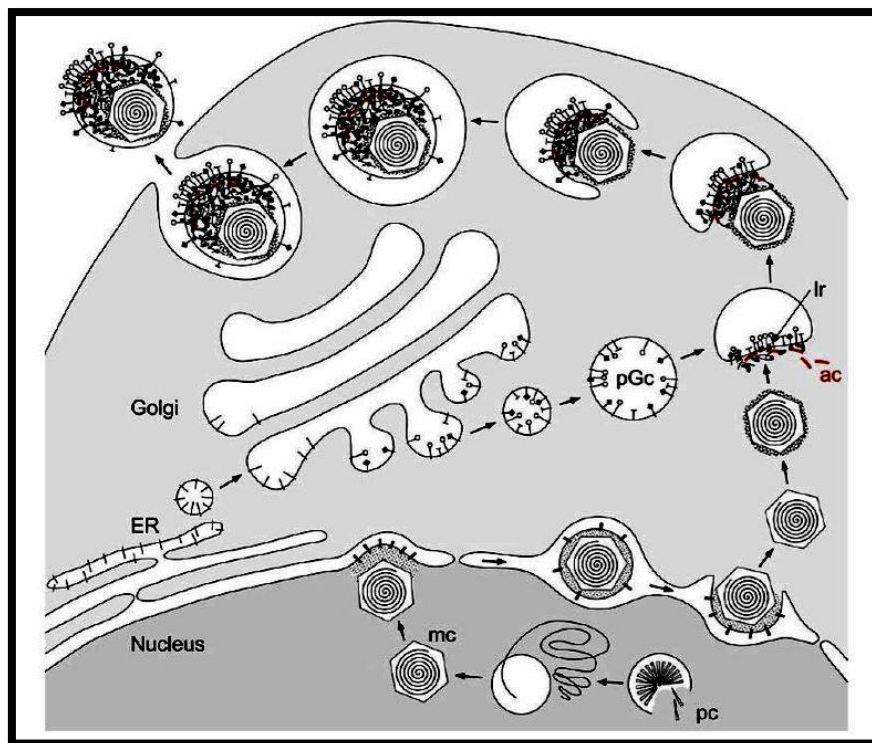


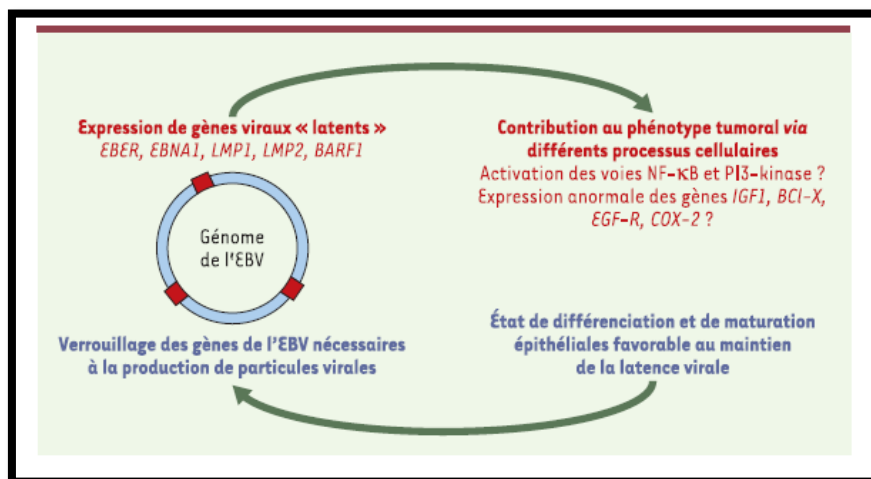
Figure N°23 : Représentation schématique du processus d'assemblage et de relargage du virion (GRUNWALD *et al.*, 2003)

## 6-Mécanismes cellulaires de la transformation maligne dépendante d'EBV (carcinogénèse) et voies de signalisation impliquées

La cancérogénèse dépendante d'EBV pourrait s'initier à partir de cellules épithéliales infectées de manière latente et qui présenteraient dans un second temps un événement génétique (délétion, hyperméthylation des promoteurs...).

L'infection des cellules épithéliales tumorales par l'EBV est monoclonale, ce qui suggère que l'infection virale précède l'expansion tumorale.

Il existe des interactions réciproques virus/cellules (**figure N°24**). En effet, le phénotype malin est entretenu grâce à des protéines codées par les gènes viraux (EBNA1, EBER1...) d'une part et d'autre part, un ensemble de facteurs cellulaires « verrouillent » les gènes du cycle viral productif qui permettent normalement la synthèse des particules virales.



**Figure N°24** : Représentation schématique des interactions virus/cellule dans les cellules épithéliales malignes de carcinome nasopharyngé (NPC).

L'infection virale est donc latente au sein des cellules tumorales. En effet, dans le cas du cancer du cavum par exemple, la protéine EBNA1 et les ARN EBER sont exprimés dans 100% des cas, la protéine LMP 2A dans 50% des cas et la protéine LMP1 dans 35 à 90% des cas.

La cancérogénèse est donc le résultat de la combinaison de plusieurs paramètres, notamment :

- Expression des ARN non messagers EBER1 et EBER2 qui se lient à la PKR (Protéine Kinase dépendante des ARN) et inhibent sa phosphorylation, bloquant ainsi la réponse cellulaire aux interférons. Ces derniers ont également la capacité d'activer la transcription du gène codant

l'IGF1 (*Insulin-like Growth Factor 1*) par un mécanisme non encore élucidé (NANBO et al., 2002) ;

- Expression de la protéine EBNA1 qui a le pouvoir de transactiver l'expression du gène anti-apoptotique Bcl-X (TSIMBOURI et al., 2002) ;
- Expression de la protéine LMP2, difficilement détectable mais dont les messagers sont abondants. Cette protéine présente une activité transformante par activation de la voie de signalisation PI3-Kinase/AKT ;
- Expression de la protéine BARP1 qui est faiblement retenue dans les cellules. Sous sa forme sécrétée, elle présente les propriétés d'un facteur de croissance (SALL, 2004) ;
- Expression de la protéine LMP1 qui est essentielle dans le pouvoir oncogène d'EBV. En effet, le domaine C-terminal de cette dernière peut être subdivisé en trois régions activatrices de la signalisation cellulaire, les CTAR (*C-Terminal Activating Regions*) : CTAR1, CTAR2, CTAR3. Or, CTAR1 et CTAR2 activent la voie NF- $\kappa$ B, favorisant la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et donc l'immortalisation cellulaire. CTAR3, quant à elle, augmente l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) favorisant l'invasion et les métastases et ce, en stimulant la voie Jak3/STAT (ZHENG et al., 2007) ;
- L'EBV altère la fonction de la protéine humaine Nm23-H1 qui joue le rôle de suppresseur de tumeur métastatique. Cette altération se produit suite à l'interaction de la région carboxyl terminale de la protéine virale EBNA-3C de manière spécifique avec la protéine Nm23-H1. Lorsque ce frein naturel est désactivé par l'EBV, les cellules cancéreuses mammaires forment des métastases (PANDEY et al., 2018).

L'EBV représente donc un cofacteur parmi d'autres dans la transformation maligne des cellules épithéliales. Cette transformation requière en effet, des altérations génétiques qui s'ajoutent à l'infection latente par l'EBV.

# ***MATERIEL ET METHODES***

## Matériel et méthodes

Le cancer du sein est une maladie hétérogène et multifactorielle. De ce fait, les facteurs cliniques et pathologiques comme l'âge, le grade de la tumeur, le type histologique...et l'évaluation des facteurs pronostiques (RE, RP, HER2) s'impose. Cependant, les facteurs viraux qui sont aujourd'hui de plus en plus incriminés dans la cancérisation de certains tissus, font qu'il pourrait y avoir de nouveaux indicateurs de certains autres sous-groupes de cancer du sein. Le virus d'Epstein Barr étant soupçonné dans la cancérisation de la glande mammaire, nous avons décidé d'objectiver biologiquement ce rôle potentiel.

Existe-il une expression des protéines virales EBV dans les cellules tumorales mammaires ?

Dans le but de répondre à cette question, nous avons réalisé des analyses au sein du service d'anatomie-pathologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou sur une population de trente patientes présentant un carcinome mammaire et ayant subi une mastectomie.

### 1 Matériel

#### 1-1 Réactifs

- **Les réactifs nécessaires pour l'étude histologique**
  - Formol tamponné (formaldéhyde à 10%) ;
  - Solutions d'alcool à différentes concentrations (50%, 70%, 96%, 100%) ;
  - Xylène (solvant organique) ;
  - Paraffine (fondue) ;
  - Eau courante ;
  - Eau distillée ;
  - Hématoxyline de Harris ;
  - Lithium carbonate ;
  - Eosine ;
  - EKIT.

- **Les réactifs nécessaires pour l'étude immunohistochimique**

Les réactifs nécessaires pour l'étude immunohistochimique sont inclus dans le kit Dako des récepteurs hormonaux (RE, RP), dans le kit Dako HercepTest (HER2) et dans le kit IR753 (LMP1). Le contenu de chacun de ces kits est représenté dans **l'annexe III**.

### **1-2 Appareillage**

- Appareil à circulation (Circulateur) ;
- Appareil à enrobage ;
- Microtome ;
- Bain marie ;
- lames et lamelles ;
- Etuve ;
- Batterie de coloration hématoxyline-éosine (HE).

Le descriptif de ces appareils est représenté dans **l'annexe IV**.

### **1-3 Matériel biologique**

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par des fragments tissulaires de carcinomes mammaires extraits à partir de pièces de mastectomie prises en charge dans le service d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

Nous avons obtenu l'autorisation de travailler sur des échantillons humains selon les principes d'éthique mentionnés dans la déclaration d'Helsinki.

**Les patients considérés :** nous avons suivi trente patientes colligées au service d'anatomopathologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou. Le but étant de rechercher, en plus de l'expression des RH et HER2, l'expression de la protéine LMP1 qui signe la présence de l'EBV.

- **Les paramètres d'inclusion**

Notre étude inclut les patientes ayant subi une mastectomie.

- **Les paramètres d'exclusion**

Nous avons exclu de cette étude les patientes ayant subi des tumorectomies ou des micro-biopsies. Cette exclusion est justifiée par le fait que, lors de la prise en charge des deux cas

suscités, certains facteurs pronostiques classiques ne sont pas pris en considération car impossibles à évaluer. C'est donc la démarche scientifique qui exige cette exclusion.

## 2 Méthodes

### 2-1 Méthodes d'anatomie-pathologie

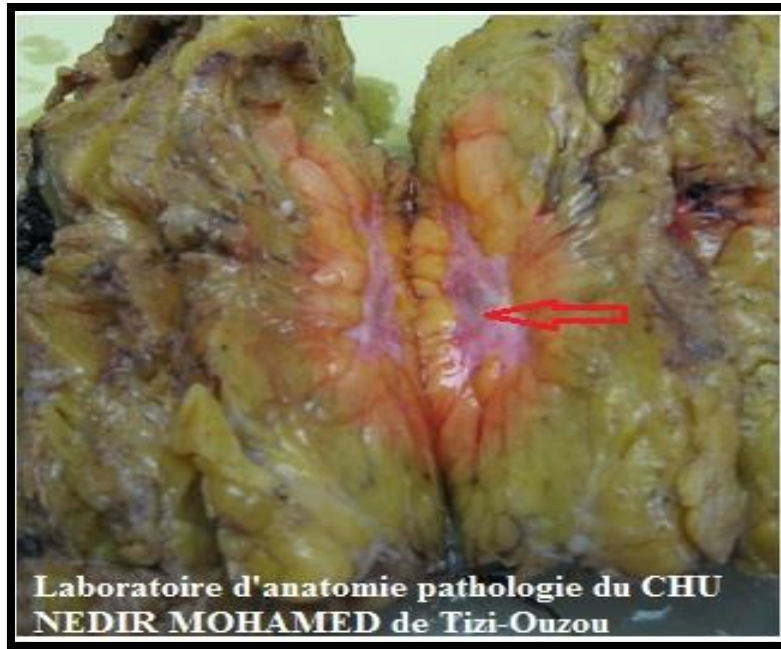
De manière générale, l'analyse anatomo-pathologique d'une mastectomie est scindée en trois grands axes :

- L'étude macroscopique ;
- L'étude histologique ;
- L'étude immunohistochimique suivie de l'étude microscopique qui permet de visualiser et d'interpréter les résultats.

#### 2-1-1 Etude macroscopique

L'étude macroscopique est précédée d'une étape de fixation au formol tamponné (formaldéhyde à 10%) pendant 24 heures. Le but de ce prétraitement est de s'opposer à la déshydratation tissulaire et d'immobiliser les composantes cellulaires du tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, assurant ainsi la conservation de la pièce. L'examen macroscopique est essentiel pour déterminer le choix du prélèvement à examiner. La prise en charge macroscopique se fait par un médecin anatomo-pathologiste et consiste en une macro-description (**Figure N°25**).

La pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée. Suite à la coupe, le médecin extrait de petits fragments qu'il dépose dans des cassettes qui seront étiquetées en écrivant le numéro du patient et du bloc, puis plongées dans du formol à 10%.



**Figure N°25 :** Pièce de mastectomie montrant la présence d'une tumeur (flèche).

La macroscopie étant réalisée par le médecin, nous avons débuté notre travail à partir de l'étude histologique.

### *2-1-2 Etude histologique*

L'étude histologique passe par plusieurs étapes qui ont pour objectif l'obtention de coupes de tissu très minces pour l'observation microscopique. De manière générale, nous avons effectué sept étapes :

#### *2-1-2-1 Circulation*

La circulation a pour but de rendre le tissu suffisamment rigide pour que l'on puisse le manipuler sans risquer de l'abimer. Elle dure 12 heures et comprend trois étapes :

- **Déshydratation**

La déshydratation est progressive, elle dure 08 heures et se fait par passages successifs du tissu dans des solutions d'alcool à concentrations croissantes (50%, 70%, 96%, 100%) (2 heures dans chaque bain).

- **Eclaircissement**

Cette étape d'une durée de deux heures est réalisée dans un solvant organique « le Xylène » dans lequel peut se dissoudre l'alcool.

- Imprégnation

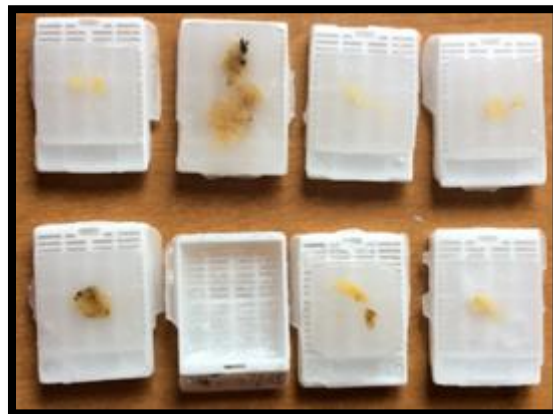
Elle se fait par immersion du tissu dans deux bacs de paraffine fondue à 56-60 °C pendant une heure chacune. Cette dernière a pour rôle de remplir les pores tissulaires préalablement vidés de leur eau lors de la déshydratation. Le but étant de ne pas obtenir un tissu exsudé.

#### 2-1-2-2 Inclusion et enrobage

L'objectif de l'inclusion en paraffine est de fournir un support au tissu pendant et après la coupe au microtome. Nous avons préparé des blocs de paraffine pour nos échantillons. La technique d'enrobage que nous avons utilisée s'effectue comme suit :

- On récupère les cassettes qui se trouvent dans l'appareil à circulation et on les plonge dans le bac de l'appareil à enrobage. Ce dernier contient une petite quantité de paraffine liquide.
- On ouvre une cassette, on prend le fragment à l'aide d'une pince.
- On place le fragment dans un moule adéquat dans lequel on aura déjà versé une petite quantité de paraffine liquide grâce au distributeur de paraffine de l'appareil à enrobage (partie chaude).
- Une fois le fragment dans le moule, on verse dessus une petite quantité supplémentaire de paraffine liquide.
- On dépose le moule sur la paillasse froide de l'appareil pour bien le fixer puis on le recouvre par la cassette dans laquelle le fragment a été pris. On verse encore une petite quantité de paraffine dessus.
- Après solidification au congélateur, on démoule le bloc de paraffine.

Le fragment tissulaire se retrouve alors inclus dans un bloc solide (figure N°26).



**Figure N°26** : Photographie représentative du résultat de l'enrobage

### 2-1-2-3 Microtomie (réalisation des coupes)

La microtomie consiste en l'utilisation d'un microtome lequel, grâce à sa lame, permet de couper les blocs de paraffine préalablement préparés. On obtient ainsi des rubans très minces de 3 à 5 microns.

Ainsi, nous avons réalisé cette étape sur nos trente échantillons comme suit :

- On place le bloc de paraffine sur le support de bloc du microtome ;
- On rabote le bloc jusqu'à l'exposition totale de la surface du fragment tissulaire ;
- On réalise des coupes très minces. L'ensemble de ces dernières forment un ruban ;
- On dépose les rubans obtenus dans un bain marie (37°C) et on les récupère rapidement en les étalant sur des lames.

### 2-1-2-4 Etalement

L'étalement des coupes consiste à aplanir le tissu sur la lame. Il se fait sur eau chaude à environ 37°C. En effet, les rubans préalablement obtenus sont placés dans le bain marie puis sont étalés sur des lames comme suit :

- On enlève les plis qui restent sur les coupes en les étirant délicatement ;
- On dépose nos coupes sur des lames en prenant soin de bien les centrer ;
- On étiquette nos lames en écrivant le numéro du patient et du bloc avec un crayon diamant ;
- On laisse sécher les lames à l'air libre.

### 2-1-2-5 Déparaffinage

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine qui entoure le fragment en plaçant les lames sèches dans de petits chariots qu'on met dans l'étuve à 37°C pendant environ 12 heures pour faire fondre la paraffine.

### 2-1-2-6 Coloration de routine : méthode à l'hématoxyline-éosine (H.E)

La coloration combinée hématoxyline-éosine permet de mettre en évidence les principaux éléments morphologiques des tissus (coloration topographique). Elle associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris et une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. La coloration résulte donc de l'action conjuguée d'un colorant acide  $\text{CO}^-$  (éosine) qui colore les substances basiques de la cellule et d'un colorant basique  $\text{NH}^+$  (hématoxyline) qui colore les substances acides.

En d'autres termes, l'hématoxyline basique se fixe sur les acides phosphoriques des acides nucléiques et l'éosine acide se fixe sur les groupements positifs des protéines cytoplasmiques.

Une fois le déparaffinage de nos lames achevé, nous les plaçons dans des chariots spéciaux que nous avons fait passer dans les 27 bacs de la batterie de coloration dont la succession permet de réaliser les étapes nécessaires de la technique. Le temps passé dans chaque bain est de 30 secondes.

La technique consiste à poursuivre le déparaffinage par le xylène puis à réaliser une réhydratation des tissus par de l'alcool à concentrations décroissantes (100%, 96%, 70%, 50%). Une fois les tissus réhydratés, on réalise une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris suivie d'une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. Suite à cette double coloration, on procède à la déshydratation des tissus par de l'alcool et à leur éclaircissement par le xylène. La technique est réalisée de manière automatique grâce à l'automate de coloration (Batterie de coloration HE).

Après la coloration, nous retirons les lames des petits chariots et nous les déposons sur un plateau en bois pour sécher. Après séchage de nos lames, nous procédons au montage.

#### 2-1-2-7 Montage des lames

Cette opération consiste à protéger définitivement le tissu étalé sur la lame par une lamelle de verre, collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'air, appelé « EKIT ». Nous avons donc procédé au montage de nos lames comme suit :

- La lame est plongée dans un bain de xylène puis on la retire immédiatement. Le but est d'éliminer les éventuelles impuretés et d'éclaircir la coloration ;
- On verse une goutte d'EKIT sur la lamelle qu'on dépose sur la lame en évitant les bulles d'air qui gêneront l'observation ;
- On plonge la lame montée dans un bain de xylène et on la retire de suite. Le but de cette étape est de nettoyer la lame de toutes impuretés ;
- On laisse sécher à l'air libre.

NB : Neuf lames au minimum sont nécessaires pour chaque patient :

- Une lame pour l'étude histologique ;
- Huit lames pour l'étude immunohistochimique :
  - ✓ Deux lames pour le test du RE (l'une pour l'anticorps primaire anti-RE, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test du RP (l'une pour l'anticorps primaire anti-RP, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test de l'HER2 (l'une pour l'anticorps primaire anti-HER2, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test de la protéine LMP1 (l'une pour l'anticorps primaire anti-LMP1, l'autre pour le réactif de contrôle négatif).

Les deux dernières étapes de l'étude histologique, à savoir la coloration H.E et le montage, ne sont pas effectuées pour les huit lames destinées à l'étude immunohistochimique. Les coupes destinées à l'immunohistochimie doivent être étalées sur des lames silanisées (prétraitées), c'est-à-dire recouvertes d'un adhésif performant (enduites de poly-lysine). La finesse des coupes (2 à 3 microns) favorise une meilleure adhérence (BALATON *et al.*, 1999).

### *2-1-3 Etude Immunohistochimique (IHC)*

L'évaluation du statut des récepteurs hormonaux (RE, RP), de l'oncogène HER2 et de l'expression potentielle de l'LMP1 chez les trente patientes a été réalisée par la technique d'immunohistochimie (IHC) (Kit DAKO). L'IHC est la technique la mieux adaptée aux tissus fixés et inclus en paraffine.

Les huit lames destinées à l'IHC sont traitées de la même manière, mais avec les réactifs inclus dans le kit de l'hercepTest pour l'HER2, ceux inclus dans le kit des récepteurs hormonaux pour le RE et le RP et ceux inclus dans le kit EBV IR753 pour LMP1.

Dans les trois cas, les étapes clés de l'IHC sont :

#### *2-1-3-1 Déparaffinage et réhydratation*

Le déparaffinage consiste en l'incubation des lames dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Elles passeront par la suite dans une batterie contenant du xylène (2 fois 5 minutes), de l'alcool à concentrations décroissantes (100%, 90%, 70%) (3 minutes chacun) et de l'eau distillée (30

secondes). Le passage dans cette batterie permet de se débarrasser de la paraffine, de réhydrater et de bien nettoyer le tissu.

#### 2-1-3-2 Démasquage à la chaleur (restauration de l'épitope)

Après déparaffinage, les lames sont placées dans un portoir qui est transféré dans un bac de la solution de démasquage (tampon de citrate à pH=6) puis chauffées à 95-97°C pendant 30 à 40 minutes. L'intérêt de cette étape est de rompre les liaisons moléculaires créées par le fixateur et donc de restaurer les déterminants antigéniques qui ont été masqués par la fixation au formol. On laisse les lames refroidir sur la paillasse pendant 20 minutes. On transfère le portoir dans deux bacs successifs d'eau distillée et un bac de tampon de lavage pendant 5 minutes chacun, le but étant d'éliminer toute trace de la solution de démasquage.

#### 2-1-3-3-Réduction des bruits de fond

On place les lames dans un bac contenant le réactif de blocage de la peroxydase (solution contenant du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3%) pendant 5 minutes pour un blocage des peroxydases endogènes afin d'éviter le bruit de fond. On rince les lames à l'eau distillée, puis on les fait passer dans un bain contenant du tampon de lavage PBS (*Phosphate Buffred Saline* pH 7.4) pendant 5 minutes afin d'éliminer l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. On délimite les zones sur lesquelles nous appliquerons l'anticorps primaire avec un DAKOpen qui empêche les anticorps de diffuser.

#### 2-1-3-4- Anticorps primaire / Réactif de contrôle négatif :

(Anticorps monoclonal de souris anti-RH humains), (anticorps de lapin anti-HER2 humain) et (Anticorps monoclonal de souris anti-LMP1 CS1-4).

On dispose les lames dans un plateau avec compresses imbibées d'eau et on recouvre l'échantillon de trois gouttes (100 µl) d'anticorps primaire Anti-RE ou Anti-RP ou anti-HER2 ou encore anticorps anti-LMP1 avec une micropipette de façon à immerger la zone préalablement entourée par le DAKOpen. Les quatre autres lames seront testées par les réactifs de contrôle négatifs fournis dans le kit. On laisse incubé pendant 30 minutes à l'air libre. On égoutte les lames et on les fait passer dans deux bains de tampon de lavage successifs pendant 5 minutes chacun.

#### 2-1-3-5- Anticorps secondaire (Réactif de visualisation)

On applique la solution d'anticorps secondaire (100 µl) sur les lames de la même façon que l'anticorps primaire et on laisse incuber pendant 30 minutes à température ambiante. On rince dans deux bains successifs de tampon de lavage. La nature de cette solution d'anticorps est un mélange composé :

- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de souris dans le cas des RH ;
- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de lapin dans le cas de l'HER2 ;
- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de souris dans le cas de LMP1.

#### 2-1-3-6- Révélation (solution de substrat chromogène DAB)

On verse sur les lames quelques gouttes de solution tampon substrat qui contient du peroxyde d'hydrogène. On verse une à trois gouttes de la solution chromogène DAB (tétrahydrochlorure de 3,3-diaminobenzidine), le DAB est donc le substrat chromogène de la peroxydase. On incube pendant 10 minutes puis les lames sont rincées à l'eau distillée.

#### 2-1-3-7- Contre coloration (coloration contraste par l'hématoxyline)

Elle est réalisée à l'hématoxyline de Mayer qui colore intensément les noyaux en bleu violacé mais aussi les cytoplasmes et le tissu de soutien (de façon moins intense).

Pour ce :

- On immerge les lames dans un bain d'hématoxyline de Mayer pendant 1 à 5 minutes, en fonction de la concentration de l'hématoxyline utilisé ;
- On rince les lames dans de l'eau distillée ;
- On fait passer les lames dans un bain d'alcool puis de xylène pour la décoloration des cytoplasmes et tissu conjonctif.

#### 2-1-3-8- Montage des lames

Le montage lames-lamelles est réalisé de la même façon que celle préalablement décrite dans l'étude histologique.

## - Lecture des résultats

### 1 Lecture des résultats de la coloration hématoxyline-éosine

La double coloration hématoxyline-éosine aboutit à la coloration des différents éléments cellulaires :

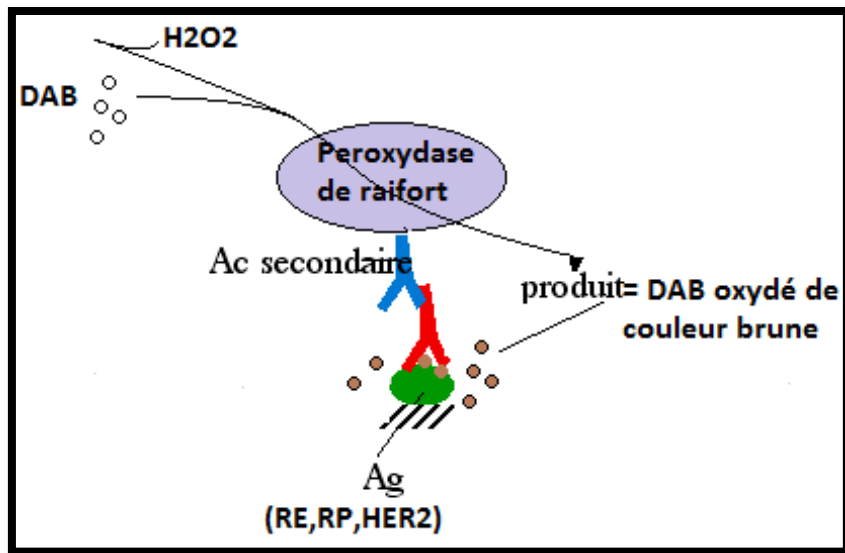
- Les noyaux seront colorés en bleu violacé ;
- Le cytoplasme en rouge ;
- Le collagène en rose pale.

La visualisation des résultats se fait par le microscope optique à des grossissements croissants (40, 100, 400).

### 2 Lecture des résultats de l'immunohistochimie

La révélation du complexe antigène/anticorps se fait par une réaction immuno-enzymatique qui consiste à faire agir la peroxydase de Raifort avec son substrat (peroxyde d'hydrogène). La réaction est révélée par un chromogène donneur de proton (DAB tétrahydrochlorure de 3,3-diaminobenzidine) qui est incolore et soluble à l'état réduit et qui se colore en brun et devient insoluble lorsqu'il est oxydé ( $H_2O_2 + 2 DH \rightarrow 2 H_2O + 2 D$ ).

En bref, la conversion enzymatique du DAB en présence du peroxyde d'hydrogène donne un précipité marron insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Il marque en brun le site d'interaction antigène-anticorps (**Figure N°27**). La réaction est évaluable par microscopie optique au faible grossissement (Gx40) puis le score est confirmé au fort grossissement (Gx1000).



**Figure N° 27** : Réaction immuno-enzymatique catalysée par la peroxydase de Raifort.

La contre coloration (coloration contraste) à l'hématoxyline aboutit à une coloration bleue des noyaux.

- **Lecture des résultats des récepteurs hormonaux**

L'évaluation des lames se fait par un microscope optique, nous avons sollicité l'aide d'un médecin anatomo-pathologiste.

Suite à la coloration contraste, on obtient des noyaux bleus (négatifs) et des noyaux marron (positifs), donc seul le marquage nucléaire est pris en considération.

Il est impératif d'examiner toutes les cellules tumorales de la lame, tout en prenant en considération des cellules intactes (témoin interne) pour l'interprétation des résultats de coloration.

La lecture se fait selon le score d'Allred qui associe de manière semi-quantitative le pourcentage de cellules marquées (varie entre 0 et 5) et l'intensité de marquage (varie entre 0 et 3). Ainsi, un score de proportion (SP) et un score d'intensité (SI) sont définis et le score total (ST) est calculé par l'addition de (SP) et de (SI). Ce (ST) représente le score de Allred qui varie entre 0 et 8 (**Figure N° 28**).

Le score est considéré comme positif s'il est supérieur ou égal à 3, c'est à dire que le seuil de positivité est de 10% de cellules marquées quelle que soit l'intensité.

Il n'existe pas de consensus international sur la valeur du seuil. Le choix de 10% est justifié par le fait qu'il a été utilisé par plusieurs études avec corrélation clinique et présente une bonne reproductibilité (MAC GROGAN *et al.*, 1996).

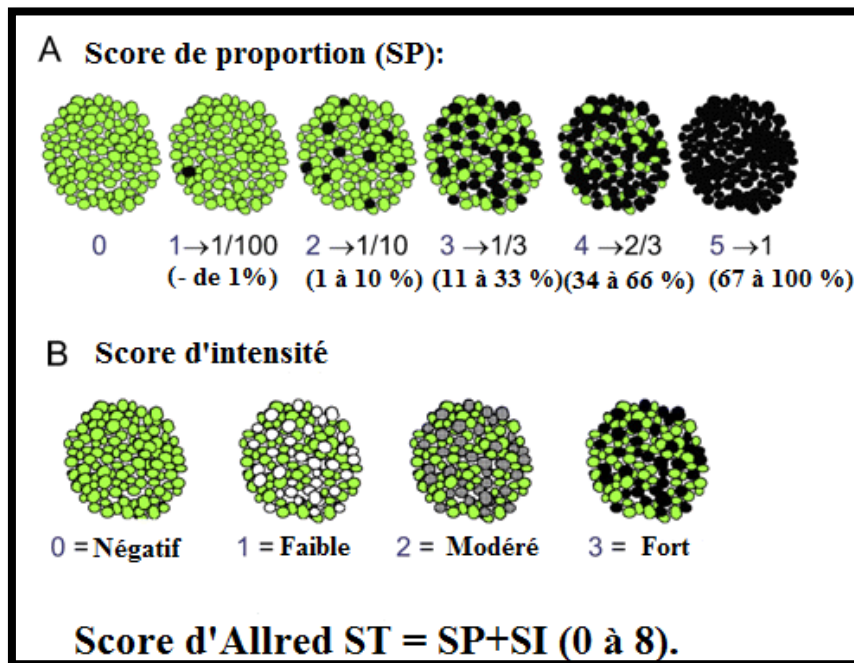


Figure N°28 : Méthode de scoring selon Allred (COLLINS *et al.*, 2005)

- **Lecture des résultats de l'oncogène HER2**

L'IHC est reconnue comme la technique de référence pour déterminer le statut de HER2 dans les cancers du sein (PENAULT-LLORCA *et al.*, 2002).

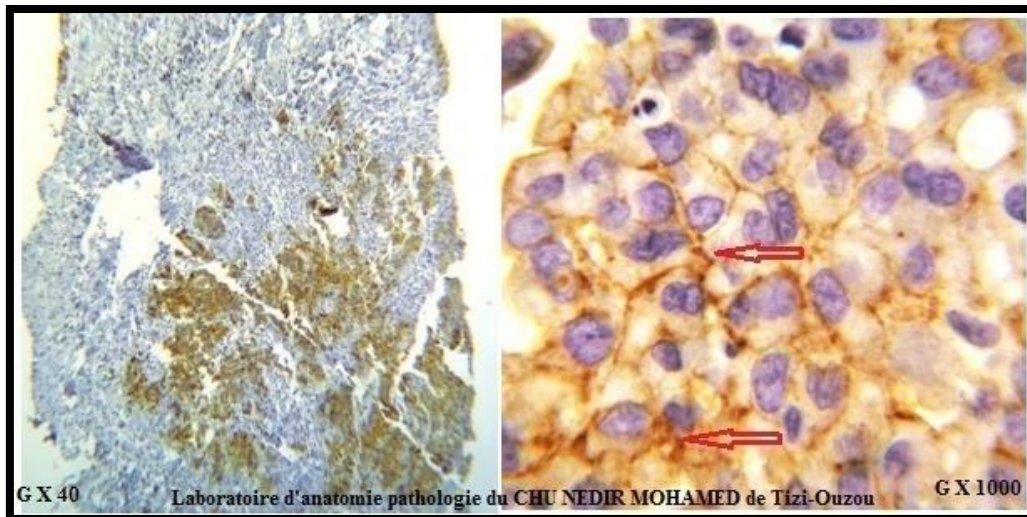
L'évaluation des lames se fait par le pathologiste à l'aide d'un microscope optique. C'est une technique qui diffère légèrement de l'IHC courante car à ce niveau, il s'agit de mettre en évidence une surexpression et non une expression basale du récepteur HER2 (BILOUS *et al.*, 2003).

Le signal immunohistochimique de l'HER2 est un marquage membranaire brun, en maille de filet, intense et complet des cellules tumorales. Seul le statut des cellules carcinomateuses infiltrantes doit être pris en considération. La coloration cytoplasmique doit être considérée comme une coloration non spécifique et ne doit pas être incluse dans l'évaluation de l'intensité de coloration de la membrane. L'immuno-marquage est évalué en utilisant l'échelle présentée dans le **tableau IV**. Le résultat de cette évaluation aboutit à des scores de 0 à 3+.

**Tableau IV** : Grille d'évaluation de l'intensité de la coloration par IHC (PENNAULT-LLORCA et al., 2002)

Score	Marquage	Interprétation	Indication thérapeutique anti-HER2 (Herceptine)
0	Absence de marquage ou présence de marquage membranaire <10% des cellules invasives.	Négatif	Non
1+	Marquage membranaire faible et incomplet >10% des cellules invasives ( <b>Figure N° 43</b> ).	Négatif	Non
2+	Marquage membranaire faible ou modéré et complet > 10% des cellules invasives ou Marquage membranaire fort et complet < 30% des cellules invasives ( <b>Figure N°29</b> ).	Cas douteux	Oui ou Non selon l'après-contrôle.
3+	Marquage membranaire fort et complet > 30% des cellules invasives ( <b>Figure N° 42</b> ).	Positif	Oui

Les cas douteux (2+) peuvent être contrôlés par les techniques d'hybridation in situ, telles que la FISH qui consiste en l'hybridation de l'ADN tumoral avec des sondes fluorescentes, le but étant de détecter l'amplification du gène. En effet, les acides nucléiques, moins sensibles à la fixation que les épitopes antigéniques, permettent de contrôler les cas 2+ douteux de l'IHC. De plus, les dernières recommandations de 2018 (mise à jour) ne définissent plus que 2 catégories (positif ou négatif) selon le score obtenu (WOLFF et al., 2018).



**Figure N°29** : Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 douteux (score 2+) montrant un marquage faible mais complet (flèche) au faible et au fort grossissement (lame hors-série).

- **Lecture des résultats de l'expression de la protéine LMP1**

Dans le cas de la protéine LMP1 d'EBV, la coloration nucléaire avec l'anticorps LMP1, indépendamment de l'intensité de la coloration et du pourcentage de cellules colorées a été considérée comme une expression positive à LMP1.

### *1-2-2 Méthodes statistiques*

- **Recueil des données**

Les résultats anatomopathologiques des trente patientes, utilisés pour notre étude statistique ont été obtenus suite aux analyses macroscopiques, histologiques, immunohistochimiques puis microscopiques que nous avons réalisé en collaboration avec le médecin anatomopathologiste. Ces résultats sont présentés dans **l'annexe V**.

- **Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats de nos trente patientes (étude prospective) s'est déroulée en deux temps :

- La première étape a consisté en une **étude descriptive** des variables de notre population :

- ✓ Localisation de la tumeur et facteurs pronostiques classiques (âge, type histologique, taille de la tumeur « stade T du TNM », envahissement ganglionnaire « stade N du TNM », statut métastatique « stade M du TNM », grade SBR) ;
  - ✓ Expression des récepteurs hormonaux et score de l'HER2.
  - ✓ Expression de l'oncoprotéine LMP1 ;
- La deuxième étape consiste en une **étude analytique** qui repose sur la recherche d'associations et de corrélations entre les diverses données anatomo-pathologiques.

- **Fiabilité des résultats**

Vu que la fiabilité des résultats repose sur des règles de bonnes pratiques techniques, nous avons traité nos trente échantillons en respectant rigoureusement un protocole optimisé. Dans notre évaluation immunohistochimique, nous avons suivi les consignes pratiques du guide DAKO des RH, de LMP1 et de l'hercepTest. Nous avons systématiquement utilisé des témoins internes ainsi que les témoins externes fournis par les kits DAKO. Ces témoins permettent d'assurer la qualité de la technique immunohistochimique.

**-Témoin interne (Glande non tumorale) :** l'échantillon à analyser doit inclure du tissu mammaire non tumoral. Le prélèvement de ce témoin interne se fait à l'interface entre la tumeur et le tissu environnant. Dans le cas des RH, c'est le marquage de ce témoin interne qui permettra de valider la technique en cas de négativité de la composante carcinomateuse invasive car les RE et RP sont exprimés par le tissu mammaire normal et représentent donc un bon témoin interne positif ([WALKER, 2008](#)). Dans certains cas, il y a absence de marquage du témoin interne, on suspecte alors des problèmes techniques, mais cela peut également être dû à des variations physiologiques (pré-ménopause). Dans le cas de l'HER2, le témoin interne ne doit pas présenter de marquage membranaire complet (témoin négatif). Dans le cas de la protéine LMP1, l'anticorps ne doit pas marquer le tissu sain.

**-Témoins externes (lames de contrôle) :** dans le cas des RH, ce sont des lames de contrôle qui contiennent deux lignées cellulaires : pour le RE, l'une se colore avec l'anticorps anti RE et l'autre ne se colore pas. Pour le RP, l'une des lignées se colore avec l'anticorps anti RP l'autre ne se colore pas. Deux lames de contrôle doivent donc être colorées à chaque procédure.

Dans le cas de l'HER2, les lames de contrôle contiennent trois lignées cellulaires présentant des intensités différentes (0, 1+, 3+). Il suffit de colorer une seule lame à chaque procédure. L'évaluation des lignées cellulaires des lames de contrôle fournies par Dako indique la validité du cycle de coloration. Les lames témoins doivent être utilisées dans les deux mois car, au-delà, leur réactivité devient aléatoire.

Dans le cas de la protéine LMP1, le témoin négatif utilisé est le *FLEX Negative Control Mouse*, ([link](#)) IR7 et le témoin positif est un tissu de lymphome de Hodgkin déjà testé positif pour LMP1 dans notre laboratoire.

Dans notre service, il existe également des contrôles internes réguliers en raison des différences techniques (fixation, inclusion...etc.) qui dépendent de l'opérateur aboutissant à des résultats pouvant avoir des variabilités significatives. Il est également recommandé de consulter les consignes de contrôle de qualité du *College of American Pathologists (CAP)* ou *Certification Program for Immunohistochemistry* du document CLSI.

Cependant, notre étude présente également des points faibles, en particulier :

- Non réalisation des analyses en triplicate permettant une analyse statistique plus cohérente ;
- Existence d'un risque d'obtention de faux positifs dans le cas de la détection d'une expression basale d'HER2 et non de la surexpression ([PENAULT-LLORCA et al., 2002](#)) ;
- L'absence de suivi des patientes rendant impossible l'estimation du taux de mortalité ainsi que l'évolution de nos patientes suite aux thérapies ;
- L'impossibilité de réaliser une étude des facteurs de risque, en raison de l'absence de certains renseignements sur les dossiers des malades tels que l'âge de la ménarche, l'âge de la première grossesse, l'âge de la ménopause...etc,

## ***RESULTATS ET DISCUSSION***

## 2- Résultats et discussion

La glande mammaire étant un tissu sensible aux hormones stéroïdiennes, le tissu cancéreux mammaire peut garder cette hormono-sensibilité aboutissant donc à un cancer du sein hormono-dépendant. Actuellement, l'étude des RH présente deux intérêts majeurs. Le premier est représenté par leur rôle pronostique, lié au potentiel évolutif spontané de la tumeur, le second est leur intérêt thérapeutique, lié à la réponse de la tumeur à l'hormonothérapie.

L'évaluation du statut HER2 présente les mêmes intérêts. En effet, la surexpression de cet oncogène est associée à un cancer agressif dont la thérapie est ciblée par un anticorps humanisé (Herceptine).

Le potentiel oncogénique d'EBV dans le cancer du sein présente toujours quelques controverses. L'évaluation de l'expression de la protéine virale LMP1 vise donc à prouver l'implication de l'EBV dans ce type de cancer.

Ainsi, notre étude prospective a pour but de répondre à la question de départ en définissant les intérêts pronostiques et thérapeutiques de certains facteurs d'une part et de prouver l'association EBV-cancer du sein d'autre part. Pour cela, nous avons traité deux parties : l'étude descriptive des facteurs pronostiques, l'expression de la protéine LMP1 d'EBV et l'étude analytique qui consiste en la détermination de relations et de corrélations des facteurs pronostiques entre eux et avec la présence d'EBV.

### - Description de l'étude prospective et analyse des résultats

Notre population est constituée de trente patientes présentant un carcinome mammaire dont la première ligne de prise en charge était la réalisation d'une mastectomie. Notre effectif était majoritairement constitué de femmes, cela s'explique par le fait que le sexe masculin n'est concerné que dans 1% des cas ([GLOBOCAN, 2012](#) ; [INCa, 2016](#)).

Nous avons utilisé l'immunohistochimie pour l'évaluation du statut des RH, HER2 et de l'expression de la protéine LMP1. Notre lecture et interprétation des résultats répondent aux critères recommandés par la majorité des auteurs.

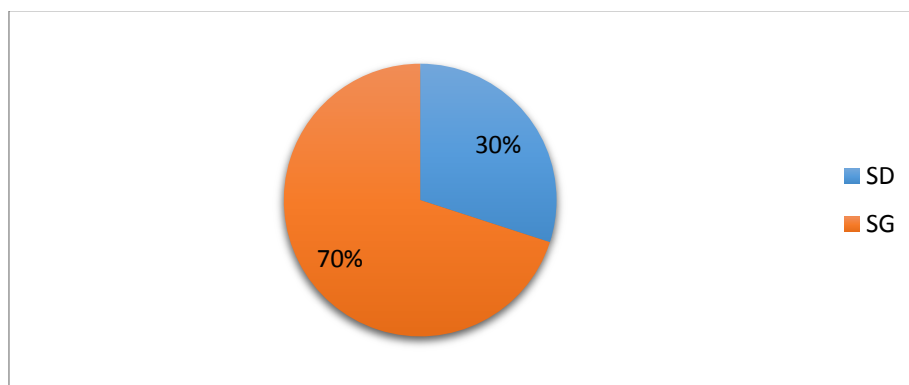
Nous allons présenter puis commenter nos résultats et discuter leur fiabilité en précisant les points forts (assurance qualité) et les limites de notre étude. Nous allons également comparer nos résultats à ceux de la littérature, tout en tentant d'expliquer les causes des éventuelles divergences qui pourront surgir de cette étude.

## 2-1-Etude descriptive

L'étude descriptive a pour but d'évaluer les diverses variables de notre population : les caractéristiques de la tumeur, les facteurs pronostiques et la présence ou l'absence d'EBV.

### 2-1-1-Localisation de la tumeur

Dans notre étude, 70% des tumeurs ont été retrouvées dans le sein gauche (21 cas) contre 30% dans le sein droit (09 patientes) (**Figure N°30**).



**Figure N° 30** : Répartition des tumeurs (Sein droit (SD), Sein gauche (SG)).

Notre résultat avec une localisation fréquente dans le sein gauche a également été retrouvé dans plusieurs autres études, notamment des études maliennes telles que celle de [LUTULA \(2008\)](#) qui trouve un pourcentage de 53,13%, l'étude de [KEITA \(2005\)](#) qui note 52% de seins gauches atteints et l'étude de [FOUHI et al., \(2020\)](#) qui note un pourcentage de 50,2%.

Notre résultat se rapproche beaucoup plus mais reste supérieur à celui de l'étude de [DIALLO \(2006\)](#) avec 60,4% de tumeurs localisées dans le sein gauche ainsi qu'à l'étude de [WELE \(1998\)](#) qui retrouve un pourcentage de 64,9%. Cependant, l'étude de [MANSOURI \(2017\)](#) à Marrakech présente un résultat différent du nôtre avec une prédominance des tumeurs dans le sein droit.

Cette localisation fréquente des tumeurs dans le sein gauche peut être expliquée par l'hypothèse des habitudes d'allaitement ([SANCHEZ et al., 2004](#)). En effet, ce dernier est un facteur différenciant des cellules mammaires. Les lobules continuent donc à se différencier même après la grossesse perdant alors leur capacité proliférative. De plus, il existe aujourd'hui des données

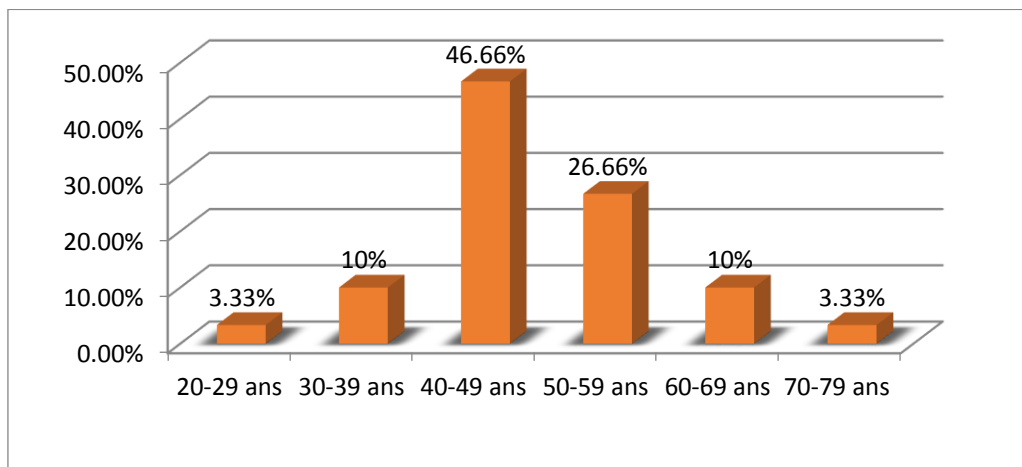
probantes qui démontrent un risque à vie 26% plus faible lorsque la femme passe au moins 12 mois à allaiter ses enfants (HOYT-AUSTIN *et al.*, 2020).

Dans notre série, aucun cas d'atteinte bilatérale n'a été retrouvé, ce qui concorde avec les données de la littérature qui stipulent que seuls 1 à 2 % des cas présentent simultanément un cancer des deux côtés (MANSOURI, 2017). Certaines séries ont confirmé cette information telle que l'étude de KEITA réalisée en 2005, l'atteinte des deux seins est en effet représentée par un pourcentage de 1,4%.

## 2-1-2 Facteurs pronostiques classiques

### 2-1-2-1 Age des patients

L'âge de nos patientes varie entre 27 et 74 ans avec une moyenne d'âge de 49 ans. La tranche d'âge la plus touchée est celle des patientes âgées entre 40 et 59 ans, elle représente plus de 70% des cas de notre échantillon. En effet, la tranche d'âge la plus représentée est celle de 40 à 49 ans (47%), suivie de la tranche 50-59 avec un pourcentage de 27%. (**Figure N° 31**)



**Figure N° 31** : Répartition des patientes par tranche d'âge.

Dans notre série, la moyenne d'âge des patientes est de 48,33 ans, un âge très proche de celui estimé dans la wilaya de Sétif qui est de 50,2 ans (BENDIB, 2023) ainsi que les moyennes estimées dans les pays maghrébins tel que la Tunisie, 50 ans (KHANFIR *et al.*, 2006), le Maroc avec une moyenne de 48,1 ans à Casablanca (EL FOUHI *et al.*, 2020), 50,7 ans à Rabat (TAZI *et al.*, 2013), 51,6 ans à Marrakech (MANSOURI, 2017). L'âge moyen que nous avons obtenu reste tout de même relativement inférieur à celui observé en France (STAUB *et al.*, 2007).

Cependant, ce résultat ne concorde ni avec les dernières données du registre du cancer de la wilaya de Tizi-Ouzou, ni avec les données nationales. Toutes deux enregistrent une forte hausse des cas de cancer du sein chez la femme jeune (inférieure à 35 ans).

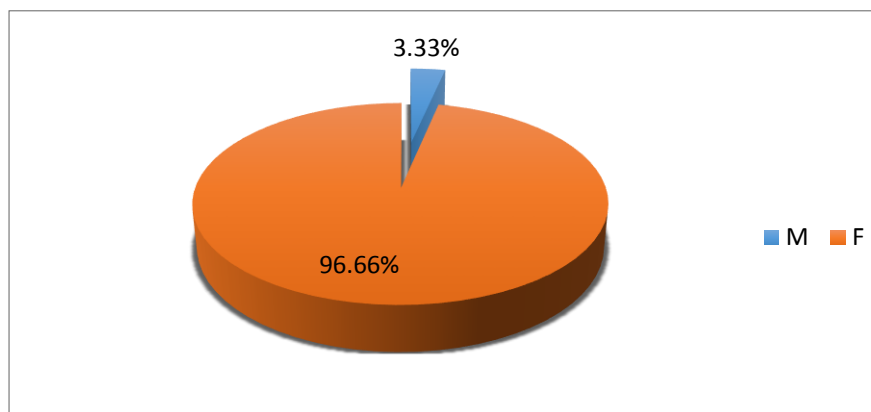
Nos résultats révèlent également que la tranche d'âge la plus touchée est celle des patientes âgées entre 40 et 49 ans avec 14 cas sur trente soit un pourcentage de 47%. Ce résultat concorde avec celui d'une étude Malienne ([DIALLO, 2007](#) ; [ZAKI et al., 2013](#)).

Les tranches d'âge les moins représentées sont celles des patientes âgées entre 20 et 29 et entre 70 et 79 ans avec un seul cas pour chacune des deux. Le taux réduit de femmes âgées qui consultent pour un cancer du sein suspect, en plus de l'espérance de vie Algérienne qui ne dépasse pas les 70 à 80 ans expliquent notre résultat de 3% qui représente la tranche d'âge entre 70 et 79 ans.

Dans notre étude, aucune patiente de moins de 20 ans n'a été retrouvée. Il est à noter que le cancer du sein de la femme jeune est de plus mauvais pronostic. Le seuil de 35 ans a été fixé par un consensus international. Ainsi, un cancer du sein qui atteint une femme d'âge inférieur à 35 ans est toujours de pronostic défavorable même après prise en compte des autres facteurs pronostiques ([KEEGAN et al., 2012](#)). De plus, le taux de récurrence locale et de survie globale sont moins favorables 10 ans après le diagnostic dans la tranche d'âge sus-décrite, comparativement aux femmes âgées de 46 ans et plus. Dans l'étude en question, les patientes de moins de 35 ans ont obtenu un taux de survie globale de 10 ans moins favorable (73%) que les femmes plus âgées (75%) ([BILLENA et al., 2020](#)).

#### 2-1-2-2 Sexe

Dans notre série, le sexe masculin est représenté par un seul patient sur trente, soit un pourcentage de 3,33% (**figure N°32**).



**Figure N°32** : Répartition des patients selon le sexe.

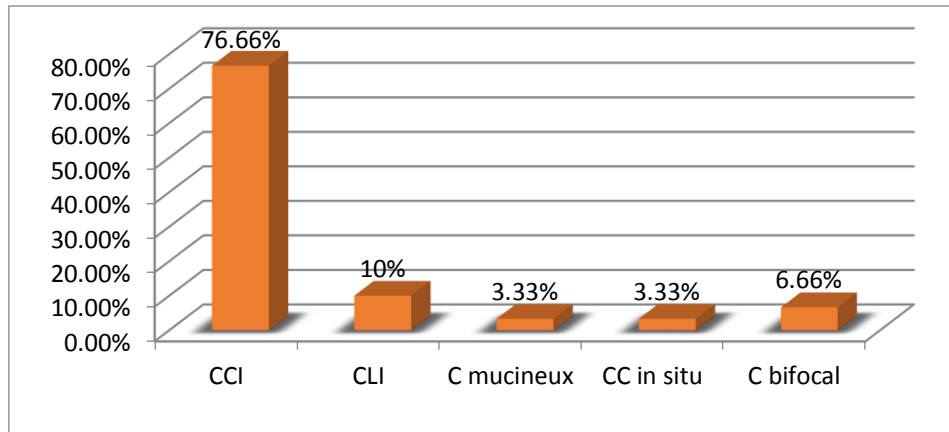
Le cancer du sein est un cancer féminin, le faible pourcentage que nous avons noté (représenté par un seul cas), rejoint les résultats de la plupart des auteurs. L'étude Malienne de [TRAORE \(2008\)](#) en fait partie, elle note 1,5% d'hommes atteints, [FOUHI et al., \(2020\)](#) ont trouvé 0,9 %.

Cette rareté chez l'homme peut être expliquée par le caractère atrophique de la glande mammaire, la finesse des canaux galactophores, l'absence d'acini et l'abondance du tissu fibreux ([COULIBALY, 2006](#)).

Selon les résultats des recherches actuelles, le principal facteur étiologique chez l'homme demeure la gynécomastie.

#### 2-1-2-3 Type histologique

Dans notre série, 77% de nos patientes présentent un CCI de 10%, un CLI d'environ 7% un carcinome bifocal et seul 3,33% de patientes présente un CC *In situ* et un carcinome mucineux (**Figure N°33**).



**Figure N°33 : Répartition selon le type histologique.**

Le type histologique majoritaire et largement dominant est le carcinome canalaire invasif (infiltrant) retrouvé dans 77% des cas (23 patients). Ce résultat est en accord avec l'étude de [FOUHI et al., \(2020\)](#) qui observe 73,2% de CCI.

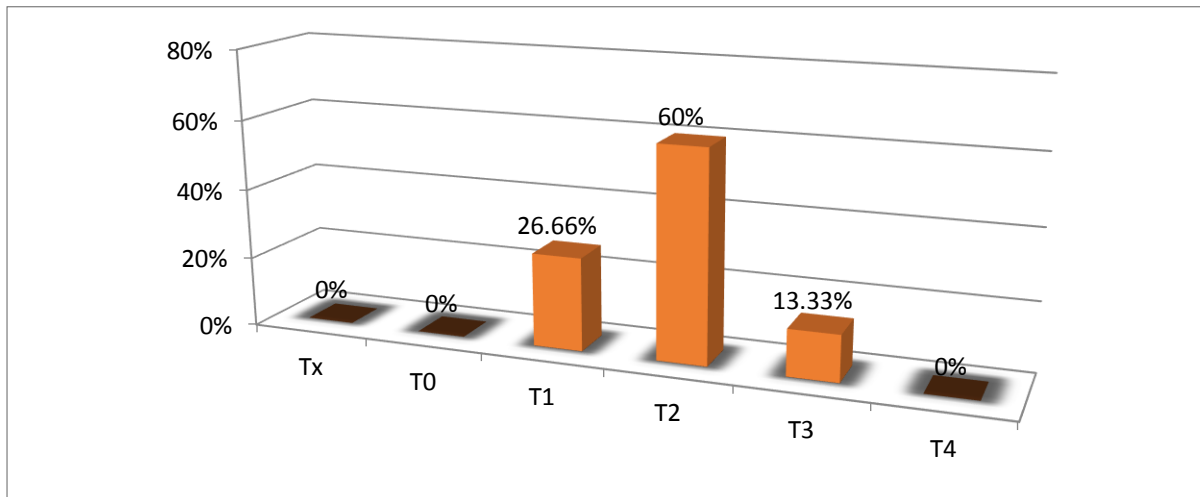
Notre résultat est également proche mais un peu plus bas que celui obtenu dans l'étude française réalisée par [CECILE en 2015](#) qui a noté un pourcentage de 82%, de l'étude Iranienne de [MOHAMMADIZADEH et al., \(2014\)](#) qui trouve un pourcentage de 96,3% et de l'étude Marocaine de [HAMMAS \(2009\)](#) avec un pourcentage de 86%.

Dans notre série, le carcinome lobulaire infiltrant est retrouvé dans 10% des cas, tout comme l'étude [CECILE](#) où il est représenté par 14%, des résultats qui sont donc relativement proches. Dans la littérature, ce type spécial de carcinome mammaire est représenté jusqu'à 15% de tous les cas de cancer du sein et est connu pour son schéma de croissance discohésive lié à l'absence de fonction E-Cadhérine. C'est un type histologique qui en général, est caractérisé par la positivité des RH et la négativité de l'HER2 ([Mc CART REED et al., 2021](#)).

Ces types rares, tels que les carcinomes bifocal, *in situ* et mucineux qui ont une meilleure survie, sont représentés tous les trois dans notre série par un pourcentage de 13,32%. Un résultat qui reste tout de même élevé par rapport aux 4 % noté dans l'étude [CECILE de 2015](#), bien que le pourcentage de carcinome mucineux qui est représenté par 3,33 % concorde avec la littérature qui suggère un pourcentage de 4% de l'ensemble des cancers invasifs du sein avec un taux de survie de 90% à 10 ans ([LEI et al., 2016](#)).

#### 2-1-2-4 Taille tumorale « stade T du TNM »

La taille tumorale constitue un facteur pronostique important. Cette dernière est évaluée chez les trente patients que nous avons suivis. Les stades  $T_x$ ,  $T_0$  ainsi que  $T_4$  n'ont pas été retrouvés dans notre série. 60% de nos patients présentent des tumeurs en stade T2, 26,66% en stade T1 et seulement 13,33% en stade T3 (**Figure N° 34**).



**Figure N° 34** : Répartition selon la taille T du TNM.

L'absence de stade  $T_x$  dans notre série concorde avec le résultat de [WELE \(1998\)](#) et [KEITA \(2005\)](#). Cependant, il discordé avec celui de [\(MARTY et al., 1992\)](#) qui trouve 1,7 % de patients présentant des tumeurs non évaluables. Nous n'avons également pas trouvé de patients présentant des tumeurs de stade  $T_0$  et ce, tout comme dans l'étude de [KEITA \(2005\)](#), de [DIALLO \(2007\)](#), de [LUTULA \(2008\)](#) et de [KOUALI \(2017\)](#) qui n'ont pas eu de malades qui soient vues au stade  $T_0$ , alors que la série Européenne de [MARTY et al., \(1992\)](#) présente des malades à ce stade avec un taux de 5,4%.

L'existence de cas  $T_0$  dans l'étude Européenne qui a eu lieu en 1992 et leur absence dans les études Maliennes effectuées en 2005 pour [KEITA](#) et 2007 pour [DIALLO](#) ou encore l'étude Marocaine de [KOUALI de 2017](#) ainsi que dans notre étude, témoigne d'un manque de moyens de dépistage par rapport à l'Europe, du manque d'information de nos patientes, d'un grand retard de consultation qui aboutit à un dépistage tardif qui, malheureusement, peut conduire à une fin fatale.

La taille tumorale majoritairement représentée dans notre échantillon est **T2** (2 cm < tumeur ≤ 5 cm) avec 18 cas sur 30 soit un pourcentage de 60% ce qui concorde avec le résultat de l'étude Sétifiène qui note une majorité de stade T2 à hauteur de 50,9% (BENDIB, 2023).

Le résultat de l'étude Française de MARTY *et al.*, (1992) se rapproche mais reste tout de même inférieur au nôtre avec un pourcentage de 45,5%, celui de l'étude Marocaine quant à lui est de 50% (KOUALI, 2017).

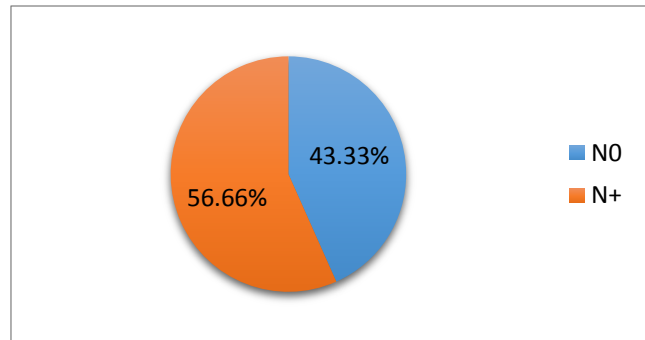
Il est à noter que dans les cancers du sein métastatiques, la petite taille tumorale T1, T2 (<5cm) n'est pas forcément inversement corrélée à la mortalité spécifique au cancer du sein. Cette dernière ne diminue pas parallèlement à la taille tumorale (ZHENG *et al.*, 2020).

Plusieurs études ont noté des résultats avec une prédominance du stade T<sub>3</sub> notamment, l'étude de KEITA (2005) avec 48%, l'étude de DIALLO (2007) avec 60,9%, l'étude de LUTULA (2008) (75,8%) et l'étude de COULIBALY (2009) avec 49,4%, alors que dans notre étude seul 13,33% des patientes présentent des tumeurs de stade T3. La prédominance de ce stade peut être expliquée par le fait que les patients sont consultés tardivement et par l'absence de dépistage systématique dans les pays en voie de développement.

Le taux de patientes présentant des tumeurs avec extensions, c'est-à-dire en stade T4 est de 0% dans notre série joignant ainsi, le résultat observé sur la série Marocaine de KOUALI (2017). Alors que plusieurs études ont eu des patientes en stade T4, à différentes proportions. Notamment, l'étude de DIALLO (2007) qui ne note que 6,5% et la série de WELE (1998) où le stade T4 s'élève à 57,3% de cas. Nous pouvons conclure probablement à une légère avancée en termes de dépistage ces dernières années, en particulier dans les pays en voie de développement.

#### 2-1-2-5 Envahissement ganglionnaire « stade N du TNM »

Le principal caractère pris en compte pour prédire l'agressivité et l'évolution d'un cancer est l'atteinte ganglionnaire locorégionale qui constitue le mode métastatique le plus fréquent. Le stade N a été évalué chez la totalité de nos patientes. Il a été négatif (N<sub>0</sub>) chez 13 patientes (43%) et positif (N<sub>+</sub>) chez 17 patientes soit un pourcentage de 57% (Figure N° 35).

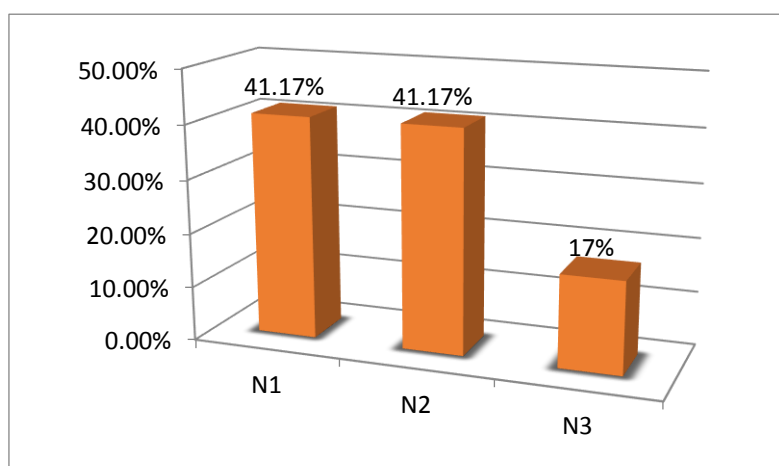


**Figure N° 35** : Répartition selon l'atteinte des ganglions.

Ces résultats discordent avec ceux de la majorité des études qui, de manière générale, notent environ 20% des cas au stade N<sub>0</sub> contre 80% au stade N+. En effet, l'étude Malienne de [THIAM \(2003\)](#) note 20,9% de stade N<sub>0</sub> contre 79,1% de stade N+. [KEITA \(2005\)](#) et [DIALLO \(2007\)](#) aboutissent à des résultats identiques avec 20% de stades N<sub>0</sub> et 80% de stades N+. Leurs résultats se rapprochent également de ceux de [THIAM \(2003\)](#) et de [LUTULA \(2008\)](#). Des études Marocaines effectuées plus récemment ont abouti à des pourcentages de N+ encore plus bas que le nôtre, 30% par [\(KOUALI, 2017\)](#) et 35,7 % par [FOUHI et al., \(2020\)](#).

La discordance de nos résultats avec ceux de la littérature peut être expliquée par une prise de conscience de nos patientes due à une forte augmentation du taux de cancer du sein dans notre wilaya ou bien, suite à de bonnes sensibilisations effectuées par les diverses associations d'aide telle que l'association EL FADJR, aboutissant à une augmentation des consultations de dépistage. Par conséquent, les patientes de nos jours découvrent leur maladie à un stade plus précoce notamment avant une atteinte des ganglions par les métastases.

Dans notre série, 57% des patientes sont au stade N+ contre 43% au stade N<sub>0</sub>. Sur les 57% de patientes présentant des métastases ganglionnaires (N+), 41% sont au stade N<sub>1</sub> (07 cas), 41% au stade N<sub>2</sub> (07 cas) et seulement 17% au stade N<sub>3</sub> (03 cas) (**Figure N°36**). Ces résultats confirment notre hypothèse de meilleure prise en charge de nos patientes en termes de dépistage. Cependant, un retour en arrière sera forcément observé si on prenait une série de patientes suivie pendant la pandémie de la covid19. Cette dernière a provoqué un retard de consultation, de diagnostic et d'initiation du traitement. En effet, une étude américaine l'a clairement prouvé avec un retard moyen d'initiation du traitement de 32 jours dans le cas du cancer du sein, suivi par un taux de mortalité à 5 et 10 ans qui augmente significativement selon le stade du cancer ([CONE et al., 2020](#)).



**Figure N°36 :** Répartition des ganglions positifs selon le stade N du TNM

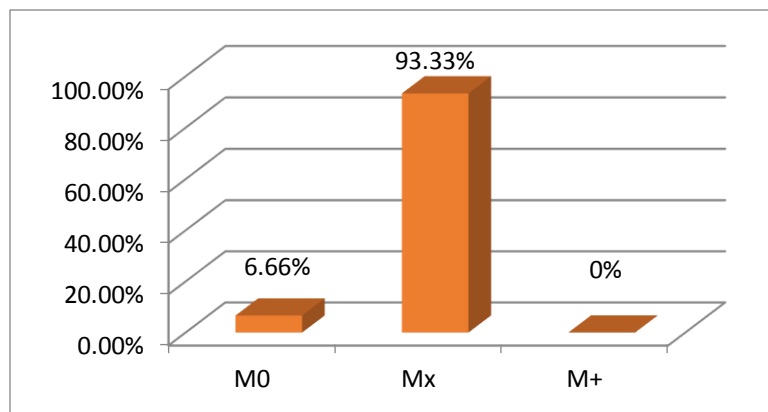
Nos résultats concordent avec la littérature notamment avec l'étude de [KEITA \(2005\)](#) et celle de [DIALLO \(2007\)](#) qui notent respectivement 54,41% et 90% au stade N1, 41,17% et 7,5% au stade N2 et 4,41 et 2,5% en stade N3. Ces résultats sont différents entre eux et des nôtres mais se ressemblent du fait que tous sont relativement décroissants.

Seule l'étude Malienne de [THIAM \(2003\)](#) discordes avec ce raisonnement. En effet, ce dernier note une majorité de stade N3 (10 patientes sur 43 soit 23,3%).

#### 2-1-2-6 Statut métastatique « stade M du TNM »

Le statut M du TNM représente la localisation secondaire des métastases c'est-à-dire en dehors des métastases ganglionnaires représentées par le statut N. L'évaluation des métastases à distance est un facteur pronostique et signe d'un cancer évolué.

La majorité des patientes formant notre échantillon est classée en stade  $M_x$  93,33% soit 28 malades. En effet, les métastases de ses dernières n'ont pas pu être classées par manque de renseignements. Seules 2 malades ne présentent pas du tout de métastases à distance  $M_0$  (6,66%) et aucune malade n'est classée en stade  $M_+$  (**Figure N°37**).



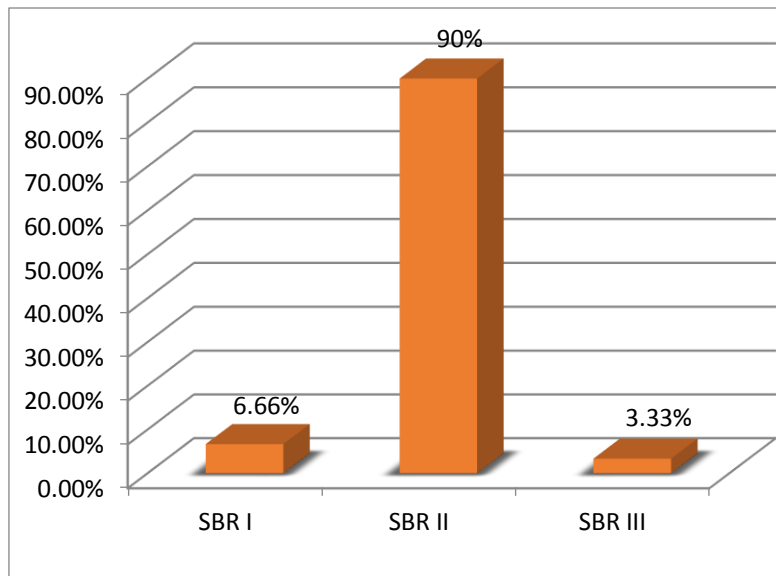
**Figure N°37** : Répartition selon le statut métastatique.

