HAL
open science

Apport de la signature génomique par Prosigna®dans la décision de prise en charge thérapeutique adjuvante par chimiothérapie chez des patients atteints de cancer du sein RH+ HER2- : étude rétrospective à propos de 300 cas à l'Institut Paoli Calmettes

Agathe Boucraut

To cite this version:

Agathe Boucraut. Apport de la signature génomique par Prosigna®dans la décision de prise en charge thérapeutique adjuvante par chimiothérapie chez des patients atteints de cancer du sein RH+ HER2- : étude rétrospective à propos de 300 cas à l'Institut Paoli Calmettes. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03190609

HAL Id: dumas-03190609

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03190609v1

Submitted on 6 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Faculté des sciences médicales et paramédicales
Aix*Marseille Université

Apport de la signature génomique par Prosigna® dans la décision de prise en charge thérapeutique adjuvante par chimiothérapie chez des patients atteints de cancer du sein RH+ HER2- : étude rétrospective à propos de 300 cas à l'Institut Paoli Calmettes.

T H E S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

DE MARSEILLE

Le 2 Avril 2021

Par Madame Agathe BOUCRAUT

Née le 10 avril 1989 à Marseille 08eme (13)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. d' ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur XERRI Luc	**Président**
Madame le Professeur CHARAFE-JAUFFRET Emmanuelle	**Directeur**
Monsieur le Professeur GONCALVES Anthony	**Assesseur**
Madame le Docteur COHEN Monique	**Assesseur**

Faculté des sciences médicales et paramédicales
Aix*Marseille Université

Apport de la signature génomique par Prosigna® dans la décision de prise en charge thérapeutique adjuvante par chimiothérapie chez des patients atteints de cancer du sein RH+ HER2- : étude rétrospective à propos de 300 cas à l'Institut Paoli Calmettes.

T H E S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

DE MARSEILLE

Le 2 Avril 2021

Par Madame Agathe BOUCRAUT

Née le 10 avril 1989 à Marseille 08eme (13)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. d' ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur XERRI Luc	**Président**
Madame le Professeur CHARAFE-JAUFFRET Emmanuelle	**Directeur**
Monsieur le Professeur GONCALVES Anthony	**Assesseur**
Madame le Docteur COHEN Monique	**Assesseur**

Faculté des sciences médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	**:**	**Pr. Georges LEONETTI**
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI

Assesseurs :

➢ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➢ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➢ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➢ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➢ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➢ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➢ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➢ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➢ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➢ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➢ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur	**:**	**Pr. Jean-Michel VITON**

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marie-Aleth RICHARD
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

Faculté des sciences médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

ÉCOLE DE MEDECINE DENTAIRE

Directeur : **Pr. Bruno FOTI**

ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1er cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2ème cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1er cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2ème cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM AGOSTINI Serge
ALDIGHIERI René
ALESSANDRINI Pierre
ALLIEZ Bernard
AQUARON Robert
ARGEME Maxime
ASSADOURIAN Robert
AUFFRAY Jean-Pierre
AUTILLO-TOUATI Amapola
AZORIN Jean-Michel
BAILLE Yves
BARDOT Jacques
BARDOT André
BERARD Pierre
BERGOIN Maurice
BERLAND Yvon
BERNARD Dominique
BERNARD Jean-Louis
BERNARD Jean-Paul
BERNARD Pierre-Marie
BERTRAND Edmond
BISSET Jean-Pierre
BLANC Bernard
BLANC Jean-Louis
BOLLINI Gérard
BONGRAND Pierre
BONNEAU Henri
BONNOIT Jean
BORY Michel
BOTTA Alain
BOTTA-FRIDLUND Danielle
BOURGEADE Augustin
BOUVENOT Gilles
BOUYALA Jean-Marie
BREMOND Georges
BRICOT René
BRUNET Christian
BUREAU Henri
CAMBOULIVES Jean
CANNONI Maurice
CARTOUZOU Guy
CAU Pierre
CHABOT Jean-Michel
CHAMLIAN Albert
CHARPIN Denis
CHARREL Michel

MM DEVRED Philippe
DJIANE Pierre
DONNET Vincent
DUCASSOU Jacques
DUFOUR Michel
DUMON Henri
ENJALBERT Alain
FAUGERE Gérard
FAVRE Roger
FIECHI Marius
FARNARIER Georges
FIGARELLA Jacques
FONTES Michel
FRANCES Yves
FRANCOIS Georges
FUENTES Pierre
GABRIEL Bernard
GALINIER Louis
GALLAIS Hervé
GAMERRE Marc
GARCIN Michel
GARNIER Jean-Marc
GAUTHIER André
GERARD Raymond
GEROLAMI-SANTANDREA André
GIUDICELLI Sébastien
GOUDARD Alain
GOUIN François
GRILLO Jean-Marie
GRIMAUD Jean-Charles
GRISOLI François
GROULIER Pierre
HADIDA/SAYAG Jacqueline
HASSOUN Jacques
HEIM Marc
HOUEL Jean
HUGUET Jean-François
JAQUET Philippe
JAMMES Yves
JOUVE Paulette
JUHAN Claude
JUIN Pierre
KAPHAN Gérard
KASBARIAN Michel
KLEISBAUER Jean-Pierre
LACHARD Jean

CHAUVEL Patrick
CHOUX Maurice
CIANFARANI François
CLAVERIE Jean-Michel
CLEMENT Robert
COMBALBERT André
CONTE-DEVOLX Bernard
CORRIOL Jacques
COULANGE Christian
CURVALE Georges
DALMAS Henri
DE MICO Philippe
DELPERO Jean-Robert
DESSEIN Alain
DELARQUE Alain
DEVIN Robert

MM MICHOTEY Georges
MIRANDA François
MONFORT Gérard
MONGES André
MONGIN Maurice
MUNDLER Olivier
NAZARIAN Serge
NICOLI René
NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert

LAFFARGUE Pierre
LAUGIER René
LE TREUT Yves
LEVY Samuel
LOUCHET Edmond
LOUIS René
LUCIANI Jean-Marie
MAGALON Guy
MAGNAN Jacques
MALLAN- MANCINI Josette
MALMEJAC Claude
MARANINCHI Dominique
MARTIN Claude
MATTEI Jean François
MERCIER Claude
METGE Paul

VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETTES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAMBUC Roland
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SARLES Jacques
SARLES - PHILIP Nicole
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SEITZ Jean-François
SERMENT Gérard
SOULAYROL René
STAHL André
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THIRION Xavier
THOMASSIN Jean-Marc
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène

EMERITAT

2008		
M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011
2009		
M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012
2010		
M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
2011		
M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015
2012		
M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015
2013		
M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUFO Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016
2014		
M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017
2015		
M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

EMERITAT

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETTES Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019
M. le Professeur	RIDINGS Bernard	31/08/2021

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021

EMERITAT

M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021

Honoris causa

1967	
MM. les Professeurs	DADI (Italie)
	CID DOS SANTOS (Portugal)
1974	
MM. les Professeurs	MAC ILWAIN (Grande-Bretagne)
	T.A. LAMBO (Suisse)
1975	
MM. les Professeurs	O. SWENSON (U.S.A.)
	Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)
1976	
MM. les Professeurs	P. FRANCHIMONT (Belgique)
	Z.J. BOWERS (U.S.A.)
1977	
MM. les Professeurs	C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.)
	C.GIBBS (U.S.A.)
	J. DACIE (Grande-Bretagne)
1978	
M. le Président	F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)
1980	
MM. les Professeurs	A. MARGULIS (U.S.A.)
	R.D. ADAMS (U.S.A.)
1981	
MM. les Professeurs	H. RAPPAPORT (U.S.A.)
	M. SCHOU (Danemark)
	M. AMENT (U.S.A.)
	Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne)
	S. REFSUM (Norvège)
1982	
M. le Professeur	W.H. HENDREN (U.S.A.)
1985	
MM. les Professeurs	S. MASSRY (U.S.A.)
	KLINSMANN (R.D.A.)
1986	
MM. les Professeurs	E. MIHICH (U.S.A.)
	T. MUNSAT (U.S.A.)
	LIANA BOLIS (Suisse)
	L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987

M. le Professeur P.J. DYCK (U.S.A.)

1988

MM. les Professeurs R. BERGUER (U.S.A.)
W.K. ENGEL (U.S.A.)
V. ASKANAS (U.S.A.)
J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.)
A. DAVIGNON (Canada)
A. BETTARELLO (Brésil)

1989

M. le Professeur P. MUSTACCHI (U.S.A.)

1990

MM. les Professeurs J.G. MC LEOD (Australie)
J. PORTER (U.S.A.)

1991

MM. les Professeurs J. Edward MC DADE (U.S.A.)
W. BURGDORFER (U.S.A.)

1992

MM. les Professeurs H.G. SCHWARZACHER (Autriche)
D. CARSON (U.S.A.)
T. YAMAMURO (Japon)

1994

MM. les Professeurs G. KARPATI (Canada)
W.J. KOLFF (U.S.A.)

1995

MM. les Professeurs D. WALKER (U.S.A.)
M. MULLER (Suisse)
V. BONOMINI (Italie)

1997

MM. les Professeurs C. DINARELLO (U.S.A.)
D. STULBERG (U.S.A.)
A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne)
P.I. BRANEMARK (Suède)

1998

MM. les Professeurs O. JARDETSKY (U.S.A.)

1999

MM. les Professeurs J. BOTELLA LLUSIA (Espagne)

	D. COLLEN (Belgique)
	S. DIMAURO (U. S. A.)
2000	
MM. les Professeurs	D. SPIEGEL (U. S. A.)
	C. R. CONTI (U.S.A.)
2001	
MM. les Professeurs	P-B. BENNET (U. S. A.)
	G. HUGUES (Grande Bretagne)
	J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)
2002	
MM. les Professeurs	M. ABEDI (Canada)
	K. DAI (Chine)
2003	
M. le Professeur	T. MARRIE (Canada)
Sir	G.K. RADDA (Grande Bretagne)
2004	
M. le Professeur	M. DAKE (U.S.A.)
2005	
M. le Professeur	L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)
2006	
M. le Professeur	A. R. CASTANEDA (U.S.A.)
2007	
M. le Professeur	S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert
ALBANESE Jacques
ALIMI Yves
AMABILE Philippe
AMBROSI Pierre
ANDRE Nicolas
ARGENSON Jean-Noël
ASTOUL Philippe
ATTARIAN Shahram
AUDOUIN Bertrand
AUQUIER Pascal
AVIERINOS Jean-François
AZULAY Jean-Philippe
BAILLY Daniel
BARLESI Fabrice
BARLIER-SETTI Anne
BARLOGIS Vincent
BARTHET Marc
BARTOLI Christophe
BARTOLI Jean-Michel
BARTOLI Michel
BARTOLOMEI Fabrice
BASTIDE Cyrille
BENSOUSSAN Laurent
BERBIS Philippe
BERBIS Julie
BERDAH Stéphane
BEROUD Christophe
BERTUCCI François
BLAISE Didier
BLIN Olivier
BLONDEL Benjamin
BONIN/GUILLAUME Sylvie
BONELLO Laurent
BONNET Jean-Louis
BOUBLI Léon Surnombre
BOUFI Mourad
BOYER Laurent
BREGEON Fabienne
BRETELLE Florence
BROUQUI Philippe
BRUDER Nicolas
BRUE Thierry
BRUNET Philippe
BURTEY Stéphane
CARCOPINO-TUSOLI Xavier
CASANOVA Dominique
CASTINETTI Frédéric
CECCALDI Mathieu
CHAGNAUD Christophe
CHAMBOST Hervé
CHAMPSAUR Pierre
CHANEZ Pascal
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle
CHARREL Rémi
CHAUMOITRE Kathia
CHIARONI Jacques
CHINOT Olivier
CHOSSEGROS Cyrille
COLLART Frédéric
COSTELLO Régis
COURBIERE Blandine
COWEN Didier
CRAVELLO Ludovic
CUISSET Thomas
DA FONSECA David
DAHAN-ALCARAZ Laetitia
DANIEL Laurent
DARMON Patrice
DAVID Thierry
D'ERCOLE Claude
D'JOURNO Xavier
DEHARO Jean-Claude
DELAPORTE Emmanuel
DENIS Danièle
DISDIER Patrick
DODDOLI Christophe
DRANCOURT Michel
DUBUS Jean-Christophe
DUFFAUD Florence
DUFOUR Henry
DURAND Jean-Marc
DUSSOL Bertrand
EBBO Mikaël
EUSEBIO Alexandre
FABRE Alexandre
FAKHRY Nicolas
FELICIAN Olvier
FENOLLAR Florence
FIGARELLA/BRANGER Dominique
FLECHER Xavier
FOUILLOUX Virginie
FOURNIER Pierre-Edouard
FRANCESCHI Frédéric
FUENTES Stéphane
GABERT Jean
GABORIT Bénédicte
GAINNIER Marc
GARCIA Stéphane
GARIBOLDI Vlad
GAUDART Jean
GAUDY-MARQUESTE Caroline
GENTILE Stéphanie
GERBEAUX Patrick
GEROLAMI/SANTANDREA René
GILBERT/ALESSI Marie-Christine
GIORGI Roch
GIOVANNI Antoine
GIRARD Nadine
GIRAUD/CHABROL Brigitte
GONCALVES Anthony
GRANEL/REY Brigitte
GRANVAL Philippe
GREILLIER Laurent
GROB Jean-Jacques
GUEDJ Eric

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck
PANUEL Michel Surnombre
PAPAZIAN Laurent
PAROLA Philippe
PARRATTE Sébastien Disponibilité
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure
PELLETIER Jean
PERRIN Jeanne
PETIT Philippe
PHAM Thao
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominiqu
PIQUET Philippe
PIRRO Nicolas
POINSO François
RACCAH Denis
RANQUE Stéphane
RAOULT Didier Surnombre
REGIS Jean
REYNAUD/GAUBERT Martine
REYNAUD Rachel
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth
RICHIERI Raphaëlle
ROCHE Pierre-Hugues
ROCH Antoine
ROCHWERGER Richard
ROLL Patrice
ROSSI Dominique
ROSSI Pascal
ROUDIER Jean
SALAS Sébastien
SARLON-BARTOLI Gabrielle
SCAVARDA Didier
SCHLEINITZ Nicolas
SEBAG Frédéric
SIELEZNEFF Igor
SIMON Nicolas
STEIN Andréas
TAIEB David
THOMAS Pascal
THUNY Franck
TREBUCHON-DA FONSECA Agnès
TRIGLIA Jean-Michel
TROPIANO Patrick
TSIMARATOS Michel

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

BRANDENBURGER Chantal retraite mars 2021
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI

REVIS Joana

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GEN

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DE MEDECINE GENERALE

GUIDA Pierre

GUIEU Régis
GUIS Sandrine
GUYE Maxime
GUYOT Laurent
GUYS Jean-Michel Surnombre
HABIB Gilbert
HARDWIGSEN Jean
HARLE Jean-Robert
HOUVENAEGHEL Gilles
JACQUIER Alexis
JOURDE-CHICHE Noémie
JOUVE Jean-Luc
KAPLANSKI Gilles
KARSENTY Gilles
KERBAUL François détachement
KRAHN Martin
LAFFORGUE Pierre
LAGIER Jean-Christophe
LAMBAUDIE Eric
LANCON Christophe
LA SCOLA Bernard
LAUNAY Franck
LAVIEILLE Jean-Pierre
LE CORROLLER Thomas
LECHEVALLIER Eric
LEGRE Régis
LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
LEONE Marc
LEONETTI Georges
LEPIDI Hubert
LEVY Nicolas
MACE Loïc
MAGNAN Pierre-Edouard
MANCINI Julien
MEGE Jean-Louis
MERROT Thierry
METZLER/GUILLEMAIN Catherine
MEYER/DUTOUR Anne
MICCALEF/ROLL Joëlle
MICHEL Fabrice
MICHEL Gérard
MICHEL Justin
MICHELET Pierre
MILH Mathieu
MILLION Matthieu
MOAL Valérie
MORANGE Pierre-Emmanuel
MOULIN Guy
MOUTARDIER Vincent
NAUDIN Jean
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
NICOLLAS Richard
NGUYEN Karine
OLIVE Daniel
OLLIVIER Matthieu
OUAFIK L'Houcine
OVAERT-REGGIO Caroline
PADOVANI Laetitia

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

TURRINI Olivier
VALERO René
VAROQUAUX Arthur Damien
VELLY Lionel
VEY Norbert
VIDAL Vincent
VIENS Patrice
VILLANI Patrick
VITON Jean-Michel
VITTON Véronique
VIEHWEGER Heide Elke détachement
VIVIER Eric
XERRI Luc

AHERFI Sarah
ANGELAKIS Emmanouil (disponibilité)
ATLAN Catherine (disponibilité)
BEGE Thierry
BELIARD Sophie
BENYAMINE Audrey
BERTRAND Baptiste
BEYER-BERJOT Laura
BIRNBAUM David
BONINI Francesca
BOUCRAUT Joseph
BOULAMERY Audrey
BOULLU/CIOCCA Sandrine
BOUSSEN Salah Michel
BUFFAT Christophe
CAMILLERI Serge
CARRON Romain
CASSAGNE Carole
CERMOLACCE Michel
CHAUDET Hervé
CHRETIEN Anne-Sophie
COZE Carole
CUNY Thomas
DADOUN Frédéric (disponibilité)
DALES Jean-Philippe
DARIEL Anne
DAUMAS Aurélie
DEGEORGES/VITTE Joëlle
DELLIAUX Stéphane
DESPLAT/JEGO Sophie
DEVILLIER Raynier
DUBOURG Grégory
DUCONSEIL Pauline
DUFOUR Jean-Charles
ELDIN Carole
FAURE Alice
FOLETTI Jean- Marc
FRANKEL Diane
FROMONOT Julien
GASTALDI Marguerite
GELSI/BOYER Véronique
GIUSIANO Bernard
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie
GONZALEZ Jean-Michel
GOURIET Frédérique
GRAILLON Thomas
GUERIN Carole
GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné
GUIDON Catherine
GUIVARCH Jokthan
HAUTIER/KRAHN Aurélie
HRAIECH Sami
KASPI-PEZZOLI Elise
L'OLLIVIER Coralie
LABIT-BOUVIER Corinne
LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina
LAGARDE Stanislas
LAGIER Aude (disponibilité)
LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude
LEVY/MOZZICONACCI Annie
LOOSVELD Marie
MAAROUF Adil
MACAGNO Nicolas
MAUES DE PAULA André
MEGE Diane
MOTTOLA GHIGO Giovanna
NINOVE Laetitia
NOUGAIREDE Antoine
PAULMYER/LACROIX Odile
PESENTI Sébastien
RADULESCO Thomas
RESSEGUIER Noémie
ROBERT Philippe
ROBERT Thomas
ROMANET Pauline
SABATIER Renaud
SARI-MINODIER Irène
SAVEANU Alexandru
SECQ Véronique (disponibilité)
STELLMANN Jan-Patrick
SUCHON Pierre
TABOURET Emeline
TOGA Caroline
TOGA Isabelle
TOMASINI Pascale
TOSELLO Barthélémy
TROUSSE Delphine
TUCHTAN-TORRENTS Lucile
VELY Frédéric
VION-DURY Jean
ZATTARA/CANNONI Hélène

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad
BARBACARU/PERLES T. A.
BERLAND Caroline
BOYER Sylvie
COLSON Sébastien
DEGIOANNI/SALLE Anna
DESNUES Benoît
MARANINCHI Marie
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky
MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte
POGGI Marjorie
POUGET Benoît
RUEL Jérôme
THOLLON Lionel
THIRION Sylvie
VERNA Emeline

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BARGIER Jacques
CALVET-MONTREDON Céline
FORTE Jenny
JANCZEWSKI Aurélie
NUSSLI Nicolas
ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle

THERY Didier

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline

EVANS-VIALLAT Catherine

LAZZAROTTO Sébastien

LUCAS Guillaume

MATHIEU Marion

MAYENS-RODRIGUES Sandrine

MELLINAS Marie

ROMAN Christophe

TRINQUET Laure

ESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITA
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants

ANATOMIE *4201*

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) disponibilité

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES *4203*

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)
SECQ Véronique (MCU-PH) disponibilité

ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ; MEDECINE URGENCE *4801*

ALBANESE Jacques (PU-PH)
BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANGLAIS *11*

BRANDENBURGER Chantal (PRCE) retraite mars 2021
FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE *5405*

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE *4301*

GUEDJ Eric (PU-PH)

ANTHROPOLOGIE *20*

ADALIAN Pascal (PR)

DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
POUGET Benoît (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE *4501*

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)
RAOULT Didier (PU-PH) Surnombre

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) disponibilité
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE *4401*

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMONOT Julien (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE *4403*

ROLL Patrice (PU-PH)

FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

CARDIOLOGIE *5102*

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)

GUYE Maxime (PU-PH)
TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE ET TECHNOLOGIES DE COMMUNICATION *4604*

GAUDART Jean (PU-PH)
GIORGI Roch (PU-PH)
MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)
GIUSIANO Bernard (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE *5002*

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
BLONDEL Benjamin (PU-PH)
FLECHER Xavier (PU PH)
OLLIVIER Matthieu (PU-PH)
PARRATTE Sébastien (PU-PH) Disponibilité
ROCHWERGER Richard (PU-PH)
TROPIANO Patrick (PU-PH)

ROLOGIE ; RADIOTHERAPIE *4702CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAP*

BERTUCCI François (PU-PH)
CHINOT Olivier (PU-PH)
COWEN Didier (PU-PH)
DUFFAUD Florence (PU-PH)
GONCALVES Anthony PU-PH)
HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
PADOVANI Laetitia (PH-PH)
SALAS Sébastien (PU-PH)
VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
TABOURET Emeline (MCU-PH)

BONELLO Laurent (PU PH)
BONNET Jean-Louis (PU-PH)
CUISSET Thomas (PU-PH)
DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
HABIB Gilbert (PU-PH)
PAGANELLI Franck (PU-PH)
THUNY Franck (PU-PH)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE *5202*

BERDAH Stéphane (PU-PH)
HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
SEBAG Frédéric (PU-PH)
SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
BEYER-BERJOT Laura (MCU-PH)
BIRNBAUM David (MCU-PH)
DUCONSEIL Pauline (MCU-PH)
GUERIN Carole (MCU PH)
MEGE Diane (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE *5402CHIRURGIE INFANTILE 5402*

GUYS Jean-Michel (PU-PH) Surnombre
JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
LAUNAY Franck (PU-PH)
MERROT Thierry (PU-PH)
VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH) détachement
DARIEL Anne (MCU-PH)
FAURE Alice (MCU PH)
PESENTI Sébastien (MCU-PH)

FACIALE ET STOMATOLOGIE *5503CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE E*

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
GUYOT Laurent (PU-PH)

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE *5103*

COLLART Frédéric (PU-PH)
D'JOURNO Xavier (PU-PH)
DODDOLI Christophe (PU-PH)
FOUILLOUX Virginie (PU-PH)
GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
MACE Loïc (PU-PH)
THOMAS Pascal (PU-PH)
TROUSSE Delphine (MCU-PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE *5104*

ALIMI Yves (PU-PH)
AMABILE Philippe (PU-PH)
BARTOLI Michel (PU-PH)
BOUFI Mourad (PU-PH)
MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
PIQUET Philippe (PU-PH)
SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE *4202*

LEPIDI Hubert (PU-PH)

PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE *5003*

BERBIS Philippe (PU-PH)
DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
GROB Jean-Jacques (PU-PH)
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

DUSI

COLSON Sébastien (MCF)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)
EVANS-VIALLAT Catherine (MAST)
LUCAS Guillaume (MAST)
MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
MELLINAS Marie (MAST)
ROMAN Christophe (MAST)
TRINQUET Laure (MAST)

ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ; GYNECOLOGIE MEDICALE *5404*

BRUE Thierry (PU-PH)
CASTINETTI Frédéric (PU-PH)
CUNY Thomas (MCU PH)

CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOLOGIE *5004*

CASANOVA Dominique (PU-PH)
LEGRE Régis (PU-PH)

BERTRAND Baptiste (MCU-PH)
HAUTIER/KRAHN Aurélie (MCU-PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE *5201*

BARTHET Marc (PU-PH)
DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
GRANDVAL Philippe (PU-PH)
VITTON Véronique (PU-PH)

GONZALEZ Jean-Michel (MCU-PH)

GENETIQUE *4704*

BEROUD Christophe (PU-PH)
KRAHN Martin (PU-PH)
LEVY Nicolas (PU-PH)
NGYUEN Karine (PU-PH)

TOGA Caroline (MCU-PH)
ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE *5403*

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
BOUBLI Léon (PU-PH) Surnombre
BRETELLE Florence (PU-PH)
CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
COURBIERE Blandine (PU-PH)
CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
D'ERCOLE Claude (PU-PH)

PIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION *460*

AUQUIER Pascal (PU-PH)
BERBIS Julie (PU-PH)
BOYER Laurent (PU-PH)
GENTILE Stéphanie (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF)(06ème section)

IMMUNOLOGIE *4703*

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
MEGE Jean-Louis (PU-PH)
OLIVE Daniel (PU-PH)
VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)
DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
ROBERT Philippe (MCU-PH)
VELY Frédéric (MCU-PH)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES *4503*

BROUQUI Philippe (PU-PH)
LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
MILLION Matthieu (PU-PH)
PAROLA Philippe (PU-PH)
STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE *4805*

KERBAUL François (PU-PH) détachement
MICHELET Pierre (PU-PH)

MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE *5301*

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
DISDIER Patrick (PU-PH)
DURAND Jean-Marc (PU-PH)
EBBO Mikael (PU-PH)
GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
HARLE Jean-Robert (PU-PH)
ROSSI Pascal (PU-PH)
SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION *4701*

BLAISE Didier (PU-PH)
COSTELLO Régis (PU-PH)
CHIARONI Jacques (PU-PH)
GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
VEY Norbert (PU-PH)

DEVILLIER Raynier (MCU PH)
GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
LOOSVELD Marie (MCU-PH)
SUCHON Pierre (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE *4603*

BARTOLI Christophe (PU-PH)
LEONETTI Georges (PU-PH)
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION *4905*

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
VITON Jean-Michel (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL *4602*

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

MEDECINE GENERALE *5303*

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

GUIDA Pierre (PR associé Méd. Gén. à mi-temps) retraite au 25/09/2(

BARGIER Jacques (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
CALVET-MONTREDON Céline (MCF associé Méd. Gén. à temps plein)
FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
JANCZEWSKI Aurélie (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
NUSSLI Nicolas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)
THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/

NUTRITION *4404*

DARMON Patrice (PU-PH)
RACCAH Denis (PU-PH)
VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité
BELIARD Sophie (MCU-PH)

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)
SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

OPHTALMOLOGIE *5502*

DAVID Thierry (PU-PH)
DENIS Danièle (PU-PH)

OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE *5501*

DESSI Patrick (PU-PH)
FAKHRY Nicolas (PU-PH)
GIOVANNI Antoine (PU-PH)
LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)
MICHEL Justin (PU-PH)
NICOLLAS Richard (PU-PH)
TRIGLIA Jean-Michel (PU-PH)

RADULESCO Thomas (MCU-PH)

REVIS Joana (PAST) (Orthophonie) (7ème Section)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE *4502*

NEPHROLOGIE *5203*

BRUNET Philippe (PU-PH)
BURTEY Stépahne (PU-PH)
DUSSOL Bertrand (PU-PH)
JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)
MOAL Valérie (PU-PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

NEUROCHIRURGIE *4902*

DUFOUR Henry (PU-PH)
FUENTES Stéphane (PU-PH)
REGIS Jean (PU-PH)
ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)
SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)
GRAILLON Thomas (MCU PH)

NEUROLOGIE *4901*

ATTARIAN Sharham (PU PH)
AUDOIN Bertrand (PU-PH)
AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)
CECCALDI Mathieu (PU-PH)
EUSEBIO Alexandre (PU-PH)
FELICIAN Olivier (PU-PH)
PELLETIER Jean (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE *4904*

DA FONSECA David (PU-PH)
POINSO François (PU-PH)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE - PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE *4803*

BLIN Olivier (PU-PH)
MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)
SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PHILOSPHIE *17*

RANQUE Stéphane (PU-PH)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)
L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)
TOGA Isabelle (MCU-PH)

PEDIATRIE *5401*

ANDRE Nicolas (PU-PH)
BARLOGIS Vincent (PU-PH)
CHAMBOST Hervé (PU-PH)
DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)
FABRE Alexandre (PU-PH)
GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)
MICHEL Gérard (PU-PH)
MILH Mathieu (PU-PH)
OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)
REYNAUD Rachel (PU-PH)
TSIMARATOS Michel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (MCU-PH)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE *4903*

BAILLY Daniel (PU-PH)
LANCON Christophe (PU-PH)
NAUDIN Jean (PU-PH)
RICHIERI Raphaëlle (PU-PH)

CERMOLACCE Michel (MCU-PH)

'CHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

AGHABABIAN Valérie (PR)

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)

RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE *4302*

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)
CHAGNAUD Christophe (PU-PH)
CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)
GIRARD Nadine (PU-PH)
JACQUIER Alexis (PU-PH)
MOULIN Guy (PU-PH)
PANUEL Michel (PU-PH) surnombre
PETIT Philippe (PU-PH)
VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)
VIDAL Vincent (PU-PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

MATHIEU Marion (MAST)

PHYSIOLOGIE *4402*

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)
BREGEON Fabienne (PU-PH)
GABORIT Bénédicte (PU-PH)
MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)
TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

BONINI Francesca (MCU-PH)
BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)
DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)
DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)
LAGARDE Stanislas (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)
THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE *5101*

ASTOUL Philippe (PU-PH)
BARLESI Fabrice (PU-PH)
CHANEZ Pascal (PU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)
REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)
TOMASINI Pascale (MCU-PH)

RHUMATOLOGIE *5001*

GUIS Sandrine (PU-PH)
LAFFORGUE Pierre (PU-PH)
PHAM Thao (PU-PH)
ROUDIER Jean (PU-PH)

'HERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE *480*

AMBROSI Pierre (PU-PH)
VILLANI Patrick (PU-PH)

DAUMAS Aurélie (MCU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE *4802*

GAINNIER Marc (PU-PH)
GERBEAUX Patrick (PU-PH)
PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
ROCH Antoine (PU-PH)

HRAIECH Sami (MCU-PH)

UROLOGIE *5204*

BASTIDE Cyrille (PU-PH)
KARSENTY Gilles (PU-PH)
LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
ROSSI Dominique (PU-PH)

Remerciements

Jury de thèse :

J'exprime toute ma reconnaissance et adresse mes remerciements aux membres du jury de cette thèse :

Au Président du Jury
Monsieur le Professeur Luc Xerri
Mon premier semestre d'anatomopathologie a été dans votre service. Un semestre que je ne pourrais oublier car entourée et épaulée de tout le service, après 2 ans d'internat, j'ai enfin pu trouver un épanouissement professionnel et trouver ma voix en rejoignant la spécialité d'anatomocytopathologie. Dans votre service, j'ai appris la rigueur et toute la finesse nécessaire à cette spécialité et je vous en suis reconnaissante. Merci pour votre bienveillance en toutes circonstances et je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

A ma directrice de thèse,
Madame le Professeur Emmanuelle Charafe Jauffret
Vous m'avez fait l'honneur de me proposer ce travail de thèse, et de me diriger et m'accompagner au cours de ces 3 années de travail. Merci de m'avoir confiée ce travail qui vous tenait à cœur, de m'avoir conseillée et encadrée. Merci de m'avoir fait connaitre le monde de la biologie moléculaire et d'approfondir des connaissances indispensables sur la pathologie en cancérologie mammaire.
Merci de m'avoir fait confiance. Je tiens à vous exprimer toute mon estime et ma reconnaissance.

Aux membres du Jury
Monsieur le Professeur Anthony Goncalves
Je suis très honorée que vous participiez à ce jury de thèse. Merci d'avoir accepté d'y siéger. J'ai eu l'honneur de vous côtoyer et d'admirer votre travail durant mes 2 premières années d'internat d'oncologie. J'avais déjà le désir à l'époque de travailler et me former à vos côtés, et c'est pour cela que je suis tant honorée de vous avoir à mes côtés pour mon travail de thèse.

Madame le Docteur Monique Cohen

Je suis très touchée que vous ayez accepté de juger ce travail.

J'admire votre bienveillance dans votre travail, votre investissement et votre dévouement auprès de vos patientes et de votre entourage professionnel. J'ai pu observer de près au sein de ma famille ce dévouement et je vous en serais toujours reconnaissante. Merci également pour tout votre soutien au cours de mon travail de thèse, je serais très honoré de pouvoir travailler en collaboration avec vous au cours de mon assistanat.

A ceux qui m'ont donné le goût pour la médecine, qui m'ont accompagnée et inspirée.

Avant tout, à **mon papa**, à « papi Coco ». Depuis mon plus jeune âge tu m'as transmis ta passion, en m'amenant au travail avec toi tous les weekends. En m'apprenant les techniques, à utiliser un microscope qui aujourd'hui m'accompagne tous les jours. J'ai choisi médecine pour m'investir et me passionner comme toi dans mon métier.

En dehors de cette passion que tu m'as transmise, merci d'être le papa que tu as été, toujours à mes côtés, toujours disponible malgré ton investissement dans ton travail. Par ta sagesse, tu m'as appris le calme, à résonner, relativiser et prendre les choses comme elles viennent. Je suis fière de t'avoir comme papa.

A **ma cousine Sandrine**, tu as toujours été comme ma grande sœur, mon exemple à suivre. Tu es aujourd'hui une grande cardiologue dont je suis très fière et surtout une maman accomplie. Je suis fière d'être la marraine de ton petit Gabriel, une merveille et que tu sois la marraine de Léna, et que tu aies été témoin de mon mariage. Tu seras pour toujours ma grande sœur et confidente.

A toutes les personnes que j'ai croisées en stage au cours de ma formation en oncologie, toutes les cadres, infirmier(e)s, médecins et cointernes. Que des gens exceptionnels auprès desquels j'ai appris l'empathie, la rigueur, la volonté d'aider, d'accompagner les patients dans leur guérison. Tout en travaillant dans une bonne humeur exceptionnelle et tellement utile dans ce milieu difficile psychologiquement.

Je pense très fort à **Evelyne**, mon premier coup de cœur, le médecin le plus exceptionnel que j'ai pu rencontrer au cours de mon cursus médical, un exemple pour nous tous les internes.
Marion, **Vanessa**, des infirmières principales au top, c'était un vrai plaisir de travailler avec vous, des souvenirs plein la tête.
Benjamin, tu as été d'un soutien exceptionnel sur mon premier semestre, quand les moments étaient difficiles, depuis tu es devenu un vrai ami, et je suis fière de te voir aujourd'hui heureux avec notre infirmière préférée **Julie**, une fille en or.
Laurène, avec qui on a partagé la majorité de nos stages en oncologie, avec nos moments déprimes et nos pauses café nous voilà aujourd'hui toi en dermatologie et moi en anapath ! C'était tellement agréable de travailler avec toi mon binôme.
A **tous les autres internes d'oncologie et hématologie** avec qui j'ai passé de supers moments pendant ces 2 années …

Merci à **Sébastien Taix**, d'avoir été présent pour moi au moment où je désirais changer de spécialité, de m'avoir conseillée et guidée. Tu as eu un rôle très important dans mon choix, et je t'en serai toujours reconnaissante. Merci de ton investissement dans notre formation, de tout le temps que tu passes à préparer des cours, au multi tête avec nous, et à nous apprendre la rigueur dans le travail.

Merci à **Jeanne**, sûrement celle auprès de laquelle j'ai le plus appris. Ton efficacité, ton investissement sont un exemple pour moi. Tu nous apprends à devenir autonome et à grandir dans cette spécialité. Je suis très heureuse de pouvoir poursuivre ma formation à tes cotés pendant ses 2 années d'assistanat qui arrivent, dans la bonne humeur sur du « Way Back Into Love ». Merci infiniment pour tout.

A **Flora**, merci pour ton investissement auprès de nous, tu m'as appris la rigueur dans la prise en charge des pièces opératoires que ce soit en frais ou en macroscopie. Je suis heureuse de pouvoir apprendre tous sur le digestif et grandir à tes côtés sur mon futur assistanat. Les moments de rigolade en salle de macro vont me manquer, mais il y en aura d'autres ! Tu m'as été d'un grand soutien dans cette période difficile de travail…un grand merci.

A **Maria**, toujours bienveillante et avec le sourire, merci pour tes séances biopsie à ton bi tête. Ton courage et ta joie de vivre sont un vrai exemple pour nous tous.

A **Lena**, parce que tu voulais que ma fille porte ton prénom je l'ai fait ! Merci pour ta disponibilité, de partager avec nous des moments d'apprentissage tout en passant un bon moment en discutant de nos vies. Je suis ravie de partager ce bureau avec toi et de continuer à apprendre à tes côtés. Merci pour tout le soutien que tu m'as apporté pendant cette période pas toujours facile.

A **Marie Mélanie** et **Cécile**, le duo de choc, Catherine et Liliane, merci pour votre bonne humeur.
Je suis ravie d'avoir l'opportunité de partager 2 ans d'assistanat à vos côtés à partir de mai 2021.

A **toute l'équipe de l'IPC**, techniciennes, aides labo et secrétaires, si la bonne humeur et les conditions de travail sont parfaites dans le service c'est grâce à vous.

Un grand merci particulier à Flo, Cindy, et Steph, pour toutes ces pauses qui m'ont permis de rigoler et oublier l'instant de quelques minutes cette période difficile.