L'absence de renseignements permettant de classer les métastases de nos patients (Mx) représenté par 93,33% fait que nos résultats discordent fortement avec ceux de la littérature. En effet les deux études marocaines [HAMMAS \(2009\)](#) et [LAMRAHI \(2011\)](#) qui ne notent aucune patiente en stade Mx, s'accordent sur un pourcentage majoritaire de stade M0, avec respectivement 87,3% et 95% contre seulement 12,7% et 05%, alors que dans notre série, seule 6,66% de patientes ont été observées en stade M0 et aucune patiente ne présente des métastases bien objectivées M+.

#### 2-1-2-7 Grade SBR

Le grade SBR est un facteur de pronostic indépendant de la taille et de l'état des ganglions. En effet, il tient compte de trois critères (degré de différenciation, anisonucléose et activité mitotique). Mais, bien que beaucoup d'études aient confirmé sa signification pronostique, la variabilité inter-observateurs et la petite part de subjectivité avec laquelle sont attribuées les notes des trois critères, demeurent un souci important qui fait que le grading SBR n'est pas un facteur pronostique fort.

Le grading a été effectué pour l'ensemble de nos patientes. Le grade SBR majoritairement retrouvé est le grade II avec 90% de cas (27 patientes), suivi du grade I avec 6,66% des cas (02patientes) et enfin du grade III avec 3,33% (1 patiente) (**Figure N° 38**).



**Figure N° 38** : Répartition selon le grade SBR.

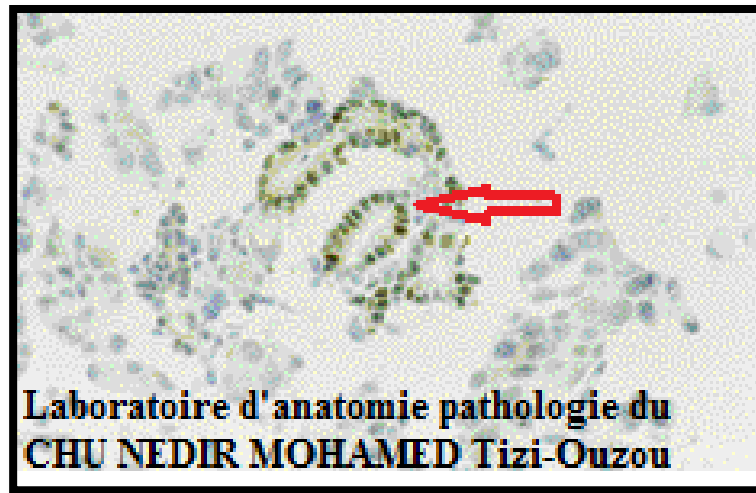
Dans notre série, on note une nette prédominance du grade II, ce qui concorde avec plusieurs données de la littérature. Notamment, l'étude de [BENDIB \(2023\)](#) avec un pourcentage de 80%, l'étude [ENGELS et al \(2014\)](#) avec un pourcentage 47,9% de patientes en grade II et l'étude [FOUHI et al., \(2020\)](#) avec 55,9 %,

Nos résultats restent tout de même discordants avec ceux retrouvés dans certaines études ayant montré une plus forte prédominance du grade I ([BROET et al., 1998](#)) ou du grade III ([MINK et al., 1994](#)).

### *2-1-3 Nouveaux facteurs pronostiques*

#### *2-1-3-1 Expression des récepteurs hormonaux*

La détection des RH joue un rôle capital dans le choix du traitement (facteur pronostique). La détermination de la valeur de ces récepteurs joue un rôle dans la prédiction de la réponse à l'hormonothérapie (facteur prédictif) ([TREILLEUX et al., 2002](#)). Cependant, la valeur pronostique indépendante des RH reste diversement appréciée dans la littérature ([HAMMAS, 2009](#)). Les résultats des RH sont évalués par le score d'Allred. Seul le marquage nucléaire est pris en considération avec un seuil de positivité de 10% (**Figure N° 39**).

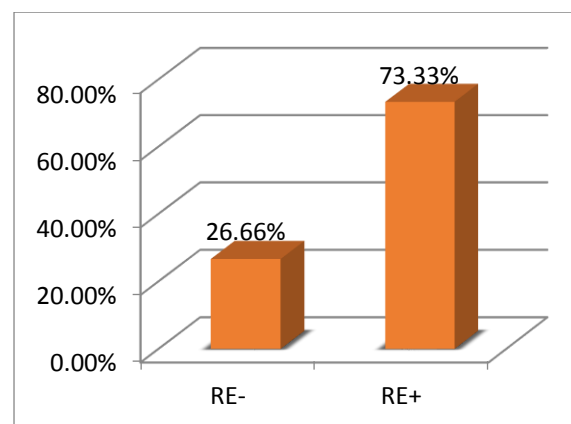


**Figure N°39** : Microphotographie d'un amas de cellules tumorales RE- avec un témoin interne positif (flèche) au grossissement x40.

**- Expression des RE**

L'évaluation de la valeur pronostique indépendante des RE est difficile. En effet, l'expression des RE est souvent associée à des facteurs de bon pronostic comme un faible grade, un âge avancé...etc. De plus, les patientes RE+ bénéficient d'une hormonothérapie si régulière qu'il est difficile d'évaluer le pronostic en dehors de l'influence du traitement (ESTEVA *et al.*, 2004). Il est à noter que la surexpression du RE $\alpha$  est un facteur pronostic et prédictif bien établi. Cependant, la signification pronostic du RE $\beta$  n'est pas bien définie (SPEIRS *et al.*, 2000).

Dans notre série, 22 patientes soit 73,33% expriment le RE, ce qui est proche du taux de 60% à 70% de la littérature. Donc, seuls 26,66% (8 cas sur 30) sont RE- (**Figure N° 40**).

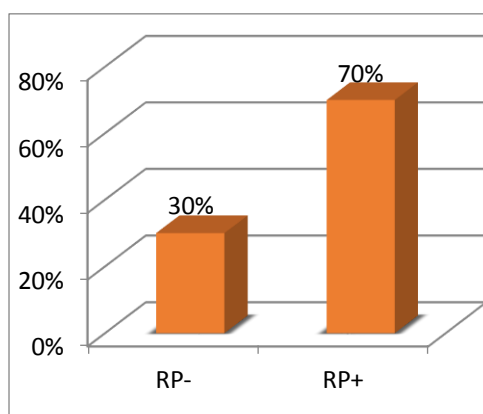


**Figure N° 40** : Répartition des cas selon l'expression des RE.

Nos résultats sont plus élevés que ceux obtenus dans les études telles que l'étude Tunisienne de [AYADI et al., \(2008\)](#) qui notent un pourcentage de positivité ne dépassant pas 59,4%, l'étude Jordanienne d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#) qui notent un pourcentage de positivité encore plus bas 53%. L'étude d'[ANDERSON et al., \(2001\)](#) et l'étude Chinoise de [CHOW et al., \(2000\)](#) trouvent également des taux d'expression plus bas que les nôtres. Cependant, nos résultats concordent avec des études Françaises telles que celle réalisée par [VINCENT-SALOMON et al., \(2003\)](#) qui notent 68% de RE+, ainsi qu'avec l'étude de [VILLAIN et al.,\(1997\)](#) qui note un pourcentage de 70%.

#### - Expression du récepteur à la progestérone

21 patientes sur 30 (70%) présentent un profil RP+ contre 30% (09 cas) présentant un profil RP- (**Figure N° 41**).



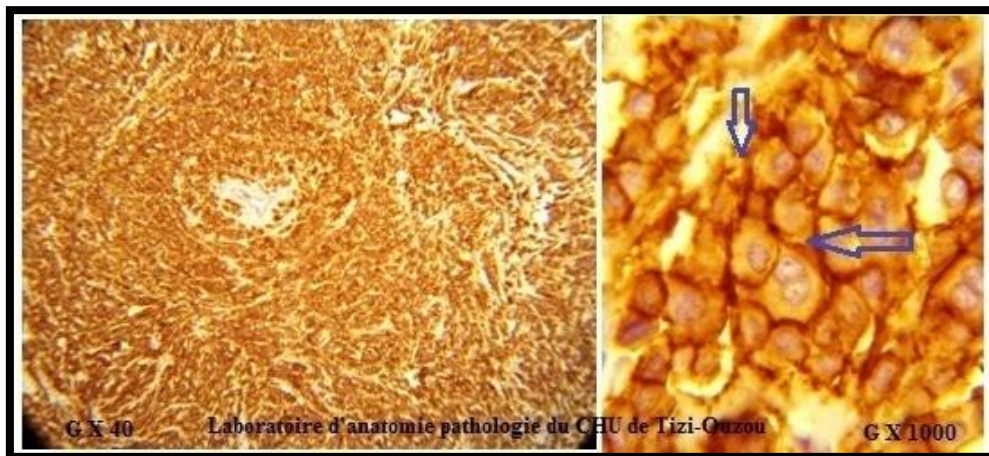
**Figure N°41** : Répartition des cas selon l'expression des RP.

70% de nos patientes expriment le RP, ce qui rejoint le taux de 60 à 70% de la littérature. Les cas RP- sont au nombre de 09 sur 30 soit un pourcentage de 30%. Nos résultats se rapprochent fortement de ceux de l'étude Marocaine réalisée par [HAMMAS en 2009](#). En effet, cette dernière note 71,4% de RP+ contre 28,6% de RP-.

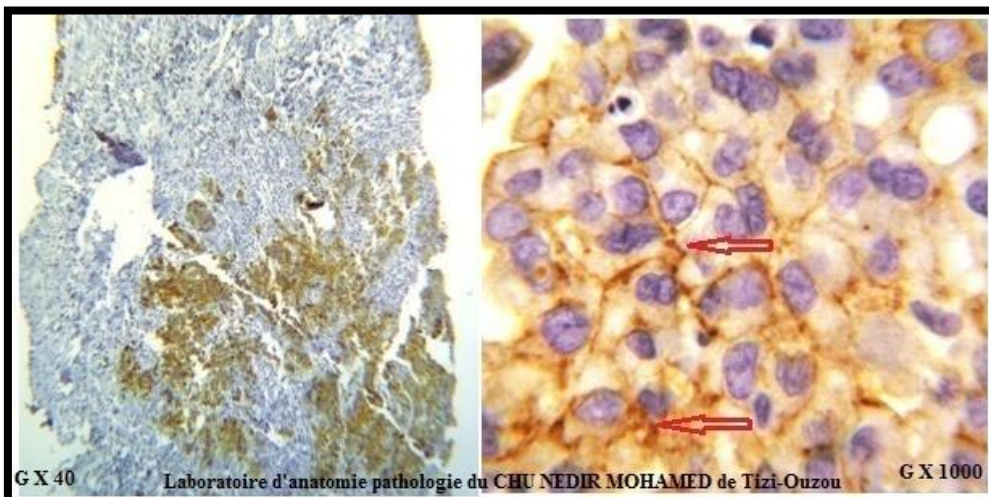
D'après [ZAFRANI et al., \(2007\)](#), les RP pourraient avoir une valeur pronostique plus forte que les RE car les patientes qui expriment les RP ont un meilleur pronostic que les autres dont la valeur du RE est moins importante. De plus, d'après [TREILLEUX et al., \(2002\)](#), la valeur des RE est plus un marqueur de la vitesse de croissance de la tumeur que du risque métastatique.

### 2-1-3-2 Expression de l'oncogène HER2

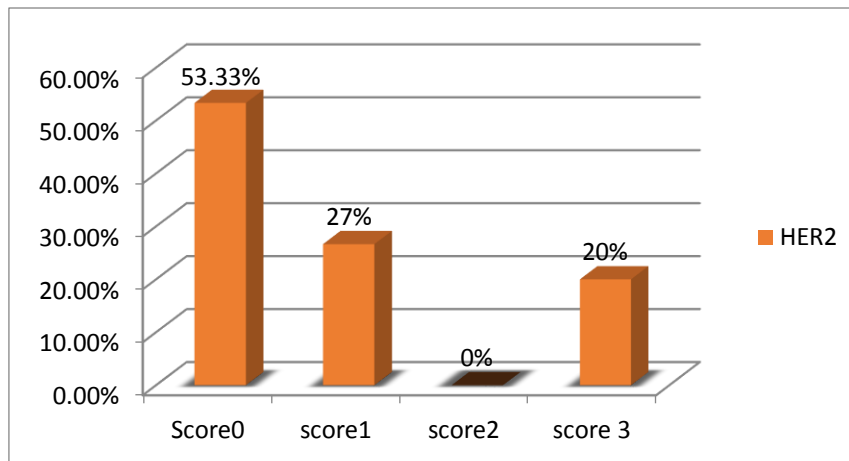
Dans notre série, 20% de nos patientes expriment la protéine HER2 (score 3) (**Figure N° 42**) contre 80% de patientes présentant un profil HER2 négatif (53,33% score 0 et 26,66% score 1) (**Figure N° 43**), nous n'avons pas eu de cas douteux score 2 (**Figure N° 44**). Dans ce cas, il est recommandé de confirmer le score en refaisant la technique ou de procéder à des techniques de biologie moléculaires (FISH : Hybridation fluorescente *in situ*, CISH : Hybridation *in situ* colorimétrique).



**Figure N°42 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 positif (score 3+) montrant un marquage fort et complet (flèche) au faible et au fort grossissement.



**Figure N° 43 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 négatif (score 1+) au faible et au fort grossissement.



**Figure N°44 : Répartition des cas selon le statut HER2**

Notre résultat concorde avec le taux de positivité de 20 à 30% mentionné dans la littérature (PAULETTI *et al.*, 2000). Il est également très proche des 22% de positivité noté par l'étude Algérienne de BENDIB (2023) et des 20,8% de surexpression notés par l'étude Danoise réalisée par RASSMUSSEN en 2008.

Notre pourcentage de positivité (20%) est légèrement inférieur et discordé donc avec celui de plusieurs études, telles que l'étude Australienne de BILOUS *et al.*, (2003) qui note 26% de positivité, l'étude Tunisienne de AYADI *et al.*,(2008) note également 26% d'HER2+, l'étude Jordanienne d'ALMASRI *et al.*, (2005) présente un pourcentage de positivité de 24%. L'étude Marocaine de MANSOURI, réalisée en 2017 note un haut pourcentage de positivité qui s'élève à 87%, il est à noter que l'étude s'est beaucoup plus intéressée au cas HER2+ (MANSOURI, 2017).

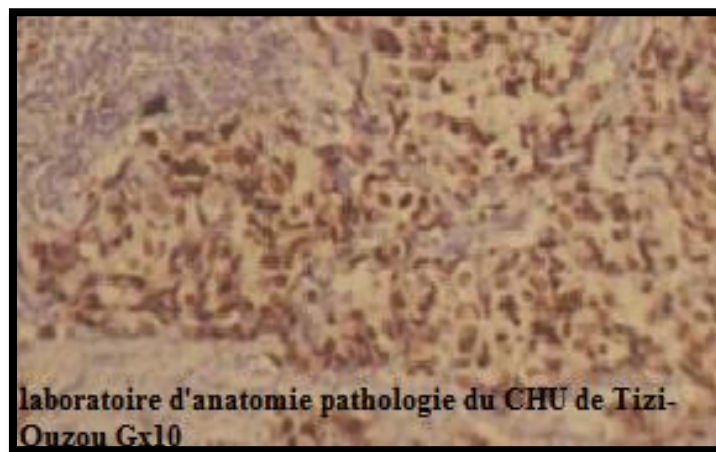
Il est à noter que l'évaluation du statut HER2 présente un intérêt thérapeutique. En effet, les patientes présentant une surexpression de cet oncogène bénéficient d'une thérapie ciblée basée sur un traitement avec la Trastuzumab (Herceptine). Il est également important de connaître le statut HER2 du fait que la surexpression est associée à une mauvaise réponse de certaines molécules de chimiothérapie telles que les Doxorubicines, le Fluorouracil...etc.

Les patientes présentant des RH positifs doivent normalement bénéficier d'une hormonothérapie. Cependant, lorsqu'ils présentent une surexpression de l'HER2, la thérapie hormonale au tamoxifène se révèle inefficace ou même nuisible et nocive (MENARD *et al.*, 2000).

La valeur pronostique indépendante de l'HER2 a été difficile à établir car la majorité des études étaient rétrospectives utilisant des méthodes d'évaluation différentes. Cependant, une multitude d'études démontrent l'importance d'HER2 comme facteur pronostic. Selon [OFFERSEN et al., \(2008\)](#), la surexpression d'HER2 est corrélée à un mauvais pronostic chez toutes les patientes avec et sans métastases ganglionnaires.

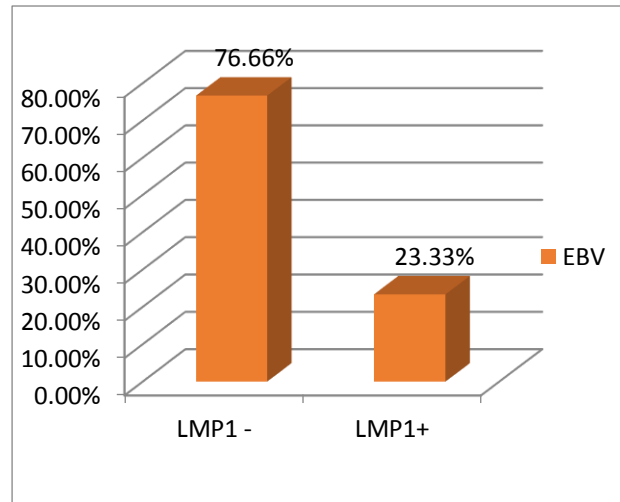
#### 2-1-3-3 Expression de la protéine LMP1 d'EBV

La coloration nucléaire avec l'anticorps LMP1, indépendamment de l'intensité de la coloration et du pourcentage de cellules colorées a été considérée comme une expression positive à LMP1 alors que le tissu adjacent sain est négatif à LMP1 (**Figure N° 45**)



**Figure N°45 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales positives à LMP1 montrant une coloration nucléaire.

Dans notre série, 23,33% des carcinomes mammaires expriment la protéine LMP1 qui signe de la présence du virus EBV, Le reste, soit 77% présente un profil LMP1 négatif (**Figure N° 46**).



**Figure N°46 :** Répartition des cas selon le profil LMP1

Ce résultat de 23,33% de patientes présentant un carcinome mammaire avec présence d'EBV (LMP1 détecté) est proche du 26% de positivité noté par l'étude Jordanienne réalisée en 2013 par Monsieur KHABAZ. En effet, ce dernier a utilisé deux méthodes de détection :

- La PCR (après extraction de l'ADN) à la recherche du génome viral avec les amorces EBR2, BNLF1, EBNA2 et GP220 où il note 26,08% de positivité sur les tissus tumoraux contre seulement 6,12% de positivité au niveau des tissus seins ce qui présente une différence statistiquement significative ;
- L'immunohistochimie à la recherche de l'expression de la protéine EBNA1 où il note 26% de positivité des tissus tumoraux mammaires avec une coloration nucléaire granulaire.

L'étude de SHARIFPOUR *et al*, réalisée en 2019 sur des échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine a également noté après extraction de l'ADN et réalisation d'une PCR pour la détection de l'ADN viral EBNA3 C, un pourcentage de positivité de 27,02% sur les tissus tumoraux contre seulement 11,42% pour les témoins. Un résultat qui se rapproche donc du notre.

Le méta analyse qui englobe 16 études (réalisées avec différentes techniques IHC, PCR, hybridation *in situ*), sur un total de 1279 patients et 814 témoins suggère également que l'infection à EBV est significativement associée à un carcinome du sein (JIN *et al.*, 2019).

L'étude de [MOFRAD et al réalisée en 2020](#) quant à elle, note un pourcentage de positivité qui ne dépasse pas les 6,7%. Un résultat très inférieur au notre et à ceux de plusieurs études. L'étude visait à détecter EBNA1 d'EBV après extraction de l'ADN et réalisation d'une PCR. Aucun tissu témoin n'a été marqué et toutes les patientes chez qui l'EBV a été détecté (6,7%) avaient des grades tumoraux élevés (II et III). Alors que l'étude Libanaise de [NAGI et al., de 2021](#) trouve un taux de présence d'EBV relativement élevé de 40%.

Ainsi, notre résultat confirme et élargie les rapports antérieurs qui notent des proportions différentes de positivité d'EBV dans les carcinomes mammaires (27,77% par [GHIMIJA et al en 2017](#), 29,33% de la méta-analyse réalisée par [HUO en 2012](#), 35% par [PRECIADO et al en 2005](#), 46% par [PERKINS et al en 2006](#)).

Nous savons aujourd'hui que la coïnfection par les oncovirus joue un rôle important dans l'oncogenèse humaine. Il serait donc important de s'intéresser à l'avenir à l'interaction de ces derniers et de leurs rôles possibles dans la carcinogenèse mammaire. Des recherches sur des patients pakistanais ont révélé que la coïnfection par l'EBV et les HPV à haut risque suggéraient un possible effet carcinogène synergique ([NAUSHAD et al., 2017](#)). L'étude de [NAGI](#) et son équipe a également rapporté que l'HPV à haut risque et l'EBV sont coprésents dans 29% des cas des de carcinomes mammaires étudiés. De plus cette coprésence est associée au grade tumoral ([NAGI et al., 2021](#)).

D'autres rapports se sont révélés négatifs et n'ont pas pu prouver la présence d'EBV dans les carcinomes mammaires ([DADMANESH et al., 2002](#) ; [KIJIMA et al., 2002](#) ; [DESHPANDE et al., 2002](#) et [HERMANN et al., 2003](#)).

La variabilité des résultats notés dans la littérature peut être attribuable à la diversité des techniques utilisées (IHC, PCR, ISH) pour la détection du virus, des différentes protéines qui dérivent de l'EBV ou des acides nucléiques étudiés ou encore de l'origine ethnique ([GLASER et al. 2017](#)).

La variation épidémiologique et l'âge de la première infection à l'EBV peuvent également jouer un rôle ([YASUI et al., 2001](#)).

A la lumière de ces données et de nos résultats, nous pouvons suggérer que EBV joue un rôle dans l'oncogenèse mammaire mais probablement pas en tant que facteur éthologique primaire. Du fait qu'il ne soit pas détecté systématiquement dans toutes les cellules carcinomateuses

mammaires, bien que l'EBV soit connu pour être un virus hit-and-run. En effet, même dans les cas de carcinomes nasopharyngés où le rôle de l'EBV ne se discute plus et est bien documenté, toutes les cellules tumorales ne sont pas colorées par l'anticorps (GLASER *et al.*, 2004). De plus l'expression de la protéine LMP1 par exemple, dépend du type de latence (latence II) et sa négativité n'élimine pas la présence de l'EBV (KAFE *et al.*, 1998).

Dans le cas du cancer du sein, il jouerait plutôt le rôle d'agent qui avec d'autres cofacteurs, devient capable de modifier le comportement des cellules déjà transformées, leurs conférant ainsi un phénotype plus agressif (SHARAF *et al.* 2012), hypothèse soutenue par le fait que MURRAY *et al.*, en 2003 ont remarqué que les cancers du sein EBV+ sont plus agressifs que les autres cancers du sein. Plus récemment, d'autres auteurs ont rapporté que l'expression du gène LMP1 est associé à un phénotype invasif (ABOULKASSIM *et al.*, 2015). C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à l'étude des facteurs pronostiques connus du cancer du sein sur des profils tumoraux exprimant l'EBV et plus exactement la protéine LMP1.

## 2-2 Etude analytique

Dans le but de déterminer les éventuelles associations entre les facteurs pronostiques et la présence du virus EBV, nous avons réalisé des tests statistiques sur notre population en utilisant le logiciel SPSS. Nous avons étudié nos variables deux à deux en réalisant deux types de test :

- Test exact de Fisher, tout en calculant le V de Cramer et le coefficient de contingence au seuil  $\alpha=0,05$ .
- Test de corrélation de SPEARMAN avec une marge d'erreur  $\alpha=0,05$ .

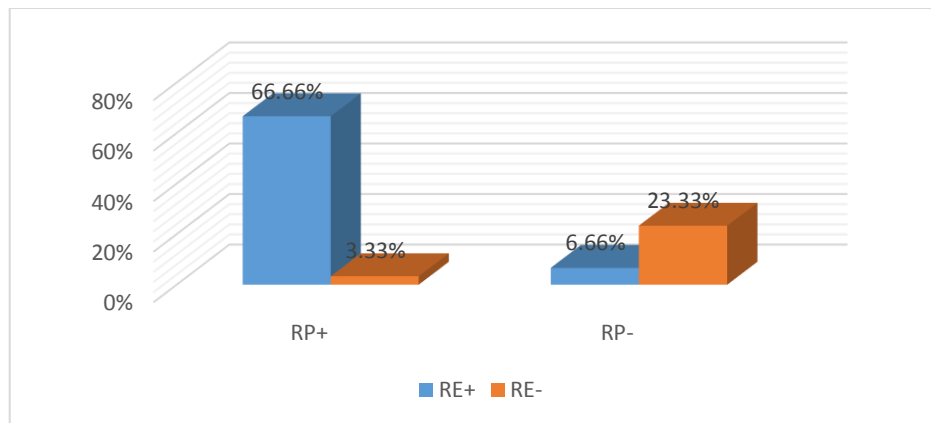
Avec les résultats notés sur cette même population, nous avons tracé des histogrammes comparatifs de l'expression de la protéine LMP1 qui note de la présence d'EBV, de l'expression des RH et de la surexpression de l'HER2 en association avec les facteurs pronostiques classiques tels que l'âge, le grade SBR...etc.

Le but de cette démarche n'est pas de déterminer la valeur pronostique de chaque facteur individuellement. En effet, il s'agit d'étudier leur association, leur valeur pronostique ainsi que thérapeutique de manière jumelée en prenant en considération l'influence des uns sur les autres, étant donné que la biologie du cancer ne se résume pas à une seule cause ou à un seul facteur, bien au contraire, il s'agit d'une maladie multifactorielle où aujourd'hui, nous évaluons un facteur viral.

### 2-2-1 Etude de la relation RE-RP

Nous avons noté l'existence d'une forte relation entre l'expression du RE et l'expression du RP avec une P value statistiquement significative et un V de Cramer de **0,757**.

Nous avons également prouvé une **corrélation positive significative** entre l'expression de ces deux récepteurs hormonaux avec un coefficient de corrélation de 0,757. Cette relation positive et corrélation entre les RE et RP rejoint les résultats de plusieurs autres études telles que l'étude Jordanienne d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#), ou encore l'étude Tunisienne de [AYADI et al., \(2008\)](#). En d'autres termes, les patientes RE+ sont généralement RP+ comme le démontre également bien la **figure N°47**.



**Figure N°47** : Corrélation des RH entre eux

Dans notre étude, nous avons noté 66,66% RE+/RP+ (**figure N°47**), un pourcentage plus élevé que ceux trouvés dans d'autres études telles que celle de [HAMMAS \(2009\)](#) qui note 55% RE+/RP+ ou celle d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#) qui inscrit un pourcentage encore plus bas ne dépassant pas 39,5%.

Nous n'avons obtenu qu'un pourcentage de 23,33 % de patientes sous un profil RE-/RP-, que deux patientes présentant un profil RE+/RP- et une seule RE-/RP+ (figure 48). Cela est expliqué par le fait que l'expression du RP est fortement dépendante de l'expression des RE. RP est donc rarement observé dans les tumeurs RE négatives et inversement, comme le démontre bien notre test de Fisher et V de Cramer qui dépasse 0,70 prouvant ainsi une forte relation entre l'expression de ces deux récepteurs.

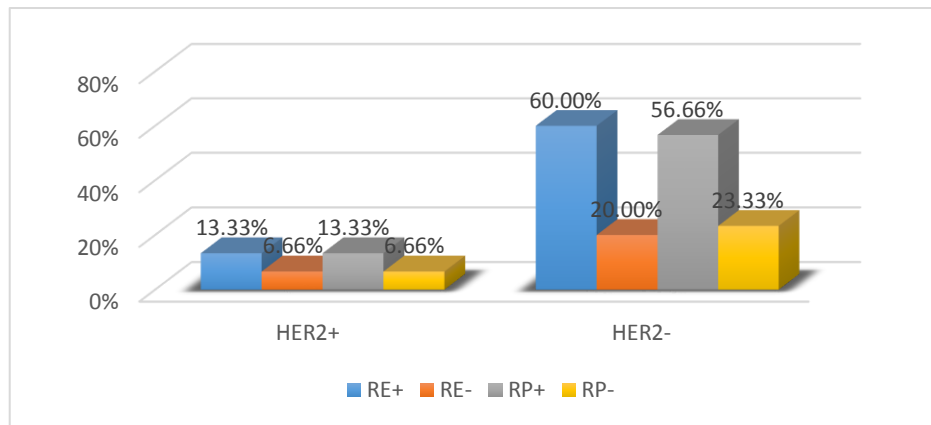
Il est à noter qu'historiquement, l'analyse du RP a été effectuée afin d'évaluer l'intégrité de la voie des RE quand la tumeur est rapportée RE-. Notre résultat concorde donc avec les données de la littérature.

Il est clair que la positivité des RH est un facteur de bon pronostic puisque les patientes bénéficieront d'une hormonothérapie. En effet, de très nombreuses études ont mis en évidence une étroite corrélation entre la présence de RH et la réponse à l'hormonothérapie ainsi qu'une corrélation entre le taux de ces récepteurs et la durée de cette thérapie antiœstrogénique (BRETTESS *et al.*, 2007). Des auteurs ont également démontré que les tumeurs RE+/RP+ répondent beaucoup mieux à l'hormonothérapie que les tumeurs RE+/RP- (ELLEDDGE *et al.*, 2000). L'intérêt des RP dans le choix d'une thérapie hormonale est encore controversé. Nous recommandons donc dans la pratique une prise en considération plus importante des RE.

#### *2-2-2 Etude des relations RE-HER2 et RP-HER2*

Il est admis dans la littérature et prouvé dans notre série que RE et RP présentent une forte relation. Nous avons alors voulu étudié le lien entre l'expression de ces deux RH et la surexpression de l'oncoprotéine HER2.

Dans notre étude, nous n'avons noté aucune relation statistique entre l'expression des RH et la surexpression de la protéine HER2. (P value RE= 0,645 > 0,05 avec un Vde cramer = 0,075, et P value RP=1 avec V de cramer = 0,036 au seuil alpha=0,05). Les deux variables RE et RP ne sont donc pas liées à la variable HER2. En d'autres termes, la surexpression de l'oncoprotéine n'a aucun lien avec l'existence des RH+. Pourtant, l'histogramme de la **figure N°48** démontre clairement une tendance inversée. En effet, 60% de nos patientes qui expriment RE ne surexpriment pas l'HER2 (profil RE+/HER2-) et 56,66% des patientes RP+ sont également HER2-. On remarque ainsi que de manière générale, les patientes RH+ sont plutôt HER2-.



**Figure N°48** : Profils d'expression des RH et de l'oncoprotéine HER2

A la lumière de ces résultats, nous nous sommes penchés sur l'étude des corrélations entre ces variables, dans le but de comprendre le comportement des RH versus celui du récepteur HER2. On note alors, une corrélation inverse entre l'expression du RE et la surexpression de l'HER2 avec un coefficient de **corrélation statistiquement significatif égal à -0,75**.

Notre résultat concorde avec la littérature du fait que la majorité des études ont noté que les cas HER2 score 3 sont beaucoup plus représentés dans les cas RE- que dans les cas RE+. Environ 35% des cas RE- présentent une amplification d'HER2 contre seulement 10 à 15% RE+/HER2+ (ELISS *et al.*, 2006), dans notre étude ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.

Cette corrélation inverse concorde également avec le résultat trouvé par RASSMUSSEN (2008) et AZIZ *et al.*, (2001) ou encore celui de BORGQUIST *et al.*, (2008). Ces résultats sont expliqués par le fait que l'œstrogène supprime la transcription de l'HER2 ainsi, ce dernier induit la prolifération en l'absence de la voie RE.

Dans le cas du test de corrélation RP/HER2, nous n'avons pas pu trouver une relation statistique significative. Cependant, nous notons une tendance à une corrélation inverse avec un coefficient de SPEARMAN de -0,36. De plus cette corrélation inverse reste logique du fait qu'il y ait une corrélation positive RE/RP et une corrélation négative RE/HER2. A partir de ces données, on peut déduire que la corrélation RP/HER2 sera négative.

Dans notre série, nous avons également noté l'existence de profils triple négatifs ou encore RH+/HER2+. Ce résultat concorde avec les données de la littérature et est expliqué par le fait que bien que la corrélation inverse entre l'expression des RE et de l'HER2 soit admise, elle reste tout de même non absolue. En effet, environ 10% des cas RE+ peuvent également être HER2 + (TODOROVIC, 2005), dans notre série ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.

De manière générale, l'étude de ces trois facteurs pronostiques démontre que deux d'entre eux (RH) sont corrélés positivement et sont inversement corrélés avec le troisième (HER2).

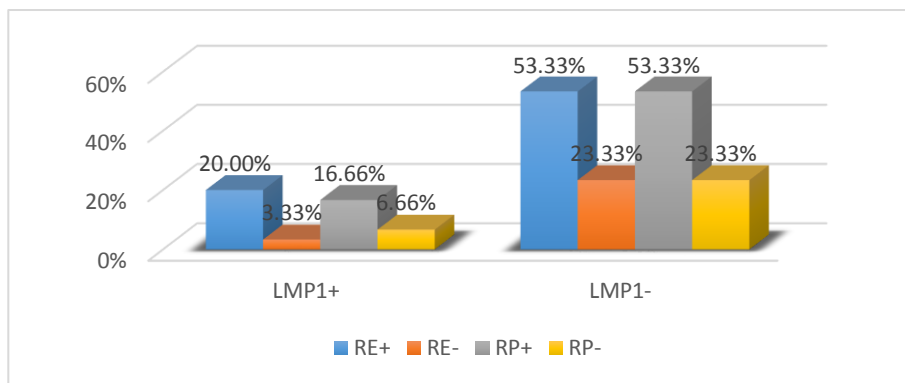
### *2-2-3 Etude de la relation RH-LMP1*

Dans notre série, aucune relation statistique entre l'expression des RH et la présence d'EBV (jugée par l'expression de la protéine LMP1) n'a été notée. (Dans le cas du RE, P value est de **0,638 > 0,05** avec un **V de cramer = 0,154**. Et dans le cas du RP, **P value= 1** avec **V de cramer = 0,017**).

D'un point de vue statistique, les deux variables RE et RP ne sont pas liées à la variable LMP1. Cela signifie que nous n'avons pas établi de lien entre la présence de la protéine virale LMP1 et l'expression des RH dans les cancers du sein.

Un résultat qui concorde avec certaines études, notamment celle de [KHAN et ses collaborateurs en 2011](#) ou encore, [SHARAF et al., \(2012\)](#) qui ne notent aucune association entre la présence d'EBV et l'expression des récepteurs stéroïdiens ou même avec l'état de ménopause.

Dans notre série, aucune corrélation statistiquement significative n'a été notée entre les RH et LMP1, contrairement aux résultats observés par plusieurs études telles que celle de [BONNET et al., en 1999](#), [FINA et al., 2001](#), [MURRAY et al, en 2003](#), [HACHANA et al, 2009](#) ou encore l'étude Française menée par [MAZOUNI et ses collaborateurs en 2011](#) qui ont démontré une corrélation inverse significative. Cela indique clairement que l'EBV est détecté plus fréquemment dans les tumeurs mammaires RH négatifs, pointant vers l'agressivité de ces tumeurs. En revanche, dans notre étude, on remarque que la majorité des patientes qui expriment les RH n'expriment pas LMP1 (figure N°49). En effet, 53,33% de nos malades présentent un profil RH+/LMP1-. Nous n'avons pas pu conclure en la corrélation inverse entre l'expression de LMP1 et la positivité des RH car la majorité des malades formant notre échantillon sont RH+. Une enquête plus élargie avec un plus grand effectif aboutira probablement à cette corrélation inverse notée dans la littérature.



**Figure N°49** : profils d'expression des RH et de l'oncoprotéine LMP1

#### *2-2-5 Etude de la relation HER2-LMP1*

Dans notre étude, nous n'avons abouti à aucune relation statistique entre l'expression de la protéine virale LMP1 et la surexpression de la protéine HER2 (P value= **0,290** > **0,05** avec un **Vde cramer = 0,276**). De plus aucune corrélation statistiquement significative n'a été notée. Notre résultat concorde avec l'étude réalisée aux Emirats Arabes unis, par **KHAN et son équipe en 2011**, ainsi qu'avec l'étude Tunisienne de **HACHANA et ses collaborateurs, réalisée en 2009**. Cependant, dans la littérature il est rapporté que l'infection de certaines lignées cellulaires carcinomateuses mammaires par l'EBV induit l'activation des voies de signalisation HER2/HER et que la surexpression de l'HER2 rend les cellules tumorales mammaires hautement résistantes aux drogues chimiothérapeutiques. Il est donc curieux qu'on ne rapporte pas cette corrélation entre la présence de l'EBV et la surexpression de l'HER2 surtout que dans notre série, aucune patiente ne présente un profil LMP1+/HER2+.

#### *2-2-6 Etude des corrélations entre l'expression de LMP1 et les facteurs pronostiques classiques.*

Comme nous l'avons préalablement souligné, l'évaluation des nouveaux facteurs pronostiques permet de définir de nouveaux sous-groupes de cancer du sein. Cependant, la question de la relation entre l'expression de l'EBV et les déterminants pronostiques et clinico-pathologiques du carcinome du sein reste posée. Nous tenterons donc, d'y répondre dans la seconde partie de ce travail. Le but étant, également de savoir comment tous ces facteurs influencent le pronostic global ?

Dans notre série, nous n'avons noté aucune corrélation statistiquement significative entre l'expression de la protéine LMP1 de l'EBV et les facteurs pronostiques classiques à savoir : l'âge des patients, le grade SBR, la taille tumorale ou encore l'envahissement des ganglions lymphatiques (**Tableau V**).

**Tableau V** : Tableau récapitulatif des corrélations entre l'expression de la protéine LMP1 et les déterminants clinico-pathologiques du carcinome mammaire

	<b>P value</b>	<b>Coefficient de corrélation</b>	<b>Signification</b>
<b>LMP1-Age</b>	0,680	-0,078	Non significatif
<b>LMP1-SBR</b>	0,564	0,19	Non significatif
<b>LMP1-T</b>	0,442	-0,146	Non significatif
<b>LMP1-N</b>	0,092	-0,313	Non significatif

Cette absence de lien et de corrélation statistiquement significative entre le développement d'un carcinome du sein avec une infection à l'EBV et les quatre facteurs pronostiques sus-étudiés a également été notée par [FINA et son équipe en 2001](#), [PERICARDO et al., en 2005](#), [HACHANA et ses collaborateurs en 2011](#), ainsi que [MOHAMMEDIZADEH et al., en 2014](#). D'autres auteurs ont obtenu des conclusions presque similaires, [CHU et ses collaborateurs en 2001](#) ont constaté que l'identification de l'EBV n'était pas associée à la taille de la tumeur, l'état des ganglions ou le grade tumoral. En [2013](#), [KHABAZ](#) ne trouve pas d'association significative entre le développement d'un cancer du sein à EBV et l'âge, le grade SBR ou la taille tumorale. L'étude égyptienne de [SHARAF et al., réalisée en 2012](#) n'observe pas de lien significatif entre la présence de l'EBV et l'âge. Cependant, des associations significatives ont été détectées entre l'expression du génome d'EBV et des facteurs de mauvais pronostic, tels qu'un grade tumoral élevé et l'envahissement ganglionnaire et ce, en accord avec une étude antérieure qui a abouti à une conclusion identique ([BONNET et al, 1999](#)).

[FAWZY et al., en 2008](#) font le rapprochement entre un statut (EBV-) et l'état des ganglions en obtenant une association significative entre l'envahissement ganglionnaire et la présence d'EBV dans les tumeurs. Cela suggère que l'EBV est lié à une forte potentialité métastatique des tumeurs et qu'il peut jouer un rôle dans le développement et l'altération comportementale de certains carcinomes agressifs.

L'étude Française de [MAZOUNI et al., de 2011](#), note également des caractéristiques plus agressives dans les cancers mammaires exprimant EBV, en particulier un grade tumoral élevé. [MURRAY et ses collaborateurs en 2003](#) ont conclu que les tumeurs exprimant EBV étaient significativement plus susceptibles d'être de grade élevé, impliquant plus de ganglions lymphatiques et de plus grande taille. Cette notion de taille tumorale a également été rapportée par l'étude de [SHARAF et al., en 2012](#). En effet, dans cette étude l'EBV n'a pas été détecté dans les tumeurs de petite taille T1 (< 2 cm) et tous les carcinomes EBV positifs étaient de taille tumorale T2 ou T3 (> 2cm), mais la différence était statistiquement insignifiante.

En 2012, GLENN et son équipe ont trouvé une association entre la présence de l'EBV dans les tumeurs mammaires et le jeune âge des patientes au moment du diagnostic.

Ces diverses corrélations rapportées dans la littérature, entre la présence de l'EBV dans la tumeur et les facteurs de mauvais pronostics, bien que mitigées, font penser à une maladie de pronostic défavorable.

## ***CONCLUSION ET PERSPECTIVES***

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le cancer du sein représente le premier cancer de la femme et la première cause de mortalité féminine par cancer. Sa prise en charge est complexe et l'évaluation des facteurs pronostiques est une étape importante pour une décision thérapeutique adéquate. De plus, l'évaluation des nouveaux facteurs pronostiques (comme les RH et l'HER2) a permis l'apparition de nouvelles thérapeutiques (thérapies ciblées).

Au terme de notre étude, nous retenons que l'incidence de cette pathologie redoutable est en évolution croissante et que cette dernière apparaît à un âge relativement jeune dans notre wilaya. Nous avons noté un taux d'expression des RE et des RP proche de celui décrit dans la littérature avec respectivement des pourcentages de 73.34% et 63.33%. Cependant, le taux d'expression de l'oncoprotéine HER2 (16.67%) se rapproche mais reste inférieur à celui cité dans la littérature. Ces nouveaux facteurs présentent une association statistique significative avec une corrélation positive entre les RE et RP et une corrélation inverse de ces derniers avec l'expression de l'HER2.

L'expression des RH est associée à certains facteurs de bon pronostic comme l'âge avancé, un score SBR de bas grade, une faible taille tumorale...etc. Inversement, la surexpression d'HER2 est plutôt associée à des facteurs de mauvais pronostic comme le jeune âge ( $\leq 35$ ans), un score SBR de haut grade et une taille tumorale augmentée.

Aucune relation statistique n'a été observée entre l'expression de la protéine LMP1 et l'âge, le grade tumoral SBR, la taille tumorale, l'envahissement des ganglions lymphatiques, l'expression des RH ou encore la surexpression de l'HER2.

L'EBV pourrait représenter un cofacteur parmi d'autres dans la transformation maligne des cellules épithéliales. La majorité de nos résultats concordent avec ceux de la littérature. De ce fait, nous pouvons affirmer la fiabilité de notre technique immunohistochimique.

En perspective, on peut envisager d'affiner cette étude en augmentant l'effectif de la population, en réalisant un suivi post analyse des patientes et en prenant en considération la classification moléculaire du cancer du sein lequel, dans un futur proche, permettra d'établir

des thérapies à « la carte » et individualisées. Le profil génomique deviendra alors un facteur pronostique et prédictif de la réponse thérapeutique.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdou M., Duc C., Girardet C. (2017). Nouvelle classification TNM 2017, 8eme édition pour les tumeurs malignes. Publication de l'institut central des hôpitaux. Vol 19, N° 4.
- Abid S. (2017). Analyse de la charge virale Epstein Barr chez les patients atteints de parodontite chronique : traitement parodontal et réponse virale. Thèse médecine humaine et pathologie. Université Nice-Sophia Antipolis. Pp 17-18.
- Aboukassim T., Yasmeeen A., Akil N., et al. (2015). Incidence du virus d'Epstein-Barr chez les femmes syriennes atteintes d'un cancer du sein : une étude de microréseaux tissulaires. Hum Hum Vaccin Immunother;11:951-5. - PMC - PubMed.
- Almasri N.M., Alhamad M. (2005). Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and breast cancer research; 7: 598-604.
- Amazit L., Quesne M., Guiochonemantel A., Milgrom E. (2003). Sumoylation on the progesterone receptor and the steroid receptor coactivator src-1 J Biol Chem 278 (14): 35-43.
- Anderson W.F, Chu K.C., Chatterje E.N., Brawley O., Brinton L.A. (2001). Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database J Chin Oncol 19: 18-27.
- Anonyme 01.<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/levoru486/01molecules.htm>
- Anonyme 02. (2011). Item 159 : Tumeurs du sein. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF).
- Anonyme3.[www.aacr.org/Newsroom/Shared%20Documents/Obesity18\\_Press%20Program%20Abstracts.pdf](http://www.aacr.org/Newsroom/Shared%20Documents/Obesity18_Press%20Program%20Abstracts.pdf).

- Arnaud A., Brossard A.M., Charra C. et al. Les traitements du cancer du sein, Institut National du Cancer (2013); 7: 23-35.
- Aubriot M. (1999). Intérêt de l'immunohistochimie dans l'évaluation de l'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone dans les cancers du sein. Comparaison avec la méthode biochimique immunoenzymatique sur une série de 795 cas. Thèse 79 Paris : faculté de Médecine Saint-Antoine.
- Aviel S., Winberg G., Massucci M., And Ciechanover A. (2000). Degradation of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) by the ubiquitin-proteasome pathway. Targeting via ubiquitination of the N-terminal residue. *J. Biol. Chem.* 275, 23491–23499.
- Ayadi L., Khabir A., Amouri A., Karray S. (2008). Correlations of HER2 overexpression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World J of surgical oncology*, 6: 112.
- Aziz S.A. (2001). Significance of immunohistochemical C-EerB-2 product localization pattern for prognosis in human breast cancer pathology oncology research, Vol7, N°3: 190.
- Balaton A.J., Le Doussal V., Barlier C., Bellocq J., Ettore F., Fiche M., Jaquenier J., Mac Grogan G., Mathieu M.C., Migeon C., Penault F., Pignodel C., Roger P., Simony-Lafontaine J., Treilleux T., Verrielle V., Vilion M.O., Voigt J.J., Zafrani B. (1999). Recommandation pour l'évaluation immunohistochimique des récepteurs hormonaux sur coupes en paraffine dans les carcinomes mammaires. Mise à jour 1999. *Anales de pathologie*, volume 19, N°4, août 1999, 396.
- Bartlett J. (2003). The clinical evaluation of HER2 status: which test to use? *J Pathol* 199: 411-417.
- Ben Gobrane H., Fakhfakh R., Rahal K., Ben Ayad F., Maaledj M., Ben Abdellah M., Achour N., Hasairi M. (2007). Pronostic du cancer du sein à l'institut de cancérologie SALAH AZAIZ de Tunis : *Mediterranean Health Journal*, Vol. 13, N 2.

- Benabu J.C., Stoll F., Gonzalez M., Mathelin C. (2015). Night work, shift work: breast cancer risk factor.
- Gynecol obstet fertile 43 (12): 791-9.
- Bendib M. (2023). Étude épidémiologique, diagnostique et thérapeutique du cancer du sein dans la wilaya de Sétif. Disponible sur : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/4211>.
- Berry N.B., Fan M., Nephew K.P. (2008). Estrogen receptor-alpha hinge-region lysines 302 and 303 regulate receptor degradation by the proteasome. *Molecular Endocrinology* 22(7): 1535-1551.
- Billena C., Wilgucki M., Flynn J., Modlin L., Tadros A., Razavi P., Braunstein L.Z., Gillespie E., Cahlon O., McCormick B., Zhang Z., Morrow M., Powell S., Khan A.J. (2020). 10-year Breast Cancer Outcomes in Women  $\leq$  35 Years of Age. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020 Oct 24 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016.
- Bilous M., Ades C., Armes J., Bishop J., Brown R., Cooke B., Cummings M., Farshid G., Field A., Morey A., Mckenzie P., Raymond W., Robbins P., Tan L. (2003). Predicting the HER2 of breast cancer from basic histopathology data: an analysis of 1500 breast cancers as part of the HER2 international study. *The breast*, (12), p.92-98.
- Bjornstrom L., SJOBERG M. (2005). Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol. Endocrinol* 19(4): 833-842.
- Bliss J.M., Kilburn L.S., Coleman R.E., Forbes J.F., Coates A.S., Jones S.E., Jassem J., Delozier T., Andersen J., Paridaens R., Van De Velde C.J.H., Lønning P.E., Morden J., Reise J., Cisar L., Menschik T., And Coombes R.C. (2012). Disease-related outcomes with long-term follow-up: an updated analysis of the intergroup exemestane study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30(7): 709–717. doi:10.1200/JCO.2010.33.7899.

- Bonnet M., Guinebretiere J.M., Kremmer E., Grunewald V., Benhamou E., Contesso G., Joab I. (1999). Détection du virus d'Epstein Barr dans les cancers du sein invasifs, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, EPI 99-32, Pharmacologie Expérimentale et Clinique, Hôpital Saint Louis, Institut de Génétique Moléculaire, Paris, France. *J Natl Cancer Inst.* 91 (16): 1376-81.
- Borgquist S., Holm C., Stendahl M., Anagnostaki L., Landberg G., Jirstrom K. (2008). Estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  show different associations with clinicopathological parameters and their co-expression might predict a better response to endocrine treatment in breast cancer. *Jornal of clinical pathology* 61: 197-203.
- Brettes J.P., Mathelin C., Gairard B., Bellocq J. (2007). Rôle des hormones stéroïdes dans la cellule normale et dans la carcinogénèse mammaire: les mécanismes intracrines intra-mammaire.
- Brierly J. D., Mary K., Gospodarowicz M. D., Wittekind C. (2017). TNM classification of malignant tumors. 8th edition. UICC. Ed Wiley Blackwell.
- Brifford M., Le Doussal V., Spyrtos F. (2001). Détermination des récepteurs hormonaux par immunohistochimie sur cytoponctions des cancers du sein. *Bulletin du cancer*. Vol.88, N°10, 1028-35.
- Broet P., Pichon M.F., Magdelenat H., Delarue J.C., Spyrtos F., Basuyau J.P. (1998). Rôle pronostique à long terme des récepteurs stéroïdiens dans le cancer du sein. *Bulletin du cancer*. Vol.85, N°4, 52-347.
- Burgess A.W., Cho H.S., Eiginbrot C., Ferguson K.M., Carett J., Leahy D.J. (2003). An open and shut case. Recent insights into the activation of EGF/ERBB receptors. *Mol cell*; 12: 541- 52.
- Camara K. (1989). Contribution à l'étude de 12 cas observés chez 11 malades dans le service de chirurgie "A" de l'hôpital national du point "G" (étude prospective sur 1 an). Thèse Med, Bamako, 21.

- Canello G., Haisonneuve P., Rotmensz N., Viale G., Mastropasqua M.G., Pruneri G., Veronesi P., Torrìsi R., Montagna E., Luini. (2002). Prognosis adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 ans) with operable breast cancer. *Ann Oncol*.
  
- Chahbouni S. (1982). Corrélation entre la classification moléculaire et les aspects morphologiques du cancer du sein, SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH, FES, Maroc.
  
- Chen J., & Longnecker R. (2019). Epithelial cell infection by Epstein–Barr virus. *FEMS microbiology reviews*, 43(6), 674-683.
  
- Chow L.W., Ho P. (2000). Hormonal receptor determination of 1052 Chinese breast cancers *J Shurg concol* 75: 172-175.
  
- Christopher C., Ben Z. (2008). Impact of aging on the biology of breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/hematology* 66: 65-74.
  
- Chu P.G., Chang K.L., Chen Y.Y., Chen W.G., Weiss L.M. (2001). Aucune association significative entre l'infection par le virus d'Epstein-Barr et le carcinome mammaire invasif. *Am J Pathol*; 159 (2): 571-8.
  
- Clark R.B., Anderson E., Howell A. (2004). Steroid receptors in human breast cancer. *Trends Endocrinol. Metab* 15 (7): 316-323.
  
- Clavel Chapelon F. Gerber M. (2002). Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis. *Br cancer treat* 107-155.
  
- Collins L.C., Botero M.L., Schnitt S.J. (2005). Bimodal frequency distribution of Estrogen Receptor immunohistochemical staining results in breast cancer. *Am J Clin Pathol*; 123: 16-20.
  
- Condon J.C., Hardy D.B., Kovaric K., Mendelson C.R. (2006). Upregulation of the progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear

factor  $\beta$  may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol* 20: 764-75.

- Cone E.B., Marchese M., Paciotti M., Nguyen D.D., Nabi J., Cole A.P., Molina G., Molina R.L., Minami C.A., Mucci L.A., Kibel A.S., Trinh Q.D. (2020). Assessment of Time-to-Treatment Initiation and Survival in a Cohort of Patients With Common Cancers. *JAMA Netw Open*; 3(12): e2030072.
- Cottu P., Coudert B., Perol D., Doly A., Manson J., Aujoulat O., Barletta H., Chalabi N., Samelson L., Pivot X. (2020). Evolution in the real-world therapeutic strategies in more than 20,000 women with breast cancer having received human epidermal growth factor receptor 2-targeted treatments: Results from the french personalized reimbursement model database (2011-2018). *Eur J Cancer*. [Epub ahead of print];141: 209-217. doi: 10.1016/j.ejca.2020.10.012. PMID: 33176232
- Couch F.J, Weber B.L (2002). Breast cancer. In: VOGELSTEIN B., KINZER K.W. Editors. *The genetics Basis of human cancer*. USA, New York: Mcgraw-Hill, 549-575.
- Coulibaly A. (2009). *Etude des facteurs de risque du cancer du sein au Mali*. Thèse Méd. Université de Bamako, Mali.
- Coulibaly C. (2006). *Cancer du sein dans les services de chirurgie générale de l'hôpital GABRIEL TOURE et au centre hospitalier MERE ENFANT de Luxembourg*, thèse Méd. Bamako.
- Dadmanesh F., Peterse J.L., Sapino A., Fonelli A., Eusebi V. (2001). Lymphoépithéliome-like carcinoma du sein: absence de preuve de l'infection par le virus Epstein-Barr. *Histopathologie* 38: 54 -61
- Damania, B. (2004). Oncogènes  $\gamma$ -herpèsvirus : comparaison des protéines virales impliquées dans la tumorigénèse. *Nature Reviews Microbiology*, 2(8), 656-668.

- Dandamudi A., Tommie J., Nommsen-Rivers L., and Couch S. (2018). Dietary Patterns and Breast Cancer Risk: A Systematic Review. *Anticancer Res.* 38(6): 3209–3222. doi:10.21873/anticancer.12586.
- Dawson C.W., Port R.J, And Young L.S. (2012). The role of the EBV-encoded latent membrane proteins LMP1 and LMP2 in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Semin. Cancer Biol.* 22: 144–153. doi:10.1016/j.semcancer.2012.01.004.
- De Cremoux P, Dieras V, Poupon M.F. (2004). Le tamoxifène et les inhibiteurs d'aromatase dans le traitement des cancers du sein : aspects pharmacologiques et cliniques. *Bulletin du cancer.* Volume 91, Numéro 12. 917-27.
- Delalande B. (2004). Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique place actuelle des dosages du CA 15.3 dans le cancer du sein. The role of CA15.3 assays in breast cancer immuno-analyse et biologie spécialisée 19: 274-278.
- Demeul M, Charfi C, Currie Jc, Larocque A, Zgheib A, Kozelko S, Beliveau R, Marsolais C, Annabi B. (2021). TH1902, a new docetaxel-peptide conjugate for the treatment of sortilin-positive triple-negative breast cancer; *Cancer Sci.* 112(10):4317-4334. doi: 10.1111/cas.15086. Epub 2021 Aug 12. PMID: 34314556.
- Denduluri N., Somerfield M.R., Chavez-Macgregor M., Comander A.H., Dayao Z., Eisen A., Freedman R.A., Gopalakrishnan R., Graff S.L., Hassett M.J., King T.A., Lyman G.H., Maupin G.R., Nunes R., Perkins C.L., Telli M.L., Trudeau M.E., Wolff A.C., Giordano S.H. (2020). Selection of Optimal Adjuvant Chemotherapy and Targeted Therapy for Early Breast Cancer: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol.* [Epub ahead of print].
- Deshpande C.G., Badve S., Kidwai N., Longnecker R. (2002). Manque d'expression des produits du gène Epstein-Barr Virus (EBV), EBERs, EBNA1, LMP1 et LMP2A, dans les cellules du carcinome du sein. *Lab Invest;* 82: 1193-9.
- Diallo S. (2006). Etude des facteurs de risques du cancer du sein diagnostiqués dans les hôpitaux de Bamako et Kati. Thèse Méd. Bamako.

- Diallo S. (2007). Etude épidémiologique, clinique et histopathologique des cancers du sein diagnostiqués dans les hôpitaux de Bamako, Thèse Méd.
- Dupont V. (2011). Signalisation par les récepteurs des œstrogènes, mécanismes de reconnaissance de l'ADN et nouvelles approches pharmacologiques d'inhibition. Thèse Doc en biochimie. Université de Montréal. Canada.
- Dutertre M. (2003). Ligand-independent interactions of p160/steroid receptor coactivators and CREB-Binding protein (CBP) with estrogen receptor alpha: regulation by phosphorylation sites in the A/B region depends on other receptor domains. *Molecular endocrinology* 17(7): 1296-1314.
- Egner U., Heinrich N., Ruff M. (2001). Different ligands- different receptors conformations: modeling of the HER alpha BD in complex with agonist and antagonists. *Medicinal Research revisers*; 21 (6) p. 523-539.
- El Fouhi M., Benider B., Zoewendbem K., Gaëtan A. Et Mesfioui A.(2020). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer de sein au CHU Ibn Rochd, Casablanca. *Pan Afr Med J.*; 37: 41.
- Eliopoulos A.G., And Young L.S. (1998). Activation of the cJun N-terminal kinase (JNK) pathway by the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 (LMP1). *Oncogene* 16,1731–1742.
- Eliss M.J., Tao Y., Murray J. (2006). Estrogen-independent proliferation is present in estrogen-receptor HER2 positive primary breast cancer after neoadjuvant letrozole. *J Chim Oncol* 24: 3919-3025.
- Elledge R.M., Green S., Pugh R., Allred D.C., Clark G.M., Hill J. (2000). Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR), by ligand binding assay compared with ER, PR and PS2, by immunohistochemistry in pending response to tamoxifène in metastatic breast cancer: a southwest oncology group study. *Int J cancer*; 98: 111-7.

- Engels C.C., Fontein D.B.Y., Kuppen P.J.K., De Kruijff E.M., Smit Vthbm, Nortier Jw.R., Liefers G.J., Van De Velde C.J.H, And Bastiaannet E. (2014). Immunological subtypes in breast cancer are prognostic for Invasive ductal but not for Invasive lobular breast carcinoma. *British Journal of Cancer*. 111: 532-538.
- Erickson H.K., Park P.U., Widdison W.C. (2006). Antibody maytansinoid conjugates are activated in targeted cancer cells by lysosomal degradation and linker-dependent intracellular processing. *Cancer Res* 66: 4426-33.
- Esteva F.J., Hortobagay G.N. (2004). Marqueurs moléculaires pronostiques dans le cancer du sein au stade précoce. *Breast cancer*, 6: 109-118.
- Etude CECILE : Cordina-Duverger E. (2015). Facteurs de risques hormonaux et anthropométriques dans le cancer du sein de la femme; thèse université Paris XI. Pp 72.
- Fan S., Wang J. (1999). BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transferred cells. *Science* 284 (5418): 1354-1356.
- Fattaneh A., Tavassodi F.A., Devilee P. (2003). Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organ. IARC press: Lyon.
- Fawzy S., Sallam M., Awad N.M. (2008). Détection du virus d'Epstein-Barr dans le carcinome du sein chez les femmes égyptiennes. *Clin Biochem*; 41: 486-92. [PubMed].
- Feigelson H.S., Calle E.E. (2011). Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States). *Cancer causes control* 12(10): 895-902.
- Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D. M., Forman D., Bray F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 136(5): E359–E386.
- Fina F., Romain S., Ouafik L., Palmari J., Ben Ayed F., Benharkat S., Bonnier P., Spyratos F., Foekens J.A., Rose C., Buisson M., Gerard H., Reymond M.O., Seigneurin

- J.M., Martin P.M. (2001). Frequency and genome load of Epstein-Barr virus in 509 breast cancers from different geographical areas. *Br J Cancer*; 84: 783-790.
- Fingeroth J.D., Weis J.J., Tedder T.F., Strominger J.L., Biro P.A., Faeron D.T. (1984). Epstein Barr Virus receptor of human B lymphocytes is the c3d receptor CR2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81(14): pp 4510-4.
  - Fries K.L., Miller W.E., And Raab-Traub N. (1996). Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 blocks p53-mediated apoptosis through the induction of the A20 gene. *J. Virol.* 70, 8653–8659.
  - Garrett T.P. (2002). Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 110: 775-787.
  - Gennari P. (2004). Pilot study of the mechanism of action of preoperative Trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Chim Cancer Res* 10: 5-5650.
  - George A., H., Vm, K., and S, M.A. (2008). Arteriovenous malformation after transradial percutaneous coronary intervention. *Indian Heart J.* 60, 64.
  - Gest J., Call. (1975). *Cancer du sein étiologie et histoire naturelle*. EMC Paris. Gynéco. 4, p.865.
  - Ghimija F., Elhassan A. M., Elwaleed M. E., Ameera A. M. A., Anghesom G., Muntaser E. I. (2017). Association du virus d'Epstein-Barr et du cancer du sein en Érythrée; agents infectieux et cancer 12: 62.
  - Glaser S.L., Canchola A.J., Keegan T.H., Clarke C.A., Longacre T.A., Gulley M.L. (2017). Variation du risque et des résultats du cancer du sein associé au virus d'Epstein-Barr en fonction des caractéristiques épidémiologiques et des stratégies de détection du virus: une étude exploratoire. *Contrôle des causes du cancer.* Apr; 28 ((4)): 273–87. [PubMed]

- Glaser S.L., Hsu J.L., Gulley M.L. (2004). Virus d'Epstein-Barr et cancer du sein: état de preuve de la cancérogénèse virale. *Biomarqueurs Epidemiol de Cancer Prev* 13: 688-697. 6.
- Glenn W.K., Heng B., Delprado W., Iacopetta B., Whitaker N.J., Lawson J.S. (2012). Le virus d'Epstein-Barr, le papillomavirus humain et le virus de la tumeur mammaire de souris sont des virus multiples dans le cancer du sein. *PLoS One*; 7: e48788.
- GLOBOCAN (2012). Age-specific table. (n.d.). Available from [http://globocan.iarc.fr/old/agespecific\\_table\\_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&>window=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute%C2%A0](http://globocan.iarc.fr/old/agespecific_table_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&>window=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute%C2%A0) [accessed 17 October 2017].
- Goldberg M., D'aloisio A.A., O'brien K.M., Zhao S., Sandler D.P. (2020). Pubertal timing and breast cancer risk in the Sister Study cohort. *Breast Cancer Res.* 22(1):112. doi: 10.1186/s13058-020-01326-2. PMID: 33109223.
- Mofrad G, Kazeminezhad B, Faghihloo E. (2020). Prévalence du virus d'Epstein-Barr (EBV) chez les patientes atteintes d'un cancer du sein iranien. *Asian Pac J Cancer Prev.*; 21 (1): 133-137. doi: 10.31557 / APJCP.2020.21.1.133
- Green S., Walter P., Greene G. (1986). Cloning of the human estrogen receptor DNA. *Journal of steroid Biochemistry* 24: 77-83.
- Gronemeyer H. (1991). Transcription activation by estrogen and progesterone receptor. *Ann. Rev. Genet*, 25: 89-123.
- Grunwald K., Desai P., Winkler D.C., Heymann J.B., Belnap D.M., Baumeister W., And Steven, A.C. (2003). Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science* 302, 1396–1398.
- Guigon A.R.M. (2006). Etude bibliographique comparée entre le cancer du sein et le cancer mammaire chez les chiennes. Thèse doctorat ; école nationale vétérinaire d'ALFORT ; Corteil. France.

- Gupta P.B, Kuperwasser C. (2006). Contributions of estrogen to ER-negative breast tumor growth. *J Steroid Biochem Mol.* 102: 71-8.
- Haan K.M., Longnecker R. (2000). Coreceptor restriction within the HLA-DQ locus for Epstein Barr Virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(16), 9252-9257.
- Hachana M., Trimeche M., Ziadi S., Amara K., Korbi S. (2009). Evidence for a role of the simian virus 40 in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*;113:43-58.
- Hamdi Cherif M, Kara K, Atoui S, Boudefar F. Données épidémiologiques du cancer dans l'Est et le Sud-Est Algérien, 2014-2017.(2020). *AJHS [Internet]* ;2(3):14-31. Disponible sur: <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/141837>
- Hammas N. (2009). Evaluation de l'immuno-marquage par les RH et l'Herceptest dans le cancer du sein, thèse Méd. Sidi Mohamed ben Abdellah, FES, Maroc, 47.
- Hammerschmidt W., Sugden B. (1988). Identification and characterization of oriLyt, a lytic origin of DNA replication of Epstein Barr virus. *Cell* 55, 427-433.
- Hammond M.E., Hayes D. F., Dowsett M., Allred D.C., Hagerty K.C., Badve S., Fitzgibbons P.L., Francis G., Goldstein N., Hayes M., Hicks D. G., Lester S.(2010). American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med.* 134 : e48-e72.
- Hanahan D., Weinberg R.A. (2011). The hallmarks of cancer. The next generation. *Cell* 144(5): 646-674.
- Harvey M., Clark G.M., Osborne C.K., Allred C.D. (1999). Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of clinical Oncology.* Vol.17, N°5: 1474.

- Hayashi K., Jin Z., Onoda S., Joko H., Teramoto N., Ohara N., Oda W., Tanaka T., Liu Y.-X., Koirala T.R. (2003). Rabbit model for human EBV-associated hemophagocytic syndrome (HPS): sequential autopsy analysis and characterization of IL-2-dependent cell lines established from herpesvirus papio-induced fatal rabbit lymphoproliferative diseases with HPS. *Am. J. Pathol.* 162, 1721–1736.
- He J., Tang F., Liu L., Chen L., Li J., Ou D., Zhang L., Li Z., Feng D., Li W. (2016). Positive regulation of TAZ expression by EBV-LMP1 contributes to cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget* 8, 52333–52344.
- Heldring N., Pike A., Andersson S., Mathewes J., Cheng G., Hartman J., Tujaque M., Strom A., Treuter E., Waener M., Gustafsson J.A. (2007). Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiological reviews* 87(3): 905-931.
- Hennighausen L. (2000). Mouse models for breast cancer. *Breast Cancer Research*; 2:2–7).
- Heron J.F. (2010). Grading histologique du cancer du sein, *Oncoprof.*
- Hermann K., Niedobitek G. (2003). Lack of evidence for an association of Epstein-Barr virus infection with breast carcinoma. *Breast Cancer Res* 5:R13-17.
- Higuchi M., Izumi K.M., And Kieff E. (2001). Epstein–Barr virus latent-infection membrane proteins are palmitoylated and raft-associated: Protein 1 binds to the cytoskeleton through TNF receptor cytoplasmic factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 4675–4680.
- Hill C., Dayon F. (2003). La fréquence des cancers en France. *Bulletin cancer.* 90: 207-13.
- Hinkula M., Pukkala E. (2001). Grand multiparty and the risk of breast cancer: population-based study in Finland. *Cancer causes control* 12(6): 491-500.

- Hoff E.R., Raymond R., Jonathan L., Gray W., Procope M. (2002). HER2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade. *Ann J Chin Pathol* 117: 916-921.
- Hömig-Hölzel C., Hojer C., Rastelli J., Casola S., Strobl L.J., Müller W., Quintanilla-Martinez L., Gewies A., Ruland J., Rajewsky K., et al. (2008). Constitutive CD40 signaling in B cells selectively activates the noncanonical NF-kappaB pathway and promotes lymphomagenesis. *J. Exp. Med.* 205, 1317–1329.
- Hopp T.A., Fuqua A.W. (2002). Signaling by Steroid receptors. In: ALISON M.R., editor. *The cancer Handbook*. U.K, London: Nature Publishing Group 13-23.
- Houali K., Wang X., Shimizu Y., Djennaoui D., Nicholls J., Fiorini S., ... & Ooka T. (2007). A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus–encoded LMP1 and BARTF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clinical cancer research*, 13(17), 4993-5000.
- Hoyt-Austin A., Dove M.S., Abrahão R., Kair L.R., Schwarz E.B. (2020). Awareness That Breastfeeding Reduces Breast Cancer Risk: 2015-2017 National Survey of Family Growth. *Obstet Gynecol*; 136(6):1154-1156. doi: 10.1097/AOG.0000000000004162. PMID: 33156184.
- Hunter F. W., Barker H. R., Lipert B., Rothe F., Gebhart G., Piccart-Gebhart M. J., ... & Jamieson S. M. (2020). Mechanisms of resistance to trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2-positive breast cancer. *British journal of cancer*, 122(5), 603-612.
- Huo Q., Zhang N., Yang Q. (2012). Infection par le virus d'Epstein-Barr et risque de cancer du sein sporadique: une méta-analyse. *PLoS One*, 7(2), e31656.
- Hurwitz S.N., Nkosi D., Conlon M.M., York S.B., Liu X., Tremblay D.C., Meckes D.G. (2017). CD63 Regulates Epstein-Barr Virus LMP1 Exosomal Packaging, Enhancement of Vesicle Production, and Noncanonical NF-κB Signaling. *J. Virol.*, 91, doi:10.1128/JVI.02251-16.

- Hutt-Fletcher, L.M. (2007). Epstein-Barr virus entry. *Journal of Virology*, 81(15), p. 7825-32.
- INCa (2016). Antécédents familiaux - Facteurs de risque. Institut National Du Cancer. [Lien](<http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Facteurs-de-risque/Antecedents-familiaux>) (consulté le 10 juin 2018).
- Infection par le virus d'Epstein-Barr et augmentation du risque de carcinome du sein sporadique : une méta-analyse. *Med Princ Pract*, 29(02), 195-200.
- Institut national du cancer (2016). Les cancers en France. [Lien](<http://www.e-cancer.fr/Actualites-et-evenements/Actualites/Publication-de-l-edition-2015-des-Cancers-en-France>).
- Izumi Y., Xu L., Di Tomaso E., Fukumura D., Jain R.K. (2002). Tumor biology: Herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail. *Nature*, 416(6878), 279-80.
- Jacobson B.M., Richer J.K., Sartorius C.A., Horwitz R.B. (2003). Expression profiling of human breast cancer and gene Regulation by progesterone receptors. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 8(3), 257-268.
- Jensen E.V., Jacobson H.I. (1962). Basic guide to the mechanism of estrogen action. *Rec. Prog. Of Hor. Res.*, 18, 387-414.
- Johannsen L.M., Luftig M., Chase M.R., Weicksel S., Cahir-McFarland E., Illanes D., Sarracino D., Kieff E. (2004). Proteins of purified Epstein-Barr virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 16286-16291.
- Jones K.L., Buzdar A.U. (2004). A review of adjuvant hormonal therapy in breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 11, 391-406.
- Jorapur A., Marshall L. A., Jacobson S., Xu M., Marubayashi S., Zibinsky M., ... & Cutler G. (2022). EBV+ tumors exploit tumor cell-intrinsic and-extrinsic mechanisms

to produce regulatory T cell-recruiting chemokines CCL17 and CCL22. *PLoS Pathogens*, 18(1), e1010200.

- Julien S. (2004). L'antigène Sialyl-Tn dans le cancer du sein: étude de la O-glycosylation et de son influence sur la croissance de lignées cellulaires Sialyl-Tn positives. Thèse sciences de la vie et de la santé, sciences et technologie de Lille, Lille, France.
- Kafe H., Wechsler J., Gaulard P., Gosselin B. (1998). Le virus d'Epstein-Barr : implication en pathologie. *Ann Pathol*; 18 : 16-28.
- Kaluza J., Komatsu S., Lauriola M., Harris H.R., Bergkvist L., Michaëlsson K., Wolk A. (2020). Long-term consumption of non-fermented and fermented dairy products and risk of breast cancer by estrogen receptor status - Population-based prospective cohort study. *Clin Nutr*. 2020 Sep 17 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.clnu.2020.09.013. PMID: 33004231
- Keegan T.H. M., Derouen M.C., Press D.J., Kurian, A.W. & Clarke C.A. (2012). Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women. *Breast Cancer Res*. 14, R55.
- Keita M. (2005). Etude des caractères anatomo-cliniques des cancers du sein au Mali, thèse Méd. Bamako ; p. 66.
- Kenney S.C., Mertz J.E. (2014). Regulation of the latent. Lytic in Epstein Barr Virus. *Semin. Cancer Biol*. 26 : pp 60-68.
- Khabaz M. N. (2013). Association de l'infection par EBV et carcinome du sein. *Arch Med Sci* 9(4) : 745-751.
- Khan G., Philip P.S., Al Ashari M., Houcinat Y., Daoud S. (2011). Localization du virus d'Epstein Barr aux lymphocytes infiltrants dans les carcinomes du sein et non dans les cellules malignes. *Exp Mol Pathol* 91(1) :466-70.

- Khan Y. S., & Sajjad H. (2019). Anatomy, thorax, mammary gland.
- Khanfir A., Frikha M., Kallel F., Meziou M., Trabelsi K., Boudawara T., Mnif J., Daoud J. (2006). Le cancer du sein de la femme jeune dans le sud tunisien. *Cancer/radiothérapie*. 10(8):565–571.
- Khanna, R., D. Moss, and M. Gandhi. (2005). Technology insight: Applications of emerging immunotherapeutic strategies for Epstein-Barr virus-associated malignancies. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2:138–149. doi:10.1038/ncponc0107.
- Kieff E., Rickson A.B. (2007). Epstein Barr Virus. In Dans Knipe, D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., Straus S.E. (eds.), *Fields Virology*. Lipincott Williams et Wilkins, Philadelphia, vol 2, pp 2603-2654.
- Kijima Y., Hokita S., Takao S. et al. (2001). L'implication du virus d'Epstein-Barr est principalement limitée au type lymphoépithélial du carcinome gastrique parmi divers néoplasmes épithéliaux. *J Med Virol* 64 : 513.
- Kilger E., Kieser A., Baumann M., And Hammerschmidt W. (1998). Epstein-Barr virusmediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *EMBO J.* 17, 1700–1709.
- Kim, M. Y. (2021). Breast cancer metastasis. In *Translational Research in Breast Cancer* (pp. 183-204). Singapore: Springer Singapore.
- Kos, M., Reid G., Denger S., Gannon F. (2001). Genomic organization of the human ER gene promoter region. *Mol. Endocrinol.* 15:2057-2063.
- Kouali F. (2017). Traitement conservateur du cancer du sein revue des indications, étude rétrospective (à propos de 20 cas); faculté de médecine et pharmacie, thèse N 079. Pp 39.
- Kumar V., Green S., Stack G., Berry M., Jin J.R., Chambon P. (1987). Functional domains of the human estrogen. *Cell* 55: 145-156.

- Kushner P.J., Agard D.A., Greene L.G., Scanlan T.S., Shiau A.K., Uht M.R., Webb P. (2000). Estrogens receptors pathways to AP-1. "J steroid Biochem. Mol. Boil. 75 (5): 311-317.
- Lamrahi S. (2011). Confrontation clinico-radio-cyto-histologique des tumeurs mammaire (A propos de 159 cas). Thèse Méd, Sidi Mohamed ben Abdellah. FES. Maroc.
- Larrat S. (2010). Inhibition du cycle lytique du virus Epstein Barr par ARN interférence. Sciences du vivant (q-bio). Thèse université Joseph-Fourier-Grenoble I. pp 20-21.
- Lawal O., Dwrosimi M.A., Adesunkan M.I., D'a Delusola K. (2005). La sévérité, les résultats et les défis du cancer du sein au Nigeria. Département de la chirurgie, université des sciences de santé, complexe d'hôpital d'enseignement d'université d'Obafemi AWOLowo.
- Le Du F., Perrin C., Brunot A., Crouzet L., De La Motte Rouge T., Lefevre-Plesse C., Dieras V. (2019). Therapeutic innovations in breast cancer. Presse Med. [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.lpm.2019.04.005. PMID:31151842
- Lei L., Yu X., Chen B., Chen Z., Wang X. (2016). Clinicopathological Characteristics of Mucinous Breast Cancer: A Retrospective Analysis of a 10-Year Study. PLoS;11(5):e0155132. doi: 10.1371/journal.pone.0155132. PMID: 27232881
- Leone N., Voirin N., Roche L., Brinder-Foucard F., Woronoff A.S., Delafosse P. (2015). Projection de l'incidence de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2015. Rapport technique. Inst veille saint p62.
- Lin M.-C., Lin Y.-C., Chen S.-T., Young T.-H., And Lou P.-J. (2017). Therapeutic vaccine targeting Epstein-Barr virus latent protein, LMP1, suppresses LMP1-expressing tumor growth and metastasis in vivo. BMC Cancer 17, 18.
- Lutula S. (2008). Etude épidémiologique des tumeurs du sein au Mali, thèse Méd. Bamako, p.93.

- Maadi H., Soheilifar M. H., Choi W. S., Moshtaghian A., & Wang Z. (2021). Trastuzumab mechanism of action; 20 years of research to unravel a dilemma. *Cancers*, 13(14), 3540.
- Mac Grogan G., Soubeyran I., De Mascarel I., Wafflard J., Bonichon F., Durand M., Avril A., Mauriac L., Torjani M., Coindre Jm. (1996). The immunohistochemical detection of progesterone in breast invasive ductal carcinomas. A correlation study on 942 cases. *Appl immunohistochimie*, 4: 219-27.
- Mac ewan J.P., Dennen S., Kee R., Ali F., Shafrin J., Batt K. (2020). Changes in mortality associated with cancer drug approvals in the United States from 2000 to 2016. *J Med Econ*. [Epub ahead of print]. doi: 10.1080/13696998.2020.1834403. PMID: 33161782. Medscape. New Cancer Drugs May Have Saved More Than 1.2 Million Americans. 12 November 2020.
- Mainou B.A., Everly D.N., And Raab-Traub N. (2007). Unique signaling properties of CTAR1 in LMP1-mediated transformation. *J. Virol.* 81, 9680–9692.
- Manner L., Milano G., Penault Llorca F., Merlin J.L. (2004). Targeting of membrane receptor tyrosine kinase: is there resistance in the HER2? *Bulletin du cancer*, Vol91, N°9, 94-685.
- Mansouri A. (2017). *Prise en charge du cancer du sein métastatique HER2 positif. Expérience du centre d'oncologie et d'hématologie ; faculté de médecine et pharmacie, thèse N 216. Pp 87.*
- Marie-Pierre (2019). *Chauvet La Presse Médicale* 48 (10), 1123-1130.
- Martin P.M., Brettes J., Mathelin C., Gairard B., Bellqcq J. (2007). Cancérogenèse et tumorigénèse. *Cancer du sein. Edition Masson* 29-75.
- Marty M., Rossignol C., Srrys G., Peterissans JI., Baillet F., Netler-Pimon G., Romieux G., Saez S. (1992). Le cancer du sein au moment du diagnostic, étude nationale de la CANAM : analyse de 3007 cas, *press Méd.* 21(22).

- Maudelonde T. (2008). Les récepteurs de la progestérone. Edimark santé. La lutte du sénologue N°41 : 6-12.
- Maudelonde T., Boule N., Brettes J., Mathellin C., Gairard B., Belloq J. (2007). Progression des cancers du sein. Cancer du sein. Edition Masson 91-111.
- Mazouni C., Fina F., Romain S., Ouafik L., Bonnier B., Brandone J.M. Et Al, (2011). Le virus d'Epstein-Barr en tant que marqueur de l'agressivité biologique dans le cancer du sein. Br J Cancer; 104: 332-7.
- Mc Cart Reed A.E., Kalinowski L., Simpson P., Lakhani S.R. (2021). Carcinome Lobulaire invasif du sein : l'importance croissante de ce sous type particulier. Résolution du cancer du sein ; 23(1) :6.
- Mc Cormack O., Chling W.Y. (2008). Progesterone receptor  $\beta$  (RB $\beta$ ) promoter hyperméthylation in sporadic breast cancer: progesterone receptor B hyperméthylation in breast cancer. Breast cancer Res treat 111(1): 45-53.
- Mc Enasce L.P., White G.R., Harrison C.J. (1993). Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6q25.1 by FISH and simple post-FISH banding technique. Genomics, 17: 263-265.
- Mc Sherry E.A., Donatello S., Hopkis A.M., McDonnell S. (2007). Molecular basis of invasion in breast cancer. Cell Mol Life Sci 64: 3201-18.
- Menard S., Tragliabue E., Campiglio M., Pupa S.M. (2000). Role of HER2 gene overexpression in breast carcinoma, Journal of cellular pathology; (182): p.150.
- Meriaux E., Colombie M., Houdebine S. (2014). Prise en charge du cancer du sein, avancées et perspectives. Médecine Nucl. 38(5) :299-302.
- Metzger D., Ali S., Bornert J.M., Chabon P. (1995). Characterization of the amino-terminal transcriptional activation functions of the human estrogen receptor in animal and yeast cells. J Biol Chem 270: 9535-9542.

- Mink D., Von Tongelen B., Villena-Heinsen C., Heiss C., Schmidt W. (1994). Breast cancer and prognostic factors Eur.J. Gynaec. Oncol. XV, 6.
- Mohammadizadeh F., Zarean M., Abbasi M. (2014). Association du virus d'Epstein Barr avec le carcinoma mammaire invasif et son impact sur les paramètres clinicopathologiques bien connus chez les femmes iraniennes, Adv Biomed Res; 3: 141.
- Molesworth S.J., Lake C.M., Borza C.M., Turk S.M., Hutt –Fletcher L.M. (2000). Epstein Barr virus Gh iss essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells. J. virol. 74, 6324-6332.
- Molina M.A., Condon-Servat J., Albanell J. (2001). Trastuzumab (Herceptin), a humanized antibody, inhibits basal and activated HER2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. Cancer Res 61: 4744-9.
- Momenimovahed Z., & Salehiniya H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. Breast Cancer: Targets and Therapy, 151-164.
- Monninkhof E.M., Elias S.G. (2007). Physical activity and breast cancer: a systematic review. Epidemiology 18 (1): 137-157.
- Mousseau M., Garnier C. (2002). Cancer du sein: épidémiologie, bilan d'extension, modalités thérapeutiques. Med. Nucl 26 : 7- 21.
- Mrizak D. (2013). Evaluation d'une stratégie d'immunothérapie peptidique antivirale dans le carcinome du nasopharynx associé au virus d'Epstein Barr : de l'expression in vitro à la proposition de nouveaux essais thérapeutiques. Thèse université de Lille 1. Pp 27-28.
- Murata T. (2014) Regulation of Epstein-Barr virus reactivation from latency, Microbiol. Immunol., vol. 58, no 6, p. 307-317.

- Murphy L., Cherlet T., Lewis A., Banu Y., Watson P. (2003). New insights into estrogen receptor function in human breast cancer. *Ann. Med* 35: 614-613.
- Murray P.G., Lissauer D., Junying J. et al (2003). Reactivity with a monoclonal antibody to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 defines a subset of aggressive breast cancers in the absence of the EBV genome. *Cancer Res.* 63:2338–2343.
- N'Daw D. (1983). Les cancers du sein au Sénégal : à propos d'une statistique hospitalière de 533 observations. Thèse Méd ; Dakar ; 1983 ; 33.
- Nagi K., Gupta I., Jurdi N., Jabeen A., Yasmine A., Batist G., Varnic S., Al Moustafa A. (2021). Les papillomavirus humains à haut risque et le virus d'Epstein Barr dans le cancer du sein chez les femmes libanaises et leur association avec le grade tumoral. *Celleule cancéreuse ; Int* 21 (1) :308.
- Namer M., Luporsi E., Gligorov J., Lockiec F., Spilmann M. (2008). L'utilisation de déodorant anti transpirant ne constitue pas un risque de cancer du sein. *Bulletin du cancer*, 9, 871-80 (95).
- Nanbo, A., et Takada, K. (2002). Le rôle des petits ARN codés par le virus d'Epstein-Barr (EBER) dans l'oncogenèse. *Revue en virologie médicale*, 12(5), 321-326.
- Naushad W., Surriya O., Sadia H. (2017). Prévalence de l'EBV, du VPH et du MMTV chez les patientes pakistanaises du cancer du sein: un rôle étiologique possible des virus dans le cancer du sein. *Infectez Genet Evol.* 2017 Oct; 54 : 230–7. [ PubMed ]
- Netter F. H (2009). Atlas d'anatomie humaine par Masson.
- Nicolas J.S. (2002). *Virologie Médicale, Herpesviridae : virus d'Epstein Barr.* Press universitaire de lyon pp 24.
- Offersen B.V., Alsener J., Olsen K.E., Sorensen R.M.R., Brunner N., Sorensen F.B., Sorensen B.S., Schlemmer B.O., Overgaard J. (2008). A comparison among HER2, TP53, PAI-1, angiogenesis, and proliferation activity as prognostic variables in tumors

from 408 patients diagnosed with early breast cancer. *Acta Oncologica*, 4(47): p.618-632.

- Olivier J. B., Verhaeghe J. L., Butarelli M. (2006). Functional anatomy of the lymphatic drainage of the breast: contribution of sentinel lymph node biopsy, *Ann Chir.*; 131(10): 608-15.
- OMS (2022). Cancer du sein (who.int)
- Osmani A.H., Tulbah A.M., Al Sayed A. Et Al., (2021). Examen par un seul institut du carcinoma lobulaire invasive du sein HER2/Neu positif dans une population Arabe. Les rapports de cas ; *Am J Case Rep* 5 : 928012.
- Pandey S., & Robertson E. S. (2018). Oncogenic Epstein–Barr virus recruits Nm23-H1 to regulate chromatin modifiers. *Laboratory Investigation*, 98(2), 258-268.
- Passildas Jahanmohan J. Les cancers du sein agressifs : conséquences de la ménopause chimio- induite chez les femmes jeunes atteintes d’un cancer du sein non métastatique et facteurs pronostiques de la rechute du cancer du sein triple négatif (2019). Médecine humaine et pathologie. Université Clermont Auvergne, Français. NNT : 2019CLFAS003.
- Pauletti G., Dandekar S., Rong H., Ramos L., Peng H., Seshadri R., Slamon D.J. (2000). Assessment of methods for tissue-based detection of the HER2/neu alternation in human breast cancer: A direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry, 18: p. 3651-3664.
- Pegram M.D., Koncny G.E., O’collaghan C. (2004). Rational of combinations of Trastuzumab with chemotherapy drugs used in treatment of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 96: 49-739.
- Penault-Llorca F. (2004). Actualité des tests HER2 dans le cancer du sein. *Bulletin cancer* 91: 5211-9.

- Penault-Llorca F., Balaton A., Sabourin J., Le Doussal V. (2002). Evaluation immunohistochimique du statut HER2 dans les carcinomes mammaires infiltrant : mise au point du Protocol technique et de la lecture des résultats : Recommandations Ann Pathol. 22 : 150-7.
  
- Perbet C., Jordanmeille A. (2002). Le cancer du sein dan l’Afrique noire. Thèse méd. SCE. Monit ; (9) 111.
  
- Perez A. (1999). HER2 as a prognostic, predictive and therapeutic target in breast cancer. Cancer Control 6(3): 233-240.
  
- Perkins R.S., Sahn K., Marando C., et al. (2006). Analyse des réservoirs de virus d'Epstein-Barr dans des échantillons de biopsie primaire de biopsies de sang et de carcinome du sein couplés par PCR en temps réel. Carcinome du sein Res. 8 : R70. [ PubMed ]
  
- Peto R., Davies C., Godwin J., Gray R., Pan H.C., Clarke M., Cutter D., Darby S., Mcgale P., Taylor C., Wang Y.C., Bergh J., Di Leo A., et coll. (2012). Comparaisons entre différents schémas de polychimiothérapie pour le cancer du sein précoce : méta-analyses des résultats à long terme chez 100 000 femmes dans 123 essais randomisés. Lancette ; 379: 432-444.
  
- Petosa C., Morand P., Baudin F., Moulin M., Artero J.B., Muller C. W. (2006). Structural basis of the lytic cycle activation by the Epstein Barr virus ZEBRA protein. Molecular cell 21 (4): pp 565-72.
  
- Pines G., Kostler W.J., Yarden Y. (2010) Oncogenic mutant forms of EGFR: lessons in signal transduction and targets for cancer therapy. FEBS Lett. 18;584(12):2699-706.
  
- Plan Cancer 2014-2019. 2018, February. Plan Cancer 2014-2019 - Ref : Plankpnr14. Available from <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Plan-Cancer-2014-2019> [accessed 17 October 2018].

- Pricardo M.V., Chabay P.A., De Matteo E.N., et al. (2005). Virus d'Epstein-Barr dans le carcinome du sein en Argentine. Arch Pathol Lab Med. 129 : 377-81. [ PubMed ]
- Raiah M., Terki K., Ben Rabah L., Ammour F., Lounis A., Fouatih Z.A. (2022). Épidémiologie des cancers en Algérie 1996-2019 ; université d'Oran 1, CHU d'Oran. Épidémiologie des cancers en Algérie, 1996–2019 - EM consulte (em-consulte.com)
- Rassmussen B.B. (2008). Evaluation of and quality assurance in HER2 analysis in breast carcinomas from patients registered in Danish breast cancer groups (DBCG) in the period of 2002-2006. A nationwide study including correlation between HER2 status and other prognostic variables. Acta oncologica; 47:784-788.
- Réflexion sur l'étude statistique des cancers du sein observés dans notre service (à propos de 117 cas). Afr Méd; 18 (173) : 591-596.
- Reid G., Denger S., Kos M., Gannon F. (2002). Human estrogen receptor alpha: regulation by synthesis, modification and degradation. Cell Mol life Sci 59: 821-831.
- Reid G., Hubner M.R., Metivier R., Brand H., Denger S., Manu D., Beaudouin J., Ellenberg J., Gannon F. (2003). Cyclic, proteasome-mediated turnover of unliganded and liganded ER alpha on responsive promoters is an integral feature of estrogen signaling. Mol cell 11(3): 695-707.
- Reid G., Metivier R., Lin C.Y., Danger S., Ibberson D., Ivacevic T., Brand H., Benes V., Liu E.T., Gannon F. (2005). Multiple mechanisms induce transcriptional silencing of a subset of genes, including estrogen receptor alpha, in response to deacetylase inhibition by valproic acid and trichostatin A. Oncogene 24(31): 4894-4907.
- Roman M. et al. (2020). Abstract 15. Presented at the 12th European Breast Cancer Conference (EBCC-12) Virtual 2020.
- Roswall P., Bocci M., Bratoschek M., Li H., Kristiansen G., Gansson S., Lehn S., Sjoind J., Reid S., Larsson C., Eriksson P., Anderberg C., Cortez E., Saal H. L., Orsmark-Pietras C., Cordero E., Haller B. K., Hakkinen J., Burvenich I.J., Lim E.,

- Orimo A., Hoglund M., Ryden L., Moch H., Scott A.M., Eriksson L., Pitras K. (2018). Microenvironmental control of breast cancer subtype elicited through paracrine platelet-derived growth factor-CC signaling. *Nature medicine*, 24(4), 463-473.
- Saglier J., Pommeyrol A., Bouillet T., Hennebicque A.S. (2003). *cancer du sein. Questions et réponses au quotidien*. 2<sup>o</sup>ed. Paris: Masson : 173.
  - Sall, A. (2004). *Mise en évidence de l'activité mitogène de l'oncogène BARRF1 du virus d'Epstein Barr et de sa coopération avec l'oncogène cellulaire Bcl-2 dans la transformation maligne (Doctoral dissertation, Lyon 1)*.
  - Sanchez L.C., Lopez A.P., Esquivel E.L. (2004). Hormon risk factors during breast tumoral promotion, progression and prognosis. *Ginercol. Obstet Mex.* 72, p.545.
  - Sarp S. (2007). *La localisation tumorale dans le quadrant inféro-intérne est associée à une diminution de la survie chez les femmes avec un cancer du sein de stade précoce*, thèse Méd. Genève. Suisse.
  - Shah C., Jia X., Hobbs B.P., Tendulkar R.D., Sittenfeld S.M.C., Al-Hilli Z., Arthur D.W., Keisch M.E., Khan A.J., Shaitelman S.F., Boyages J., Wazer D., Kundu N., Vicini F.A. (2021). Outcomes with Partial Breast Irradiation vs. Whole Breast Irradiation: a Meta-Analysis. *Ann Surg Oncol.* 2021 Jan 3 [Epub ahead of print]. doi: 10.1245/s10434-020-09447-w. PMID: 33393051.
  - Shang Y., Brown M., (2002). Molecular determinants for the tissue specificity of SERM. *Science* 295 (5564): 2465-2468.
  - Shannon-Lowe C.D., Rowe M. (2011). Epstein Barr virus infection of polarized epithelial cells via the basolateral surface by memory B cell-mediated transfer infection. *PloS pathog.* 7, e1001338.
  - Shao T., Klein P., Grossbard M. L. (2012). Vitamin D and breast cancer. *Oncologist* 17(1): 36-45.

- Sharaf H.M., Gomaa M.F. (2012). Detection moléculaire du virus d'Epstein Barr dans le cancer du sein, le journal égyptien de la médecine hospitalière Vol., 47 :238-248.
- Sharifpour C., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Talaei-Zadeh A., Randjbari N., Nisi N., Azaran A., Jalila S., Varnaseri M., Primoradi R., Angali K.A. (2019). Fréquence de l'AND du virus Epstein Barr dans le tissu fixé au formol et incorporé à la paraffine de patients atteints de carcinoma canalaire du sein. Asian parc J cancer prev. 26/03/2019 ; 20(3) : 687-692.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jamal A. (2016). Cancer statistics. CA Cancer J Clin. 66(1): 7-30.
- Silwkowski M.X., Lofgren J.A., Lewis G.D., Hotaling T.E., Fendly B.M, Le Juge Fox. (1999). Nonclinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). Semin Oncol. 26: 60-70.
- Singer C.F., Kostler W.J., Hudelist G. (2008). Predicting the efficacy of trastuzumab-based therapy in breast cancer: Current standards and future strategies. Biochim Biophys Acta 1786:105-13.
- Speirs V., Kerin M.J. (2000). Signification pronostique du beta-récepteurs des œstrogènes dans le cancer du sein. Br J Surg ; 87 :405-409.
- Speirs V., Walker R.A. (2007). New perspectives into the biological and clinical relevance of estrogen receptors in the human breast; J Pathol; 211: 499-506.
- Staub G.A., et al. , (2007). Résultats carcinologiques et esthétiques du traitement du cancer du sein par plastie mammaire.298 cas. 0294-1260 see front matter 2007. Elsevier Masson SAS. doi: 10.1016/j.anplas.2007.05.012.
- Stratton M. R., Rahman N. (2008). The emerging landscape of breast cancer susceptibility. Selection of cancer genetics, institute of cancer research. Nat genet 40(1): 17-22.

- Susane L. (2008). Fondation canadienne du cancer du sein ; Guiding women through a breast cancer diagnosis. A supportive and personal approach.
- Takakuwa T., Luow.J., Ham M.F., Wada N., Aozasa K. (2005). Identification of Epstein Barr virus genomes. *J. virol.* 63, 445-449.
- Taylor A.H., Mc Parland P.C., Taylor D.J., Bell S.C. (2009). The cytoplasmic 60kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term *Reprod. Biol. Endocrinol* 7: 22.
- Tazi M.A., Er-Raki A., Benjaafar N. (2013). Cancer incidence in Rabat, Morocco: 2006–2008. *Ecancermedalscience* [Internet]. 2013 [cité 9 août 2017];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3737118/>
- Tesch M. E., & Gelmon K. A. (2020). Targeting HER2 in breast cancer: latest developments on treatment sequencing and the introduction of biosimilars. *Drugs*, 80(17), 1811-1830.
- Tsimbouri, P., & Wilson, J. B. (2002). The Action of EBNA1 as an Oncogene in Vivo. 10th International Symposium on Epstein - Barr virus and Associated Malignant Diseases, Cairns, Australia, 16-21 Jul 2002.
- Thiam D. (2003). Etude clinique dans le service de gynécologie de 43 cas, thèse Méd. Bamako.
- Todorovic-Rakovic N. (2005). TGF- $\beta$ 1 could be a missing link in the interplay between ER and HER2 in breast cancer. *Medical hypotheses* 65: 546-551.
- Traore S.T. (2008). Cancer du sein au Mali anatomie clinique et suivi. Thèse Méd. Bamako, Mali.
- Treilleux I., Bremond A. (2002). Pronostic des cancers du sein. *Encyclopédie Médicale*, Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, Gynécologie, 865-F-20, 7, p.4.

- Tselis A. (2013). Epstein Barr and cytomegalovirus infections. In viral infections of the human nervous system, A.C. Jackson, ed. (springer basel),pp 23-46.
- Tugizov S.M., Berline J.W., Palefsky J.M. (2003). Epstein Barr virus infection of polarized tongue and nasopharyngeal epithelial cells. Nature Medicine 9(3): p. 307-14.
- VACHER V.L. Et ANTOINE E. C. (2012). Caractéristiques cliniques et pharmacologique du trastuzumab emtansine. J Pharm Clin 31(4): 203-11.
- Valabrega G., Montemurro F., Sarotto I. (2005). TGF alpha expression impairs Trastuzumab-induced HER2 downregulation. Oncogene 24: 2-10.
- Villain M.O. (1997). Détection immunohistochimique de RE et RP sur coupe en paraffine après traitement par micro-ondes. Ann Pathol, 17, N°2, p 82-88.
- Vincent-Salomon A., Mac Grogan G., Couturier J., Denoux Y., Fiche M., Jacquemier J., Matieu M.C., Penault-Lorca F., Rigaud C., Roger P., Treilleux I., Villain M.O., Mathoulin Pelissier S., Le Doussal V. (2003). Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: Results of the French multicenter GEFPICS study Histopathology 42, p. 337-347.
- Visvader, J. E. (2009). "Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis." Genes Dev23 (22): 2563-2577.
- Vogel C., Chan A., Gril B., Kim S.B., Kurebayashi J., Liu L., Lu Y.S., Moon H. (2010). Management of ErebB2-positive breast cancer: insights from preclinical studies with lapatinib. Jpn J Clin Oncol 40: 999-1013.
- Voigtlaender M., Schneider-Merck T., & Trepel M. (2018). Lapatinib. Small molecules in oncology, 19-44.
- Walker R.A. (2008) Immunohistochemical markers as predictive tools for breast cancer: Journal of clinical pathology 2008; 61: 689-696.

- Walter P., Green S., Greene G., Krust A., Bornert J.M., Jelisch J.M., Staub A., Jensen E., Scrace G., Waterfield M. (1985). Cloning of the human estrogen receptor's DNA, Proc Natl Acad Sci USA. Dec. 82 (23): 7889-7893.
- Wang C., Fan S. (2005). Cyclin D1 antagonizes BRCA1 repression of estrogen receptor alpha activity. Cancer Res 65(15): 6557-6567.
- Wang H.B., Zhang H., Zhang J.P., Li Y., Zhao B., Feng G.K., Du Y., Xiong D., Zhong Q., Liu W.L. (2015). Neuropilin 1 is an entry factor that promotes EBV infection of nasopharyngeal epithelial cells. Nature Communications 6:6240.
- Wele A. (1998). Etude clinique du cancer du sein en chirurgie à l'Hôpital Gabriel Touré à propos de 94 cas, thèse Méd. Bamako, N°65, p.103.
- Wen K. W., Wang L., Menke J. R., & Damania B. (2022). Cancers associated with human gammaherpesviruses. The FEBS Journal, 289(24), 7631-7669.
- Wijayaratne A.L., Mc Donnell D.P. (2001). The human estrogen receptor alpha is a ubiquitinated protein whose stability is affected differentially by agonist, antagonist, and selective estrogen receptor modulators. J Biol Chem 276 (38): 35684-35692.
- Wolff A.C., Hammond M.E., Hicks D.G., Dowsett M., Mcshane L.M., Allison K.H., Allred D.C., Bartlett J.M., Bilous M., Fitzgibbons P., Hanna W., Jenkins R.B. (2013). Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. J Clin Oncol. 31: 3997-4013.
- Wolff A.C., Hammond M.E.H., Allison K.H., Harvey B.E., Mangu P.B., Bartlett J.M.S., Bilous M., Ellis I.O., Fitzgibbons P., Hanna W., Jenkins R.B., Press M.F., Spears P.A., Vance G.H., Viale G., Mcshane L.M., And Dowsett M. (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol. 36(20): 2105–2122. doi:10.1200/JCO.2018.77.8738.

- Yager J.D., Davidson N.E. (2006). Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med.* 354: 270-82.
- Yasui Y., Potter J.D., Stanford J.L. Et Al. (2001). Risque de carcinome mammaire et infection primaire par le virus Epstein-Barr «retardée». *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 10: 9-16. [PubMed].
- Ylikomi T., Wurtz J.M., Syvala H. (1998). Reappraisal of the role of heat shock proteins as regulators of steroid receptors. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 33: 437-466.
- Young L.S., John R.A., Paul G.M. (2007). EBV Gene expression and regulation. In *human herpesviruses: Biology, therapy and immunoprophylaxis*, édité par Ann Arvin, Gabriella Campadelli-Fiume, Edward Roizman, Richard Whitley et Koichi Yamanishi. Cambridge. Cambridge University Press.
- Young L.S., Murray P.G. (2003). Epstein-Barr Virus and oncogenesis: from latent genes to tumors. *Oncogene* 22: 5108-5121.
- Young L.S., Rickson A.B. (2004). Epstein Barr Virus: 40 years on *Nature Reviews Cancer* 4(10): 757-68. Doi:10.1038/nrc1452.
- Zafrani B., Grogan G., Salomon A., Arnould L. (2007). *Pathologie mammaire*. EPU 2007.
- Zaki H.M, Garba-Bouda O, Garba S.M., Nouhou H. (2013). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer du sein au Niger. *J Afr Cancer.*; 5(4): 185-91.
- Zhang Z., Kumar R., Santen R.J., Song R.X. (2004). The role of adapter protein Shc in estrogen non-genomic action. *Steroids* 69(8-9): 523-529.
- Zhao C., Matthews J., Tujaque M., Wan J., Strom A., Toresson G., Lame E.W., Cheng G., Gustafsson J.A., Dahlman-Wright K. (2007). Estrogen receptor beta 2 negatively regulates the transactivation of estrogen receptor alpha in human breast cancer cells. *Cancer Res* 67: 3955-3962.

- Zheng H., Li L.L., Hu D.S., Deng X.Y., Cao Y. (2007). Role of Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 in the carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Cell Mol Immunol*; 4(3): 185-96.
  
- Zheng Y.Z., Wang X.M., Fan L., Shao Z.M. (2020). Breast Cancer-Specific Mortality in Small-Sized Tumor with Stage IV Breast Cancer: A Population-Based Study. *Oncologist*. 2020 Oct 19 [Epub ahead of print]. doi: 10.1002/onco.13567. PMID: 33075188.

# *ANNEXES*

## ANNEXES

### **Annexe I : Classification histologique des cancers du sein selon l'OMS 2002-2003 :**

#### **Classification histologique des carcinomes mammaires de l'OMS**

##### **Tumeurs épithéliales non infiltrantes**

Carcinome canalaire in situ (intra-canalaire) (CCIS)

Carcinome lobulaire in situ (CLIS)

##### **Tumeurs épithéliales infiltrantes**

Carcinome canalaire infiltrant SAI (sans autre indication)

Carcinome canalaire infiltrant avec composante intra-canalaire prédominante

Carcinome lobulaire infiltrant

Carcinome mucineux (colloïde)

Carcinome médullaire

Carcinome papillaire

Carcinome tubuleux

Carcinome adénoïde kystique

Carcinome sécrétant juvénile

Carcinome apocrine

Carcinome métaplasique de type épidermoïde

Carcinome métaplasique de type à cellules fusiformes

Carcinome métaplasique de type chondroïde et osseux

Carcinome métaplasique de type mixte

Maladie de Paget du mamelon

## **Annexe II : Classification TNM du cancer du sein, 8e édition 2017.**

### **TUMEUR PRIMITIVE (T)**

Tx : Détermination de la tumeur primitive impossible.

T0 : Pas de signe de tumeur primitive.

Tis : Carcinome in situ.

Tis (CCIS) : Carcinome canalaire in situ.

Dans la classification 2017, le carcinome lobulaire in situ est considéré comme une lésion "bénigne" et est donc exclue de la classification pTNM.

Tis (Paget) : Maladie de Paget du mamelon sans tumeur décelable.

Note : une maladie de Paget avec tumeur décelable est à classer en fonction de la taille de la tumeur.

T1 : Tumeur  $\leq 2$  cm dans sa plus grande dimension.

- T1mic : Micro-invasion  $\leq 0,1$  cm dans sa plus grande dimension.

Note : La micro-invasion est une extension des cellules cancéreuses, au-delà de la membrane basale sans dépasser 0,1 cm. Quand plusieurs sites de micro-invasion existent, le plus important est pris en compte pour classer la micro-invasion (ne pas prendre en compte la somme des sites).

La présence de multiples sites de micro-invasion doit être notée.

- T1a :  $0,1 \text{ cm} < T \leq 0,5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

Pour les lésions entre 1 et 2 mm, il est recommandé, du fait de l'imprécision de la mesure, de la taille, de formuler le compte-rendu en disant que la tumeur avoisine les 2 mm.

Il est bien précisé que le plus grand diamètre du nodule principal doit servir à cette classification. En cas de petit(s) nodule(s) satellite(s), ces derniers ne doivent pas être ajoutés à la taille du nodule principal.

En cas de tumeurs multiples, le plus grand diamètre de la tumeur la plus volumineuse doit servir pour le pT. Les dimensions des autres tumeurs plus petites ne doivent pas être ajoutées à la taille du nodule principal.

- T1b :  $0,5 \text{ cm} < T \leq 1 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

- T1c :  $1 \text{ cm} < T \leq 2 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

T2 : Tumeur  $2 \text{ cm} < T \leq 5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

T3 : Tumeur  $>5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

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

- T4a : Extension à la paroi thoracique.

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

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

Il est précisé que l'atteinte cutanée uniquement visible microscopiquement, en l'absence d'ulcération ou de "peau d'orange" clinique, ne doit pas être classé comme T4b mais la tumeur doit être classée seulement en fonction de sa taille.

- T4c : A la fois 4a et 4b.
- T4d : Carcinome inflammatoire.

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

Pour la classification pT, la taille de la tumeur est fondée sur la composante invasive. S'il y a un important contingent d'in situ (de 4 cm par exemple) et une petite composante invasive (de 0,5 cm par exemple), la tumeur sera codée pT1a.

Une dépression cutanée, la rétraction du mamelon ou toute autre modification des téguments, à l'exception de celles retenues pour la catégorie T4, peuvent exister avec T1, T2 ou T3 sans influencer sur le classement.

## **ADÉNOPATHIES RÉGIONALES (N)**

Nx : Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire (du fait, par exemple, d'une exérèse antérieure).

N0 : Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional.

N1 : Ganglions axillaires de niveau I et II homolatéraux mobiles.

N2 : Métastases dans un ou plusieurs ganglions axillaires de niveau I et II homolatéraux fixé(s) ou confluent(s) ou dans un ou plusieurs ganglions mammaires internes homolatéraux cliniquement détectables[1] en l'absence de métastase ganglionnaire axillaire cliniquement évidente.

- N2a : Métastases dans un ou plusieurs ganglion(s) axillaire(s) fixé(s) entre eux (confluents) ou à d'autres structures.

- N2b : Métastases cliniquement détectables [1] uniquement dans les ganglions mammaires internes, et en l'absence de métastase ganglionnaire axillaire cliniquement décelable.

N3 : Métastases dans les ganglions sous-claviculaires homolatéraux (niveau III) avec ou sans envahissement ganglionnaire axillaire (niveau I, II) ou métastase ganglionnaire mammaire interne homolatérale cliniquement détectable [1] en présence de métastase axillaire (niveau I, II) cliniquement évidente ; ou métastases ganglionnaires sous-claviculaires homolatérales avec ou sans envahissement ganglionnaire axillaire ou mammaire interne.

- N3a : Métastase(s) ganglionnaire(s) sous-claviculaire(s).
- N3b : Métastases ganglionnaires mammaires internes et axillaires.
- N3c : Métastase(s) ganglionnaire(s) sus-claviculaire(s).

↑ 1,0, 1,1 et 1,2 : Cliniquement détectable signifie : détecté par un examen clinique ou par l'imagerie (lymphoscintigraphie exclue) et présentant des caractéristiques hautement suspectes de malignité, ou suspicion histopathologique de macrométastase fondée sur l'analyse cytologique d'un prélèvement par cytoponction. La confirmation par cytoponction sans biopsie exèrèse d'une maladie métastatique cliniquement détectable est désignée par le sigle (f), comme par exemple cN3(f).

En l'absence d'attribution du pT, l'exèrèse biopsie d'un ganglion ou le prélèvement d'un ganglion sentinelle sont classés selon la classification clinique N, par exemple : cN1. Lors de l'exèrèse biopsie d'un ganglion ou du prélèvement d'un ganglion sentinelle, la classification histopathologique (pN) n'est utilisée que si le statut pT a pu être attribué.

## **MÉTASTASES (M)**

MX : Renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance

M0 : Absence de métastase à distance

M1 : Présence de métastase(s) à distance

**Annexe III : Tableau représentatif des réactifs contenu dans les kits dako (récepteurs hormonaux, l'hercepTest, kit EBV IR753).**

Réactifs/lames	Kit Dako des récepteurs hormonaux
Solution de démasquage	Tampon citrate avec agents antimicrobiens.
Réactif de blocage de la peroxydase	Solution contenant du peroxyde d'hydrogène à 0,5%, des inhibiteurs enzymatiques, un conservateur (RH).  Solution contenant du peroxyde d'hydrogène à 3% avec 15mmol/L d'azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ) (HER2).
Anticorps primaire	Anticorps monoclonal de souris anti-RE humain (IgG), Anticorps monoclonal de souris anti-RP humain (IgG) dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante.  Anticorps de lapin anti-HER2 humaine dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante Anticorps monoclonal de souris anti-LMP1 CS1-4 dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante
Réactif de control négatif	Anticorps monoclonaux de souris (IgG) dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante (RH).  Anticorps monoclonaux de lapin dans un tampon contenant une protéine stabilisante (HER2)  FLEX Negative control mouse (link) IR7 (LMP1)
Solution de tampon substrat DAB	Solution contenant du peroxyde d'hydrogène <0,1% et des stabilisants.
Solution de substrat chromogène DAB	Solution chromogène de tétrahydrochlorure de 3,3'-diaminobenzidine à 5%.
Solution de rinçage	Tampon tris-HCL avec un détergent et un agent antimicrobien.

<p>Lames de contrôle</p>	<p>Chaque lame contient une lignée cellulaire présentant une expression des récepteurs hormonaux et une lignée négative.</p> <p>Chaque lame contient 3 lignées cellulaires de carcinome mammaire avec 3 niveaux d'expression d'HER2 : score 0, 1+ et 3+.</p>
--------------------------	--

## Annexe IV : Descriptif de l'appareillage utilisé

### 1- Appareil à circulation (Circulateur) :

Le circulateur est un automate qui comporte douze bacs de compositions différentes, organisés comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

Tableau représentatif de l'organisation et de la contenance des bacs du circulateur.

Pourcentage d'alcool (%)	Alcool	Eau distillée
1 bac à 50 %	700 ml	700 ml
1 bac à 70 %	1000 ml	480 ml
1 bac à 96 %	1400 ml	112 ml
	3 bacs d'alcool absolu 100 % 3 bacs de xylène 2 bacs de paraffine	



Photographie du circulateur (laboratoire d'anatomie-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou).

## **2-Appareil à enrobage :**

L'appareil à enrobage est une machine programmable qui permet l'inclusion des tissus biologiques dans la paraffine.

Il peut être subdivisé en deux parties :

- Une partie chaude dont fait partie le réservoir à paraffine (chauffé à  $60C^{\circ}$ ) dans lequel on place les cassettes avant l'enrobage, le bac à moules, le distributeur de paraffine et une partie de la surface de travail permettant le maintien de la paraffine sous forme liquide facilitant ainsi la manipulation et l'orientation de l'échantillon ;
- Une partie froide représentée par le reste de la surface de travail. Elle permet la solidification de la paraffine et donc la formation d'un bloc.



Photographie de l'appareil à enrobage (laboratoire d'anatomie-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou).

### **3- Microtome :**

Le microtome est un appareil employé pour obtenir des coupes très fines de tissus biologiques insérés dans une cassette de paraffine, ce qui permet de monter des lames pour en faire l'examen au microscope.

Il est constitué de :

- Un support de bloc de paraffine ;
- Une lame tranchante portée par une plaque métallique ;
- Une manivelle qui, par un mouvement rotatoire, entraîne le processus de coupe.

Le microtome est accompagné d'une grande plaque réfrigérante sur laquelle sont déposés les blocs de paraffine avant la coupe.

Le microtome et la plaque réfrigérante sont représentés sur la photographie ci-dessous.



Photographie du microtome (laboratoire d'anatomie-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou).

#### **4- Batterie de coloration HE :**

La batterie de coloration HE est un automate composé de 27 bacs successifs de capacité égale à 300 ml, de composition et rôles différents représentés par le tableau numéro III.

L'organisation de la batterie de coloration hématoxyline-éosine est représentée par la photographie et le tableau ci-dessous.



Photographie de la batterie de coloration H.E (laboratoire d'anatomie-pathologie du CHU de Tizi-Ouzou).

**Tableau représentant l'enchaînement et les rôles des différents produits de la batterie de coloration.**

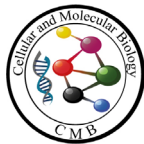
Composition des bacs	Rôles
<b>6 bacs de xylène</b>	Poursuite du déparaffinage (la paraffine est soluble dans le xylène).
<b>4 bacs d'alcool à concentration</b> ↘	Réhydratation.
<b>2 bacs d'eau courante</b>	Élimination de l'alcool.
<b>2bacs d'hématoxyline de Harris</b>	Coloration nucléaire.
<b>2 bacs d'eau courante</b>	Élimination du colorant.
<b>1 bac de lithium carbonate</b>	Fixation de la coloration bleue du noyau
<b>1 bac d'eau courante</b>	Élimination du lithium carbonate.
<b>1 bac d'éosine</b>	Coloration du cytoplasme et du collagène.
<b>1 bac d'eau courante</b>	Élimination de l'éosine.
<b>1 bac d'eau distillée</b>	Rinçage.
<b>2 bacs d'alcool</b>	Déshydratation.
<b>4 bacs de xylène</b>	Eclaircissement.

## Annexe V : Résultats de l'étude prospective

Numéro	Age (ans)	Sexes	Grades SBR	TNM	Types histo	siège	RE	RP	HER2	LMP1
928	45	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>1</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
1910	44	F	III	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CLI	SG	+	+	-	-
1969	74	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
3648	32	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>3</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	-	-	-	-
3796	46	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
2733	36	F	I	T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	Cmucineux	SG	+	+	-	+
2771	45	F	II	T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	+
1314	40	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	-	-
1703	58	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	+	-
1710	53	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CC in situ	SD	-	-	-	+
1139	47	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	-	-	-
3221	41	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CLI	SG	-	-	-	-
1753	62	H	I	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	-	-
1424	58	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>0</sub>	CCI	SD	+	-	-	+
1438	39	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
1621	44	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	-	-	-	-
867	40	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
637	54	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	+	-
93	41	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>3a</sub> M <sub>0</sub>	CBifocal	SG	-	-	+	-
151	43	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	+	-
579	58	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	+
1813	64	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	+	-
1834	67	F	II	T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	-	-	+	-
1727	46	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
1053	27	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CBifocal	SG	+	+	-	-

<b>1034</b>	51	F	II	$T_1N_0M_x$	CCI	SG	-	+	-	-
<b>3047</b>	57	F	II	$T_2N_0M_x$	CCI	SG	+	+	-	-
<b>7897</b>	44	F	II	$T_{1c}N_0M_x$	CCI	SD	+	+	-	+
<b>8072</b>	42	F	I	$T_2N_0M_x$	CCI	SD	+	+	-	+
<b>8897</b>	52	F	II	$T_3N_{3a}M_x$	CLI	SG	-	-	-	-

# *ARTICLE*



## The potential role of Epstein-Barr Virus in breast cancer development

Kahina Gouadfel<sup>1</sup>, Abdelhalim Khenchouche<sup>2</sup>, Sameh Rabea<sup>3</sup>, Ahd A. Mansour<sup>4</sup>, Mounir M. Salem-Bekhit<sup>5</sup>, Soraya Ouhida<sup>6</sup>, Amine Msela<sup>1</sup>, Mohamed M. Salem<sup>7</sup>, Alessandro Erto<sup>8</sup>, Yacine Benguerba<sup>9</sup>, Karim Houali<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire LABAB. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algeria

<sup>2</sup>Département de microbiologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université F.A. Sétif 1, Algeria

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Sciences. College of Pharmacy. AlMAAREFA University, Diriyah 13713 Riyadh, Saudi Arabia.

<sup>4</sup>Medical Laboratory Science Department, Fakeeh College for Medical Sciences, P.O. Box 2537, Jeddah 21461, Saudi Arabia

<sup>5</sup>Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, King Saud University, PO Box 2457, Riyadh 11451, Saudi Arabia

<sup>6</sup>Laboratoire d'Anatomie pathologie. CHU Saadna Abdenour, Sétif, Algeria

<sup>7</sup>Faculty of Medicine, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, China

<sup>8</sup>Dipartimento di Ingegneria Chimica, dei Materiali della Produzione Industriale, Università degli Studi di Napoli Federico II, P.le Tecchio, 80, 80125 Napoli, Italy

<sup>9</sup>Laboratoire de Biopharmacie Et Pharmacotechnie (LPBT), Ferhat Abbas Setif 1 University, Setif, Algeria

### ARTICLE INFO

#### Original paper

#### Article history:

Received: September 30, 2023

Accepted: December 07, 2023

Published: December 10, 2023

#### Keywords:

Breast cancer; HER2; HR; EBV; LMP1; Applications; Healthcare

### ABSTRACT

We are looking into viral components that may contribute to breast cancer to find possible therapeutic targets. The Epstein-Barr virus (EBV), which has been found to cause nasopharyngeal carcinoma and Burkitt lymphoma, is thought to play a role in breast cancer. Our series' patients had a median age of 49, with nearly half being under the age of 49. T2 tumors (two to five centimeters in size) make up the vast majority of our collection (60%). Six percent of our patients showed lymph node involvement, with roughly the same number in the N1 and N2 stages (41.17% each). Only 17.64% of people are at the N3 stage. SBR II tumors were the most common (90%). Only 20% of patients have HER2 overexpression, whereas 73.33% have ER expression. EBV was found in 23.33% of breast carcinomas (7 cases/30) after oncoprotein LMP1 expression, but normal surrounding tissues tested negative. We discovered that overexpression of the HER2 protein is inversely related to the two HRs' expression. They have no relationship with EBV infection and, consequently, LMP1 expression. LMP1 expression was not shown to be linked with patient age, tumor grade, tumor size, or lymph node invasion.

Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2023.69.13.36>

Copyright: © 2023 by the C.M.B. Association. All rights reserved.

### Introduction

Breast cancer is the most frequent disease in women globally, and it is the leading cause of mortality for women in developing nations (1). It is the second leading cause of mortality in developed countries, behind lung cancer (2). The illness is complicated and multidimensional, occurring when breast epithelial cells lose control of their development. Despite advances in therapy, breast cancer remains a major public health problem worldwide. It is vital to discover prognostic and predictive indicators, such as hormone receptors (HR) and the HER2 oncogene, to identify novel treatment targets. Steroid hormones, such as estrogen and progesterone, can have a major effect on breast tissue, resulting in hormone-sensitive or hormone-dependent tumors. Overexpression of HER2 is a frequent genetic change in this illness, and monoclonal antibodies targeting this receptor have emerged as an effective treatment strategy (3).

Age, histological subtype, tumor size, lymph node involvement, Scarff-Bloom-Richardson (SBR) histoprog- nostic grade, as well as the expression of hormone recep-

tors or HER2 overexpression, serve as established indicators for breast cancer and offer vital insights into treatment strategies and prognostic assessments. Furthermore, viral infections are thought to be linked to several types of human cancer. Epstein-Barr virus (EBV), for example, is thought to have a role in the development of several cancers, including undifferentiated nasopharyngeal carcinoma and Burkitt lymphoma (4).

This research focuses on the Epstein-Barr virus's capacity to express a particular latent protein, LMP1, which is important in EBV's carcinogenic potential. Through its C-terminal domain, which is separated into three activating parts known as CTARs (C-terminal activating parts), LMP1 activates various signaling pathways, including NF- $\kappa$ B, AP1, and STAT. CTAR1 and CTAR2 promote cell proliferation, prevent apoptosis, and promote cell immortalization via activating the NF- $\kappa$ B pathway. CTAR3 stimulates VEGF (vascular endothelial growth factor) synthesis, which leads to invasion and metastasis. In Algerian patients, we are investigating a probable link between EBV infection and breast cancer.

\* Corresponding author. Email: [houlitizi@yahoo.fr](mailto:houlitizi@yahoo.fr)

## Materials and Methods

### Biological material

The pathology staff at Tizi-Ouzou University Hospital provided us with tissue fragments of breast carcinomas collected from mastectomy specimens. These specimens served as biological materials for our study. It should be noted that the EBV serological profile was unknown at the time.

### Patients considered

Thirty specimens were supplied by expert pathologists for the subsequent investigation. The goal of this study is to assess the level of expression of the EBV LMP1 protein and to determine whether the virus is present or not in these samples. In addition, we looked to see if HR and HER2 were expressed.

### Immunohistochemistry

Tissues were fixed for 24 hours in buffered formalin (10% formaldehyde). Gradually rising alcohol concentrations (50, 70, 96, and 100%) dehydrated tissue (2 hours per bath). The alcohol is dissolved by xylene, allowing the clarity of the preparation (2 hours). The tissue was then immersed in liquid paraffin for two hours to recover the water that was lost during the dehydration procedure. The tissue within a solid block was then cut into thin slices of 3 to 5 microns. These were placed in a 37°C water bath before being spread across silanized slides. For about 12 hours, the blades are deparaffinized in an oven at 37 degrees Celsius. For tissue rehydration, the slides were immersed in xylene (2 x 5 minutes), then in alcohol at decreasing concentrations (100, 90, and 70%) for 3 minutes per bath, then in distilled water for 30 seconds. The formalin-masked epitopes were recovered by immersing the blades in an unmasking solution (citrate buffer at pH=6) and heated at 95-97°C for 30 to 40 minutes. After cooling, the slides were immersed in tubes containing distilled water and washing buffer for 5 minutes at a time. By immersing the slides in a solution containing hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). The endogenous background was reduced by blocking endogenous peroxidases for 5 minutes and then rinsed in distilled water and washed in a PBS (Phosphate-Buffered Saline) buffer for 5 minutes to remove H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The tissue sample is treated for 30 minutes with 100 µl of the primary antibody (mouse anti-RE or anti-PR human monoclonal antibody) or (rabbit anti-human HER2 antibody) or (mouse anti-LMP1 antibody, clone CS. 1-4). The remaining slides were treated identically with a negative control reagent (negative control). The samples were washed for five minutes. 100 µl of secondary antibody is added for 30 minutes at room temperature. It is made up of dextran bound to horseradish peroxidase and secondary antibodies directed against mouse immunoglobulins in the case of HR and LMP1, or directed against rabbit immunoglobulins in the case of HER2). The slides were then cleaned with two washes.

On the slides, 100 µl of substrate buffer containing hydrogen peroxide was poured, followed by the addition of the chromogenic substrate of peroxidase, DAB (tetra hydrochloride of 3,3-diaminobenzidine). After a 10-minute incubation, the brown color indicated the antigen-antibody interaction.

Mayer's hematoxylin is used for contrast staining (1 to 5 minutes), which colors the nuclei purple-blue, the cy-

toplasm, and the supporting tissue (less intensely). The slides were rinsed with distilled water, and then immersed in an alcohol bath, and in xylene, to decolor the cytoplasm and connective tissue.

### Ethical approval

The study was conducted following the Declaration of Helsinki, and approved by the Mouloud Mammeri University, Ethics and Deontology Commission of the Faculty of Biological Sciences and Agronomic Sciences (UM-MTO/20/06/2021/Eth-Deon-A-041).

### Statistic study

The statistical analysis for the tests involved the use of SPSS Statistics, version 25.0. (Fisher's exact test and Spearman's correlations) to identify any links between the factors under study.

## Results

### Descriptive study

#### Location and seat of the tumor

In our sample, 70% of the malignancies were detected in the left breast, reporting percentages of 53.13% and 60.4%, respectively, of tumors in the left breast. We did not observe any cases of bilateral involvement.

#### Patient age

The patient's average age is 48.33 years. The age group most heavily affected, accounting for 47% of cases, is 40 to 49 years old. Patients aged 20 to 29 and 70 to 79, on the other hand, had only one case (Figure 1).

#### Histological type

Infiltrating or Invasive Ductal Carcinoma is the most frequently occurring histological form, accounting for 77% of cases. Our analysis reveals that these uncommon types of breast cancer, which have a higher survival rate, represent 13.32% of cases. On the other hand, the proportion of mucinous carcinoma accounts for 3.33%.

#### TNM classification

The tumor size of T2 (2 cm < tumor ≤ 5 cm) is the most common in our data, accounting for 60% of the population. In our series, 57% of patients are at stage N+ and 43% are at stage N0. Among the 57% of patients with lymph node metastases (N+), 41% are at stage N1 (07 cases), 41% at stage N2 (07 cases), and only 17% at stage N3 (03 cases).

The majority of individuals (93.33% or 28) were assigned the Mx stage because of a lack of information re-

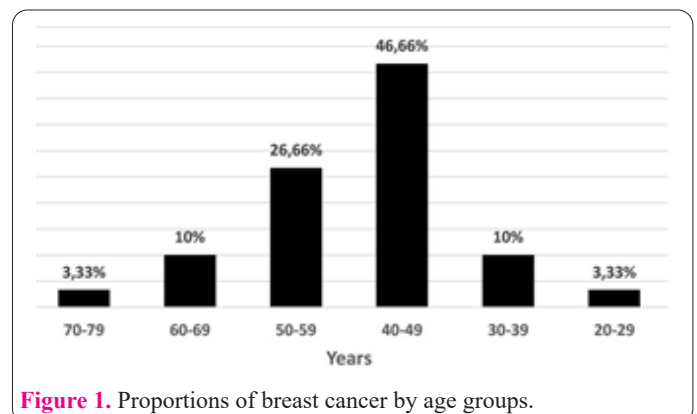


Figure 1. Proportions of breast cancer by age groups.

garding metastases. Only two patients (6.66%) did not have distant M0 metastases, and no patient was categorized as stage M. This lack of information results in a significant disparity with the literature.

The most prevalent SBR grade discovered is grade II (90% of cases), followed by grade I (6.66% of cases) and grade III (3.33% of cases). This apparent prevalence of grade II.

**Expression of Hormone Receptors (HR)**

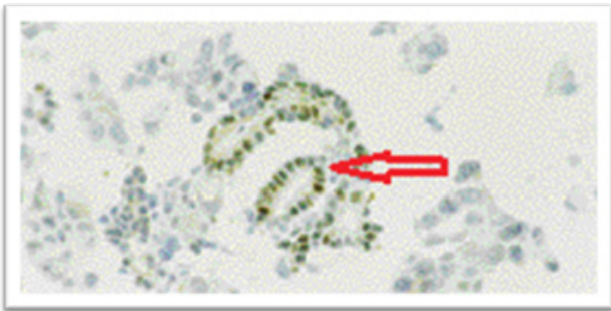
The nuclear staining indicated the presence of this Hormone receptor (HR), with a positivity threshold of 10%. Nuclei that are stained brown are considered positive for HR, while those that are blue are negative (Figure 2). Hormone therapy is frequently utilized in the treatment of hormone receptor-positive breast cancer.

**Expression of the Estrogen receptor (ER) and Progesterone receptor (PR)**

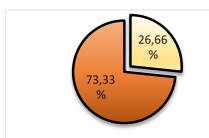
The ER is expressed by 73.33% of patients. As a result, only 26.66% (8 out of 30 instances) are RE negative (Figure 3).

**Expression of the HER2 oncogene**

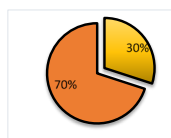
The tumor cells showed a strong, complete brown,



**Figure 2.** Micrograph of a cluster of ER-tumor cells with positive internal control (arrow) at x40 magnification.

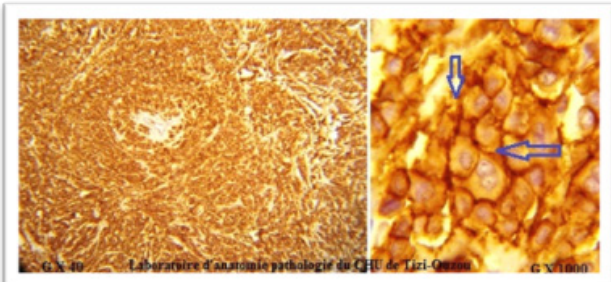


A. Distribution of cases according to the expression of ER

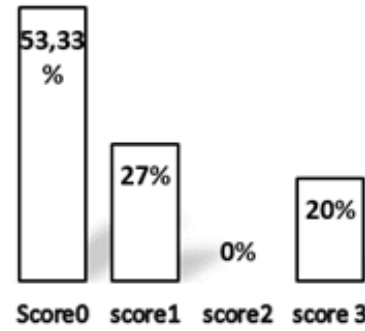


B. Distribution of cases according to PR expression

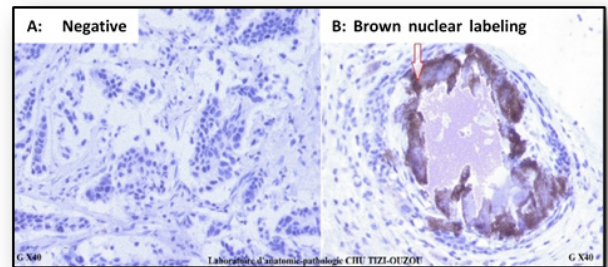
**Figure 3.** Distribution of cases according to the ER (A) or PR (B) expression (in yellow).



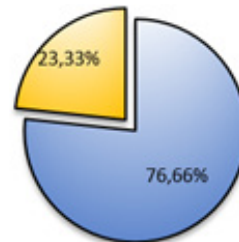
**Figure 4.** Photomicrograph of a cluster of HER2 positive tumor cells (score 3+) showing strong and complete staining (arrow) at low (left) and high (right) magnification.



**Figure 4.** Distribution of cases according to HER2 status.



**Figure 6.** Microphotograph of a cluster of tumor cells (A negative control, B brown nuclear labeling with LMP1).



**Figure 7.** Distribution of cases according to the LMP1 profile.

mesh-like membrane staining in response to HER2 immunohistochemistry, as illustrated in Figure 4.

Of our patients, 20% expressed the HER2 protein (score 3), while 79.99% had a negative HER2 profile (53.33% score 0 and 26.66% score 1), and no uncertain cases were found (score 2), as shown in Figure 5.

**Expression of the EBV LMP1 protein**

The expression of EBV LMP1 protein was evaluated using nuclear staining with LMP1 antibody. The term "LMP1-positive expression" was used to describe this staining pattern regardless of the intensity of staining or the percentage of cells that were stained (Figure 6).

The presence of the EBV virus in mammary carcinomas was confirmed by the expression of the LMP1 protein, which was found in 23.33% of tumor samples but not in the adjacent healthy tissue (Figure 7).

There was no control tissue identified, and all patients with EBV (6.7%) had advanced tumor grades (II and III).

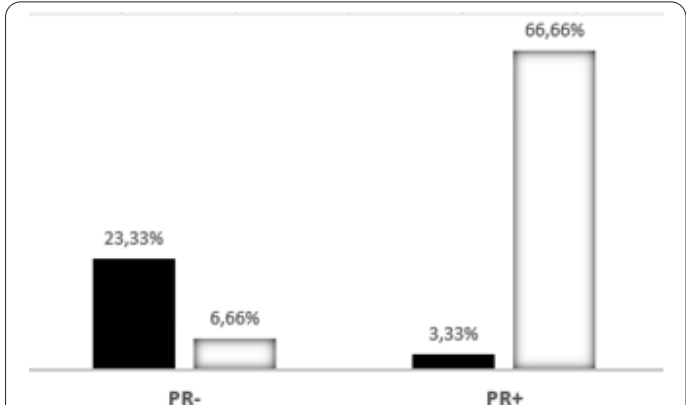
**Analytical study**

**Relationships and correlations between the novel prognostic factors and the expression of the oncoprotein LMP1**

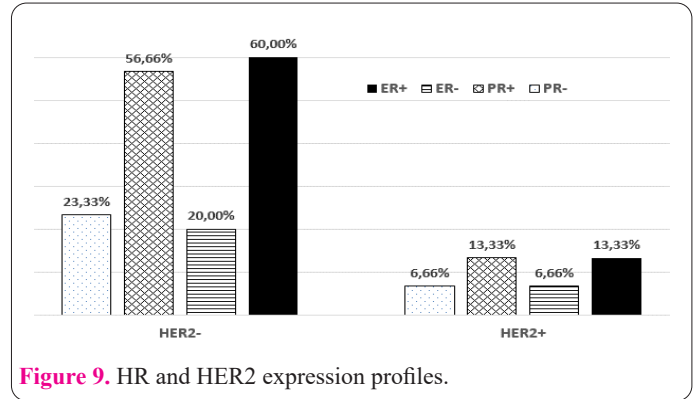
In summary, we found a high link and positive correla-

tion between the expressions of the two HRs, which are negatively associated with HER2 protein overexpression. We were unable to determine a statistically significant relationship between the expression of the oncoprotein LMP1 and the three prognostic variables, namely HR and HER2. However, as indicated by the summary of our results in Table 1, not all EBV-positive patients overexpressed HRE2, despite being mostly HR-positive.

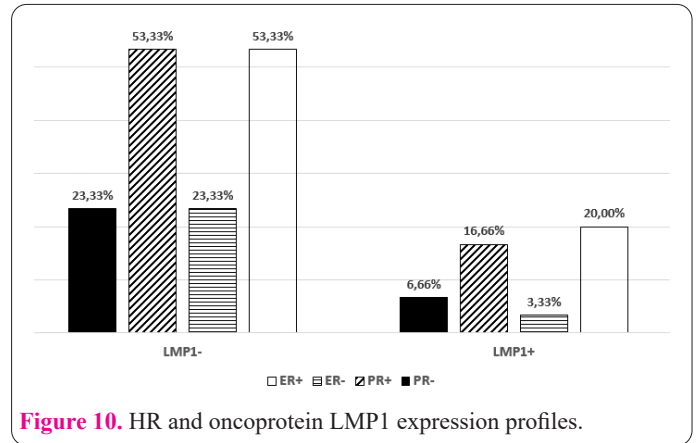
A statistically significant correlation was discovered between the expression of ER and PR, indicated by a Cramer's V score of 0.75. Consequently, a large proportion of patients who are ER+ also exhibit PR+ expression. As shown in Figure 8, 66.66% of patients have both an ER and a PR profile (ER+/PR+). Several (23.33%) patients had an ER-/PR- profile, two cases had an ER+/PR- profile, and one had an ER-/PR+ profile. Our study confirmed this relationship with a significant P value and a Cramer's V score greater than 0.70, indicating a strong correlation between the expression of these two receptors. Additionally, we observed a robust inverse association between ER expression and HER2 overexpression, with a correlation value of -0.75.

One pattern is also evident in the histogram shown in Figure 9. Specifically, 60% of the patients who express ER do not exhibit HER2 overexpression (i.e., have a RE+/HER2- profile), while 56.6% of the patients who express PR are also HER2-negative. Furthermore, the RE+/  


**Figure 8.** Correlation between HR: Clear color (ER+), Dark color (ER-).



**Figure 9.** HR and HER2 expression profiles.



**Figure 10.** HR and oncoprotein LMP1 expression profiles.

HER2+ profile was observed in 13.33% of cases.

Regarding PR/HER2, we did not find a statistically significant relationship. However, there seems to be an inverse correlation with a non-significant SPEARMAN coefficient of -0.36. This inverse correlation aligns with the positive ER/PR correlation and the negative ER/HER2 correlation. Based on these findings, it can be inferred that the PR/HER2 correlation is likely negative.

In terms of the relationship between HR expression and the presence of EBV, no statistical correlation was observed. Specifically, for ER, the P value was 0.638 (>0.05) with a Cramer's V of 0.154, and for PR, the P value was 1 with a Cramer's V of 0.017. Their findings indicate that the presence of EBV is not associated with the upregulation of steroid receptors. In contrast, our study found that

**Table 1.** Anatomopathological characteristics of EBV-positive tumors.

Case	Age	Histological case	TNM	SBR	ER	PR	HER2	LMP1
1	36	CM	T1cN0Mx	II	+	+	-	+
2	45	CCI	T1cN0Mx	II	+	+	-	+
3	53	CCIn Situ	T2N0Mx	II	-	-	-	+
4	58	CCI	T3N2aM0	II	+	+	-	+
5	58	CCI	T2N1aMx	II	+	+	-	+
6	44	CCI	T1cN0Mx	II	+	+	-	+
7	42	CCI	T2N0Mx	I	+	+	-	+

**Table 2.** Relation between LMP1 expression and the breast carcinoma risk factors.

	P value	Correlation Coefficient	Signification
LMP1-Age	0,680	-0,078	Not significatif
LMP1-SBR	0,564	0,19	Not significatif
LMP1-T	0,442	-0,146	Not significatif
LMP1-N	0,092	-0,313	Not significatif

most patients expressing HR do not have LMP1 (Figure 10), where 53.33% of patients had an HR+/LMP1- profile.

There was no statistically significant relationship found between the expression of the viral protein LMP1 and overexpression of the HER2 protein, as indicated by a  $P$  value = 0.290 > 0.05 and a Cramer's V score of 0.276. Similarly, no significant correlation was observed. No correlation was found between the presence of EBV and HER2 overexpression, especially since none of the patients in our series exhibited an LMP1+/HER2+ profile.

### **Correlation between the expression of LMP1 and the classic prognostic factors.**

We did not observe any statistically significant correlation in our series between the expression of LMP1 protein and the conventional prognostic factors, such as patient age, SBR grade, tumor size, or lymph node invasion (Table 2).

## **Discussion**

### **Location of the tumor**

Almost all samples from malignancies (70%) were detected in the left breast, which is in line with the results of previous studies (3,4), reporting percentages of 53.13% and 60.4% of tumors in the left breast respectively. This phenomenon may be explained by the breastfeeding practices hypothesis (7). Studies have shown that women who breastfeed their children for at least 12 months may increase their life expectancy by 26% (8). Thus, if the right breast is used for breastfeeding more frequently, the left breast may become more vulnerable to cancer. However, Mansouri (8) observed a different tumor pattern, the right breast was more affected. On the other hand, we did not observe any cases of bilateral involvement, which is consistent with the literature reporting that only 1 to 2% of individuals develop cancer on both sides (8,9).