A Christine, un immense merci, pour avoir été présente pour répondre à toutes mes questions, et à ton investissement dans Prosigna® et notre projet.

A Emilie et Marion, également pour votre participation.

A l'équipe de la Timone,

Au Professeur Dominique Figarella-branger, pour tout l'intérêt que vous portez à la formation des internes,
Au Professeur Hubert Lepidi, aux Docteurs Corinne Bouvier, Wassim Essamet, Radia Fritih, Marie-Christine Rojat-habib, Anne Larooque-Blanc, Jean Delgrande, André Maues de paula, à Julia Torrents et au Professeur Laurent Daniel, merci pour votre disponibilité, votre encadrement, et merci de m'avoir accepté dans le D.E.S et pour vos conseils avisés aussi bien sur le plan professionnel que personnel.
A **Nicolas Macagno**, merci pour tout ton investissement dans notre formation (même en confinement), tous tes cours tellement bien fait (je suis trop fan), ta pédagogie

(selon ton cycle tabagique). Quel plaisir de travailler avec toi mais encore plus de partager des commérages.

A **l'équipe de Medipath**, merci pour ce super semestre, j'ai beaucoup appris auprès de chacun de vous. C'était un stage super enrichissant, merci pour votre patience, votre soutien, votre accompagnement et bienveillance.

Un grand merci à **Alexandre** pour ton aide pour mon travail de thèse, pour m'avoir aidée en me faisant une partie des statistiques.

A ma famille

A toi **maman**, merci pour tout. Merci de t'être dévouée à notre éducation et notre bien-être. A vous deux, **papa et maman**, sans vous je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci de m'avoir fait grandir et d'avoir cru en moi, de m'avoir toujours soutenu dans mes choix et dans les différentes étapes de la vie. Merci d'avoir tout fait pour que nous ne manquions de rien. J'essaie d'appliquer chaque jour auprès de Léna et Romy les valeurs et l'éducation que vous nous avez apportées.

A mes frères ; **Mathieu et Loïc**, à mon enfance difficile de servante pour vous... Merci de m'avoir supportée et pour tous nos souvenirs d'enfance et pour tous les futurs moments partagés avec nos bambins d'amour, de belles cousinades en perspectives, car il n'y a rien de plus important que la famille ! Et à mes super belles sœurs ; **Marouchka et Julie** et tous mes petits neveux (heureusement que je suis là pour faire des filles !)

A **mes grands-parents paternels**, merci d'avoir bercé mon enfance et de veiller sur nous aujourd'hui.

A **ma grand-mère Monique**, te voilà aujourd'hui arrière-grand-mère de 5 petits bouts, ils ont de la chance de pouvoir te connaître et j'en suis super heureuse. Merci d'être là, et de toutes tes petites attentions.

A ma **marraine**, merci pour toutes nos discussions, pour ton soutien, pour nous héberger sur nos séjours parisiens, pour tout l'amour que tu nous donnes.

A mon **parrain**, merci pour ta joie de vivre, tes blagues, ton rire communicatif.

A **mes oncles et tantes et grands oncles et tantes**, merci pour tout votre amour.

A **mes cousins**, à tous nos supers souvenirs et nos cousinades enflammées, parce qu'on a de la chance d'avoir une si belle famille : Sandrine et Nico, Stéphane et Oriana, Sébastien et Eva, Clément et Cassandra, Emma et Greg, Thomas et Chloé, Thomas et Virginie, Laurent et Stéphanie, Valérie et Seb, Victor, Guillaume et Sophie, Mathilde, toute la tribu Lorenzi et tous les autres … et toute cette descendance qui est prête à prendre la relève.

A **ma belle-famille**, Cathy et Gérard, Claire et Laurent, merci pour votre accueil chaleureux, tous ces apéros, ces ferias, ces moments de partage….

A mes co-internes

Spécialement à mes premières rencontres dans la spécialité :

A **Elicia**, ma première rencontre en arrivant en anapath, une belle rencontre, une belle amitié. Ton soutien m'a été d'une grande aide, merci pour tout.

A **Coralie**, merci pour ce premier stage d'anapath ensemble, c'est toujours un plaisir de partager des moments avec toi.

Morgan et **Julien**, merci de m'avoir appris tant de chose quand j'ai débarqué dans la spécialité. Votre aide a été précieuse.

A tous ceux avec qui on a partagé de bons moments en stage : **Alexandra** (un brin râleuse ;-) mais de bons souvenirs, de belles discussions ensemble et surtout le plaisir commun d'être maman), **Kim** (de la folie et de la bonne humeur, tes histoires ont égayé mon semestre), **Julie** (une belle rencontre, beauté et douceur, un super semestre avec toi), **Loic** (notre super référent), **Anais** (la cascadeuse mal chanceuse), **Hussam** (tellement gentil et serviable), **Aurélie** (ou Poter, une co interne en or), **Marie** (une fille en or, merci pour ce super semestre à tes côtés, c'était un vrai bonheur), **Bastien** (parce que tu as toujours des idées de jeux pour se changer les idées), **Hugo N** (merci infiniment pour ton aide sur QuPath!!), **Elise** (mon ancienne collègue d'oncologie, je suis contente d'avoir pu faire un stage avec toi, tu es une maman en or, une oncologue exceptionnelle, tant de qualité réunie en une

seule personne, merci pour ce super semestre), **Thomas** (merci pour les kg en trop avec toutes tes petites attentions), **Alexandre** (le super papa Bardet, on peut toujours compter sur toi, merci pour tout), **Claire** (une socle brillante, adorable et dévouée).

Et à tous les autres avec qui je n'ai pas eu le plaisir de partager de choix ; **Romain** (super papa et super neuropath) **Donatienne** (la beauté et la gentillesse), **Hugo T** (le plus brillant de tous), **Nico** (merci pour tes conseils pour les stages), **Ilona** (merci pour ta gentillesse).

A mes amis

A ma Cruche, **Sophie**, à nos folles soirées au Red, à nos Carlsberg, nos courses en scooter (tu croyais pouvoir gagner…), à ton futur mariage (à moitié) avec mon cousin, à nos 3 princesses qui partagent leurs premiers souvenirs de vie ensemble. A ce futur petit prince en formation …

A mon ptit **Margoton**, la plus mignonne de toutes, merci d'être toujours présente même avec la distance, et ceux depuis la P1. Un coup de cœur dès notre première rencontre devant K du C. Nous ne nous sommes jamais lâchées depuis, on a partagé beaucoup de chose ensemble et il nous en reste encore tellement !!!

A **Camille**, depuis la P1 on a partagé beaucoup de chose. Ta bonne humeur en toutes circonstance et ta joie de vivre, sont un vrai bonheur, j'aime tellement tous les moments passés ensemble ! Hâte de te voir t'épanouir dans ta vie de future maman. Et quand même une petite pensée à « Juste le blanc »…

A **Clémou**, à tous nos souvenirs de fac, à notre coloc love, à toutes ces soirées de folie. Merci pour tous tes conseils de super pédiatre ! Hâte aussi de te voir avec petite cacahouète.

A **Deb Deg**, pour ton autodérision, pour tous ces bons moments de rigolade. Merci d'être celle que tu es, tu es unique, ne change surtout pas.

A **Béa**, pour tous ces souvenirs de soirées pour décompresser, à nos sous colle et tous les moments pauses pendant la préparation de l'internat, et pour tout l'après, merci pour ton amitié.

A **Elise**, à nos soirées déspe, à ton addiction au Coca, à nos supers sous colles, au poussin Piou…tellement de beaux souvenirs à tes côtés !

A Eych ; **Camille**, pour ta bonne humeur, pour tous ces bons souvenirs, nos chorégraphies, nos soirées au Glamrock et au Son ! A Big Carl !

A **Aline**, parce que sans tes lunettes tu ne peux rentrer nulle part ! A tous nos supers souvenirs à la fac et en soirées surtout.

A **Vivi**, à tes chorégraphies légendaires, à Wati house, à toutes ces années de folie.

A tout le **4.40** (Jojo et Lisa, François et Popo, Olivier et Laurène, Arnaud et Hélo, Bastien et Lulu, Flo et Chirine, et Jean Loup), une équipe incroyable, parce que « C'est la famille » et que vous êtes devenus tellement important pour moi.

Et enfin à toi ma fille **Lena**, ma princesse, ma choupette pleine de vie, d'humour, de bonne humeur. Avec ton petit caractère bien affirmé, coquin et malicieux, un peu petit clown, tu égayes mes journées.

Et à toi **Romy**, ma deuxième princesse qui est venue ajouter encore plus d'amour dans nos vies. Mon bébé hors norme, ma Rominette, tellement adorable et souriante.

Ma blondinette et ma brunette, ma vie a changé à chacune de vos naissances, vous êtes mes rayons de soleil, ma raison de me lever tous les matins…je vous aime tellement fort.

Et le meilleur pour la fin, à toi l'amour de ma vie, **Cédric,** qui depuis presque 6 ans me soutient et me supporte quoiqu'il arrive dans les mauvais comme les bons moments, qui a toujours cru en moi et avec qui beaucoup de projets se sont accomplis ; notre Léna d'amour, notre fabuleux mariage à notre image et notre 2ème princesse Romy… Grâce à toi aujourd'hui ma vie est comblée, j'ai tout ce dont j'ai toujours rêvé. Je t'aime pour la vie…

Table des matières

I. INTRODUCTION 2

A. EPIDEMIOLOGIE DU CANCER DU SEIN 3
B. CLASSIFICATION HISTO-CLINIQUE 3
1. Cancers in situ 4
2. Carcinomes infiltrants 5
3. Classification AJCC et TNM UICC 8ème édition 6
4. La place du marqueur de prolifération Ki67 11
C. CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN 14
1. Histologie du parenchyme mammaire 15
2. Description initiale de la classification moléculaire 15
3. Le sous type Luminal 16
D. LES SIGNATURES GENOMIQUES 18
E. OBJECTIFS 32

II. MATERIEL ET METHODE 34

A. CRITERES D'INCLUSION 34
B. CRITERES D'INDICATION DE CHIMIOTHERAPIE ONCOPRATIK 35
C. LE TEST PROSIGNA ® 35
D. LE LOGICIEL QUPATH 40
E. METHODE D'ANALYSES 44

IV. RESULTATS 47

A. DESCRIPTION DE LA POPULATION 47
B. RESULTATS : INDICATIONS DE CHIMIOTHERAPIE ET CHANGEMENT THERAPEUTIQUE SUITE AU TEST PROSIGNA® 52
C. RESULTATS DE L'EVALUATION IMMUNOHISTOCHIMIQUE KI67 : CORRELATION DU KI67 ET PARAMETRES HISTO-MOLECULAIRES 56
1. Concernant le Ki67 renseigné dans le compte rendu (CR) d'anatomopathologie sur la cohorte totale : 57
2. Concernant le Ki67 ayant bénéficié d'une analyse avec le logiciel QuPath, soit 129 cas :... 58
3. Seuil du Ki67 pour déterminer le sous type moléculaire 66
4. Seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque 67
D. EVALUATION DE LA CONCORDANCE DE LA DETERMINATION DU SOUS TYPE MOLECULAIRE SELON LES CRITERES CLINICO-PATHOLOGIQUES ET DU SOUS TYPE MOLECULAIRE DU TEST PROSIGNA® 70
E. RESULTATS : SOUS POPULATION MICROMETASTASE GANGLIONNAIRE 73
F. RESULTATS : SOUS POPULATION MACROMETASTASE GANGLIONNAIRE 76

V. DISCUSSION 78

VI. CONCLUSION 88

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 90

VIII. ANNEXES 99

IX. TABLE DES ILLUSTRATIONS 123

X. ABREVIATIONS 124

I. INTRODUCTION

Le cancer du sein est le premier cancer de la femme en France mais des inconnues demeurent. En effet, il s'agit d'une maladie très hétérogène constituée de plusieurs sous-types dont le profil biologique, le pronostic et la réponse aux traitements diffèrent fortement.

Identifier les facteurs pronostiques permet d'améliorer la connaissance de la biologie et de l'histoire naturelle de la maladie et d'optimiser les stratégies thérapeutiques.

Ces dernières années, bien que les traitements adjuvants aient largement démontré leur efficacité sur la réduction du risque de rechute et du taux de mortalité, il a été mis en évidence que, pour certains groupes de patients, la chimiothérapie n'apportait pas de réels bénéfices par rapport à l'évolution naturelle du cancer. Chez les patientes avec atteinte ganglionnaire (N1) ou non (N0), certaines données suggèrent qu'en cas de tumeur au stade précoce, HER2 négative exprimant fortement les récepteurs aux œstrogènes, la chimiothérapie n'apporterait pas toujours de bénéfice.

Afin d'appliquer le traitement le mieux adapté à chaque patient en fonction du type et de la gravité de sa maladie, il est nécessaire d'aborder le cancer du sein dans sa complexité. Depuis quelques années, se développent des biomarqueurs moléculaires qui viennent, en plus des critères cliniques et histologiques, en aide à la prise de décision thérapeutique.

Notre travail a consisté en une étude rétrospective de 300 patients qui ont bénéficié de la signature génomique Prosigna® à l'IPC. Nous avons étudié l'impact de ce test dans la prise de décision de traitement adjuvant chez ces patients N0 ou N1, RH+ HER2-. Cette étude nous a permis également d'étudier cette population et de se concentrer sur l'intérêt de l'immunohistochimie Ki67, un marqueur pronostique très controversé dans la pratique actuelle.

Dans une première partie, je présente les critères histo-cliniques qui permettent de caractériser une tumeur du sein. La deuxième partie détaille les classifications moléculaires qui ont permis une nouvelle vision des tumeurs du sein. Je discute ensuite les signatures génomiques, leur intérêt dans la pratique, et particulièrement celui du développement du test Prosigna® au centre de notre travail.

A. Epidémiologie du cancer du sein

- Le cancer du sein se situe au 1er rang des cancers incidents chez la femme : 58 459 nouveaux cas de cancer du sein en France métropolitaine en 2018.
- Taux d'incidence : entre 1990 et 2018, le nombre annuel de nouveaux cas de cancer du sein chez la femme a presque doublé, passant de 30 000 à 58 400 cas annuels, soit +1,1 % par an en moyenne.
- C'est le cancer qui cause le plus grand nombre de décès chez la femme, avec 14 % des décès féminins par cancer, 12 146 décès estimés en 2018. Il représente par ailleurs près de 8 % de l'ensemble des décès par cancer, tous sexes confondus
- Âge médian au moment du décès : 74 ans.
- Le taux de mortalité diminue d'année en année. La survie nette à 5 ans standardisée sur l'âge s'améliore au cours du temps. Elle est passée de 80 % pour les femmes diagnostiquées entre 1989 et 1993 à 87 % pour celles diagnostiquées entre 2005 et 2010. La survie nette standardisée sur l'âge à 10 ans est de 76 %. Cela s'explique en partie par l'amélioration des traitements et par un dépistage du cancer du sein de plus en plus adapté au niveau de risque de chaque femme, qui permet de diagnostiquer ces cancers à un stade précoce.
- Le cancer du sein chez l'homme ne représente qu'environ 1 % des cas. Il est souvent de mauvais pronostic.

L'évaluation des facteurs pronostiques d'un cancer du sein dépend de plusieurs facteurs histologiques et cliniques : son **type histologique** (selon la classification OMS 2017), l'**âge** du patient, la **TNM** (taille, statut ganglionnaire, et métastase), la **présence d'emboles vasculaires ou lymphatiques**, le **grade histologique SBR,** l'expression des **récepteurs hormonaux** et **HER2** et l'expression du **Ki67** (annexe 4 : niveau de preuve LOE des biomarqueurs).

B. Classification histo-clinique

Classiquement, on distingue les cancers in situ et les cancers infiltrants (classification OMS 2017 en Annexe 1).

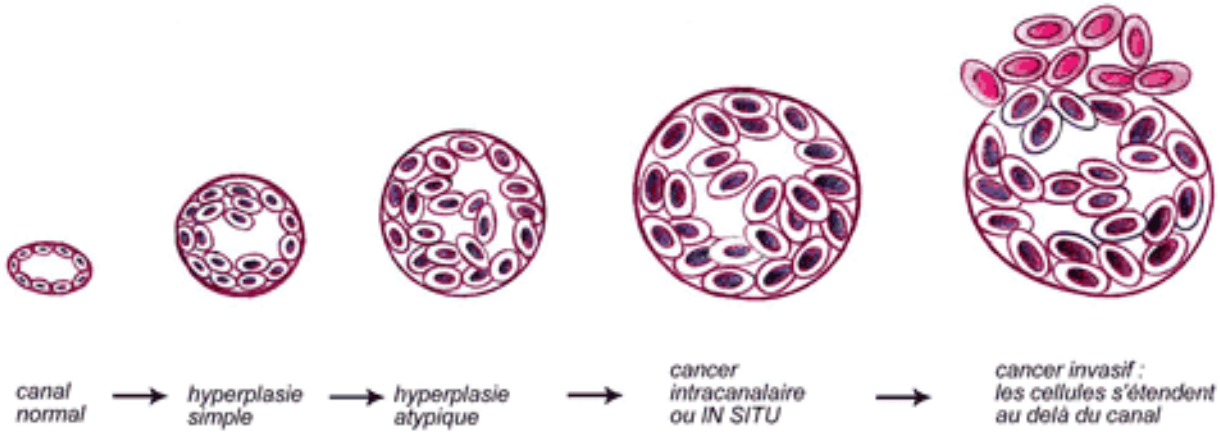


Figure 1 : Evolution naturelle du cancer du sein

1. Cancers in situ

Il s'agit d'une prolifération de cellules malignes sans rupture de la membrane basale, donc ne comportant pas de risque théorique d'extension extra-mammaire.

- **Carcinomes canalaires in situ**

Ce sont les plus fréquents, représentant 15 à 20 % des cancers du sein. La prolifération intéresse les canaux de petit, moyen et grand calibre. Plusieurs types architecturaux sont décrits et la classification actuelle se fonde à la fois sur le grade cytologique et la présence ou non de nécrose. La limite est floue entre carcinome in situ et lésions dites paranéoplasiques, les hyperplasies atypiques.
La présence d'une micro-infiltration (définie comme la présence d'un ou plusieurs foyers infiltrant de 1 mm ou moins) doit être précisée. Elle est d'autant plus fréquente que le grade est élevé et s'associe à un risque théorique d'envahissement ganglionnaire.

- **Carcinomes lobulaires in situ**

Ils sont rares (environ 0,5 % des carcinomes mammaires) et sont actuellement plutôt considérés comme des marqueurs de risque de développer un cancer infiltrant (risque de 8 par rapport à la population normale) qu'il soit homo- ou contro-latéral. La fréquence de survenue d'un cancer infiltrant est estimée entre 20 et 30 % mais cette survenue est tardive dans les 10 à 25 ans suivant le diagnostic. Le cancer infiltrant qui se développe est, à part égale, lobulaire ou canalaire. Dans la classification de 2017, le carcinome lobulaire *in situ* est considéré comme une lésion "bénigne" et est

donc exclue de la classification pTNM de l'AJCC mais toujours retrouvé dans la pTNM de l'UICC.

2. Carcinomes infiltrants

On parle de carcinome infiltrant lorsque la prolifération tumorale dépasse la membrane basale. L'origine du cancer serait l'unité terminale ductulo-lobulaire.

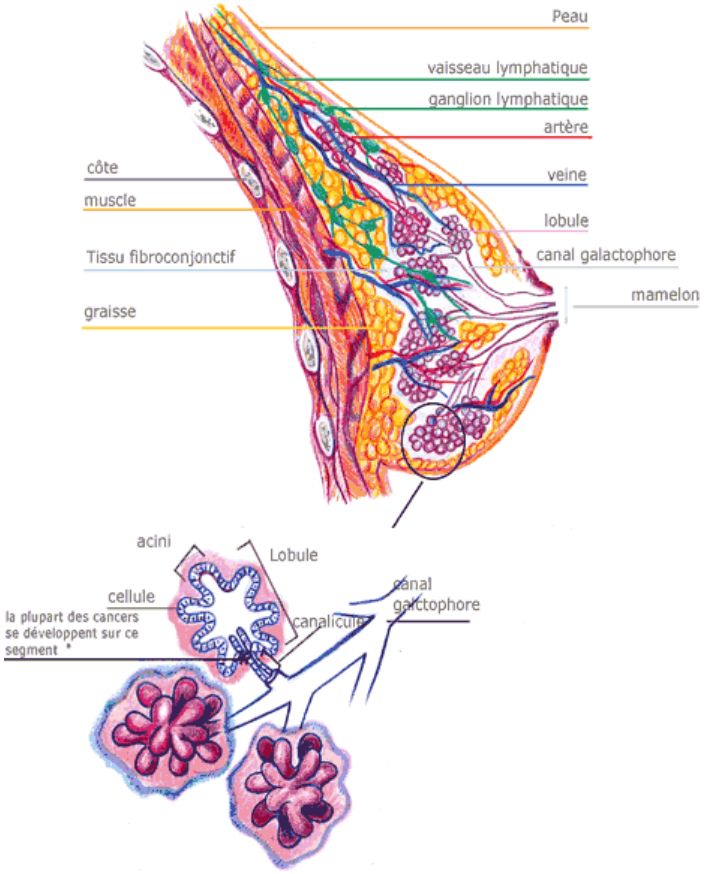


Figure 2 : Anatomie de la glande mammaire

Plusieurs types histologiques sont décrits même si la grande majorité des cancers sont de type canalaire.

- **Carcinome infiltrant de type non spécifique (CI-NST)**

C'est la forme la plus fréquente, représentant environ 75% des carcinomes mammaires. La majeure partie des études transcriptomiques porte sur ce sous-type, et ont montré qu'il s'agit d'un groupe très hétérogène avec des pronostics variables. Il reproduit l'architecture des acini mammaires.

- **Carcinome lobulaire infiltrant**

Entité plus rare, représentant de 5 à 15 % des cancers infiltrants. Il est constitué de petites cellules généralement régulières et peu mitotiques, comportant une inclusion

de mucus dans le cytoplasme. Ces cellules sont non cohésives et se disposent souvent « en file indienne » respectant les structures pré-existantes. Le pronostic de ces cancers, longtemps donné comme meilleur, rejoint finalement celui des cancers ductaux infiltrants.

- **Nombreuses autres formes**

Elles sont dites de « bon pronostic » comme le **carcinome tubuleux**, composé essentiellement de petits tubes à une seule couche de cellules tumorales régulières ; le **carcinome mucineux** qui est une forme rare de la femme âgée, comportant de larges flaques de mucus extracellulaire, au sein desquelles flottent des ilots de cellules malignes ; le **carcinome adénoïde kystique ou cylindrome** comportant comme au niveau des glandes salivaires, une prolifération biphasique de petites cellules basaloïdes et un contingent de cellules épithéliales, l'ensemble s'agençant sur un mode cribriforme, tubulaire, trabéculaire ou massif ; le carcinome cribriforme infiltrant constitue en majorité de travées infiltrantes d'architecture cribriforme avec atypies légères a modérées.

Certaines formes sont connues pour leur mauvais pronostic comme le **carcinome inflammatoire**, défini sur des critères cliniques (sein rouge, chaud, aspect de peau d'orange, évolutivité rapide de la tumeur) et/ou pathologiques comme la présence d'emboles dans les lymphatiques du derme superficiel.

3. Classification AJCC et TNM UICC 8ème édition

La dernière classification TNM date de 2017 (Annexe 2).

Cette classification se base sur plusieurs critères histologiques après une chirurgie :

- **La taille** est un facteur pronostic essentiel dans les cas avec et sans envahissement ganglionnaire (Fitzgibbons et al. 2000), (Saadatmand et al. 2015). La taille tumorale est corrélée à un risque potentiel métastatique. Les tumeurs de moins de 10 mm, sans envahissement ganglionnaire, ont un potentiel métastatique très faible : 91 % de survie sans rechute à dix ans. Ce taux de survie sans rechute diminue avec l'augmentation de la taille tumorale. (Spielman et al, 2000).

L'extension à la paroi thoracique ou à la peau, ainsi que le caractère inflammatoire sont aussi des facteurs de mauvais pronostic.

pT0
pTis
pT1mi : ≤1mm
pT1a : >1 et ≤5mm
pT1b : >5 et ≤10mm
pT1c : >10 et ≤20mm
pT2 : >20 et ≤50mm
pT3 : >50mm

- **L'envahissement ganglionnaire** confère un pronostic défavorable. Le nombre de ganglions envahis, (Dabakuyo et al. 2008) ainsi que l'atteinte des ganglions de la chaîne mammaire interne et de l'étage axillaire supérieur sont de plus mauvais pronostic. Les cellules tumorales isolées et les micrométastases ont une valeur pronostique plus incertaine. Plusieurs études rétrospectives ont montré que le pronostic des patients atteints de micrométastases isolées dans les ganglions lymphatiques sont de même pronostic que ceux des patients avec des ganglions négatifs (Fitzgibbons et al. 2000), tandis que d'autres études ont suggéré que ces patients ont un pronostic plus mauvais associé à un risque accru d'envahissement ganglionnaire (Deurzen et al. 2008; Viale et al. 2005).

pN0
pN0(i+) : cellules tumorales isolées ou groupe de cellules de taille <0,2mm et ou <200cellules
pN1(mi) : micrométastase > 0,2mm et/ou >200 cellules mais <2mm
pN1 : >2mm, 1 à 3 ganglions

- Les **emboles vasculaires ou lymphatiques** peuvent être précisés en option dans la pTNM et doivent apparaitre dans le compte rendu, il s'agit d'un marqueur pronostique. Ce sont des agrégats de cellules carcinomateuses, flottant dans la lumière des vaisseaux lymphatiques ou sanguins péri-tumoraux.

La présence d'emboles vasculaires péri-tumoraux est un facteur pronostique important pour la survie globale et la survie sans métastases chez les patientes sans envahissement ganglionnaire (A. H. S. Lee et al. 2006; de Mascarel et al. 1998) ou avec envahissement ganglionnaire (Ragage et al. 2010).

La présence des emboles vasculaires a montré un impact pronostique négatif indépendant sur la survie globale, sans récidive et sans métastase chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce dans une étude mené par G. Houvenaeghel à l'IPC (2019, article en cours de soumission).

Dans la pratique, on observe que certains patients récidivent malgré un traitement complet alors que d'autres vont recevoir un traitement qui aurait pu être évité du fait de leur bon pronostic « intrinsèque ». C'est dans ce sens que la nouvelle **classification AJCC/TNM** superpose aux stades anatomiques (T, N, M) des stades pronostiques (le Grade histologique, l'expression des récepteurs hormonaux, de HER2) en intégrant des biomarqueurs moléculaires.
Le développement des marqueurs biologiques pronostiques ou prédictifs a comme objectif de mieux identifier les patients pour lesquels un traitement par chimiothérapie adjuvante (CTA) pourrait être évité ou *a contrario* indiqué. Certains d'entre eux (Oncotype DX™, MammaPrint®) ont fait l'objet d'une évaluation par l'INCa dans le cadre d'un rapport publié en décembre 2013.

- **Le grade histologique de Scarff Bloom et Richardson modifié (SBR**) par Elston et Ellis (Elston and Ellis, 1991) est le score le plus utilisé aujourd'hui en Europe. Il prend en compte 3 critères histologiques, cotés de 1 à 3 (détaillés en Annexe 5) :
  - la différenciation tubulo-glandulaire de la tumeur,
  - le pléomorphisme nucléaire,
  - le compte des mitoses. Le dénombrement des mitoses nécessite l'analyse de 10 champs consécutifs dans la zone la plus mitotique de la lésion.

Il constitue un facteur pronostic essentiel pour le risque métastatique et la survie globale, et de façon indépendante de la taille tumorale et de l'envahissement ganglionnaire.

- **Les Récepteurs Hormonaux (RH) : Récepteurs aux estrogènes (RE) et à la progestérone (RP)**

Il existe 2 types de RE, REα codé par le gène ESR1, et REβ codé par le gène ESR2. Le rôle exact de REβ est encore controversé et n'est pas recherché en pratique clinique courante. REα est un facteur de transcription appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires. Le gène de REα se situe sur le chromosome 6.
Le récepteur comprend 6 régions distinctes (Kumar et al. 1987) parmi lesquelles :
- un domaine de liaison à l'ADN ou DNA-binding-domain, ou domaine C. Il permet la fixation du récepteur nucléaire à des séquences spécifiques d'ADN dites « estrogen responsive elements » (ERE).

- le domaine E qui contient le domaine de liaison à l'estradiol et la fonction d'activation de la transcription AF2.
- le domaine A/B qui contient une fonction d'activation AF1 indépendante du ligand.

La liaison de l'estradiol à son récepteur au niveau du domaine E entraine une activation, une modification conformationelle du REα ainsi que sa dimérisation. Le complexe estradiol- REα va se lier aux ERE dans les régions promotrices des gènes régulés par l'estradiol et stimuler leur transcription. Il va ainsi réguler la croissance et la différenciation cellulaire.

De nombreuses publications ont confirmé que le pourcentage de cellules tumorales exprimant les RE a une valeur pronostique et prédictive importante : la survie globale, la survie sans récidive et la réponse à l'hormonothérapie sont positivement corrélées au taux de RE (Barnes et al. 1996, Harvey ey al. 1999).

Le RP appartient aussi à la famille des récepteurs nucléaires. Sa transcription est contrôlée par 2 promoteurs distincts aboutissant à 2 isoformes, RPg-A et RPg-B (Kastner et al. 1990). Ils peuvent tous deux se fixer sur les Progesterone Responsive Elements mais ont des fonctions distinctes (Richer et al. 2002). Le RPg contrôle l'activité transcriptionnelle de RE avec de fortes implications pronostiques et thérapeutiques (Mohammed et al. 2015). Un taux élevé de RPg est associé à une meilleure réponse au Tamoxifène avec augmentation de la survie globale (Ravdin et al. 1992).

L'expression des RP est également un élément important. En effet, plusieurs études ont confirmé une corrélation positive entre le niveau d'expression des RP et la survie globale, la survie sans récidive et la réponse à l'hormonothérapie et ceci, indépendamment de l'expression des RE (Ogawa et al. 2004).

Il est clairement établi que la co-expression de ces deux récepteurs hormonaux (RE et RP) est un facteur de bon pronostic et ce, d'autant plus que le niveau d'expression est élevé. À l'opposé, une absence totale d'expression de ces deux récepteurs est corrélée à un pronostic défavorable.

Les patients exprimant les RH sont éligibles à un traitement par hormonothérapie.

Les RH sont recherchés par technique IHC sur des coupes histologiques de tumeurs fixées sur des structures tumorales invasives. La fiabilité de la technique immunohistochimique dépend d'une technique rigoureuse : les méthodes pré-analytiques et les règles d'interprétation doivent être respectées.
Les résultats sont exprimés en pourcentage et en intensité moyenne de noyaux marqués.
Aux Etats-Unis, selon les recommandations ASCO/CAP, le seuil de positivité retenu pour les RE et RP est de 1% (Hammond et al. 2010).
En France, le seuil retenu est de 10% (quelle que soit l'intensité du signal). Ce seuil est confirmé par des études montrant que la majorité des tumeurs avec un taux d'expression des RE compris entre 1 et 10% ne présentent pas un profil luminal (Iwamoto et al. 2012) et ont le même pronostic que les tumeurs n'exprimant pas les RE (Yi et al. 2014).

- **L'oncogène Her2** est localisé sur le chromosome 17, et code pour une glycoprotéine transmembranaire à activité tyrosine-kinase.
Cette protéine est un récepteur de croissance cellulaire intervenant dans la transduction des signaux de prolifération et de différenciation cellulaire.
Dans le cancer du sein, le gène codant la protéine HER2 est amplifié chez 15 à 20 % des patientes. Cette amplification de la transcription est due à certaines mutations.
Au plan cellulaire, ce dérèglement de HER2 induit une augmentation de la croissance cellulaire et du potentiel métastatique. La surexpression d'HER2 est associée à un mauvais pronostic. Ces tumeurs grandissent plus rapidement, sont plus agressives et beaucoup moins sensibles à la chimiothérapie ou à l'hormonothérapie. Le cancer HER2+ tend à être plus agressif que tous les autres types de cancer du sein (Salmon et al. 1987).
Le Trastuzumab, un anticorps monoclonal humanisé ciblant Her2, a transformé le pronostic de ces patientes avec des preuves de son efficacité en phase métastatique (Slamon et al. 2001; Marty et al. 2005), puis en adjuvant (Romond et al. 2005; Piccart-Gebhart et al. 2005) et néoadjuvant (Gianni et al. 2010; Untch et al. 2010).
Recommandations pour la détermination du statut HER2 par IHC et HIS (en Annexe 6).

- **Les biomarqueurs moléculaires** : ils seront détaillés dans une autre partie.

- Un autre critère pronostique qui n'est pas pris en compte dans la classification pTNM AJCC et UICC **: L'âge.**

Un âge jeune est associé à des taux de rechute et de mortalité plus élevés que ceux rapportés en population générale. En effet, les cancers du sein survenant chez des femmes très jeunes correspondent le plus souvent à des formes avancées au diagnostic et agressives. Un âge avancé est plutôt associé à des critères pronostiques de faible agressivité. Un des problèmes pour la prise en compte de l'âge est le cut-off qui n'est pas toujours consensuel (<35 ans ? <40 ans ? > 65 ou 70 ans ?). Quoiqu'il en soit, l'âge précoce ou avancé correspond le plus souvent à une entité nosologique différente (C. Cluze et al., Influence de l' âge au diagnostic sur le pronostic de cancer du sein : bilan de la littérature et considérations méthodologiques, 2010).

4. La place du marqueur de prolifération Ki67

La protéine Ki67 est exprimée dans le noyau au cours des différentes phases du cycle cellulaire (G1, S, G2 et M) mais pas durant la phase de quiescence G0. Elle permet de repérer les cellules non quiescentes inscrites dans le cycle de prolifération. Son niveau d'expression peut être évalué par le pourcentage de cellules tumorales marquées par un anticorps anti-Ki67 en immunohistochimie (IHC).

L'analyse de son niveau d'expression est directement corrélée à l'index mitotique ; le Ki67 est donc un marqueur de la prolifération tumorale.

Plusieurs études ont validé la valeur pronostique du Ki67 (niveau d'évidence 1 B) avec un pronostic d'autant plus favorable que sa valeur est basse (Stuart-Harris et al. 2008, Luporsi et al. 2012). Le Ki67 est un facteur pronostic indépendant des autres facteurs histologiques aussi bien chez les patientes N0 que N+ (Azambuja et al. 2007).

Il a aussi une valeur prédictive de l'efficacité de la chimiothérapie néoadjuvante, pour les tumeurs RH+ (Criscitiello et al. 2014) et RH- (Tan et al. 2014).

Par ailleurs, le marqueur Ki67, en association avec l'analyse de l'expression des RO, des RP et de HER2, permet de proposer une classification moléculaire des cancers du sein en pratique clinique. En effet, il a été montré que le taux de Ki67 était corrélé avec la signature PAM50 et le sous-type moléculaire luminal A (Ki67 bas) ou B (Ki67 élevé) avec un seuil discriminant de 13,25 % (Cheang et al. 2009).

Le Ki67 en tant que marqueur contribuant à affiner le regroupement des tumeurs selon leur pronostic pourrait donc aider les praticiens à indiquer ou non un traitement adjuvant.

Cependant, il existe plusieurs limites à la généralisation de l'analyse du Ki67.

- Le taux de Ki67, étant une **variable continue** allant de 0 à 100 %, les experts internationaux peinent à déterminer un seuil consensuel de Ki67 pertinent en pratique clinique. Par exemple, si l'on se réfère aux conférences de Saint-Gallen, on constate l'évolution suivante : en 2009, le panel d'experts proposait de distinguer 3 catégories de Ki67, faible - 15 %, intermédiaire 16–30 % et haut > 30 % (Goldhirsch et al. 2009) ; en 2011, il suggérait un seuil binaire à 14 % pour distinguer les CS luminaux A des CS luminaux B (Goldhirsch et al. 2011) ; puis en 2013, ce seuil était réévalué à 20 % (Goldhirsch et al. 2013) ; enfin, en 2015, il était recommandé d'adapter le seuil de 20 % au niveau médian de Ki67 observé localement dans chaque laboratoire (Coates et al. 2015).
- Les **méthodes pré-analytiques** influent sur sa positivité.
- Son **interprétation visuelle est difficile** et montre une grande variabilité avec une hétérogénéité intra-tumorale spatiale et temporelle et une variabilité de son analyse immunohistochimique intra- et inter-observateur et inter-laboratoire (Polley et al. 2013).

Néanmoins, le Ki67 représente un outil majeur pour caractériser les tumeurs du sein, tant sur le plan de leur classification moléculaire que sur le plan pronostique et thérapeutique.

Le Mib1 est un anticorps monoclonal dirigé contre la protéine Ki67 et présentant un marquage nucléaire (site afaqap) :

- Lecture du signal
  - Prendre en compte toutes les intensités de marquage.
  - Ne pas se focaliser sur les hot-spots (foyers de petite taille).
  - Apprécier le marquage par « eyeballing » (appréciation appuyée à l'œil) ou par comptage manuel (au microscope ou sur écran).
- En cas d'hétérogénéité tumorale (par plages)
  - Sectoriser la tumeur en 2 ou 3 surfaces maximum de niveaux d'index différents au faible grossissement et apprécier la part occupée par chaque surface.
  - Établir **chaque** index sur 1 champ représentatif au grossissement x400.