### **Patient age and samples**

The mean age of the patients is around 49 years, which is similar to the average age reported in Morocco (ranging from 48.1 to 50.7 years) (9,10,11). However, this mean age is lower than that reported in a French study, which was approximately 52 years (12). The most affected age group, accounting for 47% of cases, is between 40 and 49 years old. This is consistent with Diallo's study conducted in Mali in 2007 (13). On the other hand, the age groups with the lowest number of cases include those aged 20 to 29 and 70 to 79, with only one case each. This finding might be explained by the lower rate of older women consulting and lower life expectancy in Algeria.

Infiltrating or Invasive Ductal Carcinoma is the most frequently occurring histological form (77%). In France, this proportion of this kind of tissue is slightly higher (82%) (14); an Iranian study (15) reported a proportion of 96.3%.

Invasive lobular carcinoma accounted for 10% of our cases. This agrees with the Cordina-Duverger study (14). Different other studies have reported a proportion of this tumor up to 15% of all cases, distinguished by its HR positivity and HER2 negativity (16). Our analysis revealed that these uncommon types of breast cancer, have a higher survival rate. Our data were higher than those of Cordina-Duverger (16) (4%). On the other hand, the proportion of

mucinous carcinoma, which accounts for 3.33%, is similar to the literature estimate of 4% for all invasive breast tumors (17).

The tumor size of T2 (2 cm < tumor ≤ 5 cm) is the most common in our data. Marty et al. (18), in France, reported a ratio of 45.5%, which is close to but lower than our findings. Moroccan research has a success rate of 50% (19). Tx, T0, and T4 stages were not present in our dataset, and the T3 stage was only 13.33%, lower than in previous studies (5,13,20) with 60.9%, 75.8%, and 49.4 % respectively. The absence of stage T4 and the low number of T3 patients would be due to preventive actions in our region.

In our patient cohort, 57% of individuals were found to be in stage N+ while 43% were classified as stage N0. This distribution deviates from the prevailing trend observed in most studies, where approximately 20% of cases are categorized as stage N0 and 80% as stage N+. This was consistent with the findings of Keita (10) and Diallo (13). Patients' awareness and screening consultations may explain this trend, but during the COVID-19 pandemic, there may have been a step back, as demonstrated by an American study, which reported a 32-day average delay in treatment initiation for breast cancer, followed by increased mortality rates at 5 and 10 years, depending on disease stage (21).

The limitation of our study is that the majority of the patients were assigned the Mx stage because of a lack of information regarding metastases. Only two patients (6.66%) did not have distant M0 metastases, and no patient was categorized as stage M. This lack of information results in a significant disparity with the literature. Two Moroccan studies (22,23), which did not include any patients in stage Mx, both agree on a majority proportion of set M0, with 87.3% and 95%, respectively, compared to 12.7% and 5%. 3.1.5. SBR grade

Grade II is the most common SBR grade, accounting for 90% of cases. Grade I is less common, at 6.66%, and grade III is the least common, at 3.33%. This prevalence of grade II is consistent with other studies in the literature (22,23). Our study on breast cancer found that grade II is the most common SBR grade, while other studies have reported a higher prevalence of either grade I or grade III. This discrepancy may be because our study included samples from tumors in all stages of development, while the other studies only included samples from early-stage tumors.

### **Expression of Hormone Receptors (HR)**

The identification of hormone receptors (HR) is a critical aspect of selecting appropriate treatment (prognostic factor). The presence or absence of these receptors is used to anticipate the response to hormone therapy (predictive factor) (24). The nuclear staining indicated the presence of this receptor, with a positivity threshold of 10%. The use of nuclear staining to identify hormone receptor-positive cells is a well-established diagnostic tool that has revolutionized cancer treatment. The significance of detecting hormone receptors in determining the most effective treatment for a patient.

The ER was expressed in 73.33% of patients. Other studies reported averages from 60% to 70%. However, our findings were higher than those found in other Arab countries such as Tunisia (25), which found a percentage of positivity of no more than 59.4%, and Jordan (26), which

found an even lower rate of positivity of 53%. Furthermore, Anderson et al. (27) and Chow et al. (28) discovered lower expression levels than we did. However, our findings are consistent with French investigations (29,30), with an ER expression not exceeding 70%.

Our findings concerning PR were quite similar to those of Hammas's Moroccan study (22), which recorded 71.4% positive cases.

### Expression of the HER2 oncogene

20% of our patients expressed the HER2 protein, while 79.99% had a negative HER2 profile. Of the patients with a negative HER2 profile, 53.33% had a score of 0, and 26.66% had a score of 1. No patients had an uncertain HER2 profile (score 2). These results are consistent with previous studies reporting a positive rate of 20-30% (31,32).

We observed 20% of cases positive in HER2. This was slightly lower than that reported in several other studies, including an Australian study (33), which reported a positivity rate of 26%, as well as a Tunisian study (25), and a Jordanian one (26). However, a Moroccan study (9) found a significantly higher positivity rate of 87%.

A positive correlation has also been observed in several other studies, such as those conducted by Almasri et al. (28) in Jordan and Ayadi et al. (25,26) in Tunisia. Consequently, a large proportion of patients who are ER+ also exhibit PR+ expression. In the present study, 66.66% of the patients have both an ER and a PR profile (ER+/PR+), which is a higher proportion than reported in previous studies (22,26) which reported a lower rate of less than 39.5%. 23.33% of patients had an ER-/PR- profile, two cases had an ER+/PR- profile, and one had an ER-/PR+ profile. This is because the expression of PR is heavily reliant on ER expression, which explains why tumors that are ER-negative tend to lack PR expression and vice versa. Our study confirmed this relationship with a significant P value and a Cramer's V score greater than 0.70, indicating a strong correlation between the expression of these two receptors. Additionally, we observed a robust inverse association between ER expression and HER2 overexpression, with a correlation value of -0.75. Specifically, 60% of the patients who express ER do not exhibit HER2 overexpression (i.e., have a RE+/HER2- profile), while 56.6% of the patients who express PR are also HER2-negative. These findings suggest that HR+ patients are more likely to be HER2-negative.

Our findings are consistent with previous research that has found a higher prevalence of HER2 score 3 cases in patients who are RE- compared to those who are RE+. This trend has been observed in several studies (32,34,35). According to Eliss et al. (36), HER2 amplification is detected in around 35% of RE- cases, while it is only present in 10 to 15% of RE+/HER2+ cases. In our study, the RE+/HER2+ profile was observed in 13.33% of cases. This phenomenon can be attributed to the suppressive effect of estrogen on the transcription of HER2, as HER2 can induce cell proliferation in the absence of the RE pathway.

### Expression of the EBV LMP1 protein

The presence of the Epstein-Barr virus (EBV) in mammary carcinomas was confirmed by the expression of the LMP1 protein in 23.33% of tumors. This finding is consistent with other studies, such as a study conducted in

Jordan in 2013 (37) that found a 26% positivity rate using two detection methods, PCR and immunohistochemistry. Other studies (38,39) found a positivity rate of 27.02% in tumor tissues compared to only 11.42% in controls. Our immunohistochemistry analysis of breast cancer samples revealed the presence of EBNA1 protein expression with granular nuclear staining in 26% of cases.

Mofrad et al. (40) found the lowest percentage of EBNA positive at 6.7% of breast cancer cases associated with EBV. Furthermore, all the patients had advanced tumor grades (II and III). While a Lebanese study (41) reveals an EBV presence rate of roughly 40%.

Even though multiple studies have shown EBV detection in breast cancers with different proportions (27.77% (42), 29.33% (43), 35% (44), and 46% (45)), Other studies (46,47,48,49), could not demonstrate the presence of the virus in these tumors. The difference in the results described in the literature could be attributed to the variety of techniques employed to detect the virus (IHC, PCR, ISH), the varied target EBV proteins examined, or even the genetic/ethnic origin of the population studied. It appeared that the age at which the first EBV infection occurred may potentially have an impact (50).

Because it is not found in all breast cancer cells, we can conclude that EBV plays a role in breast oncogenesis but not as a key etiological factor. Indeed, even in situations of nasopharyngeal carcinomas when the role of EBV is firmly established, not all tumor cells are responsive to the antibody (51). In the case of breast cancer, it would rather act as an agent capable of modifying the behavior of cells that have already been transformed, giving them a more aggressive phenotype (52). Sharaf and Gomaa (53), discovered that EBV+ breast cancers are more aggressive than other breast cancers. Other authors have recently revealed that LMP1 gene expression is related to an invasive phenotype (1).

In terms of the relationship between HR expression and the presence of EBV, no statistical correlation was observed. These results are consistent with other studies (52,54). These findings indicate that the presence of EBV is not associated with the upregulation of steroid receptors. However, this conflicts with studies that have shown a strong negative correlation, such as those previously conducted (53). Hachana et al. (54), and Mazouni et al (55). This suggests that EBV is more frequently detected in HR-negative breast tumors, which are generally more aggressive (56). In contrast, our study found that most patients expressing HR do not have LMP1, whereas 53.33% of patients had an HR+/LMP1- profile. However, we were unable to conclude the opposite idea that patients expressing LMP1 do not have HR because the majority of patients in our sample were HR+. A larger survey with more participants may reveal the inverse correlation noted in several studies.

There was no statistically significant relationship found between the expression of the viral protein LMP1 and overexpression of the HER2 protein. Similarly, no significant correlation was observed. Our findings are consistent with other results (52,57). However, the literature suggests that EBV infection of certain breast cancer cell lines can activate HER2/HER3 signaling pathways. It is, therefore, surprising that no correlation was found between the presence of EBV and HER2 overexpression, especially since none of the patients in our series exhibited an LMP1+/

**HER2+ profile.**

Our study did not find any statistically significant correlation between the expression of the LMP1 protein and the conventional prognostic factors for breast cancer, such as patient age, SBR grade, tumor size, or lymph node invasion. This finding is consistent with other studies, such as those by Fina et al., (57), Preciado et al. (58), Hachana et al. (54), and Mohammedizadeh et al.(59), which also found no statistically significant correlation between EBV infection and these prognostic factors. Chu et al. (60) and Khabaz (37) also found no significant association between the development of EBV breast cancer and these factors.

In Egypt, Sharaf and Gomaa conducted a study (54) that did not find a significant correlation between the presence of EBV and age. However, the study did reveal significant associations between the expression of the EBV genome and unfavorable prognostic factors, such as high tumor grade and lymph node involvement. These findings align with a previous study (61) that reached a similar conclusion. Another study by Fawzy et al. (62) established a connection between the presence of EBV in tumors and lymph node invasion, suggesting that EBV might contribute to the development and altered behavior of aggressive carcinomas with a heightened potential for metastasis. These collective findings imply an association between EBV and the increased metastatic potential of tumors.

Aggressive characteristics were observed in breast cancers expressing EBV (56), particularly those with high tumor grade. Similarly, Murray et al. (52) found that EBV-positive tumors were more likely to exhibit high grades, involve multiple lymph nodes, and have larger sizes. The study by Sharaf and Gomaa (54) also noted a similar pattern in tumor size, where EBV was absent in small T1 tumors (<2 cm), and all EBV-positive carcinomas were larger T2 or T3 tumors (>2 cm), although this difference did not reach statistical significance. Additionally, a study by Glenn et al. (63) discovered a correlation between the presence of EBV in breast tumors and a younger age at diagnosis. While the existing literature on the association between EBV and poor prognostic factors is somewhat inconsistent, these findings collectively suggest an overall unfavorable prognosis for the disease.

**Conclusion**

The association between Epstein-Barr virus (EBV) and breast cancer is a subject of ongoing research, and the role of EBV in breast cancer development is still not fully understood. While there have been some studies suggesting a potential link, the evidence for active EBV infection in breast cancer tissues, specifically through the expression of EBV latent membrane protein 1 (LMP1), is limited. Currently, there is no consensus in the scientific community regarding the presence of active EBV infection in breast cancer. Nevertheless, our analysis of a small sample of patients (23.33%) has revealed a correlation between invasive breast cancer and the presence of EBV. The virus was only found in tumor cells, suggesting its potential involvement in the development of certain forms of breast cancer. However, EBV does not seem to have a significant impact on the major clinicopathologic correlation and prognostic factors of breast cancer. Given these results, we propose that immunotherapy or antiviral therapies that target EBV may be beneficial in treating some types of invasive breast cancer.

**Author Contributions**

Conceptualization, K.G., L.T., and A.M.; methodology, K.H., A.K., and M.M.; validation, L.T., S.O., and Y.B.; formal analysis, K.G., and A.M.; investigation, A.K., and K.H.; resources, M.S.B., M.M., and L.T. data curation, S.O., M.S.B., and Y.B.; writing—original draft preparation, M.S.B., and M.M.; writing—review and editing, M.S.B., K.H. and A.E.; supervision, Y.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Institutional Review Board Statement**

The study was conducted following the Declaration of Helsinki, and approved by the Mouloud Mammeri University, Ethics and Deontology Commission of the Faculty of Biological Sciences and Agronomic Sciences (UM-MTO/20/06/2021/Eth-Deon-A-041).

**Informed Consent Statement**

Not applicable.

**Data Availability Statement**

Not applicable.

Acknowledgments: The authors would like to extend their sincere appreciation to the Researchers Supporting Project Number (RSPD2023R986), King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia

**Conflicts of Interest**

The authors declare no conflict of interest.

**References**

1. Institut National du Cancer. Antecedents familiaux - Facteurs de risque | Institut National Du Cancer, 2023. Available from <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Facteurs-de-risque/Antecedents-familiaux> (accessed 06/10/2023).
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in Globocan 2012. *Int. J. Cancer* 2015; 136(5): 359–386.
3. Lopez-Tarruella S., Echavarria I., Jerez Y, Herrero B, Gamez S, Martin M. How we treat HR-positive, HER2-negative early breast cancer. *Future Oncol* 2022; 18(8):1003-1022.
4. Lupo J, Truffot A, Andreani J, Habib M, Epaulard O, Morand P, Germi R. Virological Markers in Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. *Viruses* 2023; 15(3): 656.
5. Diallo S. Etude des facteurs de risques du cancer du sein diagnostiqués dans les hôpitaux de Bamako et Kati. Thèse Méd. Bamako 2006.
6. Sanchez LC, Lopez AP, Esquivel EL. Hormone risk factors during breast tumoral promotion, progression, and prognosis. *Ginecol Obstet Mex* 2004; 72: 545.
7. Hoyt-Austin A, Dove MS, Abrahão R, Kair LR, Schwarz EB. Awareness That Breastfeeding Reduces Breast Cancer Risk: 2015-2017 National Survey of Family Growth. *Obstet Gynecol* 2020; 136(6): 1154-1156.
8. Mansouri A. Prise en charge du cancer du sein métastatique HER2 positif. Expérience du centre d'oncologie et d'hématologie, thèse de doctorat (numéro 2017; 216). Faculté de médecine et de pharmacie, Marakech (Morocco), 2017.
9. Keita M. Etude des caractères anatomo-cliniques des cancers du sein au Mali, thèse Méd. Bamako (Mali), 2005.
10. Tazi MA, Er-Raki A, Benjaafar N. Cancer incidence in Rabat,

- Morocco: 2006-2008. *Ecancermedalscience* 2013;7:338.
11. Benider A, Bendahhou K. Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca 2008-2012. Link: <http://www.contrelecaner.ma/fr/documents/registre-des-cancers-de-la-region-du-grand-casab-3/> 2016.
  12. Staub G., Fitoussi A., Falcou M.-C. , Salmon R.J. Résultats carcinologiques et esthétiques du traitement du cancer du sein par plaste mammaire. 298 cases. *EM Consulte* 2008 ; 53 (2): 124-134.
  13. Diallo S. Etude épidémiologique, clinique et histopathologique des cancers du sein diagnostiqués dans les hôpitaux de Bamako (Mali). Thèse Méd. 2007.
  14. Cohen S.Y., Stoll C.R., Anandarajah A., Doering M., Colditz G.A. Modifiable risk factors in women at high risk of breast cancer: a systematic review. *Breast Cancer Res* 2023; 25: 45.
  15. Mohammadzadeh F, Zarean M, Abbasi M. Association du virus d'Epstein Barr avec le carcinoma mammaire invasif et son impact sur les paramètres clinicopathologiques bien connus chez les femmes iraniennes, *Adv Biomed Res* 2014; 3: 141.
  16. McCart Reed AE, Kalinowski L, Simpson PT, Lakhani SR. Invasive lobular carcinoma of the breast: the increasing importance of this special subtype. *Breast Cancer Res* 2021, 23(1): 6.
  17. Lei L, Yu X, Chen B, Chen Z, Wang X. Clinicopathological Characteristics of Mucinous Breast Cancer: A Retrospective Analysis of a 10-Year Study. *PLoS One* 2016, 11(5): e0155132.
  18. Marty M, Rossignol C, Srrys G, Peterissans JL, Baillet F, Netler-Pimon G, Romieux G, Saez S. Le cancer du sein au moment du diagnostic, étude nationale de la Canam : analyse de 3007 cas, *Press Méd.* 1992; 21: 1017–21
  19. Kouali F. Traitement conservateur du cancer du sein revue des indications, étude rétrospective (à propos de 20 cas); faculté de médecine et pharmacie, thèse faculté de Médecine, Marakech (Morocco), 2017.
  20. Coulibaly A. Etude des facteurs de risque du cancer du sein au Mali. Thèse Méd. Université de Bamako, Mali. 2009.
  21. Cone EB, Marchese M, Paciotti M, Nguyen DD, Nabi J, Cole AP, Molina G, Molina RL, Minami CA, Mucci LA, Kibel AS, Trinh QD. Assessment of Time-to-Treatment Initiation and Survival in a Cohort of Patients with Common Cancers. *JAMA Netw Open* 2020; 3(12): e2030072.
  22. Hammas N. Evaluation de l'immuno-marquage par les HR et l'Herceptest dans le cancer du sein, thèse Méd. Sidi Mohamed ben Abdellah, FES (Morocco), 47. 2009.
  23. Lamrahi S. Confrontation clinico-radio-cyto-histologique des tumeurs mammaire (A propos de 159 cas). Thèse Méd, Sidi Mohamed ben Abdellah. FES (Morocco). 2011.
  24. Mink D, Von Tongelen B, Villena-Heinsen C, Heiss C, Schmidt W. Breast cancer and prognostic factors *Eur J Gynaec Oncol* 1994; XV: 6.
  25. Ayadi L, Khabir A, Amouri A, Karray S. Correlations of HER2 overexpression with clinicopathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 112.
  26. Almasri NM, Alhamad M. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 598-604.
  27. Anderson WF, Chu KC, Chatterjee EN, Brawley O, Brinton LA. Tumor variants by hormone receptor expression in which patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and results database. *J Chin Oncol* 2001; 19: 18-27.
  28. Chow LW, Ho P. Hormonal receptor determination of 1052 Chinese breast cancers. *J Shurg Control* 2000; 75: 172-175.
  29. Vincent-Salomon A, Mac Grogan G, Couturier J, Denoux Y, Fiche M, Jacquemier J, Matieu MC, Penault-Lorca F, Rigaud C, Roger P, Treilleux I, Villain MO, Mathoulin Pelissier S, Le Doussal V. Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: Resultants of the French multicenter GEPFICS study. *Histopathol* 2003; 42(4): 337-47.
  30. Villain MO. Détection immunohistochimique de RE et PR sur coupe en paraffine après traitement par micro-ondes. *Ann Pathol* 1997; 17: 82-88.
  31. Pauletti G, Dandekar S, Rong H, Ramos L, Peng H, Seshadri R, Slamon DJ. Assessment of methods for tissue-based detection of the HER2/neu alternation in human breast cancer: A direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 2000; 18(21): 3651-64
  32. Rasmussen BB. Evaluation of and quality assurance in HER2 analysis in breast carcinomas from patients registered in Danish breast cancer groups (DBCG) in the period of 2002-2006. A nationwide study including correlation between HER2 status and other prognostic variables. *Acta Oncologica* 2008; 47: 784-788.
  33. Bilous M, Ades C, Armes J, Bishop J, Brown R, Cooke B, Cummings M, Farshid G, Field A, Morey A, Mckenzie P, Raymond W, Robbins P, Tan L. Predicting the HER2 of breast cancer from basic histopathology data: an analysis of 1500 breast cancers as part of the HER2 international study. *The Breast* 2003; 12: 92-98.
  34. Aziz SA. Significance of immunohistochemical C-Eerb-2 product localization pattern for prognosis in human breast cancer. *Pathol Oncol Res* 2001; 7(3): 190-6
  35. Borgquist S, Holm C, Stendahl M, Anagnostaki L, Landberg G, Jirstrom K. Estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  show different associations to clinicopathological parameters, and their co-expression might predict a better response to endocrine treatment in breast cancer. *J Clin Path* 2008; 61: 197-203.
  36. Eliss MJ, TAO Y, Murray J. Estrogen-independent proliferation is present in estrogen-receptor HER2-positive primary breast cancer after neoadjuvant letrozole. *J Chim Oncol* 2006; 24: 3919-3025.
  37. Khabaz MN. Association of Epstein-Barr virus infection and breast carcinoma. *Arch Med Sci* 2013; 9(4): 745-751.
  38. Sharifpour C, Makvandi M, Samarbafzadeh A, Talaei-Zadeh A, Randjbari N, Nisi N, Azaran A, Jalila S, Varnaseri M, Primoradi R, Angali KA. Frequency of Epstein-Barr Virus DNA in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue of Patients with Ductal Breast Carcinoma. *Asian Parc J Cancer Prev* 2019; 20: 687-692.
  39. Jin Q., Su J., Yan D., Wu S. Epstein-Barr Virus Infection and Increased Sporadic Breast Carcinoma Risk: A Meta-Analysis. *Med Princ Pract* 2020; 29:195–200.
  40. Mofrad Golrokh M, Kazeminezhad B, Faghiloo E. Prevalence of Epstein-Barr virus (EBV) in Iranian Breast Carcinoma Patients *Asian Pac J Cancer Prev* 2020; 21: 133-137.
  41. Nagi K., Gupta I., Jurdi N., Jabeen A., Yasmeen A., Batist G., Vranic S. and Al-Moustafa A. High-risk human papillomaviruses and Epstein-Barr virus in breast cancer in Lebanese women and their association with tumor grade: a molecular and tissue microarray study. *Canc Cell Int Cancer Cell Int*, 2021; 21: 308.
  42. Huo Q, Zhang N, Yang Q. Infection par le virus d'Epstein-Barr et risque de cancer du sein sporadique : une méta-analyse. *PLoS One* 2012; 7: e31656.
  43. Preciado MV, Chabay PA, De Matteo EN, Gonzalez P, Grinstein S, Actis A, Gass HD. Epstein-Barr virus in breast carcinoma in Argentina. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129(3): 377-81.
  44. Perkins RS, Sahm K, Marando C, Dickson-Witmer D, Pahnke GR, Mitchell M, Petrelli NJ, Berkowitz IM, Soteropoulos P, Aris VM, Dunn SP, Krueger LJ. Analysis of Epstein-Barr virus reservoirs in paired blood and breast cancer primary biopsy specimens by real-time PCR. *Breast Cancer Res* 2006; 8(6): R70.
  45. Dadmanesh F, Peterse JL, Sapino A, Fonelli A, Eusebi V. Lymphoepithelioma-like carcinoma of the breast: lack of evidence of Epstein-Barr virus infection. *Histopathol* 2001; 38(1): 54-61.

46. Kijima Y, Hokita S, Takao S, Baba M, Natsugoe S, Yoshinaka H, Aridome K, Otsuji T, Itoh T, Tokunaga M, Eizuru Y, Aikou T. Epstein-Barr virus involvement is mainly restricted to lymphoepithelial type of gastric carcinoma among various epithelial neoplasms. *J Med Virol* 2001 ; 64(4): 513-8.
47. Deshpande CG, Badve S, Kidwai N, Longnecker R. Lack of expression of the Epstein-Barr Virus (EBV) gene products, EBERs, EBNA1, LMP1, and LMP2A, in breast cancer cells. *Lab Invest* 2002 ; 82(9): 1193-9
48. Herrmann K, Niedobitek G. Lack of evidence for an association of Epstein-Barr virus infection with breast carcinoma. *Breast Cancer Res* 2003; 5: 13-17.
49. Yasui Y, Potter JD, Stanford JL, Rossing MA, Winget MD, Bronner M, Daling J. Breast cancer risk and "delayed" primary Epstein-Barr virus infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(1): 9-16.
50. Glaser SL, Hsu JL, Gulley ML. Epstein-Barr virus and breast cancer: state of the evidence for viral carcinogenesis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004; 13(5): 688-97
51. Khan G, Philip PS, Al Ashari M, Houcinat Y, Daoud S. Localization of Epstein-Barr virus to infiltrating lymphocytes in breast carcinomas and not malignant cells. *Exp Mol Pathol* 2011; 91(1): 466-70.
52. Murray PG, Lissauer D, Junying J. Reactivity with a monoclonal antibody to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 defines a subset of aggressive breast cancers in the absence of the EBV genome. *Cancer Res* 2003; 63: 2338–2343.
53. Sharaf HM, Gomaa MF. Molecular detection of Epstein-Barr virus in breast cancer. *Egypt J Hosp Med* 2012; 47(1): 238–248.
54. Hachana M, Trimeche M, Ziadi S, Amara K, Korbi S. Evidence for a role of the simian virus 40 in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 113: 43-58.
55. Mazouni C, Fina F, Romain S, Ouafik L, Bonnier P, Brandon J, Martin P. Epstein-Barr virus as a marker of biological aggressiveness in breast cancer. *Br J Cancer*, 2011, 104: 332–337.
56. Epstein–Barr Virus Association with Breast Cancer: Evidence and Perspectives. Claudia Arias-Calvachi, Rancés Blanco, Gloria M. Calaf, Francisco Aguayo. *Biology (Basel)* 2022; 11(6): 799.
57. Fina F, Romain S, Ouafik L, Palmari J, Ben Ayed F, Benharkat S, Bonnier P, Spyrtos F, Foekens JA, Rose C, Buisson M, Gerard H, Reymond MO, Seigneurin JM, Martin PM. Frequency and genome load of Epstein-Barr virus in 509 breast cancers from different geographical areas. *Br J Cancer* 2001; 84: 783-790.
58. Preciado MV, Chabay PA, De Matteo EN, Gonzalez P, Grinstein S, Actis A, Gass HD. Epstein-Barr virus in breast carcinoma in Argentina. *Arch Pathol Lab Med*, 2005; 129: 377-81.
59. Mohammadzadeh F, Zarean M, Abbasi M. Association of Epstein-Barr virus with invasive breast carcinoma and its impact on well-known clinicopathologic parameters in Iranian women. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 141.
60. Chu PG, Chang KL, Chen YY, Chen WG, Weiss LM. No significant association of Epstein-Barr virus infection with invasive breast carcinoma. *Am J Pathol*, 2001; 159(2): 571-8.
61. Bonnet M, Guinebretiere JM, Kremmer E, Grunewald V, Benhamou E, Contesso G, Joab I. Detection of Epstein-Barr virus in invasive breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(16): 1376-81.
62. Fawzy S, Sallam M, Awad NM. Detection of Epstein-Barr virus in breast carcinoma in Egyptian women. *Clin Biochem* 2008; 41: 486-92.
63. Glenn WK, Heng B, Delprado W, Iacopetta B, Whitaker NJ, Lawson JS. Epstein-Barr virus, human papillomavirus, and mouse mammary tumor virus as multiple viruses in breast cancer. *PLoS One* 2012; 7 : e48788.

## **RESUME**

Malgré les progrès thérapeutiques, le cancer du sein demeure une des malignités les plus répandues mondialement. Ces avancées ont engendré l'émergence de nouveaux facteurs pronostiques et prédictifs, notamment les récepteurs hormonaux (RH) et l'oncogène HER2. Les cancers du sein sont catégorisés comme hormono-dépendants s'ils répondent aux hormones stéroïdiennes telles que les œstrogènes et la progestérone, les rendant ainsi sensibles à l'hormonothérapie. L'amplification fréquente de l'oncogène HER2, entraînant une surexpression de son oncoprotéine, a conduit au développement de thérapies novatrices ciblant ce récepteur par le biais d'anticorps monoclonaux humanisés.

Dans la quête de thérapies toujours plus ciblées, une exploration attentive des facteurs viraux potentiels contribuant à la carcinogenèse du tissu mammaire a été entreprise. Par exemple, le virus Epstein-Barr (EBV), déjà associé à la carcinogenèse du cavum et au lymphome de Burkitt, suscite des soupçons quant à son implication dans le cancer du sein. La confirmation de sa présence pourrait éventuellement le catégoriser comme un nouveau facteur pronostic pour certains sous-groupes de carcinomes mammaires, ouvrant ainsi la voie à des thérapies ciblées anti-EBV.

L'analyse des résultats a dévoilé un âge moyen des patientes de 49 ans, avec une prévalence plus marquée chez celles âgées de 40 à 49 ans. Les tumeurs de taille T2 prédominaient (60%), et plus de la moitié des patientes présentaient une atteinte ganglionnaire, répartie de manière équitable entre les stades N1 et N2. Les tumeurs étaient majoritairement classées au grade SBR II (90%), avec des taux d'expression de RE à 73,33%, de RP à 70%, et une surexpression d'HER2 observée chez 20% des patientes. L'EBV a été détecté dans 23,33% des carcinomes mammaires par l'expression de l'oncoprotéine LMP1, sans présence dans le tissu adjacent normal.

En conclusion, cette étude confirme la robustesse de la technique immunohistochimique utilisée, et ses résultats s'inscrivent en cohérence avec les connaissances issues de la littérature médicale.

**Mots clés :** Cancer du sein ; HER2; HR; EBV; LMP1

## **ABSTRACT**

Despite therapeutic advancements, breast cancer remains one of the most prevalent malignancies worldwide. These progressions have given rise to the identification of new prognostic and predictive factors, notably hormone receptors (HR) and the HER2 oncogene. Breast cancers are classified as hormone-dependent if they respond to steroid hormones such as estrogen and progesterone, rendering them susceptible to hormone therapy. The frequent amplification of the HER2 oncogene, resulting in the overexpression of its oncoprotein, has prompted the development of innovative therapies targeting this receptor through humanized monoclonal antibodies.

In the pursuit of increasingly targeted therapies, a meticulous exploration of potential viral factors contributing to breast tissue carcinogenesis has been undertaken. For instance, the Epstein-Barr virus (EBV), already linked to cavum carcinogenesis and Burkitt's lymphoma, raises suspicions about its involvement in breast cancer. Confirmation of its presence could categorize it as a new prognostic factor for certain subgroups of breast carcinomas, paving the way for targeted anti-EBV therapies.

Analysis of the results unveiled a mean patient age of 49, with a more pronounced prevalence in the 40- 49 age group. Tumors of size T2 predominated (60%), and over half of the patients had lymph node involvement, evenly distributed between N1 and N2. The majority of tumors were classified as SBR II grade (90%), with expression rates of ER at 73.33%, RP at 70%, and HER2 overexpression observed in 20% of patients. EBV was detected in 23.33% of breast carcinomas through the expression of the LMP1 oncoprotein, with no presence in adjacent normal tissue.

In conclusion, this study affirms the reliability of the immunohistochemical technique used, and its findings align with those in the medical literature.

**Keywords** : Breast cancer; HER2; HR; EBV; LMP1

## ملخص

على الرغم من التقدم العلاجي، يظل سرطان الثدي أحد أكثر الأورام الخبيثة شيوعاً في جميع أنحاء العالم. وقد أدت هذه يتم HER2 والجين الورمي (HR) التطورات إلى ظهور عوامل تشخيصية وتنبؤية جديدة، ولا سيما مستقبلات الهرمون تصنيف سرطانات الثدي على أنها تعتمد على الهرمونات إذا استجابت لهرمونات الستيرويد مثل الاستروجين ، مما يؤدي إلى HER2 والبروجستيرون، مما يجعلها حساسة للعلاج الهرموني. أدى التضخيم المتكرر للجين الورمي الإفراط في التعبير عن البروتين الورمي، إلى تطوير علاجات مبتكرة تستهدف هذا المستقبل من خلال الأجسام المضادة. وحيدة النسيلة المتوافقة مع البشر.

في إطار البحث عن علاجات أكثر استهدافاً، تم إجراء استكشاف دقيق للعوامل الفيروسية المحتملة التي تساهم في تسرطن ، المرتبط بالفعل بتسرطن الأجوف وسرطان الغدد (EBV) أنسجة الثدي. على سبيل المثال، يثير فيروس إبشتاين بار الليمفاوية بوركيت، الشكوك حول تورطه في سرطان الثدي. تأكيد وجوده يمكن أن يصنفه كعامل إنذار جديد لمجموعات EBV فرعية معينة من سرطان الثدي، مما يمهد الطريق للعلاجات المستهدفة المضادة لـ.

وكشف تحليل النتائج أن متوسط عمر المرضى يبلغ 49 عامًا، مع انتشار أكبر بين أولئك الذين تتراوح أعمارهم بين 40 ، وكان أكثر من نصف المرضى مصابين بالعقدة الليمفاوية، موزعة (60%) T2 إلى 49 عامًا. سادت الأورام بحجم ، مع (90%) SBR تم تصنيف الأورام بشكل رئيسي على أنها من الدرجة الثانية. N1 و N2 بالتساوي بين المرحلتين في HER2 بنسبة 70%، وملاحظة الإفراط في التعبير عن PR معدلات تعبير عن الطاقة المتجددة بنسبة 73.33%، و في 23.33% من حالات سرطان الثدي عن طريق التعبير عن البروتين الورمي EBV 20% من المرضى. تم اكتشاف ، مع عدم وجوده في الأنسجة المجاورة الطبيعية LMP1.

في الختام، تؤكد هذه الدراسة قوة التقنية المناعية المستخدمة، ونتائجها تتفق مع المعرفة من الأدبيات الطبية.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الثدي؛ HER2; HR; EBV; LMP1

## Sommaire

INTRODUCTION.....	1
CANCER DU SEIN .....	4
1- Rappel anatomo-histologique du sein .....	4
1-1 Anatomie descriptive .....	4
1-2 Histologie .....	5
2-Définition du cancer du sein .....	6
3- Classification.....	7
3-1 Classification histologique des cancers du sein selon l’OMS 2002-2003.....	7
3-2 La classification pTNM (2017, 8 <sup>ème</sup> édition).....	8
3-3 Classification SBR : (Score de Scarff, Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis) .....	9
4- Epidémiologie .....	10
5- Facteurs de risque.....	11
5-1 Sexe.....	11
5-2 Âge .....	11
5-3 Prédisposition génétique .....	11
5-4 Imprégnation ostrogénique.....	11
5-5 Facteurs environnementaux .....	12
6- Les types de cancer du sein.....	14
6-1 Cancer du sein familial héréditaire lié à BRCA1 et BRCA2 .....	14
6-2 Cancer du sein sporadique .....	14
7- Cancérogénèse mammaire .....	15
8- Régulation et dysrégulation : rôle des récepteurs hormonaux et de l’oncogène HER2 dans le cancer du sein .....	18
8-1 Les récepteurs hormonaux (RE, RP).....	18
8-2-Oncogène HER2 .....	20
9-Traitements du cancer du sein.....	23
9-1 La chirurgie .....	23
9-2 La Chimiothérapie.....	24
9-3 La radiothérapie .....	25
9-4 Hormonothérapie .....	26
9-5 Thérapie ciblée Anti HER2.....	29
9-6 Traitement du cancer du sein type basal (triple négatif) .....	33
VIRUS D’EPSTEIN BARR (EBV) .....	35
1-Présentation et classification du virus .....	35

2-Structure du virus d'Epstein-Barr .....	35
3-Structure du génome viral .....	36
4-Protéines virales .....	37
4-1 Protéines de latence.....	37
4-2 Protéines du cycle lytique .....	42
5-Cycle biologique du virus d'Epstein-Barr.....	43
5-1-Attachement et entrée du virus dans les cellules cibles .....	43
5-2-Latence et maintien du génome .....	45
5-3-Réactivation (cycle lytique) .....	46
6-Mécanismes cellulaires de la transformation maligne dépendante d'EBV (carcinogénèse) et voies de signalisation impliquées .....	48
Matériel et méthodes .....	50
1 Matériel .....	51
1-1 Réactifs.....	51
1-2 Appareillage .....	51
1-3 Matériel biologique .....	51
2 Méthodes .....	52
2-1 Méthodes d'anatomie-pathologie.....	52
2- Résultats et discussion .....	67
2-1-Etude descriptive .....	67
2-2 Etude analytique.....	85
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	95
ANNEXES .....	118

## INTRODUCTION

La base du cancer est la cellule cancéreuse, celle-ci naît suite à l'accumulation de mutations qui lui confèrent un avantage sélectif. Dotée d'un pouvoir de multiplication indéfinie et illimitée, la cellule cancéreuse ne répond plus aux lois de l'homéostasie tissulaire conduisant à la formation d'une tumeur (INCa, 2016).

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Il est la première cause de mortalité par tumeur maligne chez la femme dans les pays les moins développés (INCa, 2016) et la deuxième cause après le cancer du poumon dans les pays développés (FERLAY *et al.*, 2015). Il constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle qui naît de l'échappement de cellules épithéliales mammaires aux mécanismes de contrôle de la prolifération. Il est délicat d'établir une théorie unifiée, du fait que la transformation maligne peut avoir pour origine de très nombreuses combinaisons d'activation d'oncogènes et d'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs.

Les facteurs cliniques et pathologiques comme l'âge, le type histologique, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, le grade histopronostique de SCARFF, BLOOM et RICHARDSON (SBR), l'expression des récepteurs hormonaux ou encore la surexpression de l'oncogène HER2 sont des facteurs prédictifs connus dans le cancer du sein. En effet, ils apportent au clinicien des informations d'ordre pronostic et thérapeutique. Cependant, plusieurs cancers humains peuvent être causés par des virus. Le papillomavirus qui provoque le cancer du col, l'Epstein-Bar Virus qui est responsable du cancer du cavum, le lymphome de BURKITT et suspecté d'avoir un rôle dans le cancer mammaire ainsi que le virus de la tumeur mammaire de la souris (MMTV) qui provoque le cancer du sein chez la souris (HENNIGHAUSEN, 2000). Par conséquent, nous avons émis l'hypothèse qu'une exposition tardive à un virus commun tel que le virus d'Epstein-Barr (EBV) pourrait provoquer un cancer du sein chez la femme.

Dans ce travail, nous nous intéressons particulièrement à l'expression de l'une de ses protéines latentes, LMP1. Cette dernière est en effet essentielle dans le pouvoir oncogène d'EBV en déclenchant diverses voies de signalisation telles que les voies NF-kappa B, AP1 et STAT.

Cette capacité lui est conférée par son domaine C-terminal qui est subdivisé en trois régions activatrices de la signalisation cellulaire, les CTAR (*C-Terminal Activating Regions*) : ainsi CTAR1 et CTAR2 qui activent la voie NF- $\kappa$ B, favorisant la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et donc l'immortalisation cellulaire, CTAR3 augmente l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) favorisant l'invasion et les métastases et ce, en stimulant la voie Jak3/STAT (ZHENG et al., 2007).

Notre intérêt porte sur l'étude d'un lien possible entre l'infection à EBV et la cancérisation mammaire chez des patientes atteintes de cancer du sein à Tizi-Ouzou.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I : CANCER DU SEIN

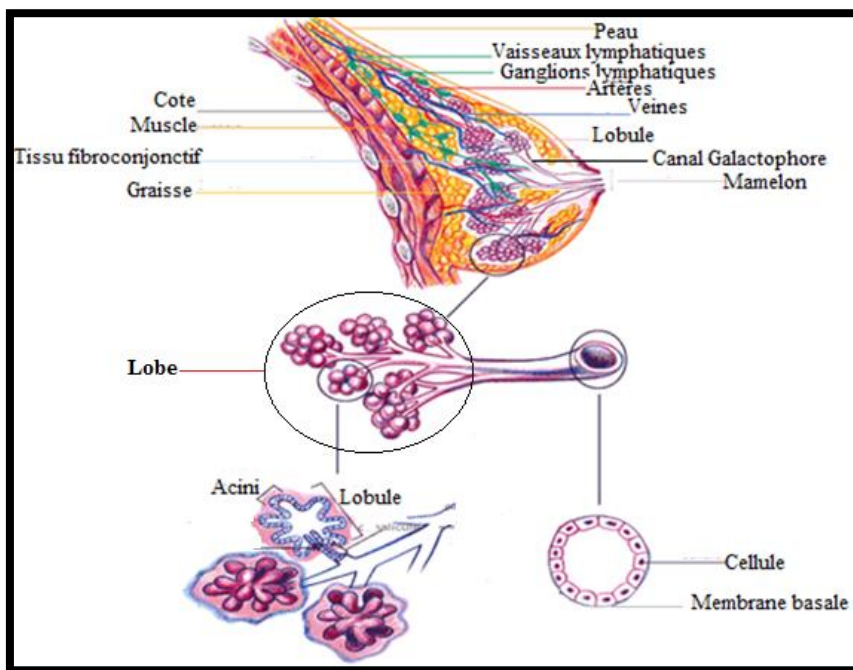
## 1- Rappel anatomo-histologique du sein

### 1-1 Anatomie descriptive

Le sein est un organe pair et globuleux situé en avant et en haut du thorax. Il est constitué d'un tissu hétérogène où coexiste une structure adipeuse, glandulaire, canalaire et fibro-conjonctive (**Figure N°01**).

La structure adipeuse est un ensemble de cellules graisseuses. La structure glandulaire présente 15 à 20 lobes. Chacun d'eux est composé de plusieurs lobules où se trouvent 10 à 100 acini qui produisent le lait. Les lobes ainsi que les lobules sont connectés à la structure canalaire c'est-à-dire aux canaux galactophores qui comportent des sinus lactifères qui transportent le lait vers le mamelon.

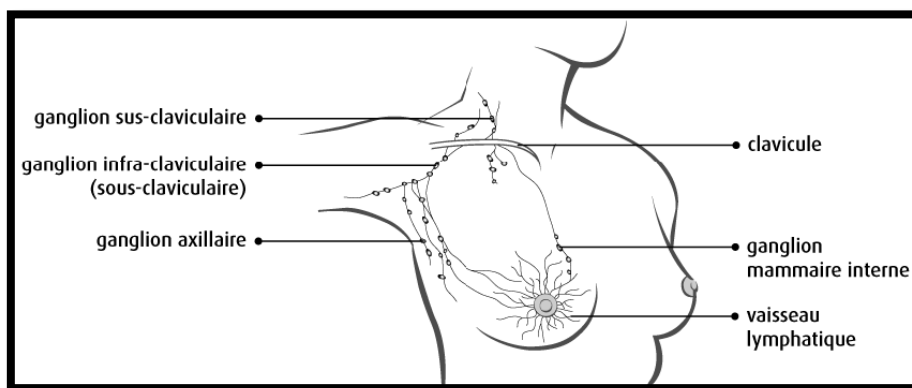
L'organe est innervé par des rameaux mammaires qui proviennent des nerfs intercostaux et qui convergent vers la plaque aréolo-mamelonnaire. Il est richement vascularisé et son irrigation provient de trois sources : artères thoracique interne (mammaire interne), artère axillaire et les artères intercostales dorsales et ventrales. Son drainage veineux quant à lui est assuré par des réseaux veineux superficiels et profonds ([KHAN et al. 2019](#)).



**Figure N°01** : Coupe transversale du sein et sa structure glandulaire ([NETTER, 2009](#))

Le système lymphatique du sein via ses vaisseaux, s'occupe d'éliminer les déchets, les cellules mortes et autres débris en les acheminant vers les ganglions lymphatiques qui sont au nombre de 35 répartis de manière variable autour de chaque sein. Ils sont groupés comme suit (**Figure N°02**) :

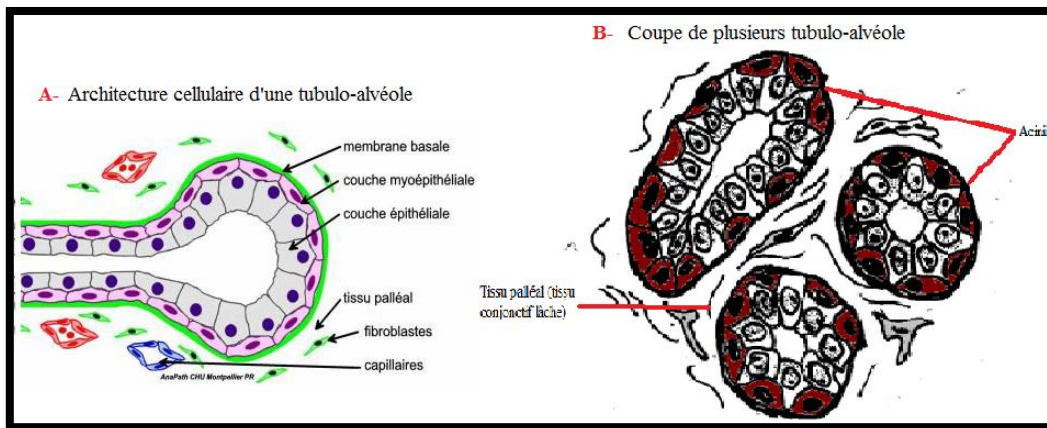
- Ganglions axillaires (sous le bras) ;
- Ganglions sus-claviculaires (sur la clavicule) ;
- Ganglions sous claviculaires (sous la clavicule) ;
- Ganglions mammaires internes (derrière le sternum, à l'intérieur du thorax) ([KHAN et al., 2019](#)).



**Figure N°02** : Structure des ganglions lymphatiques du sein  
([OLIVIER et al., 2006](#))

## 1-2 Histologie

Le sein est un dérivé ectodermique de composition très hétérogène. La structure canalaire ainsi que la structure glandulaire, dont la plus petite unité est représentée par les acini, présentent une double assise cellulaire (**Figure N°03-A**). Le tissu conjonctif, quant à lui, se différencie en deux parties au moment de la puberté, le tissu interstitiel banal (tissu conjonctif inter-lobulaire) : il constitue le support des lobes et comporte de nombreux adipocytes et le tissu palléal (tissu conjonctif intra-lobulaire) (**Figure N° 3-B**) : c'est un tissu conjonctif lâche, pauvre en adipocytes et sensible aux modifications hormonales (spécialisé).

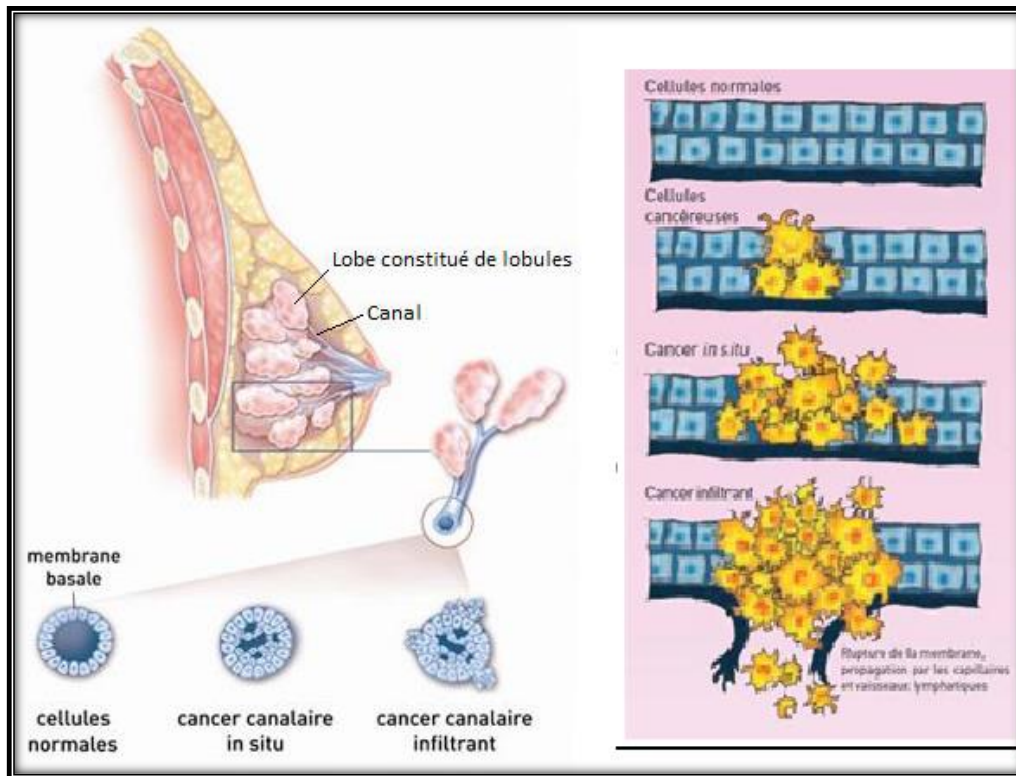


**Figure N° 03 :** Structure des acini mammaires (VISVADER, 2009) (Modifiée).

## 2-Définition du cancer du sein

Le cancer du sein ou « carcinome mammaire » se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'il s'agisse des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire » ou de celles des lobules « carcinome lobulaire », on parle « d'Adénocarcinome » c'est-à-dire d'un cancer du tissu glandulaire. Le carcinome peut être « *in situ* » ou « infiltrant » selon qu'il y est ou non effraction de la membrane basale et possède ou non un potentiel métastatique.

Moins souvent (moins de 10% des cas de tumeur du sein), la tumeur se développe dans le tissu conjonctif du sein. On parle alors de cancer non glandulaire ou « sarcome Phyllode ». Ces différents types histologiques sont représentés dans la **Figure N°04**.



**Figure N°04 :** Les types histologiques de cancer du sein et de leur évolution (INCa, 2016)

### 3- Classification

Vu l'hétérogénéité du cancer, la décision thérapeutique est conditionnée par le type, les caractéristiques et le grade du cancer. De ce fait, plusieurs classifications sont apparues dans le but de toujours mieux cibler la thérapie. Les plus utilisées sont au nombre de trois :

#### 3-1 Classification histologique des cancers du sein selon l'OMS 2002-2003

Cette classification est essentiellement basée sur l'aspect histologique des cellules cancéreuses vues sous microscope (voir annexe I). De manière générale on distingue :

- Les tumeurs épithéliales non infiltrantes (*in situ*) ;
- Les tumeurs épithéliales infiltrantes (invasives).

### 3-2 La classification pTNM (2017, 8<sup>ème</sup> édition)

La classification pathologique TNM est un système reconnu internationalement, il décrit l'extension d'une tumeur maligne à un moment donné dans un organe particulier (ABDOU *et al.*, 2017).

Cette classification a été mise à jour pour la dernière fois en 2017 par l'UICC (Union International Contre le Cancer). Elle prend en compte trois critères : T : *Tumor* (taille et extension de la tumeur), N : *Nodes* (envahissement ganglionnaire), M : *Metastasis* (présence de métastases à distance) (BRIERYL *et al.*, 2017).

#### **-Extension de la tumeur T1-T4**

Ce paramètre prend en compte la taille de la tumeur, mais pas seulement. Aujourd'hui l'extension aux tissus adjacents est également prise en considération.

Dans le cas du cancer du sein par exemple, une taille tumorale de 3 cm sans infiltration est classée p T2, alors qu'une tumeur de même taille qui infiltre directement la peau ou la paroi thoracique est classée p T4.

#### **-Extension dans les ganglions N0-N3**

La classification de l'envahissement ganglionnaire prend en compte le nombre de ganglions envahis, mais également la localisation de cet envahissement (la chaîne ganglionnaire).

Pour l'exemple du sein, 05 ganglions axillaires atteints classe la tumeur en p N2a, alors que l'envahissement d'un seul ganglion de la région infraclaviaire (relai ganglionnaire suivant) la classera en p N3a.

#### **-Métastases à distance M0-M1**

M0 : pas de métastases ;

M1 : présence de métastases à distance.

Les détails de classification TNM 8<sup>e</sup> édition sont donnés dans l'annexe II.

### 3-3 Classification SBR : (Score de Scarff, Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis)

Cette classification permet de déterminer un indice d'activité proliférative à l'aide d'un grade histopronostique SBR noté de 1 à 3. Cette activité proliférative est estimée par trois critères histologiques (HERON, 2010) (**Tableau I**) :

- Architecture tumorale : la cellule devient indifférenciée, perd progressivement sa fonction d'origine et son apparence. Plus elle est indifférenciée, plus elle est agressive.
- Anisonucléose (Polymorphisme des noyaux cellulaires).
- Activité mitotique

**Tableau I** : Les trois critères histologiques utilisés pour le grading SBR.

Critères histologiques	Note 1	Note 3
Architecture	Tumeur riche en structures bien formées et différenciées.	Tumeur riche en structures ayant changé de forme et indifférenciées
Noyaux (anisonucléose)	Petits et uniformes	Gros avec des formes variables.
Activité mitotique	Division lente et faible, faible nombre de mitoses.	Division rapide, nombre important de mitoses.

Le grade histopronostique d'une tumeur correspond à la somme des notes obtenues pour les trois critères. Le score global est classé en trois grades I, II, III. (**Tableau II**).

**Tableau II** : Les trois grades SBR et de leurs pronostics.

Grades	Score total	Pronostic
I	3 à 5	Tumeurs les moins agressives
II	6 et 7	Tumeurs moyennement agressives
III	8 et 9	Tumeurs les plus agressives

## 4- Epidémiologie

Le cancer du sein occupe le premier rang en termes d'incidence à l'échelle du globe avec 2,2 millions de cas recensés en 2020. Il représente également la première cause de mortalité féminine par cancer dans le monde. En effet, près de 685 000 femmes sont mortes du cancer du sein cette même année [OMS \(2020\)](#). Selon cette même source, environ 1 femme sur 12 risque de développer un cancer mammaire au cours de sa vie.

Aux États-Unis, environ 246 660 nouveaux cas de cancer du sein ont été diagnostiqués en 2016 et 40 450 femmes en seraient mortes ([SIEGEL et al., 2016](#)).

En France, 54 062 nouveaux cas ont été enregistrés en 2015 avec une mortalité de 12 492 ([LEONE et al., 2015](#)).

Le taux de survie à moins 5 ans après le diagnostic varie considérablement selon les pays. En effet, ce taux frôle les 90 % dans les pays à revenu élevé tel que la France ou le Canada et n'est que d'environ 40% pour les pays Africains [OMS \(2020\)](#).

En Algérie, une tendance défavorable de l'incidence du cancer du sein a été observée entre 1996 et 2019 ([RAIAH et al., 2022](#)). Le cancer du sein est également devenu un véritable problème de santé publique et vient en première position des cancers les plus fréquents chez la femme avec 14000 nouveaux cas enregistrés chaque année, dont un taux important apparaît avant l'âge de 40 ans, contrairement au pays occidentaux où le cancer mammaire apparaît après l'âge de 60 ans et plus ([HAMDİ CHERIF et al., 2020](#)).

Des enquêtes nationales approfondies et une attention particulière devraient être entreprises pour comprendre les facteurs de risque pouvant expliquer cette survenue précoce des cancers du sein chez les femmes algériennes.

Depuis les années 2000, la mortalité est en diminution particulièrement dans les pays développés et ce grâce à des diagnostics plus précoces, une meilleure prise en charge thérapeutique en plus de la diminution des prescriptions des traitements substitutifs de la ménopause ([MERIAUX et al., 2014](#)).

## 5- Facteurs de risque

Parmi les facteurs de risques les plus incriminés, nous avons :

**5-1 Sexe** : le cancer du sein présente une prédominance féminine. Il touche donc essentiellement les femmes. En effet, seulement 1% d'hommes sont concernés (INCa, 2016).

**5-2 Âge** : la probabilité de développer un cancer du sein augmente avec l'âge. Le jeune âge (inférieur à 35 ans) est un facteur de mauvais pronostic indépendant car la majorité des patientes présentent des tumeurs triples négatives et ne peuvent donc bénéficier d'aucune thérapie ciblée. En effet, une étude de CANCELLO et son équipe (2002) effectuée sur 2970 patientes montre que les patientes âgées de moins de 35 ans présentaient plutôt des tumeurs triples négatives. Cependant le cancer du sein est plus rare avant 30 ans.

**5-3 Prédisposition génétique** : seul 5 à 10% des cancers du sein sont d'origine génétique (STRATTON *et al.*, 2008). 80% des cas seraient liés à des altérations du gène suppresseur de tumeur BRCA1 (BRCA1) localisé sur le chromosome 17 codant une protéine de 1863 acides aminés et 15% à l'altération de BRCA2 localisé sur le chromosome 13 codant une protéine de 3418 acides aminés. La mutation d'un seul des allèles d'un de ces deux gènes augmente le risque du cancer du sein.

**5-4 Imprégnation oestrogénique** : Les études épidémiologiques ont clairement montré une association entre les facteurs hormonaux, la vie reproductive et le risque de développer un cancer du sein (MOMENIMOVAHED *et al.*, 2019). Une puberté précoce, une ménopause tardive augmentent le risque du cancer du sein (CLAVEL CHAPELON *et al.*, 2002). Ces deux facteurs sont liés au nombre de cycles menstruels vécus par une femme et donc à la stimulation des seins par les œstrogènes à chaque cycle.

Selon une étude récente, l'âge de la ménarche et de la thélarche sont des facteurs importants. En effet, un développement précoce des seins (moins de 10 ans) au lieu de 12 à 13 ans est associé à un risque 23% plus élevé de cancer du sein. Une ménarche précoce (avant 12 ans) est associée à une augmentation de 10% du risque de cancer du sein. Une combinaison d'une thélarche précoce et d'une ménarche précoce est associée à une augmentation de 30% du risque (GOLDBERG *et al.*, 2020).

Les femmes ayant eu au moins une grossesse à terme ont moins de risque de développer un cancer du sein que les femmes nullipares. Cette diminution du risque est due à la différenciation des lobules qui passent du stade Lob 1 au stade Lob 4 (différenciés) perdant alors leur capacité proliférative. Donc plus le nombre de grossesses est élevé plus il y a diminution du risque du cancer du sein (HINKULA *et al.*, 2001). Toutefois, l'âge de la première grossesse est également important. Les femmes accouchant après l'âge de trente ans ont un risque cinq fois plus élevé que celles accouchant avant l'âge de vingt ans, car c'est le premier accouchement qui induit la différenciation et la perte de la capacité proliférative des lobules qui ont donc moins tendance à développer des mutations. Donc, plus tard, les seins atteignent leur maturité plus ils sont susceptibles de développer un cancer.

L'allaitement offre un effet protecteur additionnel significatif contre le cancer du sein. En effet, ce dernier est un facteur différenciant des cellules mammaires et ce en plus du niveau d'œstrogène faible pendant cette période qui réduit la durée d'exposition de la glande mammaire à l'œstradiol (MOMENIMOVAHED *et al.*, 2019).

L'avortement pourrait être un facteur de risque. L'hypothèse étant que l'épithélium canalaire et glandulaire mammaire laissé en état de prolifération (augmentation du nombre de cellules indifférenciées en début de grossesse sous l'action des œstrogènes) serait plus sensible aux carcinogènes (MOMENIMOVAHED *et al.*, 2019).

**5-5 Facteurs environnementaux** : Il est clair que le risque de développer un cancer du sein est influencé par l'environnement et le mode de vie (EL FOUHI *et al.* 2020). Nous pouvons citer :

- **La sédentarité** est un facteur de risque. En effet, l'activité physique et le risque de cancer du sein sont inversement corrélés. La protection serait proportionnelle à l'intensité et la fréquence des exercices (MONNINKHOF *et al.*, 2007). Selon une étude américaine récente, présentée lors de la conférence de l'*American Association for Cancer Research* (AACR), un niveau élevé de masse corporelle augmente le risque de développer un cancer du sein invasif malgré un IMC (Indice de masse corporelle) normal particulièrement chez les femmes ménopausées (Anonyme 3). Pour chaque augmentation de cinq kilogrammes de graisse, le risque de cancer du sein RE+ (Récepteurs d'œstrogènes) augmente de 35% malgré un IMC normal, rapporte l'étude ». D'ailleurs, l'un des objectifs du Plan Cancer 2014-2019, recommande de pratiquer une activité physique à toute âge pour réduire le risque de survenu du cancer.

- **L'alimentation** influence également. La consommation de sucreries, de viande, en particulier rouge et de matières grasses insaturées est un facteur potentiellement aggravant à l'inverse des fruits et légumes et des huiles (olives, tournesol, arachide...). Cela concorde avec l'impact de l'obésité, sans doute en raison de la production supérieure d'hormones par le tissu adipeux (DANDAMUDI et al., 2018). L'augmentation du risque avec la consommation d'alcool est due au fait que ce dernier augmente le niveau des facteurs de croissance circulants l'*Insulin-like Growth Factor* (IGF) et allonge la demi-vie de l'œstradiol (FEIGELSON et al., 2011).  
Une étude suédoise a révélé qu'une consommation excessive (2 portions ou plus de lait par jour) à long terme est associée à un sur-risque de 30% de cancer du sein RH positifs (KALUZA et al., 2020).
- **Le travail nocturne** : les études sont formelles, le travail de nuit favorise le cancer du sein chez la femme, en particulier chez celles ayant travaillé plus de 20 ans (BENABU et al., 2015). En effet, le travail de nuit entraîne des perturbations du rythme chronobiologique à l'origine de la sécrétion de la mélatonine, qui en plus de ses rôles protecteurs de l'ADN et antioxydant connus, aurait un rôle dans le blocage du développement tumoral. Des expériences *in vitro* sur des cellules cancéreuses et *in vivo* sur des souris génétiquement modifiées pour développer un cancer du sein ont démontré que les tumeurs étaient beaucoup plus petites quand les souris avaient reçu de la mélatonine. Le bénéfice de la supplémentation en mélatonine reste à évaluer (BENABU et al., 2015).
- Plusieurs **agents chimiques** sont considérés comme étant carcinogènes pour le sein : les organochlorés (DDT, dioxine...) sont des xénoestrogènes c'est à dire qu'ils ont une activité œstrogénique ou antiœstrogénique par la liaison aux RE, ils interfèrent donc avec les voies de signalisation des œstrogènes.
- Une étude rétrospective récente a mis le doigt sur un lien entre les maladies bénignes du sein et le risque de cancérisation. Les résultats ont révélé que le risque de cancer du sein était trois fois plus élevé chez les femmes qui présentent une maladie mammaire bénigne proliférative (ROMAN et al., 2020).
- Selon une étude réalisée aux Etats-Unis, l'exposition au soleil serait bénéfique et négativement corrélée à la mortalité par le cancer du sein. Il est donc supposé que la vitamine D jouerait un rôle protecteur (GUIGON, 2006). Cependant, des essais cliniques restent indispensables pour déterminer la dose de vitamine D qui jouerait un rôle protecteur (SHAO et al., 2012).

## 6- Les types de cancer du sein

Il est, depuis longtemps, admis que le cancer est une maladie des gènes. Ainsi, on distingue deux groupes de cancer du sein. Quand l'anomalie génétique est constitutionnelle il s'agit d'un cancer du sein familial héréditaire, si elle est somatique elle aboutit à un cancer du sein sporadique.

### 6-1 Cancer du sein familial héréditaire lié à BRCA1 et BRCA2

Le cancer héréditaire représente 5 à 10% des cas de cancer du sein (STRATTON *et al.*, 2008). Il est le résultat d'une mutation d'un des deux allèles d'un gène suppresseur de tumeur (BRCA1-BRCA2). Cette mutation est présente dans les cellules germinales des parents et se transmet sur un mode autosomique dominant. BRCA1 (chromosome 17) et BRCA2 (chromosome 13) sont des gènes codants des protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, la régulation négative du cycle cellulaire et l'apoptose, en plus de la suppression des tumeurs. Plus de 500 mutations ont été identifiées pour chacun d'eux. Elles entraînent une perte de la fonction de la protéine (COUCH *et al.*, 2002). La majorité des cancers héréditaires (80%) ne sont pas hormono-dépendants c'est-à-dire négatifs pour les récepteurs aux œstrogènes et récepteurs à la progestérone (RE et RP).

### 6-2 Cancer du sein sporadique

Les cancers sporadiques représentent la majorité des cas de cancer du sein. Ils sont généralement hormono-sensibles. Les cellules cancéreuses présentent alors des récepteurs hormonaux et leur prolifération est sous la dépendance des stimulations hormonales. Ce type de cancer est le résultat d'une accumulation d'altérations dans les gènes somatiques des cellules de la glande mammaire, sans implication des cellules germinales. C'est un cancer très hétérogène car il résulte de combinaisons d'altérations géniques diverses (altération des gènes suppresseurs de tumeurs, des gènes régulant l'apoptose ...etc.). Dans les cancers sporadiques, la positivité des récepteurs atteint les 70%. La formation de métastases a pour origine la dissémination des cellules cancéreuses à partir de la tumeur primaire infiltrante dans tout l'organisme via la circulation sanguine et/ou lymphatique. Des tumeurs secondaires apparaissent alors dans des tissus distants de la tumeur primaire (JULIEN *et al.*, 2004).

En général, dans 70 à 80% des cas, le développement métastatique débute par un envahissement des ganglions axillaires et s'étend par la suite vers le reste de l'organisme. Cette étape n'est cependant pas obligatoire, 20 à 30% des patientes présentant un cancer invasif présentent des

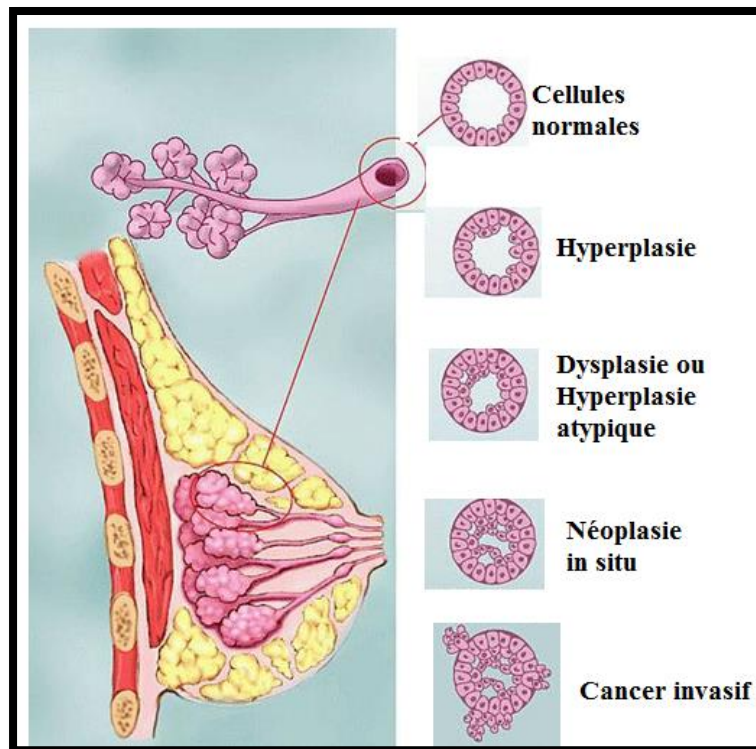
métastases distantes sans envahissement ganglionnaire. En plus des ganglions, les organes touchés par les métastases du cancer du sein sont les os (moelle osseuse), les poumons et le foie (KIM, 2021).

## 7- Cancérogénèse mammaire

La cancérogénèse mammaire est un phénomène multifactoriel, lent et progressif impliquant des anomalies de plusieurs gènes qui aboutissent à des altérations permettant aux cellules d'acquérir un pouvoir prolifératif transmis de la cellule mère aux cellules filles, favorisant donc la croissance clonale rapide.

Il existe des anomalies génétiques constitutionnelles dans les formes héréditaires et anomalies génétiques somatiques dans les formes sporadiques. Dans les deux cas, le processus passe par plusieurs stades anatomo-pathologiques (**Figure N° 05**).

Le premier stade est qualifié d'hyperplasie qui est un simple épaissement de l'épithélium concerné, due à une prolifération excessive de cellules qui gardent des rapports normaux ainsi que leur morphologie. Le second stade est la dysplasie ou hyperplasie atypique où les cellules proliférantes commencent à présenter des anomalies morphologiques. Le stade suivant est la néoplasie *in-situ* (stade pré-cancer) qui se caractérise par une prolifération de cellules ayant une désorganisation architecturale marquée et des anomalies nucléo-cytoplasmiques. Le dernier stade, le plus évolué est le cancer invasif où les cellules tumorales franchissent la membrane basale et envahissent les structures adjacentes (Mc SHERRY et al., 2007).

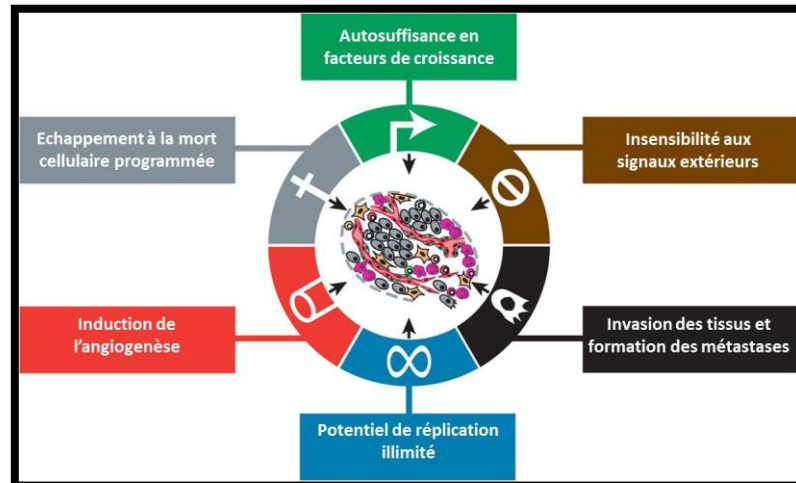


**Figure N°05 :** Evolution des stades anatomopathologiques du cancer du sein (Mc SHERRY *et al.*, 2007).

Ces diverses altérations génétiques confèrent aux cellules certaines capacités (HANAHAN *et al.*, 2011) (Figure N°06) :

- Insensibilité au rétrocontrôle et aux inhibiteurs physiologiques de la croissance cellulaire par inactivation du récepteur ou de la chaîne de transduction de signaux antiprolifératifs tels que TGF $\beta$  (*Transforming Growth Factor bêta*) qui a pour rôle le contrôle de la prolifération cellulaire et l'inactivation des mécanismes de contrôle du cycle cellulaire (altération des inhibiteurs de cdk (*cyclin-dependent kinase*, altération des protéines Rb, p53...etc.)
- Echappement à l'apoptose par expression anormale des protéines intervenant dans la mort cellulaire (P53 qui détecte les dommages cellulaires, surexpression de la protéine anti-apoptotique BCL2 (*B-Cell Leukemia protein 2*), expression anormale des protéines pro-apoptotiques BAX, BAK...etc.)
- Croissance exagérée indépendante des stimuli externes par surexpression d'un ou plusieurs maillons des chaînes de transduction des signaux mitogènes, la production autocrine des facteurs de croissance (boucle de rétrocontrôle positive) ainsi qu'une surexpression des récepteurs des facteurs de croissance avec induction de la production de ces facteurs par le stroma tumoral.

- Echappement au système immunitaire par répression de l'expression de la protéine FADD (*Fas Associated Death Domain*) impliquée dans la transduction des messages d'apoptose transmis par les récepteurs de mort cellulaire « Fas », l'induction de l'apoptose des effecteurs de l'immunité par expression des ligands des récepteurs de mort ainsi qu'une sécrétion de cytokines inhibant la réponse Th1 et une diminution de l'expression du CMH1.
- Immortalité cellulaire par surexpression du gène de la télomérase hTERT (*human Telomerase Revers Transcriptase*). Il y a donc réactivation de l'activité télomérase empêchant le raccourcissement des télomères. Les séquences répétées situées aux extrémités des chromosomes sont compensées par ajout de répétitions télomériques grâce à la télomérase, permettant aux cellules de proliférer indéfiniment.
- Néo-angiogenèse (Angiogenèse tumorale) par modification de l'équilibre entre activateurs et inhibiteurs de l'angiogenèse.
- Pouvoir envahissant et métastatique par modulation de l'expression des molécules d'adhésion intercellulaires (cadhérines) et d'adhésion à la matrice (intégrines) et sécrétion d'enzymes protéolytiques capables de dégrader la membrane basale et la matrice extracellulaire.



**Figure N°06 :** Les processus cellulaires impliqués dans la tumorigenèse (HANAHAN *et al.*, 2011).

## 8- Régulation et dysrégulation : rôle des récepteurs hormonaux et de l'oncogène HER2 dans le cancer du sein

### 8-1 Les récepteurs hormonaux (RE, RP)

La croissance des seins au moment de la puberté est sous l'influence des hormones stéroïdiennes notamment, l'œstrogène et la progestérone (GUPTA *et al.*, 2006). Ces dernières agissent via des voies de signalisation cellulaires suite à leur fixation sur leurs récepteurs nucléaires, respectivement récepteur à l'œstrogène (RE) et récepteur à la progestérone (RP). Cette fixation influence de manière directe ou indirecte sur l'expression de certains gènes.

Ces hormones et plus particulièrement les œstrogènes modifient le contrôle du cycle cellulaire en diminuant l'action apoptotique et en augmentant la prolifération cellulaire (YAGER *et al.*, 2006).

La majorité des cancers du sein sont hormono-dépendants avec une prédominance dans les cancers sporadiques. A ce niveau, des RE et RP sont exprimés dans les cellules cancéreuses. La prolifération de ces dernières est donc stimulée par l'imprégnation hormonale (CLARK *et al.*, 2004). L'évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux dans les cancers mammaires invasifs est systématique depuis plus de trente ans (HAMMOND *et al.*, 2010).

#### 8-1-1 Influence des hormones stéroïdiennes sur le cancer du sein héréditaire

Sur le plan biologique, de multiples interactions entre le gène BRCA1 et les œstrogènes ont été mises en évidence. Dans les conditions normales nous avons :

- Les œstrogènes induisent la prolifération cellulaire mais également l'expression de BRCA1 qui corrige les erreurs du génome liées à la prolifération (BRETTESS *et al.*, 2007) ;
- BRCA1 bloque le RE en inhibant la synthèse de l'isoforme RE $\alpha$  responsable de la prolifération cellulaire (BRETTESS *et al.*, 2007) ;
- Une des fonctions essentielles de BRCA1 pourrait être de protéger le sein durant la puberté et la grossesse contre l'instabilité génétique secondaire à la prolifération induite par les œstrogènes. En effet l'augmentation du taux d'œstrogènes induit une augmentation de la transcription de BRCA (MAUDELONDE *et al.*, 2007).

La protéine BCRA1 normale s'oppose donc à l'effet mitogène des œstrogènes, en plus de réparer les lésions de l'ADN.

Une mutation de BRCA1 avec perte de la fonction de sa protéine implique :

- Une perte du contrôle de la synthèse RE $\alpha$  et de son inhibition ;
- Une perte de la protection du sein contre l'instabilité génomique induite par les œstrogènes et leurs effets mutagènes ;
- Perte de la propriété de réparation de l'ADN, rendant les cellules plus sensibles aux effets mutagènes indirects ou directs des œstrogènes (effet promoteur). Cet effet promoteur est médié par le rôle initiateur que peuvent avoir les œstrogènes en provoquant des lésions directes sur l'ADN via leurs métabolites appelés adduits de l'ADN (MARTIN *et al.*, 2007).

#### *8-1-2 influences des hormones stéroïdiennes sur le cancer du sein sporadique*

Les mécanismes d'action de ces hormones et de leurs récepteurs dans la carcinogénèse mammaire ne sont pas encore bien élucidés. Cependant, plusieurs hypothèses sont émises :

- Augmentation de la production d'œstrogènes dans les cellules cancéreuses et le tissu adipeux qui entoure la tumeur par augmentation de l'activité aromatase provoquée par des facteurs sécrétés par les cellules tumorales ou inflammatoires (facteurs de croissance, prostaglandines...) (BRETTEES *et al.*, 2007). Globalement, ces œstrogènes agissent en raccourcissant la durée de la phase G1 c'est à dire en accélérant l'entrée des cellules en phase S, ce qui entrave le processus de réparation ;
- Surexpression du RE $\alpha$  suite à une mutation augmentant ainsi la sensibilité aux œstrogènes (HOPP *et al.*, 2002) ;
- Surexpression d'un coactivateur ou sous-expression d'un corépresseur du RE dérégulant ainsi son activité (MURPHY *et al.*, 2003) ;
- Augmentation du ratio RE $\alpha$ /RE $\beta$  par diminution de l'expression du RE $\beta$  lors des étapes précoces de la tumorigénèse. Le RE $\beta$  étant un dominant négatif du RE $\alpha$ , sa diminution entraîne l'augmentation de l'activité proliférative dont est responsable le RE $\alpha$ . Cette dérégulation est due au fait que la cellule cancéreuse produit ses propres RE $\alpha$  (régulation autocrine) (BRETTEES *et al.*, 2007) ;

- RE $\alpha$  couplé aux œstrogènes stimule la prolifération cellulaire via la modulation de l'expression des régulateurs du cycle cellulaire tel que Kinase cycline-dépendantes, cycline D1, C-Myc...etc. (REID *et al.*, 2005) ;
- Les œstrogènes présentent un effet prolifératif sur les cellules de la glande mammaire. Ces dernières étant soumises à une prolifération cyclique lors du cycle mensuel, augmente le risque d'erreur lors de la réplication de l'ADN (CLARK *et al.*, 2004). Lorsque ces mutations ont lieu dans les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, la prolifération cellulaire ou l'apoptose, le processus tumoral est enclenché ;
- L'acide gras synthase est une enzyme surexprimée dans le cancer du sein. Elle est induite par les progestatifs, plusieurs facteurs de croissance et produits d'oncogènes tels que Neu/HER2. Cette enzyme facilite la croissance tumorale et son inhibition stimule l'apoptose des cellules cancéreuses ;
- Dans les cancers du sein il y a surexpression du RPA et donc dérégulation du ratio RPA/RPB. Cette surexpression entraîne un changement morphologique cellulaire et une perte de l'inhibition de contact (JACOBSON *et al.*, 2003).

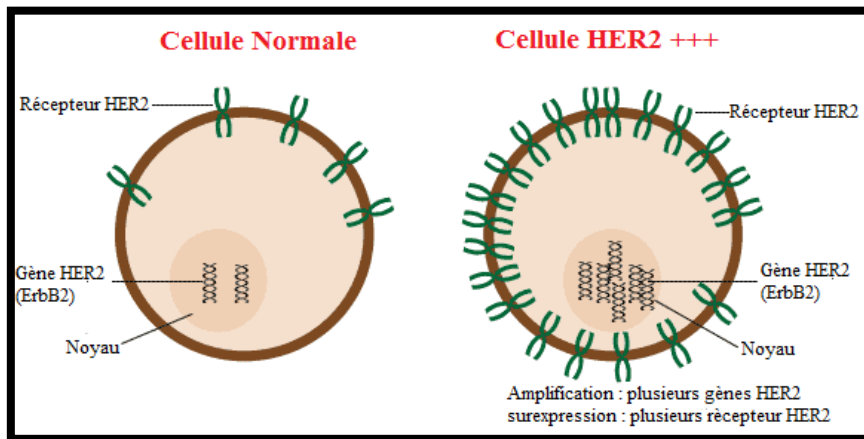
## 8-2-Oncogène HER2

Le gène (HER2) *Human Epidermal growth factor 2* a été identifié pour la première fois en 1981, suivi de la découverte du récepteur HER2 localisé à la surface des cellules en 1987. C'est également en 1987 que SLAMON décrit son importance biologique dans le cancer du sein (BARTLETT *et al.*, 2003). En 1998, la thérapie ciblée voit le jour avec l'apparition de l'herceptine qui est un anticorps murin humanisé anti-HER2.

### 8-2-1 Description du proto-oncogène HER2 et des mécanismes de son activation en oncogène

Le proto-oncogène HER2-neu situé sur le chromosome 17 code la protéine HER2 aussi appelé erbB2 en raison de sa similarité de séquence avec l'oncogène viral V-erbB2 (virus de l'érythroblastose aviaire) (MANNER *et al.*, 2004). Cette dernière est un composant normal exprimé par un grand nombre de cellules épithéliales. La transformation de ce proto-oncogène en un oncogène qui initie la survenue du cancer, se fait dans 95 % des cas par amplification génique, c'est-à-dire par une surexpression due à la production de plusieurs copies du gène (PEREZ, 1999) (Figure N°07). D'autres altérations génétiques peuvent être à l'origine de cette

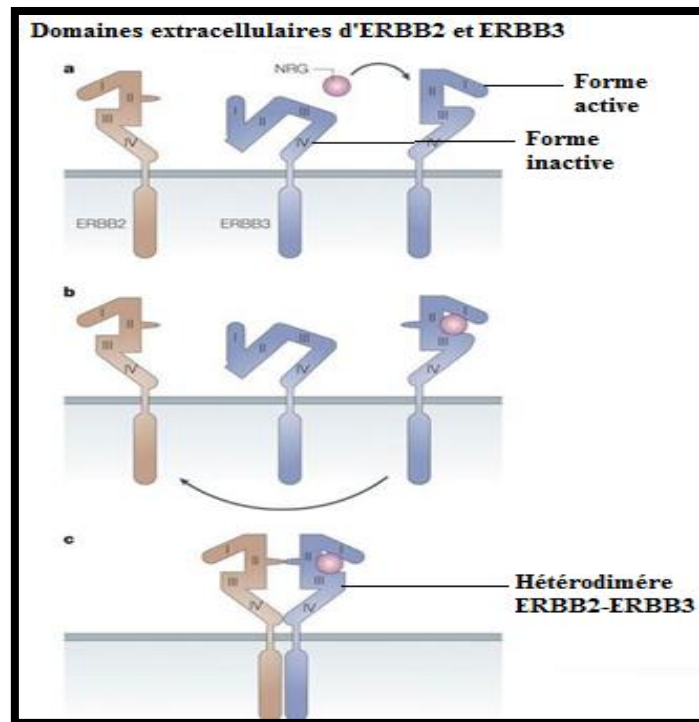
activation telle que la mutation du gène, altération au niveau transcriptionnel, troncation de la protéine...etc.



**Figure N°07 :** Différences d'expression du récepteur HER2 entre les cellules normales et les cellules cancéreuses (PENAULT-LLORCA *et al.*, 2004)

#### 8-2-2 Description du récepteur HER2, des mécanismes de son activation et signalisation intracellulaire

Le récepteur HER2 fait partie de la famille des EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*). Cette glycoprotéine de 185kDa possède 3 domaines : une région intracytoplasmique à activité tyrosine kinase, une région transmembranaire composée d'un segment lipophile qui permet l'ancrage du récepteur aux membranes cellulaires et une région extracellulaire composée de quatre sous unités (I-IV) liant le ligand (MAADI *et al.*, 2021). Cependant, aucun ligand ayant une grande affinité pour HER2 n'a été découvert (récepteur orphelin). De plus, la conformation de son domaine extracellulaire est fixe et ressemble à celle de l'état activé par le ligand (**Figure N°08.**) Son activation peut être alors expliquée par le fait qu'il soit le partenaire de choix dans les hétérodimères, il est donc transactivé par le ligand reconnu par l'autre sous unité (BURGESS *et al.*, 2003).



**Figure N°08** : Structure du récepteur HER2 (ErbB) (GARRETT *et al.*, 2002).

La région extracellulaire de chaque ERBB est composée de 4 domaines (I-IV). En l'absence de ligand, l'ERBB3 a une structure particulière (a). Quand les domaines I et III lient la neuréguline (NRG), le bras de dimérisation du domaine II est exposé (b) ce qui entraîne une réaction récepteur-récepteur (c). L'ERBB2 a une conformation fixe qui ressemble à l'état de l'ERBB3 activé par le ligand.

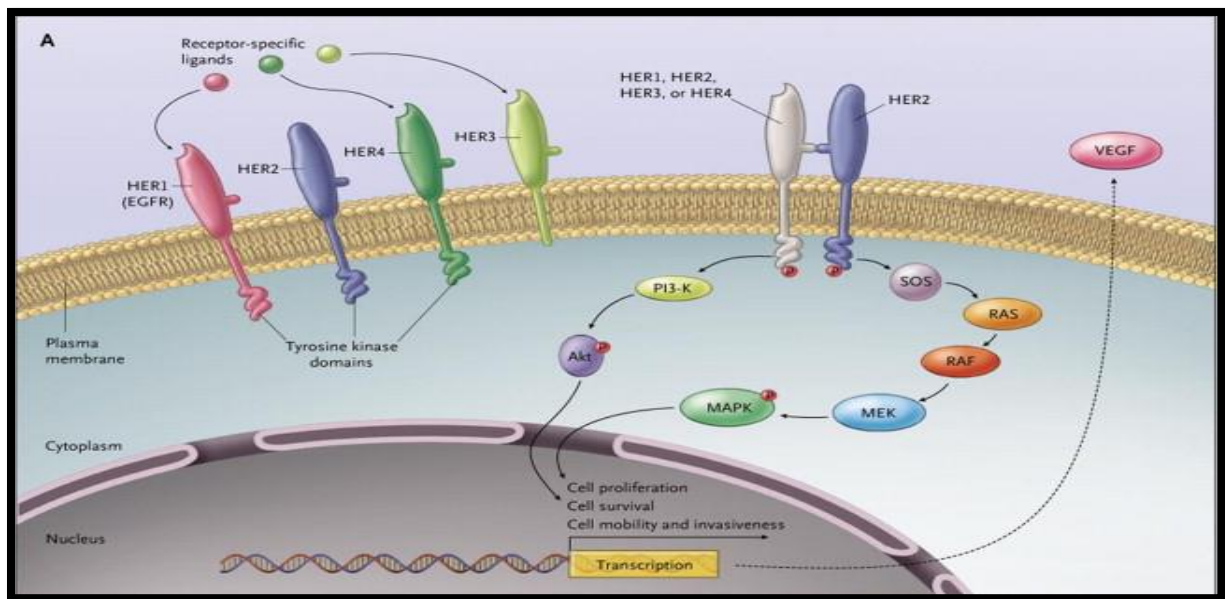
L'hétérodimérisation d'HER2 avec un autre récepteur de la famille ErbB est suivie d'une autophosphorylation des résidus tyrosine kinase. Les phosphotyrosines servent de site de reconnaissance pour des protéines intracellulaires à l'origine de l'activation des voies de signalisation. Les voies de signalisation activées sont la voie IP3Kinsae et la voie Ras/MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). Ces voies permettent d'activer des protéines impliquées dans la survie, la prolifération et la migration cellulaire, le pouvoir métastatique ainsi que l'angiogenèse (Figure N° 09) (MAADI *et al.*, 2021).

Les signaux transmis par le biais des hétérodimères contenant HER2 sont beaucoup plus puissants car HER2 diminue la vitesse de dissociation du ligand prolongeant ainsi la durée du signal d'une part et ralentit l'internalisation du complexe favorisant son recyclage à la surface cellulaire au lieu de sa dégradation d'autre part. Cela est dû à un couplage inefficace entre HER2 et la ligase Cbl-E3 qui permet la dégradation protéique dépendante de l'ubiquitine.

Les cancers du sein suréxprimant HER2 (HER2<sup>+</sup>) sont donc plus agressifs et ce par la formation de nombreux hétérodimères contenant HER2 dont découlent des signaux mitotiques très

puissants. Le test de la surexpression de la protéine HER2 est recommandé dans tous les cancers du sein invasifs car dans le cas où l'HER2 est positif, la patiente bénéficiera d'un traitement ciblé auquel nous reviendrons plus tard. La positivité de l'HER2 était donc de mauvais pronostic jusqu'à l'avènement de la thérapie anti-HER2 (WOLFF *et al.*, 2013).

Dans les cellules normales où HER2 est normalement exprimé (environ 10000 récepteurs par cellules), les hétéro-dimères contenant HER2 sont peu nombreux. Leur internalisation et leur dégradation par le protéasome est plus aisée, leurs signaux sont donc contrôlables et la croissance cellulaire est normale.



**Figure N°09 :** Les voies de signalisation intracellulaires médiées par HER2 (PINES *et al.*, 2010)

## 9-Traitements du cancer du sein

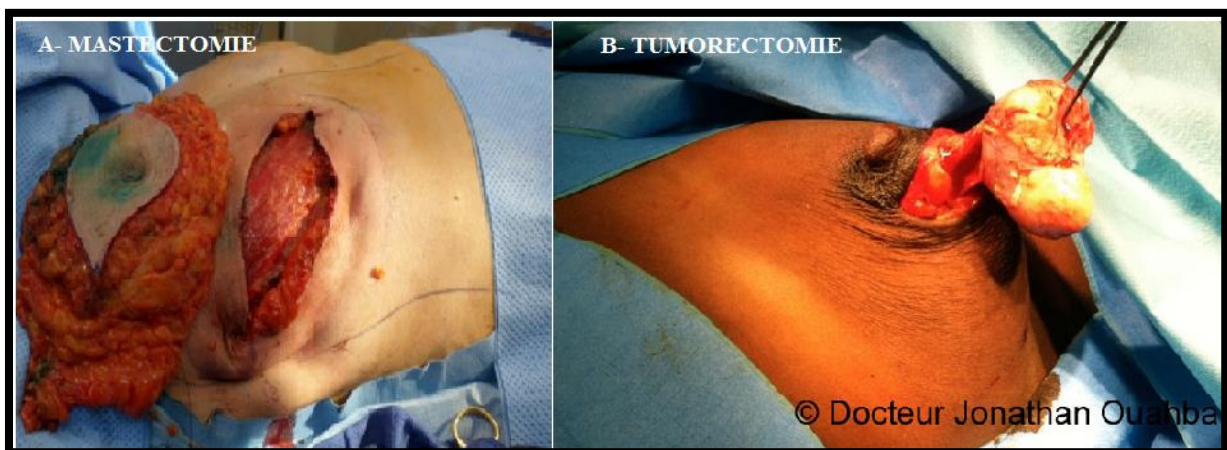
L'arsenal thérapeutique pour lutter contre le cancer du sein est efficace. En plus du traitement chirurgical local s'ajoutent des traitements néo-adjuvants (préopératoire) ou adjuvants (post opératoire) que sont la chimiothérapie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la thérapie ciblée, seule ou en association. Malgré leur bénéfice certain, ils engendrent de lourds effets secondaires.

### 9-1 La chirurgie

La chirurgie est en général la première ligne de prise en charge thérapeutique. Elle varie en fonction du stade et du potentiel évolutif de la tumeur.

Dans les cas les plus agressifs, on réalise une mastectomie radicale qui consiste en une ablation complète du sein, des muscles pectoraux avec curage axillaire systématique (**Figure N°10 A**). Cependant, on favorise des traitements de plus en plus conservateurs pour les cancers les moins avancés. On peut réaliser une mastectomie partielle qui consiste en l'exérèse d'une partie seulement de la glande mammaire avec une exploration par la procédure du ganglion sentinelle du creux axillaire afin d'éviter son évidement complet et ses conséquences potentiellement invalidantes.

Une tumorectomie peut également être réalisée (tumeur de petite taille  $\leq 2\text{cm}$ ). Elle consiste en une exérèse locale de la tumeur, en préservant au maximum la glande mammaire (**Figure N°10 B**) (MARIE, 2019).



**Figure N°10** : Photographie comparative entre la mastectomie et la tumorectomie

<https://ishh.fr/departments/chirurgie-oncologique-du-sein/>.

## 9-2 La Chimiothérapie

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus chimio-sensibles (SAGLIER *et al.*, 2003). La chimiothérapie peut être utilisée en situation néo-adjuvante pour réduire la taille de la tumeur et permettre ainsi un traitement chirurgical conservateur, en situation adjuvante ainsi qu'en situation métastatique.

Le principe de la chimiothérapie est d'empêcher la division des cellules engagées dans le cycle cellulaire. Les substances utilisées à cet effet sont capables d'endommager les cellules, elles sont dites cytotoxiques. Dans l'objectif de réduire les résistances précoces, la poly-

chimiothérapie est plus souvent utilisée par rapport à la mono-chimiothérapie (ARNAUD *et al.*, 2013).

Malgré l'efficacité de cette thérapie, sa non spécificité est un inconvénient majeur car les agents chimiothérapeutiques attaquent l'ensemble des cellules en division sans aucune distinction entre les cellules saines et les cellules tumorales. Elle présente donc de nombreux effets secondaires tels que l'alopécie, anémie, immunodépression, diarrhées et vomissements...etc.

Les principaux médicaments antimétabolites utilisés dans le cancer du sein sont :

- Les **Taxanes** qui stabilisent exagérément le fuseau mitotique empêchant ainsi les cellules de se séparer ;
- Les **Antracyclines** qui s'intercalent entre les brins d'ADN et inhibent l'activité de la topoisomérase II qui permet la fusion des brins préalable à leur réplication ;
- Les **Antimétabolites** qui inhibent la synthèse de l'ADN en bloquant l'activité de la thymidylate synthase dont le rôle est la biosynthèse de la thymidine.

Une méta analyse regroupant des essais randomisés sur l'usage de la chimiothérapie adjuvante a démontré que cette dernière pouvait réduire le risque de mortalité par cancer mammaire de 30 à 40% par rapport aux patientes sans chimiothérapie (PETO *et al.*, 2012). De nos jours, 60 à 70% des patientes atteintes de cancer du sein bénéficient systématiquement d'une chimiothérapie en post chirurgie (BENDIB, 2023).

### 9-3 La radiothérapie

La radiothérapie est un traitement locorégional utilisant des rayons ciblés pour détruire les cellules tumorales et ce en lésant leurs chromosomes ce qui bloque leur division et induit la mort cellulaire. Il existe deux types de radiothérapies :

- La radiothérapie externe : elle est réalisée par un accélérateur linéaire de particules (Rayons X ou électrons). La destruction des cellules cancéreuses se fait à travers la peau. Elle représente la technique la plus utilisée.
- La curiethérapie : elle utilise des rayonnements gamma délivrés par des sources radioactives placées dans la tumeur et à son voisinage (**Figure N°11**). Elle est utilisée pour des tumeurs accessibles et de petit volume.



**Figure N° 11** : Photographie représentative de la curiethérapie

<https://radiotherapie.webador.com/technique-en-radiotherapie-externe/curietherapie-1>.

La radiothérapie peut être préopératoire permettant la régression tumorale, mais le plus souvent elle est délivrée après la chirurgie, qu'elle soit conservatrice ou pas. Les sites irradiés peuvent être le sein opéré, le lit tumoral, les aires ganglionnaires (axillaires, sus-claviculaires, mammaires internes), la paroi thoracique et certaines localisations métastatiques (MOUSSEAU *et al.*, 2002). Le but de la radiothérapie est de limiter le risque de récurrence locale et régionale ainsi que la diminution du risque de métastases secondaires.

Il peut s'agir d'une IPS (Irradiation Partielle du sein) ou d'une ISE (Irradiation du Sein Entier). Dans ce domaine-là, une méta-analyse très récente incluant 9758 patientes a été réalisée en effectuant une recherche dans la base de données de MEDLINE (2005-2020). L'objectif est de comparer l'efficacité et la toxicité de l'IPS et de l'ISE en évaluant le taux de récurrence de la tumeur dans le sein ipsilatéral. L'étude a conclu que l'IPS n'est pas moins efficace que l'ISE, mais elle est moins toxique. De plus, le type d'IPS n'a eu aucun impact sur la conclusion de la méta-analyse, qu'elle soit faite en curiethérapie ou en radiothérapie externe (SHAH *et al.*, 2021).

#### **9-4 Hormonothérapie**

L'hormonothérapie est indiquée dès que la tumeur est positive pour les RH. Le but de l'hormonothérapie est de priver les cellules tumorales de cette influence hormonale inhibant ainsi la prolifération tumorale et/ou entraînant la mort des cellules cancéreuses. Il existe deux types d'hormonothérapie :

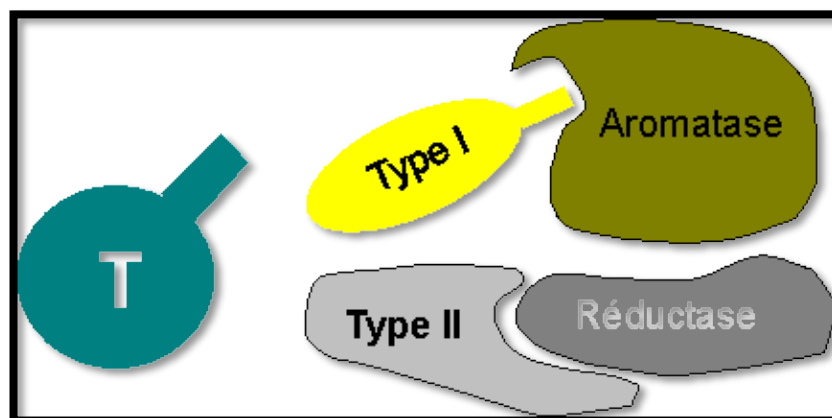
#### 9-4-1 Hormonothérapie suppressive

Il existe deux types d'hormonothérapie suppressive, selon que la femme soit ménopausée ou pas (SAGLIER *et al.*, 2003).

**Chez la femme non ménopausée**, la suppression de la production ovarienne d'œstrogènes peut se faire par castration irréversible (chirurgicale ou radiothérapique) ou par castration réversible (castration médicale) en utilisant des agonistes de la LH-RH (*Luteinizing Hormone Releasing Hormone* (ou GnRH : *Gonadotropin Releasing Hormone*) (JONES *et al.*, 2004). Ce sont des médicaments présentés sous forme galénique à libération prolongée tel que la **triptoreline (DECAPEPTYL®)**.

**Chez la femme ménopausée**, la suppression de la synthèse périphérique des œstrogènes (conversion des androgènes surrénaliens) se fait via des inhibiteurs de l'aromatase (anti-aromatases) qui représentent l'hormonothérapie de référence pour cette catégorie de patiente. En effet, plusieurs auteurs rapportent une bonne survie sans rechute avec une bonne survie globale (BLISS *et al.*, 2012).

Les anti-aromatases sont des médicaments qui entrent en compétition avec l'aromatase. **Les anti-aromatases de nature stéroïdienne** (type I) inhibent directement l'enzyme aromatase (exemestane AROMASINE®) alors que ceux **de nature non stéroïdienne** agissent sur le coenzyme du complexe enzymatique c'est-à-dire sur la réductase tel que l'**Anastozole (ARIMIDEX®)**. Dans les deux cas, l'androgène T (figure 12) ne sera pas converti en œstrogène.



**Figure N°12** : Représentation schématique de l'action des deux types d'anti-aromatase

#### 9-4-2 Hormonothérapie compétitive

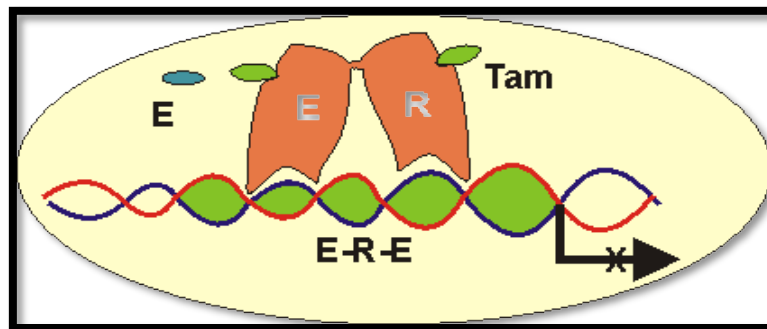
L'hormonothérapie compétitive repose sur l'utilisation d'anti-œstrogènes qui sont des inhibiteurs compétitifs des œstrogènes. Il existe deux types d'anti-œstrogènes :

- **Les anti-œstrogènes partiels** : SERM (*Selective Estrogen Receptor Modulator*) (modulateurs sélectifs des RE)

Leur mécanisme d'action est assez complexe et est dû à leur structure tridimensionnelle qui favorise un effet antagoniste dans la glande mammaire et les cellules tumorales. En effet, la molécule se lie au récepteur œstrogénique dans le cytoplasme, migre vers le noyau mais il n'y a pas de transcription comme dans le cas de fixation des œstrogènes (**figure N°13**).

Les SERM sont des agonistes-antagonistes, tissus et promoteurs spécifiques. En effet, le RE présente une fonction ligand-dépendante (inhibée par les SERM) et une fonction ligand-indépendante. Or les SERM activent cette dernière dans certains tissus et présentent ainsi, une activité œstrogénique sans fixation des œstrogènes. Cela dépend également de la quantité de coactivateurs et de corépresseurs présents dans le tissu (SHANG *et al.*, 2002). Cette activité agoniste est bénéfique dans l'os par exemple (préservation du capital osseux) mais néfaste dans l'utérus (augmentation du risque d'adénocarcinomes)

La molécule la plus utilisée est le **Tamoxifène** (NOLVADEX) : Il présente une affinité pour le RE équivalente à 2,5% de celle du 17 $\beta$ -œstradiol.



**Figure N° 13** : Mode d'action du Tamoxifène (DE CREMOUX *et al.*, 2004).

- **Les anti-œstrogènes totaux** : SERD (*Selective Estrogen Receptor Degradation*). Les anti-œstrogènes totaux sont des antagonistes pures à activité exclusivement antagoniste. Ils se fixent sur les RE avec une meilleure affinité que les anti-œstrogènes partiels. Cependant, ils ne permettent ni la dimérisation du récepteur ni sa translocation et bloquent même son recrutement au niveau des éléments de réponse aux œstrogènes (ERE) sur l'ADN. Cela est dû à l'instabilité du complexe « RE-anti-œstrogènes totaux »

qui est rapidement dégradé par le protéasome suite à sa polyubiquitinylation, diminuant ainsi le niveau de RE cellulaire (BERRY et al., 2008).

Ex : FASLODEX (ICI 182.780) : Il présente une affinité pour le RE équivalente à 89% de celle du 17β-œstradiol.

Il existe certains cancers hormono-dépendants résistants aux traitements hormonaux. Heureusement de nouvelles molécules ont été développées pour palier à ce problème. Parmi elles les inhibiteurs des CDK 4/6 (plabociclib, ribociclib, abemociclib), qui couplées à d'autres molécules tel que le fluvstrant ont abouti à un gain thérapeutique confirmé (LE DU et al., 2019).

### 9-5 Thérapie ciblée Anti HER2

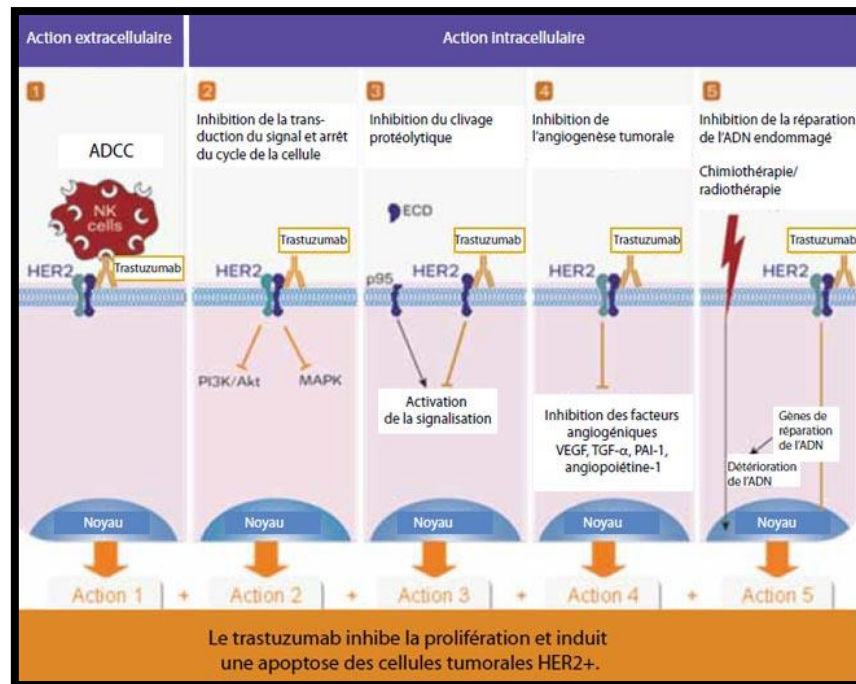
L'amplification du gène et donc de la surexpression du récepteur de facteur de croissance HER2 dans certains cancers du sein a conduit au développement d'un traitement ciblé. Différentes molécules sont utilisées telles que :

**-Le Trastuzumab (HERCEPTINE)** : Il s'agit d'un anticorps monoclonal murin de type IgG1 humanisé dirigé contre le domaine extracellulaire de HER2. Il a été approuvé par *United States Food and Drugs Administration* (FDA) en 1998. Initialement utilisé pour tous les types de cancer du sein HER2+, aujourd'hui il est plutôt prescrit dans ces types de tumeurs aux stades précoces conformément aux recommandations de la haute Autorité de Santé de l'Agence Européenne du médicament. Sinon en association avec d'autres molécules récemment découvertes, en cas de cancer métastatique ou localement récidivant (COTTU et al., 2020).

Les mécanismes les plus connus de son effet anti-tumoral sont (Figure N° 14) :

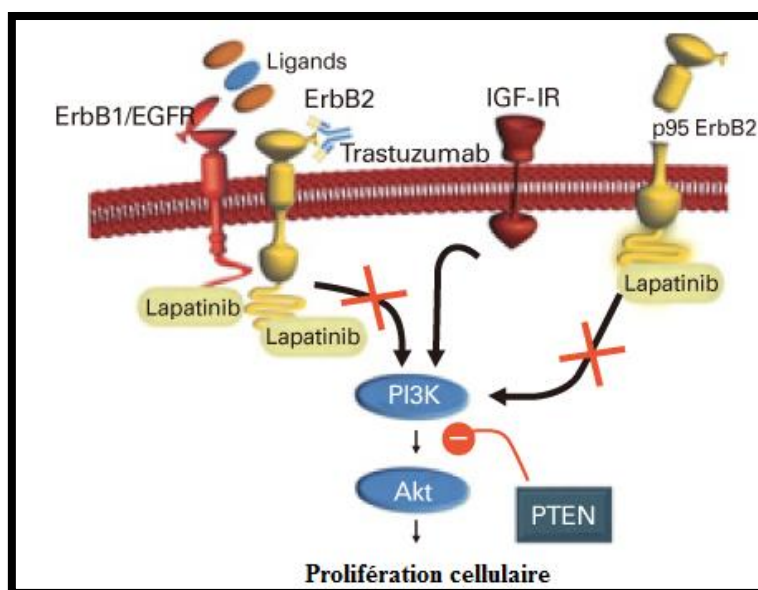
- Régulation négative de la synthèse du récepteur HER2 ;
- Interaction synergique avec des molécules cytotoxiques (sels de platine et les taxanes) (PEGRAM et al., 2004) ;
- Le trastuzumab favorise l'internalisation du complexe anticorps-récepteur, puis sa dégradation par le protéasome par la voie Cbl-E3 ligase en inhibant la dimérisation d'HER2 (VALABREGA et al., 2005) ;
- Propriétés très cytostatiques par inhibition de la voie de survie PI3K/AKT et de la voie de prolifération MAPK (SILWKOWSKI et al., 1999) ;
- Inhibition du clivage du domaine extracellulaire (MOLINA et al., 2001) ;

- Inhibition de l'angiogénèse par diminution des facteurs angiogéniques (VEGF, TGF- $\alpha$ ...) (IZUMI *et al.*, 2002) ;
- Inhibition des gènes de réparation de l'ADN (préalablement détériorés par chimiothérapie et/ou radiothérapie) ;



**Figure N°14 :** Mode d'action du Trastuzumab (Herceptine) (SINGER *et al.*, 2008).

**-Le Lapatinib :** Le Lapatinib est une petite molécule de la famille des 4 anilinoquiazoline qui inhibe l'activité tyrosine Kinase des récepteurs HER1 et HER2. Il agit sur plusieurs effecteurs intracellulaires, inhibe les signaux de prolifération en neutralisant la voie MAPkinase et les signaux de survie cellulaire en inhibant la voie PI3K /AKT (**Figure N°15**) (VOIGTLAENDER *et al.*, 2018).

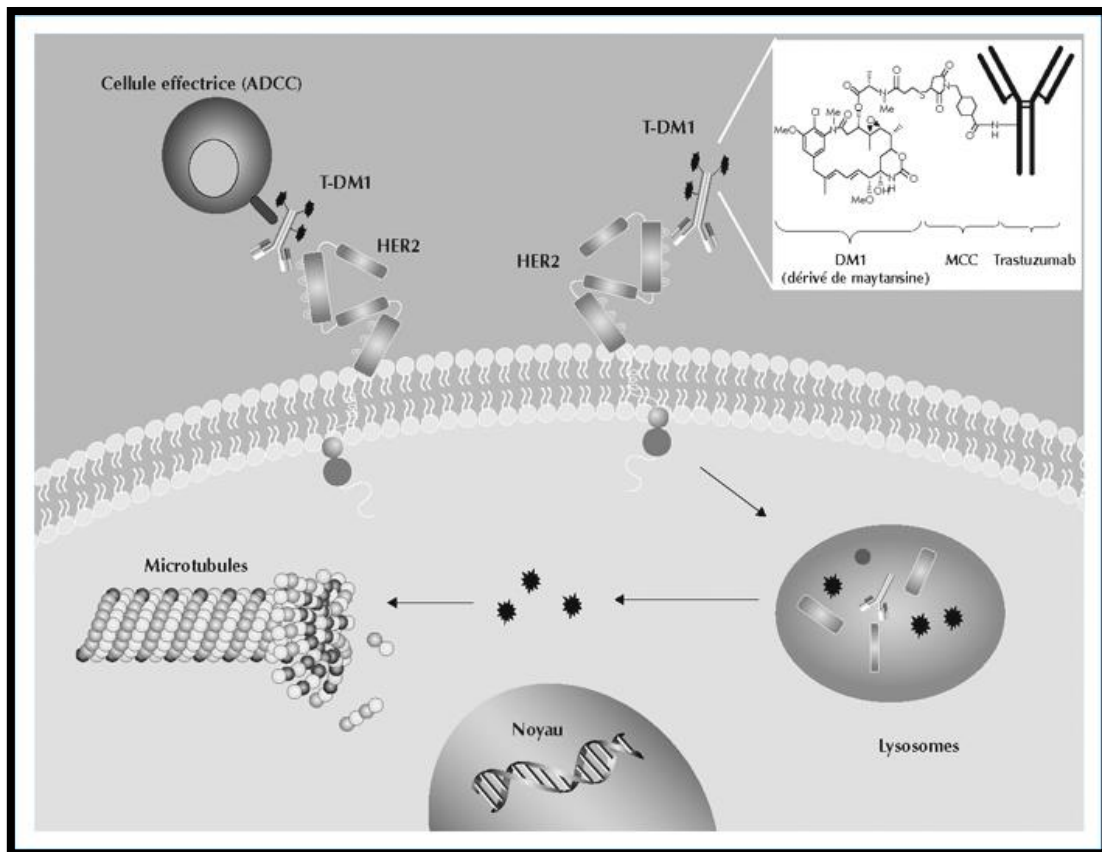


**Figure N°15** : Mode d'action du Lapatinib (VOGEL *et al.*, 2010)

**-Trastuzumab emtansine T-DM1 (KADCYLA)** : Le trastuzumab emtansine (T-DM1) approuvé en 2013, est une combinaison de deux molécules (médicament conjugué) : le Trastuzumab et le DM1 dérivé de la maytansine lié par une liaison thioéther stable MCC (N-maleimidomethyl cyclohexane-1-carboxylate). Le trastuzumab est donc l'anticorps monoclonal humanisé dirigé contre HER2. Il conserve l'intégrité de ses mécanismes anticancéreux malgré sa conjugaison à DM1.

Le DM1 est un puissant agent cytotoxique dont le mécanisme d'action consiste à inhiber la polymérisation de la tubuline provoquant la mort cellulaire. La toxicité de DM1 est plusieurs fois supérieure à celle des agents de chimiothérapie. De plus, après plusieurs cycles de traitements, aucune accumulation de TDM1 n'a été observée (HUNTER *et al.*, 2020).

La séquence thioéther MCC est stable dans la circulation et ne se désintègre qu'après dégradation lysosomale. En bref, l'anticorps se fixe sur le récepteur HER2 des cellules tumorales puis le complexe TDM1-HER2 est endocyté. Cette internalisation est suivie de la libération d'enzymes protéolytiques qui, avec l'environnement acide du compartiment lysosomal, induisent la dégradation de la liaison MCC et donc la libération de DM1 dont l'action anti-microtubulaire induit la mort de la cellule cancéreuse (Figure N° 16) (ERICKSON *et al.*, 2006).



**Figure N° 16 :** Mode d'action du Trastuzumab emtansine (T-DM1) (VACHER *et al.*, 2012)

Le T-DM1 est généralement prescrit en cas de cancer HER2+ métastatique ou localement avancé (COTTU *et al.*, 2020).

Cette molécule a fait l'objet d'un essai clinique de grande envergure, des travaux ont montré que le groupe T-DM1, comparativement au groupe Trastuzumab a obtenu une amélioration de 50% de la survie sans maladie et un risque 40% plus faible de récurrences à long terme. Suite à ces résultats, l'ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) a ajouté une recommandation en 2020, en modifiant la pratique courante et en appelant à administrer du T-DM1 en cas de maladie résiduelle chez les patientes souffrant de cancer du sein précoce après avoir terminé une chimiothérapie préopératoire standard et un traitement ciblant l'HER2 (DENDULURI *et al.*, 2020).

**-Pertuzumab (PERJETA) :** Le pertuzumab est un anticorps humanisé recombinant qui cible spécifiquement le domaine de dimérisation extracellulaire (sous domaine II) du récepteur HER2. Cela induit un blocage de l'hétérodimérisation ligand-dépendante avec les autres

récepteurs HER (HER3, HER4...). Le pertuzumab permet donc d'inhiber l'activation des voies de signalisation ligand-dépendante entraînant un arrêt de la prolifération cellulaire et l'apoptose. Initialement, Le pertuzumab faisait partie uniquement de l'arsenal thérapeutique des cancers HER2+ au stade métastatique, en accord avec les recommandations Européennes de 2017 (COTTU *et al.*, 2020).

Plus récemment, la molécule a obtenu une nouvelle autorisation de mise sur le marché (AMM) Européenne, en association au Trastuzumab et à une chimiothérapie dans les traitements adjuvants des cancers HER2+ précoces à haut risque de récurrence (TESCH *et al.*, 2020).

L'importance des nouvelles thérapies qui ont été récemment autorisées a été évaluée par une étude américaine menée sur plusieurs années de 2000 à 2016. Cette dernière a prouvé une nette réduction de la mortalité grâce aux nouvelles molécules. Dans le cas du cancer du sein le nombre de décès évité était de 127874 ( $P < 0,001$ ) (MAC EWAN *et al.*, 2020).

## 9-6 Traitement du cancer du sein type basal (triple négatif)

Une étude suédoise a été publiée dans la revue *Nature Medecine* en 2018. Les chercheurs se sont penchés sur une nouvelle stratégie de prise en charge des cancers de type basal dits également triples négatifs. En effet, ces derniers représentent 10 à 15% des cancers du sein et sont plus agressifs car insensibles à l'hormonothérapie et à la thérapie ciblée anti-HER2.

La base du traitement repose sur la communication entre les cellules cancéreuses et le tissu conjonctif qui entoure la tumeur. En effet, un facteur de croissance PDGF-CC qui transmet l'information entre les cellules tumorales et les cellules du tissu conjonctif a été mis en évidence à un niveau élevé dans les cellules tumorales. Ce dernier a été associé à un mauvais pronostic. Les modèles expérimentaux ont donc porté sur l'inhibition du facteur de croissance PDGF-CC via un médicament. Suite à cette inhibition, le cancer du sein triple négatif est devenu sensible aux traitements hormonaux (ROSWALL *et al.*, 2018).

Les immunothérapies sont également en cours d'étude telles que : les anticorps anti-HER1, les anti-VEGF (bévacizumab)..., ces derniers sont également à l'étude associés à des protocoles de chimiothérapie (PASSILDAS, 2019).

Une nouvelle stratégie thérapeutique contre les cancers réfractaires de type basal est également en cours d'étude et a reçu l'approbation de la FDA pour une première phase d'essai clinique en 2021. Les recherches ont été menées à l'université du Québec à Montréal (UQAM). En effet, le professeur Annabi et son équipe ont travaillé sur une plateforme de vectorisation de médicaments et ont mis au point le TH1902. Ce dernier est une combinaison de deux molécules, le docétaxel qui est un médicament faisant déjà partie de l'arsenal thérapeutique anti-cancéreux et un peptide qui cible spécifiquement les récepteurs de la sortiline (SORT1+). Les récepteurs de la sortiline sont surexprimés dans plusieurs types de cancer, dont le cancer du sein triple négatif. La technologie mise au point cible donc spécifiquement les protéines SORT1+ surexprimées à la surface des cellules cancéreuses, servant ainsi de porte d'entrée pour amener le médicament à l'intérieure des cellules.

Les résultats précliniques du TH1902 ont été très prometteurs dans les cancers du sein de type basal. Il a été démontré que chez les animaux, le traitement ralentit la croissance tumorale, voir même l'élimine complètement et ce, sans causer les effets secondaires redoutés de la chimiothérapie tels que la neutropénie, la perte de poids...etc ([DEMEUL et al., 2021](#))

## CHAPITRE II: VIRUS D'EPSTEIN BARR (EBV)

### 1-Présentation et classification du virus

Le virus d'Epstein-Barr qui porte le nom de ceux qui l'on découvert en 1964 appartient à la famille des *Herpesviridea*, sous famille des *Gammaherpesvirinae*, genre *lymphocryptovirus* (virus caché dans les lymphocytes).

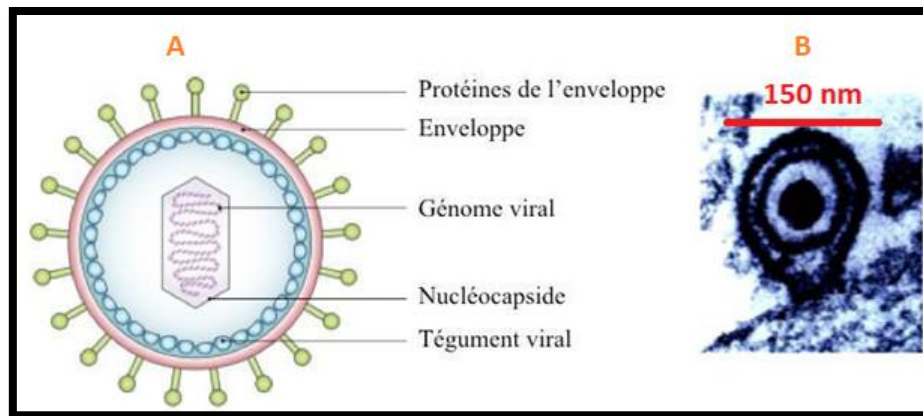
Ce virus ubiquitaire se transmet essentiellement par voie salivaire et est responsable d'infections dites latentes (persiste tout au long de la vie de l'individu infecté) de manière asymptomatique.

Au laboratoire, l'EBV ou HHV4 (*Human Herpes Virus 4*) est capable de transformation maligne des cellules épithéliales, d'immortalisation des lymphocytes B et d'induction de cancer chez l'animal (WEN *et al.*, 2022).

### 2-Structure du virus d'Epstein-Barr

La structure d'EBV est semblable à tous les herpes-virus. D'un diamètre d'environ 150 nm, il est organisé de l'intérieure vers l'extérieure comme suit (KIEFF *et al.*, 2007) (figure N°17) :

- Un **génom**e viral sous forme d'ADN linéaire double brin ;
- Une **nucléocapside** de forme icosaédrique qui entoure le génome et qui comprend 162 capsomères (sous-unités), elle mesure 100nm environ ;
- Un **tégument** qui est un ensemble fibrillaire asymétrique de phosphoprotéines entourant la capside. Il est composé de protéines virales et cellulaires telles que la tubuline, protéines de choc thermique 70 et 90 et cofiline qui sont impliquées dans les étapes de maturation de la protéine virale et dans les étapes précoces de l'infection (JOHANNSEN *et al.*, 2004) ;
- Une **enveloppe lipidique** dérivant des membranes nucléaire ou plasmique de la cellule hôte au niveau de laquelle le virus exprime ses antigènes membranaires de nature glycoprotéique qui conditionnent l'infectiosité du virus dans les premières étapes de l'infection (adsorption, fusion, pénétration). L'EBV perd son pouvoir infectieux dès lors que cette membrane est endommagée.



**Figure N°17 : A.** structure du virion d'Epstein-Barr

**B.** particule virale EBV observée en microscopie électronique (YOUNG *et al.*, 2004).

### 3-Structure du génome viral

Le génome d'EBV est un ADN linéaire double brin d'environ 172 Kb. Il est organisé de façon semblable à celui des autres lymphocryptovirus.

Il est constitué de deux domaines uniques :

- Une région codante courte US (*Short Unique region*) de 1500 pb ;
- Une région codante longue UL (*Long Unique region*) de 150 000 pb qui comporte les séquences répétées IR2, IR3 et IR4 qui la divisent en quatre domaines uniques U2, U3, U4 et U5.

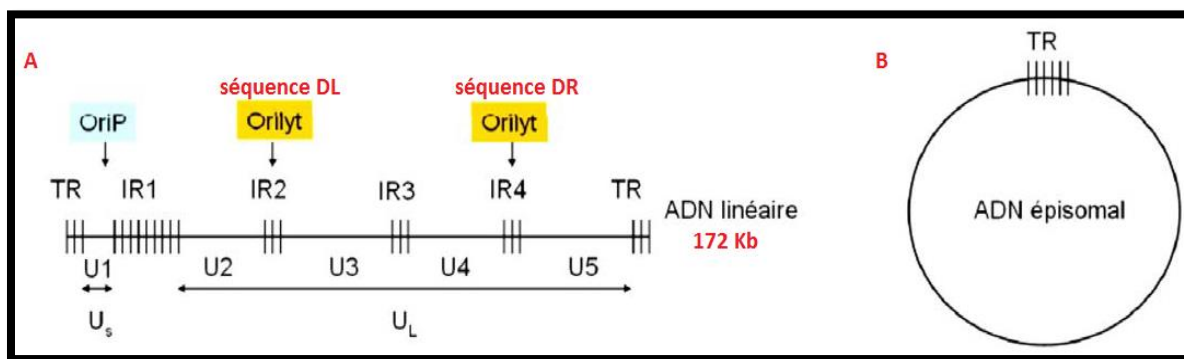
Ces deux domaines sont séparés par des séquences répétées en tandem appelées IR1 (*Internal Repeat 1*). Le tout est bordé à ses extrémités par deux séquences répétitives TR (*Terminal Repeat*), qui permettent la circularisation du génome viral (YOUNG *et al.*, 2007) (**figure 18A**). En effet, dans la particule virale, le génome se trouve sous forme linéaire. En revanche, dans les cellules hôtes, le virus se circularise grâce à la fusion des TR et persiste sous forme épisomale (KIEFF *et al.*, 2007) (**figure N°18B**).

Des séquences homologues de 1Kpb ont été détectées. L'une à côté de IR2 (séquence DL), l'autre à côté de IR4 (séquence DR). Elles représentent les deux origines de réplication lytique d'EBV (Ori Lyt) fonctionnelles durant la phase productive. L'EBV possède également une origine de réplication latente (Ori P) qui permet le maintien du virus sous forme épisomale (**figure N°18A**). Cette forme peut persister tout au long de la vie de l'hôte de manière latente,

le génome viral se réplique donc de manière synchrone au génome de la cellule infectée en utilisant l'origine de répllication Ori P (HAMMERSCHMIDT *et al.*, 1988). Dans cet état, quelques gènes viraux continuent à s'exprimer et contribuent à l'apparition des cancers.

Dans de rares cas, l'ADN d'EBV semble même pouvoir s'intégrer dans le génome de la cellule hôte (TAKAKUWA *et al.*, 2005).

Le génome d'EBV code pour environ quatre-vingt protéines. Certaines sont responsables de la latence permettant la persistance du virus dans la cellule en absence de synthèse de nouvelles particules virales. D'autres du cycle lytique et sont principalement des protéines de structure, des enzymes de transcription et de répllication virale (TSELIS, 2013).



**Figure N°18 : A.** Représentation schématique de l'ADN linéaire d'EBV (infection lytique) **B.** Représentation schématique de l'ADN épisomal d'EBV (infection latente) (YOUNG *et al.*, 2003).

## 4-Protéines virales

L'EBV étant capable d'exécuter deux programmes d'expression géniques distincts (cycle lytique et cycle latent), il synthétise deux groupes de protéines :

### 4-1 Protéines de latence

La latence virale permet la persistance du virus dans la cellule hôte sans production de virus et avec une expression réduite d'antigènes viraux.

On compte onze gènes de latence, regroupés en trois principales familles :

- La famille de gènes codant pour les six protéines nucléaires **EBNA** (*EBV Nuclear Antigen*) : **EBNA1, EBNA2, EBNA 3A, EBNA 3B, EBNA 3C, EBNA LP.**

- La famille de gènes codant pour les trois protéines membranaires **LMP** (*Latent Membrane Protein*) : **LMP1, LMP 2A, LMP2B**.
- La famille de gènes transcrits en deux ARN **EBER** (*Epstein-Barr Encoded small RNA*) : **EBER1** et **EBER2** qui ne sont pas traduits en protéines.

Différents profils d'expression de ces gènes ont été décrits *in-vivo* et *in-vitro* aboutissant à différents stades de latence. Ces stades ainsi que les principales fonctions de ces protéines sont résumés dans le tableau ci-dessous (**tableau III**) (LARRAT, 2010).

**Tableau III** : Stades de latence et principales fonctions des protéines de latence d'EBV.

<b>Protéines</b>	<b>Localisation</b>	<b>Latence</b>	<b>Fonctions principales</b>
<b>EBNA1</b>	Nucléaire	I, II, III	Maintien du génome viral sous forme épisomale.
<b>EBNA2</b>	Nucléaire	III	Immortalisation des lymphocytes B ; Activateur de transcription cellulaire et virale.
<b>EBNA 3A (EBNA3)</b>	Nucléaire	III	Répresseur de l'action d'EBNA2 ; Se lie à RBP-jkappa ; Participe à l'immortalisation des lymphocytes B.
<b>EBNA 3B (EBNA4)</b>	Nucléaire	III	Inconnue ; Se lie à RBP-jkappa.
<b>EBNA 3C (EBNA6)</b>	Nucléaire	III	Répresseur de l'action d'EBNA2 ; Action sur le cycle cellulaire ; Se lie à RBP-jkappa ; Participe à l'immortalisation.
<b>EBNA LP (EBNA5)</b>	Nucléaire	III	Cofacteur d'EBNA2 ; Interagit avec p53 et Rb.
<b>LMP1</b>	Membranaire	II, III	Oncogène majeur transducteur de signaux via TRAF ver NF-κB et JNK ; Induit bcl2.
<b>LMP 2A</b>	Membranaire	II, III	Prévient la réactivation virale.
<b>LMP 2B</b>	Membranaire	II, III	Inconnue.

Il existe des transcrits de la région BAMH1A qui sont exprimés quel que soit la forme d'infection (latente ou lytique), ces derniers codent pour des protéines BARF0, RK-BARF0, A73 et RPMS1 dont les rôles sont encore mal connus.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressée plus particulièrement à la protéine LMP1 qui est l'oncoprotéine majeur de l'EBV, c'est pour cette raison qu'elle sera décrite de façon plus approfondie.

#### - Description de la protéine de latence LMP1

LMP1 (*Latent Membran Protein 1*) est une protéine membranaire de 62 KDa, composée de 386 acides aminés. Elle comprend 3 régions (**figure N° 19**) :

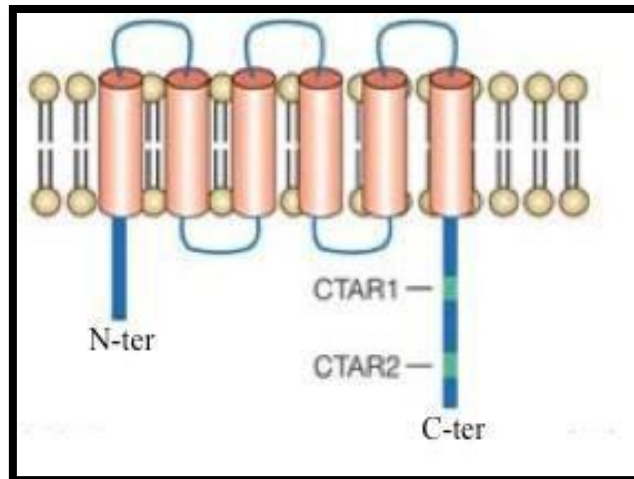
- Une courte région N-terminale cytoplasmique de 24 acides aminés qui permet l'orientation de la protéine dans la membrane et son ubiquitinylation (AVIEL *et al.*, 2000) ;
- Six domaines transmembranaires hydrophobes impliqués dans l'oligomérisation de la protéine, l'encrage dans la partie lipidique et la signalisation (HIGUCHI *et al.*, 2001) ;
- Une longue queue C-terminale cytoplasmique de 200 acides aminés, composée de deux domaines CTAR1 et CTAR2.

Les deux domaines CTAR permettent l'engagement de molécules effectrices, responsables de la signalisation de LMP1. En effet, ces derniers interagissent directement avec les membres de la famille TRAF (*TNFR-Associated Factor*) via CTAR1 grâce à son site de liaison (PQQAT) qui est également impliqué dans la signalisation du récepteur CD40, récepteur considéré comme l'équivalent cellulaire de LMP1 (MAINOU *et al.*, 2007).

CTAR2, quant à lui, interagit avec TRADD (*TNFR-Associated Death Domain*) et RIP (*Receptor-Interacting Protein*). Grâce au recrutement de ces adaptateurs, LMP1 peut interagir avec diverses protéines et activer plusieurs voies de signalisation cellulaire.

Les CTAR sont donc responsables de la transduction des signaux de la protéine LMP1 (KILGER *et al.*, 1998).

LMP1 est un récepteur qui ne nécessite pas de ligand et qui est considéré comme constitutivement actif (ligand indépendant), ce qui le rend apparenté à la famille des TNFR (*Tumor Necrosis Factor Receptor*) notamment au CD40. En effet, LMP1 a pu partiellement substituer le CD40 chez des souris transgéniques qui en sont dépourvus (HÖMIG-HÖLZEL *et al.*, 2008).



**Figure N°19** : Structure de la protéine LMP1 (KHANNA *et al.*, 2005).

#### - Rôles de la protéine de latence LMP1

L'expression de LMP1 dans les cancers associés à l'EBV est positivement corrélée à la prolifération et l'immortalisation des cellules tumorales, ainsi qu'à l'invasion et l'angiogenèse (DAWSON *et al.*, 2012).

LMP1 étant un récepteur ligand-indépendant, il interagit avec diverses protéines cellulaires, affectant ainsi la croissance, la différenciation cellulaire et l'apoptose. Cette interaction se fait via les CTAR qui recrutent les TRAF, soit directement grâce à CTAR1 ou indirectement via les TRADD, les RIP et B69 dans le cas de CTAR2 (KILGER *et al.*, 1998) (**figure N°20**).

La famille des TRAF recrute par la suite des molécules de signalisation qui permettent à LMP1 l'induction des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et AP1 qui sont fortement impliqués dans le développement embryonnaire et l'oncogenèse (ELIOPOULOS *et YONG*, 1998).

Les voies PI3K (Phosphatidylinositol 3 Kinase) et JNK (c-Jun amino-terminal Kinase), sont également consécutivement activées (**figure N°20**), permettant respectivement la survie et la prolifération des cellules infectées (HÖMIG-HÖLZEL *et al.*, 2008).

LMP1 peut agir sur l'expression d'autres gènes tels que EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*), les molécules de la voie de transduction JAK/STAT et les facteurs anti-apoptotiques bcl2 (*B-cell lymphoma 2*), mcl-1 (*Myeloid cell leukemia 1*) et A20 protégeant ainsi les cellules de l'apoptose (FRIES *et al.*, 1996).

LMP1 pourrait aider à l'échappement au système immunitaire en contrôlant l'expression des chimiokines CCL17 et CCL22, les ligands de ces dernières permettent le recrutement de cellules Treg, qui sont un sous type de lymphocyte CD4 qui suppriment l'activité des lymphocytes CD8 empêchant la réponse immunitaire (JORAPUR *et al.*, 2022).

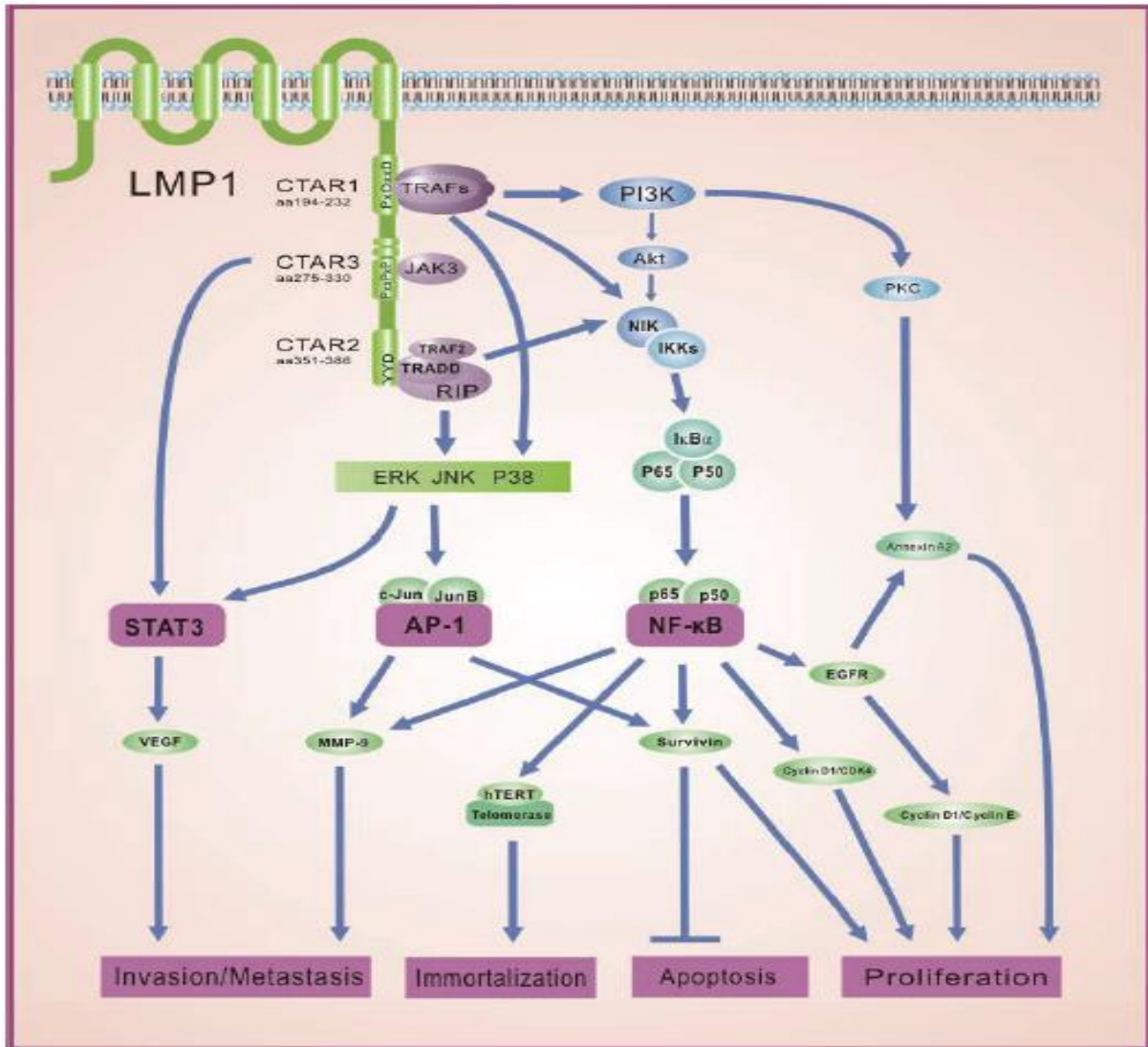
L'oncogénicité de LMP1 est aussi due à son pouvoir de régulation positive de l'expression de la protéine TAZ qui est essentielle à la prolifération des cellules (HE *et al.*, 2016).

LMP1 contribue au pouvoir métastatique des cellules infectées en induisant l'expression de certains facteurs angiogéniques (VEGF, FGF2, Cox 2...) et en inhibant l'expression des supresseurs de métastases tel que l'E-cadhérine par exemple (HAYASHI *et al.*, 2003).

LMP1 peut également se retrouver dans les exosomes, c'est-à-dire dans des vésicules extracellulaires altérant ainsi leurs fonctions. En effet, les exosomes modifiés par LMP1 améliorent la croissance, la migration et le pouvoir invasif des cellules malignes. Ce mouvement de LMP1 à travers les exosomes permet d'améliorer la progression des tumeurs liées à l'EBV. Cela signe également un certain contrôle de l'EBV du microenvironnement tumoral (HOUALI *et al.*, 2007, HURWITZ *et al.*, 2017).

L'expression de la protéine LMP1 est associée à un mauvais pronostic de survie dans le cas des lymphomes non hodgkiniens, ce qui n'est pas encore prouvé dans le cas des cancers du sein associé à l'EBV.

Une expérimentation prometteuse réalisée sur des souris a prouvé qu'un vaccin thérapeutique ciblant LMP1 pourrait supprimer la croissance tumorale et les métastases *in vivo* (LIN *et al.*, 2017).



**Figure N°20** : Voies de signalisation activées par les domaines CTAR1, CTAR2 et STAR3 (DAMANIA, 2004).

#### 4-2 Protéines du cycle lytique

La fabrication d'une particule virale d'EBV nécessite l'expression séquentielle des gènes du cycle lytique. Il s'agit d'un processus très ordonné où il y a d'abord expression des gènes très précoces IE (*Immédiate Early*) dont le produit active l'expression des gènes précoces EA (*Early Antigens*) qui à leur tour induisent la réplication du génome viral nécessaire à la transcription des gènes tardifs.

Ces protéines tardives (protéines de structure) sont essentielles à l'assemblage et à la maturation des particules virales infectieuses. Cependant, l'entrée en cycle lytique est liée en premier lieu à l'expression de la protéine transactivatrice **ZEBRA** (*Z-Epstein-Barr Replication Activator*) (ABID, 2017). En effet ; ZEBRA permet :

- L'activation de la transcription de son propre gène ;
- L'induction de l'expression des gènes très précoces et précoces ;
- L'induction de l'expression des gènes de structure ;
- La réplication de l'ADN viral.

## 5-Cycle biologique du virus d'Epstein-Barr

L'EBV possède un spectre d'hôte restreint à l'Homme (réservoir strictement humain). Plus de 90% de la population mondiale est infectée par le virus. La primo-infection est en général asymptomatique mais peut entraîner chez le jeune adulte une mononucléose infectieuse. L'Homme héberge donc en général le virus à l'état latent à l'intérieur des lymphocytes ou excrété de manière asymptomatique dans la salive, éventuellement dans les sécrétions génitales. Ce virus ubiquitaire se transmet donc essentiellement par la salive (maladie du baiser) et les relations sexuelles (KIEFF *et al.*, 2007).

L'infection par EBV passe par trois principales étapes :

### 5-1-Attachement et entrée du virus dans les cellules cibles

Le virus pénètre dans l'épithélium oropharyngé et infecte ses cellules cibles notamment les lymphocytes B et les cellules épithéliales (NICOLAS, 2002).

L'infection est initiée par l'attachement du virus sur les lymphocytes B grâce à leur CD21 qui se lie à la glycoprotéine gp350/220 de l'enveloppe virale externe (FINGEROTH *et al.*, 1984). Ce mode d'attachement existe également pour les cellules épithéliales (**figure N°21a**) Cependant, certaines d'entre elles ne possèdent ni le CD21 ni le CMH II, ainsi, des études ont démontré que leur mécanisme d'infection pouvait être différent de celui des lymphocytes B.