- Prendre en compte le différentiel de la densité cellulaire de chaque plage (sachant qu'1 champ au x400 d'une tumeur modérément cellulaire comporte environ 500 à 700 cellules tumorales).
- Signaler la présence d'une zone occupant plus de 30 % de la surface tumorale et à index >30 % pour les tumeurs dont l'index Ki67 moyen se situe dans la zone grise (tranche 11 à 30 %).

Pour pallier à la limite de l'hétérogénéité inter-observateur et inter-laboratoire et obtenir des résultats reproductibles, des méthodes de comptage informatisées ont été développées ces dernières années. La preuve de leur robustesse et de leur reproductibilité a été apportée par plusieurs études.

➔ Pour les patients présentant un cancer du sein RH+, il est intéressant de disposer de biomarqueurs qui cibleraient ceux qui pourraient ne pas recevoir de chimiothérapie. Le degré de prolifération cellulaire est un élément essentiel dans ce choix, le Ki-67 est connu depuis de nombreuses années et est facilement réalisé par les anatomopathologistes, mais il n'est pas considéré comme un standard dans la pratique quotidienne. L'analyse de plusieurs études a montré qu'il s'agit d'un facteur pronostique indépendant pour la survie sans rechute (DFS) avec un meilleur pronostic pour les tumeurs RH+ et a permis l'obtention d'un niveau LOE I-B. Il est cependant controversé du fait de son hétérogénéité dans son analyse inter-observateur et inter-laboratoire. Une standardisation des techniques et des méthodes de comptage est nécessaire pour utiliser le Ki-67 en routine et maintenir un niveau LOE I-B. Un des développements majeurs pourra venir d'une méthode d'analyse automatisée par des logiciels d'intelligence artificielle.

Certains facteurs sont pronostiques (âge, taille tumorale, statut ganglionnaire, grade tumoral, emboles vasculaires, statut des récepteurs hormonaux (RH) et de HER2, Ki67) ou prédictifs de réponse aux traitements (RH et HER2) et influent sur nos décisions thérapeutiques. Bien que le bénéfice du traitement adjuvant ait été largement démontré sur la réduction du risque de rechute et du taux de mortalité, les indications de la CTA dans certains groupes ont été probablement portées en excès. L'évolution de la biologie permet de conjuguer la valeur pronostique de plusieurs marqueurs en même temps et non pris isolément, d'où l'émergence de

biomarqueur moléculaire ou signature génomique qui permettent d'aider à distinguer ces patients et qui sont donc une aide supplémentaire dans la décision thérapeutique.

C. Classification moléculaire des cancers du sein

Jusqu'à la fin des années 1990, seules les données histologiques et cliniques permettaient de classer les différents types de cancer du sein.
Depuis les années 2000, une nouvelle façon de caractériser les tumeurs fait son apparition : les analyses moléculaires qui se sont développées grâce aux progrès de la robotique, de la bio-informatique et de l'analyse d'images.
Les premières études d'expression génique des cancers du sein ont montré au niveau moléculaire l'hétérogénéité de la maladie, déjà suspectée au vu des données cliniques et histologiques.
Le typage moléculaire à grande échelle permet de dresser un portrait moléculaire de la tumeur par l'analyse d'un très grand nombre de paramètres et simultanée d'un grand nombre de tumeurs.
Le transcriptome est l'analyse de l'ensemble des transcrits d'un échantillon.
L'analyse du niveau d'expression de milliers de gènes peut se faire par diverses méthodes basées sur la PCR, le séquençage ou l'hybridation.
La technique des puces à ADN permet l'hybridation d'un set d'ADN, ordonné sur un support solide (cDNA array) avec une sonde complexe, préparée à partir de l'ARN du tissu tumoral. Les signaux émis sont quantifiés et analysés.
L'analyse des résultats peut se faire selon 2 approches :
- une **approche différentielle** : on cherche les gènes exprimés de manière différentielle entre 2 types tumoraux.
- une approche en profil d'expression, **supervisée ou non supervisée**.

L'approche supervisée permet de caractériser des classes phénotypiques connues a priori ou de prédire l'appartenance à une classe.
L'approche non supervisée permet, en mesurant les corrélations entre gènes et entre échantillons, de classer les échantillons selon leurs similarités et de définir des clusters non connus a priori.

1. Histologie du parenchyme mammaire

Pour comprendre la classification moléculaire qui se rapporte aux structures normales du sein, il est nécessaire de faire un rappel concernant l'histologie du tissu mammaire normal.

Les canaux et lobules sont bordés par deux types de cellules :

- Les **cellules luminales** qui bordent la lumière des lobules et des canaux. Elles expriment les cytokératines CK8/18, CK19.
- Les **cellules myoépithéliales (ou basales)** entourent les cellules luminales et sont au contact de la membrane basale. Elles expriment les cytokératines CK 5/6, CK14, CK17 et des marqueurs musculaires lisses comme l'actine musculaire lisse et p63.
- Il existe aussi des **cellules souches progénitrices** qui peuvent se différencier en cellule basale ou luminale. Elles sont situées dans les canaux en faible nombre.

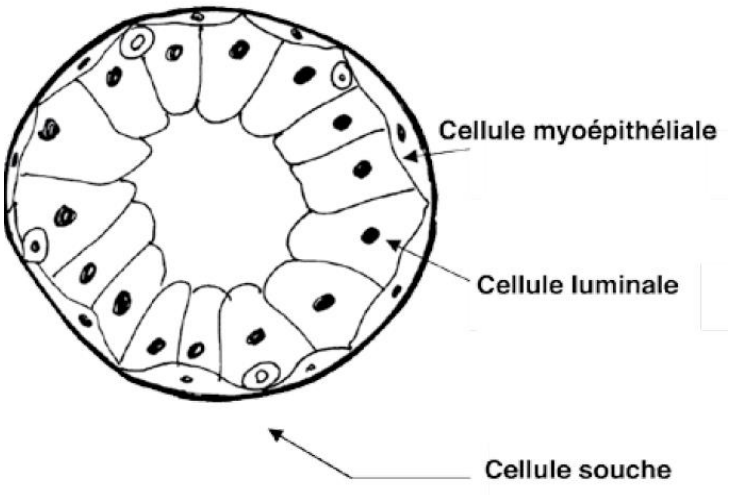


Figure 3 : Histologie du tissu mammaire normal

2. Description initiale de la classification moléculaire

En 2000, l'équipe de Perou et Sørlie a publié dans Nature le premier article portant sur la classification moléculaire des cancers du sein (Perou et al. 2000). Le point essentiel de l'article est le développement d'un **système de classification des tumeurs.** L'analyse par « clustering » hiérarchique non supervisé des profils d'expression génomique de nombreuses tumeurs a permis de distinguer cinq principales classes moléculaires de cancer du sein : **Luminal A, Luminal B, HER2 enrichi (HER2+), Basal-like et Normal.**

Ces groupes, définis par des profils génomiques, avaient la particularité de présenter des caractéristiques différentes en termes d'incidence, de présentation clinique, de

pronostic et de réponse au traitement. Ceci a permis d'affiner cette classification sur plusieurs cohortes de patientes porteuses d'un cancer du sein en utilisant un panel de gènes intrinsèques. Ils ont montré que le groupe luminal pouvait être subdivisé en au moins deux sous-groupes de pronostic différent, Luminal A (bon pronostic) et Luminal B (mauvais pronostic), sur la base notamment de la présence ou non d'un cluster de gènes liés à la prolifération. (Sørlie et al. 2001, Sørlie et al. 2003, Sotiriou et al. 2003).
Cette classification a ensuite été validée par plusieurs plateformes d'analyse transcriptionnelle pour différentes populations de patientes et sur différentes formes anatomocliniques de la maladie. Elle permet de dégager des groupes de pronostic diffèrent. Combinée à la classification histo-clinique classique (Birnbaum et al. 2004 ; Charafe-Jauffret et al. 2005), elle représente une base nosologique et confirme l'intérêt de l'analyse transcriptionnelle.
L'avènement de cette classification moléculaire et sa forte corrélation avec les caractéristiques clinico-pathologiques ont encouragé le développement de tests génomiques simplifiés.

Nous allons détailler les sous types luminaux, qui sont ceux qui nous intéresse dans notre étude ; les autres sous types sont décrits en Annexe 7.

3. Le sous type Luminal

Ce groupe comprend des tumeurs

- RE+
- expression génique proche de celle des cellules épithéliales luminales
- profil immunohistochimique caractérisé par l'expression de CK8/18 et CK19
- tumeurs de faible grade avec des formes histologiques particulières : cribriforme, mucineux, lobulaire et carcinomes canalaires infiltrants de grade histo-pronostique I et II.

Au sein des tumeurs de sous type Luminal, 2 sous-types ont été distingués : les tumeurs Luminal A et les tumeurs Luminal B.
Les tumeurs Luminal A ont une expression élevée de RE et de gènes régulés par le RE (GATA3, FOXA1…), une faible expression de gènes liés à la prolifération et une mutation de P53 dans 13% des cas.

Les tumeurs Luminal B ont une expression plus faible de RE, une expression moindre de gènes régulés par le RE, une expression élevée des gènes liés à la prolifération et une mutation de P53 dans 66% des cas.
Le sous type Luminal A présente un pronostic plus favorable avec peu d'intérêt à recevoir une chimiothérapie contrairement aux tumeurs Luminal B qui sont associés à un moins bon pronostic et pour lesquels il existe un intérêt à recevoir une chimiothérapie (Cheang et al 2009).

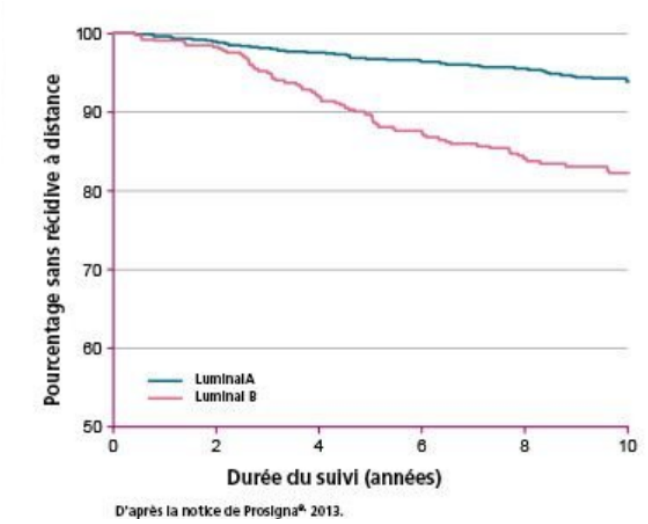


Figure 4 : Les sous types luminal A et luminal B : pronostics différents

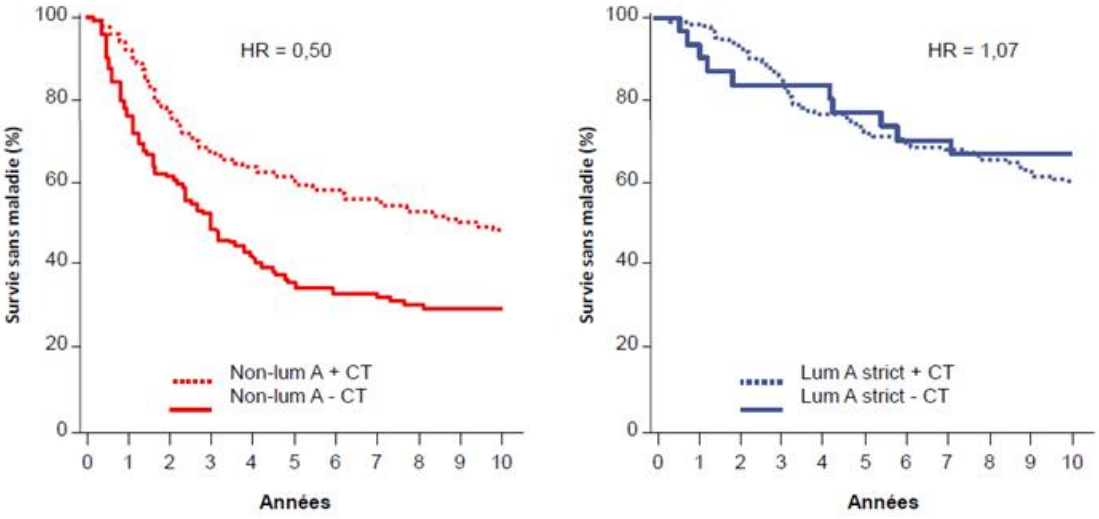


Figure 5 : Survie sans maladie en fonction en fonction du type de cancer et du traitement par chimiothérapie- essai DBCG77B (Nielsen TO et al., abstr.S1-08, San Antonio 2015)

Sur la base de cette classification moléculaire, une classification a été développé pour prédire le sous type moléculaire en fonction des critères histocliniques :
Luminal A pour les tumeurs exprimant les RH fortement et présentant un taux de prolifération faible (KI67 bas; compte mitotique bas, grade 1 ou 2).
Luminal B : pour les tumeurs exprimant les RH plus faiblement et présentant un taux de prolifération fort (KI67 fort, compte mitotique élevé, grade 3).
Le seuil du Ki67 retenu est selon les sources de 14% ou de 20% (conférences de saint Gallen 2011 et 2013).

➔ L'avènement de cette classification moléculaire et sa forte corrélation avec les caractéristiques clinico-pathologiques ont encouragé le développement de tests génomiques simplifiés dans le but de mieux prédire le pronostic et la sensibilité aux traitements d'un cancer du sein à l'échelle individuelle

D. <u>Les signatures génomiques</u>

Une signature génomique (SG) est un type de biomarqueur quantifiant, le plus souvent au sein d'une tumeur, l'expression moléculaire d'un panel de gènes sélectionnés (transcriptome).
L'objectif de ces tests est une aide à la décision thérapeutique.
Le résultat est rendu sous forme d'un **score génomique** reposant sur une construction mathématique complexe (modélisation/algorithme) qui sera interprété au regard d'un **seuil de décision pré-défini** conduisant le patient à des prises en charge différentes au même titre que le seuil de positivité d'un test diagnostique (marqueur positif ou négatif).
Depuis la définition des classes (sous-types) moléculaires par Perou, Sorlie et al. en 2001, de nombreuses SG ont été corrélées au pronostic métastatique du cancer du sein.
La recherche des marqueurs biologiques, qu'ils soient déterminés par des méthodes anatomopathologiques (immunohistochimie ou hybridation in situ), biochimiques ou par biologie moléculaire, permettrait de mieux identifier les femmes qui ne vont pas rechuter et donc pour lesquelles un traitement par chimiothérapie ne serait pas nécessaire et pourrait être évité. Une telle stratégie poursuit donc un objectif important d'amélioration de la qualité de prise en charge des patientes, par

l'évitement d'une chimiothérapie pour des femmes qui n'en tireraient pas bénéfice et en subiraient les effets indésirables.
L'intérêt clinique d'une SG dans le cancer du sein de stade précoce, comme tout marqueur tumoral, peut résider :
- dans sa **valeur pronostique** qui correspond à sa capacité à prévoir l'évolution clinique de la maladie en l'absence de traitement et donc à identifier les patients à fort ou faible risque de rechute ;
- dans sa **valeur prédictive** qui correspond à sa capacité de prédire la réponse à un traitement donné et donc de distinguer les patients pouvant tirer bénéfice de ce traitement de ceux pour lesquels aucun bénéfice n'est a priori attendu.
L'utilité clinique d'un nouveau biomarqueur tumoral devrait s'apprécier conjointement par :
- un **impact décisionnel** sur les pratiques habituelles : capacité à modifier dans une certaine mesure les décisions médicales ;
- un **impact clinique** sur l'état de santé : existence de preuves directes de l'amélioration du devenir clinique des patients avec la nouvelle stratégie.

Selon le rapport de l'HAS publié en 2019 « Utilité clinique des signatures génomiques dans le cancer du sein de stade précoce », la population préalablement ciblée pour l'évaluation des SG correspond aux patientes à risque intermédiaire qui pourraient être « au cas par cas » plus particulièrement susceptibles de recevoir une CTA en complément d'une hormonothérapie adjuvante.

- tumeur infiltrante de stade pT1c-T2
- pN0-N1,
- hormono-dépendante,
- de statut immunohistochimique RE+/HER2-.

➔ soit environ 40 % des cancers infiltrants.

Cette population préalablement ciblée est constituée de trois sous-groupes de patients :

- ceux pour qui il n'existe pas d'indication préalable de CTA;
- ceux pour qui l'indication de CTA reste incertaine ;
- ceux pour qui une indication de CTA est préalablement établie.

L'ajout d'une SG en supplément des critères clinico pathologiques pourrait améliorer la pertinence de la décision thérapeutique soit en levant l'incertitude chez ceux dont l'indication de CTA reste équivoque, soit en désescaladant le traitement chez ceux dont l'indication préalable de CTA est pourtant établie.
Dans l'idéal, les patients pourraient, sans perte de chances, ne plus se voir proposer ce traitement générateur de complications (si score génomique faible), celui-ci restant réservé à ceux pour qui le bénéfice serait suffisant (si score génomique élevé). Pour les patients ayant obtenu un score génomique intermédiaire (avec oncotype DX ou Prosigna), la discussion se fera au cas par cas.

Certaines SG ont été validées sur des séries indépendantes, ont un intérêt clinique et ont bénéficié d'un développement commercial :
Quatre SG inscrites au **Référentiel des actes innovants hors nomenclatures (RIHN)** sont actuellement financés par un acte global dans l'indication du cancer du sein de stade précoce pour optimiser la décision de CTA *:* **Oncotype Dx, Mammaprint, Prosigna, Endopredict**.

- **Endopredict**®, évalué de façon rétrospective sur une partie des patientes incluses dans l'essai prospectif ABCSG-8, a montré une valeur pronostique pour la récidive locale à 10 ans de tumeurs RE+/HER2– traitées par Hormonothérapie (Fitzal et al. 2015). Elle évalue 12 gènes (8 gènes impliqués dans la carcinogenèse (BIRC5, UBE2C, DHCR7, RBBP8, IL6ST, AZGP1, MGP et STC2) et 3 gènes de contrôle) : donnant un score génomique (score EP, variant de 0 à 15) auquel sont secondairement intégrés la taille tumorale et le statut ganglionnaire classant les patients en risque faible ou élevé (Nielsen et al. 2010). Méthode d'analyse : qRT-PCR.
- **MammaPrint**®, La signature de 70 gènes : Elle identifie l'expression de 70 gènes impliqués dans les mécanismes de la cancérogenèse (inhibition de l'apoptose, prolifération cellulaire, invasion et angio-genèse) (Tian et al. 2010). Elle prédit le risque métastatique à 5 ans et stratifie les patientes en 2 groupes : risque de récurrence faible et haut risque. Elle a été certifiée par la Food and Drug Administration (FDA) en 2008 (âge < 61 ans, taille tumorale < 5 cm, pN0) et a été étudiée (pour des tumeurs RE+/RE– et pN0/N+) dans un essai

prospectif international (MINDACT) (Cardoso et al, 2016). Méthode d'analyse : Puce à ADN (ou plus récemment séquençage haut débit).

- **Prosigna**®, le test mesure les niveaux d'expression de 50 gènes (et 5 témoins) (PAM50) et établit un score ROR allant de 0 à 100. L'algorithme du test intègre également la taille tumorale et le statut ganglionnaire : il fournit le sous type moléculaire (Luminal A/B, HER2 enrichi, basal-like), un risque de récidive à 10 ans et un niveau de risque faible, intermédiaire ou élevé (Nielsen et al.2010). Deux études (TransATAC et ABCSG-8) ont validé le test PAM50. Méthode d'analyse : Hybridation ARNm nCounter®.
- **Oncotype DX**®, 21 gènes (gènes : voie des récepteurs hormonaux (RE, RP, BCL2, SCUBE2), voie HER2 (HER2, GRB7), prolifération (Ki67, STK1, BIRC5 , CCNB1 , MYBL2) et invasion (MMP11, CTSL2) et 5 gènes de contrôle), fournissant un score de 0 à 100 qui permet de classer en 3 catégories : faible, intermédiaire ou élevé. Validée dans un essai prospectif international TAILORx (Sparano et al, 2020). Méthode d'analyse : qRT-PCR.

Tous validés cliniquement de manière indépendante. Seul Oncotype DX® et MammaPrint® ont jusqu'à présent été évalués pour leur valeur clinique dans le cadre d'un essai prospectif randomisé. Cependant, Prosigna®, EndoPredict® sont actuellement en cours d'évaluation dans de tels essais.

La première signature validée de façon prospective est européenne. Développée par l'équipe du NKI d'Amsterdam, elle est commercialisée sous le nom de **Mammaprint®.** Son utilisation a été validée par l'essai européen MINDACT publiée en 2016, étude internationale prospective, randomisée, contrôlée de phase III, menée à grande échelle. La population globale de l'étude (n= 6 693) était composée d'une population plus large que les autres études en incluant tous les profils immunohistochimiques de cancer du sein N0 ou avec 1 à 3 ganglions positifs (contrairement aux critères classique retenus RH+ HER2-). Dans cet essai, les patientes ont été considérées comme présentant un risque faible ou élevé de récidive de la maladie sur la base à la fois de MammaPrint® (désigné A) et de critères cliniques et pathologiques (désignés B). Après un suivi médian de 5 ans, la survie à distance sans métastases pour les patientes identifiées comme étant à haut risque sur la base des critères B mais à faible risque sur la base du test

MammaPrint® s'est avérée être de 94,7% (bien au-dessus de l'hypothèse nulle de 92%). Cette constatation a été obtenue indépendamment du fait que les patientes aient reçu ou non une CTA. Dans l'ensemble, il y a eu une réduction absolue de 14% de l'utilisation de la CTA lors de l'utilisation des critères A plutôt que B, pour décider de la stratégie de traitement. L'utilisation du test MammaPrint® chez tous les patientes cliniquement à haut risque, tels que définis par MINDACT, entraînerait cependant une réduction de 46% de l'administration de la chimiothérapie. Les résultats de cet essai prospectif randomisé ont clairement montré que l'utilisation du test peut modifier la pratique clinique en diminuant la fréquence d'administration de la CTA aux patientes jugées à haut risque sur la base de facteurs cliniques et pathologiques traditionnels.

La seconde signature validée de façon prospective est américaine. Elle est commercialisée par la compagnie Genomic Health. Le test est appelé **Oncotype DX®.** Elle a été validée dans l'essai nord-américain TAILORx publié en 2018. Dans cette essai clinique de phase III de non infériorité, les femmes atteintes d'une maladie N0, RH+ et HER2- avec un Recurrence Score (RS) ≤ 10 ont reçu un traitement par hormonothérapie seul ; celles avec un RS> 25 ont été traitées à la fois par un traitement par hormonothérapie et une chimiothérapie, tandis que celles avec un score intermédiaire (c.-à-d. 11–25) ont été randomisées pour recevoir un traitement endocrinien avec ou sans chimiothérapie. Sur les 10 253 patients éligibles de l'essai, 1626 (16%) présentaient un RS <11. Après une période de suivi de 5 ans pour ce groupe à faible risque, 93,8% se sont révélés exempts de maladie invasive et 99,3% étaient indemnes de récidive dans un site éloigné, tandis que la survie globale était de 98,0%.

MapQuant Dx (ou Grade génomique) est une signature moléculaire basé sur l'étude de 97 gènes, essentiellement des gènes de prolifération. Le but de ce test est de stratifier les tumeurs en bas grade (ou grade génomique 1) et haut grade (ou grade génomique 3). Initialement sur tissu congelé, elle a été développée sur tissu inclus en paraffine par technique RT-PCR.
Le Genomic Grade index peut mesurer la prolifération de la plupart des tumeurs et démontre une valeur de classification et de pronostic supérieure aux méthodes de

grading conventionnelles. Ces résultats ont été validés pour plus de 1 100 patients, dont une étude publiée l'an dernier dans le " Journal of Clinical Oncology" (Loi S et al.2007). En 2008, 3 études du MD Anderson Cancer Center (MDACC) ont permis de valider que le Genomic Grade index était predictif du benefice de la chimiothérapie (Symmans WF et al, 2008).
Comme l'index de prolifération Ki67, le grade génomique apporte des informations complémentaires pour mieux prédire le risque de rechute à distance. (Ignatiadis, et al. 2016)

Le **test Prosigna®/ signature PAM50** est dit de deuxième génération, car il a été développé et validé plus récemment en combinant la génomique des tumeurs à deux critères clinico-pathologiques à partir de 2009 / 2011. Ils sont ainsi définis par-rapport aux tests comme Mammaprint et Oncotype Dx dits de 1ere génération car développés uniquement sur la génomique des tumeurs à partir de 2002/2004.
Comme on l'a vu précédemment, les premiers travaux sur les classifications moléculaires qui ont identifié les cinq principaux sous-groupes moléculaires reposaient sur des analyses non supervisées où les tumeurs se rangeaient en « clusters » selon la similarité de leur profil d'expression. Etant donné les limites de ce type d'analyse pour la classification d'un seul échantillon tumoral, une technique a été développée, appelée SSP (Single Sample Predictor). Cette méthode a par la suite été affinée pour aboutir à la construction de PAM50 (Prediction Analysis of Microarray), basée sur l'expression de 50 gènes différents.
En 2010, Parker et son équipe ont défini une « liste intrinsèque » de 1906 gènes, établie d'après les classifications hiérarchisées de 4 études antérieures. Ils en ont dérivé une liste de 50 gènes dont le niveau d'expression peut être analysé à partir d'ARN extraits de tumeurs fixées au formol et incluses en paraffine contrairement aux méthodes initiales nécessitant du tissu tumoral congelé.
Le programme du National Cancer Institute, The Cancer Genome Atlas (TCGA), est un programme pan-tumeurs qui a séquencé et caractérisé au niveau moléculaire plus de 11000 cas de cancers primaires de différents types et localisation. Concernant les cancers du sein, les analyses de 825 échantillons de tissus tumoraux du sein et d'ADN sanguins couplés a confirmé les 4 sous-types intrinsèques en utilisant notamment la signature d'expression génique PAM50, mais aussi la

classification (ou clustering) hiérarchique non supervisée et la classification (ou clustering) hiérarchique semi-supervisée (Prat et al. 2012, Bastien et al. 2012)

La PAM50 présentait une forte concordance avec les deux analyses en clusters (*P*<0.001) étayant le rôle de la PAM50 comme outil puissant de classification du cancer du sein en sous-types intrinsèques. Les recherches ont permis d'arriver à la conclusion que les diverses altérations génétiques et épigénétiques convergeaient sur le plan phénotypique vers les 4 principaux sous-types intrinsèques de cancer du sein suivants définis par la signature d'expression génique PAM50 : luminal A, luminal B, HER2 enrichi et basal (Figure 6).

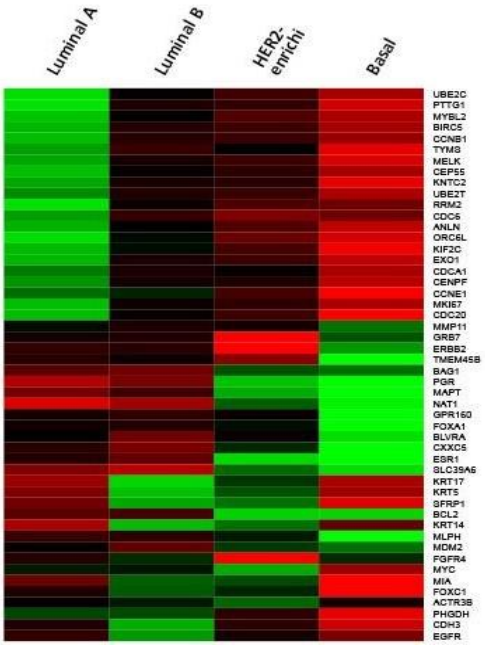


Figure 6 : Les sous types intrinsèques ont une expression génique distincte

Prosigna® est une SG correspondant à un algorithme avec des calculs complexes basés sur PAM50 et des critères histo-cliniques.

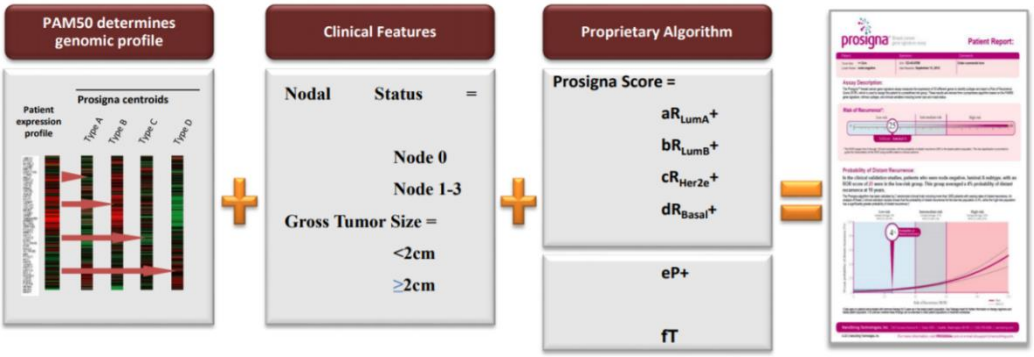


Figure 7 : Algorithme avec des calculs complexes basés sur PAM50 et des critères histocliniques

Les deux variables anatomo-cliniques intégrées dans l'algorithme Prosigna® sont :

- la taille de la tumeur (≤ à 2 cm ou > à 2 cm)
- l'atteinte ganglionnaire (0 à 3), les micrométastases étant considérées comme des ganglions positifs.

La FDA (*Food and Drug Administration*) a agréé Prosigna® comme test diagnostic décentralisé pouvant être réalisé localement en France dans un laboratoire d'anatomopathologie habilité permettant aussi d'accélérer la disponibilité du résultat. Le modèle décentralisé permet des résultats et un délai d'exécution rapides et donne la maîtrise totale du processus aux anatomopathologistes et aux équipes des laboratoires en France. Ceci permet d'éviter d'avoir à expédier des prélèvements, de réduire les délais d'exécution et les coûts, et également, d'augmenter la validité analytique dans les centres, car la technique est réalisée par le même personnel avec le même matériel.

La capacité du médecin de laboratoire à interagir directement avec le médecin demandeur facilite grandement l'intégration de cette technologie « au lit du malade ».

L'analyse moléculaire est réalisée à partir de l'ARN isolé et extrait de l'échantillon tumoral inclus en paraffine après sélection de la zone tumorale en fonction du pourcentage de cellules tumorales par un anatomopathologiste. Puis les différentes étapes (Hybridation, purification, comptage), qui seront détaillées dans la partie Matériel et Méthodes, sont réalisées.

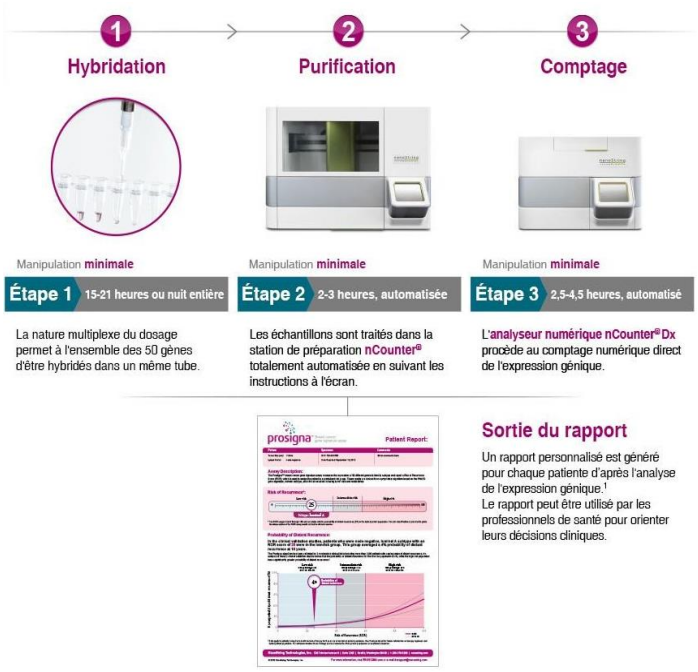


Figure 8 : Etapes du test Prosigna®

Prosigna® met en œuvre la signature d'expression génique PAM50 sur le système nCounter® FLEX Dx. Le nCounter® FLEX Dx est une plateforme technologique validée et reconnue dans plus de 750 articles scientifiques en Génomique et Recherche sur le cancer et qui, contrairement aux anciennes méthodes par PCR utilisées pour d'autres SG, ne nécessite pas d'enzymes ni d'amplification.
Le test fournit un rapport personnalisé avec en particulier : un score de risque de récidive, une probabilité de récidive à distance à 10 ans, un niveau de risque, la détermination du sous-type intrinsèque et, en particulier, la distinction du sous type Luminal A, du sous type Luminal B, ce dernier, de pronostic plus défavorable.

- **Score RDR (Risque de Récidive)**

Le score RDR est une valeur entière comprise sur une échelle allant de 0 à 100. Le score RDR est calculé en comparant le profil d'expression de 46 gènes contenus dans un échantillon avec les profils attendus pour les quatre sous-types intrinsèques, en vue de calculer quatre valeurs de corrélation différente. Ces valeurs de corrélation sont ensuite combinées avec un score de prolifération et la taille des tumeurs pour calculer le score RDR.
Il a été montré que le score Prosigna® RDR améliore la prédiction de survie dans la population d'intérêt et donne une information pronostique des plus performantes pour aider à la prise de décision. Il est actuellement utilisé pour identifier parmi les patientes N- surtout ou dans une moindre mesure celles avec moins de 3 ganglions envahis, les patientes qui pourraient éviter une CTA ou une extension de la durée d'hormonothérapie (Lænkholm AV et al. 2018, Sestak I et al. 2018).
Un travail récemment publié montre que ce score RDR est corrélé avec un bénéfice à utiliser une chimiothérapie à base d'anthracyclines et ce, surtout chez les patientes HER2-enrichies (Jensen MB et al. NPJ Breast Cancer 2020).
De plus, une étude danoise a récemment montré qu'avec un même score RDR les patientes avec un cancer lobulaire avait un taux de récidive à distance (RD) plus élevé que les cancers « canalaires » de même score RDR (dans le RDR de risque intermédiaire, le taux de RD est de 18% (95% CI, 10.1%-27.9%) pour le lobulaire versus 9.7% (95% CI, 6.7%-13.4%) pour le « canalaire » (Lænkholm AVet al., Clin Breast Cancer. 2020).

- **Probabilité de récidive à distance à 10 ans**

Les scores RDR de 2 cohortes de femmes post-ménopausées souffrant d'un cancer du sein précoce RH positifs ont été comparés aux taux de survie sans récidive à distance après chirurgie et un traitement pendant 5 ans par hormonothérapie adjuvante suivi de 5 ans d'observation. Ces deux études ont débouché sur un modèle qui lie le score RDR à la probabilité de récidive à distance au sein de la population testée, avec un intervalle de confiance de 95 %.

- **Classification du risque**

La classification du risque est également indiquée pour permettre l'interprétation du score RDR à l'aide de valeurs de seuil liées au résultat clinique obtenu auprès des populations testées.

Tableau 1 : Classification du risque par plage de RDR et état ganglionnaire

État ganglionnaire	Plage RDR	Classification du risque
Sans envahissement ganglionnaire	0-40	Faible
	41-60	Modéré
	61-100	Élevé
Avec envahissement ganglionnaire (1 à 3 ganglions)	0-15	Faible
	16-40	Modéré
	41-100	Élevé
Avec envahissement ganglionnaire (≥ 4 ganglions)	0-100	Élevé

1/ Les études de **validation clinique** de Prosigna® fournissent des preuves de niveau1 en terme de validité clinique (Dowsett et al. 2010, Gnant et al. 2014).

L'étude **TransATAC** lancée en 2002 : étude de validation clinique conçue de manière à confirmer que le score RDR fournit des informations pronostiques supplémentaires sur la survie sans récidive à distance (DRFS) au-delà des variables cliniques standards. Cette étude a été réalisée à partir d'ARN isolé des tissus tumoraux mammaires prélevés d'un groupe de patientes qui avaient participé à l'essai ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination). Cet essai ATAC de 9 358 patientes, randomisaient en double aveugle les patientes post-ménopausées atteintes d'un cancer du sein pour suivre une hormonothérapie (Arimedex seul, Nolvadex seul, ou Arimidex et Nolvadex en combinaison) pendant 5 ans. Au total, 2 006 blocs ont été prélevés sur les 4 160 femmes atteintes d'un cancer du sein Hormono-dépendant. Parmi ceux-ci, seuls 1 372 contenaient suffisamment de cellules tumorales invasives pour mener à bien l'analyse à l'aide du test Oncotype

Dx®, les résultats de l'étude ont cliniquement validé le score de récidive pour l'estimation de la survie sans récidive à distance chez les patientes post-ménopausées souffrant d'un cancer du sein RH+ traitées par HT (Dowsett et al. 2010). La firme Nanostring a utilisé L'ARN restant de l'étude Oncotype Dx. Au total, 1 017 patientes ayant participé à l'étude Oncotype Dx avaient >500 ng d'ARN restant et ont été testées dans le cadre de l'étude de validation clinique NanoString. Le critère d'évaluation principal était la survie sans récidive à distance (DRFS).
L'analyse primaire a montré que le RDR ajoutait des informations pronostiques significatives au-delà de celles des covariables cliniques standards chez toutes les patientes et dans tous les sous-groupes pertinents prédéfinis du point de vue clinique. Il a été démontré que le RDR divisait les patientes en 3 groupes de risque, avec des résultats significativement différents du point de vue statistique en l'absence d'envahissement ganglionnaire. Il a été observé que les sous-types intrinsèques Luminal A et Luminal B ont des scores DRFS et RFS significativement différents, quel que soit l'état ganglionnaire.