Pour les besoins de notre étude nous nous intéresserons seulement à l'infection des cellules épithéliales dont le mécanisme n'est pas tout à fait clair. Cependant, plusieurs mécanismes de fixation ont été décrits :

-L'attachement d'EBV aux cellules épithéliales peut se faire par l'intermédiaire du complexe gp25/gp85 du virus avec un récepteur des cellules épithéliales non identifié présentant une fonction comparable au CMHII. Des auteurs ont pu démontrer qu'un virus déficient pour l'expression de la gp85 ne peut pas infecter les cellules épithéliales, d'où l'importance de cette glycoprotéine (MOLESWORTH *et al.*, 2000). La pénétration du virus se fait suite à la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire permettant la libération des nucléocapsides dans le cytoplasme. Après décapsidation, le génome viral linéaire migre vers le noyau, où il se circularise par recombinaison au niveau des TR pour établir un état de latence (HAAN *et al.*, 2000).

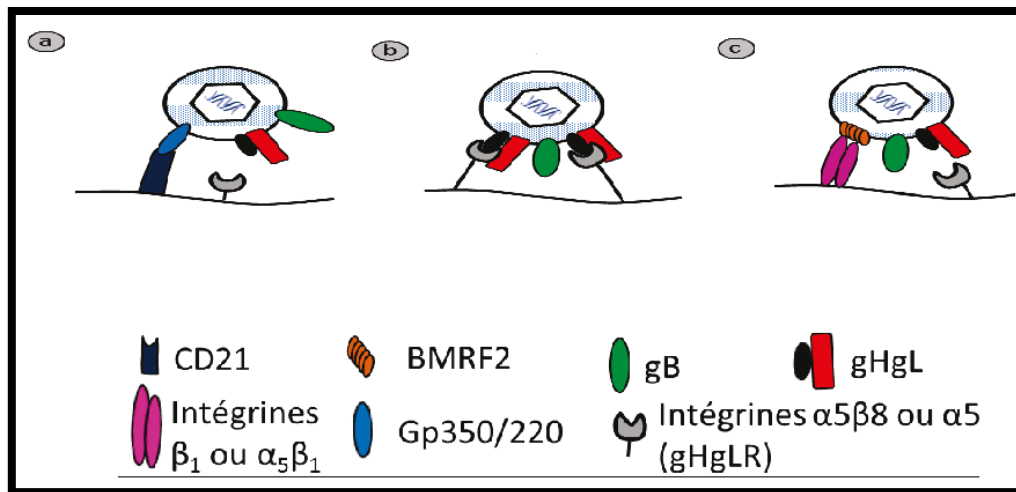
- Plus tard, il a été démontré que l'EBV peut également s'attacher aux cellules épithéliales grâce à son dimère gHgL qui se lie aux intégrines  $\alpha 5\beta 6$  et  $\alpha 5\beta 8$  cellulaires (**figure N° 21b**) ou encore grâce à sa glycoprotéine BMRF2 qui se lie à l'intégrine  $\beta 1$  ou  $\alpha 5\beta 1$  (**figure N° 21c**) (HUTT-FLETCHER, 2007).

-L'infection peut se faire par l'intermédiaire des IgA anti-EBV. En effet, ces derniers peuvent pénétrer dans la cellule par endocytose via l'interaction de la molécule sécrétoire transmembranaire SC exprimée à la surface des cellules épithéliales (endocytose du complexe IgA/EBV permettant l'infection des cellules épithéliales).

-L'entrée de l'EBV dans les cellules épithéliales peut également se faire par la fixation des cellules B qui se lient aux cellules épithéliales induisant ainsi leur infection. Ce mécanisme de transfert d'infection (infection de cellules épithéliales par des cellules B déjà infectée) nécessite les gp85/gp25 (SHANNON-LOWE *et al.*, 2011 ; CHEN *et al.*, 2019).

-L'EBV est capable de se propager entre les cellules épithéliales adjacentes en traversant les membranes latérales au niveau des jonctions serrées (TUGIZOV *et al.*, 2003).

-Une étude récente a également identifié le facteur NRP1 (Neutropilin1) comme facteur d'entrée d'EBV dans les cellules épithéliales (WANG *et al.*, 2015 ; CHEN *et al.*, 2019).



**Figure N°21** : Schéma représentatif de certains mécanismes d'attachement de l'EBV aux cellules épithéliales (HUTT-FLETCHER, 2007).

## 5-2-Latence et maintien du génome

La mise en place d'un programme de latence virale repose sur deux phénomènes interdépendants (MRIZAK, 2013) :

- Le premier est la répression du cycle lytique et le maintien du génome viral en situation intracellulaire, sous forme épisomale circularisée ;
- Le second est l'expression des gènes dits de latence dont les produits permettent entre autres, l'immortalisation des cellules infectées.

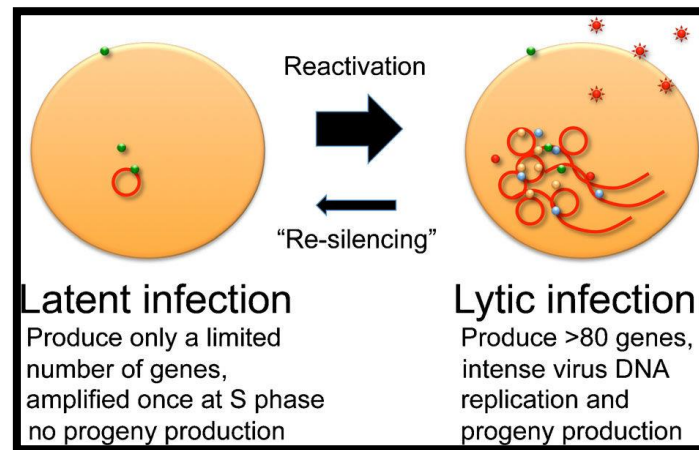
La réplication virale pendant cette phase est synchronisée avec celle de l'ADN cellulaire. Le maintien des épisomes viraux dans les cellules infectées se fait grâce à la protéine EBNA1 qui reconnaît des motifs ADN spécifiques, localisés sur l'origine de réplication plasmidique ORI P. Cette dernière contient des régions essentielles à la réplication en plus d'être spécifique à l'ADN polymérase cellulaire. Ainsi, la fixation d'EBNA1 sur ces séquences pourrait être à l'origine de l'initiation de la réplication et donc du maintien du génome viral.

Lors de cette phase de latence, un nombre limité de gènes est exprimé : les gènes de la famille EBNA, de la famille LMP ainsi que les gènes codant pour les ARN EBER et BART. Cependant, le profil d'expression de ces gènes de latence n'est pas identique dans tous les types cellulaires infectés par l'EBV. C'est ainsi qu'on distingue plusieurs types de latence (0, I, II et III).

La latence de type II est caractéristique du carcinome indifférencié du nasopharynx par exemple et est caractérisée par l'expression des protéines EBNA1, LMP1, LMP 2A et LMP 2B.

### 5-3-Réactivation (cycle lytique)

Le cycle lytique se caractérise par la réplication de l'ADN viral, la production des protéines de la phase lytique et la production de nouvelles particules virales, le tout en utilisant le bagage enzymatique cellulaire et viral. Le processus s'achève par la mort des cellules hôtes d'où le nom de cycle lytique. Cette phase permet au virus de renouveler son pool de cellules infectées ainsi que sa transmission interhumaine (MURATA, 2014) (figure N°22).



**Figure N°22** : Passage de la latence virale au cycle lytique (le cycle de vie biphasique de l'EBV) (MURATA, 2014).

En vert, les produits des gènes de latence exprimés de manière très limitée

En rouge, jaune et bleu, les produits des gènes du cycle lytique (plus de 80 gènes exprimés)

La réactivation virale peut être spontanée dans 2 à 5% des cellules infectées ou survenir suite à des stimuli extérieurs (hypoxie, stress...). Cette faible proportion de cellules qui entrent en cycle lytique est due aux protéines exprimées lors de la latence virale telle que LMP1 qui s'oppose en inhibant fortement le cycle lytique.

Il a été démontré que la protéine ZEBRA, également nommée Zta codée par le gène très précoce BZLF1 joue un rôle primordial dans le passage de l'état latent au cycle lytique. Elle est donc initiatrice de la réactivation et joue un rôle de commutateur (PETOSA et al., 2006).

En effet, durant cette phase, les deux gènes viraux très précoces (*Immediate Early*) BZLF1 et BRLF1 qui codent respectivement pour les facteurs de transcription Zta (ZEBRA) et Rta (également appelée protéine R) sont exprimés. Ceci conduit à l'activation des gènes précoces tels que BMLF1 qui code la protéine Mta ou encore d'autres gènes dont les produits sont l'ADN polymérase virale..., .Ces derniers, vont permettre la formation du complexe de réplication

viral (synthèse de l'ADN) à partir de l'origine de réplication lytique (ori-lyt). C'est à partir de ces molécules d'ADN viral linéaires néoformées que sont transcrits les antigènes tardifs en l'occurrence ceux de la capside VCA (*Viral Capsid Antigen*) et de l'enveloppe MA (*Membran Antigen*) (KENNEY *et al.*, 2014).

Les précurseurs de la capside virale (pc) s'assemblent dans le noyau. L'ADN obtenu après réplication (ADN linéaire) est incorporé à l'intérieur de la capside formant une nucléocapside, un assemblage qui se fait dans le noyau. Les nucléocapsides mûres migrent vers la surface de la cellule et acquièrent leurs enveloppes à partir des membranes nucléaires et cytoplasmiques qu'elles traversent par bourgeonnement. Par ailleurs, la glycosylation des glycoprotéines membranaires se fait dans le réticulum puis dans le golgi au même temps que se met en place le tégument. La fusion des vésicules post golgiennes et de la membrane plasmidique permet la libération des virions et la lyse de la cellule (GRUNWALD *et al.*, 2003) (figure N°23).

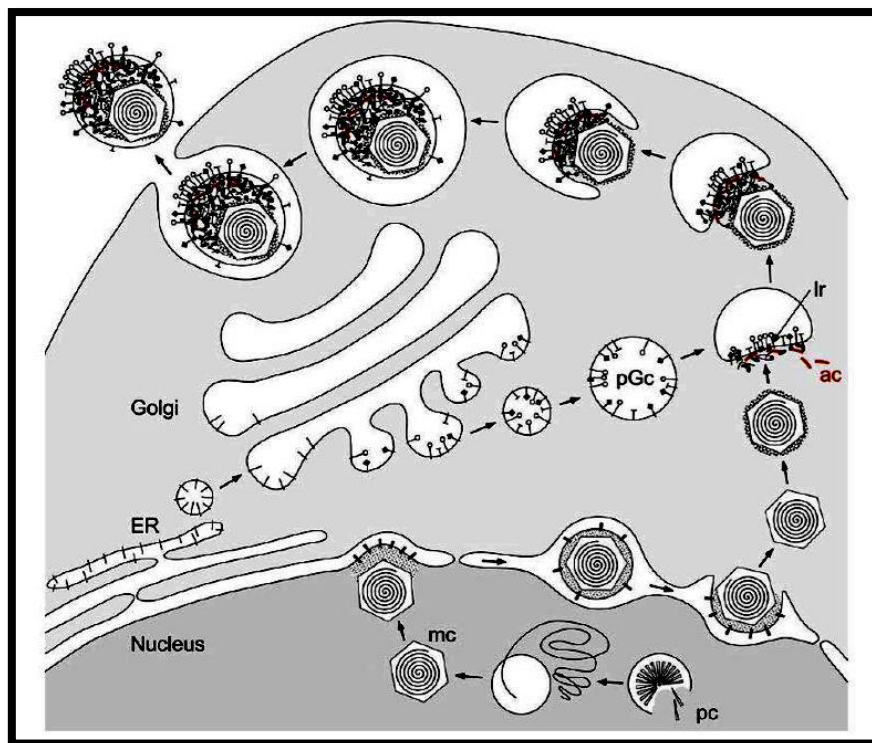


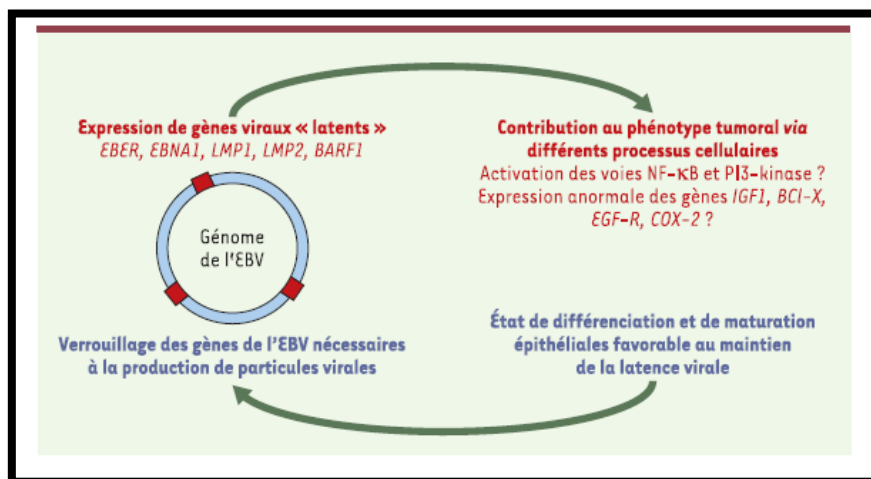
Figure N°23 : Représentation schématique du processus d'assemblage et de relargage du virion (GRUNWALD *et al.*, 2003)

## 6-Mécanismes cellulaires de la transformation maligne dépendante d'EBV (carcinogénèse) et voies de signalisation impliquées

La cancérogénèse dépendante d'EBV pourrait s'initier à partir de cellules épithéliales infectées de manière latente et qui présenteraient dans un second temps un événement génétique (délétion, hyperméthylation des promoteurs...).

L'infection des cellules épithéliales tumorales par l'EBV est monoclonale, ce qui suggère que l'infection virale précède l'expansion tumorale.

Il existe des interactions réciproques virus/cellules (**figure N°24**). En effet, le phénotype malin est entretenu grâce à des protéines codées par les gènes viraux (EBNA1, EBER1...) d'une part et d'autre part, un ensemble de facteurs cellulaires « verrouillent » les gènes du cycle viral productif qui permettent normalement la synthèse des particules virales.



**Figure N°24** : Représentation schématique des interactions virus/cellule dans les cellules épithéliales malignes de carcinome nasopharyngé (NPC).

L'infection virale est donc latente au sein des cellules tumorales. En effet, dans le cas du cancer du cavum par exemple, la protéine EBNA1 et les ARN EBER sont exprimés dans 100% des cas, la protéine LMP 2A dans 50% des cas et la protéine LMP1 dans 35 à 90% des cas.

La cancérogénèse est donc le résultat de la combinaison de plusieurs paramètres, notamment :

- Expression des ARN non messagers EBER1 et EBER2 qui se lient à la PKR (Protéine Kinase dépendante des ARN) et inhibent sa phosphorylation, bloquant ainsi la réponse cellulaire aux interférons. Ces derniers ont également la capacité d'activer la transcription du gène codant

l'IGF1 (*Insulin-like Growth Factor 1*) par un mécanisme non encore élucidé (NANBO et al., 2002) ;

- Expression de la protéine EBNA1 qui a le pouvoir de transactiver l'expression du gène anti-apoptotique Bcl-X (TSIMBOURI et al., 2002) ;
- Expression de la protéine LMP2, difficilement détectable mais dont les messagers sont abondants. Cette protéine présente une activité transformante par activation de la voie de signalisation PI3-Kinase/AKT ;
- Expression de la protéine BARF1 qui est faiblement retenue dans les cellules. Sous sa forme sécrétée, elle présente les propriétés d'un facteur de croissance (SALL, 2004) ;
- Expression de la protéine LMP1 qui est essentielle dans le pouvoir oncogène d'EBV. En effet, le domaine C-terminal de cette dernière peut être subdivisé en trois régions activatrices de la signalisation cellulaire, les CTAR (*C-Terminal Activating Regions*) : CTAR1, CTAR2, CTAR3. Or, CTAR1 et CTAR2 activent la voie NF- $\kappa$ B, favorisant la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et donc l'immortalisation cellulaire. CTAR3, quant à elle, augmente l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) favorisant l'invasion et les métastases et ce, en stimulant la voie Jak3/STAT (ZHENG et al., 2007) ;
- L'EBV altère la fonction de la protéine humaine Nm23-H1 qui joue le rôle de suppresseur de tumeur métastatique. Cette altération se produit suite à l'interaction de la région carboxyl terminale de la protéine virale EBNA-3C de manière spécifique avec la protéine Nm23-H1. Lorsque ce frein naturel est désactivé par l'EBV, les cellules cancéreuses mammaires forment des métastases (PANDEY et al., 2018).

L'EBV représente donc un cofacteur parmi d'autres dans la transformation maligne des cellules épithéliales. Cette transformation requière en effet, des altérations génétiques qui s'ajoutent à l'infection latente par l'EBV.

# **PARTIE PRATIQUE**

## **Matériel et méthodes**

Dans le but de répondre à la question de départ à savoir, existe-il une expression des protéines virales EBV dans les cellules tumorales mammaires ? Nous avons réalisé des analyses au sein du service d'anatomie-pathologie du CHU NEDIR MOHAMED de

Tizi-Ouzou sur une population de trente patientes présentant un carcinome mammaire et ayant subi une mastectomie.

## 1 Matériel

### 1-1 Réactifs

- **Les réactifs nécessaires pour l'étude histologique**
  - Formol tamponné (formaldéhyde à 10%) ;
  - Solutions d'alcool à différentes concentrations (50%, 70%, 96%, 100%) ;
  - Xylène (solvant organique) ;
  - Paraffine (fondue) ;
  - Eau courante ;
  - Eau distillée ;
  - Hématoxyline de Harris ;
  - Lithium carbonate ;
  - Eosine ;
  - EKIT.

- **Les réactifs nécessaires pour l'étude immunohistochimique**

Les réactifs nécessaires pour l'étude immunohistochimique sont inclus dans le kit Dako des récepteurs hormonaux (RE, RP), dans le kit Dako HercepTest (HER2) et dans le kit IR753 (LMP1). Le contenu de chacun de ces kits est représenté dans **l'annexe III**.

### 1-2 Appareillage

- Appareil à circulation (Circulateur) ;
- Appareil à enrobage ;
- Microtome ;
- Bain marie ;
- lames et lamelles ;
- Etuve ;
- Batterie de coloration hématoxyline-éosine (HE).

### 1-3 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par des fragments tissulaires de carcinomes mammaires extraits à partir de pièces de mastectomie prises en charge dans le service d'anatomopathologie du CHU de Tizi-Ouzou.

Nous avons obtenu l'autorisation de travailler sur des échantillons humains selon les principes d'éthique mentionnés dans la déclaration d'Helsinki. Notre étude a également été approuvée par la Commission de Déontologie et d'Ethique de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri (UM-MTO/20/06/2021/Eth-Deon-A-041).

**Les patients considérés :** nous avons suivi trente patientes colligées au service d'anatomopathologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou. Le but étant de rechercher, en plus de l'expression des RH et HER2, l'expression de la protéine LMP1 qui signe la présence de l'EBV.

**- Les paramètres d'inclusion**

Notre étude inclut les patientes ayant subi une mastectomie.

**- Les paramètres d'exclusion**

Nous avons exclu de cette étude les patientes ayant subi des tumorectomies ou des micro-biopsies. Cette exclusion est justifiée par le fait que, lors de la prise en charge des deux cas suscités, certains facteurs pronostiques classiques ne sont pas pris en considération car impossibles à évaluer. C'est donc la démarche scientifique qui exige cette exclusion.

## 2 Méthodes

### 2-1 Méthodes d'anatomie-pathologie

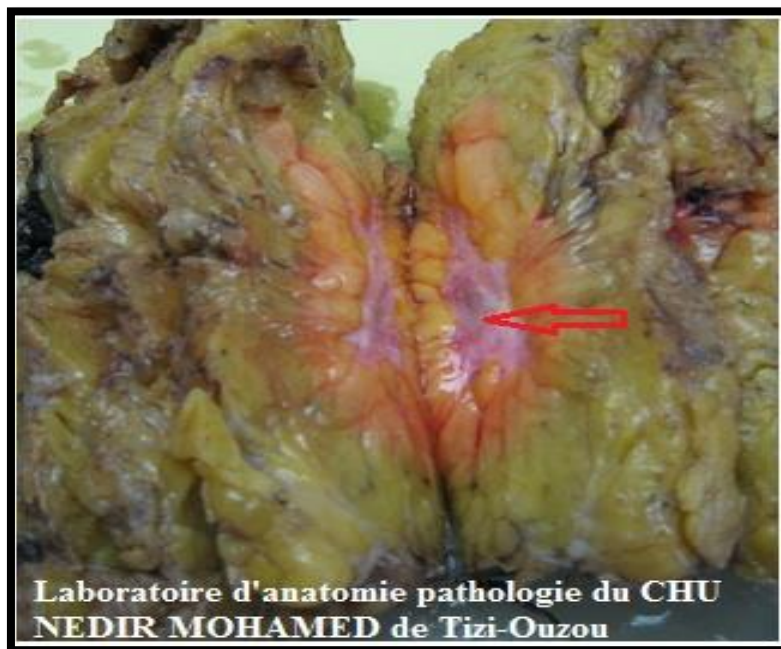
De manière générale, l'analyse anatomo-pathologique d'une mastectomie est scindée en trois grands axes :

- L'étude macroscopique ;
- L'étude histologique ;
- L'étude immunohistochimique suivie de l'étude microscopique qui permet de visualiser et d'interpréter les résultats.

#### 2-1-1 Etude macroscopique

L'étude macroscopique est précédée d'une étape de fixation au formol tamponné (formaldéhyde à 10%) pendant 24 heures. Le but de ce prétraitement est de s'opposer à la déshydratation tissulaire et d'immobiliser les composantes cellulaires du tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, assurant ainsi la conservation de la pièce. L'examen macroscopique est essentiel pour déterminer le choix du prélèvement à examiner. La prise en charge macroscopique se fait par un médecin anatomo-pathologiste et consiste en une macro-description (**Figure N°25**).

La pièce est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée. Suite à la coupe, le médecin extrait de petits fragments qu'il dépose dans des cassettes qui seront étiquetées en écrivant le numéro du patient et du bloc, puis plongées dans du formol à 10%.



**Figure N°25** : Pièce de mastectomie montrant la présence d'une tumeur (flèche).

La macroscopie étant réalisée par le médecin, nous avons débuté notre travail à partir de l'étude histologique.

### *2-1-2 Etude histologique*

L'étude histologique passe par plusieurs étapes qui ont pour objectif l'obtention de coupes de tissu très minces pour l'observation microscopique. De manière générale, nous avons effectué sept étapes :

### 2-1-2-1 Circulation

La circulation a pour but de rendre le tissu suffisamment rigide pour que l'on puisse le manipuler sans risquer de l'abimer. Elle dure 12 heures et comprend trois étapes :

- Déshydratation

La déshydratation est progressive, elle dure 08 heures et se fait par passages successifs du tissu dans des solutions d'alcool à concentrations croissantes (50%, 70%, 96%, 100%) (2 heures dans chaque bain).

- Eclaircissement

Cette étape d'une durée de deux heures est réalisée dans un solvant organique « le Xylène » dans lequel peut se dissoudre l'alcool.

- Imprégnation

Elle se fait par immersion du tissu dans deux bacs de paraffine fondue à 56-60 °C pendant une heure chacune. Cette dernière a pour rôle de remplir les pores tissulaires préalablement vidés de leur eau lors de la déshydratation. Le but étant de ne pas obtenir un tissu exsudé.

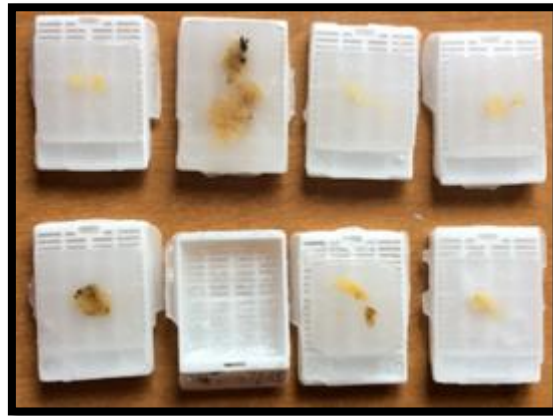
### 2-1-2-2 Inclusion et enrobage

L'objectif de l'inclusion en paraffine est de fournir un support au tissu pendant et après la coupe au microtome. Nous avons préparé des blocs de paraffine pour nos échantillons. La technique d'enrobage que nous avons utilisée s'effectue comme suit :

- On récupère les cassettes qui se trouvent dans l'appareil à circulation et on les plonge dans le bac de l'appareil à enrobage. Ce dernier contient une petite quantité de paraffine liquide.
- On ouvre une cassette, on prend le fragment à l'aide d'une pince.
- On place le fragment dans un moule adéquat dans lequel on aura déjà versé une petite quantité de paraffine liquide grâce au distributeur de paraffine de l'appareil à enrobage (partie chaude).
- Une fois le fragment dans le moule, on verse dessus une petite quantité supplémentaire de paraffine liquide.

- On dépose le moule sur la paillasse froide de l'appareil pour bien le fixer puis on le recouvre par la cassette dans laquelle le fragment a été pris. On verse encore une petite quantité de paraffine dessus.
- Après solidification au congélateur, on démoule le bloc de paraffine.

Le fragment tissulaire se retrouve alors inclus dans un bloc solide (figure N°26).



**Figure N°26** : Photographie représentative du résultat de l'enrobage

#### 2-1-2-3 Microtomie (réalisation des coupes)

La microtomie consiste en l'utilisation d'un microtome lequel, grâce à sa lame, permet de couper les blocs de paraffine préalablement préparés. On obtient ainsi des rubans très minces de 3 à 5 microns.

Ainsi, nous avons réalisé cette étape sur nos trente échantillons comme suit :

- On place le bloc de paraffine sur le support de bloc du microtome ;
- On rabote le bloc jusqu'à l'exposition totale de la surface du fragment tissulaire ;
- On réalise des coupes très minces. L'ensemble de ces dernières forment un ruban ;
- On dépose les rubans obtenus dans un bain marie (37°C) et on les récupère rapidement en les étalant sur des lames.

#### 2-1-2-4 Etalement

L'étalement des coupes consiste à aplanir le tissu sur la lame. Il se fait sur eau chaude à environ 37°C. En effet, les rubans préalablement obtenus sont placés dans le bain marie puis sont étalés sur des lames comme suit :

- On enlève les plis qui restent sur les coupes en les étirant délicatement ;

- On dépose nos coupes sur des lames en prenant soin de bien les centrer ;
- On étiquette nos lames en écrivant le numéro du patient et du bloc avec un crayon diamant ;
- On laisse sécher les lames à l'air libre.

#### 2-1-2-5 Déparaffinage

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine qui entoure le fragment en plaçant les lames sèches dans de petits chariots qu'on met dans l'étuve à 37°C pendant environ 12 heures pour faire fondre la paraffine.

#### 2-1-2-6 Coloration de routine : méthode à l'hématoxyline-éosine (H.E)

La coloration combinée hématoxyline-éosine permet de mettre en évidence les principaux éléments morphologiques des tissus (coloration topographique). Elle associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris et une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. La coloration résulte donc de l'action conjuguée d'un colorant acide  $CO^-$  (éosine) qui colore les substances basiques de la cellule et d'un colorant basique  $NH^+$  (hématoxyline) qui colore les substances acides.

En d'autres termes, l'hématoxyline basique se fixe sur les acides phosphoriques des acides nucléiques et l'éosine acide se fixe sur les groupements positifs des protéines cytoplasmiques.

Une fois le déparaffinage de nos lames achevé, nous les plaçons dans des chariots spéciaux que nous avons fait passer dans les 27 bacs de la batterie de coloration dont la succession permet de réaliser les étapes nécessaires de la technique. Le temps passé dans chaque bain est de 30 secondes.

La technique consiste à poursuivre le déparaffinage par le xylène puis à réaliser une réhydratation des tissus par de l'alcool à concentrations décroissantes (100%, 96%, 70%, 50%). Une fois les tissus réhydratés, on réalise une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris suivie d'une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. Suite à cette double coloration, on procède à la déshydratation des tissus par de l'alcool et à leur éclaircissement par le xylène. La technique est réalisée de manière automatique grâce à l'automate de coloration (Batterie de coloration HE).

Après la coloration, nous retirons les lames des petits chariots et nous les déposons sur un plateau en bois pour sécher. Après séchage de nos lames, nous procédons au montage.

#### 2-1-2-7 Montage des lames

Cette opération consiste à protéger définitivement le tissu étalé sur la lame par une lamelle de verre, collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'air, appelé « EKIT ». Nous avons donc procédé au montage de nos lames comme suit :

- La lame est plongée dans un bain de xylène puis on la retire immédiatement. Le but est d'éliminer les éventuelles impuretés et d'éclaircir la coloration ;
- On verse une goutte d'EKIT sur la lamelle qu'on dépose sur la lame en évitant les bulles d'air qui gêneront l'observation ;
- On plonge la lame montée dans un bain de xylène et on la retire de suite. Le but de cette étape est de nettoyer la lame de toutes impuretés ;
- On laisse sécher à l'air libre.

NB : Neuf lames au minimum sont nécessaires pour chaque patient :

- Une lame pour l'étude histologique ;
- Huit lames pour l'étude immunohistochimique :
  - ✓ Deux lames pour le test du RE (l'une pour l'anticorps primaire anti-RE, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test du RP (l'une pour l'anticorps primaire anti-RP, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test de l'HER2 (l'une pour l'anticorps primaire anti-HER2, l'autre pour le réactif de contrôle négatif) ;
  - ✓ Deux lames pour le test de la protéine LMP1 (l'une pour l'anticorps primaire anti-LMP1, l'autre pour le réactif de contrôle négatif).

Les deux dernières étapes de l'étude histologique, à savoir la coloration H.E et le montage, ne sont pas effectuées pour les huit lames destinées à l'étude immunohistochimique. Les coupes destinées à l'immunohistochimie doivent être étalées sur des lames silanisées (prétraitées),

c'est-à-dire recouvertes d'un adhésif performant (enduites de poly-lysine). La finesse des coupes (2 à 3 microns) favorise une meilleure adhérence (BALATON *et al.*, 1999).

### *2-1-3 Etude Immunohistochimique (IHC)*

L'évaluation du statut des récepteurs hormonaux (RE, RP), de l'oncogène HER2 et de l'expression potentielle de l'LMP1 chez les trente patientes a été réalisée par la technique d'immunohistochimie (IHC) (Kit DAKO). L'IHC est la technique la mieux adaptée aux tissus fixés et inclus en paraffine.

Les huit lames destinées à l'IHC sont traitées de la même manière, mais avec les réactifs inclus dans le kit de l'hercepTest pour l'HER2, ceux inclus dans le kit des récepteurs hormonaux pour le RE et le RP et ceux inclus dans le kit EBV IR753 pour LMP1.

Dans les trois cas, les étapes clés de l'IHC sont : <https://www.agilent.com/cs/library/packageinsert/public/105435005.PDF>.

#### *2-1-3-1 Déparaffinage et réhydratation*

Le déparaffinage consiste en l'incubation des lames dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. Elles passeront par la suite dans une batterie contenant du xylène (2 fois 5 minutes), de l'alcool à concentrations décroissantes (100%, 90%, 70%) (3 minutes chacun) et de l'eau distillée (30 secondes). Le passage dans cette batterie permet de se débarrasser de la paraffine, de réhydrater et de bien nettoyer le tissu.

#### *2-1-3-2 Démasquage à la chaleur (restauration de l'épitope)*

Après déparaffinage, les lames sont placées dans un portoir qui est transféré dans un bac de la solution de démasquage (tampon de citrate à pH=6) puis chauffées à 95-97°C pendant 30 à 40 minutes. L'intérêt de cette étape est de rompre les liaisons moléculaires créées par le fixateur et donc de restaurer les déterminants antigéniques qui ont été masqués par la fixation au formol. On laisse les lames refroidir sur la paillasse pendant 20 minutes. On transfère le portoir dans deux bacs successifs d'eau distillée et un bac de tampon de lavage pendant 5 minutes chacun, le but étant d'éliminer toute trace de la solution de démasquage.

### 2-1-3-3-Réduction des bruits de fond

On place les lames dans un bac contenant le réactif de blocage de la peroxydase (solution contenant du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3%) pendant 5 minutes pour un blocage des peroxydases endogènes afin d'éviter le bruit de fond. On rince les lames à l'eau distillée, puis on les fait passer dans un bain contenant du tampon de lavage PBS (*Phosphate Buffred Saline* pH 7.4) pendant 5 minutes afin d'éliminer l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. On délimite les zones sur lesquelles nous appliquerons l'anticorps primaire avec un DAKOpen qui empêche les anticorps de diffuser.

### 2-1-3-4- Anticorps primaire / Réactif de contrôle négatif :

(Anticorps monoclonal de souris anti-RH humains), (anticorps de lapin anti-HER2 humain) et (Anticorps monoclonal de souris anti-LMP1 CS1-4).

On dispose les lames dans un plateau avec compresses imbibées d'eau et on recouvre l'échantillon de trois gouttes (100 µl) d'anticorps primaire Anti-RE ou Anti-RP ou anti-HER2 ou encore anticorps anti-LMP1 avec une micropipette de façon à immerger la zone préalablement entourée par le DAKOpen. Les quatre autres lames seront testées par les réactifs de contrôle négatifs fournis dans le kit. On laisse incuber pendant 30 minutes à l'air libre. On égoutte les lames et on les fait passer dans deux bains de tampon de lavage successifs pendant 5 minutes chacun.

### 2-1-3-5- Anticorps secondaire (Réactif de visualisation)

On applique la solution d'anticorps secondaire (100 µl) sur les lames de la même façon que l'anticorps primaire et on laisse incuber pendant 30 minutes à température ambiante. On rince dans deux bains successifs de tampon de lavage. La nature de cette solution d'anticorps est un mélange composé :

- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de souris dans le cas des RH ;
- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de lapin dans le cas de l'HER2 ;
- De dextrane couplé à la peroxydase de raifort et des molécules d'anticorps secondaires caprins dirigés contre les immunoglobulines de souris dans le cas de LMP1.

#### 2-1-3-6- Révélation (solution de substrat chromogène DAB)

On verse sur les lames quelques gouttes de solution tampon substrat qui contient du peroxyde d'hydrogène. On verse une à trois gouttes de la solution chromogène DAB (tétrahydrochlorure de 3,3-diaminobenzidine), le DAB est donc le substrat chromogène de la peroxydase. On incube pendant 10 minutes puis les lames sont rincées à l'eau distillée.

#### 2-1-3-7- Contre coloration (coloration contraste par l'hématoxyline)

Elle est réalisée à l'hématoxyline de Mayer qui colore intensément les noyaux en bleu violacé mais aussi les cytoplasmes et le tissu de soutien (de façon moins intense).

Pour ce :

- On immerge les lames dans un bain d'hématoxyline de Mayer pendant 1 à 5 minutes, en fonction de la concentration de l'hématoxyline utilisé ;
- On rince les lames dans de l'eau distillée ;
- On fait passer les lames dans un bain d'alcool puis de xylène pour la décoloration des cytoplasmes et tissu conjonctif.

#### 2-1-3-8- Montage des lames

Le montage lames-lamelles est réalisé de la même façon que celle préalablement décrite dans l'étude histologique.

### - Lecture des résultats

#### 1 Lecture des résultats de la coloration hématoxyline-éosine

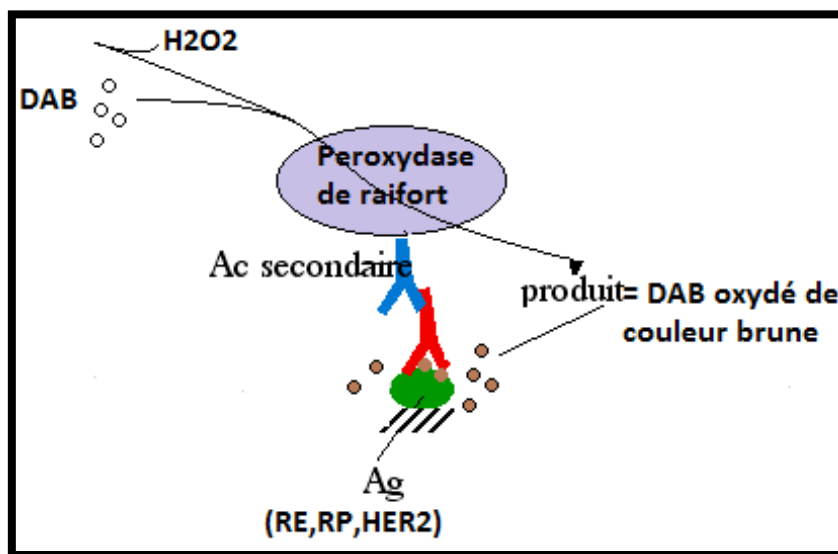
La double coloration hématoxyline-éosine aboutit à la coloration des différents éléments cellulaires :

- Les noyaux seront colorés en bleu violacé ;
- Le cytoplasme en rouge ;
- Le collagène en rose pale.

La visualisation des résultats se fait par le microscope optique à des grossissements croissants (40, 100, 400).

#### 2 Lecture des résultats de l'immunohistochimie

La révélation du complexe antigène/anticorps se fait par une réaction immuno-enzymatique qui consiste à faire agir la peroxydase de Raifort avec son substrat (peroxyde d'hydrogène). La réaction est révélée par un chromogène donneur de proton (DAB tétrahydrochlorure de 3,3-diaminobenzidine) qui est incolore et soluble à l'état réduit et qui se colore en brun et devient insoluble lorsqu'il est oxydé ( $H_2O_2 + 2 DH \rightarrow 2 H_2O + 2 D$ ). En bref, la conversion enzymatique du DAB en présence du peroxyde d'hydrogène donne un précipité marron insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Il marque en brun le site d'interaction antigène-anticorps (**Figure N°27**). La réaction est évaluable par microscopie optique au faible grossissement (Gx40) puis le score est confirmé au fort grossissement (Gx1000).



**Figure N° 27** : Réaction immuno-enzymatique catalysée par la peroxydase de Raifort.

La contre coloration (coloration contraste) à l'hématoxyline aboutit à une coloration bleue des noyaux.

- **Lecture des résultats des récepteurs hormonaux**

L'évaluation des lames se fait par un microscope optique, nous avons sollicité l'aide d'un médecin anatomo-pathologiste.

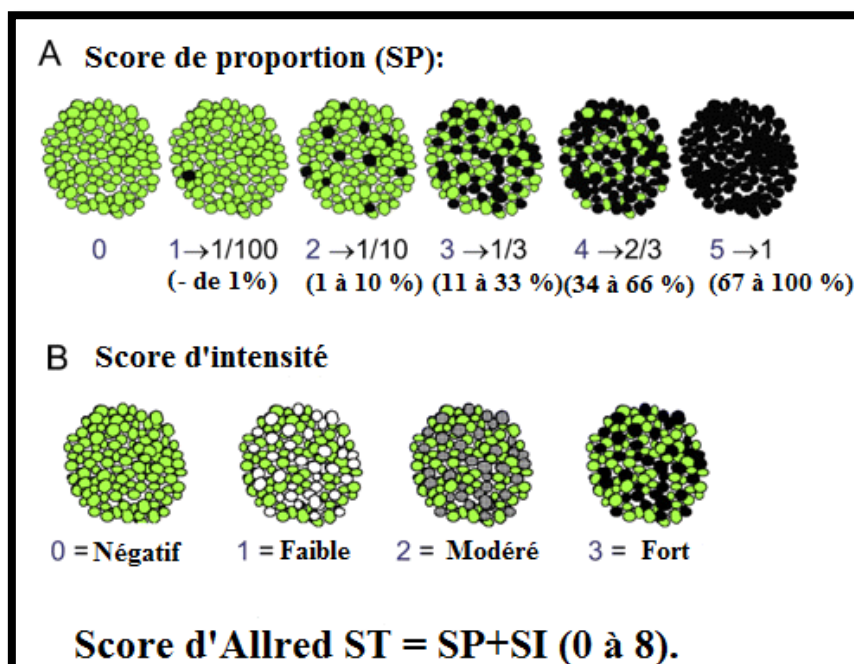
Suite à la coloration contraste, on obtient des noyaux bleus (négatifs) et des noyaux marron (positifs), donc seul le marquage nucléaire est pris en considération.

Il est impératif d'examiner toutes les cellules tumorales de la lame, tout en prenant en considération des cellules intactes (témoin interne) pour l'interprétation des résultats de coloration.

La lecture se fait selon le score d'Allred qui associe de manière semi-quantitative le pourcentage de cellules marquées (varie entre 0 et 5) et l'intensité de marquage (varie entre 0 et 3). Ainsi, un score de proportion (SP) et un score d'intensité (SI) sont définis et le score total (ST) est calculé par l'addition de (SP) et de (SI). Ce (ST) représente le score de Allred qui varie entre 0 et 8 (**Figure N° 28**).

Le score est considéré comme positif s'il est supérieur ou égal à 3, c'est à dire que le seuil de positivité est de 10% de cellules marquées quelle que soit l'intensité.

Il n'existe pas de consensus international sur la valeur du seuil. Le choix de 10% est justifié par le fait qu'il a été utilisé par plusieurs études avec corrélation clinique et présente une bonne reproductibilité ([MAC GROGAN et al., 1996](#)).



**Figure N°28 :** Méthode de scoring selon Allred ([COLLINS et al., 2005](#))

- **Lecture des résultats de l'oncogène HER2**

L'IHC est reconnue comme la technique de référence pour déterminer le statut de HER2 dans les cancers du sein ([PENAUULT-LLORCA et al., 2002](#)).

L'évaluation des lames se fait par le pathologiste à l'aide d'un microscope optique. C'est une technique qui diffère légèrement de l'IHC courante car à ce niveau, il s'agit de mettre en évidence une surexpression et non une expression basale du récepteur HER2 (BILOUS *et al.*, 2003).

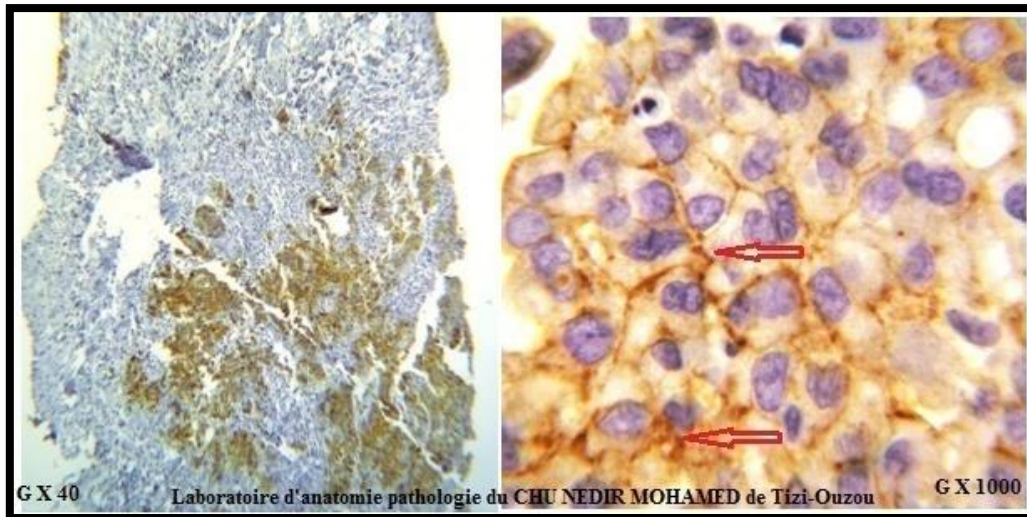
Le signal immunohistochimique de l'HER2 est un marquage membranaire brun, en maille de filet, intense et complet des cellules tumorales. Seul le statut des cellules carcinomateuses infiltrantes doit être pris en considération. La coloration cytoplasmique doit être considérée comme une coloration non spécifique et ne doit pas être incluse dans l'évaluation de l'intensité de coloration de la membrane. L'immuno-marquage est évalué en utilisant l'échelle présentée dans le **tableau IV**. Le résultat de cette évaluation aboutit à des scores de 0 à 3+.

**Tableau IV** : Grille d'évaluation de l'intensité de la coloration par IHC (PENAULT-LLORCA *et al.*, 2002)

Score	Marquage	Interprétation	Indication thérapeutique anti-HER2 (Herceptine)
0	Absence de marquage ou présence de marquage membranaire <10% des cellules invasives.	Négatif	Non
1+	Marquage membranaire faible et incomplet >10% des cellules invasives ( <b>Figure N° 43</b> ).	Négatif	Non
2+	Marquage membranaire faible ou modéré et complet > 10% des cellules invasives ou Marquage membranaire fort et complet < 30% des cellules invasives ( <b>Figure N°29</b> ).	Cas douteux	Oui ou Non selon l'après-contrôle.
3+	Marquage membranaire fort et complet > 30% des cellules invasives ( <b>Figure N° 42</b> ).	Positif	Oui

Les cas douteux (2+) peuvent être contrôlés par les techniques d'hybridation in situ, telles que la FISH qui consiste en l'hybridation de l'ADN tumoral avec des sondes fluorescentes, le but

étant de détecter l'amplification du gène. En effet, les acides nucléiques, moins sensibles à la fixation que les épitopes antigéniques, permettent de contrôler les cas 2+ douteux de l'IHC. De plus, les dernières recommandations de 2018 (mise à jour) ne définissent plus que 2 catégories (positif ou négatif) selon le score obtenu (WOLFF *et al.*, 2018).



**Figure N°29** : Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 douteux (score 2+) montrant un marquage faible mais complet (flèche) au faible et au fort grossissement (lame hors-série).

- **Lecture des résultats de l'expression de la protéine LMP1**

Dans le cas de la protéine LMP1 d'EBV, la coloration nucléaire avec l'anticorps LMP1, indépendamment de l'intensité de la coloration et du pourcentage de cellules colorées a été considérée comme une expression positive à LMP1.

### *1-2-2 Méthodes statistiques*

- **Recueil des données**

Les résultats anatomopathologiques des trente patientes, utilisés pour notre étude statistique ont été obtenus suite aux analyses macroscopiques, histologiques, immunohistochimiques puis microscopiques que nous avons réalisé en collaboration avec le médecin anatomopathologiste. Ces résultats sont présentés dans **l'annexe V**.

- **Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats de nos trente patientes (étude prospective) s'est déroulée en deux temps :

- La première étape a consisté en une **étude descriptive** des variables de notre population :
  - ✓ Localisation de la tumeur et facteurs pronostiques classiques (âge, type histologique, taille de la tumeur « stade T du TNM », envahissement ganglionnaire « stade N du TNM », statut métastatique « stade M du TNM », grade SBR) ;
  - ✓ Expression des récepteurs hormonaux et score de l'HER2.
  - ✓ Expression de l'oncoprotéine LMP1 ;
  
- La deuxième étape consiste en une **étude analytique** qui repose sur la recherche d'associations et de corrélations entre les diverses données anatomo-pathologiques.

- **Fiabilité des résultats**

Vu que la fiabilité des résultats repose sur des règles de bonnes pratiques techniques, nous avons traité nos trente échantillons en respectant rigoureusement un protocole optimisé. Dans notre évaluation immunohistochimique, nous avons suivi les consignes pratiques du guide DAKO des RH, de LMP1 et de l'hercepTest. Nous avons systématiquement utilisé des témoins internes ainsi que les témoins externes fournis par les kits DAKO. Ces témoins permettent d'assurer la qualité de la technique immunohistochimique.

**-Témoin interne (Glande non tumorale) :** l'échantillon à analyser doit inclure du tissu mammaire non tumoral. Le prélèvement de ce témoin interne se fait à l'interface entre la tumeur et le tissu environnant. Dans le cas des RH, c'est le marquage de ce témoin interne qui permettra de valider la technique en cas de négativité de la composante carcinomateuse invasive car les RE et RP sont exprimés par le tissu mammaire normal et représentent donc un bon témoin interne positif ([WALKER, 2008](#)). Dans certains cas, il y a absence de marquage du témoin interne, on suspecte alors des problèmes techniques, mais cela peut également être dû à des variations physiologiques (pré-ménopause). Dans le cas de l'HER2, le témoin interne ne doit pas présenter de marquage membranaire complet (témoin négatif). Dans le cas de la protéine LMP1, l'anticorps ne doit pas marquer le tissu sain.

-**Témoins externes** (lames de contrôle) : dans le cas des RH, ce sont des lames de contrôle qui contiennent deux lignées cellulaires : pour le RE, l'une se colore avec l'anticorps anti RE et l'autre ne se colore pas. Pour le RP, l'une des lignées se colore avec l'anticorps anti RP l'autre ne se colore pas. Deux lames de contrôle doivent donc être colorées à chaque procédure.

Dans le cas de l'HER2, les lames de contrôle contiennent trois lignées cellulaires présentant des intensités différentes (0, 1+, 3+). Il suffit de colorer une seule lame à chaque procédure. L'évaluation des lignées cellulaires des lames de contrôle fournies par Dako indique la validité du cycle de coloration. Les lames témoins doivent être utilisées dans les deux mois car, au-delà, leur réactivité devient aléatoire.

Dans le cas de la protéine LMP1, le témoin négatif utilisé est le *FLEX Negative Control Mouse*, (link) IR7 et le témoin positif est un tissu de lymphome de Hodgkin déjà testé positif pour LMP1 dans notre laboratoire.

Dans notre service, il existe également des contrôles internes réguliers en raison des différences techniques (fixation, inclusion...etc.) qui dépendent de l'opérateur aboutissant à des résultats pouvant avoir des variabilités significatives. Il est également recommandé de consulter les consignes de contrôle de qualité du *College of American Pathologists (CAP) ou Certification Program for Immunohistochemistry* du document CLSI.

Cependant, notre étude présente également des points faibles, en particulier :

- Non réalisation des analyses en triplicate permettant une analyse statistique plus cohérente ;
- Existence d'un risque d'obtention de faux positifs dans le cas de la détection d'une expression basale d'HER2 et non de la surexpression (PENNAULT-LLORCA et al., 2002) ;
- L'absence de suivi des patientes rendant impossible l'estimation du taux de mortalité ainsi que l'évolution de nos patientes suite aux thérapies ;
- L'impossibilité de réaliser une étude des facteurs de risque, en raison de l'absence de certains renseignements sur les dossiers des malades tels que l'âge de la ménarche, l'âge de la première grossesse, l'âge de la ménopause...etc,

## 2- Résultats et discussion

Le potentiel oncogénique d'EBV dans le cancer du sein présente toujours quelques controverses. L'évaluation de l'expression de la protéine virale LMP1 vise donc à prouver l'implication de l'EBV dans ce type de cancer.

Ainsi, notre étude prospective a pour but de répondre à la question de départ en définissant les intérêts pronostiques et thérapeutiques de certains facteurs d'une part et de prouver l'association EBV-cancer du sein d'autre part. Pour cela, nous avons traité deux parties : l'étude descriptive des facteurs pronostiques, l'expression de la protéine LMP1 d'EBV et l'étude analytique qui consiste en la détermination de relations et de corrélations des facteurs pronostiques entre eux et avec la présence d'EBV.

### - Description de l'étude prospective et analyse des résultats

Notre population est constituée de trente patientes présentant un carcinome mammaire dont la première ligne de prise en charge était la réalisation d'une mastectomie. Notre effectif était majoritairement constitué de femmes, cela s'explique par le fait que le sexe masculin n'est concerné que dans 1% des cas ([GLOBOCAN, 2012](#) ; [INCa, 2016](#)).

Nous avons utilisé l'immunohistochimie pour l'évaluation du statut des RH, HER2 et de l'expression de la protéine LMP1. Notre lecture et interprétation des résultats répondent aux critères recommandés par la majorité des auteurs.

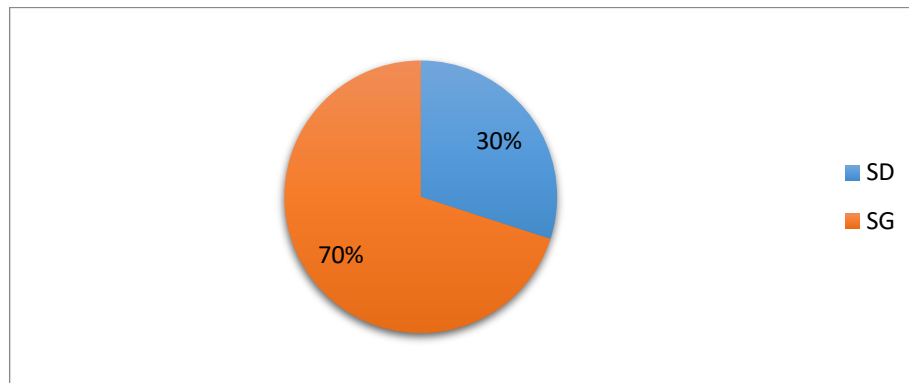
Nous allons présenter puis commenter nos résultats et discuter leur fiabilité en précisant les points forts (assurance qualité) et les limites de notre étude. Nous allons également comparer nos résultats à ceux de la littérature, tout en tentant d'expliquer les causes des éventuelles divergences qui pourront surgir de cette étude.

#### 2-1-Etude descriptive

L'étude descriptive a pour but d'évaluer les diverses variables de notre population : les caractéristiques de la tumeur, les facteurs pronostiques et la présence ou l'absence d'EBV.

### 2-1-1-Localisation de la tumeur

Dans notre étude, 70% des tumeurs ont été retrouvées dans le sein gauche (21 cas) contre 30% dans le sein droit (09 patientes) (**Figure N°30**).



**Figure N° 30** : Répartition des tumeurs (Sein droit (SD), Sein gauche (SG)).

Notre résultat avec une localisation fréquente dans le sein gauche a également été retrouvé dans plusieurs autres études, notamment des études maliennes telles que celle de [LUTULA \(2008\)](#) qui trouve un pourcentage de 53,13%, l'étude de [KEITA \(2005\)](#) qui note 52% de seins gauches atteints et l'étude de [FOUHI et al., \(2020\)](#) qui note un pourcentage de 50,2%.

Notre résultat se rapproche beaucoup plus mais reste supérieur à celui de l'étude de [DIALLO \(2006\)](#) avec 60,4% de tumeurs localisées dans le sein gauche ainsi qu'à l'étude de [WELE \(1998\)](#) qui retrouve un pourcentage de 64,9%. Cependant, l'étude de [MANSOURI \(2017\)](#) à Marrakech présente un résultat différent du nôtre avec une prédominance des tumeurs dans le sein droit. Cette localisation fréquente des tumeurs dans le sein gauche peut être expliquée par l'hypothèse des habitudes neurocomportementales d'allaitement ([SANCHEZ et al., 2004](#)). En effet, ce dernier est un facteur différenciant des cellules mammaires. Les lobules continuent donc à se différencier même après la grossesse perdant alors leur capacité proliférative. De plus, il existe aujourd'hui des données probantes qui démontrent un risque à vie 26% plus faible lorsque la femme passe au moins 12 mois à allaiter ses enfants ([HOYT-AUSTIN et al., 2020](#)).

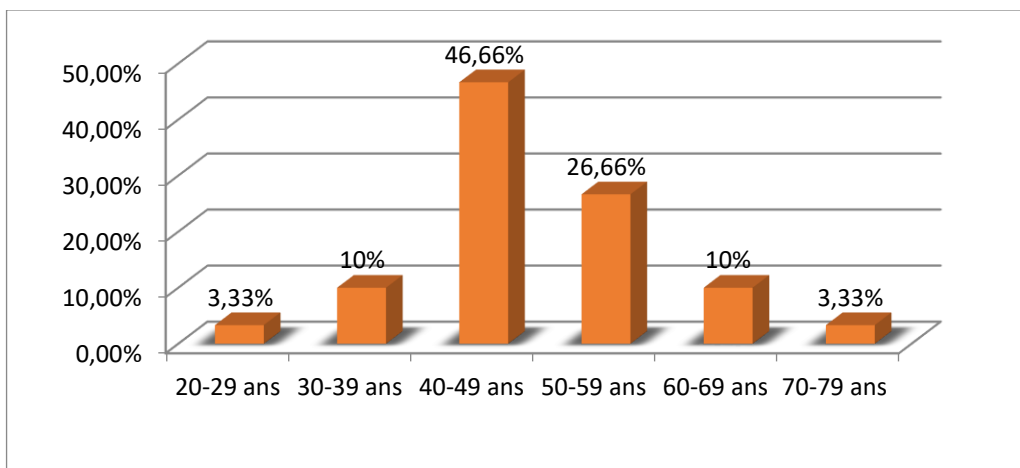
Dans notre série, aucun cas d'atteinte bilatérale n'a été retrouvé, ce qui concorde avec les données de la littérature qui stipulent que seuls 1 à 2 % des cas présentent simultanément un

cancer des deux côtés (MANSOURI, 2017). Certaines séries ont confirmé cette information telle que l'étude de KEITA réalisée en 2005, l'atteinte des deux seins est en effet représentée par un pourcentage de 1,4%.

## 2-1-2 Facteurs pronostiques classiques

### 2-1-2-1 Age des patients

L'âge de nos patientes varie entre 27 et 74 ans avec une moyenne d'âge de 49 ans. La tranche d'âge la plus touchée est celle des patientes âgées entre 40 et 59 ans, elle représente plus de 70% des cas de notre échantillon. En effet, la tranche d'âge la plus représentée est celle de 40 à 49 ans (47%), suivie de la tranche 50-59 avec un pourcentage de 27%. (Figure N° 31)



**Figure N° 31 :** Répartition des patientes par tranche d'âge.

Dans notre série, la moyenne d'âge des patientes est de 49 ans, un âge très proche de celui estimé dans la wilaya de Sétif qui est de 50,2 ans (BENDIB, 2023) ainsi que les moyennes estimées dans les pays maghrébins tel que la Tunisie, 50 ans (KHANFIR *et al.*, 2006), le Maroc avec une moyenne de 48,1 ans à Casablanca (EL FOUHI *et al.*, 2020), 50,7 ans à Rabat (TAZI *et al.*, 2013), 51,6 ans à Marrakech (MANSOURI, 2017). L'âge moyen que nous avons obtenu reste tout de même relativement inférieur à celui observé en France (STAUB *et al.*, 2007).

Cependant, ce résultat ne concorde ni avec les dernières données du registre du cancer de la wilaya de Tizi-Ouzou, ni avec les données nationales. Toutes deux enregistrent une forte hausse des cas de cancer du sein chez la femme jeune (inférieure à 35 ans).

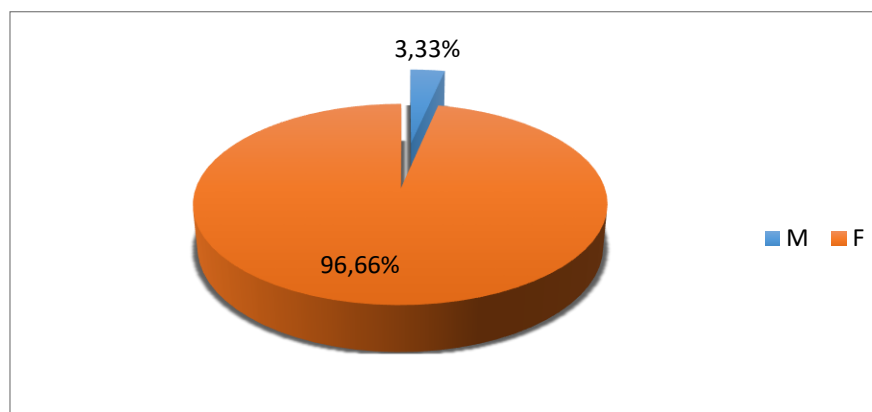
Nos résultats révèlent également que la tranche d'âge la plus touchée est celle des patientes âgées entre 40 et 49 ans avec 14 cas sur trente soit un pourcentage de 47%. Ce résultat concorde avec celui d'une étude Malienne (DIALLO, 2007 ; ZAKI *et al.*, 2013).

Les tranches d'âge les moins représentées sont celles des patientes âgées entre 20 et 29 et entre 70 et 79 ans avec un seul cas pour chacune des deux. Le taux réduit de femmes âgées qui consultent pour un cancer du sein suspect, en plus de l'espérance de vie Algérienne qui ne dépasse pas les 70 à 80 ans expliquent notre résultat de 3% qui représente la tranche d'âge entre 70 et 79 ans.

Dans notre étude, aucune patiente de moins de 20 ans n'a été retrouvée. Il est à noter que le cancer du sein de la femme jeune est de plus mauvais pronostic. Le seuil de 35 ans a été fixé par un consensus international. Ainsi, un cancer du sein qui atteint une femme d'âge inférieur à 35 ans est toujours de pronostic défavorable même après prise en compte des autres facteurs pronostiques (KEEGAN *et al.*, 2012). De plus, le taux de récurrence locale et de survie globale sont moins favorables 10 ans après le diagnostic dans la tranche d'âge sus-décrite, comparativement aux femmes âgées de 46 ans et plus. Dans l'étude en question, les patientes de moins de 35 ans ont obtenu un taux de survie globale de 10 ans moins favorable (73%) que les femmes plus âgées (75%) (BILLENA *et al.*, 2020).

#### 2-1-2-2 Sexe

Dans notre série, le sexe masculin est représenté par un seul patient sur trente, soit un pourcentage de 3,33% (figure N°32).



**Figure N°32 :** Répartition des patients selon le sexe.

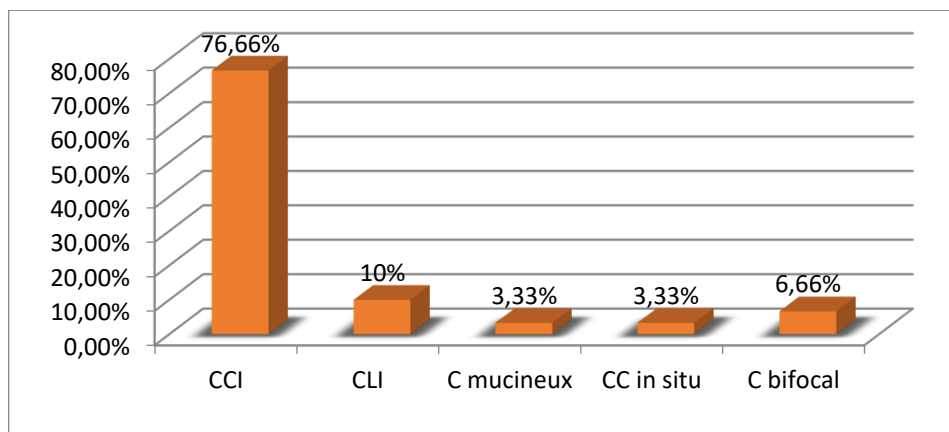
Le cancer du sein est un cancer féminin, le faible pourcentage que nous avons noté (représenté par un seul cas), rejoint les résultats de la plupart des auteurs. L'étude Malienne de [TRAORE \(2008\)](#) en fait partie, elle note 1,5% d'hommes atteints, [FOUHI et al., \(2020\)](#) ont trouvé 0,9 %.

Cette rareté chez l'homme peut être expliquée par le caractère atrophique de la glande mammaire, la finesse des canaux galactophores, l'absence d'acini et l'abondance du tissu fibreux ([COULIBALY, 2006](#)).

Selon les résultats des recherches actuelles, le principal facteur étiologique chez l'homme demeure la gynécomastie.

### 2-1-2-3 Type histologique

Dans notre série, 77% de nos patientes présentent un CCI de 10%, un CLI d'environ 7% un carcinome bifocal et seul 3,33% de patientes présente un CC *In situ* et un carcinome mucineux (**Figure N°33**).



**Figure N°33 : Répartition selon le type histologique.**

Le type histologique majoritaire et largement dominant est le carcinome canalaire invasif (infiltrant) retrouvé dans 77% des cas (23 patients). Ce résultat est en accord avec l'étude de [FOUHI et al., \(2020\)](#) qui observe 73,2% de CCI.

Notre résultat est également proche mais un peu plus bas que celui obtenu dans l'étude française réalisée par [CECILE en 2015](#) qui a noté un pourcentage de 82%, de l'étude Iranienne de [MOHAMMADIZADEH et al., \(2014\)](#) qui trouve un pourcentage de 96,3% et de l'étude Marocaine de [HAMMAS \(2009\)](#) avec un pourcentage de 86%.

Dans notre série, le carcinome lobulaire infiltrant est retrouvé dans 10% des cas, tout comme l'étude CECILE de 2015 où il est représenté par 14%, des résultats qui sont donc relativement proches. Dans la littérature, ce type spécial de carcinome mammaire est représenté jusqu'à 15% de tous les cas de cancer du sein et est connu pour son schéma de croissance discohésive lié à l'absence de fonction E-Cadhérine. C'est un type histologique qui en général, est caractérisé par la positivité des RH et la négativité de l'HER2 (Mc CART REED *et al.*, 2021).

Ces types rares, tels que les carcinomes bifocal, *in situ* et mucineux qui ont une meilleure survie, sont représentés tous les trois dans notre série par un pourcentage de 13,32%. Un résultat qui reste tout de même élevé par rapport aux 4 % noté dans l'étude CECILE de 2015, bien que le pourcentage de carcinome mucineux qui est représenté par 3,33 % concorde avec la littérature qui suggère un pourcentage de 4% de l'ensemble des cancers invasifs du sein avec un taux de survie de 90% à 10 ans (LEI *et al.*, 2016).

#### 2-1-2-4 Taille tumorale « stade T du TNM »

La taille tumorale constitue un facteur pronostique important. Cette dernière est évaluée chez les trente patients que nous avons suivis. Les stades T<sub>x</sub>, T<sub>0</sub> ainsi que T<sub>4</sub> n'ont pas été retrouvés dans notre série. 60% de nos patients présentent des tumeurs en stade T<sub>2</sub>, 26,66% en stade T<sub>1</sub> et seulement 13,33% en stade T<sub>3</sub> (Figure N° 34).

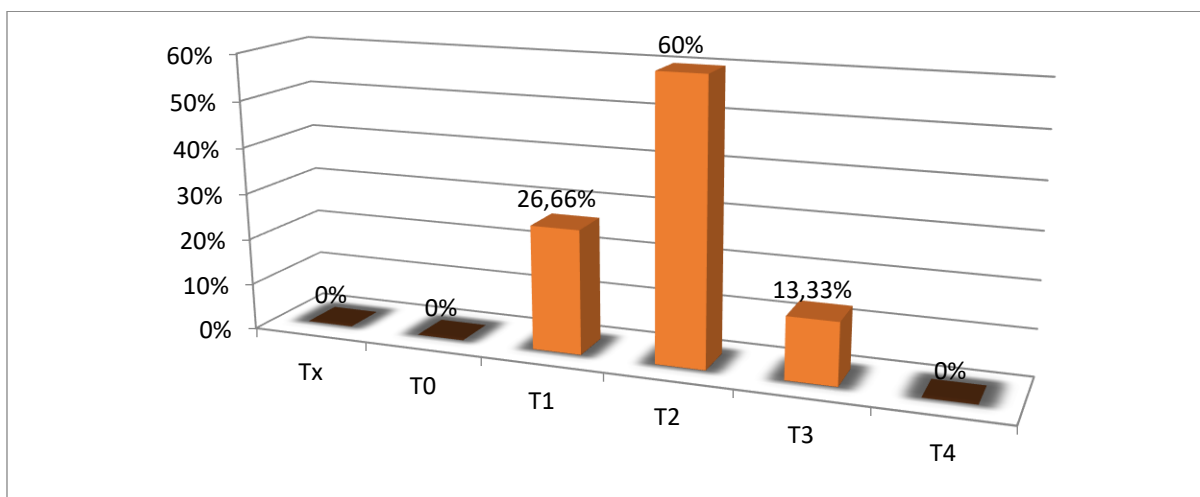


Figure N° 34 : Répartition selon la taille T du TNM.

L'absence de stade T<sub>x</sub> dans notre série concorde avec le résultat de [WELE \(1998\)](#) et [KEITA \(2005\)](#). Cependant, il discordé avec celui de [\(MARTY et al., 1992\)](#) qui trouve 1,7 % de patients présentant des tumeurs non évaluables. Nous n'avons également pas trouvé de patients présentant des tumeurs de stade T0 et ce, tout comme dans l'étude de [KEITA \(2005\)](#), de [DIALLO \(2007\)](#), de [LUTULA \(2008\)](#) et de [KOUALI \(2017\)](#) qui n'ont pas eu de malades qui soient vues au stade T<sub>0</sub>, alors que la série Européenne de [MARTY et al., \(1992\)](#) présente des malades à ce stade avec un taux de 5,4%.

L'existence de cas T0 dans l'étude Européenne qui a eu lieu en 1992 et leur absence dans les études Maliennes effectuées en 2005 pour [KEITA](#) et 2007 pour [DIALLO](#) ou encore l'étude Marocaine de [KOUALI de 2017](#) ainsi que dans notre étude, témoigne d'un manque de moyens de dépistage par rapport à l'Europe, du manque d'information de nos patientes, d'un grand retard de consultation qui aboutit à un dépistage tardif qui, malheureusement, peut conduire à une fin fatale.

La taille tumorale majoritairement représentée dans notre échantillon est **T2** (2 cm < tumeur ≤ 5 cm) avec 18 cas sur 30 soit un pourcentage de 60% ce qui concorde avec le résultat de l'étude Sétifiènnne qui note une majorité de stade T2 à hauteur de 50,9% ([BENDIB, 2023](#)).

Le résultat de l'étude Française de [MARTY et al., \(1992\)](#) se rapproche mais reste tout de même inférieur au nôtre avec un pourcentage de 45,5%, celui de l'étude Marocaine quant à lui est de 50% ([KOUALI, 2017](#)).

Il est à noter que dans les cancers du sein métastatiques, la petite taille tumorale T1, T2 (<5cm) n'est pas forcément inversement corrélée à la mortalité spécifique au cancer du sein. Cette dernière ne diminue pas parallèlement à la taille tumorale ([ZHENG et al., 2020](#)).