Parallèlement, une autre étude rétrospective a été réalisée à partir d'échantillons de tumeurs mammaires FFPE collectées et archivées dans la banque de tumeurs de l'Austrian Breast & Colorectal Cancer Study Group (ABCSG).
ABCSG est un organisme de recherche universitaire d'Autriche, qui mène des essais cliniques de renommée internationale pour étudier les cancers du sein et du côlon.
Cette étude **ABCSG-8** est basée sur un essai clinique portant sur 3 858 femmes post-ménopausées atteintes d'un cancer du sein Hormono-dépendant modérément à bien différencié qui ont été randomisées après 2 ans de Tamoxifène avec 3 ans de Tamoxifène ou 3 ans d'Arimidex® (Anastrozole).
Dans cet essai dont le critère d'évaluation principal était la survie sans récidive à distance (DRFS) à 10 ans, les résultats révèlent que la séquence 2 ans de Tamoxifène suivi de 3 ans d'Anastrozole amène des bénéfices modestes en survie et toxicité (Dubsky et al, JCO 2012). A partir des 1 478 patientes disponibles pour l'analyse en utilisant le test PAM50, la prédiction du risque de récidive met en évidence un niveau d'évidence clair pour la catégorie de bas risque avec un taux de métastase à 10 ans inférieur à 3.5% rendant inutile l'adjonction d'une chimiothérapie dans cette catégorie (Gnant et al, Ann Oncol 2014).

L'étude de **validation analytique** de Prosigna® dans différents laboratoires révèle une précision et une reproductibilité élevées (Nielsen T, Wallden B, Scharper C, et al., 2014).

En effet, l'objectif de cette étude a été d'évaluer 2 aspects importants de la robustesse analytique de Prosigna® dans les laboratoires cliniques habilités : la reproductibilité à partir du tissu et la précision à partir de l'ARN.

En partant des tissus, l'écart-type total du risque de récidive (RDR) n'était que de 2,9 points sur 3 sites indépendants.

La reproductibilité a été évaluée à partir d'un panel de 43 blocs de tumeur sur 3 sites, y compris examen indépendant de la lame colorée à l'H&E, macrodissection et isolation de l'ARN par le personnel de laboratoire sur chaque site.

La concordance moyenne de la catégorie de risque, site à site, était > à 90 % et aucun échantillon n'a changé de catégorie de risque en passant de risque faible à risque élevé (ou vice-versa).

La concordance moyenne des sous-types moléculaires site à site était de 97%.

NanoString a obtenu un marquage CE pour son test Prosigna® en 2012, suivi par l'autorisation de la FDA des Etats-Unis en septembre 2013.

Des données plus récentes démontrent aussi l'intérêt de Prosigna® comme outil pronostique chez les patientes ayant un cancer du sein de stade précoce, RH+/HER2- en période d'activité génitale (pré-ménopausées), voire d'outil prédictif (Jensen et al. 2018). De plus, il a été montré que la valeur pronostique des sous-groupes moléculaires était indépendante du statut ménopausique (Liu et al, 2016)

2/ Etudes en vie réelle :

Les données dites "en **vie réelle**" permettent d'apporter un éclairage complémentaire à celui disponible au moment de la première évaluation et d'observer dans quelle mesure les conditions des essais sont vérifiées dans la vraie vie.

La première étude génomique du cancer du sein sur une vaste population à l'échelle nationale (2 722 patientes) « en vraie vie » a été menée par le Danish Breast Cancer Group (DBCG). Les résultats du DBCG confirment la valeur pronostique de Prosigna®, réaffirmant ainsi les données observées dans les études de validation clinique, dans une très vaste population de patientes N- (1163) et N+ (1395). En particulier, cette étude montre qu'indépendamment du statut ganglionnaire (N- ou

N+), toutes les patientes classées bas risque avec Prosigna ont toutes un risque de récidive à distance à 10 ans inférieur ou égal à 5%. Par ailleurs, Prosigna® identifie avec précision les tumeurs de phénotype Luminal B (n=947) des tumeurs Luminal A (n=1474) contribuant à l'utilité clinique du test : en effet les tumeurs Luminal B ont un risque de récidive à distance à 10 ans de 18,4%, significativement plus élevé que les tumeurs Luminal A : 7,6% (Lænkholm et al. 2018).

Dans le rapport de l'HAS de 2019 sur l'utilité clinique des signatures génomiques, un paragraphe est consacré aux remontées d'utilisation en vie réelle (données RIHN 2016-2017).
La Direction générale de l'offre de soins (DGOS) a transmis à la HAS le volume d'environ 4 500 tests financés dans le cadre du Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature (RIHN) au cours de l'année 2017.
Depuis avril 2016, les quatre SG de cette évaluation sont financées de façon dérogatoire et transitoire par un acte global du RIHN conditionné par « un recueil prospectif et comparatif de données cliniques ou médico-économiques ». Une étude prospective randomisée multicentrique de 800 patientes avec pour objectif de comparer l'impact décisionnel des différentes SG sur la prescription de CTA avec un suivi clinique prévu de cinq ans (OPTIGEN – Promotion UNICANCER) était prévue. À ce jour, cette étude française multicentrique (60 centres) n'a toujours pas commencé.
À cette étude comparative, s'est plutôt substitué un recueil indépendant par SG des caractéristiques des patientes testées et des données « d'impact décisionnel » mais sans données de suivi clinique.

3/ Etudes d'impact décisionnel

Plusieurs études d'impact décisionnel ont été menées en Europe, et en particulier en France. Dans une étude de 2017, les résultats du test Prosigna® ont modifié le choix d'une CTA dans 18% (34 patients) des cas ($p<0.001$, test exact de Fisher). Il a été montré une discordance globale concernant la détermination du sous-type intrinsèque dans 28% des cas entre les résultats moléculaires du test Prosigna® et les résultats phénotypiques de l'IHC, soulignant l'importance du test Prosigna® basé sur la PAM-50, reconnue comme la détermination optimale du sous type moléculaire.

Le sous type moléculaire est reconnu par ailleurs comme une information considérable dans la décision de choix de traitement adjuvant systémique dans le cas des cancers du sein de stade précoce (Hequet et al 2017).

Prosigna® permet de donner une évaluation pronostique chez les femmes atteintes d'un cancer du sein de stade précoce RH+, avec ou sans envahissement ganglionnaire.

Il possède une utilité clinique démontrée : en apportant des informations supplémentaires par rapport à l'histologie standard, en particulier, risque de récidive et classification moléculaire. Prosigna® apporte des informations complémentaires d'aide à la décision thérapeutique et a un impact décisionnel certain pour les patientes, en particulier celles pour lesquelles il existe un doute quant au bénéfice d'une chimiothérapie versus l'hormonothérapie seule.

Ce test présente un **enjeu individuel pour la patiente**, celui de recevoir un traitement ajusté à sa pathologie, d'éviter une chimiothérapie contraignante si celle-ci n'apporte aucun bénéfice et un **enjeu économique en terme de santé publique** car le cout du test est bien inférieur au coût d'une chimiothérapie.

Comparaison des signatures entre elles

Les SG possèdent peu de gènes en commun (de 0 à 45) sur des milliers analysés. Malgré cette absence de chevauchement, on remarque, dans toutes les signatures, la présence de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire. Les différents modèles donnent des prédictions similaires en termes de pronostic. MammaPrint® et Oncotype DX® ont une concordance dans leurs résultats comprise entre 77 et 81 % (Fan et al. 2006). Cette tendance reste cependant discutée, d'autres études faisant état d'un faible accord entre les signatures (plus de 50 % des échantillons ayant au moins une affectation discordante) (Reyal et al. 2008).

Une étude récente (Sestak et al, 2018, parue dans le JAMA Oncology) a comparé plusieurs de ces SG dans une étude rétrospective, concernant 774 patientes ménopausées, RE+/HER2-, ayant reçu une hormonothérapie seule. Les 6 signatures pronostiques étaient : Oncotype DX, PAM50, Breast cancer index, EndoPredict, Clinical treatment score (N, T, grade, âge, traitement), IHC4 (RE/RP/HER2/Ki67). Selon les résultats, toutes les signatures testées apportent une information

pronostique supplémentaire aux informations cliniques chez les patientes N-, et une performance inférieure pour les patientes N+.

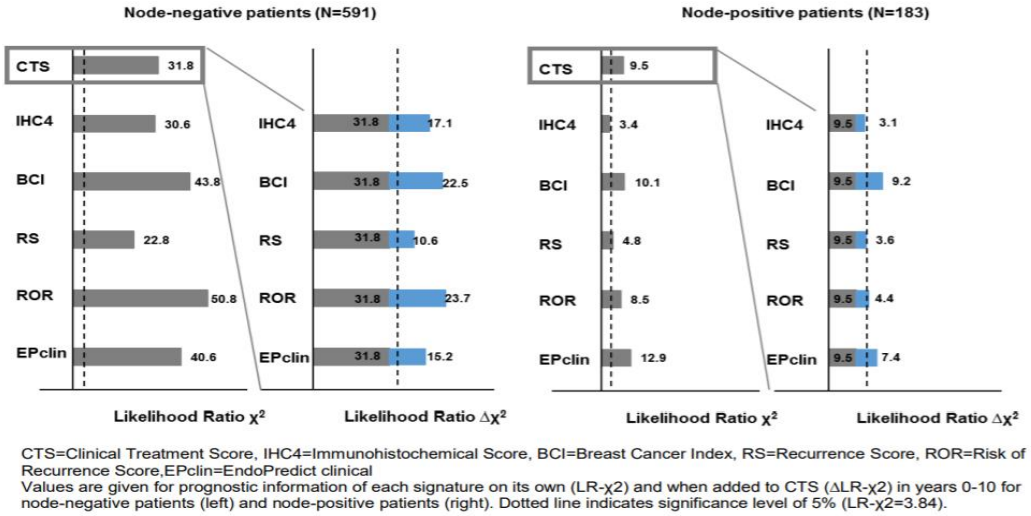


Figure 9 : Likelihood Ratio χ 2 Values for Years 0-10, Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer

Au vu de toutes ces données, du développement des SG dans la pratique clinique et des problématiques soulignées, notamment sur l'utilisation de l'IHC évaluant l'expression de l'index de prolifération Ki67, il semble intéressant d'évaluer l'impact que l'utilisation du test Prosigna® a eu dans notre pratique dans notre institution et d'évaluer l'outil Ki67 qui reste très controversé dans la pratique clinique.

E. <u>Objectifs</u>

Le test Prosigna® est réalisé à l'IPC depuis aout 2016. L'objectif de mon travail de thèse peut s'articuler selon 2 axes : des objectifs principaux, réalisant la colonne vertébrale du travail et des objectifs secondaires.

Objectifs principaux :

- **Déterminer l'impact de l'utilisation du test Prosigna® et de la signature génomique PAM50 dans la prise en charge thérapeutique adjuvante des cancers du sein RH+ HER2– à titre rétrospectif sur notre population de patients traités dans notre institution.**

- **Comparer l'évaluation par analyse d'image du Ki67 dans la prédiction du niveau de risque et du sous type moléculaire dans la cohorte de patients pour laquelle le test Prosigna® a été effectué (risque évaluéau niveau moléculairepar ce test) en le comparant à l'analyse manuelle du Ki67 qui pâtit du problème de variabilité inter-observateur dans l'interprétation de l'IHC.**

Objectifs secondaires :

- **Description de la population et des résultats du test Prosigna® sur 300 patients.**
- **Evaluer la concordance de l'évaluation du sous type moléculaire des cancers du sein en fonction des critères histologiques avec le résultat du sous type moléculaire renseigné par le test Prosigna®.**
- **Evaluation au sein des micrométastases ganglionnaires du poids attribué au statut ganglionnaire N0 ou N+ dans le test Prosigna®.**

II. MATERIEL ET METHODE

A. Critères d'inclusion

Depuis aout 2016, le test Prosigna® est réalisé à l'IPC en aide à la décision thérapeutique, suite à une décision collégiale en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) réunissant des oncologues, des chirurgiens gynécologiques, des radiothérapeutes et des anatomopathologistes.

A la suite du test, les résultats étaient discutés en prenant en compte les critères clinico pathologiques, soit entre oncologues et patients, soit à nouveau en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire.

Entre aout 2016 et octobre 2019, 300 patients ont bénéficié du test. Parmi ces patients, 208 étaient des patients suivis à l'IPC et 92 des demandes pour des patients suivis à l'extérieur de notre institution.

Tous les tests étaient réalisés sur place à l'IPC dans le service Biopathologie par la même équipe de technicienne.

Il s'agissait de patients :

- De tout âge
- Présentant une tumeur uni- ou pluri-focale du sein
- Tumeur pT1b, pT1c, pT2 ou pT3
- De grade SBR 1, 2 ou 3
- Ayant bénéficié d'une prise en charge par tumorectomie ou mastectomie première
- Exprimant les Récepteurs Hormonaux et ne présentant pas d'expression HER2 (déterminé en immunohistochimie et pour HER2 plus ou moins par hybridation in situ ou FISH)
- Présentant plus ou moins des emboles vasculaires
- Statut ganglionnaire : N0, N0i+, N1mi ou N1
- Ayant bénéficié d'une RCP retenant l'indication de la réalisation du test

Le projet Ki-Pros-IPC 2019-014 a reçu une décision favorable par le Comité de Décision de la Recherche Clinique de l'IPC.

B. Critères d'indication de chimiothérapie ONCOpratik

Notre référentiel en terme d'indication de chimiothérapie est regroupé selon les recommandations ONCOpratik, rédigées et appliquées à l'IPC, dans le contexte des patientes RH+, HER2– (RO ou RP ≥ 10% et HER2 = 0,1 ou 2 et HIS négative) :

- si atteinte ganglionnaire par macrométastase (N+) : indication de chimiothérapie
- si ganglion non atteint (N0) ou présentant des cellules isolées (taille < 0.2 mm et moins de 200 cellules) ou micrométastases (entre 0.2 mm et/ou plus de 200 cellules ET < à 2.0mm) (N1mi), l'indication de chimiothérapie se porte en fonction des facteurs de risque de récidive suivants :

- Age <35 ans,
- Présence significative d'emboles vasculaires péri-tumoraux
- Grade SBR2 associé à un ki67 >20%
- Signature à haut risque définie par les tests de signature moléculaire

Les indications de chimiothérapies dépendent des critères de taille :

Pour les tumeurs pT1a (≤5 mm), il n'est pas retenu d'indication de chimiothérapie quels que soit les facteurs de risque.

Pour les tumeurs pT1b (>5 mm et ≤10 mm), on retient une indication de chimiothérapie si au moins 2 facteurs de risque sont retrouvés.

Pour les tumeurs pT1c (>10mm et ≤20mm), pT2 (>20mm et ≤50mm) et pT3 (>50mm), seul un facteur de risque est en faveur de la décision de chimiothérapie.

Cas particulier : l'atteinte macroscopique d'un seul ganglion en cas de carcinome lobulaire et de carcinome tubuleux n'est pas une indication de chimiothérapie sauf en cas d'autre facteur de risque surajouté.

Il s'agit toujours d'une discussion, au cas par cas, en RCP, adapté aux bénéfices attendus pour la patiente en fonction de son état général et de sa volonté.

C. Le test Prosigna ®

Le test Prosigna® est effectué sur l'ARN isolé à partir des tissus tumoraux mammaires FFIP prélevés au diagnostic, sur une zone tumorale identifiée par un pathologiste, après examen d'une lame colorée à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E). Après cerclage de la zone d'intérêt, le pathologiste mesure également la superficie de la tumeur ainsi que la cellularité tumorale, et détermine ainsi le nombre de lames

non colorées requises pour le test. Cette zone cerclée est macrodissequée sur des lames non colorées correspondant à la superficie tumorale marquée sur la lame colorée à l'hématoxyline et à l'éosine. Enfin l'ARN est extrait des tissus.

Deux variables anatomo-cliniques intégrées dans l'algorithme Prosigna® sont nécessaires pour réaliser le test :

- la taille de la tumeur (≤ à 2 cm ou > à 2 cm)
- l'atteinte ganglionnaire (0 à 3), les micrométastases sont considérées comme des ganglions positifs (contrairement aux recommandations cliniques).

Le test Prosigna mesure le niveau d'expression de 50 gènes cibles plus 8 gènes endogènes (pour la normalisation). L'ARN extrait des échantillons est hybridé sans reverse transcription ni PCR, ce qui diffère des autres tests et représente un réel avantage sur des échantillons FFPE. Une fois l'hybridation multiplex effectuée, la quantification est réalisée sur le système d'analyse nCounter DX (Nanostring). L'analyse de ces 50 gènes, associée à la taille de la tumeur et au nombre de ganglions atteints permet, grâce à l'algorithme, de rendre d'un score RDR corrélé à la probabilité de récidive à distance à 10 ans en intégrant la détermination du sous-type intrinsèque à des paramètres histo-cliniques. Un rapport d'analyse est produit.

➔ **Présentation du système de test**

Le système d'analyse nCounter Dx de NanoString fournit des mesures directes et multiplex de l'expression génique par le biais de relevés numériques de l'abondance relative des transcrits d'ARNm en procédant comme suit :

1) Hybridation de l'ARN au moyen de sondes de capture et rapporteuses fluorescentes,

Le système d'analyse nCounter Dx utilise des paires de sondes spécifiques des gènes (Figure 10) qui s'hybrident directement avec l'échantillon d'ARNm en solution, éliminant les réactions enzymatiques susceptibles d'introduire un biais dans les résultats. Pendant la première étape du dosage, les sondes d'ADNc sont directement hybridées avec une région comportant 70 à 100 paires de base de l'échantillon d'ARN en solution. La sonde rapporteuse fluorescente consiste en une séquence de 35 à 50 bases, complémentaire de la cible ARNm et d'une séquence ADN squelette unique qui s'hybride avec six segments d'ARN marqués avec l'un des quatre colorants fluorescents : rouge (R), jaune (Y pour « yellow » en anglais), bleu (B) ou vert (G pour « green » en anglais), réalisant un système de « barcoding ». Les

segments fluorescents créent un « code couleur » fluorescent à six positions/quadrichrome unique pour chaque cible. Une sonde de capture distincte consiste en une séquence de 35 à 50 bases complémentaires de la cible ARNm et de la biotine, qui sert à l'immobilisation sur une lame recouverte de streptavidine.

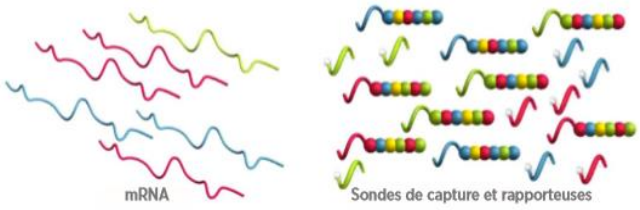


Figure 10 : Hybridation du CodeSet avec l'ARNm

2) Purification des complexes cible/sonde à l'aide de plaques de préparation nCounter contenant les réactifs nécessaires au traitement post-hybridation et à l'immobilisation sur la cartouche nCounter sur la station de préparation nCounter,

Après l'hybridation, toutes les étapes de purification de l'échantillon sont automatisées sur la station de préparation nCounter. Dans un premier temps, les sondes de capture et rapporteuses en excès sont éliminées (Figure 11) à l'aide d'étapes successives de capture de billes magnétiques, suivies de la liaison des complexes sonde-cible à des emplacements aléatoires sur la surface de la cartouche nCounter via une liaison streptavidine-biotine (Figure 12). Enfin, les complexes sonde-cible sont alignés et immobilisés (Figure 13) dans la cartouche nCounter.

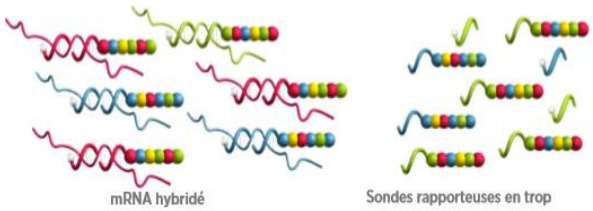


Figure 11 : Elimination des sondes rapporteuses en excès

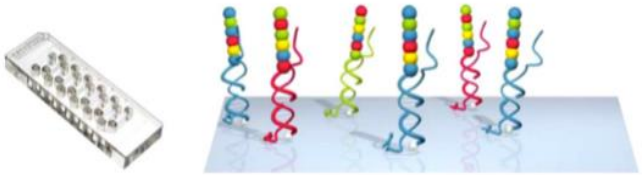


Figure 12 : Liaison des sondes rapporteuses hybridées à la surface de la cartouche

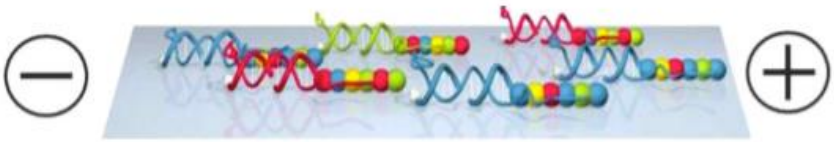


Figure 13 : Alignement et immobilisation des sondes rapporteuses hybridées

3) Analyse de la cartouche sur l'analyseur numérique nCounter en vue d'obtenir le résultat du test.

Une fois le traitement de l'échantillon terminé, la cartouche est placée dans l'analyseur numérique nCounter en vue de la collecte des données. Chaque molécule cible d'intérêt est identifiée par le « code couleur » généré par six spots fluorescents ordonnés présents sur la sonde rapporteuse correspondante. Les sondes rapporteuses qui se trouvent sur la surface de la cartouche sont ensuite dénombrées et compilées pour chaque molécule cible, et traitées avec l'algorithme (Figure 14).

Code	Gène	Nombre
	x	3
	y	1
	z	2

Figure 14 : Collecte des données

Les sondes de capture et rapporteuses comprennent toutes des séquences de sonde d'ADN uniques destinées à l'hybridation et la purification des cibles. Les sondes de capture et rapporteuses sont combinées avec les contrôles positifs et négatifs pour former le CodeSet. Le système Prosigna® mesure simultanément les niveaux d'expression de 50 gènes utilisés par l'algorithme de classification des sous-

types intrinsèques, avec 8 gènes domestiques utilisés pour la normalisation des signaux, 6 contrôles positifs et 8 contrôles négatifs dans une réaction d'hybridation unique utilisant des sondes d'acide nucléique conçues spécialement pour ces gènes.

Le kit Prosigna® comprend également un échantillon de référence composé de cibles d'ARN transcrites *in vitro* pour chacun des 58 gènes. L'échantillon de référence est testé avec chaque lot d'échantillons d'ARN de patiente pour qualifier la série et normaliser le signal de chaque gène.

➔ **Principes de base de l'algorithme Prosigna® et calcul du résultat**

L'algorithme se base sur le PAM50, soit le profil d'expression génique pour les 50 gènes permettant d'affecter le cancer du sein à l'une des quatre classes moléculaires, ou sous types intrinsèques : Luminal A, Luminal B, HER2 enrichi ou Basal-like. C'est ce que l'on appelle un « classifieur » (Perou et al. 2000).

Les profils d'expression génique types des quatre sous-types intrinsèques ont été retraités sur le système d'analyse nCounter en utilisant des échantillons de tumeurs mammaires prélevés sur plusieurs sites cliniques en Amérique du Nord, servant de référence et validés avec cette technique (Nielsen et al. 2014). Selon la valeur de la corrélation de Pearson qui permet de dire si 2 variables continues sont liées entre elles, l'échantillon testé de la patiente est affecté au sous type dont le centroïde (ou coeur de cluster) est le plus proche de son profil d'expression normalisé. C'est ainsi que le sous type moléculaire de la patiente est donné.

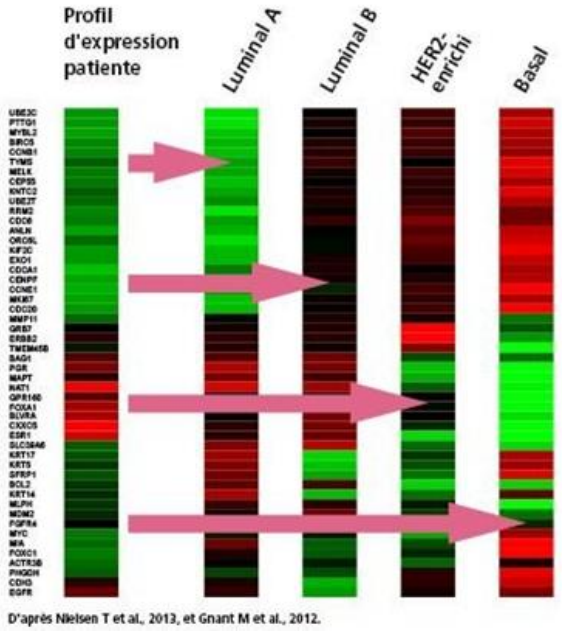


Figure 15 : Analyse du profil d'expression du patient

Le sous-type présentant la corrélation de Pearson la plus élevée est affecté à l'échantillon de test de la patiente.
Ensuite, le calcul de l'algorithme qui intègre à ce sous-type des données histo-cliniques renvoie à un score Prosigna : c'est le RDR (risque de récidive) sur une échelle allant de 0 à 100 qui corrèle avec la probabilité de récidive à distance à 10 ans pour les patients souffrant d'un cancer du sein précoce exprimant les récepteurs hormonaux. Le rapport indique aussi une catégorie de risque (faible, intermédiaire ou élevé) qui est relatif à l'évolution clinique dans la catégorie testée, différente en fonction du statut ganglionnaire N+ ou N-.

Dans notre institution, un résultat du test Prosigna® « risque élevé » est retenu comme une indication de chimiothérapie, un résultat « risque faible » est retenu comme une non indication. Pour les « risques intermédiaires » il a été choisi de se baser sur le critère du sous type moléculaire, les sous types Luminal A ont été considérés comme des risques faibles, et les sous types Luminal B, HER enrichi et Basal ont été considérés comme des risques élevés.

D. Le logiciel QuPath

Concernant l'analyse du marquage immunohistochimique du Ki67, nous avons recueillis les valeurs du Ki67 renseignés sur les comptes rendus d'anatomopathologie, puis pour 129 des 300 cas, où les lames étaient disponibles sur site à l'IPC, nous avons réalisé une nouvelle analyse centralisée au microscope optique. Nous avons ensuite digitalisé les images à l'aide d'un scanner Hamamatsu Nanozoomer 2.0HT afin de pouvoir réaliser une analyse d'image à l'aide du logiciel QuPath pour le Ki67.

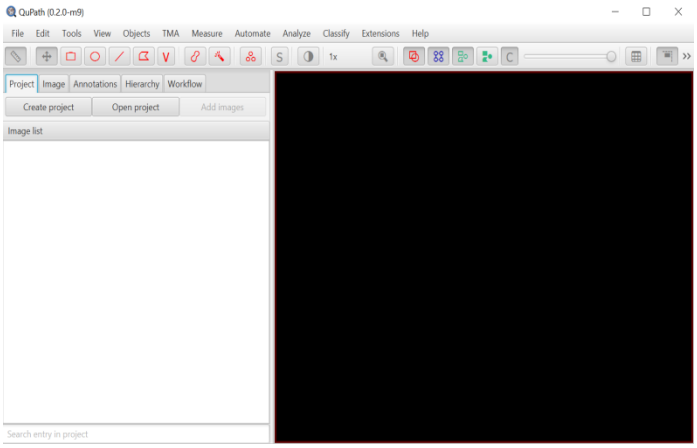


Image 1 : Logiciel QuPath

QuPath est une plate-forme logicielle en téléchargement libre sur internet, gratuite, puissante et flexible pour l'analyse d'images de lames digitalisées.

Le logiciel a été créé à l'origine au Center for Cancer Research & Cell Biology de Queen's University Belfast, dans le cadre de projets de recherche financés par Invest Northern Ireland etCancer Research UK.

Le logiciel a été approuvé et a fait ses preuves dans plusieurs études récentes (Loughrey et al. 2018, Bankhead et al. 2017, Berben et al. 2020).

Les lames sont dans un premier temps numérisées par un scanner de lame puis ouverte dans le logiciel.

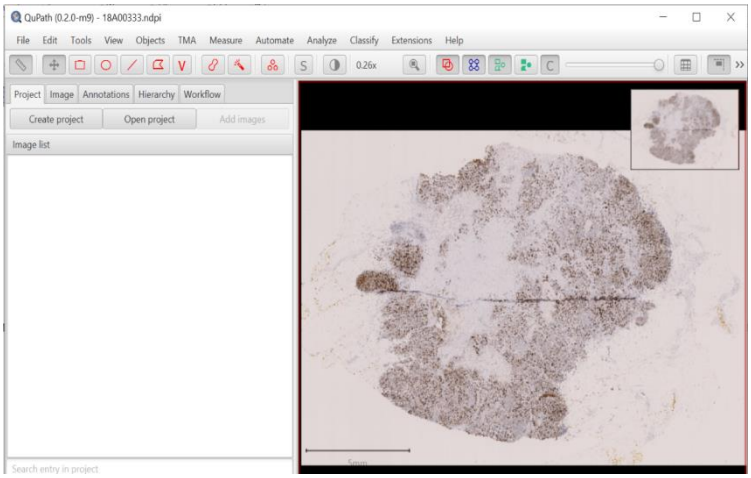


Image 2 : Ouverture d'une lame scannée d'immunohistochimie Ki67 dans le logiciel QuPath

A l'aide du logiciel, nous pouvons sélectionner une zone représentative au sein de la tumeur et lancer un comptage cellulaire.

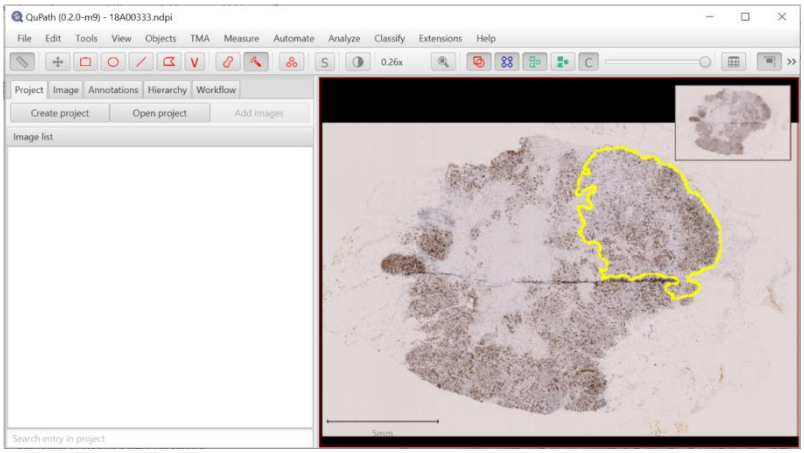


Image 3 : Sélection d'une zone représentative

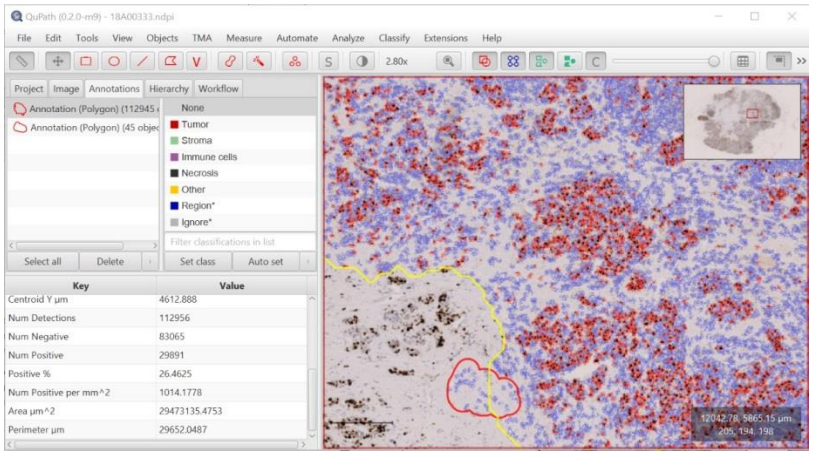


Image 4 : Comptage cellulaire par le logiciel de toutes les cellules détectables avec compte de cellules positives pour l'immunohistochimie et celles négatives

La lecture d'image permet de détecter les cellules en apprenant au logiciel à reconnaitre les cellules tumorales, les cellules non tumorales et les cellules du stroma environnant (fibroblastes, cellules inflammatoires…) en fonction de variables de taille et par « entrainement » du logiciel.

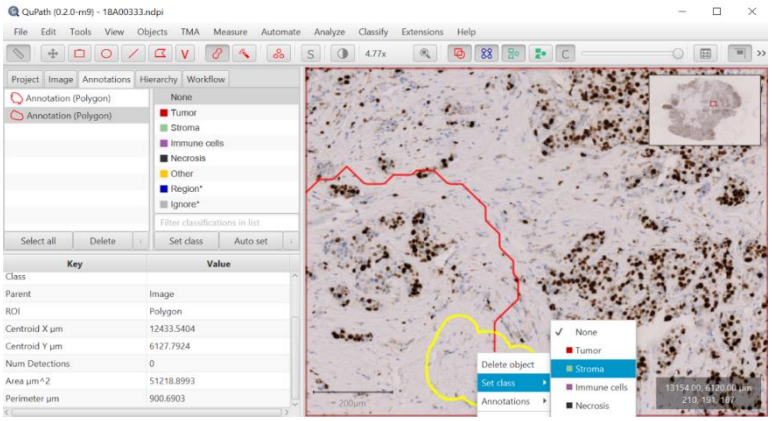


Image 5 : Apprentissage au logiciel à reconnaître les cellules du stroma environnant versus les cellules tumorales

Dans les tumeurs du sein, il s'agit d'une étape primordiale, car le stroma tumoral, souvent riche en fibrose et en cellules inflammatoires est très variable d'une tumeur à une autre. Ceci peut impacter l'analyse du fait d'une positivité du stroma qui peut être faussement comptabilisée. La technique d'analyse utilsée permet d'éliminer le stroma du comptage.

Une fois que sont uniquement comptabilisées les cellules tumorales, on peut apprendre au logiciel à évaluer le nombre de noyaux des cellules tumorales marqués par l'IHC sur la totalité des cellules tumorales détectées, permettant ainsi l'obtention d'un pourcentage de positivité le plus précis possible.

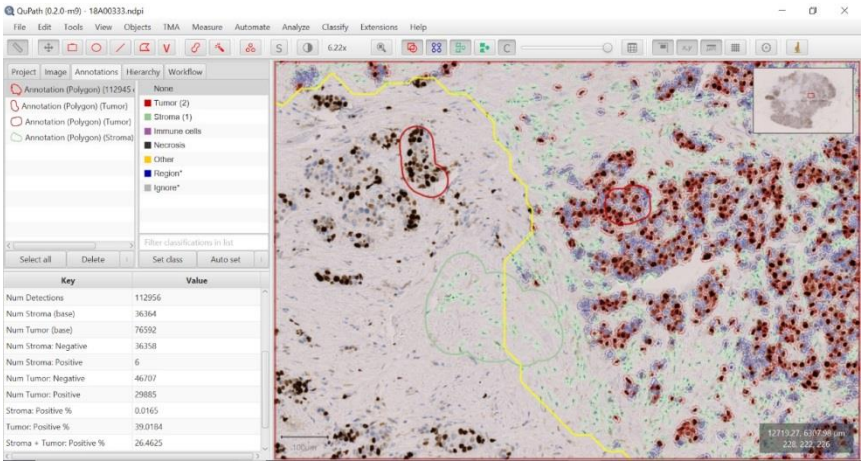


Image 6 : Comptage du nombre de cellules tumorales positives pour l'immunohistochimie versus les négatives, sans compter les cellules de l'environnement tumoral

E. Méthode d'analyses

Une partie des analyses a été réalisé avec le logiciel SAS, version 9.4 (The SAS system, SAS Institute, Cary, NC, USA).
Une autre partie des analyses notamment pour l'analyse de corrélation des différentes méthodes d'analyse du Ki67 ont été réalisé avec le logiciel GraphPad Prism version 9.0.2 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA.
Les tests statistiques réalisés sont bilatéraux, et le seuil de significativité fixé égal à 5%. Les estimations seront fournies avec des intervalles de confiance à 95%.

Descriptif de la population :

Les caractéristiques des patients sont résumées dans un tableau descriptif où sont renseignées les proportions des différentes modalités des variables qualitatives ; les médianes, moyennes et écarts-types seront quant à eux renseignés pour les variables quantitatives.
Un test exact de Fisher (variables catégorielles), ou de Kruskal-Wallis (variables continues) a été utilisé pour comparer les caractéristiques des patients en fonction du niveau de risque.

Analyse des critères principaux :

L'impact de l'utilisation du test Prosigna® et de la signature génomique PAM50 sur la prise en charge thérapeutique adjuvante des cancers du sein RH+ HER2– à titre rétrospectif sur notre population de patients traités dans notre institution sera déterminé comme suit : pour chaque patient, l'indication de chimiothérapie selon les résultats du test Prosigna® sera comparée aux indications selon les critères d'indication de chimiothérapie Oncopratik par un test de McNemar.
Le test de McNemar permet de comparer deux échantillons appariés dont les valeurs sont binaires. Il s'agit de tester l'indépendance entre une variable explicative X type avant/après test et une variable réponse Y type Indication chimiothérapie/non-indication. Les données sont donc des mesures d'une réponse binaire Y (Indication chimiothérapie/non-indication) sur les mêmes sujets avant et après le test, c'est-à-dire que nous sommes dans le cadre de données appariées. La façon la plus explicite de présenter ces données est un tableau de contingence croisant en ligne le statut Indication chimiothérapie/non-indication avant le test (en ligne) avec le statut Indication chimiothérapie/non-indication après le test (en colonne).

	Indication chimiothérapie après test	Non indication chimiothérapie après test	Total
Indication chimiothérapie avant test	a	b	a + b
Non indication chimiothérapie avant test	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

Ceci permettra d'évaluer l'indépendance entre le test Prosigna® et l'indication de chimiothérapie selon les critères classiques (H0). Si H0 est rejetée ($p<=0.05$) on considèrera que le test Prosigna® a un impact significatif sur l'indication de chimiothérapie.

Il en est de même pour l'évaluation du Ki67 dans la recherche des valeurs seuils pour tenter de prédire le niveau de risque et le sous type moléculaire.

Pour l'analyse des corrélations des techniques d'analyse du Ki67 entre elles et en fonction des critères histo-moléculaires nous avons utilisé la méthode de Tukey dans l'ANOVA (**an**alysis **o**f **va**riance). Ce test permet de créer des intervalles de confiance pour toutes les différences deux à deux entre les moyennes des niveaux de facteurs. Lorsque nous effectuons des comparaisons multiples, la méthode de Tukey ajuste le niveau de confiance de chacun des intervalles, de manière à ce que le niveau de confiance simultané obtenu soit égal à une valeur spécifiée.

Analyse des critères secondaires:

Une étude de concordance entre l'évaluation du sous type moléculaire des cancers du sein en fonction des critères histologique avec le résultat du sous type moléculaire renseigné par le test Prosigna® sera évaluée par la statistique de Kappa-Cohen (*K*).

La méthode de Kappa mesure le degré de concordance entre deux évaluateurs, par rapport au hasard.

L'interprétation des résultats se fera comme suit :

K	***Interprétation***
< 0	Désaccord
0.0 — 0.20	Accord très faible
0.21 — 0.40	Accord faible
0.41 — 0.60	Accord modéré
0.61 — 0.80	Accord fort
0.81 — 1.00	Accord presque parfait

Si la p-valeur associée à la statistique *K* est <0.05, on considèrera que l'accord mesuré par le tableau ci-dessus n'est pas lié au hasard.

L'étude de concordance sera réalisée en considérant deux cut-off du KI67 (à 14% et à 20%) permettant de déterminer le sous-typage luminal : A si Ki67<cut-off et B sinon.

III. RESULTATS

A. Description de la population

Entre aout 2016 et octobre 2019, 300 patients ont bénéficié du test Prosigna® à l'IPC. Parmi ces patients, 208 étaient des patients suivis à l'IPC et 92 des demandes pour des patients suivis à l'extérieur.

La moyenne d'âge était de 58 ans (de 29 à 84 ans). 298 étaient des femmes et 2 des hommes. Les chirurgies étaient équilibrées entre sein droit et sein gauche (142 seins droits, 146 seins gauches et 12 cas où le côté n'était pas renseigné).

Le statut post-ménopausique est retrouvé pour 148 patientes, pré-ménopausique pour 75 patientes, et dans 77 cas, cette donnée était manquante (sachant que 2 sont des hommes).

On notait une nette prédominance de la localisation tumorale au niveau du quadrant supero externe par rapport aux autres localisations.

Le grade SBR était dans 28 cas SBR1, 211 cas SBR2, 51 cas SBR3 et 10 cas non renseignés.

Aucune tumeur n'était pT1a, 22 tumeurs étaient classées pT1b, 159 étaient classées pT1c, 112 pT2, 7 pT3.

Les emboles vasculaires étaient absents dans 202 cas, retrouvés mais rares dans 28 cas, et nombreux dans 57 cas. Cette donnée était manquante dans 13 cas.

Les RE et/ou RP apparaissaient dissociés dans 46 cas et les données étaient manquantes dans 24 cas.

Le score HER2 était d'intensité 0 dans 100 cas, d'intensité 1 dans 85 cas, d'intensité 2 dans 90 cas (tous non amplifiés en HIS ou FISH et 1 cas équivoque en FISH). Dans 25 des cas extérieurs, l'information était manquante (20 cas) ou l'immunohistochimie était non réalisée et remplacée par une technique FISH immédiate (5 cas), 4 étaient non amplifiées sauf 1 équivoque en FISH.

La moyenne du Ki67 dans la cohorte totale était de 19.53% [1%-80%]. La donnée était manquante dans 18 cas.

La taille tumorale moyenne était de 20.59 mm [6-120mm].

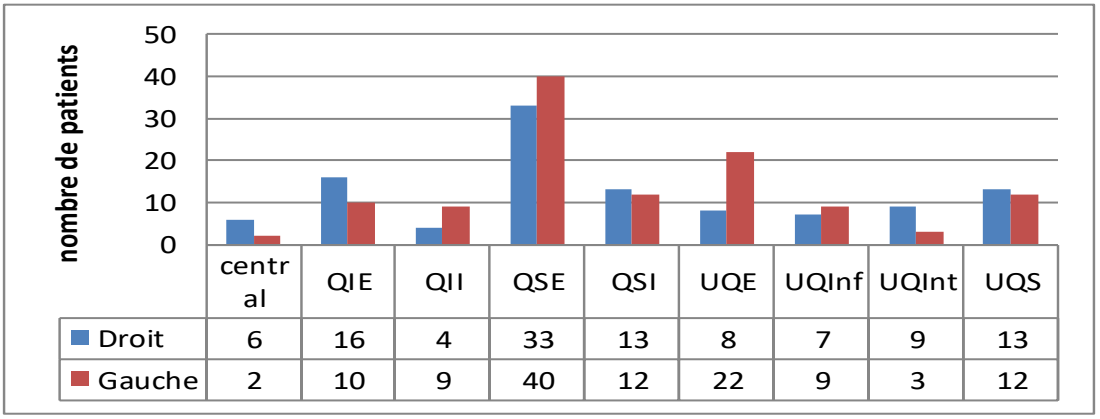
Concernant le statut ganglionnaire, 213 cas ne présentaient pas d'envahissement ganglionnaire, 22 cas des cellules isolées, 43 cas des micrométastases, 22 cas des macrométastases. Aucun cas ne présentait de rupture capsulaire.

Tableau 2 : Description de la population générale

Age moyen		58,32 [29-84]
Sexe	**F**	298 (99%)
	H	2 (1%)
Statut ménopause (M)	**Post M**	148 (49%)
	PréM	75 (25%)
	DM	77 (26%)
Chirurgie droite / gauche	**Sein droit**	142 (47%)
	Sein Gauche	146 (49%)
	DM	12 (4%)
Type chirurgie	**Tumorectomie**	236 (79%)
	Mastectomie	53 (18%)
	DM	11 (3%)
SBR	**1**	28 (9%)
	2	211 (70%)
	3	51 (17%)
	DM	10 (4%)
pT	**1b**	22 (7%)
	1c	159 (53%)
	2	112 (38%)
	3	7 (2%)
Embole vasculaire	**Absent**	202 (67%)
	Rares	28 (10%)
	Nombreux	57 (19%)
	DM	13 (4%)
RE %		96,17% [30-100%]
RE score	**1**	4 (1%)
	2	38 (13%)
	3	236 (79%)
	DM	22 (7%)
RP %		66,20% [0-100%]
RP score	**0**	24 (8%)
	1	10 (3%)
	2	57 (19%)
	3	186 (62%)
	DM	23 (8%)
HER2 score	**0**	100 (33%)
	1	85 (28%)
	2	90 (30%)
	DM	25 (8%)
Ki moyen		19,53% [1-80%]
Taille tumorale		20,59 mm [6-120mm]
Atteinte ganglionnaire	**N0**	213 (71%)
	N0i+	22 (7%)

	N1mi	43 (15%)
	N1	22 (7%)
Sous type	**Luminal A**	136 (45%)
	Luminal B	157 (52%)
	HER2	5 (2%)
	Basal	2 (1%)
Niveau de risque	**Faible**	68 (23%)
	Intermédiaire	110 (37%)
	Elevé	122 (40%)

DM : Données manquantes



Graphe 1 : Localisation tumorale

Au total, le sous type moléculaire était dans 136 cas Luminal A, dans 157 cas Luminal B, dans 5 cas HER2 enrichi et dans 2 cas Basal.

Tous les cas HER2 enrichi ou Basal présentaient un risque intermédiaire avec une probabilité de récidive supérieure à 10% ou des risques élevés.

La moyenne totale de risque de récidive à distance était de 15% [2%-44%].

- **Risque faible**

68 patients ont eu un résultat en risque faible avec en moyenne une probabilité de récidive à distance de 5% [2-7%] et un Ki67 moyen de 12.22% [1-35%].

Tous les patients qui ont eu un résultat risque faible était de sous type Luminal A.

- **Risque intermédiaire**

110 patients ont eu un résultat en risque intermédiaire avec en moyenne une probabilité de récidive à distance de 11% [6-15%] et un Ki67 moyen de 17.65% [1-80%].

Sous type moléculaire : 56 Luminal A, 52 Luminal B, 1 Basal, 1 HER2 enrichi.

- **Risque élevé**

122 patients ont eu un résultat en risque élevé avec en moyenne une probabilité de récidive à distance de 23% [15-44%] et un Ki67 moyen de 24.91% [1-80%].
Sous type moléculaire : 12 Luminal A, 104 Luminal B, 1 Basal, 4 HER2 enrichi. Parmi les 12 Luminal A en risque élevé tous présentaient une atteinte ganglionnaire (8N1m, 4N1)

Tableau 3 : Sous type moléculaire et risque

		Risque faible	**Risque Intermédiaire**	**Risque elévé**
Luminal A	**136**	68	56	12 (8 N1mi et 4 N1)
Luminal B	**157**	0	52	105
Basal	**2**	0	1	1
Her2 Enrichi	**5**	0	1	4
		68	**110**	**122**

Tableau 4 : Evaluation des emboles vasculaires

		EV non vus	**EV rares**	**EV nombreux**
Nombre de cas		202	28	57
Ki moyen		20.14% [1-70%]	25.71% [1-80%]	14.48% [1-40%]
Probabilité de récidive à distance moyen		15%	17%	14%
Statut ganglion	**N0**	147 (72.77%)	21 (75%)	35 (61.40%)
	N0i+	15 (7.42%)	1 (3.57%)	6 (10.52%)
	N1mi	25 (12.37%)	4 (14.28%)	12 (21,05%)
	N1	14 (6.93%)	2 (7.14%)	4 (7.02%)
Sous type molécu-laire	**Luminal A**	83 (41.8%)	11 (39.28%)	21 (38.88%)
	Luminal B	114 (56.43%)	15 (53.57%)	35 (61.40%)
	autres	4 (0.19%)	2 (7.14%)	1 (1.75%)
Niveau de risque	**Faible**	45 (22.27%)	6 (21.42%)	15 (26.31%)
	intermédiaire	71 (35.14%)	8 (28.57%)	24 (42.10%)
	élevé	84 (41.58%)	14 (50%)	16 (28.07%)

L’absence ou la présence des emboles vasculaires sur notre cohorte de 287 patients (13 données manquantes) sur nos observations ne semblent pas présenter de lien avec le taux d’expression du Ki67, le statut ganglionnaire, le sous type moléculaire ou le niveau de risque (absence de statistique).

Tableau 5 : Evaluation des Récepteurs Hormonaux

	RE %	RE	RP %	RP score	HER2
Cohorte	96.17 % [30-	2.87 [1-3]	66 % [0-100]	2.46 [0-3]	0.97 [0-2]
Risque élevé	96.68 % [60-	2.9 [2-3]	58.29 % [0-	2.32 [0-3]	0.97 [0-2]
Risque Intermédiaire (IM) tous	96.3 % [30-100]	2.78 [1-3]	71.29 % [0-100]	2.59 [0-3]	0.96 [0-2]
Risque IM luminal A	95.38 % [50-100]	2.77 [2-3]	71.58 % [0-100]	2.6 [0-3]	0.80 [0-2]
Risque IM luminal B	97.70 % [30-100]	2.84 [1-3]	74.10 % [0-100]	2.66 [0-3]	1.08 [0-2]
Risque faible	94.92 % [40-	2.79 [1-3]	71 % [0-100]	2.49 [0-3]	0.95 [0-2]
Luminal A	95.11 % [40-	2.79 [1-3]	70.48 % [0-	2.52 [0-3]	0.90 [0-2]
Luminal B	97.36 % [30-	2.89 [1-3]	64.72 % [0-	2.46 [0-3]	0.99 [0-2]

Parmi les 46 cas présentant une dissociation au niveau immunohistochimique de RE et RP, 27 cas étaient de sous type Luminal B, Her2 enrichi ou Basal, et 15 cas de sous type de Luminal A. La majorité des cas présentaient un test Prosigna® à risque élevé (27 cas), 10 cas en risque intermédiaire, et 9 cas en risque faible. La moyenne du Ki67 (sur évaluation « manuelle ») dans cette sous population était élevée, 27.14% [1%-80%] versus une moyenne de 19.53% [1%-80%] dans la cohorte totale. Une dissociation des RH est le plus souvent observée dans les catégories de risque élevé et de sous type Luminal B, avec une moyenne du Ki67 plus élevé.

Un de nos objectifs principaux était de déterminer l'impact de l'utilisation du test Prosigna® et de la signature génomique PAM50 dans la prise en charge thérapeutique adjuvante des cancers du sein RH+ HER2– à titre rétrospectif sur notre population de patients traités dans notre institution. Pour cela nous nous sommes basés sur les critères histo-cliniques et les critères d'indications de chimiothérapie spécifiés dans l'application ONCOpratik pour déterminer si il y avait indication théorique ou non de chimiothérapie avant test Prosigna® puis d'appliquer les changements apportés par le test. Nous nous sommes basés sur des changements théoriques et non sur ce qu'il a été réellement décidé dans la pratique du fait de décision théorique de chimiothérapie apporté par le test parfois pondérée en fonction du bénéfice/risque, de décision oncogériatrique ou de désir du patient.

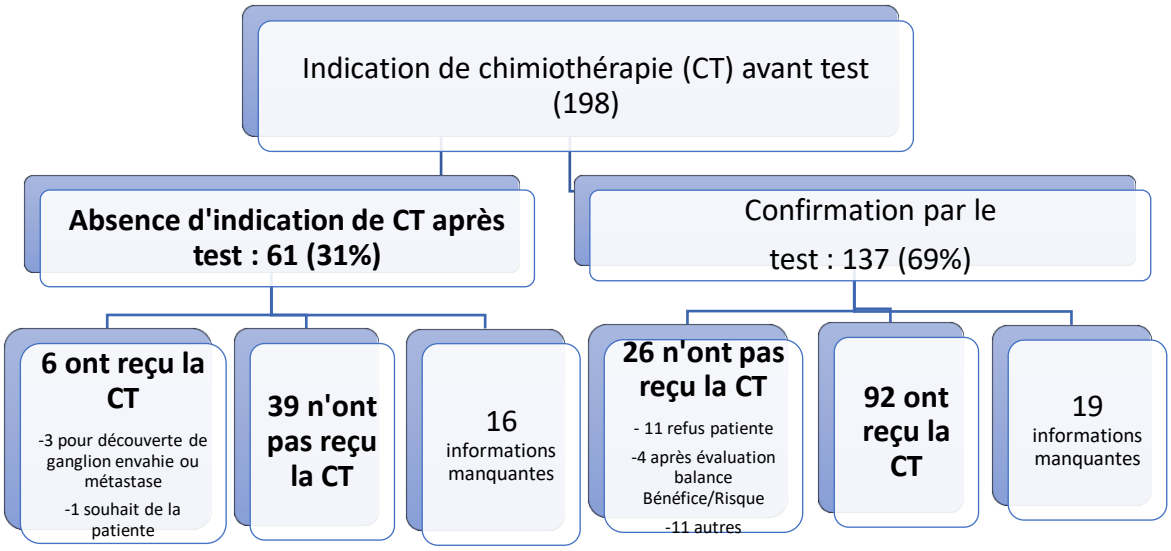
Comme expliqué dans la partie Matériel et Méthodes l'indication de chimiothérapie pour le test était considérée pour les niveaux de risque élevé et pour les niveaux de risque intermédiaire de sous type Luminal B et la non indication pour les niveaux de risque faible et les niveaux de risque intermédiaires de sous type moléculaire Luminal A.

B. Résultats : indications de chimiothérapie et changement thérapeutique suite au test Prosigna®

Parmi les 300 patients de la cohorte, pour 14 patients du fait de données manquantes l'indication de chimiothérapie avant test n'était pas réalisable. Pour ces 14 patients, 9 patients ne présentaient pas d'indication de chimiothérapie après test et 5 présentaient une indication.

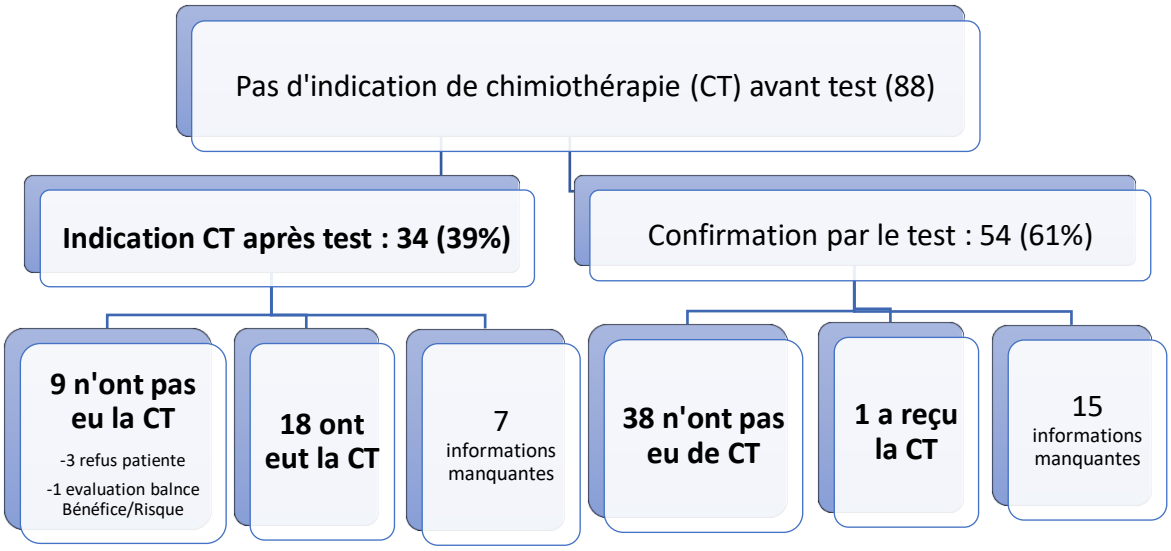
1. Description des modifications de décision de chimiothérapie suite au test Prosigna® pour les 286 patients évaluables :

Une indication de chimiothérapie selon les critères ONCOpratik aurait été retenue pour 198 patients. Après le test Prosigna® cette indication était toujours retenue pour 137 patients (dans 26 cas la chimiothérapie n'a finalement pas été réalisée suite à des décisions oncogériatriques de la balance bénéfice/risque ou du souhait du patient de ne pas recevoir de chimiothérapie). Dans **61 cas, le test était en faveur de rétrograder** sur la décision de chimiothérapie (6 de ces patients ont tout de même reçu une chimiothérapie du fait de découverte à distance de métastase ou du fait de la volonté du patient).



Organigramme 1 : Modification de la décision thérapeutique pour les cas où il existait une indication théorique de chimiothérapie en pré test selon les critères ONCOpratik

Pour 88 patients, la chimiothérapie n'aurait pas été retenue selon les critères ONCOpratik. Parmi ces patients, le test a confirmé la non indication pour 54 cas (une patiente a tout de même reçu une chimiothérapie pour une raison non précisée). Dans **35 cas, le test était plutôt en faveur d'une chimiothérapie** (dans 9 cas la chimiothérapie n'a finalement pas été réalisée suite à des décisions oncogériatriques de la balance bénéfice/risque ou du souhait du patient de ne pas recevoir de chimiothérapie), « upgradant » l'indication de chimiothérapie.



Organigramme 2 : Modification de la décision thérapeutique pour les cas où il n'existait pas d'indication théorique de chimiothérapie en pré test selon les critères ONCOpratik

Au total, un changement thérapeutique théorique s'observait chez 95 patients sur 286 soit 33%.

2. Analyses statistiques de la modification de décision de chimiothérapie suite au test Prosigna® pour les 286 patients évaluables :

Nous avons choisi d'analyser l'impact du test sur l'indication de chimiothérapie dans un premier temps avec ce qui a été réalisé dans la pratique, c'est-à-dire en considérant les patients présentant une (ou plusieurs) micrométastase(s) ganglionnaire(s) comme des patients avec atteinte ganglionnaire N1.

En effet, l'un des questionnements sur le test Prosigna® est que, selon les recommandations d'indication de chimiothérapie Oncopratik, les patients avec micrometastase ganglionnaire sont considérés comme des patienst pN0, tandis que le test Prosigna® les considère comme des patients pN1.

Donc nous avons également réalisé ses tests en considérant les patients micrométastatiques comme des patients N0 et non N1 pour voir si l'impact aurait été différent.

Tableau 6 : Impact du test Prosigna® sur l'indication de chimiothérapie (CT) en considérant les patients micro-métastatiques comme N1

		Indication de CT post test						
Test	*Cat.*	*Oui*	*Non*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*
Indication de CT pré test	Oui	137 (47.90%)	61 (21.33%)	0.0056	66.78%	80.12%	46.96%	0.635 [0.581;0.69]
	Non	34 (11.89%)	54 (18.88%)					

Tableau 7 : Impact du test Prosigna® sur l'indication de chimiothérapie en considérant les patients micro-métastatiques comme N0

		Indication de CT pré test						
Test	*Cat.*	*Oui*	*Non*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*
Indication de CT pré test	Oui	130 (45.61%)	67 (23.51%)	0.0003	65.61%	80.75%	45.97%	0.634 [0.58;0.687]
	Non	31 (10.88%)	57 (20.00%)					

Les résultats du test Prosigna® sur l'indication de chimiothérapie en considérant les micro-métastases comme des ganglions N1 : le test Prosigna® a une influence significative sur l'indication de chimiothérapie avec une plus forte tendance à rétrograder (21,33%) qu'à upgrader (11,89%) (Sensibilité = 80,12%, Spécificité = 46,96%, p : 0,0056) la décision.

Si on considère les micro-métastases comme des ganglions N0, la tendance à rétrograder est plus élevée (23,51%) (Sensibilité = 80,75%, spécificité = 45,97%, p : 0,0003). De ce fait, le niveau de risque évalué tient compte de ce paramètre clinique.

➔ **Nous avons déterminé l'impact de l'utilisation du test Prosigna® et de la signature génomique PAM50 dans la prise en charge thérapeutique adjuvante des cancers du sein RH+ HER2– à titre rétrospectif sur notre population de patients traités dans notre institution, avec une modification thérapeutique dans 33% des cas, et une tendance significative majoritaire à rétrograder l'indication de chimiothérapie, permettant ainsi à 61 patients sur 286 d'éviter une chimiothérapie.**

Par la suite, nous avons comparé l'évaluation par analyse d'image du Ki67 aux techniques manuelles qui pâtit du problème de variabilité interobservateur dans son interprétation. Nous avons également évalué sa corrélation au niveau de risque et du sous type moléculaire mesuré par le test, dans la cohorte de patients pour laquelle les lames d'immunohistochimie Ki67 étaient disponibles sur site.

C. Résultats de l'évaluation immunohistochimique Ki67 : Corrélation du Ki67 et paramètres histo-moléculaires

Pour cela nous avons dans un premier temps, analysé dans la cohorte totale (300 patients) les liens entre le Ki67 renseigné dans le compte rendu (CR) anatomopathologique et le grade SBR, le sous type moléculaire et le niveau de risque renseigné par le test Prosigna®.

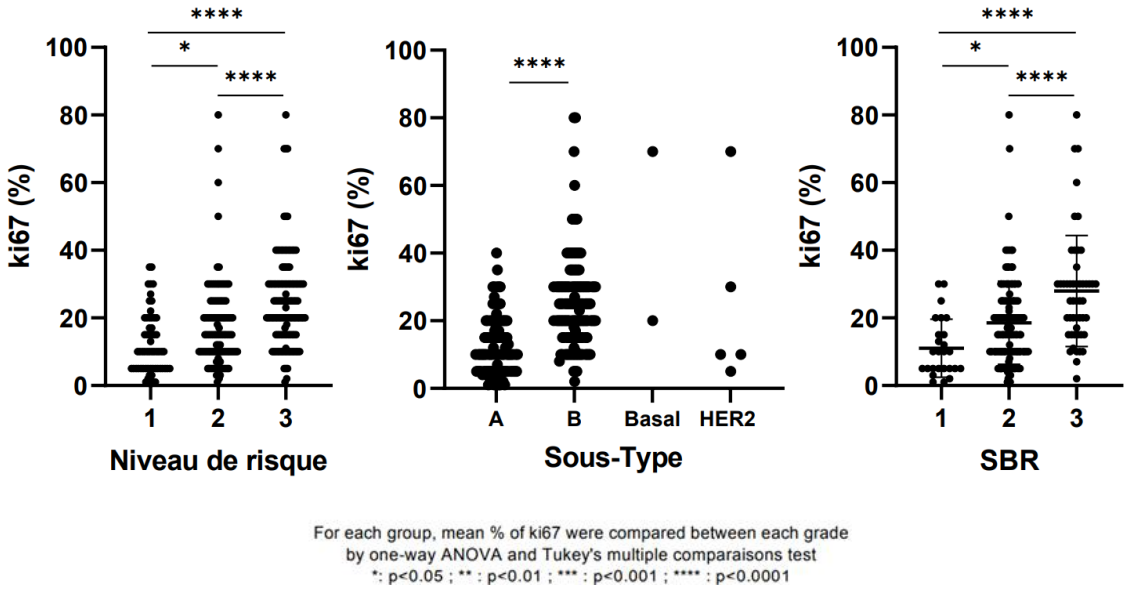
Dans un deuxième temps, pour 129 des 300 patients, nous avons réalisé sur les lames d'immunohistochimie Ki67 une relecture centralisée par un pathologiste du site et digitalisé les lames afin de les rendre accessibles à une analyse d'image du Ki67 par le logiciel QuPath. Le but était de comparer le Ki67 obtenu dans le CR, celui par relecture centralisée et le Ki67 obtenu par intelligence artificielle afin d'évaluer si une technique d'analyse est mieux corrélée aux résultats du test et permet de réduire les biais inhérents à l'interprétation du Ki67 comme la variabilité inter- et intra-observateur.

De plus, nous avons cherché à définir, à partir de ces données, un seuil qui permettrait de prédire le sous type moléculaire et également un seuil qui permettrait de prédire le niveau de risque rendu par le test et qui pourrait donc constituer un élément supplémentaire dans l'aide à la décision thérapeutique pour les patients et d'éventuellement passer outre l'utilisation du test ou de préciser les indications de la réalisation du test.

1. Concernant le Ki67 renseigné dans le compte rendu (CR) d'anatomopathologie sur la cohorte totale :

Le Ki67 moyen à partir de l'analyse « manuelle » faite par la pathologiste local et rapportée dans le CR de pathologie était de 19.53% [1-80%] (données manquantes pour 18 cas sur 300 patients).

On observe une corrélation avec le grade SBR, le sous type moléculaire et le niveau de risque Prosigna®.



Pour le niveau de risque : 1 = niveau risque faible / 2 : niveau risque intermédiaire / 3 : niveau risque élevé

Graphe 2 : Ki67 moyen en fonction du niveau de risque, du sous type moléculaire et du grade SBR

Il existe une augmentation du Ki67 moyen en fonction du niveau de risque Prosigna®, avec un Ki67 moyen de 12.2% [1%-40%] pour les risques faibles, 17.65% [1%-80%] pour les risques intermédiaires et 24.91% [1%-100%] pour les risques élevés.

On observe également un Ki67 moyen qui varie en fonction du sous type moléculaire : nettement plus faible de 12.64% [1%-40%] chez les patients Luminal A et plus élevé à 24.59% [2%-80%] pour les patients Luminal B, 45% [20-70%] pour les patients Basal like et 28% [5%-70%] pour les patients HER2 enrichi.

Le Ki67 évolue en fonction du grade histopronostique, avec un taux moyen de 11.04% [1-30%] pour les grades SBR1, 18.56% [1-80%] pour les grades SBR2 et 27.94% [2-80%] pour les grades SBR3.

2. Concernant le Ki67 ayant bénéficié d'une analyse avec le logiciel QuPath, soit 129 cas :

L'analyse du Ki67 avec le logiciel QuPath a été réalisée sur 129 lames digitalisées. Nous avons comparé cette analyse au Ki67 renseigné dans le CR (lecture « manuelle » selon pathologiste local), et au Ki67 par analyse centralisée par un seul et même pathologiste expert. Je présente ci-dessous la description de la population des 129 cas concernés (tableau 7).

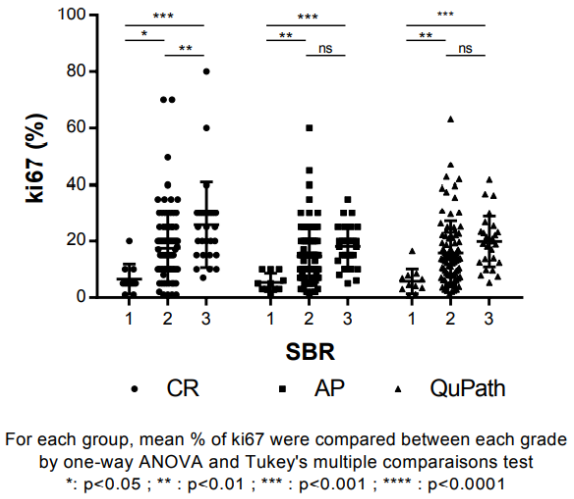
Tableau 8 : Description des 129 cas analysé par logiciel QuPath

Age moyen		58,28 [32-82]
Sexe	**F**	129 (100%)
	H	0
Chirurgie droite / gauche	**Sein droit**	65 (50%)
	Sein Gauche	64 (50%)
Type chirurgie	**Tumorectomie**	96 (74%)
	Mastectomie	33 (26%)
SBR	**1**	11 (9%)
	2	90 (70%)
	3	28 (21%)
pT	**1b**	3 (2%)
	1c	73 (56%)
	2	51 (39%)
	3	2 (2%)
Embole vasculaire	**Absent**	80 (62%)
	Rares	19 (15%)
	Nombreux	29 (22%)
RE %		97.12% [50-100%]
RE score	**2**	16 (12 %)
	3	113 (88%)
RP %		60.98% [0-100%]
RP score	**0**	10 (8%)
	1	6 (5%)
	2	25 (19%)
	3	88 (68%)
HER2 score	**0**	34 (26%)
	1	44 (34%)
	2	51 (40%)
Ki moyen QuPath		15.95% [0.81-63.23%]
Ki moyen Compte rendu		14.62% [1-60%]

Ki moyen centralisé		18.33% [1-80%]
Taille tumorale (mm)		21.19 [8-120]
Atteinte ganglionnaire	**N0**	88 (68%)
	N0i+	15 (12%)
	N1mi	18 (14%)
	N1	8 (6%)
Sous type	**Luminal A**	58 (45%)
	Luminal B	68 (53%)
	HER2	3 (2%)
Niveau de risque	**Faible**	28 (22%)
	Intermédiaire	44 (34%)
	Elevé	57 (44%)

Les résultats obtenus pour les valeurs du Ki67 moyen (obtenu avec le logiciel QuPath, ou renseigné dans le CR, ou obtenu suite à l'analyse centralisée) mettent en évidence une corrélation avec le grade SBR comme avec le sous type moléculaire Luminal A ou Luminal B mais aussi avec le niveau de risque Prosigna®. Dans la cohorte de 129 patientes, la moyenne du Ki67 avec le logiciel est de 15.85% [0.81-63.23%] versus 18.33 % [1-80%] pour le Ki67 renseigné dans le compte rendu d'anatomopathologie et 14,62 % [1-60%] pour le Ki67 en analyse centralisée.

- **Grade SBR**

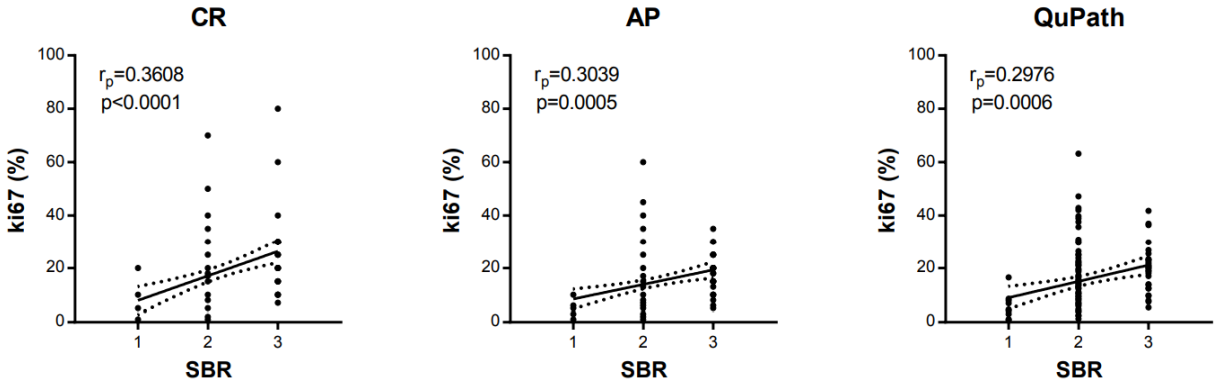


Graphe 3: Ki67 moyen en fonction du grade SBR concernant les 129 cas

Concernant le **grade SBR1**, la moyenne du Ki67 par le logiciel QuPath est de 5.76% [0,81-16,52%], la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR est de 6.55% [1-20%] et pour le Ki67 moyen par analyse centralisée est de 5.36% [1-10%].

Concernnat le **grade SBR2**, la moyenne du Ki67 par le logiciel QuPath est de 16.18% [1,25-63,23%], la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR est de 17.46% [1-70%] et le Ki67 moyen par analyse centralisée est de 14.66% [1-60%].

Concernant le **grade SBR3**, la moyenne du Ki67 par le logiciel QuPath est de 19.91% [5,25-41,79%], la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR est de 25.79% [7-80%] et le Ki67 moyen par analyse centralisée est de 18.14% [5-35%].



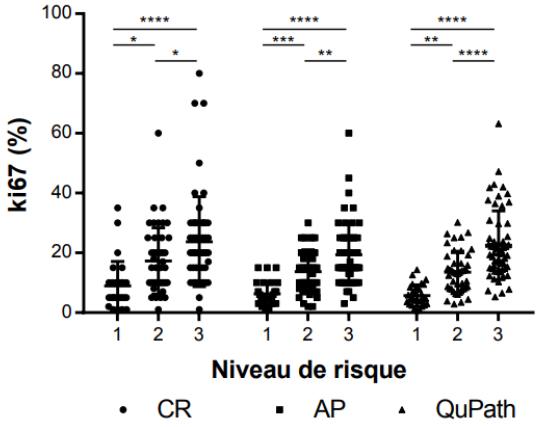
CR = Compte rendu d'anatomopathologie / AP : analyse centralisée par pathologiste

Graphe 4 : corrélation du Ki67 en fonction du grade SBR concernant les 129 cas

On observe une corrélation significative de l'augmentation du Ki67 en fonction du grade SBR, que ce soit avec le Ki67 renseigné dans le CR ou le Ki67 obtenu par ranalyse centralisée ou le Ki67 obtenu par QuPath.

Plus le coefficient de corrélation de Pearson (Rp) est proche de 1, plus la corrélation est importante. Il semble donc que pour l'évaluation du grade SBR, la corrélation est légèrement meilleure avec l'évaluation du Ki67 renseigné dans le CR (Rp= 0,3608 contre 0,3039 pour l'évaluation centralisée et 0,2979 pour le Ki67 obtenu avec QuPath).

- **Niveau de risque**



For each group, mean % of ki67 were compared between each risk level
by one-way ANOVA and Tukey's multiple comparaisons test
*: p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; **** : p<0.0001

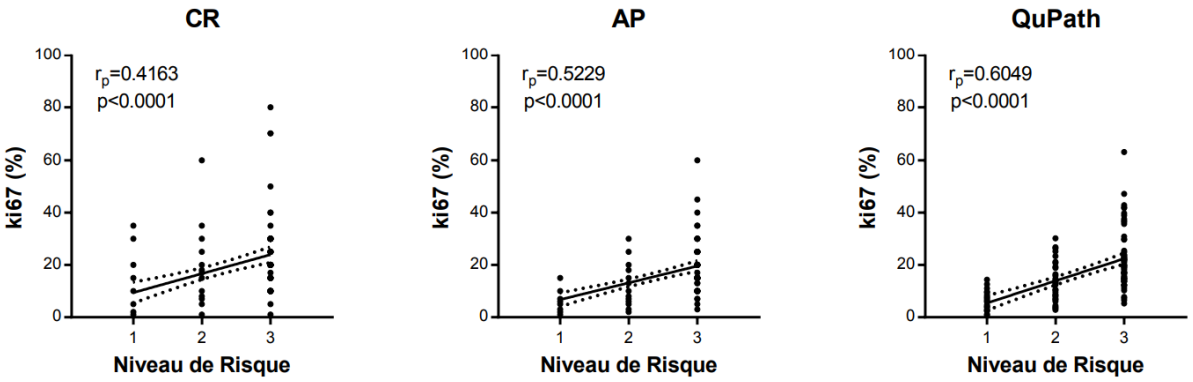
1 = niveau risque faible / 2 : niveau risque intermédiaire / 3 : niveau risque élevé

Graphe 5 : Ki67 moyen en fonction du niveau de risque concernant les 129 cas

Pour les cas **risque faible** : le Ki67 moyen est de 5.73% [0.81-14.37%]. Pour les lames qui ont été scannées et étudiées avec le logiciel QuPath, la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR était de 8.96% [1-35%] et la moyenne d'évaluation du Ki67 anaysé par un seul et même anatomopathologiste est de 6.62% [1-15%].