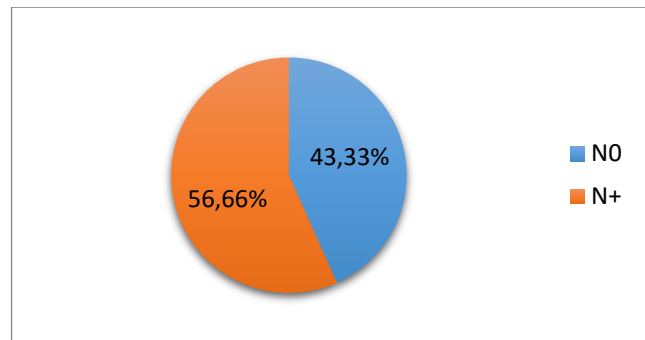
Plusieurs études ont noté des résultats avec une prédominance du stade T<sub>3</sub> notamment, l'étude de [KEITA \(2005\)](#) avec 48%, l'étude de [DIALLO \(2007\)](#) avec 60,9%, l'étude de [LUTULA \(2008\)](#) (75,8%) et l'étude de [COULIBALY \(2009\)](#) avec 49,4%, alors que dans notre étude seul 13,33% des patientes présentent des tumeurs de stade T3. La prédominance de ce stade peut être expliquée par le fait que les patients sont consultés tardivement et par l'absence de dépistage systématique dans les pays en voie de développement.

Le taux de patientes présentant des tumeurs avec extensions, c'est-à-dire en stade T4 est de 0% dans notre série joignant ainsi, le résultat observé sur la série Marocaine de [KOUALI \(2017\)](#). Alors que plusieurs études ont eu des patientes en stade T4, à différentes proportions.

Notamment, l'étude de [DIALLO \(2007\)](#) qui ne note que 6,5% et la série de [WELE \(1998\)](#) où le stade T4 s'élève à 57,3% de cas. Nous pouvons conclure probablement à une légère avancée en termes de dépistage ces dernières années, en particulier dans les pays en voie de développement.

#### 2-1-2-5 Envahissement ganglionnaire « stade N du TNM »

Le principal caractère pris en compte pour prédire l'agressivité et l'évolution d'un cancer est l'atteinte ganglionnaire locorégionale qui constitue le mode métastatique le plus fréquent. Le stade N a été évalué chez la totalité de nos patientes. Il a été négatif (N<sub>0</sub>) chez 13 patientes (43%) et positif (N<sub>+</sub>) chez 17 patientes soit un pourcentage de 57% (**Figure N° 35**).

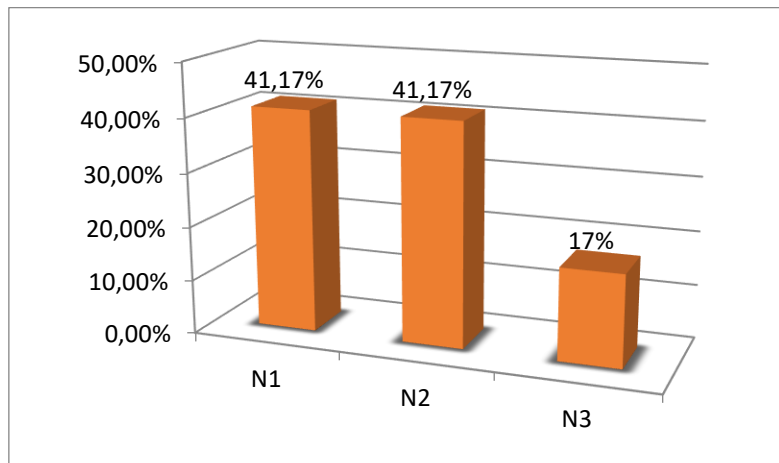


**Figure N° 35** : Répartition selon l'atteinte des ganglions.

Ces résultats discordent avec ceux de la majorité des études qui, de manière générale, notent environ 20% des cas au stade N<sub>0</sub> contre 80% au stade N<sub>+</sub>. En effet, l'étude Malienne de [THIAM \(2003\)](#) note 20,9% de stade N<sub>0</sub> contre 79,1% de stade N<sub>+</sub>. [KEITA \(2005\)](#) et [DIALLO \(2007\)](#) aboutissent à des résultats identiques avec 20% de stades N<sub>0</sub> et 80% de stades N<sub>+</sub>. Leurs résultats se rapprochent également de ceux de [THIAM \(2003\)](#) et de [LUTULA \(2008\)](#). Des études Marocaines effectuées plus récemment ont abouti à des pourcentages de N<sub>+</sub> encore plus bas que le nôtre, 30% par [\(KOUALI, 2017\)](#) et 35,7 % par [FOUHI et al., \(2020\)](#).

La discordance de nos résultats avec ceux de la littérature peut être expliquée par une prise de conscience de nos patientes due à une forte augmentation du taux de cancer du sein dans notre wilaya ou bien, suite à de bonnes sensibilisations effectuées par les diverses associations d'aide telle que l'association EL FADJR, aboutissant à une augmentation des consultations de dépistage. Par conséquent, les patientes de nos jours découvrent leur maladie à un stade plus précoce notamment avant une atteinte des ganglions par les métastases.

Dans notre série, 57% des patientes sont au stade N+ contre 43% au stade N<sub>0</sub>. Sur les 57% de patientes présentant des métastases ganglionnaires (N+), 41% sont au stade N<sub>1</sub> (07 cas), 41% au stade N<sub>2</sub> (07 cas) et seulement 17% au stade N<sub>3</sub> (03 cas) (**Figure N°36**). Ces résultats confirment notre hypothèse de meilleure prise en charge de nos patientes en termes de dépistage. Cependant, un retour en arrière sera forcément observé si on prenait une série de patientes suivie pendant la pandémie de la covid19. Cette dernière a provoqué un retard de consultation, de diagnostic et d'initiation du traitement. En effet, une étude américaine l'a clairement prouvé avec un retard moyen d'initiation du traitement de 32 jours dans le cas du cancer du sein, suivi par un taux de mortalité à 5 et 10 ans qui augmente significativement selon le stade du cancer ([CONE et al., 2020](#)).



**Figure N°36** : Répartition des ganglions positifs selon le stade N du TNM

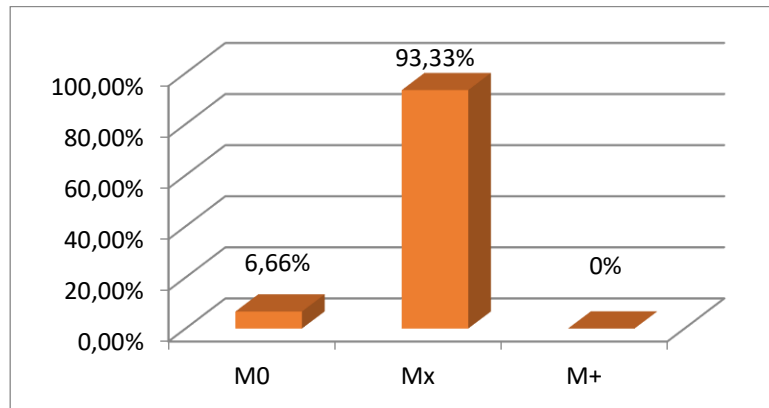
Nos résultats concordent avec la littérature notamment avec l'étude de [KEITA \(2005\)](#) et celle de [DIALLO \(2007\)](#) qui notent respectivement 54,41% et 90% au stade N<sub>1</sub>, 41,17% et 7,5% au stade N<sub>2</sub> et 4,41 et 2,5% en stade N<sub>3</sub>. Ces résultats sont différents entre eux et des nôtres mais se ressemblent du fait que tous sont relativement décroissants.

Seule l'étude Malienne de [THIAM \(2003\)](#) discordes avec ce raisonnement. En effet, ce dernier note une majorité de stade N<sub>3</sub> (10 patientes sur 43 soit 23,3%).

#### 2-1-2-6 Statut métastatique « stade M du TNM »

Le statut M du TNM représente la localisation secondaire des métastases c'est-à-dire en dehors des métastases ganglionnaires représentées par le statut N. L'évaluation des métastases à distance est un facteur pronostique et signe d'un cancer évolué.

La majorité des patientes formant notre échantillon est classée en stade M<sub>x</sub> 93,33% soit 28 malades. En effet, les métastases de ses dernières n'ont pas pu être classées par manque de renseignements. Seules 2 malades ne présentent pas du tout de métastases à distance M0 (6,66%) et aucune malade n'est classée en stade M<sub>+</sub> (**Figure N°37**).



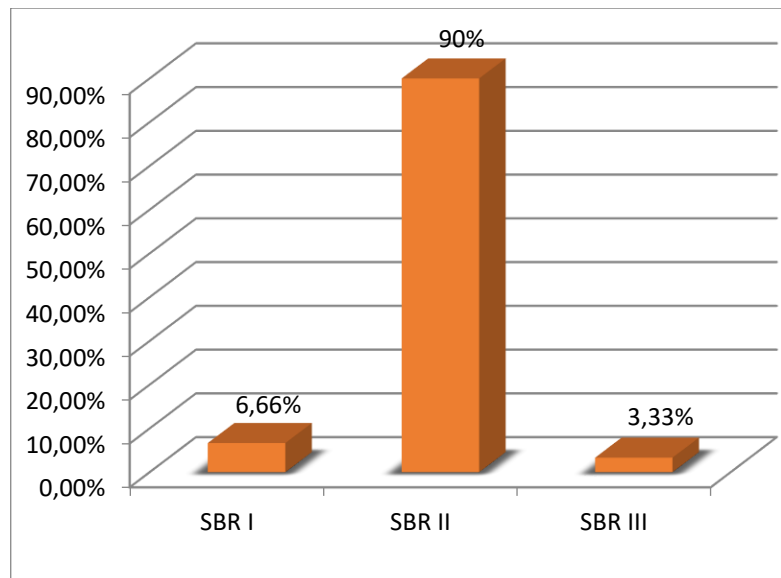
**Figure N°37** : Répartition selon le statut métastatique.

L'absence de renseignements permettant de classer les métastases de nos patients (M<sub>x</sub>) représenté par 93,33% fait que nos résultats discordent fortement avec ceux de la littérature. En effet les deux études marocaines [HAMMAS \(2009\)](#) et [LAMRAHI \(2011\)](#) qui ne notent aucune patiente en stade M<sub>x</sub>, s'accordent sur un pourcentage majoritaire de stade M0, avec respectivement 87,3% et 95% contre seulement 12,7% et 05%, alors que dans notre série, seule 6,66% de patientes ont été observées en stade M0 et aucune patiente ne présente des métastases bien objectivées M<sub>+</sub>.

#### 2-1-2-7 Grade SBR

Le grade SBR est un facteur de pronostic indépendant de la taille et de l'état des ganglions. En effet, il tient compte de trois critères (degré de différenciation, anisonucléose et activité mitotique). Mais, bien que beaucoup d'études aient confirmé sa signification pronostique, la variabilité inter-observateurs et la petite part de subjectivité avec laquelle sont attribuées les notes des trois critères, demeurent un souci important qui fait que le grading SBR n'est pas un facteur pronostique fort.

Le grading a été effectué pour l'ensemble de nos patientes. Le grade SBR majoritairement retrouvé est le grade II avec 90% de cas (27 patientes), suivi du grade I avec 6,66% des cas (02patientes) et enfin du grade III avec 3,33% (1 patiente) (**Figure N° 38**).



**Figure N° 38** : Répartition selon le grade SBR.

Dans notre série, on note une nette prédominance du grade II, ce qui concorde avec plusieurs données de la littérature. Notamment, l'étude de [BENDIB \(2023\)](#) avec un pourcentage de 80%, l'étude [ENGELS et al \(2014\)](#) avec un pourcentage 47,9% de patientes en grade II et l'étude [FOUHI et al., \(2020\)](#) avec 55,9 %,

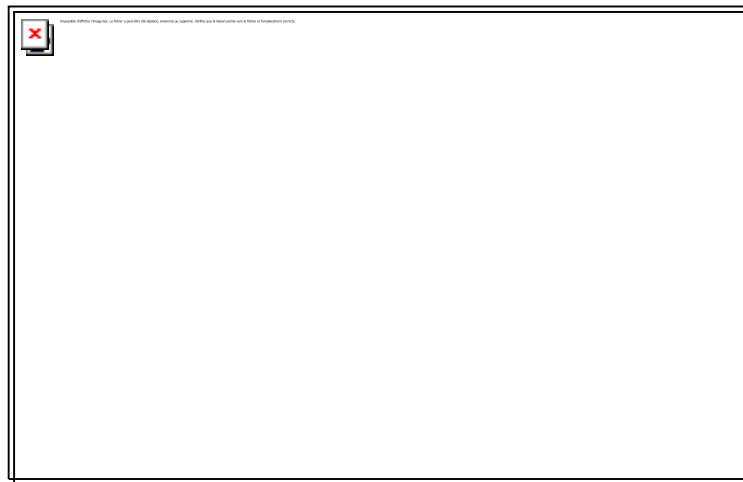
Nos résultats restent tout de même discordants avec ceux retrouvés dans certaines études ayant montré une plus forte prédominance du grade I ([BROET et al., 1998](#)) ou du grade III ([MINK et al., 1994](#)).

### *2-1-3 Nouveaux facteurs pronostiques*

#### *2-1-3-1 Expression des récepteurs hormonaux*

La détection des RH joue un rôle capital dans le choix du traitement (facteur pronostique). La détermination de la valeur de ces récepteurs joue un rôle dans la prédiction de la réponse à l'hormonothérapie (facteur prédictif) ([TREILLEUX et al., 2002](#)). Cependant, la valeur pronostique indépendante des RH reste diversement appréciée dans la littérature ([HAMMAS,](#)

2009). Les résultats des RH sont évalués par le score d'Allred. Seul le marquage nucléaire est pris en considération avec un seuil de positivité de 10% (**Figure N° 39**).

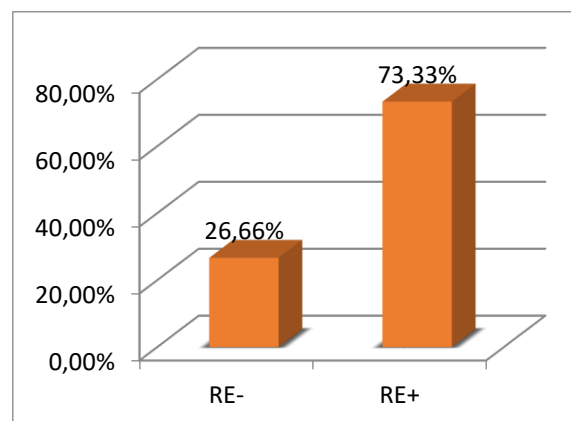


**Figure N°39** : Microphotographie d'un amas de cellules tumorales RE- avec un témoin interne positif (flèche) au grossissement x40.

#### - Expression des RE

L'évaluation de la valeur pronostique indépendante des RE est difficile. En effet, l'expression des RE est souvent associée à des facteurs de bon pronostic comme un faible grade, un âge avancé...etc. De plus, les patientes RE+ bénéficient d'une hormonothérapie si régulière qu'il est difficile d'évaluer le pronostic en dehors de l'influence du traitement (ESTEVA *et al.*, 2004). Il est à noter que la surexpression du RE $\alpha$  est un facteur pronostic et prédictif bien établi. Cependant, la signification pronostic du RE $\beta$  n'est pas bien définie (SPEIRS *et al.*, 2000).

Dans notre série, 22 patientes soit 73,33% expriment le RE, ce qui est proche du taux de 60% à 70% de la littérature. Donc, seuls 26,66% (8 cas sur 30) sont RE- (**Figure N° 40**).

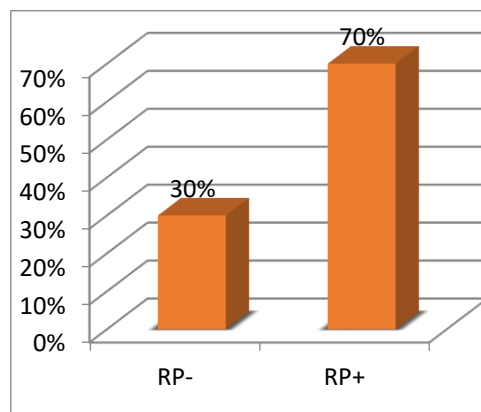


**Figure N° 40 :** Répartition des cas selon l'expression des RE.

Nos résultats sont plus élevés que ceux obtenus dans les études telles que l'étude Tunisienne de [AYADI et al., \(2008\)](#) qui notent un pourcentage de positivité ne dépassant pas 59,4%, l'étude Jordanienne d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#) qui notent un pourcentage de positivité encore plus bas 53%. L'étude d'[ANDERSON et al., \(2001\)](#) et l'étude Chinoise de [CHOW et al., \(2000\)](#) trouvent également des taux d'expression plus bas que les nôtres. Cependant, nos résultats concordent avec des études Françaises telles que celle réalisée par [VINCENT-SALOMON et al., \(2003\)](#) qui notent 68% de RE+, ainsi qu'avec l'étude de [VILLAIN et al.,\(1997\)](#) qui note un pourcentage de 70%.

- **Expression du récepteur à la progestérone**

21 patientes sur 30 (70%) présentent un profil RP+ contre 30% (09 cas) présentant un profil RP- (**Figure N° 41**).



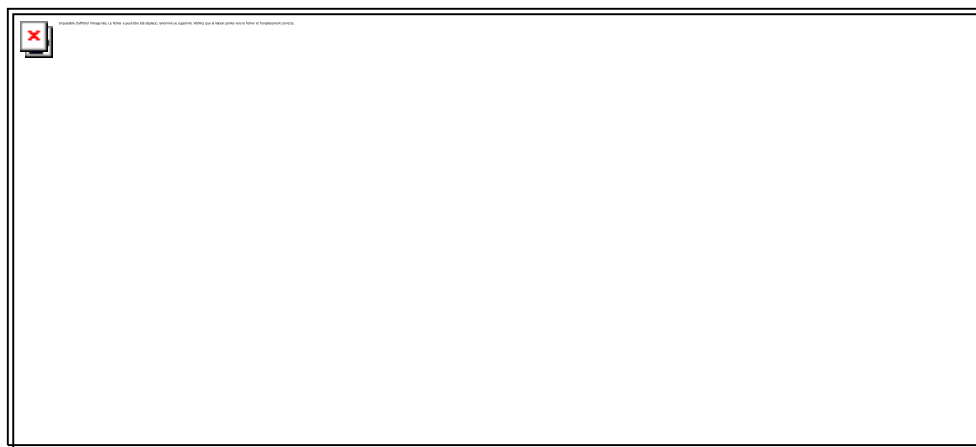
**Figure N°41 :** Répartition des cas selon l'expression des RP.

70% de nos patientes expriment le RP, ce qui rejoint le taux de 60 à 70% de la littérature. Les cas RP- sont au nombre de 09 sur 30 soit un pourcentage de 30%. Nos résultats se rapprochent fortement de ceux de l'étude Marocaine réalisée par [HAMMAS en 2009](#). En effet, cette dernière note 71,4% de RP+ contre 28,6% de RP-.

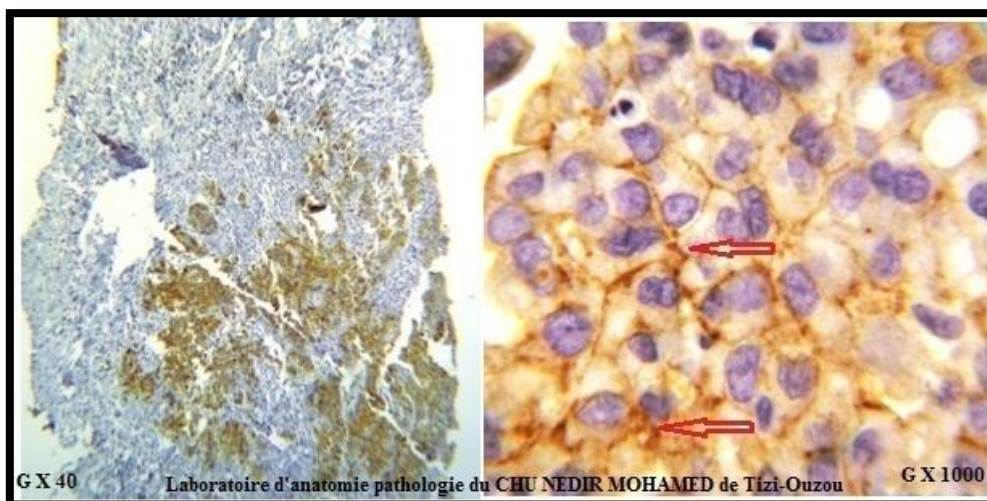
D'après [ZAFRANI et al., \(2007\)](#), les RP pourraient avoir une valeur pronostique plus forte que les RE car les patientes qui expriment les RP ont un meilleur pronostic que les autres dont la valeur du RE est moins importante. De plus, d'après [TREILLEUX et al., \(2002\)](#), la valeur des RE est plus un marqueur de la vitesse de croissance de la tumeur que du risque métastatique.

### 2-1-3-2 Expression de l'oncogène HER2

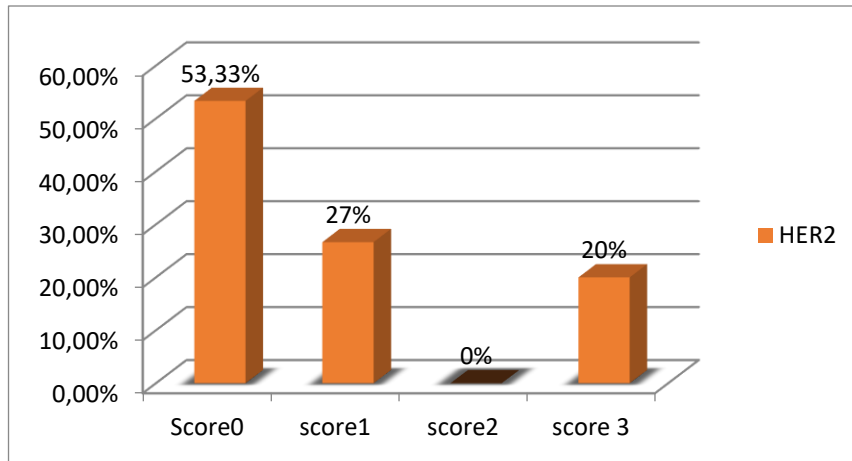
Dans notre série, 20% de nos patientes expriment la protéine HER2 (score 3) (**Figure N° 42**) contre 80% de patientes présentant un profil HER2 négatif (53,33% score 0 et 26,66% score 1) (**Figure N° 43**), nous n'avons pas eu de cas douteux score 2 (**Figure N° 44**). Dans ce cas, il est recommandé de confirmer le score en refaisant la technique ou de procéder à des techniques de biologie moléculaires (FISH : Hybridation fluorescente *in situ*, CISH : Hybridation *in situ* colorimétrique).



**Figure N°42 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 positif (score 3+) montrant un marquage fort et complet (flèche) au faible et au fort grossissement.



**Figure N° 43 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales HER2 négatif (score 1+) au faible et au fort grossissement.



**Figure N°44 : Répartition des cas selon le statut HER2**

Notre résultat concorde avec le taux de positivité de 20 à 30% mentionné dans la littérature (PAULETTI *et al.*, 2000). Il est également très proche des 22% de positivité noté par l'étude Algérienne de BENDIB (2023) et des 20,8% de surexpression notés par l'étude Danoise réalisée par RASSMUSSEN en 2008.

Notre pourcentage de positivité (20%) est légèrement inférieur et discordé donc avec celui de plusieurs études, telles que l'étude Australienne de BILOUS *et al.*, (2003) qui note 26% de positivité, l'étude Tunisienne de AYADI *et al.*,(2008) note également 26% d'HER2+, l'étude Jordanienne d'ALMASRI *et al.*, (2005) présente un pourcentage de positivité de 24%. L'étude Marocaine de MANSOURI, réalisée en 2017 note un haut pourcentage de positivité qui s'élève à 87%, il est à noter que l'étude s'est beaucoup plus intéressée au cas HER2+ (MANSOURI, 2017).

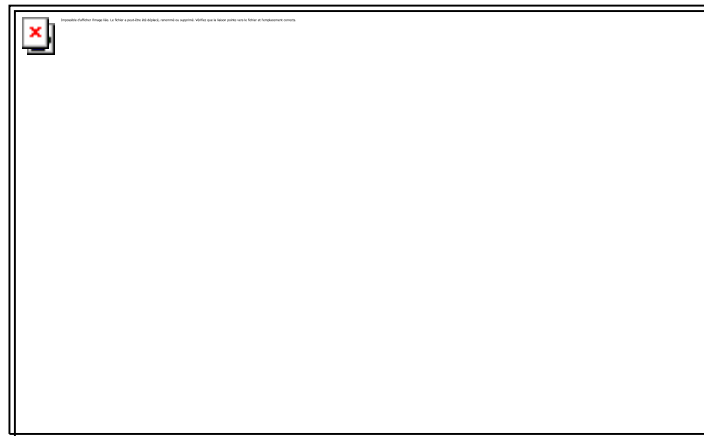
Il est à noter que l'évaluation du statut HER2 présente un intérêt thérapeutique. En effet, les patientes présentant une surexpression de cet oncogène bénéficient d'une thérapie ciblée basée sur un traitement avec la Trastuzumab (Herceptine). Il est également important de connaître le statut HER2 du fait que la surexpression est associée à une mauvaise réponse de certaines molécules de chimiothérapie telles que les Doxorubicines, le Fluorouracil...etc.

Les patientes présentant des RH positifs doivent normalement bénéficier d'une hormonothérapie. Cependant, lorsqu'ils présentent une surexpression de l'HER2, la thérapie hormonale au tamoxifène se révèle inefficace ou même nuisible et nocive (MENARD *et al.*, 2000).

La valeur pronostique indépendante de l'HER2 a été difficile à établir car la majorité des études étaient rétrospectives utilisant des méthodes d'évaluation différentes. Cependant, une multitude d'études démontrent l'importance d'HER2 comme facteur pronostique. Selon [OFFERSEN et al., \(2008\)](#), la surexpression d'HER2 est corrélée à un mauvais pronostic chez toutes les patientes avec et sans métastases ganglionnaires.

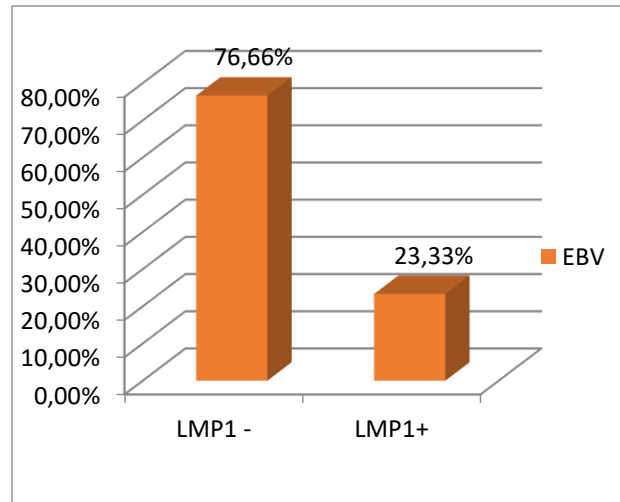
### 2-1-3-3 Expression de la protéine LMP1 d'EBV

La coloration nucléaire avec l'anticorps LMP1, indépendamment de l'intensité de la coloration et du pourcentage de cellules colorées a été considérée comme une expression positive à LMP1 alors que le tissu adjacent sain est négatif à LMP1 (**Figure N° 45**)



**Figure N°45 :** Microphotographie d'un amas de cellules tumorales positives à LMP1 montrant une coloration nucléaire.

Dans notre série, 23,33% des carcinomes mammaires expriment la protéine LMP1 qui signe de la présence du virus EBV, Le reste, soit 77% présente un profil LMP1 négatif (**Figure N° 46**).



**Figure N°46 :** Répartition des cas selon le profil LMP1

Ce résultat de 23,33% de patientes présentant un carcinome mammaire avec présence d'EBV (LMP1 détecté) est proche du 26% de positivité noté par l'étude Jordanienne réalisée en 2013 par Monsieur KHABAZ. En effet, ce dernier a utilisé deux méthodes de détection :

- La PCR (après extraction de l'ADN) à la recherche du génome viral avec les amorces EBR2, BNLF1, EBNA2 et GP220 où il note 26,08% de positivité sur les tissus tumoraux contre seulement 6,12% de positivité au niveau des tissus seins ce qui présente une différence statistiquement significative ;
- L'immunohistochimie à la recherche de l'expression de la protéine EBNA1 où il note 26% de positivité des tissus tumoraux mammaires avec une coloration nucléaire granulaire.

L'étude de SHARIFPOUR *et al*, réalisée en 2019 sur des échantillons de tissus fixés au formol et inclus en paraffine a également noté après extraction de l'ADN et réalisation d'une PCR pour la détection de l'ADN viral EBNA3 C, un pourcentage de positivité de 27,02% sur les tissus tumoraux contre seulement 11,42% pour les témoins. Un résultat qui se rapproche donc du notre.

Le méta analyse qui englobe 16 études (réalisées avec différentes techniques IHC, PCR, hybridation *in situ*), sur un total de 1279 patients et 814 témoins suggère également que l'infection à EBV est significativement associée à un carcinome du sein (JIN *et al.*, 2019).

L'étude de [MOFRAD et al réalisée en 2020](#) quant à elle, note un pourcentage de positivité qui ne dépasse pas les 6,7%. Un résultat très inférieur au notre et à ceux de plusieurs études. L'étude visait à détecter EBNA1 d'EBV après extraction de l'ADN et réalisation d'une PCR. Aucun tissu témoin n'a été marqué et toutes les patientes chez qui l'EBV a été détecté (6,7%) avaient des grades tumoraux élevés (II et III). Alors que l'étude Libanaise de [NAGI et al., de 2021](#) trouve un taux de présence d'EBV relativement élevé de 40%.

Ainsi, notre résultat confirme et élargie les rapports antérieurs qui notent des proportions différentes de positivité d'EBV dans les carcinomes mammaires (27,77% par [GHIMIJA et al en 2017](#), 29,33% de la méta-analyse réalisée par [HUO en 2012](#), 35% par [PRECIADO et al en 2005](#), 46% par [PERKINS et al en 2006](#)).

Nous savons aujourd'hui que la coïnfection par les oncovirus joue un rôle important dans l'oncogenèse humaine. Il serait donc important de s'intéresser à l'avenir à l'interaction de ces derniers et de leurs rôles possibles dans la carcinogenèse mammaire. Des recherches sur des patients pakistanais ont révélé que la coïnfection par l'EBV et les HPV à haut risque suggéraient un possible effet carcinogène synergique ([NAUSHAD et al., 2017](#)). L'étude de [NAGI](#) et son équipe a également rapporté que l'HPV à haut risque et l'EBV sont coprésents dans 29% des cas des de carcinomes mammaires étudiés. De plus cette coprésence est associée au grade tumoral ([NAGI et al., 2021](#)).

D'autres rapports se sont révélés négatifs et n'ont pas pu prouver la présence d'EBV dans les carcinomes mammaires ([DADMANESH et al., 2002](#) ; [KIJIMA et al., 2002](#) ; [DESHPANDE et al., 2002](#) et [HERMANN et al., 2003](#)).

La variabilité des résultats notés dans la littérature peut être attribuable à la diversité des techniques utilisées (IHC, PCR, ISH) pour la détection du virus, des différentes protéines qui dérivent de l'EBV ou des acides nucléiques étudiés ou encore de l'origine ethnique ([GLASER et al. 2017](#)).

La variation épidémiologique et l'âge de la première infection à l'EBV peuvent également jouer un rôle ([YASUI et al., 2001](#)).

A la lumière de ces données et de nos résultats, nous pouvons suggérer que EBV joue un rôle dans l'oncogenèse mammaire mais probablement pas en tant que facteur éthologique primaire. Du fait qu'il ne soit pas détecté systématiquement dans toutes les cellules carcinomateuses

mammaires, bien que l'EBV soit connu pour être un virus hit-and-run. En effet, même dans les cas de carcinomes nasopharyngés où le rôle de l'EBV ne se discute plus et est bien documenté, toutes les cellules tumorales ne sont pas colorées par l'anticorps (GLASER *et al.*, 2004). De plus l'expression de la protéine LMP1 par exemple, dépend du type de latence (latence II) et sa négativité n'élimine pas la présence de l'EBV (KAFE *et al.*, 1998).

Dans le cas du cancer du sein, il jouerait plutôt le rôle d'agent qui avec d'autres cofacteurs, devient capable de modifier le comportement des cellules déjà transformées, leurs conférant ainsi un phénotype plus agressif (SHARAF *et al.* 2012), hypothèse soutenue par le fait que MURRAY *et al.*, en 2003 ont remarqué que les cancers du sein EBV+ sont plus agressifs que les autres cancers du sein. Plus récemment, d'autres auteurs ont rapporté que l'expression du gène LMP1 est associé à un phénotype invasif (ABOULKASSIM *et al.*, 2015). C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à l'étude des facteurs pronostiques connus du cancer du sein sur des profils tumoraux exprimant l'EBV et plus exactement la protéine LMP1.

## 2-2 Etude analytique

Dans le but de déterminer les éventuelles associations entre les facteurs pronostiques et la présence du virus EBV, nous avons réalisé des tests statistiques sur notre population en utilisant le logiciel SPSS. Nous avons étudié nos variables deux à deux en réalisant deux types de test :

- Test exact de Fisher, tout en calculant le V de Cramer et le coefficient de contingence au seuil  $\alpha=0,05$ .
- Test de corrélation de SPEARMAN avec une marge d'erreur  $\alpha=0,05$ .

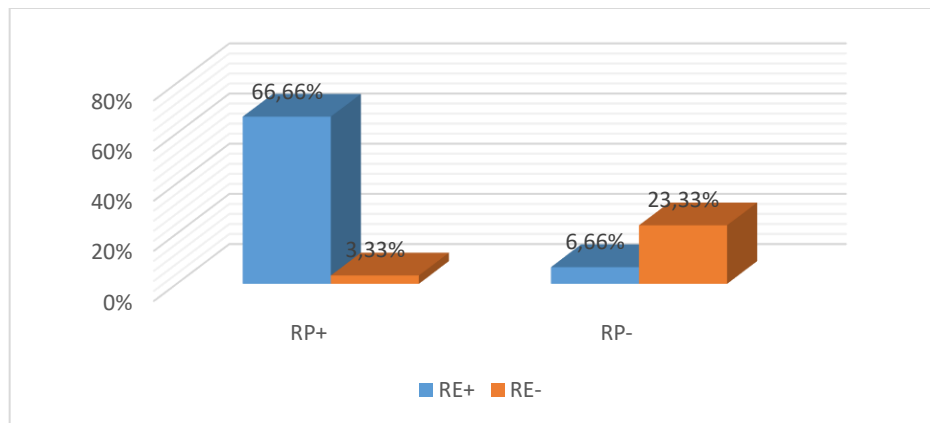
Avec les résultats notés sur cette même population, nous avons tracé des histogrammes comparatifs de l'expression de la protéine LMP1 qui note de la présence d'EBV, de l'expression des RH et de la surexpression de l'HER2 en association avec les facteurs pronostiques classiques tels que l'âge, le grade SBR...etc.

Le but de cette démarche n'est pas de déterminer la valeur pronostique de chaque facteur individuellement. En effet, il s'agit d'étudier leur association, leur valeur pronostique ainsi que thérapeutique de manière jumelée en prenant en considération l'influence des uns sur les autres, étant donné que la biologie du cancer ne se résume pas à une seule cause ou à un seul facteur, bien au contraire, il s'agit d'une maladie multifactorielle où aujourd'hui, nous évaluons un facteur viral.

### 2-2-1 Etude de la relation RE-RP

Nous avons noté l'existence d'une forte relation entre l'expression du RE et l'expression du RP avec une P value statistiquement significative et un V de Cramer de **0,757**.

Nous avons également prouvé une **corrélation positive significative** entre l'expression de ces deux récepteurs hormonaux avec un coefficient de corrélation de 0,757. Cette relation positive et corrélation entre les RE et RP rejoint les résultats de plusieurs autres études telles que l'étude Jordanienne d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#), ou encore l'étude Tunisienne de [AYADI et al., \(2008\)](#). En d'autres termes, les patientes RE+ sont généralement RP+ comme le démontre également bien la **figure N°47**.



**Figure N°47** : Corrélation des RH entre eux

Dans notre étude, nous avons noté 66,66% RE+/RP+ (**figure N°47**), un pourcentage plus élevé que ceux trouvés dans d'autres études telles que celle de [HAMMAS \(2009\)](#) qui note 55% RE+/RP+ ou celle d'[ALMASRI et al., \(2005\)](#) qui inscrit un pourcentage encore plus bas ne dépassant pas 39,5%.

Nous n'avons obtenu qu'un pourcentage de 23,33 % de patientes sous un profil RE-/RP-, que deux patientes présentant un profil RE+/RP- et une seule RE-/RP+ (figure 48). Cela est expliqué par le fait que l'expression du RP est fortement dépendante de l'expression des RE. RP est donc rarement observé dans les tumeurs RE négatives et inversement, comme le démontre bien notre test de Fisher et V de Cramer qui dépasse 0,70 prouvant ainsi une forte relation entre l'expression de ces deux récepteurs.

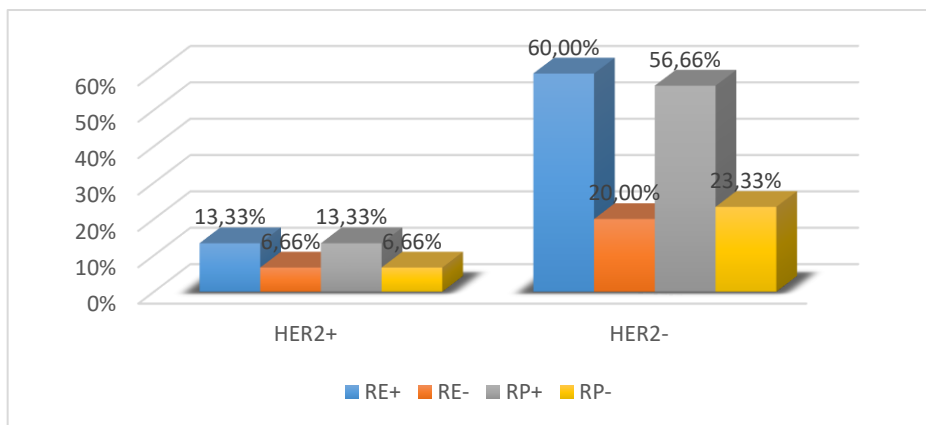
Il est à noter qu'historiquement, l'analyse du RP a été effectuée afin d'évaluer l'intégrité de la voie des RE quand la tumeur est rapportée RE-. Notre résultat concorde donc avec les données de la littérature.

Il est clair que la positivité des RH est un facteur de bon pronostic puisque les patientes bénéficieront d'une hormonothérapie. En effet, de très nombreuses études ont mis en évidence une étroite corrélation entre la présence de RH et la réponse à l'hormonothérapie ainsi qu'une corrélation entre le taux de ces récepteurs et la durée de cette thérapie antiœstrogénique (BRETTESS *et al.*, 2007). Des auteurs ont également démontré que les tumeurs RE+/RP+ répondent beaucoup mieux à l'hormonothérapie que les tumeurs RE+/RP- (ELLEDDGE *et al.*, 2000). L'intérêt des RP dans le choix d'une thérapie hormonale est encore controversé. Nous recommandons donc dans la pratique une prise en considération plus importante des RE.

#### *2-2-2 Etude des relations RE-HER2 et RP-HER2*

Il est admis dans la littérature et prouvé dans notre série que RE et RP présentent une forte relation. Nous avons alors voulu étudié le lien entre l'expression de ces deux RH et la surexpression de l'oncoprotéine HER2.

Dans notre étude, nous n'avons noté aucune relation statistique entre l'expression des RH et la surexpression de la protéine HER2. (P value RE= 0,645 > 0,05 avec un V de cramer = 0,075, et P value RP=1 avec V de cramer = 0,036 au seuil alpha=0,05). Les deux variables RE et RP ne sont donc pas liées à la variable HER2. En d'autres termes, la surexpression de l'oncoprotéine n'a aucun lien avec l'existence des RH+. Pourtant, l'histogramme de la **figure N°48** démontre clairement une tendance inversée. En effet, 60% de nos patientes qui expriment RE ne surexpriment pas l'HER2 (profil RE+/HER2-) et 56,66% des patientes RP+ sont également HER2-. On remarque ainsi que de manière générale, les patientes RH+ sont plutôt HER2-.



**Figure N°48** : Profils d'expression des RH et de l'oncoprotéine HER2

A la lumière de ces résultats, nous nous sommes penchés sur l'étude des corrélations entre ces variables, dans le but de comprendre le comportement des RH versus celui du récepteur HER2. On note alors, une corrélation inverse entre l'expression du RE et la surexpression de l'HER2 avec un coefficient de **corrélation statistiquement significatif égal à -0,75**.

Notre résultat concorde avec la littérature du fait que la majorité des études ont noté que les cas HER2 score 3 sont beaucoup plus représentés dans les cas RE- que dans les cas RE+. Environ 35% des cas RE- présentent une amplification d'HER2 contre seulement 10 à 15% RE+/HER2+ (ELISS *et al.*, 2006), dans notre étude ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.

Cette corrélation inverse concorde également avec le résultat trouvé par RASSMUSSEN (2008) et AZIZ *et al.*, (2001) ou encore celui de BORGQUIST *et al.*, (2008). Ces résultats sont expliqués par le fait que l'œstrogène supprime la transcription de l'HER2 ainsi, ce dernier induit la prolifération en l'absence de la voie RE.

Dans le cas du test de corrélation RP/HER2, nous n'avons pas pu trouver une relation statistique significative. Cependant, nous notons une tendance à une corrélation inverse avec un coefficient de SPEARMAN de -0,36. De plus cette corrélation inverse reste logique du fait qu'il y ait une corrélation positive RE/RP et une corrélation négative RE/HER2. A partir de ces données, on peut déduire que la corrélation RP/HER2 sera négative.

Dans notre série, nous avons également noté l'existence de profils triple négatifs ou encore RH+/HER2+. Ce résultat concorde avec les données de la littérature et est expliqué par le fait que bien que la corrélation inverse entre l'expression des RE et de l'HER2 soit admise, elle reste tout de même non absolue. En effet, environ 10% des cas RE+ peuvent également être HER2 + (TODOROVIC, 2005), dans notre série ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.

De manière générale, l'étude de ces trois facteurs pronostiques démontre que deux d'entre eux (RH) sont corrélés positivement et sont inversement corrélés avec le troisième (HER2).

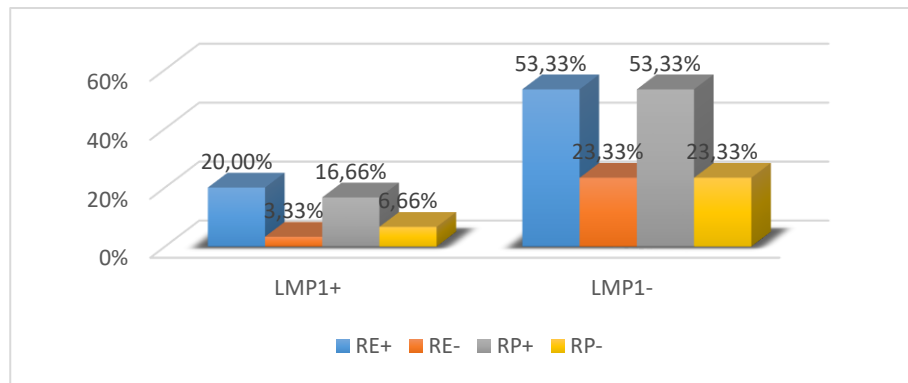
### *2-2-3 Etude de la relation RH-LMP1*

Dans notre série, aucune relation statistique entre l'expression des RH et la présence d'EBV (jugée par l'expression de la protéine LMP1) n'a été notée. (Dans le cas du RE, P value est de **0,638 > 0,05** avec un **V de cramer = 0,154**. Et dans le cas du RP, **P value= 1** avec **V de cramer = 0,017**).

D'un point de vue statistique, les deux variables RE et RP ne sont pas liées à la variable LMP1. Cela signifie que nous n'avons pas établi de lien entre la présence de la protéine virale LMP1 et l'expression des RH dans les cancers du sein.

Un résultat qui concorde avec certaines études, notamment celle de [KHAN et ses collaborateurs en 2011](#) ou encore, [SHARAF et al., \(2012\)](#) qui ne notent aucune association entre la présence d'EBV et l'expression des récepteurs stéroïdiens ou même avec l'état de ménopause.

Dans notre série, aucune corrélation statistiquement significative n'a été notée entre les RH et LMP1, contrairement aux résultats observés par plusieurs études telles que celle de [BONNET et al., en 1999](#), [FINA et al., 2001](#), [MURRAY et al, en 2003](#), [HACHANA et al, 2009](#) ou encore l'étude Française menée par [MAZOUNI et ses collaborateurs en 2011](#) qui ont démontré une corrélation inverse significative. Cela indique clairement que l'EBV est détecté plus fréquemment dans les tumeurs mammaires RH négatifs, pointant vers l'agressivité de ces tumeurs. En revanche, dans notre étude, on remarque que la majorité des patientes qui expriment les RH n'expriment pas LMP1 (figure N°49). En effet, 53,33% de nos malades présentent un profil RH+/LMP1-. Nous n'avons pas pu conclure en la corrélation inverse entre l'expression de LMP1 et la positivité des RH car la majorité des malades formant notre échantillon sont RH+. Une enquête plus élargie avec un plus grand effectif aboutira probablement à cette corrélation inverse notée dans la littérature.



**Figure N°49** : profils d'expression des RH et de l'oncoprotéine LMP1

#### *2-2-5 Etude de la relation HER2-LMP1*

Dans notre étude, nous n'avons abouti à aucune relation statistique entre l'expression de la protéine virale LMP1 et la surexpression de la protéine HER2 (P value= **0,290 > 0,05 avec un Vde cramer = 0,276**). De plus aucune corrélation statistiquement significative n'a été notée. Notre résultat concorde avec l'étude réalisée aux Emirats Arabes unis, par **KHAN et son équipe en 2011**, ainsi qu'avec l'étude Tunisienne de **HACHANA et ses collaborateurs, réalisée en 2009**. Cependant, dans la littérature il est rapporté que l'infection de certaines lignées cellulaires carcinomateuses mammaires par l'EBV induit l'activation des voies de signalisation HER2/HER et que la surexpression de l'HER2 rend les cellules tumorales mammaires hautement résistantes aux drogues chimiothérapeutiques.

#### *2-2-6 Etude des corrélations entre l'expression de LMP1 et les facteurs pronostiques classiques.*

Comme nous l'avons préalablement souligné, l'évaluation des nouveaux facteurs pronostiques permet de définir de nouveaux sous-groupes de cancer du sein. Cependant, la question de la relation entre l'expression de l'EBV et les déterminants pronostiques et clinico-pathologiques du carcinome du sein reste posée. Nous tenterons donc, d'y répondre dans la seconde partie de ce travail. Le but étant, également de savoir comment tous ces facteurs influencent le pronostic global ?

Dans notre série, nous n'avons noté aucune corrélation statistiquement significative entre l'expression de la protéine LMP1 de l'EBV et les facteurs pronostiques classiques à savoir :

l'âge des patients, le grade SBR, la taille tumorale ou encore l'envahissement des ganglions lymphatiques (**Tableau V**).

**Tableau V** : Corrélations entre l'expression de la protéine LMP1 et les déterminants clinico-pathologiques du carcinome mammaire

	<b>P value</b>	<b>Coefficient de corrélation</b>	<b>Signification</b>
<b>LMP1-Age</b>	0,680	-0,078	Non significatif
<b>LMP1-SBR</b>	0,564	0,19	Non significatif
<b>LMP1-T</b>	0,442	-0,146	Non significatif
<b>LMP1-N</b>	0,092	-0,313	Non significatif

Cette absence de lien et de corrélation statistiquement significative entre le développement d'un carcinome du sein avec une infection à l'EBV et les quatre facteurs pronostiques sus-étudiés a également été notée par [FINA et son équipe en 2001](#), [PERICARDO et al., en 2005](#), [HACHANA et ses collaborateurs en 2011](#), ainsi que [MOHAMMEDIZADEH et al., en 2014](#). D'autres auteurs ont obtenu des conclusions presque similaires, [CHU et ses collaborateurs en 2001](#) ont constaté que l'identification de l'EBV n'était pas associée à la taille de la tumeur, l'état des ganglions ou le grade tumoral. En [2013](#), [KHABAZ](#) ne trouve pas d'association significative entre le développement d'un cancer du sein à EBV et l'âge, le grade SBR ou la taille tumorale. L'étude égyptienne de [SHARAF et al., réalisée en 2012](#) n'observe pas de lien significatif entre la présence de l'EBV et l'âge. Cependant, des associations significatives ont été détectées entre l'expression du génome d'EBV et des facteurs de mauvais pronostic, tels qu'un grade tumoral élevé et l'envahissement ganglionnaire et ce, en accord avec une étude antérieure qui a abouti à une conclusion identique ([BONNET et al, 1999](#)).

[FAWZY et al., en 2008](#) font le rapprochement entre un statut (EBV-) et l'état des ganglions en obtenant une association significative entre l'envahissement ganglionnaire et la présence d'EBV dans les tumeurs. Cela suggère que l'EBV est lié à une forte potentialité métastatique des tumeurs et qu'il peut jouer un rôle dans le développement et l'altération comportementale de certains carcinomes agressifs.

L'étude Française de [MAZOUNI et al., de 2011](#), note également des caractéristiques plus agressives dans les cancers mammaires exprimant EBV, en particulier un grade tumoral élevé.

MURRAY et ses collaborateurs en 2003 ont conclu que les tumeurs exprimant EBV étaient significativement plus susceptibles d'être de grade élevé, impliquant plus de ganglions lymphatiques et de plus grande taille. Cette notion de taille tumorale a également été rapportée par l'étude de SHARAF et al., en 2012. En effet, dans cette étude l'EBV n'a pas été détecté dans les tumeurs de petite taille T1 (< 2 cm) et tous les carcinomes EBV positifs étaient de taille tumorale T2 ou T3 (> 2cm), mais la différence était statistiquement insignifiante.

En 2012, GLENN et son équipe ont trouvé une association entre la présence de l'EBV dans les tumeurs mammaires et le jeune âge des patientes au moment du diagnostic.

Ces diverses corrélations rapportées dans la littérature, entre la présence de l'EBV dans la tumeur et les facteurs de mauvais pronostics, bien que mitigées, font penser à une maladie de pronostic défavorable.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le cancer du sein représente le premier cancer de la femme et la première cause de mortalité féminine par cancer. Sa prise en charge est complexe et l'évaluation des facteurs pronostiques est une étape importante pour une décision thérapeutique adéquate. De plus, l'évaluation des nouveaux facteurs pronostiques (comme les RH et l'HER2) a permis l'apparition de nouvelles thérapeutiques (thérapies ciblées).

Au terme de notre étude, nous retenons que l'incidence de cette pathologie redoutable est en évolution croissante et que cette dernière apparaît à un âge relativement jeune dans notre wilaya. Nous avons noté un taux d'expression des RE et des RP proche de celui décrit dans la littérature avec respectivement des pourcentages de 73.34% et 63.33%. Cependant, le taux d'expression de l'oncoprotéine HER2 (16.67%) se rapproche mais reste inférieur à celui cité dans la littérature. Ces nouveaux facteurs présentent une association statistique significative avec une corrélation positive entre les RE et RP et une corrélation inverse de ces derniers avec l'expression de l'HER2.

L'expression des RH est associée à certains facteurs de bon pronostic comme l'âge avancé, un score SBR de bas grade, une faible taille tumorale...etc. Inversement, la surexpression d'HER2 est plutôt associée à des facteurs de mauvais pronostic comme le jeune âge ( $\leq 35$ ans), un score SBR de haut grade et une taille tumorale augmentée.

Aucune relation statistique n'a été observée entre l'expression de la protéine LMP1 et l'âge, le grade tumoral SBR, la taille tumorale, l'envahissement des ganglions lymphatiques, l'expression des RH ou encore la surexpression de l'HER2.

L'EBV pourrait représenter un cofacteur parmi d'autres dans la transformation maligne des cellules épithéliales. La majorité de nos résultats concordent avec ceux de la littérature. De ce fait, nous pouvons affirmer la fiabilité de notre technique immunohistochimique.

En perspective, on peut envisager d'affiner cette étude en augmentant l'effectif de la population, de déterminer le type de latence d'EBV lors des cancers mammaires dans le but de compléter le tableau des latences car le cancer du sein n'y figure toujours pas, de tester l'immunothérapie anti-LMP1 sur les patientes qui souffrent d'un cancer du sein EBV positif et

enfin de tester l'immunothérapie anti-LMP1 sur les patientes qui souffrent d'un cancer du sein triple négatif.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdou M., Duc C., Girardet C. (2017). Nouvelle classification TNM 2017, 8eme édition pour les tumeurs malignes. Publication de l'institut central des hôpitaux. Vol 19, N° 4.
- Abid S. (2017). Analyse de la charge virale Epstein Barr chez les patients atteints de parodontite chronique : traitement parodontal et réponse virale. Thèse médecine humaine et pathologie. Université Nice-Sophia Antipolis. Pp 17-18.
- Aboukassim T., Yasmeeen A., Akil N., et al. (2015). Incidence du virus d'Epstein-Barr chez les femmes syriennes atteintes d'un cancer du sein : une étude de microréseaux tissulaires. Hum Hum Vaccin Immunother;11:951-5. - PMC - PubMed.
- Almasri N.M., Alhamad M. (2005). Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and breast cancer research; 7: 598-604.
- Amazit L., Quesne M., Guiochonemantel A., Milgrom E. (2003). Sumoylation on the progesterone receptor and the steroid receptor coactivator src-1 J Biol Chem 278 (14): 35-43.
- Anderson W.F, Chu K.C., Chatterje E.N., Brawley O., Brinton L.A. (2001). Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database J Chin Oncol 19: 18-27.
- Anonyme 01.<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/levoru486/01molecules.htm>
- Anonyme 02. (2011). Item 159 : Tumeurs du sein. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF).
- Anonyme3.[www.aacr.org/Newsroom/Shared%20Documents/Obesity18\\_Press%20Program%20Abstracts.pdf](http://www.aacr.org/Newsroom/Shared%20Documents/Obesity18_Press%20Program%20Abstracts.pdf).
- Arnaud A., Brossard A.M., Charra C. et al. Les traitements du cancer du sein, Institut National du Cancer (2013); 7: 23-35.
- Aubriot M. (1999). Intérêt de l'immunohistochimie dans l'évaluation de l'expression des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone dans les cancers du sein. Comparaison avec la méthode biochimique immunoenzymatique sur une série de 795 cas. Thèse 79 Paris : faculté de Médecine Saint-Antoine.
- Aviel S., Winberg G., Massucci M., And Ciechanover A. (2000). Degradation of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) by the ubiquitin-proteasome

pathway. Targeting via ubiquitination of the N-terminal residue. *J. Biol. Chem.* 275, 23491–23499.

- Ayadi L., Khabir A., Amouri A., Karray S. (2008). Correlations of HER2 overexpression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World J of surgical onc*, 6: 112.
- Aziz S.A. (2001). Significance of immunohistochemical C-EerB-2 product localization pattern for prognosis in human breast cancer pathology oncology research, Vol7, N°3: 190.
- Balaton A.J., Le Doussal V., Barlier C., Bellocq J., Ettore F., Fiche M., Jaquenier J., Mac Grogan G., Mathieu M.C., Migeon C., Penault F., Pignodel C., Roger P., Simony-Lafontaine J., Treilleux T., Verrielle V., Vilion M.O., Voigt J.J., Zafrani B. (1999). Recommandation pour l'évaluation immunohistochimique des récepteurs hormonaux sur coupes en paraffine dans les carcinomes mammaires. Mise à jour 1999. *Anales de pathologie*, volume 19, N°4, août 1999, 396.
- Bartlett J. (2003). The clinical evaluation of HER2 status: which test to use? *J Pathol* 199: 411-417.
- Ben Gobrane H., Fakhfakh R., Rahal K., Ben Ayad F., Maaledj M., Ben Abdellah M., Achour N., Hasairi M. (2007). Pronostic du cancer du sein à l'institut de cancérologie SALAH AZAIZ de Tunis : *Mediterranean Health Journal*, Vol. 13, N 2.
- Benabu J.C., Stoll F., Gonzalez M., Mathelin C. (2015). Night work, shift work: breast cancer risk factor.
- Bendib M. (2023). Étude épidémiologique, diagnostique et thérapeutique du cancer du sein dans la wilaya de Sétif. Disponible sur : <http://dspace.univ-setif.dz:8888/jspui/handle/123456789/4211>.
- Berry N.B., Fan M., Nephew K.P. (2008). Estrogen receptor-alpha hinge-region lysines 302 and 303 regulate receptor degradation by the proteasome. *Molecular Endocrinology* 22(7): 1535-1551.
- Billena C., Wilgucki M., Flynn J., Modlin L., Tadros A., Razavi P., Braunstein L.Z., Gillespie E., Cahlon O., McCormick B., Zhang Z., Morrow M., Powell S., Khan A.J. (2020). 10-year Breast Cancer Outcomes in Women ≤ 35 Years of Age. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020 Oct 24 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016.
- Bilous M., Ades C., Armes J., Bishop J., Brown R., Cooke B., Cummings M., Farshid G., Field A., Morey A., Mckenzie P., Raymond W., Robbins P., Tan L. (2003).

- Predicting the HER2 of breast cancer from basic histopathology data: an analysis of 1500 breast cancers as part of the HER2 international study. *The breast*, (12), p.92-98.
- Bjornstrom L., SJOBERG M. (2005). Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol. Endocrinol* 19(4): 833-842.
  - Bliss J.M., Kilburn L.S., Coleman R.E., Forbes J.F., Coates A.S., Jones S.E., Jassem J., Delozier T., Andersen J., Paridaens R., Van De Velde C.J.H., Lønning P.E., Morden J., Reise J., Cisar L., Menschik T., And Coombes R.C. (2012). Disease-related outcomes with long-term follow-up: an updated analysis of the intergroup exemestane study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30(7): 709–717. doi:10.1200/JCO.2010.33.7899.
  - Bonnet M., Guinebretiere J.M., Kremmer E., Grunewald V., Benhamou E., Contesso G., Joab I. (1999). Détection du virus d'Epstein Barr dans les cancers du sein invasifs, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, EPI 99-32, Pharmacologie Expérimentale et Clinique, Hôpital Saint Louis, Institut de Génétique Moléculaire, Paris, France. *J Natl Cancer Inst.*91 (16): 1376-81.
  - Borgquist S., Holm C., Stendahl M., Anagnostaki L., Landberg G., Jirstrom K. (2008). Estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  show different associations with clinicopathological parameters and their co-expression might predict a better response to endocrine treatment in breast cancer. *Jornal of clinical pathology* 61: 197-203.
  - Brettes J.P., Mathelin C., Gairard B., Bellocq J. (2007). Rôle des hormones stéroïdes dans la cellule normale et dans la carcinogenèse mammaire: les mécanismes intracrines intra-mammaire.
  - Brierly J. D., Mary K., Gospodarowicz M. D., Wittekind C. (2017). TNM classification of malignant tumors. 8th edition. UICC. Ed Wiley Blackwell.
  - Brifford M., Le Doussal V., Spyratos F. (2001). Détermination des récepteurs hormonaux par immunohistochimie sur cytobloccs de cytoponctions des cancers du sein. *Bulletin du cancer*. Vol.88, N°10, 1028-35.
  - Broet P., Pichon M.F., Magdelenat H., Delarue J.C., Spyratos F., Basuyau J.P. (1998). Rôle pronostique à long terme des récepteurs stéroïdiens dans le cancer du sein. *Bulletin du cancer*. Vol.85, N°4, 52-347.
  - Burgess A.W., Cho H.S., Eiginbrot C., Ferguson K.M., Carett J., Leahy D.J. (2003). An open and shut case. Recent insights into the activation of EGF/ERBB receptors. *Mol cell*; 12: 541- 52.

- Camara K. (1989). Contribution à l'étude de 12 cas observés chez 11 malades dans le service de chirurgie "A" de l'hôpital national du point "G" (étude prospective sur 1 an). Thèse Med, Bamako, 21.
- Canello G., Haisonneuve P., Rotmensz N., Viale G., Mastropasqua M.G., Pruneri G., Veronesi P., Torrisi R., Montagna E., Luini. (2002). Prognosis adjuvant treatment effects in selected breast cancer subtypes of very young women (<35 ans) with operable breast cancer. *Ann Oncol*.
- Chahbouni S. (1982). Corrélation entre la classification moléculaire et les aspects morphologiques du cancer du sein, SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH, FES, Maroc.
- Chen J., & Longnecker R. (2019). Epithelial cell infection by Epstein–Barr virus. *FEMS microbiology reviews*, 43(6), 674-683.
- Chow L.W., Ho P. (2000). Hormonal receptor determination of 1052 Chinese breast cancers *J Shurg concol* 75: 172-175.
- Christopher C., Ben Z. (2008). Impact of aging on the biology of breast cancer. *Critical Reviews in Oncology/hematology* 66: 65-74.
- Chu P.G., Chang K.L., Chen Y.Y., Chen W.G., Weiss L.M. (2001). Aucune association significative entre l'infection par le virus d'Epstein-Barr et le carcinome mammaire invasif. *Am J Pathol*; 159 (2): 571-8.
- Clark R.B., Anderson E., Howell A. (2004). Steroid receptors in human breast cancer. *Trends Endocrinol. Metab* 15 (7): 316-323.
- Clavel Chapelon F. Gerber M. (2002). Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis. *Br cancer treat* 107-155.
- Collins L.C., Botero M.L., Schnitt S.J. (2005). Bimodal frequency distribution of Estrogen Receptor immunohistochemical staining results in breast cancer. *Am J Clin Pathol*; 123: 16-20.
- Condon J.C., Hardy D.B., Kovacic K., Mendelson C.R. (2006). Upregulation of the progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor  $\kappa$  B may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol* 20: 764-75.
- Cone E.B., Marchese M., Paciotti M., Nguyen D.D., Nabi J., Cole A.P., Molina G., Molina R.L., Minami C.A., Mucci L.A., Kibel A.S., Trinh Q.D. (2020). Assessment of Time-to-Treatment Initiation and Survival in a Cohort of Patients With Common Cancers. *JAMA Netw Open*; 3(12): e2030072.

- Cottu P., Coudert B., Perol D., Doly A., Manson J., Aujoulat O., Barletta H., Chalabi N., Samelson L., Pivot X. (2020). Evolution in the real-world therapeutic strategies in more than 20,000 women with breast cancer having received human epidermal growth factor receptor 2-targeted treatments: Results from the french personalized reimbursement model database (2011-2018). *Eur J Cancer*. [Epub ahead of print];141: 209-217. doi: 10.1016/j.ejca.2020.10.012. PMID: 33176232
- Couch F.J, Weber B.L (2002). Breast cancer. In: VOGELSTEIN B., KINZER K.W. Editors. *The genetics Basis of human cancer*. USA, New York: Mcgraw-Hill, 549-575.
- Coulibaly A. (2009). *Etude des facteurs de risque du cancer du sein au Mali*. Thèse Méd. Université de Bamako, Mali.
- Coulibaly C. (2006). *Cancer du sein dans les services de chirurgie générale de l'hôpital GABRIEL TOURE et au centre hospitalier MERE ENFANT de Luxembourg*, thèse Méd. Bamako.
- Dadmanesh F., Peterse J.L., Sapino A., Fonelli A., Eusebi V. (2001). Lymphoépithéliome-like carcinome du sein: absence de preuve de l'infection par le virus Epstein-Barr. *Histopathologie* 38: 54 -61
- Damania, B. (2004). Oncogènes  $\gamma$ -herpèsvirus : comparaison des protéines virales impliquées dans la tumorigenèse. *Nature Reviews Microbiology*, 2(8), 656-668.
- Dandamudi A., Tommie J., Nommsen-Rivers L., and Couch S. (2018). Dietary Patterns and Breast Cancer Risk: A Systematic Review. *Anticancer Res.* 38(6): 3209–3222. doi:10.21873/anticancer.12586.
- Dawson C.W., Port R.J, And Young L.S. (2012). The role of the EBV-encoded latent membrane proteins LMP1 and LMP2 in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma (NPC). *Semin. Cancer Biol.* 22: 144–153. doi:10.1016/j.semcancer.2012.01.004.
- De Cremoux P, Dieras V, Poupon M.F. (2004). Le tamoxifène et les inhibiteurs d'aromatase dans le traitement des cancers du sein : aspects pharmacologiques et cliniques. *Bulletin du cancer*. Volume 91, Numéro 12. 917-27.
- Delalande B. (2004). Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique place actuelle des dosages du CA 15.3 dans le cancer du sein. *The role of CA15.3 assays in breast cancer immuno-analyse et biologie spécialisée* 19: 274-278.
- Demeul M, Charfi C, Currie Jc, Larocque A, Zgheib A, Kozelko S, Beliveau R, Marsolais C, Annabi B. (2021). TH1902, a new docetaxel-peptide conjugate for the treatment of sortilin-positive triple-negative breast cancer; *Cancer Sci.* 112(10):4317-4334. doi: 10.1111/cas.15086. Epub 2021 Aug 12. PMID: 34314556.

- Denduluri N., Somerfield M.R., Chavez-Macgregor M., Comander A.H., Dayao Z., Eisen A., Freedman R.A., Gopalakrishnan R., Graff S.L., Hassett M.J., King T.A., Lyman G.H., Maupin G.R., Nunes R., Perkins C.L., Telli M.L., Trudeau M.E., Wolff A.C., Giordano S.H. (2020). Selection of Optimal Adjuvant Chemotherapy and Targeted Therapy for Early Breast Cancer: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol*. [Epub ahead of print].
- Deshpande C.G., Badve S., Kidwai N., Longnecker R. (2002). Manque d'expression des produits du gène Epstein-Barr Virus (EBV), EBERs, EBNA1, LMP1 et LMP2A, dans les cellules du carcinome du sein. *Lab Invest*; 82: 1193-9.
- Diallo S. (2006). Etude des facteurs de risques du cancer du sein diagnostiqués dans les hôpitaux de Bamako et Kati. Thèse Méd. Bamako.
- Diallo S. (2007). Etude épidémiologique, clinique et histopathologique des cancers du sein diagnostiqué dans les hôpitaux de Bamako, Thèse Méd.
- Dupont V. (2011). Signalisation par les récepteurs des œstrogènes, mécanismes de reconnaissance de l'ADN et nouvelles approches pharmacologiques d'inhibition. Thèse Doc en biochimie. Université de Montréal. Canada.
- Dutertre M. (2003). Ligand-independent interactions of p160/steroid receptor coactivators and CREB-Binding protein (CBP) with estrogen receptor alpha: regulation by phosphorylation sites in the A/B region depends on other receptor domains. *Molecular endocrinology* 17(7): 1296-1314.
- Egner U., Heinrich N., Ruff M. (2001). Different ligands- different receptors conformations: modeling of the HER alpha BD in complex with agonist and antagonists. *Medicinal Research revisers*; 21 (6) p. 523-539.
- El Fouhi M., Benider B., Zoewendbem K., Gaëtan A. Et Mesfioui A.(2020). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer de sein au CHU Ibn Rochd, Casablanca. *Pan Afr Med J.*; 37: 41.
- Eliopoulos A.G., And Young L.S. (1998). Activation of the cJun N-terminal kinase (JNK) pathway by the Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 (LMP1). *Oncogene* 16,1731–1742.
- Eliss M.J., Tao Y., Murray J. (2006). Estrogen-independent proliferation is present in estrogen-receptor HER2 positive primary breast cancer after neoadjuvant letrozole. *J Chim Oncol* 24: 3919-3025.
- Elledge R.M., Green S., Pugh R., Allred D.C., Clark G.M., Hill J. (2000). Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR), by ligand binding assay compared with

- ER, PR and PS2, by immunohistochemistry in pending response to tamoxifène in metastatic breast cancer: a southwest oncology group study. *Int J cancer*; 98: 111-7.
- Engels C.C., Fontein D.B.Y., Kuppen P.J.K., De Kruijff E.M., Smit Vthbm, Nortier Jw.R., Liefers G.J., Van De Velde C.J.H, And Bastiaannet E. (2014). Immunological subtypes in breast cancer are prognostic for Invasive ductal but not for Invasive lobular breast carcinoma. *British Journal of Cancer*. 111: 532-538.
  - Erickson H.K., Park P.U., Widdison W.C. (2006). Antibody maytansinoid conjugates are activated in targeted cancer cells by lysosomal degradation and linker-dependent intracellular processing. *Cancer Res* 66: 4426-33.
  - Esteva F.J., Hortobagay G.N. (2004). Marqueurs moléculaires pronostiques dans le cancer du sein au stade précoce. *Breast cancer*, 6: 109-118.
  - Etude CECILE : Cordina-Duverger E. (2015). Facteurs de risques hormonaux et anthropométriques dans le cancer du sein de la femme; thèse université Paris XI. Pp 72.
  - Fan S., Wang J. (1999). BRCA1 inhibition of estrogen receptor signaling in transferred cells. *Science* 284 (5418): 1354-1356.
  - Fattaneh A., Tavassodi F.A., Devilee P. (2003). Pathology and genetics of tumors of the breast and female genital organ. IARC press: Lyon.
  - Fawzy S., Sallam M., Awad N.M. (2008). Détection du virus d'Epstein-Barr dans le carcinome du sein chez les femmes égyptiennes. *Clin Biochem*; 41: 486-92. [PubMed].
  - Feigelson H.S., Calle E.E. (2011). Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States). *Cancer causes control* 12(10): 895-902.
  - Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D. M., Forman D., Bray F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 136(5): E359–E386.
  - Fina F., Romain S., Ouafik L., Palmari J., Ben Ayed F., Benharkat S., Bonnier P., Spyrtos F., Foekens J.A., Rose C., Buisson M., Gerard H., Reymond M.O., Seigneurin J.M., Martin P.M. (2001). Frequency and genome load of Epstein-Barr virus in 509 breast cancers from different geographical areas. *Br J Cancer*; 84: 783-790.
  - Fingerroth J.D., Weis J.J., Tedder T.F., Strominger J.L., Biro P.A., Faeron D.T. (1984). Epstein Barr Virus receptor of human B lymphocytes is the c3d receptor CR2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81(14): pp 4510-4.