Pour les cas **risque intermédiaire** : le Ki67 moyen est de 13.57 [2.90-30.19%]. Pour les lames qui ont été scannées et étudiées avec le logiciel QuPath, la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR était de 17.30% [1-60%] et la moyenne d'évaluation du Ki67 anaysé par un seul et même anatomopathologiste est de 13.73% [2-30%].

Pour les cas **risque élevé** : le Ki67 moyen est de 22.58 [5.25-63.23%]. Pour les lames qui ont été scannées et étudiées avec le logiciel QuPath, la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR était de 23.74% [1-80%] et la moyenne d'évaluation du Ki67 anaysé par un seul et même anatomopathologiste est de 19.39% [3-60%].



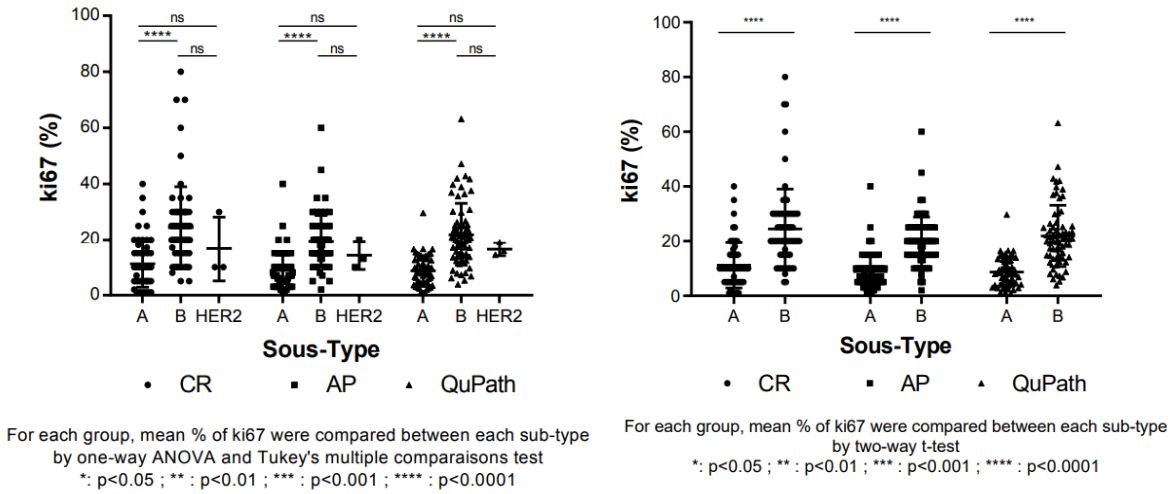
1 = niveau risque faible / 2 : niveau risque intermédiaire / 3 : niveau risque élevé

Graphe 6 : Corrélation du Ki67 en fonction du niveau de risque concernant les 129 cas

On observe une corrélation significative de l'augmentation du Ki67 en fonction du niveau de risque que ce soit avec le Ki67 renseigné dans le CR, le Ki67 obtenu par analyse centralisée ou le Ki67 obtenu par QuPath.

Plus le coefficient de corrélation de Pearson (Rp) est proche de 1, plus la corrélation est importante. Il semble donc que pour l'évaluation des niveaux de risque, la corrélation est légèrement meilleure avec l'évaluation du Ki67 par QuPath (Rp= 0,6049 versus 0,5229 pour l'évaluation centralisée et 0,4163 pour le Ki67 renseigné dans le CR).

- **<u>Sous type moléculaire</u>**



Graphe 7 : Ki67 moyen en fonction du sous type moléculaire concernant les 129 cas (graphe de gauche en prenant en compte tous les sous types

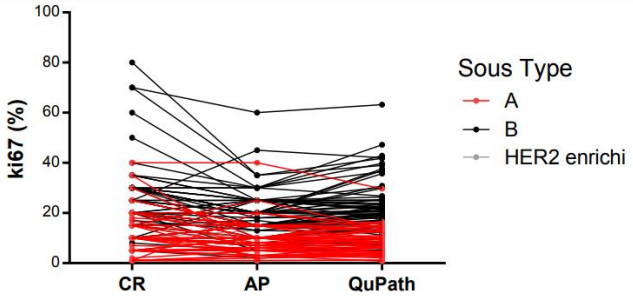
moléculaires, et graphe de droite en ne conservant que Luminal A et Luminal B)

Pour le **sous type moléculaire Luminal A**, la moyenne du Ki67 par le logiciel QuPath est de 8,72% [0,81-29,73], la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR est de 11,21% [1-40%] et le Ki67 moyen par analyse centralisée est de 8,91% [1-40%].

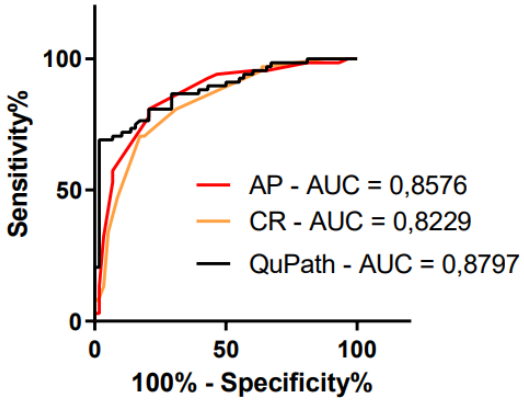
Pour le **sous type moléculaire Luminal B**, la moyenne du Ki67 par le logiciel QuPath est de 21,90% [3,89-63,23%], la moyenne du Ki67 renseigné dans le CR est de 24,49% [5-80%] et le Ki67 moyen par analyse centralisée est de 19,50% [2-60%].

Pour les sous-types moléculaires, les résultats sont à peu près équivalents entre les différentes techniques pour évaluer les sous types Luminal A et Luminal B mais le Ki67 évalué par QuPath semble présenter moins de variabilité que les autres techniques.

Il semble exister 2 sous-populations dans le sous type Luminal B avec l'évaluation du Ki67 par QuPath (>30%). Il pourrait être intéressant, de rechercher une différence d'évolution clinique entre ces 2 sous-groupes de patientes.

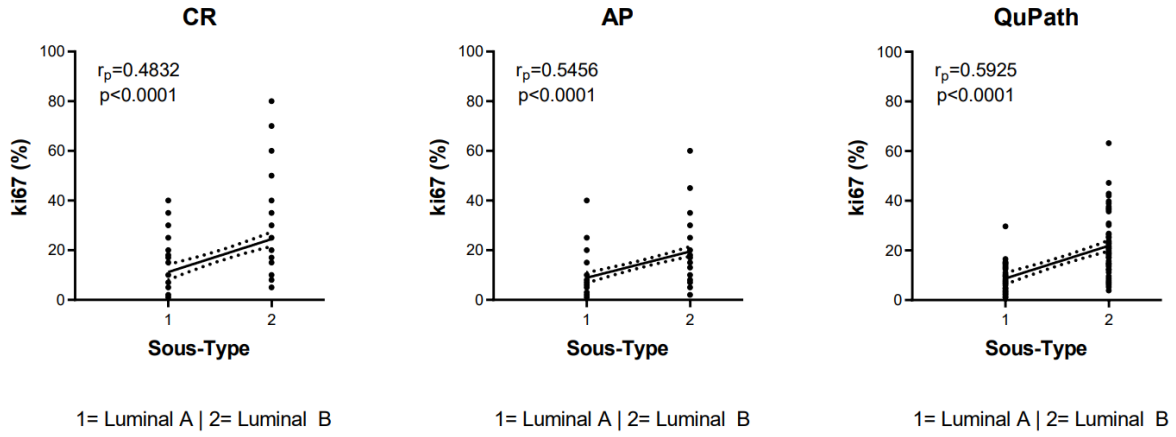


Graphe 8 : variation du Ki67 en fonction des différentes techniques d'évaluation et du sous type moléculaire concernant les 129 cas



Graphe 9 : courbes ROC : Ki67 en fonction des différentes techniques pour évaluer le sous type moléculaire

Si on compare les techniques en terme de sensibilité et spécificité (courbe ROC), la technique Qupath est légèrement plus efficace (AUC (Area under curve) permet de comparer les courbes, plus il est élevé, meilleur est le résultat). L'AUC obtenue avec la technique QuPAth est supérieure aux autres techniques (0,8797 versus 0,8576 pour l'analyse centralisée et 0,8229 pour le Ki67 du CR).



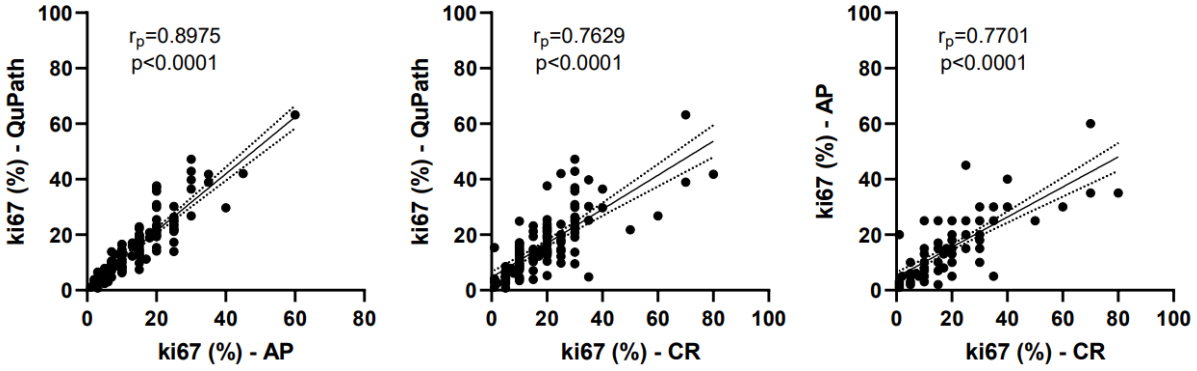
Graphe 10 : Corrélation du Ki67 en fonction du sous type moléculaire concernant les 129 cas

On observe une corrélation significative de l'augmentation du Ki67 en fonction du sous type moléculaire, plus élevé pour Luminal B que Luminal A, que ce soit avec le Ki67 renseigné dans le compte rendu, que le Ki67 obtenu par analyse centralisée ou le Ki67 obtenu par QuPath.

Plus le coefficient de corrélation de Pearson (Rp) est proche de 1, plus la corrélation est importante. Il semble donc que pour l'évaluation du sous type moléculaire, la corrélation est légèrement meilleure avec l'évaluation du Ki67 par QuPath (Rp= 0,5925 versus 0,5456 pour l'évaluation centralisée et 0,4832 pour le Ki67 renseigné dans le compte rendu).

On peut aussi mettre en évidence une meilleure évaluation du sous type moléculaire et du niveau de risque lorsque le Ki67 est analysé par une seule et même personne plutôt que par plusieurs pathologistes (réduction du biais inter-observateurs et inter-laboratoires). Les deux techniques étant moins efficaces que l'analyse par Qupath (qui réduit le biais d'analyse inter-observateurs, inter-laboratoires et intra observateur par une meilleure reproductibilité).

Ceci est souligné également par la corrélation des techniques entre elles qui révèle une meilleure concordance de l'analyse QuPath avec l'analyse du Ki67 centralisé plutôt que le Ki67 renseigné dans le CR.



Graphe 11 : Corrélation des techniques entre elles

➔ Nos analyses montrent, par les différences obtenues entre le Ki67 renseigné dans le CR d'anatomopathologie et le Ki67 obtenu par l'analyse centralisée (bien que les deux soient corrélés aux critères histo-moléculaires du cancer du sein), la problématique principale dans l'analyse du Ki67 est une hétérogénéïté inter-observateur majeure. Nous avons donc réalisé une analyse par intelligence artificielle qui permet de s'affranchir de ce biais par une analyse fiable, précise et reproductible.

Les Ki67 obtenus par intelligence artificielle présentent, par rapport aux Ki67 analysés par les pathologistes, moins de variabilité et de meilleures corrélations avec le niveau de risque et l'évaluation du sous type moléculaire renseignés par le test Prosigna®.

La technique d'analyse par intelligence artificielle semble la mieux adaptée et la mieux corrélée aux résultats du test Prosigna®. Afin de savoir si le Ki67 pourrait être utilisé pour se substituer au test, il serait indiqué de réaliser une étude prospective avec une cohorte plus importante, en scannant les lames d'IHC Ki67, afin de réaliser une analyse par le logiciel QuPath, et en utilisant des seuils de Ki67 pour l'indication de réalisation du test Prosigna®.

Nous avons par la suite cherché à déterminer pour les trois types d'analyse, des seuils pour évaluer le sous type moléculaire et le niveau de risque du test Prosigna :

3. Seuil du Ki67 pour déterminer le sous type moléculaire

Nous avons ensuite essayé de déterminer un seuil pour déterminer avec l'apport du Ki67 le sous type moléculaire du test Prosigna®. Le seuil du Ki67 a été réalisé à l'aide de courbes ROC, il correspond à la distance minimale du point de sensibilité et de spécificité maximales de cette courbe.

Tableau 9: Recherche d'un seuil du Ki67 pour déterminer le sous type moléculaire

			Sous-typage luminal du test								
Test	*Seuil*	*Cat*	*B*	*A*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*Kappa statistic [95%IC]*	*p-Kappa*	*Interprétation kappa*	*p-McNemar*
Ki67 dossier (%) sur la cohorte totale	≥ 20	B	105 (38.18%)	31 (11.27%)	71.64%	69.08%	74.80 %	0.433 [0.328;0.539]	<.0001	Accord modéré	0.0700
	< 20	A	47 (17.09%)	92 (33.45%)					.		
Ki67 anapath centralisé (%) pour les 129 patients	≥ 13	B	55 (43.65%)	12 (9.52%)	80.16%	80.88%	79.31 %	0.601 [0.461;0.741]	<.0001	Accord fort	0.8415
	< 13	A	13 (10.32%)	46 (36.51%)					.		
Ki67 Qupath (%) pour les 129 patients	≥ 13.56	B	55 (43.65%)	12 (9.52%)	80.16%	80.88%	79.31 %	0.601 [0.461;0.741]	<.0001	Accord fort	0.8415
	< 13.56	A	13 (10.32%)	46 (36.51%)					.		
Ki67 dossier (%) pour les 129 patients	≥ 20	B	48 (38.10%)	10 (7.94%)	76.19%	70.59%	82.76 %	0.527 [0.381;0.673]	<.0001	Accord modéré	0.0679
	< 20	A	20 (15.87%)	48 (38.10%)					.		

Courbes ROC en annexe 11

Pour la cohorte totale, nous avons déterminé pour les Ki67 fournis dans le compte rendu d'anatomopathologie un cut off à **20%** (sensibilité : 69.08%, spécificité : 74.80%).

Pour les 129 patientes, où le Ki67 a pu être obtenu par analyse du logiciel QuPath on observe un cut off pour déterminer le sous type moléculaire à **13,56%** (sensibilité : 80,88%, spécificité : 79,31%).

Pour le Ki67 renseigné dans le dossier, le cut off est toujours de **20%** et pour la analyse centralisée de **13%**.

Le p-Kappa montre qu'il y a significativement un accord fort entre le Ki67 renseigné par QuPath et le sous type Luminal. Cependant, le p-McNemar montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les proportions de mal classés selon le seuil avec une p-valeur à 0.8415 et ce quelle que soit la technique d'analyse du Ki67 utilisée.

4. Seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque

Nous avons ensuite essayé de déterminer un seuil pour déterminer à l'aide du Ki67 le niveau de risque du test Prosigna®. Le seuil du Ki67 a été réalisé à l'aide de courbes ROC. Il correspond à la distance minimale du point de sensibilité et de spécificité maximales de cette courbe.

Pour l'évaluation des niveaux de risque se pose le problème des cas intermédiaires, dont la prise en charge se fait au cas par cas. Nous avons donc choisi de réaliser une évaluation du seuil en ne prenant en compte que les risques élevés et les risques faibles et ensuite de répéter cette évaluation en répartissant les cas intermédiaires dans le risque faible et le risque élevé selon leur sous type moléculaire : tumeurs Luminal A au sein des risques faibles et tumeurs Luminal B au sein des risques élevés.

Tableau 10 : Recherche d'un seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque, en ne prenant en compte que les patientes à risque faible et élevé

			Niveau de risque							
Test	*Seuil*	*Cat.*	*Elevé*	*Faible*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*	*p-valeur (wilcoxon ou khi²)*
Ki67 dossier (%) sur la cohorte totale	>= 18	Eleve	83 (46.63%)	15 (8.43%)	0.0047	71.91%	70.34%	75.00%	0.727 [0.658;0.796]	<.001
	< 18	Faible	35 (19.66%)	45 (25.28%)						<.001
Ki67 anapath centralisé (%) pour les 129 patients	>= 13	Eleve	44 (51.76%)	3 (3.53%)	0.0124	81.18%	77.19%	89.29%	0.832 [0.752;0.913]	<.001
	< 13	Faible	13 (15.29%)	25 (29.41%)						<.0001
Ki67 Qupath	>= 11.22	Eleve	52 (61.18%)	2 (2.35%)	0.2568	91.76%	91.23%	92.86%	0.92 [0.859;0.982]	<.001

			Niveau de risque							
Test	*Seuil*	*Cat.*	*Elevé*	*Faible*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*	*p-valeur (wilcoxon ou khi²)*
(%) pour les 129 patients	< 11.22	Faible	5 (5.88%)	26 (30.59%)						<.0001
Ki67 dossier (%) pour les 129 patients	>= 15	Eleve	45 (52.94%)	5 (5.88%)	0.0896	80.00%	78.95%	82.14%	0.805 [0.716;0.895]	<.001
	< 15	Faible	12 (14.12%)	23 (27.06%)						<.0001

En ne prenant en compte que les risques faibles et élevé, pour la cohorte totale nous avons distingué sur les Ki67 fournis dans le compte rendu d'anatomopathologie un cut off à **18%** (avec une concordance à 71,91%, sensibilité : 71.91%, spécificité : 70.34%). Il existe une différence significative pour la catégorisation du niveau de risque avec le Ki67 renseigné dans le CR pour la cohorte totale avec le seuil de 18% (p=0,0047).

Pour les 129 patientes où le Ki67 a pu être obtenu par analyse du logiciel QuPath, on observe un cut off pour déterminer le niveau de risque entre niveau faible et élevé à **11,22%** (sensibilité : 91.76%, spécificité : 91.23%). C'est avec cette technique que l'on obtient la meilleure concordance pour la catégorisation (91,76%) cependant la différence de catégorisation du risque en fonction du Ki67 est non significative (p=0,2568).

Pour le Ki67 renseigné dans le dossier le cut off est de **15%** et de **13%** pour l'analyse centralisée.

Tableau 11 : Recherche d'un seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque, en ne prenant en compte tous les patientes

NB : Les patientes intermédiaires Luminal A sont considérés à risque faible et à risque élevé si Luminal B, Basal ou Her2 enrichi. En cas de risque élevé, le test prosigna oriente vers une chimiothérapie et pas de chimiothérapie en cas de risque faible.

			Indication de CT post test							
Test	*Seuil*	*Cat*	*Oui*	*Non*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
Ki67 dossier (%) sur la cohorte totale	>= 20	Oui	112 (39.72%)	28 (9.93%)	0.0012	69.50%	65.88%	75.00%	0.704 [0.651;0.758]	<.001
	< 20	Non	58 (20.57%)	84 (29.79%)						<.001

			Indication de CT post test							
Test	*Seuil*	*Cat*	*Oui*	*Non*	*p-McNemar*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*AUC [95%IC]*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
Ki67 anapath centralisé (%) pour les 129 patients	>= 13	Oui	59 (45.74%)	10 (7.75%)	0.0947	77.52%	75.64%	80.39%	0.78 [0.707;0.853]	<.001
	< 13	Non	19 (14.73%)	41 (31.78%)						<.001
Ki67 Qupath (%) pour les 129 patients	>= 13.56	Oui	63 (48.84%)	7 (5.43%)	0.0881	82.95%	80.77%	86.27%	0.835 [0.77;0.9]	<.001
	< 13.56	Non	15 (11.63%)	44 (34.11%)						<.001
Ki67 dossier (%) pour les 129 patients	>= 20	Oui	51 (39.53%)	8 (6.20%)	0.0013	72.87%	65.38%	84.31%	0.748 [0.675;0.822]	<.001
	< 20	Non	27 (20.93%)	43 (33.33%)						<.001

Courbes ROC en annexe 11

En prenant en compte tous les patientes et en subdivisant les cas intermédiaires en fonction du sous type moléculaire, pour la cohorte totale, nous avons déterminé sur les Ki67 fournis dans le compte rendu d'anatomopathologie un cut off à **20%** (sensibilité : 69.50%, spécificité : 75.00%). Il existe une différence significative pour la catégorisation du niveau de risque avec le Ki67 renseigné dans le CR pour la cohorte totale avec le seuil de 20% (p=0,0012).

Pour les 129 patientes où le Ki67 a pu être obtenu par analyse du logiciel QuPath, on observe un cut off pour déterminer le niveau de risque entre niveau faible et élevé à **13.56%** (sensibilité : 82.95%, spécificité : 80.77%). C'est avec cette technique que l'on obtient la meilleure concordance pour la catégorisation (82,95%) ; cependant, la différence de catégorisation du risque en fonction du Ki67 est non significative (p=0,0881).

Pour le Ki67 renseigné dans le dossier, le cut off est de **20%** et de **13%** pour l'analyse centralisée.

➔ **Nous avons vu précédemment que le logiciel d'intelligence artificielle permet de réduire la problématique principale de l'analyse du Ki67 qui est une hétérogénéité inter-observateurs majeure et permet d'obtenir des résultats mieux corrélés au test Prosigna®.**

Les seuils obtenus en intégrant tous les patientes sont superposables pour l'évaluation du sous type moléculaire et du niveau de risque, ce qui semble peu étonnant du fait que les risques faibles sont le plus souvent associés à un sous type Luminal A et les risques élevés à un sous type Luminal B.
Les seuils obtenus avec le Ki67 renseigné dans le CR sont de 20% ce qui correspond à ce qui est déjà utilisé en pratique clinique et ceux de manière significative. Cependant, les seuils différents obtenus avec l'analyse centralisée illustrent à nouveau l'hétérogénéité inter-observateurs et inter-laboratoires de l'analyse.
Bien que les tests ne révèlent pas de différences significatives, les sensibilités et spécificités pour déterminer le sous type moléculaire et le niveau de risque sont supérieurs avec le Ki67 obtenu par intelligence artificiel par rapport aux autres techniques d'analyse, et ceci, avec une meilleure concordance.
On obtient par intelligence artificielle, un seuil à 13,56 pour déterminer le sous type moléculaire et le niveau de risque.

Dans nos objectifs secondaires nous souhaitions évaluer la concordance de l'évaluation du sous type moléculaire par les méthodes histo-cliniques utilisées dans la pratique quotidienne avec le sous type moléculaire fourni par le test Prosigna®.

D. Evaluation de la concordance de la détermination du sous type moléculaire selon les critères clinico-pathologiques et du sous type moléculaire du test Prosigna®

- **Concernant la cohorte totale des 300 patients :**

Nous avons pour chaque patient évalué le sous type moléculaire selon les critères histologiques et immunohistochimiques reconnus dans la littérature en prenant en compte le Ki67 à 14% puis à 20% pour les 282 patients pour lesquels le Ki67 était renseigné et pour lequel le résultat du test était Luminal A ou Luminal B (dans 18 cas le Ki67 n'était pas renseigné, dans 7 cas le résultat du test était HER2 enrichi ou Basal et n'ont donc pas été pris en compte).
Nous avons choisi ces 2 seuils de Ki67 car ce sont les seuils évoqués lors des conférences de saint Gallen : le seuil de 14% se base sur les recommandations de St Gallen 2011 et le seuil de 20% adapté aux recommandations de Saint Gallen 2013.

Tableau 12 : Evaluation de la concordance du sous type moléculaire clinico pathologique et du sous type moléculaire du test selon un cut off à 14% ou cut off à 20% dans la cohorte des 300 patients

	Sous-typage luminal post test									
Test	*Cat*	*B*	*A*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*Kappa statistic [95%IC]*	*p-Kappa*	*Interprétation kappa*	*p-McNemar*
Sous type IHC avec cut-off Ki67 à 14%	B	124 (45.09%)	51 (18.55%)	71.27%	81.58%	58.54%	0.408 [0.301;0.516]	<.0001	Accord modéré	0.0097
	A	28 (10.18%)	72 (26.18%)					.		
Sous type IHC avec un cut-off du Ki67 à 20%	B	105 (38.18%)	31 (11.27%)	71.64%	69.08%	74.80%	0.433 [0.328;0.539]	<.0001	Accord modéré	0.0700
	A	47 (17.09%)	92 (33.45%)					.		

En utilisant le cut off du Ki67 à 14 % : la concordance entre le sous type IHC et le sous type PAM50 du test Prosigna® est de **71.27%** avec une sensibilité à 81,58% et une spécificité à 58,54%.

En utilisant le cut off du Ki67 à 20 % : la concordance entre le sous type IHC et le sous type PAM50 du test Prosigna® est de **71.64%** avec une sensibilité à 69.08% et une spécificité à 74.80%**.**

- **<u>Concernant la cohorte des 129 patientes analysées avec QuPath :</u>**

Nous avons classé les tumeurs en Luminal A et Luminal B selon les critères immunohistochimiques reconnus avec le Ki67 analysé par le logiciel QuPath chez ces 129 patientes, en utilisant dans un premier temps un cut off de 14% puis de 20% comme précédemment afin de voir si il existait une concordance avec le sous typage moléculaire donné par le test Prosigna®. Nous avons également évalué, chez ces mêmes patientes, la concordance avec le KI67 renseigné dans le CR d'anatomopathologie.

Dans 3 cas, le résultat du sous type moléculaire par le test Prosigna® était : HER enrichi et ils ont donc été retirés de l'analyse.

Tableau 13 : Evaluation de la concordance du sous type moléculaire clinico-pathologique (avec Ki67 QuPath versus Ki67 du CR d'anatomopathologie) et sous type du test Prosigna avec un cut off à 14% et un cut off à 20%

	Sous-typage luminal post test									
Test	*Cat*	*B*	*A*	*Concordance*	*Sensibilité*	*Spécificité*	*Kappa statistic [95%IC]*	*p-Kappa*	*Interprétation kappa*	*p-McNemar*
Sous type IHC avec cut-off Ki à 14% (Qupath)	B	52 (41.27 %)	10 (7.94%)	79.37%	76.47%	82.76%	0.588 [0.447;0.728]	<.0001	Accord modéré	0.2393
	A	16 (12.70 %)	48 (38.10 %)					.		
Sous type IHC avec cut-off Ki à 20% (Qupath)	B	36 (28.57 %)	1 (0.79%)	73.81%	52.94%	98.28%	0.493 [0.362;0.624]	<.0001	Accord modéré	<.0001
	A	32 (25.40 %)	57 (45.24 %)					.		
Sous type IHC avec cut-off Ki à 14% (AP)	B	53 (42.06 %)	12 (9.52%)	78.57%	77.94%	79.31%	0.57 [0.427;0.714]	<.0001	Accord modéré	0.5637
	A	15 (11.90 %)	46 (36.51 %)					.		
Sous type IHC avec cut-off Ki à 20% (AP)	B	36 (28.57 %)	4 (3.17%)	71.43%	52.94%	93.10%	0.445 [0.306;0.583]	<.0001	Accord modéré	<.0001
	A	32 (25.40 %)	54 (42.86 %)					.		
Sous type IHC avec cut-off Ki à 14% (CR)	B	55 (43.65 %)	18 (14.29 %)	75.40%	80.88%	68.97%	0.502 [0.35;0.653]	<.0001	Accord modéré	0.3692
	A	13 (10.32 %)	40 (31.75 %)					.		
Sous type IHC avec cut-off Ki à 20% (CR)	B	48 (38.10 %)	10 (7.94%)	76.19%	70.59%	82.76%	0.527 [0.381;0.673]	<.0001	Accord modéré	0.0679
	A	20 (15.87 %)	48 (38.10 %)					.		

AP : analyse anatomopathologiste centralisée / CR : Ki67 renseigné dans le compte rendu

Courbes ROC en annexe 10

En utilisant le cut off du Ki67 à 14 %, la concordance entre le sous type selon le Ki67 QuPath et le sous type du test Prosigna® est de **79.37%** (sensibilité : 76,47%, spécificité : 82,76%, p<0.0001) et avec le cut off de 20 % : **73.81%** (sensibilité : 52,94%, spécificité : 98,28%).
En utilisant le cut off du ki à 14 %, la concordance entre le sous type selon le Ki67 de l'anatomopathologiste et le sous type du test Prosigna® est de **75.40%** (sensibilité : 77,94%, spécificité : 79,31%, p<0.0001) et avec le cut off de 20 % de **76.19%** (sensibilité : 52,94%, spécificité : 93,10%).

➔ **La meilleure concordance entre le sous type moléculaire, évalué selon les critères clinico-pathologiques et le sous type moléculaire renseigné par le test Prosigna ® est observée avec une analyse du Ki67 par le logiciel QuPath et en considérant un cut off à 14% avec de bonnes sensibilité et spécificité. Cependant, seule l'analyse de concordance avec le seuil de 20% du Ki67 analysé par QuPath présente des résultats significatifs avec un p<0,001 ; les autres p étant supérieurs à 0,05.**
Il existe tout de même une discordance d'au moins 20% à chaque fois pour l'évaluation du sous type moléculaire par les critères histologiques et immunohistochimiques, qui apporte du poids quant à l'utilisation du test.

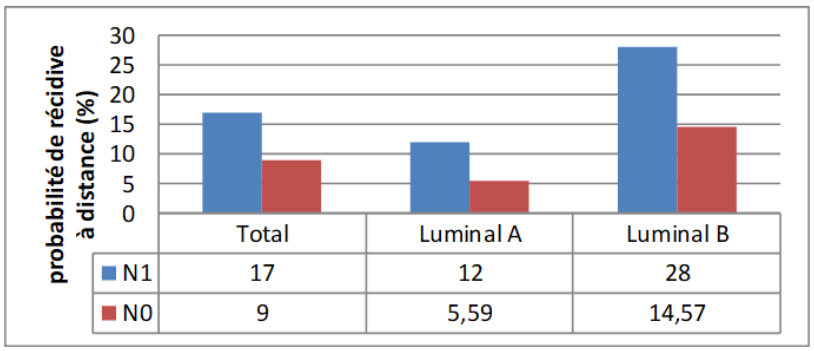
Pour les patientes présentant au niveau ganglionnaire une atteinte correspondant à une micrométastase (>200cellules ou >0,2mm et ≤2mm), le poids accordé au statut ganglionnaire par le test est similaire aux patientes présentant un statut pN1 (> 2 mm, 1-3 ganglions lymphatiques positifs). Cependant à ce jour, dans la prise en charge thérapeutique, les micrométastases ne sont pas prises en charge comme des patientes N+. C'est pour cela que nous avons investigué cette question à travers notre série en « modifiant » artificiellement le poids accordé au statut mi, en le considérant alternativement comme N0 ou N1 dans l'algorithme

E. <u>Résultats : sous population micrométastase ganglionnaire</u>

Dans le but d'évaluer le poids accordé par le test au statut ganglionnaire, nous nous sommes intéressés au sous-groupe pN1mi (>200cellules ou >0,2mm et ≤2mm) et avons déterminé leurs caractéristiques clinico-pathologiques, les résultats des tests Prosigna® et la probabilité de récidive à distance (PDR). En utilisant la formule de

définition de l'algorithme Prosigna®, nous avons calculé un score hypothétique pour les tumeurs pN1mi en les reconsidérant comme pN0 et ainsi stratifiés à nouveau les catégories de risque pour les tumeurs pN1mi.

Au total sur les 300 patients, 42 présentaient une ou plusieurs micrométastases ganglionnaires.



Graphe 12 : Variation de la probabilité de récidive à distance des cas N1mi en fonction de la catégorisation en N0 ou N1

- Concernant les cas présentant une micrométastase et classés en Luminal A :

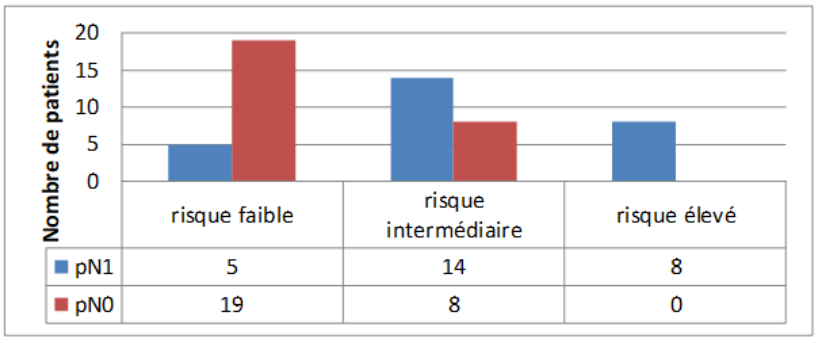
La PDR passe de 12% à 5,58% en moyenne en fonction du statut N1 à N0.

8/27 (29%) étaient classées en haut risque initialement et 0/27 (0%) le sont après reconsidération du statut en N0,

14/27 (52%) versus 8/27 (29%) pour le groupe intermédiaire, (sachant que les 14 cas qui étaient à risque intermédiaire initialement sont reclassés en risque faible, et les 8 nouveaux cas intermédiaires après reclassement étaient des cas à haut risque avant).

5/27 (18%) versus 19/27 (70%) pour le groupe risque faible.

Au total : 22/27 (81%) patientes changent de groupe de risque.



Graphe 13 : Cas Luminal A : Niveau de risque en fonction du poids attribué au statut pN1mi : N1 ou N0

- Concernant les cas présentant une micrométastase et classés en Luminal B :

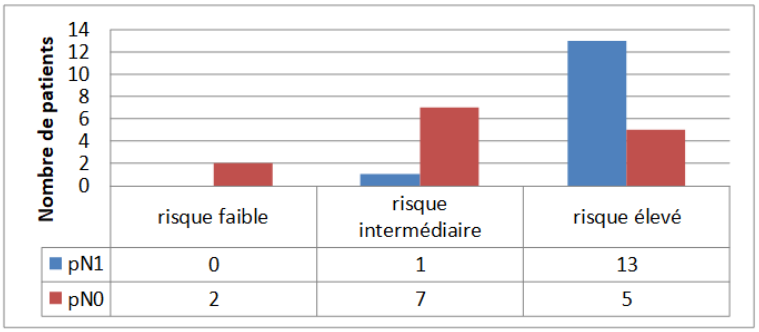
La PDR passe de 28 % à 14.57 % en moyenne en fonction du statut N1 à N0.

13/14 (97%) étaient classées en haut risque initialement et 5/14 (45%) le sont après reconsidération du statut en N0,

1/14 (7%) versus 7/14(50%) pour le groupe intermédiaire

0 / 14 (0%) versus 2/14 (14%) pour le groupe risque faible (1 cas qui était précédemment à risque intermédiaire et 1 à haut risque).

Au total : 9/14 (64%) patientes changent de groupe de risque.



Graphe 14 : Cas Luminal B : Niveau de risque en fonction du poids attribué au statut pN1mi : N1 ou N0

➔ **Les résultats obtenus, malgré un rendement plus faible sont superposables au travail que nous avons réalisé intitulé, Poster : *Prosigna prognostic signature in pN1mi, estrogen receptor-positive breast cancer : the pN categorization impacts the BC risk stratification. Et présenté* les 5, 6 et 7 décembre 2018, au San Antonio Breast Cancer Symposium (Charafe, Boucraut et al. 2019). Pour ce travail, nous avions ajouté les données des patientes micrométastatiques ganglionnaires des hôpitaux de Clermont Ferrand, Toulouse et Rouen.**

Nos travaux ont montré que la catégorisation dans les groupes à risque est susceptible d'être affectée par le poids attribué au statut ganglionnaire, avec une grande modification de la catégorisation des risques prédominant pour les tumeurs Luminal A avec une diminution de la catégorie de risque dans 86% des cas et conservation du même niveau de risque dans seulement 14%.

Un suivi clinique au long cours de ces patientes permettrait de savoir quel poids réel doit être attribué aux micrométastases.

F. Résultats : sous population macrométastase ganglionnaire

Ces dernières années, bien que les traitements adjuvants aient largement démontré leur efficacité sur la réduction du risque de rechute et du taux de mortalité, il a été mis en évidence que pour certains groupes de patientes que la chimiothérapie n'apportait pas de réels bénéfices par rapport à l'évolution naturelle du cancer également chez des patientes avec atteinte ganglionnaire (N1). Dans cette sous-catégorie certaines données suggèrent qu'en cas de tumeur HER2 négative exprimant fortement les récepteurs aux œstrogènes, la chimiothérapie n'apporterait pas toujours de bénéfice. Nous avons analysé dans cette sous-catégorie l'impact du test Prosigna® sur les indications de chimiothérapie.