- Fries K.L., Miller W.E., And Raab-Traub N. (1996). Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 blocks p53-mediated apoptosis through the induction of the A20 gene. *J. Virol.* 70, 8653–8659.
- Garrett T.P. (2002). Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 110: 775-787.
- Gennari P. (2004). Pilot study of the mechanism of action of preoperative Trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Chim Cancer Res* 10: 5-5650.
- George A., H., Vm, K., and S, M.A. (2008). Arteriovenous malformation after transradial percutaneous coronary intervention. *Indian Heart J.* 60, 64.
- Gest J., Call. (1975). *Cancer du sein étiologie et histoire naturelle.* EMC Paris. Gynéco. 4, p.865.
- Ghimija F., Elhassan A. M., Elwaleed M. E., Ameera A. M. A., Anghesom G., Muntaser E. I. (2017). Association du virus d'Epstein-Barr et du cancer du sein en Érythrée; agents infectieux et cancer 12: 62.
- Glaser S.L., Canchola A.J., Keegan T.H., Clarke C.A., Longacre T.A., Gulley M.L. (2017). Variation du risque et des résultats du cancer du sein associé au virus d'Epstein-Barr en fonction des caractéristiques épidémiologiques et des stratégies de détection du virus: une étude exploratoire. *Contrôle des causes du cancer.* Apr; 28 ((4)): 273–87. [PubMed]
- Glaser S.L., Hsu J.L., Gulley M.L. (2004). Virus d'Epstein-Barr et cancer du sein: état de preuve de la cancérogenèse virale. *Biomarqueurs Epidemiol de Cancer Prev* 13: 688-697. 6.
- Glenn W.K., Heng B., Delprado W., Iacopetta B., Whitaker N.J., Lawson J.S. (2012). Le virus d'Epstein-Barr, le papillomavirus humain et le virus de la tumeur mammaire de souris sont des virus multiples dans le cancer du sein. *PLoS One*; 7: e48788.
- GLOBOCAN (2012). Age-specific table. (n.d.). Available from [http://globocan.iarc.fr/old/agespecific\\_table\\_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&window=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute%C2%A0](http://globocan.iarc.fr/old/agespecific_table_r.asp?selection=224900&title=World&sex=2&type=0&stat=0&window=1&sort=0&submit=%C2%A0Execute%C2%A0) [accessed 17 October 2017].
- Goldberg M., D'aloisio A.A., O'brien K.M., Zhao S., Sandler D.P. (2020). Pubertal timing and breast cancer risk in the Sister Study cohort. *Breast Cancer Res.* 22(1):112. doi: 10.1186/s13058-020-01326-2. PMID: 33109223.

- Green S., Walter P., Greene G. (1986). Cloning of the human estrogen receptor DNA. *Journal of steroid Biochemistry* 24: 77-83.
- Gronemeyer H. (1991). Transcription activation by estrogen and progesterone receptor. *Ann. Rev. Genet*, 25: 89-123.
- Grunwald K., Desai P., Winkler D.C., Heymann J.B., Belnap D.M., Baumeister W., And Steven, A.C. (2003). Three-dimensional structure of herpes simplex virus from cryo-electron tomography. *Science* 302, 1396–1398.
- Guigon A.R.M. (2006). Etude bibliographique comparée entre le cancer du sein et le cancer mammaire chez les chiennes. Thèse doctorat ; école nationale vétérinaire d'ALFORT ; Corteil. France.
- Gupta P.B, Kuperwasser C. (2006). Contributions of estrogen to ER-negative breast tumor growth. *J Steroid Biochem Mol*. 102: 71-8.
- *Gynecol obstet fertile* 43 (12): 791-9.
- Haan K.M., Longnecker R. (2000). Coreceptor restriction within the HLA-DQ locus for Epstein Barr Virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(16), 9252-9257.
- Hachana M., Trimeche M., Ziadi S., Amara K., Korbi S. (2009). Evidence for a role of the simian virus 40 in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*;113:43-58.
- Hamdi Cherif M, Kara K, Atoui S, Boudefar F. Données épidémiologiques du cancer dans l'Est et le Sud-Est Algérien, 2014-2017.(2020). *AJHS [Internet]* ;2(3):14-31. Disponible sur: <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/141837>
- Hammas N. (2009). Evaluation de l'immuno-marquage par les RH et l'Herceptest dans le cancer du sein, thèse Méd. Sidi Mohamed ben Abdellah, FES, Maroc, 47.
- Hammerschmidt W., Sugden B. (1988). Identification and characterization of oriLyt, a lytic origin of DNA replication of Epstein Barr virus. *Cell* 55, 427-433.
- Hammond M.E., Hayes D. F., Dowsett M., Allred D.C., Hagerty K.C., Badve S., Fitzgibbons P.L., Francis G., Goldstein N., Hayes M., Hicks D. G., Lester S.(2010). American society of clinical oncology/college of American pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med*. 134 : e48-e72.
- Hanahan D., Weinberg R.A. (2011). The hallmarks of cancer. The next generation. *Cell* 144(5): 646-674.
- Harvey M., Clark G.M., Osborne C.K., Allred C.D. (1999). Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response

to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *Journal of clinical Oncology*. Vol.17, N°5: 1474.

- Hayashi K., Jin Z., Onoda S., Joko H., Teramoto N., Ohara N., Oda W., Tanaka T., Liu Y.-X., Koirala T.R. (2003). Rabbit model for human EBV-associated hemophagocytic syndrome (HPS): sequential autopsy analysis and characterization of IL-2-dependent cell lines established from herpesvirus papio-induced fatal rabbit lymphoproliferative diseases with HPS. *Am. J. Pathol.* 162, 1721–1736.
- He J., Tang F., Liu L., Chen L., Li J., Ou D., Zhang L., Li Z., Feng D., Li W. (2016). Positive regulation of TAZ expression by EBV-LMP1 contributes to cell proliferation and epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget* 8, 52333–52344.
- Heldring N., Pike A., Andersson S., Matthewes J., Cheng G., Hartman J., Tujaque M., Strom A., Treuter E., Waener M., Gustafsson J.A. (2007). Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiological reviews* 87(3): 905-931.
- Hennighausen L. (2000). Mouse models for breast cancer. *Breast Cancer Research*; 2:2–7).
- Hermann K., Niedobitek G. (2003). Lack of evidence for an association of Epstein-Barr virus infection with breast carcinoma. *Breast Cancer Res* 5:R13-17.
- Heron J.F. (2010). Grading histologique du cancer du sein, *Oncoprof*.
- Higuchi M., Izumi K.M., And Kieff E. (2001). Epstein–Barr virus latent-infection membrane proteins are palmitoylated and raft-associated: Protein 1 binds to the cytoskeleton through TNF receptor cytoplasmic factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 4675–4680.
- Hill C., Dayon F. (2003). La fréquence des cancers en France. *Bulletin cancer.* 90: 207-13.
- Hinkula M., Pukkala E. (2001). Grand multiparty and the risk of breast cancer: population-based study in Finland. *Cancer causes control* 12(6): 491-500.
- Hoff E.R., Raymond R., Jonathan L., Gray W., Procope M. (2002). HER2/neu amplification in breast cancer: stratification by tumor type and grade. *Ann J Chin Pathol* 117: 916-921.
- Hömig-Hölzel C., Hojer C., Rastelli J., Casola S., Strobl L.J., Müller W., Quintanilla-Martinez L., Gewies A., Ruland J., Rajewsky K., et al. (2008). Constitutive CD40 signaling in B cells selectively activates the noncanonical NF-kappaB pathway and promotes lymphomagenesis. *J. Exp. Med.* 205, 1317–1329.

- Hopp T.A., Fuqua A.W. (2002). Signaling by Steroid receptors. In: ALISON M.R., editor. The cancer Handbook.U.K, London: Nature Publishing Group 13-23.
- Houali K., Wang X., Shimizu Y., Djennaoui D., Nicholls J., Fiorini S., ... & Ooka T. (2007). A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus–encoded LMP1 and BARTF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clinical cancer research*, 13(17), 4993-5000.
- Hoyt-Austin A., Dove M.S., Abrahão R., Kair L.R., Schwarz E.B. (2020). Awareness That Breastfeeding Reduces Breast Cancer Risk: 2015-2017 National Survey of Family Growth. *Obstet Gynecol*; 136(6):1154-1156. doi: 10.1097/AOG.0000000000004162. PMID: 33156184.
- <https://ishh.fr/departments/chirurgie-oncologique-du-sein/>.
- <https://radiotherapie.webador.com/technique-en-radiotherapie-externe/curietherapie-1>.
- Hunter F. W., Barker H. R., Lipert B., Rothe F., Gebhart G., Piccart-Gebhart M. J., ... & Jamieson S. M. (2020). Mechanisms of resistance to trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2-positive breast cancer. *British journal of cancer*, 122(5), 603-612.
- Huo Q., Zhang N., Yang Q. (2012). Infection par le virus d'Epstein-Barr et risque de cancer du sein sporadique: une méta-analyse. *PLoS One*, 7(2), e31656.
- Hurwitz S.N., Nkosi D., Conlon M.M., York S.B., Liu X., Tremblay D.C., Meckes D.G. (2017). CD63 Regulates Epstein-Barr Virus LMP1 Exosomal Packaging, Enhancement of Vesicle Production, and Noncanonical NF-κB Signaling. *J. Virol.*, 91, doi:10.1128/JVI.02251-16.
- Hutt-Fletcher, L.M. (2007). Epstein-Barr virus entry. *Journal of Virology*, 81(15), p. 7825-32.
- INCa (2016). Antécédents familiaux - Facteurs de risque. Institut National Du Cancer. [Lien](<http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Facteurs-de-risque/Antecedents-familiaux>) (consulté le 10 juin 2018).
- Infection par le virus d'Epstein-Barr et augmentation du risque de carcinome du sein sporadique : une méta-analyse. *Med Princ Pract*, 29(02), 195-200.
- Institut national du cancer (2016). Les cancers en France. [Lien] (<http://www.e-cancer.fr/Actualites-et-evenements/Actualites/Publication-de-l-edition-2015-des-Cancers-en-France>).
- Izumi Y., Xu L., Di Tomaso E., Fukumura D., Jain R.K. (2002). Tumor biology: Herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail. *Nature*, 416(6878), 279-80.

- Jacobson B.M., Richer J.K., Sartorius C.A., Horwitz R.B. (2003). Expression profiling of human breast cancer and gene Regulation by progesterone receptors. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 8(3), 257-268.
- Jensen E.V., Jacobson H.I. (1962). Basic guide to the mechanism of estrogen action. *Rec. Prog. Of Hor. Res.*, 18, 387-414.
- Johannsen L.M., Luftig M., Chase M.R., Weicksel S., Cahir-McFarland E., Illanes D., Sarracino D., Kieff E. (2004). Proteins of purified Epstein-Barr virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101, 16286-16291.
- Jones K.L., Buzdar A.U. (2004). A review of adjuvant hormonal therapy in breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer*, 11, 391-406.
- Jorapur A., Marshall L. A., Jacobson S., Xu M., Marubayashi S., Zibinsky M., ... & Cutler G. (2022). EBV+ tumors exploit tumor cell-intrinsic and-extrinsic mechanisms to produce regulatory T cell-recruiting chemokines CCL17 and CCL22. *PLoS Pathogens*, 18(1), e1010200.
- Julien S. (2004). L'antigène Sialyl-Tn dans le cancer du sein: étude de la O-glycosylation et de son influence sur la croissance de lignées cellulaires Sialyl-Tn positives. Thèse sciences de la vie et de la santé, sciences et technologie de Lille, Lille, France.
- Kafe H., Wechsler J., Gaulard P., Gosselin B. (1998). Le virus d'Epstein-Barr : implication en pathologie. *Ann Pathol*; 18 : 16-28.
- Kaluza J., Komatsu S., Lauriola M., Harris H.R., Bergkvist L., Michaëlsson K., Wolk A. (2020). Long-term consumption of non-fermented and fermented dairy products and risk of breast cancer by estrogen receptor status - Population-based prospective cohort study. *Clin Nutr.* 2020 Sep 17 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.clnu.2020.09.013. PMID: 33004231
- Keegan T.H. M., Derouen M.C., Press D.J., Kurian, A.W. & Clarke C.A. (2012). Occurrence of breast cancer subtypes in adolescent and young adult women. *Breast Cancer Res.* 14, R55.
- Keita M. (2005). Etude des caractères anatomo-cliniques des cancers du sein au Mali, thèse Méd. Bamako ; p. 66.
- Kenney S.C., Mertz J.E. (2014). Regulation of the latent. Lytic in Epstein Barr Virus. *Semin. Cancer Biol.* 26 : pp 60-68.
- Khabaz M. N. (2013). Association de l'infection par EBV et carcinome du sein. *Arch Med Sci* 9(4) : 745-751.

- Khan G., Philip P.S., Al Ashari M., Houcinat Y., Daoud S. (2011). Localization du virus d'Epstein Barr aux lymphocytes infiltrants dans les carcinomes du sein et non dans les cellules malignes. *Exp Mol Pathol* 91(1) :466-70.
- Khan Y. S., & Sajjad H. (2019). Anatomy, thorax, mammary gland.
- Khanfir A., Frikha M., Kallel F., Meziou M., Trabelsi K., Boudawara T., Mnif J., Daoud J. (2006). Le cancer du sein de la femme jeune dans le sud tunisien. *Cancer/radiothérapie*. 10(8):565–571.
- Khanna, R., D. Moss, and M. Gandhi. (2005). Technology insight: Applications of emerging immunotherapeutic strategies for Epstein-Barr virus-associated malignancies. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2:138–149. doi:10.1038/ncponc0107.
- Kieff E., Rickson A.B. (2007). Epstein Barr Virus. In Dans Knipe, D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., Straus S.E. (eds.), *Fields Virology*. Lipincott Williams et Wilkins, Philadelphia, vol 2, pp 2603-2654.
- Kijima Y., Hokita S., Takao S. et al. (2001). L'implication du virus d'Epstein-Barr est principalement limitée au type lymphoépithélial du carcinome gastrique parmi divers néoplasmes épithéliaux. *J Med Virol* 64 : 513.
- Kilger E., Kieser A., Baumann M., And Hammerschmidt W. (1998). Epstein-Barr virusmediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *EMBO J.* 17, 1700–1709.
- Kim, M. Y. (2021). Breast cancer metastasis. In *Translational Research in Breast Cancer* (pp. 183-204). Singapore: Springer Singapore.
- Kos, M., Reid G., Denger S., Gannon F. (2001). Genomic organization of the human ER gene promoter region. *Mol. Endocrinol.* 15:2057-2063.
- Kouali F. (2017). Traitement conservateur du cancer du sein revue des indications, étude rétrospective (à propos de 20 cas); faculté de médecine et pharmacie, thèse N 079. Pp 39.
- Kumar V., Green S., Stack G., Berry M., Jin J.R., Chambon P. (1987). Functional domains of the human estrogen. *Cell* 55: 145-156.
- Kushner P.J., Agard D.A., Greene L.G., Scanlan T.S., Shiau A.K., Uht M.R., Webb P. (2000). Estrogens receptors pathways to AP-1. *J steroid Biochem. Mol. Boil.* 75 (5): 311-317.
- Lamrahi S. (2011). Confrontation clinico-radio-cyto-histologique des tumeurs mammaire (A propos de 159 cas). Thèse Méd, Sidi Mohamed ben Abdellah. FES. Maroc.

- Larrat S. (2010). Inhibition du cycle lytique du virus Epstein Barr par ARN interférence. Sciences du vivant (q-bio). Thèse université Joseph-Fourier-Grenoble I. pp 20-21.
- Lawal O., Dwrosimi M.A., Adesunkan M.I., D'a Delusola K. (2005). La sévérité, les résultats et les défis du cancer du sein au Nigeria. Département de la chirurgie, université des sciences de santé, complexe d'hôpital d'enseignement d'université d'Obafemi AWOLowo.
- Le Du F., Perrin C., Brunot A., Crouzet L., De La Motte Rouge T., Lefeuvre-Plesse C., Dieras V. (2019). Therapeutic innovations in breast cancer. *Presse Med.* [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.lpm.2019.04.005. PMID:31151842
- Lei L., Yu X., Chen B., Chen Z., Wang X. (2016). Clinicopathological Characteristics of Mucinous Breast Cancer: A Retrospective Analysis of a 10-Year Study. *PLoS*;11(5):e0155132. doi: 10.1371/journal.pone.0155132. PMID: 27232881
- Leone N., Voirin N., Roche L., Brinder-Foucard F., Woronoff A.S., Delafosse P. (2015). Projection de l'incidence de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2015. Rapport technique. Inst veille saint p62.
- Lin M.-C., Lin Y.-C., Chen S.-T., Young T.-H., And Lou P.-J. (2017). Therapeutic vaccine targeting Epstein-Barr virus latent protein, LMP1, suppresses LMP1-expressing tumor growth and metastasis in vivo. *BMC Cancer* 17, 18.
- Lutula S. (2008). Etude épidémiologique des tumeurs du sein au Mali, thèse Méd. Bamako, p.93.
- Maadi H., Soheilifar M. H., Choi W. S., Moshtaghian A., & Wang Z. (2021). Trastuzumab mechanism of action; 20 years of research to unravel a dilemma. *Cancers*, 13(14), 3540.
- Mac ewan J.P., Dennen S., Kee R., Ali F., Shafrin J., Batt K. (2020). Changes in mortality associated with cancer drug approvals in the United States from 2000 to 2016. *J Med Econ.* [Epub ahead of print]. doi: 10.1080/13696998.2020.1834403. PMID: 33161782. Medscape. New Cancer Drugs May Have Saved More Than 1.2 Million Americans. 12 November 2020.
- Mac Grogan G., Soubeyran I., De Mascarel I., Wafflart J., Bonichon F., Durand M., Avril A., Mauriac L., Torjani M., Coindre Jm. (1996). The immunohistochemical detection of progesterone in breast invasive ductal carcinomas. A correlation study on 942 cases. *Appl immunohistochimie*, 4: 219-27.
- Mainou B.A., Everly D.N., And Raab-Traub N. (2007). Unique signaling properties of CTAR1 in LMP1-mediated transformation. *J. Virol.* 81, 9680–9692.

- Manner L., Milano G., Penault Llorca F., Merlin J.L. (2004). Targeting of membrane receptor tyrosine kinase: is there resistance in the HER2? Bulletin du cancer, Vol91, N°9, 94-685.
- Mansouri A. (2017). Prise en charge du cancer du sein métastatique HER2 positif. Expérience du centre d'oncologie et d'hématologie ; faculté de médecine et pharmacie, thèse N 216. Pp 87.
- Marie-Pierre (2019). Chauvet La Presse Médicale 48 (10), 1123-1130.
- Martin P.M., Brettes J., Mathelin C., Gairard B., Bellqcq J. (2007). Cancérogenèse et tumorigénèse. Cancer du sein. Edition Masson 29-75.
- Marty M., Rossignol C., Srrys G., Peterissans Jl., Baillet F., Netler-Pimon G., Romieux G., Saez S. (1992). Le cancer du sein au moment du diagnostic, étude nationale de la CANAM : analyse de 3007 cas, press Méd. 21(22).
- Maudelonde T. (2008). Les récepteurs de la progestérone. Edimark santé. La lutte du sénologue N°41 : 6-12.
- Maudelonde T., Boule N., Brettes J., Mathellin C., Gairard B., Belloq J. (2007). Progression des cancers du sein. Cancer du sein. Edition Masson 91-111.
- Mazouni C., Fina F., Romain S., Ouafik L., Bonnier B., Brandone J.M. Et Al, (2011). Le virus d'Epstein-Barr en tant que marqueur de l'agressivité biologique dans le cancer du sein. Br J Cancer; 104: 332-7.
- Mc Cart Reed A.E., Kalinowski L., Simpson P., Lakhani S.R. (2021). Carcinome Lobulaire invasif du sein : l'importance croissante de ce sous type particulier. Résolution du cancer du sein ; 23(1) :6.
- Mc Cormack O., Chling W.Y. (2008). Progesterone receptor  $\beta$  (RB $\beta$ ) promoter hyperméthylation in sporadic breast cancer: progesterone receptor B hyperméthylation in breast cancer. Breast cancer Res treat 111(1): 45-53.
- Mc Enasce L.P., White G.R., Harrison C.J. (1993). Localization of the estrogen receptor locus (ESR) to chromosome 6q25.1 by FISH and simple post-FISH banding technique. Genomics, 17: 263-265.
- Mc Sherry E.A., Donatello S., Hopkis A.M., Mcdonnell S. (2007). Molecular basis of invasion in breast cancer. Cell Mol Life Sci 64: 3201-18.
- Menard S., Tragliabue E., Campiglio M., Pupa S.M. (2000). Role of HER2 gene overexpression in breast carcinoma, Journal of cellular pathology; (182): p.150.
- Meriaux E., Colombie M., Houdebine S. (2014). Prise en charge du cancer du sein, avancées et perspectives. Médecine Nucl. 38(5) :299-302.

- Metzger D., Ali S., Bornert J.M., Chabon P. (1995). Characterization of the amino-terminal transcriptional activation functions of the human estrogen receptor in animal and yeast cells. *J Biol Chem* 270: 9535-9542.
- Mink D., Von Tongelen B., Villena-Heinsen C., Heiss C., Schmidt W. (1994). Breast cancer and prognostic factors *Eur.J. Gynaec. Oncol.* XV, 6.
- Mofrad G, Kazeminezhad B, Faghihloo E. (2020). Prévalence du virus d'Epstein-Barr (EBV) chez les patientes atteintes d'un cancer du sein iranien. *Asian Pac J Cancer Prev.*; 21 (1): 133-137. doi: 10.31557 / APJCP.2020.21.1.133
- Mohammadzadeh F., Zarean M., Abbasi M. (2014). Association du virus d'Epstein Barr avec le carcinoma mammaire invasif et son impact sur les paramètres clinicopathologiques bien connus chez les femmes iraniennes, *Adv Biomed Res*; 3: 141.
- Molesworth S.J., Lake C.M., Borza C.M., Turk S.M., Hutt –Fletcher L.M. (2000). Epstein Barr virus Gh iss essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells. *J. virol.* 74, 6324-6332.
- Molina M.A., Condoni-Servat J., Albanell J. (2001). Trastuzumab (Herceptin), a humanized antibody, inhibits basal and activated HER2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer Res* 61: 4744-9.
- Momenimovahed Z., & Salehiniya H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 151-164.
- Monninkhof E.M., Elias S.G. (2007). Physical activity and breast cancer: a systematic review. *Epidemiology* 18 (1): 137-157.
- Mousseau M., Garnier C. (2002). Cancer du sein: épidémiologie, bilan d'extension, modalités thérapeutiques. *Med. Nucl* 26 : 7- 21.
- Mrizak D. (2013). Evaluation d'une stratégie d'immunothérapie peptidique antivirale dans le carcinome du nasopharynx associé au virus d'Epstein Barr : de l'expression in vitro à la proposition de nouveaux essais thérapeutiques. Thèse université de Lille 1. Pp 27-28.
- Murata T. (2014) Regulation of Epstein-Barr virus reactivation from latency, *Microbiol. Immunol.*, vol. 58, no 6, p. 307-317.
- Murphy L., Cherlet T., Lewis A., Banu Y., Watson P. (2003). New insights into estrogen receptor function in human breast cancer. *Ann. Med* 35: 614-613.

- Murray P.G., Lissauer D., Junying J. et al (2003). Reactivity with a monoclonal antibody to Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1 defines a subset of aggressive breast cancers in the absence of the EBV genome. *Cancer Res.* 63:2338–2343.
- N'Daw D. (1983). Les cancers du sein au Sénégal : à propos d'une statistique hospitalière de 533 observations. Thèse Méd ; Dakar ; 1983 ; 33.
- Nagi K., Gupta I., Jurdi N., Jabeen A., Yasmine A., Batist G., Varnic S., Al Moustafa A. (2021). Les papillomavirus humains à haut risque et le virus d'Epstein Barr dans le cancer du sein chez les femmes libanaises et leur association avec le grade tumoral. *Celleule cancéreuse ; Int* 21 (1) :308.
- Namer M., Luporsi E., Gligorov J., Lockiec F., Spilmann M. (2008). L'utilisation de déodorant anti transpirant ne constitue pas un risque de cancer du sein. *Bulletin du cancer*, 9, 871-80 (95).
- Nanbo, A., et Takada, K. (2002). Le rôle des petits ARN codés par le virus d'Epstein-Barr (EBER) dans l'oncogénèse. *Revue en virologie médicale*, 12(5), 321-326.
- Naushad W., Surriya O., Sadia H. (2017). Prévalence de l'EBV, du VPH et du MMTV chez les patientes pakistanaises du cancer du sein: un rôle étiologique possible des virus dans le cancer du sein. *Infectez Genet Evol.* 2017 Oct; 54 : 230–7. [ PubMed ]
- Netter F. H (2009). Atlas d'anatomie humaine par Masson.
- Nicolas J.S. (2002). *Virologie Médicale, Herpesviridae : virus d'Epstein Barr.* Press universitaire de lyon pp 24.
- Offersen B.V., Alsener J., Olsen K.E., Sorensen R.M.R., Brunner N., Sorensen F.B., Sorensen B.S., Schlemmer B.O., Overgaard J. (2008). A comparison among HER2, TP53, PAI-1, angiogenesis, and proliferation activity as prognostic variables in tumors from 408 patients diagnosed with early breast cancer. *Acta Oncologica*, 4(47): p.618-632.
- Olivier J. B., Verhaeghe J. L., Butarelli M. (2006). Functional anatomy of the lymphatic drainage of the breast: contribution of sentinel lymph node biopsy, *Ann Chir.*; 131(10): 608-15.
- OMS (2022). Cancer du sein (who.int)
- Osmani A.H., Tulbah A.M., Al Sayed A. Et Al., (2021). Examen par un seul institut du carcinoma lobulaire invasive du sein HER2/Neu positif dans une population Arabe. Les rapports de cas ; *Am J Case Rep* 5 : 928012.
- Pandey S., & Robertson E. S. (2018). Oncogenic Epstein–Barr virus recruits Nm23-H1 to regulate chromatin modifiers. *Laboratory Investigation*, 98(2), 258-268.

- Passildas Jahanmohan J. Les cancers du sein agressifs : conséquences de la ménopause chimio- induite chez les femmes jeunes atteintes d'un cancer du sein non métastatique et facteurs pronostiques de la rechute du cancer du sein triple négatif (2019). Médecine humaine et pathologie. Université Clermont Auvergne, Français. NNT : 2019CLFAS003.
- Pauletti G., Dandekar S., Rong H., Ramos L., Peng H., Seshadri R., Slamon D.J. (2000). Assessment of methods for tissue-based detection of the HER2/neu alternation in human breast cancer: A direct comparison of fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry, 18: p. 3651-3664.
- Pegram M.D., Konecny G.E., O'collaghan C. (2004). Rational of combinations of Trastuzumab with chemotherapy drugs used in treatment of breast cancer. J Natl Cancer Inst 96: 49-739.
- Penault-Llorca F. (2004). Actualité des tests HER2 dans le cancer du sein. Bulletin cancer 91: 5211-9.
- Penault-Llorca F., Balaton A., Sabourin J., Le Doussal V. (2002). Evaluation immunohistochimique du statut HER2 dans les carcinomes mammaires infiltrant : mise au point du Protocol technique et de la lecture des résultats : Recommandations Ann Pathol. 22 : 150-7.
- Perbet C., Jordanmeille A. (2002). Le cancer du sein dan l'Afrique noire. Thèse méd. SCE. Monit ; (9) 111.
- Perez A. (1999). HER2 as a prognostic, predictive and therapeutic target in breast cancer. Cancer Control 6(3): 233-240.
- Perkins R.S., Sahn K., Marando C., et al. (2006). Analyse des réservoirs de virus d'Epstein-Barr dans des échantillons de biopsie primaire de biopsies de sang et de carcinome du sein couplés par PCR en temps réel. Carcinome du sein Res. 8 : R70. [ PubMed ]
- Peto R., Davies C., Godwin J., Gray R., Pan H.C., Clarke M., Cutter D., Darby S., Mcgale P., Taylor C., Wang Y.C., Bergh J., Di Leo A., et coll. (2012). Comparaisons entre différents schémas de polychimiothérapie pour le cancer du sein précoce : méta-analyses des résultats à long terme chez 100 000 femmes dans 123 essais randomisés. Lancette ; 379: 432-444.
- Petosa C., Morand P., Baudin F., Moulin M., Artero J.B., Muller C. W. (2006). Structural basis of the lytic cycle activation by the Epstein Barr virus ZEBRA protein. Molecular cell 21 (4): pp 565-72.

- Pines G., Kostler W.J., Yarden Y. (2010) Oncogenic mutant forms of EGFR: lessons in signal transduction and targets for cancer therapy. *FEBS Lett.* 18;584(12):2699-706.
- Plan Cancer 2014-2019. 2018, February. Plan Cancer 2014-2019 - Ref : Plankpnr14. Available from <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Plan-Cancer-2014-2019> [accessed 17 October 2018].
- Pricardo M.V., Chabay P.A., De Matteo E.N., et al. (2005). Virus d'Epstein-Barr dans le carcinome du sein en Argentine. *Arch Pathol Lab Med.* 129 : 377-81. [ PubMed ]
- Raiah M., Terki K., Ben Rabah L., Ammour F., Lounis A., Fouatih Z.A. (2022). Épidémiologie des cancers en Algérie 1996-2019 ; université d'Oran 1, CHU d'Oran. Épidémiologie des cancers en Algérie, 1996–2019 - EM consulte (em-consulte.com)
- Rasmussen B.B. (2008). Evaluation of and quality assurance in HER2 analysis in breast carcinomas from patients registered in Danish breast cancer groups (DBCG) in the period of 2002-2006. A nationwide study including correlation between HER2 status and other prognostic variables. *Acta oncologica*; 47:784-788.
- Réflexion sur l'étude statistique des cancers du sein observés dans notre service (à propos de 117 cas). *Afr Méd*; 18 (173) : 591-596.
- Reid G., Denger S., Kos M., Gannon F. (2002). Human estrogen receptor alpha: regulation by synthesis, modification and degradation. *Cell Mol life Sci* 59: 821-831.
- Reid G., Hubner M.R., Metivier R., Brand H., Denger S., Manu D., Beaudouin J., Ellenberg J., Gannon F. (2003). Cyclic, proteasome-mediated turnover of unliganded and liganded ER alpha on responsive promoters is an integral feature of estrogen signaling. *Mol cell* 11(3): 695-707.
- Reid G., Metivier R., Lin C.Y., Danger S., Ibberson D., Ivacevic T., Brand H., Benes V., Liu E.T., Gannon F. (2005). Multiple mechanisms induce transcriptional silencing of a subset of genes, including estrogen receptor alpha, in response to deacetylase inhibition by valproic acid and trichostatin A. *Oncogene* 24(31): 4894-4907.
- Roman M. et al. (2020). Abstract 15. Presented at the 12th European Breast Cancer Conference (EBCC-12) Virtual 2020.
- Roswall P., Bocci M., Bratoschek M., Li H., Kristiansen G., Gansson S., Lehn S., Sjoind J., Reid S., Larsson C., Eriksson P., Anderberg C., Cortez E., Saal H. L., Orsmark-Pietras C., Cordero E., Haller B. K., Hakkinen J., Burvenich I.J., Lim E., Orimo A., Hoglund M., Ryden L., Moch H., Scott A.M., Eriksson L., Pitras K. (2018). Microenvironmental control of breast cancer subtype elicited through paracrine platelet-derived growth factor-CC signaling. *Nature medicine*, 24(4), 463-473.

- Saglier J., Pommeyrol A., Bouillet T., Hennebicque A.S. (2003). cancer du sein. Questions et réponses au quotidien. 2<sup>o</sup>ed. Paris: Masson : 173.
- Sall, A. (2004). Mise en évidence de l'activité mitogène de l'oncogène BARRF1 du virus d'Epstein Barr et de sa coopération avec l'oncogène cellulaire Bcl-2 dans la transformation maligne (Doctoral dissertation, Lyon 1).
- Sanchez L.C., Lopez A.P., Esquivel E.L. (2004). Hormon risk factors during breast tumoral promotion, progression and prognosis. *Ginercol. Obstet Mex.* 72, p.545.
- Sarp S. (2007). La localisation tumorale dans le quadrant inféro-intérieur est associée à une diminution de la survie chez les femmes avec un cancer du sein de stade précoce, thèse Méd. Genève. Suisse.
- Shah C., Jia X., Hobbs B.P., Tendulkar R.D., Sittenfeld S.M.C., Al-Hilli Z., Arthur D.W., Keisch M.E., Khan A.J., Shaitelman S.F., Boyages J., Wazer D., Kundu N., Vicini F.A. (2021). Outcomes with Partial Breast Irradiation vs. Whole Breast Irradiation: a Meta-Analysis. *Ann Surg Oncol.* 2021 Jan 3 [Epub ahead of print]. doi: 10.1245/s10434-020-09447-w. PMID: 33393051.
- Shang Y., Brown M., (2002). Molecular determinants for the tissue specificity of SERM. *Science* 295 (5564): 2465-2468.
- Shannon-Lowe C.D., Rowe M. (2011). Epstein Barr virus infection of polarized epithelial cells via the basolateral surface by memory B cell-mediated transfer infection. *PloS pathog.* 7, e1001338.
- Shao T., Klein P., Grossbard M. L. (2012). Vitamin D and breast cancer. *Oncologist* 17(1): 36-45.
- Sharaf H.M., Gomaa M.F. (2012). Detection moléculaire du virus d'Epstein Barr dans le cancer du sein, le journal égyptien de la médecine hospitalière Vol., 47 :238-248.
- Sharifpour C., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Talaei-Zadeh A., Randjbari N., Nisi N., Azaran A., Jalila S., Varnaseri M., Primoradi R., Angali K.A. (2019). Fréquence de l'AND du virus Epstein Barr dans le tissu fixé au formol et incorporé à la paraffine de patients atteints de carcinoma canalaire du sein. *Asian J cancer prev.* 26/03/2019 ; 20(3) : 687-692.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jamal A. (2016). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 66(1): 7-30.
- Silwkowski M.X., Lofgren J.A., Lewis G.D., Hotaling T.E., Fendly B.M, Le Juge Fox. (1999). Nonclinical studies addressing the mechanism of action of trastuzumab (Herceptin). *Semin Oncol.* 26: 60-70.

- Singer C.F., Kostler W.J., Hudelist G. (2008). Predicting the efficacy of trastuzumab-based therapy in breast cancer: Current standards and future strategies. *Biochim Biophys Acta* 1786:105-13.
- Speirs V., Kerin M.J. (2000). Signification pronostique du beta-récepteurs des œstrogènes dans le cancer du sein. *Br J Surg* ; 87 :405-409.
- Speirs V., Walker R.A. (2007). New perspectives into the biological and clinical relevance of estrogen receptors in the human breast; *J Pathol*; 211: 499-506.
- Staub G.A., et al. , (2007). Résultats carcinologiques et esthétiques du traitement du cancer du sein par plastie mammaire.298 cas. 0294-1260 see front matter 2007. Elsevier Masson SAS. doi: 10.1016/j.anplas.2007.05.012.
- Stratton M. R., Rahman N. (2008). The emerging landscape of breast cancer susceptibility. Selection of cancer genetics, institute of cancer research. *Nat genet* 40(1): 17-22.
- Susane L. (2008). Fondation canadienne du cancer du sein ; Guiding women through a breast cancer diagnosis. A supportive and personal approach.
- Takakuwa T., Luow.J., Ham M.F., Wada N., Aozasa K. (2005). Identification of Epstein Barr virus genomes. *J. virol.* 63, 445-449.
- Taylor A.H., Mc Parland P.C., Taylor D.J., Bell S.C. (2009). The cytoplasmic 60kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term *Reprod. Biol. Endocrinol* 7: 22.
- Tazi M.A., Er-Raki A., Benjaafar N. (2013). Cancer incidence in Rabat, Morocco: 2006–2008. *Ecancermedalscience* [Internet]. 2013 [cité 9 août 2017];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3737118/>
- Tesch M. E., & Gelmon K. A. (2020). Targeting HER2 in breast cancer: latest developments on treatment sequencing and the introduction of biosimilars. *Drugs*, 80(17), 1811-1830.
- Thiam D. (2003). Etude clinique dans le service de gynécologie de 43 cas, thèse Méd. Bamako.
- Todorovic-Rakovic N. (2005). TGF-b1 could be a missing link in the interplay between ER and HER2 in breast cancer. *Medical hypotheses* 65: 546-551.
- Traore S.T. (2008). Cancer du sein au Mali anatomie clinique et suivi. Thèse Méd. Bamako, Mali.
- Treilleux I., Bremond A. (2002). Pronostic des cancers du sein. *Encyclopédie Médicale*, Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, Gynécologie, 865-F-20, 7, p.4.

- Tselis A. (2013). Epstein Barr and cytomegalovirus infections. In viral infections of the human nervous system, A.C. Jackson, ed. (springer basel),pp 23-46.
- Tsimbouri, P., & Wilson, J. B. (2002). The Action of EBNA1 as an Oncogene in Vivo. 10th International Symposium on Epstein - Barr virus and Associated Malignant Diseases, Cairns, Australia, 16-21 Jul 2002.
- Tugizov S.M., Berline J.W., Palefsky J.M. (2003). Epstein Barr virus infection of polarized tongue and nasopharyngeal epithelial cells. Nature Medicine 9(3): p. 307-14.
- VACHER V.L. Et ANTOINE E. C. (2012). Caractéristiques cliniques et pharmacologique du trastuzumab emtansine. J Pharm Clin 31(4): 203-11.
- Valabrega G., Montemurro F., Sarotto I. (2005). TGF alpha expression impairs Trastuzumab-induced HER2 downregulation. Oncogene 24: 2-10.
- Villain M.O. (1997). Détection immunohistochimique de RE et RP sur coupe en paraffine après traitement par micro-ondes. Ann Pathol, 17, N°2, p 82-88.
- Vincent-Salomon A., Mac Grogan G., Couturier J., Denoux Y., Fiche M., Jacquemier J., Matieu M.C., Penault-Lorca F., Rigaud C., Roger P., Treilleux I., Villain M.O., Mathoulin Pelissier S., Le Doussal V. (2003). Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: Results of the French multicenter GEFPICS study Histopathology 42, p. 337-347.
- Visvader, J. E. (2009). "Keeping abreast of the mammary epithelial hierarchy and breast tumorigenesis." Genes Dev23 (22): 2563-2577.
- Vogel C., Chan A., Gril B., Kim S.B., Kurebayashi J., Liu L., Lu Y.S., Moon H. (2010). Management of ErebB2-positive breast cancer: insights from preclinical studies with lapatinib. Jpn J Clin Oncol 40: 999-1013.
- Voigtlaender M., Schneider-Merck T., & Trepel M. (2018). Lapatinib. Small molecules in oncology, 19-44.
- Walker R.A. (2008) Immunohistochemical markers as predictive tools for breast cancer: Journal of clinical pathology 2008; 61: 689-696.
- Walter P., Green S., Greene G., Krust A., Bornert J.M., Jelisch J.M., Staub A., Jensen E., Scrace G., Waterfield M. (1985). Cloning of the human estrogen receptor's DNA, Proc Natl Acad Sci USA. Dec. 82 (23): 7889-7893.
- Wang C., Fan S. (2005). Cyclin D1 antagonizes BRCA1 repression of estrogen receptor alpha activity. Cancer Res 65(15): 6557-6567.

- Wang H.B., Zhang H., Zhang J.P., Li Y., Zhao B., Feng G.K., Du Y., Xiong D., Zhong Q., Liu W.L. (2015). Neuropilin 1 is an entry factor that promotes EBV infection of nasopharyngeal epithelial cells. *Nature Communications* 6:6240.
- Wele A. (1998). Etude clinique du cancer du sein en chirurgie à l'Hôpital Gabriel Touré à propos de 94 cas, thèse Méd. Bamako, N°65, p.103.
- Wen K. W., Wang L., Menke J. R., & Damania B. (2022). Cancers associated with human gammaherpesviruses. *The FEBS Journal*, 289(24), 7631-7669.
- Wijayarathne A.L., Mc Donnell D.P. (2001). The human estrogen receptor alpha is a ubiquitinated protein whose stability is affected differentially by agonist, antagonist, and selective estrogen receptor modulators. *J Biol Chem* 276 (38): 35684-35692.
- Wolff A.C., Hammond M.E., Hicks D.G., Dowsett M., Mcshane L.M., Allison K.H., Allred D.C., Bartlett J.M., Bilous M., Fitzgibbons P., Hanna W., Jenkins R.B. (2013). Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 31: 3997-4013.
- Wolff A.C., Hammond M.E.H., Allison K.H., Harvey B.E., Mangu P.B., Bartlett J.M.S., Bilous M., Ellis I.O., Fitzgibbons P., Hanna W., Jenkins R.B., Press M.F., Spears P.A., Vance G.H., Viale G., Mcshane L.M., And Dowsett M. (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 36(20): 2105–2122. doi:10.1200/JCO.2018.77.8738.
- Yager J.D., Davidson N.E. (2006). Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N Engl J Med.* 354: 270-82.
- Yasui Y., Potter J.D., Stanford J.L. Et Al. (2001). Risque de carcinome mammaire et infection primaire par le virus Epstein-Barr «retardée». *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 10: 9-16. [PubMed].
- Ylikomi T., Wurtz J.M., Syvala H. (1998). Reappraisal of the role of heat shock proteins as regulators of steroid receptors. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 33: 437-466.
- Young L.S., John R.A., Paul G.M. (2007). EBV Gene expression and regulation. In *human herpesviruses: Biology, therapy and immunoprophylaxis*, édité par Ann Arvin, Gabriella Campadelli-Fiume, Edward Roizman, Richard Whitley et Koichi Yamanishi. Cambridge. Cambridge University Press.

- Young L.S., Murray P.G. (2003). Epstein-Barr Virus and oncogenesis: from latent genes to tumors. *Oncogene* 22: 5108-5121.
- Young L.S., Rickson A.B. (2004). Epstein Barr Virus: 40 years on *Nature Reviews Cancer* 4(10): 757-68. Doi:10.1038/nrc1452.
- Zafrani B., Grogan G., Salomon A., Arnould L. (2007). *Pathologie mammaire*. EPU 2007.
- Zaki H.M, Garba-Bouda O, Garba S.M., Nouhou H. (2013). Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer du sein au Niger. *J Afr Cancer.*; 5(4): 185-91.
- Zhang Z., Kumar R., Santen R.J., Song R.X. (2004). The role of adapter protein Shc in estrogen non-genomic action. *Steroids* 69(8-9): 523-529.
- Zhao C., Matthews J., Tujaque M., Wan J., Strom A., Toresson G., Lame E.W., Cheng G., Gustafsson J.A., Dahlman-Wright K. (2007). Estrogen receptor beta 2 negatively regulates the transactivation of estrogen receptor alpha in human breast cancer cells. *Cancer Res* 67: 3955-3962.
- Zheng H., Li L.L., Hu D.S., Deng X.Y., Cao Y. (2007). Role of Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 in the carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Cell Mol Immunol*; 4(3): 185-96.
- Zheng Y.Z., Wang X.M., Fan L., Shao Z.M. (2020). Breast Cancer-Specific Mortality in Small-Sized Tumor with Stage IV Breast Cancer: A Population-Based Study. *Oncologist*. 2020 Oct 19 [Epub ahead of print]. doi: 10.1002/onco.13567. PMID: 33075188.

## ANNEXES

### **Annexe I : Classification histologique des cancers du sein selon l’OMS 2002-2003 :**

#### **Classification histologique des carcinomes mammaires de l’OMS**

#### **Tumeurs épithéliales non infiltrantes**

Carcinome canalaire in situ (intra-canalaire) (CCIS)

Carcinome lobulaire in situ (CLIS)

**Tumeurs épithéliales infiltrantes**

Carcinome canalaire infiltrant SAI (sans autre indication)

Carcinome canalaire infiltrant avec composante intra-canalaire prédominante

Carcinome lobulaire infiltrant

Carcinome mucineux (colloïde)

Carcinome médullaire

Carcinome papillaire

Carcinome tubuleux

Carcinome adénoïde kystique

Carcinome sécrétant juvénile

Carcinome apocrine

Carcinome métaplasique de type épidermoïde

Carcinome métaplasique de type à cellules fusiformes

Carcinome métaplasique de type chondroïde et osseux

Carcinome métaplasique de type mixte

Maladie de Paget du mamelon

**Annexe II : Classification TNM du cancer du sein, 8e édition 2017.**

**TUMEUR PRIMITIVE (T)**

Tx : Détermination de la tumeur primitive impossible.

T0 : Pas de signe de tumeur primitive.

Tis : Carcinome in situ.

Tis (CCIS) : Carcinome canalaire in situ.

Dans la classification 2017, le carcinome lobulaire in situ est considéré comme une lésion "bénigne" et est donc exclue de la classification pTNM.

Tis (Paget) : Maladie de Paget du mamelon sans tumeur décelable.

Note : une maladie de Paget avec tumeur décelable est à classer en fonction de la taille de la tumeur.

T1 : Tumeur  $\leq 2$  cm dans sa plus grande dimension.

- T1mic : Micro-invasion  $\leq 0,1$  cm dans sa plus grande dimension.

Note : La micro-invasion est une extension des cellules cancéreuses, au-delà de la membrane basale sans dépasser 0,1 cm. Quand plusieurs sites de micro-invasion existent, le plus important est pris en compte pour classer la micro-invasion (ne pas prendre en compte la somme des sites). La présence de multiples sites de micro-invasion doit être notée.

- T1a :  $0,1 \text{ cm} < T \leq 0,5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

Pour les lésions entre 1 et 2 mm, il est recommandé, du fait de l'imprécision de la mesure, de la taille, de formuler le compte-rendu en disant que la tumeur avoisine les 2 mm.

Il est bien précisé que le plus grand diamètre du nodule principal doit servir à cette classification. En cas de petit(s) nodule(s) satellite(s), ces derniers ne doivent pas être ajoutés à la taille du nodule principal.

En cas de tumeurs multiples, le plus grand diamètre de la tumeur la plus volumineuse doit servir pour le pT. Les dimensions des autres tumeurs plus petites ne doivent pas être ajoutées à la taille du nodule principal.

- T1b :  $0,5 \text{ cm} < T \leq 1 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.
- T1c :  $1 \text{ cm} < T \leq 2 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

T2 : Tumeur  $2 \text{ cm} < T \leq 5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

T3 : Tumeur  $>5 \text{ cm}$  dans sa plus grande dimension.

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

- T4a : Extension à la paroi thoracique.

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

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

Il est précisé que l'atteinte cutanée uniquement visible microscopiquement, en l'absence d'ulcération ou de "peau d'orange" clinique, ne doit pas être classé comme T4b mais la tumeur doit être classée seulement en fonction de sa taille.

- T4c : A la fois 4a et 4b.
- T4d : Carcinome inflammatoire.

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

Pour la classification pT, la taille de la tumeur est fondée sur la composante invasive. S'il y a un important contingent d'in situ (de 4 cm par exemple) et une petite composante invasive (de 0,5 cm par exemple), la tumeur sera codée pT1a.

Une dépression cutanée, la rétraction du mamelon ou toute autre modification des téguments, à l'exception de celles retenues pour la catégorie T4, peuvent exister avec T1, T2 ou T3 sans influencer sur le classement.

## **ADÉNOPATHIES RÉGIONALES (N)**

Nx : Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire (du fait, par exemple, d'une exérèse antérieure).

N0 : Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional.

N1 : Ganglions axillaires de niveau I et II homolatéraux mobiles.

N2 : Métastases dans un ou plusieurs ganglions axillaires de niveau I et II homolatéraux fixé(s) ou confluent(s) ou dans un ou plusieurs ganglions mammaires internes homolatéraux cliniquement détectables[1] en l'absence de métastase ganglionnaire axillaire cliniquement évidente.

- N2a : Métastases dans un ou plusieurs ganglion(s) axillaire(s) fixé(s) entre eux (confluents) ou à d'autres structures.
- N2b : Métastases cliniquement détectables [1] uniquement dans les ganglions mammaires internes, et en l'absence de métastase ganglionnaire axillaire cliniquement décelable.

N3 : Métastases dans les ganglions sous-claviculaires homolatéraux (niveau III) avec ou sans envahissement ganglionnaire axillaire (niveau I, II) ou métastase ganglionnaire mammaire interne homolatérale cliniquement détectable [1] en présence de métastase axillaire (niveau I,

II) cliniquement évidente ; ou métastases ganglionnaires sous-claviculaires homolatérales avec ou sans envahissement ganglionnaire axillaire ou mammaire interne.

- N3a : Métastase(s) ganglionnaire(s) sous-claviculaire(s).
- N3b : Métastases ganglionnaires mammaires internes et axillaires.
- N3c : Métastase(s) ganglionnaire(s) sus-claviculaire(s).

↑ 1,0, 1,1 et 1,2 : Cliniquement détectable signifie : détecté par un examen clinique ou par l'imagerie (lymphoscintigraphie exclue) et présentant des caractéristiques hautement suspectes de malignité, ou suspicion histopathologique de macrométastase fondée sur l'analyse cytologique d'un prélèvement par cytoponction. La confirmation par cytoponction sans biopsie exérèse d'une maladie métastatique cliniquement détectable est désignée par le sigle (f), comme par exemple cN3(f).

En l'absence d'attribution du pT, l'exérèse biopsie d'un ganglion ou le prélèvement d'un ganglion sentinelle sont classés selon la classification clinique N, par exemple : cN1. Lors de l'exérèse biopsie d'un ganglion ou du prélèvement d'un ganglion sentinelle, la classification histopathologique (pN) n'est utilisée que si le statut pT a pu être attribué.

### **MÉTASTASES (M)**

MX : Renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance

M0 : Absence de métastase à distance

M1 : Présence de métastase(s) à distance

### **Annexe III : Réactifs contenu dans les kits dako (récepteurs hormonaux, l'hercepTest, kit EBV IR753).**

Réactifs/lames	Kit Dako des récepteurs hormonaux
Solution de démasquage	Tampon citrate avec agents antimicrobiens.

Réactif de blocage de la peroxydase	<p>Solution contenant du peroxyde d'hydrogène à 0,5%, des inhibiteurs enzymatiques, un conservateur (RH).</p> <p>Solution contenant du peroxyde d'hydrogène à 3% avec 15mmol/L d'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>) (HER2).</p>
Anticorps primaire	<p>Anticorps monoclonal de souris anti-RE humain (IgG), Anticorps monoclonal de souris anti-RP humain (IgG) dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante.</p> <p>Anticorps de lapin anti-HER2 humaine dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante</p> <p>Anticorps monoclonal de souris anti-LMP1 CS1-4 dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante</p>
Réactif de control négatif	<p>Anticorps monoclonaux de souris (IgG) dans un tampon tris-HCL contenant une protéine stabilisante (RH).</p> <p>Anticorps monoclonaux de lapin dans un tampon contenant une protéine stabilisante (HER2)</p> <p>FLEX Negative control mouse (link) IR7 (LMP1)</p>
Solution de tampon substrat DAB	Solution contenant du peroxyde d'hydrogène <0,1% et des stabilisants.
Solution de substrat chromogène DAB	Solution chromogène de tétrahydrochlorure de 3,3'-diaminobenzidine à 5%.
Solution de rinçage	Tampon tris-HCL avec un détergent et un agent antimicrobien.
Lames de contrôle	<p>Chaque lame contient une lignée cellulaire présentant une expression des récepteurs hormonaux et une lignée négative.</p> <p>Chaque lame contient 3 lignées cellulaires de carcinome mammaire avec 3 niveaux d'expression d'HER2 : score 0, 1+ et 3+.</p>

## Annexe IV : Résultats de l'étude prospective

Numéro	Age (ans)	Sexes	Grades SBR	TNM	Types histo	siège	RE	RP	HER2	LMP1
928	45	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>1</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
1910	44	F	III	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CLI	SG	+	+	-	-
1969	74	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
3648	32	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>3</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	-	-	-	-
3796	46	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
2733	36	F	I	T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	Cmucineux	SG	+	+	-	+
2771	45	F	II	T <sub>1c</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	+
1314	40	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	-	-
1703	58	F	II	T <sub>1</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	+	-
1710	53	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CC in situ	SD	-	-	-	+
1139	47	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	-	-	-
3221	41	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CLI	SG	-	-	-	-
1753	62	H	I	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	-	-
1424	58	F	II	T <sub>3</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>0</sub>	CCI	SD	+	-	-	+
1438	39	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
1621	44	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>1a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	-	-	-	-
867	40	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SG	+	+	-	-
637	54	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>2a</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	+	-
93	41	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>3a</sub> M <sub>0</sub>	CBifocal	SG	-	-	+	-
151	43	F	II	T <sub>2</sub> N <sub>0</sub> M <sub>x</sub>	CCI	SD	+	+	+	-

<b>579</b>	58	F	II	$T_2N_{1a}M_x$	CCI	SG	+	+	-	+
<b>1813</b>	64	F	II	$T_2N_{2a}M_x$	CCI	SG	+	+	+	-
<b>1834</b>	67	F	II	$T_{1c}N_0M_x$	CCI	SD	-	-	+	-
<b>1727</b>	46	F	II	$T_2N_0M_x$	CCI	SG	+	+	-	-
<b>1053</b>	27	F	II	$T_2N_{2a}M_x$	CBifocal	SG	+	+	-	-
<b>1034</b>	51	F	II	$T_1N_0M_x$	CCI	SG	-	+	-	-
<b>3047</b>	57	F	II	$T_2N_0M_x$	CCI	SG	+	+	-	-
<b>7897</b>	44	F	II	$T_{1c}N_0M_x$	CCI	SD	+	+	-	+
<b>8072</b>	42	F	I	$T_2N_0M_x$	CCI	SD	+	+	-	+
<b>8897</b>	52	F	II	$T_3N_{3a}M_x$	CLI	SG	-	-	-	-

## Résumé de la thèse

Il suffit de la rencontre d'un gamète male et d'un gamète femelle pour former la première cellule qui nous constitue. Elle seule donnera naissance aux milliards de cellules de notre organisme et ce, par des procédés finement régulés de mitoses (naissances) et d'apoptose (mort programmée). En effet, des milliards de cellules naissent et meurent de façon à maintenir notre homéostasie. Cependant, le propre du cancer est de briser cette harmonie. La base du cancer est la cellule cancéreuse, celle-ci naît suite à l'accumulation de mutations qui lui confèrent un avantage sélectif. Dotée d'un pouvoir de multiplication indéfinie et illimité, la cellule cancéreuse ne répond plus aux lois de l'homéostasie tissulaire conduisant à la formation d'une tumeur.

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Il est la première cause de mortalité par tumeur maligne chez la femme dans les pays les moins développés (INCa, 2016) et la deuxième cause après le cancer du poumon dans les pays développés (FERLAY *et al.*, 2015).

En Algérie, une tendance défavorable de l'incidence du cancer du sein a été observée entre 1996 et 2019 (RAIAH *et al.*, 2022). Le cancer du sein est également devenu un véritable problème de santé publique et vient en première position des cancers les plus fréquents chez la femme avec 14000 nouveaux cas enregistrés chaque année, dont un taux important apparaît avant l'âge de 40 ans, contrairement au pays occidentaux où le cancer mammaire apparaît après l'âge de 60 ans et plus (HAMDICHERIF *et al.*, 2020).

Le cancer du sein ou « carcinome mammaire » se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'il s'agisse des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire » ou de celles des lobules « carcinome lobulaire », on parle « d'Adénocarcinome » c'est-à-dire d'un cancer du tissu glandulaire. Le carcinome peut être « *in situ* » ou « infiltrant » selon qu'il y est ou non effraction de la membrane basale et possède ou non un potentiel métastatique. Moins souvent (moins de 10% des cas de tumeur du sein), la tumeur se développe dans le tissu conjonctif du sein. On parle alors de cancer non glandulaire ou « sarcome Phyllode ».

Les facteurs cliniques et pathologiques comme l'âge, le type histologique, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, le grade histopronostique de SCARFF, BLOOM et RICHARDSON (SBR), l'expression des récepteurs hormonaux ou encore la surexpression de l'oncogène HER2 sont des facteurs prédictifs connus dans le cancer du sein. En effet, ils apportent au clinicien des informations d'ordre pronostic et thérapeutique. Des facteurs auxquels nous avons porté un intérêt particulier lors de nos analyses. En effet, l'étude des RH présente deux intérêts. Le premier est représenté par leur rôle pronostic, lié au potentiel évolutif spontané de la tumeur, le second est leur intérêt thérapeutique, lié à la réponse de la tumeur à l'hormonothérapie. L'évaluation du statut HER2 présente les mêmes intérêts. La surexpression

de cet oncogène est associée à un cancer agressif dont la thérapie est ciblée par un anticorps humanisé (Herceptine).

Nous nous sommes également intéressés aux facteurs viraux, plus spécifiquement à l'Epstein Barr Virus car sa présence a été suspectée dans les cancers mammaires mais jamais réellement élucidée. Par conséquent, nous avons émis l'hypothèse qu'une exposition tardive (à l'âge adulte plutôt que dans l'enfance) à un virus commun tel que le virus d'Epstein-Barr (EBV) pourrait provoquer un cancer du sein chez la femme et nous avons décidé d'objectiver biologiquement ce rôle potentiel.

La cancérogénèse liée à l'EBV est donc le résultat de la combinaison de plusieurs paramètres, notamment :

Expression des ARN non messagers EBER1 et EBER2 qui se lient à la PKR (Protéine Kinase dépendante des ARN) et inhibent sa phosphorylation, bloquant ainsi la réponse cellulaire aux interférons. Ces derniers ont également la capacité d'activer la transcription du gène codant l'IGF1 (*Insulin-like Growth Factor 1*) par un mécanisme non encore élucidé (NANBO *et al.*, 2002) ;

Expression de la protéine EBNA1 qui a le pouvoir de transactiver l'expression du gène anti-apoptotique Bcl-X (TSIMBOURI *et al.*, 2002) ;

Expression de la protéine LMP2, difficilement détectable mais dont les messagers sont abondants. Cette protéine présente une activité transformante par activation de la voie de signalisation PI3-Kinase/AKT ;

Expression de la protéine BARF1 qui est faiblement retenue dans les cellules. Sous sa forme sécrétée, elle présente les propriétés d'un facteur de croissance (SALL, 2004) ;

Expression de la protéine LMP1 qui est essentielle dans le pouvoir oncogène d'EBV. En effet, le domaine C-terminal de cette dernière peut être subdivisé en trois régions activatrices de la signalisation cellulaire, les CTAR (*C-Terminal Activating Regions*) : CTAR1, CTAR2, CTAR3. Or, CTAR1 et CTAR2 activent la voie NF- $\kappa$ B, favorisant la prolifération cellulaire et l'inhibition de l'apoptose et donc l'immortalisation cellulaire. CTAR3, quant à elle, augmente l'expression du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) favorisant l'invasion et les métastases et ce, en stimulant la voie Jak3/STAT (ZHENG *et al.*, 2007) ;

L'EBV altère la fonction de la protéine humaine Nm23-H1 qui joue le rôle de suppresseur de tumeur métastatique. Cette altération se produit suite à l'interaction de la région carboxyl terminale de la protéine virale EBNA-3C de manière spécifique avec la protéine Nm23-H1.

Lorsque ce frein naturel est désactivé par l'EBV, les cellules cancéreuses mammaires forment des métastases (PANDEY *et al.*, 2018).

L'EBV représente donc un cofacteur parmi d'autres dans la transformation maligne des cellules épithéliales. Cette transformation requière en effet, des altérations génétiques qui s'ajoutent à l'infection latente par l'EBV.

En plus de l'analyse des paramètres clinico-pathologiques connus du cancer du sein, nous nous sommes penchés sur l'analyse de l'expression de la protéine LMP1 qui signerait la présence d'EBV.

Lors de cette étude, nous avons réalisé des analyses au sein du service d'anatomie-pathologie du CHU NEDIR MOHAMED de Tizi-Ouzou sur une population de trente patientes présentant un carcinome mammaire et ayant subi une mastectomie. Le but étant de rechercher, en plus de l'expression des RH et HER2, l'expression de la protéine LMP1 qui signe la présence de l'EBV.

De manière générale, l'analyse anatomo-pathologique de nos pièces de mastectomie s'est déroulée sur trois axes :

- L'étude macroscopique ;
- L'étude histologique ;
- L'étude immunohistochimique suivie de l'étude microscopique qui permet de visualiser et d'interpréter les résultats.

L'évaluation du statut des récepteurs hormonaux (RE, RP), de l'oncogène HER2 et de l'expression potentielle de l'LMP1 chez les trente patientes a été réalisée par la technique d'immunohistochimie (IHC) (Kit DAKO). L'IHC est la technique la mieux adaptée aux tissus fixés et inclus en paraffine.

Les huit lames destinées à l'IHC sont traitées de la même manière, mais avec les réactifs inclus dans le kit de l'hercepTest pour l'HER2, ceux inclus dans le kit des récepteurs hormonaux pour le RE et le RP et ceux inclus dans le kit EBV IR753 pour LMP1.

La révélation du complexe antigène/anticorps en IHC se fait par une réaction immuno-enzymatique qui consiste à faire agir la peroxydase de Raifort avec son substrat (peroxyde d'hydrogène). La réaction est révélée par un chromogène donneur de proton (DAB

tétrahydrochlorure de 3,3-diaminobenzidine) qui est incolore et soluble à l'état réduit et qui se colore en brun et devient insoluble lorsqu'il est oxydé ( $H_2O_2 + 2 DH \rightarrow 2 H_2O + 2 D$ ).

En bref, la conversion enzymatique du DAB en présence du peroxyde d'hydrogène donne un précipité marron insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Il marque en brun le site d'interaction antigène-anticorps. La réaction est évaluable par microscopie optique au faible grossissement (Gx40) puis le score est confirmé au fort grossissement (Gx1000).

Nous avons aboutit aux résultats suivant:

- Dans notre étude, 70% des tumeurs ont été retrouvées dans le sein gauche, aucun cas d'atteinte bilatérale n'a été retrouvé.
- L'âge de nos patientes varie entre 27 et 74 ans avec une moyenne d'âge de 49 ans. La tranche d'âge la plus touchée est celle des patientes âgées entre 40 et 59 ans, elle représente plus de 70% des cas de notre échantillon.
- le sexe masculin est représenté par un seul patient sur trente.
- 77% de nos patientes présentent un CCI, 10% un CLI et environ 7% un carcinome bifocal et seul 3,33% de patientes présente un CC *In situ* et un carcinome mucineux.
- Pour ce qui est de la taille tumorale, les stades  $T_x$ ,  $T_0$  ainsi que  $T_4$  n'ont pas été retrouvés dans notre série. 60% de nos patients présentent des tumeurs en stade T2, 26,66% en stade T1 et seulement 13,33% en stade T3.
- 57% des patientes sont au stade N+ contre 43% au stade  $N_0$ . Sur les 57% de patientes présentant des métastases ganglionnaires (N+), 41% sont au stade  $N_1$  (07 cas), 41% au stade  $N_2$  (07 cas) et seulement 17% au stade  $N_3$  (03 cas). Ces résultats confirment notre hypothèse de meilleure prise en charge de nos patientes en termes de dépistage.
- Concernant le statut métastatique, La majorité des patientes formant notre échantillon est classée en stade  $M_x$  93,33% soit 28 malades. En effet, les métastases de ses dernières n'ont pas pu être classées par manque de renseignements. Seules 2 malades ne présentent pas du tout de métastases à distance  $M_0$  (6,66%) et aucune malade n'est classée en stade  $M_+$ .
- Le grade SBR majoritairement retrouvé est le grade II avec 90% de cas, suivi du grade I avec 6,66% des cas et enfin du grade III avec 3,33%.

- Les résultats des RH sont évalués par le score d'Allred. Seul le marquage nucléaire est pris en considération avec un seuil de positivité de 10%. Dans notre série, 73,33% des patientes expriment le RE, ce qui est proche du taux de 60% à 70% de la littérature. Donc, seuls 26,66% sont RE- et 70% présentent un profil RP+ contre 30% avec un profil RP-.
- La surexpression de l'oncoprotéine HER2 est représentées par 20% de nos patientes avec un (score 3), contre 80% de patientes qui présentent un profil HER2 négatif (53,33% score 0 et 26,66% score 1), nous n'avons pas eu de cas douteux (score 2). Notre résultat concorde avec le taux de positivité de 20 à 30% mentionné dans la littérature (PAULETTI *et al.*, 2000).
- En ce qui concerne la présence d'EBV dans les cellules cancéreuses, la coloration nucléaire avec l'anticorps LMP1, indépendamment de l'intensité de la coloration et du pourcentage de cellules colorées a été considérée comme une expression positive à LMP1 alors que le tissu adjacent sain est négatif à l'LMP1. Ainsi, 23,33% des carcinomes mammaires expriment la protéine, Le reste soit 77% présente un profil LMP1 négatif.

Dans le but de déterminer la valeur pronostique ainsi que thérapeutique des différents facteurs de manière jumelée en prenant en considération l'influence des uns sur les autres, nous avons réalisé une étude de corrélation et les résultats se présentent comme suit:

- Nous avons noté l'existence d'une forte relation entre l'expression du RE et l'expression du RP avec une P value statistiquement significative et un V de Cramer de **0,757**. Nous avons également prouvé une **corrélation positive significative** entre l'expression de ces deux récepteurs hormonaux avec un coefficient de corrélation de 0,757. Cette relation positive et corrélation entre les RE et RP rejoint les résultats de plusieurs autres études.
- Dans notre étude, nous n'avons noté aucune relation statistique entre l'expression des RH et la surexpression de la protéine HER2. (P value RE= 0,645 > 0,05 avec un V de cramer = 0,075, et P value RP=1 avec V de cramer = 0,036 au seuil alpha=0,05). Les deux variables RE et RP ne sont donc pas liées à la variable HER2. En d'autres termes, la surexpression de l'oncoprotéine n'a aucun lien avec l'existence des RH+. Pourtant, l'analyse de nos résultats démontre clairement une tendance inversée. En effet, 60% de nos patientes qui expriment RE ne surexpriment pas l'HER2 (profil RE+/HER2-) et 56,66% des patientes RP+ sont également HER2-. On remarque ainsi que de manière générale, les patientes RH+ sont plutôt HER2-. De plus, nous avons noté une corrélation inverse entre l'expression du RE et la surexpression de l'HER2 avec un coefficient de **corrélation statistiquement significatif égal à -0,75**. Notre résultat concorde avec la

littérature du fait que la majorité des études ont noté que les cas HER2 score 3 sont beaucoup plus représentés dans les cas RE- que dans les cas RE+. Environ 35% des cas RE- présentent une amplification d'HER2 contre seulement 10 à 15% RE+/HER2+ (ELISS *et al.*, 2006), dans notre étude ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.

- Dans le cas du test de corrélation RP/HER2, nous n'avons pas pu trouver une relation statistique significative. Cependant, nous notons une tendance à une corrélation inverse avec un coefficient de SPEARMAN de -0,36. De plus cette corrélation inverse reste logique du fait qu'il y a une corrélation positive RE/RP et une corrélation négative RE/HER2. A partir de ces données, on peut déduire que la corrélation RP/HER2 sera négative.
- Dans notre série, nous avons également noté l'existence de profils triple négatifs ou encore RH+/HER2+. Ce résultat concorde avec les données de la littérature et est expliqué par le fait que bien que la corrélation inverse entre l'expression des RE et de l'HER2 soit admise, elle reste tout de même non absolue. En effet, environ 10% des cas RE+ peuvent également être HER2 + (TODOROVIC, 2005), dans notre série ce profil est représenté à hauteur de 13,33%.
- Dans notre série, aucune relation statistique entre l'expression des RH et la présence d'EBV (jugée par l'expression de la protéine LMP1) n'a été noté. Cela signifie que nous n'avons pas établi de lien entre la présence de la protéine virale LMP1 et l'expression des RH dans les cancers du sein. Aucun lien statistique n'a également été noté entre la présence d'EBV et la surexpression de l'oncoprotéine LMP1.
- Nous n'avons noté aucune corrélation statistiquement significative entre l'expression de la protéine LMP1 de l'EBV et les facteurs pronostiques classiques à savoir : l'âge des patients, le grade SBR, la taille tumorale ou encore l'envahissement des ganglions lymphatiques.

A la lumière de certaine données de la littérature et de nos résultats, nous pouvons suggérer que EBV joue un rôle dans l'oncogenèse mammaire mais probablement pas en tant que facteur étiologique primaire. Du fait qu'il ne soit pas détecté systématiquement dans toutes les cellules carcinomateuses mammaires, bien que l'EBV soit connu pour être un virus hit-and-run. En effet, même dans les cas de carcinomes nasopharyngés où le rôle de l'EBV ne se discute plus et est bien documenté, toutes les cellules tumorales ne sont pas colorées par l'anticorps (GLASER *et al.*, 2004). De plus l'expression de la protéine LMP1 par exemple, dépend du type de latence (latence II) et sa négativité n'élimine pas la présence de l'EBV (KAFE *et al.*, 1998).

Dans le cas du cancer du sein, il jouerait plutôt le rôle d'agent qui avec d'autres cofacteurs, devient capable de modifier le comportement des cellules déjà transformées, leurs conférant ainsi un phénotype plus agressif (SHARAF *et al.* 2012), hypothèse soutenue par le fait que MURRAY *et al.*, en 2003 ont remarqué que les cancers du sein EBV+ sont plus agressifs que les autres cancers du sein. Plus récemment, d'autres auteurs ont rapporté que l'expression du gène LMP1 est associé à un phénotype invasif (ABOULKASSIM *et al.*, 2015). C'est ainsi que nous sommes intéressés à l'étude des facteurs pronostiques connus du cancer du sein sur des profils tumoraux exprimant l'EBV et plus exactement la protéine LMP1.

Au terme de notre étude, nous retenons également que l'incidence de cette pathologie redoutable est en évolution croissante et que cette dernière apparait à un âge relativement jeune dans notre wilaya.

La majorité de nos résultats concordent avec ceux de la littérature. De ce fait, nous pouvons affirmer la fiabilité de notre technique immunohistochimique.

T [ o Á&.Á

Ôæ &^!Á~ Á^ā Á

Òàç

Ôæ&ā [ { ^Á æ { æā^

Ôā^} [ &æ&ā [ { ^

Ôæ&^ !Áāæ ç

Ôæ &^!Á