Tableau 14: Tableau de comparaison population N0 et N1

		N0 (N0 et N0i+)	**N1 (N1mi et N1)**
Nombre de patients		235	65
Ki67 moyen		20.91%	14.42%
SBR	**1**	14 (6%)	14 (21%)
	2	165 (70%)	46 (71%)
	3	49 (21%)	2 (3%)
Sous type moléculaire	**Luminal A**	93 (39%)	43 (66%)
	Luminal B	136 (58%)	21 (32%)
Niveau de risque	**Bas**	61 (26%)	7 (11%)
	Intermédiaire	85 (36%)	25 (38%)
	élevé	89 (38%)	33 (51%)

Dans la sous-population des N1 uniquement (sans les N1mi), nous avons 22 cas, tous présentant une indication théorique de chimiothérapie en pré-test du fait de cette atteinte ganglionnaire.
En post-test l'indication de chimiothérapie était confirmée pour 11 patientes (soit 50%), tous ayant un résultat de risque élevé ; 7 étaient de sous type Luminal B et 4 Luminal A, avec un Ki67 moyen à 19%.

En post test, dans 50% des cas, il existait une indication de rétrograder sur l'indication de chimiothérapie, tous étaient de sous type Luminal A. 2 ont eu un résultat de risque faible et 9 un résultat de risque intermédiaire. Le Ki67 moyen dans cette sous population était de 9.78%.

➔ **Pour les cas avec atteinte ganglionnaire pN1, nos observations montrent un intérêt à réaliser le test chez ces patientes sans autre critère de pronostic péjoratif (RH+, HER2-, Ki67 faible et taille tumorale limitée) car dans 50% des cas la chimiothérapie a pu être évitée en accord avec le résultat du test.**
De plus, on observe que dans cette sous-catégorie pN1 qui n'a pas un intérêt selon le test à recevoir une chimiothérapie, le Ki67 est faible (9.78% versus 19% pour le Ki67 renseigné dans le compte rendu). Seulement 8 des patientes de cette sous-catégorie ont bénéficié d'une analyse par intelligence artificielle du Ki67, et les résultats sont dans le même sens (Ki67 moyen à 3.76% pour les patientes pN1 sans indication pour le test à recevoir une chimiothérapie et 14.46% pour celles qui sont associées à un risque élevé). Le Ki67 pourrait être alors un argument pré-test pouvant orienter l'indication d'une chimiothérapie.

IV. DISCUSSION

Le cancer du sein est une maladie très hétérogène constituée de plusieurs sous-types dont le profil biologique, le pronostic et la réponse aux traitements diffèrent fortement.

Bien que les traitements adjuvants aient largement démontré leur efficacité sur la réduction du risque de rechute et du taux de mortalité, il a été mis en évidence que pour certains groupes de patientes que la chimiothérapie n'apportait pas de réel bénéfice par rapport à l'évolution naturelle du cancer. Chez les patientes avec atteinte ganglionnaire (N1) ou non (N0), certaines données suggèrent qu'en cas de tumeur HER2 négative exprimant fortement les récepteurs aux œstrogènes, la chimiothérapie n'apporterait pas toujours de bénéfice.

Afin d'appliquer le traitement le mieux adapté à chaque patiente, en fonction du type et de la gravité de sa maladie, il est nécessaire d'aborder le cancer du sein dans sa complexité.

Des patientes aux mêmes caractéristiques cliniques et pathologiques peuvent avoir des évolutions cliniques très différentes et cela ne peut être prédit par les modèles actuellement disponibles qui utilisent un nombre trop limité de paramètres. 30% des patientes de bon pronostic vont rechuter. En terme prédictif, nous identifions les populations de patientes éligibles pour des traitements ciblés (hormonothérapie, traitement anti-HER2) mais nous ne sommes pas capables encore d'identifier celles qui vont bien répondre. Il est ainsi indispensable de progresser vers l'individualisation du pronostic et du traitement en améliorant les outils d'analyse.

La cancérologie en général, et plus particulièrement dans le dommaine du cancer du sein, connait depuis quelques années une révolution avec l'avènement des signatures moléculaires qui ont amélioré la compréhension de la maladie en prenant en compte son hétérogénéité moléculaire de façon plus fine.

Les tests d'expression génique du cancer du sein ont fait l'objet de nombreuses études démontrant leur capacité à stratifier les cancers du sein en fonction du risque de récidive à distance (Paik et al. 2004, Parker et al. 2008, Nielsen et al. 2010, Cronin et al.2006, Nuyten et al. 2008). Ces signatures viennent en complément des outils clinicopathologiques classiques couramment utilisés en routine.

Aujourd'hui, la signature moléculaire à 50 gènes PAM50 commercialisé par NanoString® qui a fait ses preuves dans de nombreuses études, est utilisée en aide à la prise en charge des patients à l'IPC pour lesquels il existe un doute sur l'intérêt d'une chimiothérapie.
Notre travail a consisté en une étude rétrospective sur 300 patients qui ont bénéficié de la signature génomique Prosigna® à l'IPC afin d'étudier l'impact que ce test a eu dans la prise de décision de traitement adjuvant chez ces patients N0 ou N1, RH+ HER2-. Cette étude nous a permis également d'étudier cette population et de se concentrer sur l'intérêt d'un marqueur pronostique très controversé dans la pratique actuelle, le Ki67, du fait de ses nombreuses limites et notamment son manque de reproductibilité.

Nous rapportons dans ce travail notre expérience institutionnelle sur ces patients se trouvant selon des critères classiques dans une zone intermédiaire au regard du pronostic et de la décision de traitement adjuvant. Nous avons confronté les résultats du test Prosigna® avec la décision thérapeutique prise selon des critères plus classiques de notre institution et selon le logiciel Oncopratik. La décision de traiter a été prise selon la catégorisation du risque en Prosigna®. Il a été admis que les patients dont le risque Prosigna® est élevé devraient recevoir une CTA contrairement à ceux qui ont un risque faible. Les patients dont le risque est intermédiaire bénéficient d'une décision au cas par cas ; nous avons considéré dans cette catégorie l'indication de chimiothérapie selon le sous type moléculaire car il est admis que, contrairement au sous type Luminal B, le sous type Luminal A est de meilleur pronostic et l'intérêt à recevoir une chimiothérapie est moindre.
Au début de l'utilisation du test au sein de l'IPC, les critères d'indication du test était mal codifiés, ce qui a été corrigé au fur et à mesure de l'utilisation dans la pratique de tous les jours. Ceci peut être donc représenter un biais pour l'analyse de nos résultats. De plus, les indications de chimiothérapie pré-test ont été uniformisées selon les critères reconnus et appliqués à l'IPC et que l'on retrouve dans l'application ONCOpratik. Ces critères sont adaptés en fonction des critères nationaux et de l'expérience de l'IPC et ne sont pas forcément les mêmes dans tous les centres.
Les résultats de notre cohorte révèlent un changement thérapeutique théorique au total chez 95 patients sur 286, soit pour 33% des cas. Avec une tendance

significative (sensibilité de 80,12% et une spécificité de 46,96% et p : 0,0056) à rétrograder dans 21,33% des cas (61/286), majoritaire sur la tendance à upgrader dans 11,89% (34/286) par rapport aux critères classiques de traitement. La tendance à rétrograder est d'autant plus importante que l'on considère les patients avec des micrométastases comme des patients N0 plutôt que N1.
Nos résultats sont concordants avec d'autres études, notamment une étude réalisée par l'équipe de l'Oncopole de Toulouse présenté lors des 38ème journées de la SFSPM intitulé : « **Impact de la signature génomique Prosigna/PAM50 sur la décision thérapeutique : expérience de l'IUCT-O** » (V Nicolaï, F Penault Llorca et al.). Ils observaient un changement de décision thérapeutique dans 30.9% des cas, mais, contrairement à nos résultats, ils observaient plutôt une tendance à upgrader le traitement plutôt que le rétrograder.
L'étude française OPTIGEN mené par le Pr Roman Rouzier, qui n'a finalement pas vu le jour, a tout de même fait l'objet d'analyses de la cohorte et ils observaient un changement thérapeutique dans 17% des cas.

A contrario, bien que largement utilisé en contexte français, le Ki67 est encore d'interprétation empirique en l'absence de seuils consensuels pour les experts. Ce test n'est pas retenu à l'heure actuelle comme étant un critère de décision pour une chimiothérapie nationale.
Le Ki67 est un marqueur pronostique certain mais, cependant, son utilité clinique et sa fiabilité sont contestées du fait d'une faible reproductibilité intra- et inter-observateurs et inter-laboratoires, comme nous avons pu également l'observer dans nos travaux montrant des disparités du Ki67 entre les différentes méthodes d'analyse (renseigné par l'anatomopathologie dans le compte rendu initial, ou l'analyse centralisée, ou par l'analyse réalisée par intelligence artificielle).
Pour pallier à ce biais analytique, ces dernières années, le développement de logiciels d'analyse d'image permettant d'obtenir des taux plus précis et reproductible pourrait prochainement modifier son utilisation dans la pratique. Nous avons donc utilisé un logiciel d'analyse d'image qui a fait ses preuves dans de nombreuses publications, le logiciel QuPath (Loughrey et al. 2018, Bankhead et al. 2017, Berben et al. 2020). Nous avons scanné et analysé 129 lames de Ki67 réalisés sur les tumeurs du sein ayant bénéficié de test Prosigna® et disponible sur site à l'IPC.

Nos analyses confirment par les différences obtenues entre le Ki67 renseigné dans le CR d'anatomopathologie et le Ki67 obtenu par analyse centralisée, bien que tous les deux sont reliés aux critères histo-moléculaires du cancer du sein, une hétérogénéité inter-observateurs majeure. Pour cela, nous avons réalisé une analyse par intelligence artificielle qui permet de s'affranchir de ce biais, du fait d'une analyse fiable, précise et reproductible.
Les Ki67, obtenus par intelligence artificielle, présentent, par rapport aux Ki67 analysés par les pathologistes, moins de variabilité et des corrélations avec le niveau de risque et l'évaluation du sous type moléculaire renseignés par le test Prosigna® supérieures aux autres techniques.
La technique d'analyse par intelligence artificielle semble la mieux adaptée et la mieux corrélée aux résultats du test Prosigna®. Afin de savoir si le Ki67 pourrait être utilisé pour se substituer au test, il serait indiqué de réaliser une étude prospective avec une cohorte plus importante, en scannant les lames d'IHC Ki67, afin de réaliser une analyse par le logiciel QuPath, et en utilisant des seuils de Ki67 pour l'indication de réalisation du test Prosigna®.

Bien que les tests ne révèlent pas de résultats significatifs, les sensibilité et spécificité pour déterminer un seuil du Ki67 pour le sous type moléculaire et le niveau de risque sont supérieurs avec le Ki67 obtenu par intelligence artificiel par rapport aux autres techniques d'analyse et avec une meilleure concordance.
On détermine par intelligence artificiel un seuil à 13,56% pour définir le sous type moléculaire et le niveau de risque.
Nos résultats sont concordants avec ce qui a été décrit dans la littérature. En effet, il a été montré que le taux de Ki67 était corrélé avec la signature PAM50 et le sous-type moléculaire Luminal A (Ki67 bas) ou B (Ki67 élevé) avec un seuil discriminant de 13,25 % (Cheang et al. 2009). Le résultat est proche des seuils reconnus dans la littérature à 14% (conférence Saint Gallen 2011).
Nous avons également essayé de déterminer un seuil du Ki67 qui permettrait d'anticiper le niveau de risque. Afin de déterminer un seuil, nous avons choisi de réaliser le test en ne prenant en compte que les risques élevé et faible et également de répéter le test en choisissant de placer les sous types Luminal A à risque intermédiaire dans les faibles risques, et les sous type Luminal B à risque

intermédiaire au sein de la catégorie à haut risque. Les résultats de seuil superposables pour le niveau de risque et le sous type moléculaire semblent peu étonnants compte tenu du fait, qu'en répartissant les grades intermédiaires selon leur sous type moléculaire, les résultats se superposent.
Avec le logiciel QuPath, en prenant en compte uniquement les risques faibles et les risques élevés, le seuil est de 11,22% (sensibilité : 91.23, spécificité : 92.86 p = 0. 2568) et, si l'on ajoute les risques intermédiaires, le seuil est fixé à 13,56% (sensibilité : 80.77 spécificité : 86.27 p : <0.0881).
Certaines études qui utilisaient également des plateformes de logiciel d'analyse d'image ont trouvé une valeur seuil de pronostic similaire de 11,5% (Arihiroe et al. 2016) et 12% (Abubakar etal. 2016), cette dernière valeur étant obtenue dans une grande étude multicentrique impliquant plus de 8000 patientes atteintes d'un cancer du sein.

Cependant, on peut souligner l'existence d'un biais. En effet ; le Ki67 n'était pas toujours réalisé sur la lame qui avait été sélectionnée pour le test Prosigna®, or nous savons qu'il existe, au sein d'une tumeur, une hétérogénéité de l'expression du Ki67. Cela concerne 35 cas sur 129. Ce biais n'a pas pu être corrigé à posteriori car, le tissu tumoral ayant été prélevé pour l'analyse, il ne restait plus de matériel suffisant pour répéter l'immunohistochimie sur le bloc utilisé.
Concernant les Ki67 renseignés dans le compte rendu, le seuil pour déterminer le sous type Luminal A et Luminal B et le seuil pour déterminer le niveau de risque en prenant en compte tous les patients sont de 20%, ce qui est concordant avec ce qui est pratiqué à l'IPC actuellement.

Nous avons évalué la concordance du sous typage moléculaire fait à partir des critères clinico-pathologiques reconnus avec le sous typage moléculaire fourni par le résultat du test Prosigna®. La concordance avec les Ki67 renseignés dans le compte rendu sur la cohorte totale était d'environ 71%. Il existe une discordance non négligeable qui concerne 29% des patients où le sous type moléculaire réalisé à l'aide des critères histo-cliniques ne correspond pas au sous type moléculaire obtenu par le test. Cette discordance apparait réduite par l'utilisation du logiciel d'analyse d'image (QuPath) pour le Ki67 avec, dans cette sous-population de 129 patientes

une discordance de 21 % pour l'intelligence artificielle versus 25% pour le Ki67 renseigné dans le compte rendu.
Le test Prosigna® en étant la seule signature à fournir le sous type moléculaire est une réelle valeur ajoutée dans la prise de décision de chimiothérapie.

Notre discordance observée est similaire à ce qu'on peut observer dans la littérature et notamment dans la cohorte analysée du projet d'étude Optigen de R. Rouzier observant un taux de discordance de 25%.
Nos résultats révèlent que les Ki67 analysés par le logiciel Qupath semblent mieux prédire le sous-typage et le niveau de risque que les autres mesures, même si l'évaluation des seuils prédictifs ne présentait pas de résultats significatifs.

Pour les patientes avec atteinte ganglionnaire, le poids attribué par le test Prosigna ® à l'état du ganglion est similaire qu'il soit pN1mi ([0,2-2mm]) ou pN1 (> 2mm, 1-3 ganglions lymphatiques positifs) contrairement à ce qui est considéré dans la pratique.
Nos travaux montrent que la catégorisation dans les groupes à risque est susceptible d'être affectée par le poids attribué au statut ganglionnaire avec une grande modification de la catégorisation des risques dans les tumeurs de sous type Luminal A (81%).
La gestion clinique pourrait être affectée. Des études supplémentaires sont nécessaires pour déterminer la catégorisation des risques et la prise en charge ultérieure la plus appropriée pour les patientes atteintes d'un cancer du sein RH+/ HER2- avec micrométastase ganglionnaire.

Pour les patientes avec atteinte ganglionnaire pN1, nos observations montrent un intérêt à réaliser le test chez ces patientes sans autre critères de pronostic péjoratif (RH+, HER2-, Ki67 faible et taille tumorale limitée) car, dans 50% des cas, la chimiothérapie a pu être évitée en accord avec le résultat du test.
De plus, on observe que dans cette sous-catégorie de pN1 qui n'a pas un intérêt selon le test à recevoir une chimiothérapie, le Ki67 est faible (9.78% versus 19% pour le Ki67 renseigné dans le compte rendu). Seulement, 8 des patientes de cette sous-catégorie ont bénéficié d'une analyse par intelligence artificielle du Ki67, avec des résultats allant dans le même sens (Ki67moyen à 3.76%pour les patientes pN1

sans indication pour le test à recevoir une chimiothérapie, et 14.46% pour celles qui sont associées à un risque élevé). Le Ki67 pourrait être alors un argument pré-test pouvant orienter l'indication d'une chimiothérapie.

Cinq cas (2%) se sont révélés être de sous type « Her2 enrichi » au test, bien que RH+ et HER2- en immunohistochimie. Nous avons, dans ces cas, réalisé des relectures de l'immunohistochimie, répété la technique d'HIS qui confirmaient à nouveau l'absence d'amplification. Dans 2 cas, nous avons réalisées une technique FISH confirmant l'absence d'amplification de HER2.
Dans la pratique, 50% des tumeurs surexprimant Her2 expriment les récepteurs hormonaux. Approximativement, 30% des tumeurs de sou stype Luminal B sont HER2+ (Cheang et al. 2009).
Par ailleurs, dans l'étude de Ronde et al. 2009, les tumeurs HER2+ en immunohistochimie sont de sous type moléculaire HER2 enrichi dans seulement 17/43 cas (40%) et sont d'un autre sous type (Basal like, Luminal A, Luminal B, Normal like) dans 26/43 cas (60%).
Dans la littérature, on ne retrouve aucune étude qui s'est intéressée à ces tumeurs de sous type HER2 enrichi ne surexprimant pas HER2, il est indiqué de mieux analyser ces tumeurs, de reprendre l'analyse du génome, afin de comprendre pourquoi ce sous type a été retrouvé dans 2% des cas malgré un statut RH+/HER2-. Une hypothèse serait qu'une mutation prédominante de certains gènes proches des tumeurs HER2 enrichi (portant sur les exons du chromosome 17) surexprimant HER2, l'ait emporté dans l'analyse faisant basculer le résultat du sous type moléculaire en HER2 enrichi.

Les profils génomiques PAM50, basés sur des signatures multigéniques révèlent donc des informations complémentaires aux critères phénotypiques classiques qui peuvent disséquer la complexité biologique du cancer du sein. Cependant, l'œil et le savoir-faire du pathologiste restent indispensables à une prise en charge optimale des patients atteints d'un cancer du sein.
Le test Prosigna® a démontré **une reproductibilité et une précision excellentes**, lors d'études dont les résultats sont décrits en détails dans la publication de validation analytique apportant ainsi les preuves d'un test fiable, robuste,

reproductible et précis. Ces résultats ont conduit la FDA à agréer Prosigna® comme test diagnostic décentralisé pouvant être réalisé localement en France dans un laboratoire d'anatomopathologie habilité permettant aussi d'accélérer la disponibilité du résultat (Nielsen T et al. 2014).
Le modèle décentralisé permet l'obtention des résultats rapides et donne la maîtrise totale du processus aux anatomopathologistes et aux équipes des laboratoires en France. Ceci permet d'éviter l'expédition des prélèvements, de réduire les délais d'exécution et les coûts tout en augmentant la validité analytique car la technique est réalisée par le même personnel et avec le même matériel.
La capacité du médecin de laboratoire à interagir directement avec le médecin demandeur facilite grandement les soins médicaux. Prosigna® est aussi le test de signature génomique du cancer du sein validé disposant de nombreuses données pour la récidive tardive dans une période 5 à 10 ans après le diagnostic.

Notre expérience de la mise en œuvre de la plate-forme dans notre établissement ainsi que la formation du flux de travail du test (y compris la macrodissection des tissus, l'isolement de l'ARN et la configuration du test Prosigna®) a été simple. Bien que des incubations pendant la nuit soient nécessaires pendant l'extraction de l'ARN et l'hybridation ARN - sonde, la température d'incubation est constante et les exigences de temps pour toute l'expérience sont très limitées.
Cette technique présente **cependant plusieurs limites rapportées dans la littérature** :
- des limites techniques, liées à une qualité sub-optimale des ARNs extraits. Dans l'étude rétrospective de Cheang (Cheang et al. 2012), la technique n'a pas été faisable sur 33% des échantillons.
- La contamination des échantillons par du tissu non tumoral (30 à 50% des échantillons) peut aussi fausser la classification (Elloumi et al. 2011).
- l'analyse du sous type en PAM50 : l'équipe de Haibe-Kains (Haibe-Kains et al. 2012), a testé la « force de prédiction statistique » de 3 modèles de prédiction, dont la PAM50 sur des sets publiés rassemblant les données de 5715 patientes. Ils ont montré que la force de prédiction de la PAM50 était faible et que la corrélation avec les autres modèles était moyenne.

Sur site à l'IPC, nous n'avons pas rencontré de problème particulier. Nous avons toujours eu assez de matériel pour pouvoir réaliser la technique, sauf pour un cas où on a voulu tenter sur un prélèvement dont la surface était en dessous de la surface minimale recommandée.
La contamination par du tissu non tumoral est difficile à évaluer. La technique a toujours été réalisée sur la zone cerclée par l'anatomopathologiste. La cellularité tumoral été toujours au moins de 70% de cellules tumorales dans les zones micro-disséquées.
Malgré ses limites, la PAM50 est devenue la technique de référence pour le classement intrinsèque des tumeurs du sein.

Récemment, l'HAS ne s'est pas positionnée pour un remboursement par la sécurité sociale des tests de SG. Néanmoins, ils sont accessibles, soit à travers des essais cliniques, soit grâce à des mesures locales.
Pour le comité il existait trop peu de validation clinique des tests et trop de discordances des tests entre eux.
L'existence d'incertitude résiduelle sur le bénéfice de la CTA pour certains profils de cancer du sein et la préférence des professionnels de santé pour des référentiels de prescription régionaux plus ou moins divergents entre eux font qu'il existe des situations susceptibles d'entrainer de l'hétérogénéité dans les décisions de CTA dans le contexte français. Le recours à une signature génomique permettrait d'optimiser cette décision en ne retenant cette option de traitement que chez les patientes dont le bénéfice serait suffisant (score génomique au-dessus du seuil de décision) et en l'omettant chez celles qui en subiraient principalement les effets délétères (score génomique au-dessous du seuil de décision).
Cette population préalablement ciblée pour l'évaluation :
- doit avoir une tumeur de phénotype RO+/HER2- de stade pT1c-pT2 (taille tumorale entre 1 et 5 cm),
- opérable d'emblée sans envahissement ganglionnaire (pN0) ou avec un envahissement limité (pN1mi/mic-pN1a)
- devrait être susceptible de recevoir une chimiothérapie.
L'ensemble des grandes recommandations internationales préconise actuellement l'option d'utiliser d'une SG pour optimiser la décision de chimiothérapie. Concernant

les critères d'éligibilité de la population ciblée, leur unique point de convergence est le statut immunohistochimique RO+/HER2- de la tumeur.

Ce travail ouvre des perspectives multiples, il serait intéressant :

- De suivre cette cohorte afin de corréler les résultats avec l'évolution clinique des patients au long terme.
- De réaliser une étude prospective avec une cohorte plus importante, en scannant les lames d'IHC Ki67, afin de réaliser une analyse par le logiciel QuPath, et en utilisant des seuils de Ki67 pour l'indication de réalisation du test Prosigna®.
- De compléter notre analyse avec les cas depuis octobre 2019 afin d'augmenter la cohorte des 129 lames analysées par logiciel Qupath, afin d'obtenir des résultats plus fiables et plus significatifs.
- Il serait également intéressant d'étudier de façon statistique dans notre cohorte un autre marqueur pronostique : les emboles vasculaires.
- D'analyser dans une cohorte plus grande le poids attribué par le test Prosigna® au statut ganglionnaire dans la sous population des pN1mi.
- Une étude en cours qui a fait l'objet d'une analyse intermédiaire avec la SG Oncotype Dx® présentée au San AntonioBreast Cancer Symposium par Kalinsky et al. en décembre 2020, pour les patientes présentant un cancer du sein RH+ avec atteinte ganglionnaire (1 à 3 ganglions) a montré un intérêt à rétrograder la chimiothérapie pour les patientes ménopausées si le Recurence Score était compris entre 0-25. Sur la base de ces résultats récents, il serait intéressant d'analyser les résultats obtenus dans notre cohorte de femmes ménopausées (n=148).

V. CONCLUSION

Le cancer du sein demeure un enjeu de santé publique en France.

Pour la prise en charge du cancer du sein au stade précoce RH + Her2-, l'une des questions essentielles auxquelles sont confrontés les médecins et les patients est le choix du traitement adjuvant afin de fournir aux patients les meilleures chances de guérison tout en optimisant leur qualité de vie.

Jusqu'à la fin des années 1990, seules les données histologiques et cliniques permettaient de classer les différents types de cancer du sein. Plus récemment, l'utilisation de techniques génomiques a permis d'y ajouter une caractérisation moléculaire. La signature génomique Prosigna ® est une aide à la décision sur la chimiothérapie adjuvante et peut être utilisée en routine en France pour une catégorie de patients. Elle permet la classification des tumeurs en sous-types moléculaires intrinsèques (Luminal A, Luminal B, HER-enrichi, Basal-like), en groupes de risque (faible, intermédiaire et élevé), et donne une probabilité d'une récurrence à 10 ans (PDR) basée sur le profil d'expression PAM 50 et les variables clinico-pathologiques (taille tumorale et statut ganglionnaire).

Depuis août 2016, le test Prosigna® est réalisé à l'IPC afin d'aider à la décision collégiale de mise en route ou non, après chirurgie, d'un traitement adjuvant par chimiothérapie. Comme l'illustre notre analyse, il a permis un changement thérapeutique dans 33% des cas avec une tendance majoritaire à rétrograder la décision. Il a ainsi permis de réaliser une économie financière tout en traitant au mieux les patientes.

On confirme également que le Ki67 est un critère indispensable à la décision thérapeutique. Il existe en effet un lien entre son taux et le sous type moléculaire du cancer du sein ainsi que son niveau de risque. Avec l'arrivée de l'aire numérique et de l'intelligence artificielle, son évaluation est devenue reproductible réduisant ainsi la problématique de mauvaise reproductibilité qui lui est attribuée.

Nos analyses montrent que le Ki67, obtenu par intelligence artificielle présente moins de variabilité et est mieux corrélé au niveau de risque et au sous type moléculaire renseignés par le test Prosigna®, que les Ki67 déterminés par les pathologistes.

Notre travail doit être poursuivi et ouvre des perspectives d'analyses multiples.

Dans le futur, on peut espérer un accès plus large des patientes à ces tests moléculaires dans le but d'une désescalade thérapeutique. Malgré leur coût, ces tests peuvent potentiellement permettre une meilleure appréciation de l'agressivité tumorale et, pour beaucoup de patientes, d'éviter la chimiothérapie et ainsi de faire des économies de santé. Le défi est de combiner ces informations moléculaires et cliniques.

VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Source de la totalité des figures concernants la méthodologie du test Prosigna® :

https://www.prosigna.com/fr/

Rapport HAS janvier 2019, « Utilité clinique des signatures génomiques dans le cancer du sein de stade précoce »

- Abubakar M, Orr N, Daley F, Coulson P, Ali HR, Blows F, Benitez J, Milne R, Brenner H, Stegmaier C, Mannermaa A, Chang-Claude J, Rudolph A, et al. Valeur pronostique de la notation automatisée du KI67 dans le cancer du sein: une évaluation centralisée de 8088 patientes de 10 groupes d'étude. Cancer du sein Res. 2016; 18 : 104.
- Arihiro K, Oda M, Ohara M, Kadoya T, Osaki A, Nishisaka T, Shiroma N, Kobayashi Y. Comparaison de l'évaluation visuelle et de l'analyse d'image dans l'évaluation de l'expression du Ki-67 et de leur signification pronostique dans le sein du sein luminal défini par immunohistochimie carcinome. Jpn J Clin Oncol. 2016; 46 : 1081–7.
- Azambuja, E. de, F. Cardoso, G. de Castro, M. Colozza, M. S. Mano, V. Durbecq, C. Sotiriou, D. Larsimont, M. J. Piccart-Gebhart, et M. Paesmans. « Ki-67 as Prognostic Marker in Early Breast Cancer: A Meta-Analysis of Published Studies Involving 12 155 Patients ». *British Journal of Cancer* 96, n° 10 (mai 2007): 1504-13. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603756.
- Bankhead, Peter, Maurice B. Loughrey, José A. Fernández, Yvonne Dombrowski, Darragh G. McArt, Philip D. Dunne, Stephen McQuaid, et al. « QuPath: Open Source Software for Digital Pathology Image Analysis ». *Scientific Reports* 7, n° 1 (4 décembre 2017): 16878. https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5.
- Barnes DM, Harris WH, Smith P, Millis RR, Rubens RD. Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. Br J Cancer 1996;74:1445–51. [25]
- Bastien, Roy RL, Álvaro Rodríguez-Lescure, Mark TW Ebbert, Aleix Prat, Blanca Munárriz, Leslie Rowe, Patricia Miller, et al. « PAM50 Breast Cancer Subtyping by RT-qPCR and Concordance with Standard Clinical Molecular Markers ». *BMC Medical Genomics* 5, n° 1 (4 octobre 2012): 44. https://doi.org/10.1186/1755-8794-5-44.
- Berben, Lieze, Hans Wildiers, Lukas Marcelis, Asier Antoranz, Francesca Bosisio, Sigrid Hatse, et Giuseppe Floris. « Computerised Scoring Protocol for Identification and Quantification of Different Immune Cell Populations in Breast Tumour Regions by the Use of QuPath Software ». *Histopathology* 77, n° 1 (2020): 79-91. https://doi.org/10.1111/his.14108.
- Birnbaum, Daniel, François Bertucci, Christophe Ginestier, Rebecca Tagett, Jocelyne Jacquemier, et Emmanuelle Charafe-Jauffret. « Basal and luminal breast cancers: Basic or luminous? (Review) ». *International Journal of Oncology* 25, n° 2 (1 août 2004): 249-58. https://doi.org/10.3892/ijo.25.2.249.
- Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J et al.; MINDACT Investigators. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. N Engl J Med 2016;375:717-29.

- Carter, Christine L., Carol Allen, et Donald E. Henson. « Relation of Tumor Size, Lymph Node Status, and Survival in 24,740 Breast Cancer Cases ». *Cancer* 63, n° 1 (1989): 181-87. https://doi.org/10.1002/1097-0142(19890101)63:1<181::AID-CNCR2820630129>3.0.CO;2-H.
- Charafe-Jauffret, Emmanuelle, Christophe Ginestier, Florence Monville, Samira Fekairi, Jocelyne Jacquemier, Daniel Birnbaum, et François Bertucci. « How to best classify breast cancer: Conventional and novel classifications (Review) ». *International Journal of Oncology* 27, n° 5 (1 novembre 2005): 1307-13. https://doi.org/10.3892/ijo.27.5.1307.
- Charafe-Jauffret, E., R. Duprez-Paumier, A. Berghian, F. Penault-Llorca, M. M. Dauplat, A. Boucraut, M. Cohen, et al. « Abstract P3-11-10: Prosigna Prognostic Signature in PN1mi, Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer:The PN Categorization Impacts the BC Risk Stratification ». *Cancer Research* 79, n° 4 Supplement (15 février 2019): P3-P3-11-10. https://doi.org/10.1158/1538-7445.SABCS18-P3-11-10.
- Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. J Natl Cancer Inst 2009;101:736–50.
- Coates AS, Winer EP, Goldhirsch A, Gelber RD, Gnant M, Piccart-Gebhart M, et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015. Ann Oncol 2015;26:1533–46.
- Criscitiello, Carmen, Davide Disalvatore, Michele De Laurentiis, Lucia Gelao, Luca Fumagalli, Marzia Locatelli, Vincenzo Bagnardi, et al. « High Ki-67 Score Is Indicative of a Greater Benefit from Adjuvant Chemotherapy When Added to Endocrine Therapy in Luminal B HER2 Negative and Node-Positive Breast Cancer ». *The Breast* 23, n° 1 (1 février 2014): 69-75. https://doi.org/10.1016/j.breast.2013.11.007.
- Cronin M, Sangli C, Liu ML, Pho M, Dutta D, Nguyen A, Jeong J, Wu J, Langone KC, Watson D: validation analytique du test de diagnostic génomique Oncotype DX pour le pronostic de récidive et la prédiction de la réponse thérapeutique en cas de nœud négatif , cancer du sein à récepteurs d'œstrogènes positifs. Clin Chem.2007, 53 (6): 1084-1091. 10.1373 / clinchem.2006.076497.
- Dabakuyo, T. S., F. Bonnetain, P. Roignot, M.-L. Poillot, G. Chaplain, T. Altwegg, G. Hedelin, et P. Arveux. « Population-Based Study of Breast Cancer Survival in Cote d'Or (France): Prognostic Factors and Relative Survival ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 19, n° 2 (février 2008): 276-83. https://doi.org/10.1093/annonc/mdm491.
- Deurzen, Carolien H. M. van, Maaike de Boer, Evelyn M. Monninkhof, Peter Bult, Elsken van der Wall, Vivianne C. G. Tjan-Heijnen, et Paul J. van Diest. « Non–Sentinel Lymph Node Metastases Associated With Isolated Breast Cancer Cells in the Sentinel Node ». *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 100, n° 22 (19 novembre 2008): 1574-80. https://doi.org/10.1093/jnci/djn343.
- Dowsett M, Cuzick J, Wale C, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. J Clin Oncol.

2010;28(11):1829-1834.

- Dowsett, Mitch, Ivana Sestak, Elena Lopez-knowles, Kalvinder Sidhu, Anita Dunbier, J Cowens, Sean Ferree, James Storhoff, Carl Schaper, et Jack Cuzick. « Comparison of PAM50 Risk of Recurrence Score With Oncotype DX and IHC4 for Predicting Risk of Distant Recurrence After Endocrine Therapy ». *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (1 juillet 2013). https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.1558.
- . Fan C, Oh DS, Wessels L et al. Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer. N Engl J Med 2006;355:560-9.
- Fitzal F, Filipits M, Rudas M et al. The genomic expression test EndoPredict is a prognostic tool for identifying risk of local recurrence in postmenopausal endocrine receptor-positive, her2neu-negative breast cancer patients randomised within the prospective ABCSG 8 trial. Br J Cancer 2015;112:1405-10.
- Fitzgibbons, Patrick L., David L. Page, Donald Weaver, Ann D. Thor, D. Craig Allred, Gary M. Clark, Stephen G. Ruby, et al. « Prognostic Factors in Breast Cancer ». *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124, n° 7 (1 juillet 2000): 966-78. https://doi.org/10.1043/0003-9985(2000)124<0966:PFIBC>2.0.CO;2.
- Gianni, Luca, Wolfgang Eiermann, Vladimir Semiglazov, Alexey Manikhas, Ana Lluch, Sergey Tjulandin, Milvia Zambetti, et al. « Neoadjuvant Chemotherapy with Trastuzumab Followed by Adjuvant Trastuzumab versus Neoadjuvant Chemotherapy Alone, in Patients with HER2-Positive Locally Advanced Breast Cancer (the NOAH Trial): A Randomised Controlled Superiority Trial with a Parallel HER2-Negative Cohort ». *The Lancet* 375, n° 9712 (30 janvier 2010): 377-84. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61964-4.
- Gnant M, Filipits M, Mlineritsch B, et al; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. Clinical validation of the PAM50 risk of recurrence (ROR) score for predicting residual risk of distant-recurrence (DR) after endocrine therapy in postmenopausal women with HR+ early breast cancer (EBC): an ABCSG study. Presented at: San Antonio Breast Cancer Symposium; December 4-8, 2012; San Antonio, TX. Abstract P2-10-02.
- Gnant, M., M. Filipits, R. Greil, H. Stoeger, M. Rudas, Z. Bago-Horvath, B. Mlineritsch, et al. « Predicting Distant Recurrence in Receptor-Positive Breast Cancer Patients with Limited Clinicopathological Risk: Using the PAM50 Risk of Recurrence Score in 1478 Postmenopausal Patients of the ABCSG-8 Trial Treated with Adjuvant Endocrine Therapy Alone ». *Annals of Oncology* 25, n° 2 (1 février 2014): 339-45. https://doi.org/10.1093/annonc/mdt494.
- Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thu¨ rlimann B, Senn H-J, et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. Ann Oncol 2009;20:1319–29.
- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thu¨ rlimann B, Senn H-J, et al. Strategies for subtypes – dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. Ann Oncol 2011;22:1736–47.

- Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thu¨ rlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. Ann Oncol 2013;24:2206–23.
- Hammond, M. Elizabeth H., Daniel F. Hayes, Mitch Dowsett, D. Craig Allred, Karen L. Hagerty, Sunil Badve, Patrick L. Fitzgibbons, et al. « American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer (Unabridged Version) ». *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 134, n° 7 (1 juillet 2010): e48-72. https://doi.org/10.1043/1543-2165-134.7.e48.
- Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predict- ing response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. JCO 1999; 17:1474.
- Hequet D et al "Prospective, multicenter French study evaluating the clinical impact of the Breast Cancer Intrinsic Subtype-Prosigna® Test in the management of earlystage breast cancers" PLOS ONE. October 18, 2017
- Houvenaeghel G., M Cohen, JM Classe[2], F Reyal, Ch Mazouni, N Chopin, A Martinez, E Daraï, Ch Coutant, PE Colombo, P Gimbergues, MP Chauvet, AS Azuar, R Rouzier, Ch Tunon de Lara, X Muraciole, A Agostini, E Lambaudie, E Charaffe Jauffret, A Goncalves Lymphovascular invasion has a significant prognostic impact in patients with early breast cancer, results from a large national multicenter retrospective cohort study. Under soumission
- Ignatiadis, Michail, Hatem A. Azim Jr, Christine Desmedt, Isabelle Veys, Denis Larsimont, Roberto Salgado, Maria B. Lyng, et al. « The Genomic Grade Assay Compared With Ki67 to Determine Risk of Distant Breast Cancer Recurrence ». *JAMA Oncology* 2, n° 2 (1 février 2016): 217-24. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.4377.
- Iwamoto, Takayuki, Daniel Booser, Vicente Valero, James L. Murray, Kimberly Koenig, Francisco J. Esteva, Naoto T. Ueno, et al. « Estrogen Receptor (ER) MRNA and ER-Related Gene Expression in Breast Cancers That Are1% to 10% ER-Positive by Immunohistochemistry ». *Journal of Clinical Oncology* 30, n° 7 (1 mars 2012): 729-34. https://doi.org/10.1200/JCO.2011.36.2574.
- Jensen, Maj-Britt, Anne-Vibeke Lænkholm, Torsten O. Nielsen, Jens Ole Eriksen, Pernille Wehn, Tressa Hood, Namratha Ram, Wesley Buckingham, Sean Ferree, et Bent Ejlertsen. « The Prosigna gene expression assay and responsiveness to adjuvant cyclophosphamide-based chemotherapy in premenopausal high-risk patients with breast cancer ». *Breast Cancer Research* 20, n° 1 (27 juillet 2018): 79. https://doi.org/10.1186/s13058-018-1012-0.
- Kastner, P., A. Krust, B. Turcotte, U. Stropp, L. Tora, H. Gronemeyer, et P. Chambon. « Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. » *The EMBO Journal* 9, n° 5 (1 mai 1990): 1603-14. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08280.x.
- Kumar, Vijay, Stephen Green, Gary Stack, Meera Berry, Jia-Rui Jin, et Pierre Chambon.

« Functional Domains of the Human Estrogen Receptor ». *Cell* 51, n° 6 (24 décembre 1987): 941-51. https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90581-2

- Lænkholm, Anne-Vibeke, Maj-Britt Jensen, Jens Ole Eriksen, Birgitte Bruun Rasmussen, Ann S. Knoop, Wesley Buckingham, Sean Ferree, et al. « PAM50 Risk of Recurrence Score Predicts 10-Year Distant Recurrence in a Comprehensive Danish Cohort of Postmenopausal Women Allocated to 5 Years of Endocrine Therapy for Hormone Receptor–Positive Early Breast Cancer ». *Journal of Clinical Oncology* 36, n° 8 (25 janvier 2018): 735‑40. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.6586.
- Loi S et al. Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. J Clin Oncol. 2007 Apr 1;25(10):1239-46.
- Lee, A. H. S., S. E. Pinder, R. D. Macmillan, M. Mitchell, I. O. Ellis, C. W. Elston, et R. W. Blamey. « Prognostic Value of Lymphovascular Invasion in Women with Lymph Node Negative Invasive Breast Carcinoma ». *European Journal of Cancer* 42, n° 3 (1 février 2006): 357-62. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.10.021.
- Liu, Minetta C., Brandelyn N. Pitcher, Elaine R. Mardis, Sherri R. Davies, Paula N. Friedman, Jacqueline E. Snider, Tammi L. Vickery, et al. « PAM50 Gene Signatures and Breast Cancer Prognosis with Adjuvant Anthracycline- and Taxane-Based Chemotherapy: Correlative Analysis of C9741 (Alliance) ». *Npj Breast Cancer* 2, n° 1 (6 janvier 2016): 1-8. https://doi.org/10.1038/npjbcancer.2015.23.
- Loughrey, Maurice B., Peter Bankhead, Helen G. Coleman, Ryan S. Hagan, Stephanie Craig, Amy M. B. McCorry, Ronan T. Gray, et al. « Validation of the Systematic Scoring of Immunohistochemically Stained Tumour Tissue Microarrays Using QuPath Digital Image Analysis ». *Histopathology* 73, n° 2 (2018): 327-38. https://doi.org/10.1111/his.13516.
- Luporsi E, Andre´ F, Spyratos F, Martin P-M, Jacquemier J, Penault-Llorca F, et al. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review. Breast Cancer Res Treat 2012;132:895–915.
- Marty, Michel, Francesco Cognetti, Dominique Maraninchi, Ray Snyder, Louis Mauriac, Michèle Tubiana-Hulin, Stephen Chan, et al. « Randomized Phase II Trial of the Efficacy and Safety of Trastuzumab Combined With Docetaxel in Patients With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Metastatic Breast Cancer Administered As First-Line Treatment: The M77001 Study Group ». *Journal of Clinical Oncology* 23, n° 19 (1 juillet 2005): 4265-74. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.173.
- Mascarel, I. de, F. Bonichon, M. Durand, L. Mauriac, G. MacGrogan, I. Soubeyran, V. Picot, A. Avril, J. M. Coindre, et M. Trojani. « Obvious Peritumoral Emboli: An Elusive Prognostic Factor Reappraised. Multivariate Analysis of 1320 Node-Negative Breast Cancers ». *European Journal of Cancer* 34, n° 1 (1 janvier 1998): 58-65. https://doi.org/10.1016/S0959-8049(97)00344-4.
- Mohammed, Hisham, I. Alasdair Russell, Rory Stark, Oscar M. Rueda, Theresa E. Hickey, Gerard A. Tarulli, Aurelien A. Serandour, et al. « Progesterone Receptor Modulates ERα Action in Breast Cancer ». *Nature* 523, n° 7560 (16 juillet 2015): 313-17.

https://doi.org/10.1038/nature14583.
- Narod, Steven A. « Breast Cancer in Young Women ». *Nature Reviews Clinical Oncology* 9, n° 8 (août 2012): 460-70. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2012.102.
- Nielsen, Torsten O., Joel S. Parker, Samuel Leung, David Voduc, Mark Ebbert, Tammi Vickery, Sherri R. Davies, et al. « A Comparison of PAM50 Intrinsic Subtyping with Immunohistochemistry and Clinical Prognostic Factors in Tamoxifen-Treated Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer ». *Clinical Cancer Research* 16, n° 21 (1 novembre 2010): 5222-32. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1282.
- Nielsen, Torsten, Brett Wallden, Carl Schaper, Sean Ferree, Shuzhen Liu, Dongxia Gao, Garrett Barry, Naeem Dowidar, Malini Maysuria, et James Storhoff. « Analytical Validation of the PAM50-Based Prosigna Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay and NCounter Analysis System Using Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Breast Tumor Specimens ». *BMC Cancer* 14, n° 1 (13 mars 2014): 177. https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-177.
- Nuyten, Dimitry S. A., Trevor Hastie, Jen-Tsan Ashley Chi, Howard Y. Chang, et Marc J. van de Vijver. « Combining Biological Gene Expression Signatures in Predicting Outcome in Breast Cancer: An Alternative to Supervised Classification ». *European Journal of Cancer* 44, n° 15 (1 octobre 2008): 2319-29. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.07.015.
- Ogawa Y, Moriya T, Kato Y, Oguma M, Ikeda K, Takashima T, et al. Immunohistochemical assessment for estrogen receptor and progesterone receptor status in breast cancer: analysis for a cut-off point as the predictor for endocrine therapy. Breast Cancer 2004;11:267–75.
- Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, Baehner FL, Walker MG, Watson D, Park T, Hiller W, Fisher ER, Wickerham DL, Bryant J, Wolmark N: un test multigène pour prédire récidive d'un cancer du sein à ganglions négatifs traité au tamoxifène. N Engl J Med.2004, 351 (27): 2817-2826. 10.1056 / NEJMoa041588.
- Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, Davies S, Fauron C, He X, Hu Z, Quackenbush JF, Stijleman IJ, Palazzo J, Marron JS, Nobel AB, Mardis E, Nielsen TO , Ellis MJ, Pérou CM, Bernard PS: Prédicteur de risque supervisé de cancer du sein basé sur des sous-types intrinsèques. J Clin Oncol.2009, 27 (8): 1160-1167. 10.1200 / JCO.2008.18.1370.
- Perou, Charles M., Therese Sørlie, Michael B. Eisen, Matt van de Rijn, Stefanie S. Jeffrey, Christian A. Rees, Jonathan R. Pollack, et al. « Molecular Portraits of Human Breast Tumours ». *Nature* 406, n° 6797 (août 2000): 747-52. https://doi.org/10.1038/35021093.
- Piccart-Gebhart, Martine J., Marion Procter, Brian Leyland-Jones, Aron Goldhirsch, Michael Untch, Ian Smith, Luca Gianni, et al. « Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer ». *New England Journal of Medicine* 353, n° 16 (20 octobre 2005): 1659-72. https://doi.org/10.1056/NEJMoa052306.
- Polley M-YC, Leung SCY, McShane LM, Gao D, Hugh JC, Mastropasqua MG, et al. An international Ki67 reproducibility study. J Natl Cancer Inst 2013;105: 1897–906.
- Prat, A., J. S. Parker, C. Fan, et C. M. Perou. « PAM50 Assay and the Three-Gene Model for Identifying the Major and Clinically Relevant Molecular Subtypes of Breast Cancer ». *Breast*

Cancer Research and Treatment 135, n° 1 (1 août 2012): 301-6. https://doi.org/10.1007/s10549-012-2143-0.

- Ragage, Florence, Marc Debled, Gaëtan MacGrogan, Véronique Brouste, Marie Desrousseaux, Isabelle Soubeyran, Christine Tunon de Lara, Louis Mauriac, et Isabelle de Mascarel. « Is It Useful to Detect Lymphovascular Invasion in Lymph Node-Positive Patients with Primary Operable Breast Cancer? » *Cancer* 116, n° 13 (2010): 3093-3101. https://doi.org/10.1002/cncr.25137.
- Ravdin, P M, S Green, T M Dorr, W L McGuire, C Fabian, R P Pugh, R D Carter, S E Rivkin, J R Borst, et R J Belt. « Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study. » *Journal of Clinical Oncology* 10, n° 8 (1 août 1992): 1284-91. https://doi.org/10.1200/JCO.1992.10.8.1284.
- Reyal F, van Vliet MH, Armstrong NJ et al. A comprehensive analysis of prognostic signatures reveals the high predictive capacity of the proliferation, immune response and RNA splicing modules in breast cancer. Breast Cancer Res 2008;10(6):R93.
- Richer, Jennifer K., Britta M. Jacobsen, Nicole G. Manning, M. Greg Abel, Douglas M. Wolf, et Kathryn B. Horwitz. « Differential Gene Regulation by the Two Progesterone Receptor Isoforms in Human Breast Cancer Cells ». *Journal of Biological Chemistry* 277, n° 7 (15 février 2002): 5209-18. https://doi.org/10.1074/jbc.M110090200.
- Romond, Edward H., Edith A. Perez, John Bryant, Vera J. Suman, Charles E. Geyer, Nancy E. Davidson, Elizabeth Tan-Chiu, et al. « Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer ». *New England Journal of Medicine* 353, n° 16 (20 octobre 2005): 1673-84. https://doi.org/10.1056/NEJMoa052122.
- Saadatmand, Sepideh, Reini Bretveld, Sabine Siesling, et Madeleine M. A. Tilanus-Linthorst. « Influence of Tumour Stage at Breast Cancer Detection on Survival in Modern Times: Population Based Study in 173 797 Patients ». *BMJ* 351 (6 octobre 2015). https://doi.org/10.1136/bmj.h4901.
- Sestak, Ivana, Richard Buus, Jack Cuzick, Peter Dubsky, Ralf Kronenwett, Carsten Denkert, Sean Ferree, et al. « Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial ». *JAMA Oncology* 4, n° 4 (1 avril 2018): 545-53. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.5524.
- Slamon, D. J., G. M. Clark, S. G. Wong, W. J. Levin, A. Ullrich, et W. L. McGuire. « Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification of the HER-2/Neu Oncogene ». *Science* 235, n° 4785 (9 janvier 1987): 177-82. https://doi.org/10.1126/science.3798106.
- Slamon, Dennis J., Brian Leyland-Jones, Steven Shak, Hank Fuchs, Virginia Paton, Alex Bajamonde, Thomas Fleming, et al. « Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2 ». *New England Journal of Medicine* 344, n° 11 (15 mars 2001): 783-92. https://doi.org/10.1056/NEJM200103153441101.

- Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. Proc Natl Acad Sci USA, 2001;98:10869–74.
- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:8418–23.
- Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:10393–8.
- Sparano, Joseph A., Robert J. Gray, Della F. Makower, Kathy S. Albain, Thomas J. Saphner, Sunil S Badve, Lynne I. Wagner, et al. « Clinical Outcomes in Early Breast Cancer With a High 21-Gene Recurrence Score of 26 to 100 Assigned to Adjuvant Chemotherapy Plus Endocrine Therapy: A Secondary Analysis of the TAILORx Randomized Clinical Trial ». *JAMA Oncology* 6, n° 3 (1 mars 2020): 367-74. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2019.4794.
- Spielmann, M, M Riofrio, et L Zelek. « Facteurs pronostiques du cancer du sein et facteurs prédictifs de la réponse au traitement », n° 1 (2000): 7.
- Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. Breast 2008;17:323–34.
- Symmans WF et al. Use of genomic grade index (GGI) to predict pathologic response to preoperative chemotherapy in breast cancer. J Clin Oncol 26: 2008
- Tian S, Roepman P, Van't Veer LJ, Bernards R, de Snoo F, Glas AM. Biological functions of the genes in the mammaprint breast cancer profi le refl ect the hallmarks of cancer. Biomark Insights 2010;5:129-38.
- Tan, Qi-Xing, Qing-Hong Qin, Wei-Ping Yang, Qin-Guo Mo, et Chang-Yuan Wei. « Prognostic value of Ki67 expression in HR-negative breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy ». *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 7, n° 10 (15 septembre 2014): 6862-70.
- Untch, Michael, Mahdi Rezai, Sibylle Loibl, Peter A. Fasching, Jens Huober, Hans Tesch, Ingo Bauerfeind, et al. « Neoadjuvant Treatment With Trastuzumab in HER2-Positive Breast Cancer: Results From the GeparQuattro Study ». *Journal of Clinical Oncology* 28, n° 12 (20 avril 2010): 2024-31. https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.8451.
- Viale, Giuseppe, Eugenio Maiorano, Giancarlo Pruneri, Mauro G. Mastropasqua, Stefano Valentini, Viviana Galimberti, Stefano Zurrida, Patrick Maisonneuve, Giovanni Paganelli, et Giovanni Mazzarol. « Predicting the Risk for Additional Axillary Metastases in Patients With Breast Carcinoma and Positive Sentinel Lymph Node Biopsy ». *Annals of Surgery* 241, n° 2 (février 2005): 319-25. https://doi.org/10.1097/01.sla.0000150255.30665.52.
- Volynskaya, Zoya, Ozgur Mete, Sara Pakbaz, Doaa Al-Ghamdi, et Sylvia L. Asa. « Ki67 Quantitative Interpretation: Insights using Image Analysis ». *Journal of Pathology Informatics* 10 (8 mars 2019). https://doi.org/10.4103/jpi.jpi_76_18.

- Wolff, Antonio C., M. Elizabeth Hale Hammond, Kimberly H. Allison, Brittany E. Harvey, Pamela B. Mangu, John M.S. Bartlett, Michael Bilous, et al. « Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update ». *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 142, n° 11 (30 mai 2018): 1364-82. https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0902-SA.
- Yi, M., L. Huo, K. B. Koenig, E. A. Mittendorf, F. Meric-Bernstam, H. M. Kuerer, I. Bedrosian, et al. 2014. "Which Threshold for ER Positivity? A Retrospective Study Based on 9639 Patients." Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO 25 (5): 1004–11. doi:10.1093/annonc/mdu053.
- © uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint® - Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein - Synthèse, collection état des lieux et des connaissances, ouvrage collectif édité par l'INCa, Boulogne-Billancourt, décembre 2013.
- Zemouri, Ryad, Christine Devalland, Séverine Valmary-Degano, et Noureddine Zerhouni. « Intelligence artificielle : quel avenir en anatomie pathologique ? » *Annales de Pathologie*, L'anatomopathologie augmentée, 39, n° 2 (1 avril 2019): 119-29. https://doi.org/10.1016/j.annpat.2019.01.004.

VII. ANNEXES

Annexe 1. Classification des tumeurs, OMS 2017

WHO classification of epithelial tumours of the breast

Benign epithelial proliferations and precursors
- Usual ductal hyperplasia
- Columnar cell lesions, including flat epithelial atypia
- Atypical ductal hyperplasia

Adenosis and benign sclerosing lesions
- Sclerosing adenosis
- 8401/0 Apocrine adenoma
- Microglandular adenosis
- Radial scar / complex sclerosing lesion

Adenomas
- 8211/0 Tubular adenoma NOS
- 8204/0 Lactating adenoma
- 8503/0 Duct adenoma NOS

Epithelial-myoepithelial tumours
- 8940/0 Pleomorphic adenoma
- 8983/0 Adenomyoepithelioma NOS
- 8983/3 Adenomyoepithelioma with carcinoma
- 8562/3 Epithelial-myoepithelial carcinoma

Papillary neoplasms
- 8503/0 Intraductal papilloma
- 8503/2 Ductal carcinoma in situ, papillary
- 8504/2 Encapsulated papillary carcinoma
- 8504/3 Encapsulated papillary carcinoma with invasion
- 8509/2 Solid papillary carcinoma in situ
- 8509/3 Solid papillary carcinoma with invasion
- 8503/3 Intraductal papillary adenocarcinoma with invasion

Non-invasive lobular neoplasia
- Atypical lobular hyperplasia
- 8520/2 Lobular carcinoma in situ NOS
  - Classic lobular carcinoma in situ
  - Florid lobular carcinoma in situ
- 8519/2 Lobular carcinoma in situ, pleomorphic

Ductal carcinoma in situ (DCIS)
- 8500/2 Intraductal carcinoma, non-infiltrating, NOS
  - DCIS of low nuclear grade
  - DCIS of intermediate nuclear grade
  - DCIS of high nuclear grade

Invasive breast carcinoma
- 8500/3 Infiltrating duct carcinoma NOS
- 8290/3 Oncocytic carcinoma
- 8314/3 Lipid-rich carcinoma
- 8315/3 Glycogen-rich carcinoma
- 8410/3 Sebaceous carcinoma
- 8520/3 Lobular carcinoma NOS
- 8211/3 Tubular carcinoma
- 8201/3 Cribriform carcinoma NOS
- 8480/3 Mucinous adenocarcinoma
- 8470/3 Mucinous cystadenocarcinoma NOS
- 8507/3 Invasive micropapillary carcinoma of breast
- 8401/3 Apocrine adenocarcinoma
- 8575/3 Metaplastic carcinoma NOS

Rare and salivary gland–type tumours
- 8550/3 Acinar cell carcinoma
- 8200/3 Adenoid cystic carcinoma
  - Classic adenoid cystic carcinoma
  - Solid-basaloid adenoid cystic carcinoma
  - Adenoid cystic carcinoma with high-grade transformation
- 8502/3 Secretory carcinoma
- 8430/3 Mucoepidermoid carcinoma
- 8525/3 Polymorphous adenocarcinoma
- 8509/3 Tall cell carcinoma with reversed polarity

Neuroendocrine neoplasms
- 8240/3 Neuroendocrine tumour NOS
- 8240/3 Neuroendocrine tumour, grade 1
- 8249/3 Neuroendocrine tumour, grade 2
- 8246/3 Neuroendocrine carcinoma NOS
- 8041/3 Neuroendocrine carcinoma, small cell
- 8013/3 Neuroendocrine carcinoma, large cell

These morphology codes are from the International Classification of Diseases for Oncology, third edition, second revision (ICD-O-3.2) {921}. Behaviour is coded /0 for benign tumours; /1 for unspecified, borderline, or uncertain behaviour; /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia; /3 for malignant tumours, primary site; and /6 for malignant tumours, metastatic site. Behaviour code /6 is not generally used by cancer registries.

This classification is modified from the previous WHO classification, taking into account changes in our understanding of these lesions.

Annexe 2. Classification histopathologique pTNM (UICC, 8th édition, 2017)

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 ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension.
T1mic	Micro-invasion[1] ≤ 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 cm < T ≤ 0,5 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 cm < T ≤ 1 cm dans sa plus grande dimension.
T1c	1 cm < T ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension.
T2	Tumeur 2 cm < T ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension.
T3	Tumeur >5 cm dans sa plus grande dimension.
T4	Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique (a) et/ou à la peau (b).
T4a	Extension à la paroi thoracique. *Note : la paroi thoracique comprend les côtes, les muscles intercostaux et 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 influer sur le classement.

pNx	Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire.
pN0	Absence de signe histologique d'envahissement ganglionnaire régional, absence d'études complémentaires pour la recherche de cellules tumorales isolées. **pN0(i-)** : absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude immunohistochimique négative. **pN0(i+)** : Présence de cellules tumorales isolées ou de micro-amas tumoraux dont la taille est ≤

	0,2 mm visibles en histologie ou détectées par immunohistochimie, îlots cellulaires tumoraux ≤ 0,2 mm. **pN0(mol-)** : absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude moléculaire négative (RT-PCR). **pN0(mol+)** : absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude moléculaire positive (RT-PCR).
pN1	Métastases ganglionnaires dans un à trois ganglions axilaires et/ou mammaires internes avec envahissement microscopique repéré par la technique du ganglion sentinelle mais non cliniquement.
pN1mi	Micrométastases (îlots cellulaires contigus, approximativement 200 cellules, >0,2 mm et ≤ 2 mm). Il est bien précisé qu'il ne faut pas additionner plusieurs tailles d'amas de cellules tumorales bien distincts.
pN1a	Métastases dans 1 à 3 ganglions axillaires.
pN1b	Métastases ganglionnaires mammaires internes microscopiques repérées par la technique du ganglion sentinelle mais non suspectées cliniquement.
pN1c	Métastases ganglionnaires axillaires dans un à trois ganglions et métastase mammaire interne avec un envahissement microscopique repéré par la technique du ganglion sentinelle mais non cliniquement.
pN2	Métastases dans 4 à 9 ganglions axillaires ou présence clinique d'adénopathies mammaires internes en l'absence d'adénopathies axillaires.
pN2a	Métastases dans 4 à 9 ganglions axillaires (au moins un envahissement >2 mm).
pN2b	Métastases dans des ganglions mammaires internes cliniques en l'absence d'envahissement axillaire.
pN3	Métastases dans une des situations suivantes :
pN3a	Métastases dans 10 ganglions lymphatiques axillaires ou plus (au moins une >2 mm) ou métastases dans les ganglions sous-claviculaires.
pN3b	Ganglions mammaires internes ipsilatéraux métastatiques cliniquement décelables associés à 1 à 3 ganglions axillaires métastatiques ou plus de 3 ganglions axillaires métastatiques et ganglions mammaires internes détectés par la procédure du ganglion sentinelle, métastatiques à l'examen microscopique, mais non décelables cliniquement.
pN3c	Métastase(s) ganglionnaire(s) sus-claviculaire(s) homolatérale(s).

Annexe 3. Stade histopathologique

Stade 0	Tis N0 M0
Stade IA	T1 N0 M0 (T1 comprend T1mi)
Stade IB	T0 N1mi M0
	T1 N1mi M0 (T1 comprend T1mi)
Stade IIA	T0 N1 M0
	T1 N1 M0 (ne comprend pas N1mi)
	T1 N1 M0 (T1 comprend T1mi)
	T2 N0 M0 (ne comprend pas N1mi)
Stade IIB	T2 N1 M0
	T3 N0 M0
Stade IIIA	T0 N2 M0
	T1 N2 M0 (T1 comprend T1mi)
	T2 N2 M0
	T3, N1 ou N2 M0
Stade IIIB	T4, N0 ou N1 ou N2, M0
Stade IIIC	Quel que soit T, N3, M0
Stade IV	Quells que soient T et N, M1

Annexe 4 : Lignes directrices sur l'utilisation de biomarqueurs chez les patientes atteintes d'un cancer du sein invasif. Recommandations EGTM. BCI, indice du cancer du sein; LOE, (niveau de preuve)

Biomarqueur	Recommandation	LOE	SOR
ER	Pour prédire la réponse au traitement endocrinien chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce ou avancé. Obligatoire chez tous les patients.	IA	UNE
PR	En combinaison avec ER pour prédire la réponse au traitement endocrinien chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce ou avancé. Obligatoire chez tous les patients.	IB	UN B
HER2	Pour prédire la réponse au traitement anti-HER2 chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce ou avancé. Obligatoire chez tous les patients.	IA	UNE
Ki67	En combinaison avec des facteurs cliniques et pathologiques établis pour déterminer le pronostic chez les patientes atteintes d'un cancer du sein invasif nouvellement diagnostiqué, en particulier si les valeurs sont faibles ou élevées.	IB	UN B
uPA / PAI-1	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante aux patients atteints d'une maladie ER-positive, HER2-négative, ganglionnaire négative.	IA	UNE
Oncotype DX	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante chez les patients atteints de la lymphe HER2 négative ER-positive, ganglion négative et ganglionnaire positive (1 à 3 ganglions)	IB	UNE
MammaPrint	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante aux patients atteints de maladies ER-positives, HER2-négatives, ganglionnaires-négatives et ganglionnaires-positives (1 à 3 ganglions)	IA	UNE
Prosigna	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante aux patients atteints de ER-HER2 négatif, de ganglions lymphatiques négatifs et de ganglions lymphatiques positifs (1 à 3 nœuds).	IB	UNE
EndoPredict	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante aux patients atteints de la maladie ER-positive HER2-négative ganglion lymphatique négatif et ganglionnaire positive (1 à 3 nœuds).	IB	UNE
BCI	Pour déterminer le pronostic et aider à la prise de décision pour l'administration de chimiothérapie adjuvante chez les patients atteints d'une ER-positive, HER2-négative, maladie des ganglions lymphatiques négatifs.	IB	UNE

Annexe 5. Grading SBR (Scarff-Bloom-Richardson) modifié par Elston et Ellis

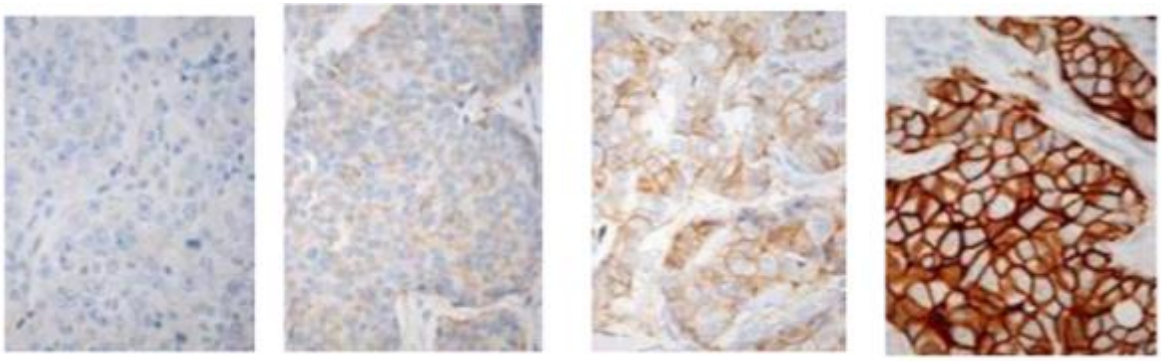
1. Différenciation tubulo-glandulaire : proportion de tubes ou glandes dans la tumeur (en % de surface tumorale)	SCORE
>75% : tumeur bien différenciée	1
10 à >75% : tumeur moyennement différenciée	2
<10 : tumeur peu différenciée	3
2. Pléomorphisme nucléaire : degré d'atypie apprécié sur la population tumorale prédominante	
Noyaux petits, réguliers, uniformes	1
Pléomorphisme modéré	2
Variations marquées de taille, de forme, avec nucléoles proéminents	3
3. Nombre de mitoses (à compter sur 10 champs au grossissement x400 ; valeurs définies pour un champ de de 0,48 mm de diamètre ; calibrage du microscope nécessaire pour des champs différents)	
0 à 6 mitoses	1
7 à 12 mitoses	2
>12 mitoses	3
AU TOTAL	
Grade I	**3, 4 ou 5**
Grade II	**6 ou 7**
Grade III	**8 ou 9**

Annexe 6. Recommandations pour la détermination du statut HER2 par IHC et HIS.

La méthode immunohistochimique est considérée comme la première option pour l'évaluation du statut HER2.

Critères de positivité en immunohistochimie

- Vérifier les témoins internes et externes.
- Les règles de lecture doivent être conformes aux recommandations internationales (Wolff, 2018).
- Le marquage spécifique est localisé à la membrane cytoplasmique des cellules tumorales. Il doit être complet ou peut rarement être incomplet à condition d'être homogène. L'éventuel marquage cytoplasmique ne doit pas être pris en compte.
- Seul le statut des cellules carcinomateuses infiltrantes doit être pris en considération.
- L'analyse doit préciser la proportion de cellules marquées et l'intensité du marquage. Elle conduit à établir le score (Cf. tableau ci-dessous) reconnu pour décider d'un traitement ciblé par un anticorps anti-HER2.
- Rejeter le test IHC en cas de :
    - marquage membranaire des canaux et des lobules normaux. Le marquage membranaire des cellules apocrines est admis
    - marquage cytoplasmique gênant
    - artéfacts d'écrasement ou de bordure évidents
    - témoins de la réaction non valides.
- La conclusion énonce clairement le statut HER2 et le cas échéant la nécessité de mise en œuvre d'une technique complémentaire (immunohistochimie à refaire et/ou hybridation *in situ*).
- **Règle de lecture de l'intensité du marquage** :
    - forte : bien visible au x4-x5
    - modérée : perceptible au x4-x5 et bien visible au x10-x20
    - faible : imperceptible au x4-x5, perceptible au x10-x20, bien visible au x40.



Score	0 négatif	1+ négatif	2+ équivoque	3+ positif
Marquage	Absence de marquage OU marquage membranaire faible, incomplet dans ≤ 10% des cellules invasives	Marquage membranaire faible, incomplet dans >10% des cellules invasives	marquage membranaire faible, incomplet dans > 10% des cellules invasives OU marquage membranaire fort, complet dans ≤ 10% des cellules invasives (hétérogène). NB : en cas de tumeur d'architecture micropapillaire un marquage incomplet peu etre considéré comme un 2+	marquage membranaire fort, complet dans > 10% des cellules invasives
Indication thérapeutique anti HER2	NON	NON	**Réalisation d'une hybridation in situ**	OUI

Recommandations pour la détermination du statut HER2 par HIS :

- La technique est à réaliser dans des structures spécialisées.
- L'HIS est une méthode indirecte de la détection de la cible thérapeutique HER2.

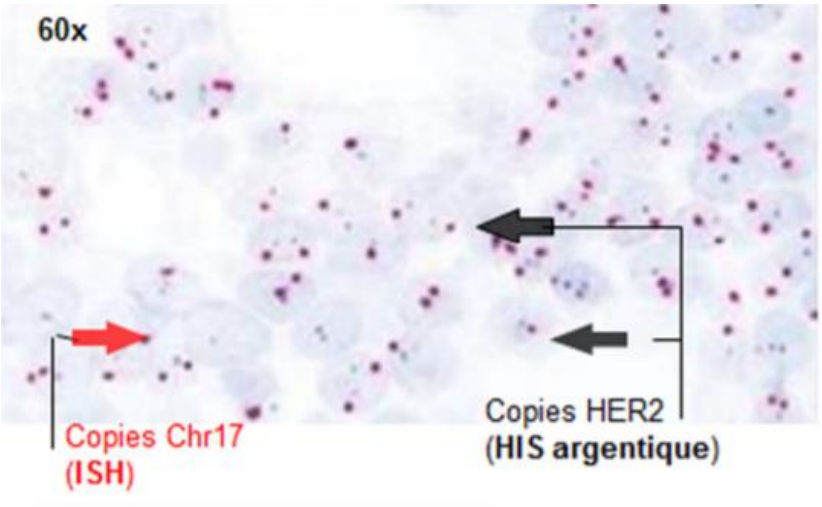
On détecte l'amplification du gène et non sa surexpression. Il peut y avoir surexpression sans amplification (rare, discordance dans <5 % de cas).

- Comptage d'au minimum 20 cellules (minimum de 40 cellules en cas d'hétérogénéité).
- Vérifier les témoins internes (les signaux dans le tissu normal).
  - problème de fixation ou de conditionnement du tissu
  - présence d'artéfacts (écrasement tissulaire, en périphérie du prélèvement)
  - en cas d'échec du test (absence d'hybridation, autofluorescence, mauvaise résolution nucléaire, important bruit de fond).

Les centromères du chromosome 17 apparaissent sous forme de point rouge, les copies de HER2 apparaissent sous la forme de point noir.

On réalise un comptage manuel au grossissement x60.

Image 4 : Technique Hybridation in situ



Nombre de copies HER2	Rapport copie HER2/nombre centromère	Groupe	Résultat	Commentaires
≥ 4	≥ 2	1	**AMPLIFIEE**	
<4	≥ 2	2	• **Si 0 ou 1+ en IHC : Cf. commentaire** • **Si 3+ en IHC : AMPLIFIEE** • **SI HER2 2+ en IHC** : recompter >100 cellules pour voir si on reste dans cette catégorie ○ **si oui : Cf. commentaire** ○ si non : résultat de la nouvelle catégorie	**Si IHC 0, 1+, 2+** L'évaluation de l'efficacité du trastuzumab est limitée dans cette situation mais dans les essais initiaux testant le trastuzumab en adjuvant, les tumeurs appartenant à ce groupe ne semblaient pas en tirer bénéfice et ce résultat doit être considéré comme **NEGATIF** *Si biopsie, recontrôler sur pièce opératoire*
≥ 6	<2	3	• **Si 3+ en IHC : AMPLIFIEE** • **Si HER2 2+ en IHC** : recompter > 20 cellules pour voir si on reste dans cette catégorie ○ si on reste dans la catégorie : **AMPL IFIEE** ○ si non : résultat de la nouvelle catégorie	
≥ 4 et <6	<2	4	• **Si 3 + en IHC** : **AMPLIFIEE** • **Si HER2 2+ en IHC** : recompter > 100 cellules pour voir si on reste dans cette catégorie. ○ si oui : **Cf. commentaire** ○ si non : résultat de la nouvelle catégorie	**Si IHC 0, 1+, 2+** L'évaluation de l'efficacité du trastuzumab est limitée dans cette situation mais dans les essais initiaux testant le trastuzumab en adjuvant, les tumeurs appartenant à ce groupe ne semblaient pas en tirer bénéfice et ce résultat doit être considéré comme **NEGATIF**. *Si biopsie, recontrôler sur pièce opératoire*
<4	<2	5	**NON AMPLIFIEE**	

Annexe 7 : Caractérisation des types moléculaires

- **Basal ou basal-like**

Les tumeurs de type basal sont caractérisées par l'expression de gènes identiques à ceux exprimés par des lignées de cellules myoépithéliales.
Ce groupe est le mieux identifié par les différentes études génomiques.
Les tumeurs ont un phénotype particulier et reproductible :

- en général elles n'expriment ni les récepteurs hormonaux, ni HER2,
- exprime au moins un marqueur des cellules myoépithéliales (ou basales) du sein normal (l'actine musculaire lisse, la p63, les cytokératines CK5/6, CK14, CK17),
- taux plus élevé de mutation de p53,
- grade histopronostique III,
- activité mitotique élevée.

On retrouve les carcinomes de type médullaire atypique, les carcinomes métaplasiques, la plupart des carcinomes lies a une mutation de BRCA1 et des carcinomes canalaires infiltrants de grade III. Ce sous-type a le pronostic le plus défavorable pour la survie globale et sans rechutes.
Par extension, on parle des **tumeurs "triple négatif"** (RE- RP- HER2-) qui comprennent un grand nombre de tumeurs de type basal. Il n'y a toutefois pas de superposition complète entre ces deux groupes.

- **HER2**

Ce groupe est le plus souvent défini comme incluant toutes les tumeurs HER2+ quelle que soit leur expression des récepteurs hormonaux. Un progéniteur luminal serait à l' origine de ces tumeurs. Leur phénotype est HER2+, CK8/18/19+. Ce groupe comprend les tumeurs de type apocrine et des canalaires infiltrants de grades II et III. Leur pronostic est défavorable.
Ce sous-type peut être traité par Trastuzumab (Herceptine TM) ou un inhibiteur de tyrosine kinase comme le lapatinib.

- **Luminal**

Ce groupe comprend des tumeurs

- RE+
- expression génique proche de celle des cellules épithéliales luminales

- profil immunohistochimique caractérisé par l'expression de CK8/18 et CK19
- tumeurs de faible grade avec les formes histologiques particulières : cribriforme, mucineux, lobulaire et carcinomes canalaires infiltrants de grade histopronostique I et II.

On distingue deux groupes : luminal A avec le pronostic le plus favorable et luminal B avec un pronostic moins bon que celui du groupe luminal A.

Sous-type	Origine	Phénotype	Type histologique du carcinome	Pronostic
Basal	Cellule myoépithéliale	RE- HER- CK5/6+ EGFR+	- Canalaire de grade III - Médullaire - Métaplasique	Défavo-rable
HER2	Non connu	HER2+ CK8/18+ CK19+	- Apocrine - Canalaire de grades II-III	Défavo-rable
Luminal	Cellule luminale	RE+ CK8/18+ CK19+	- Canalaire de grade I	Favorable

❖ **Autres**

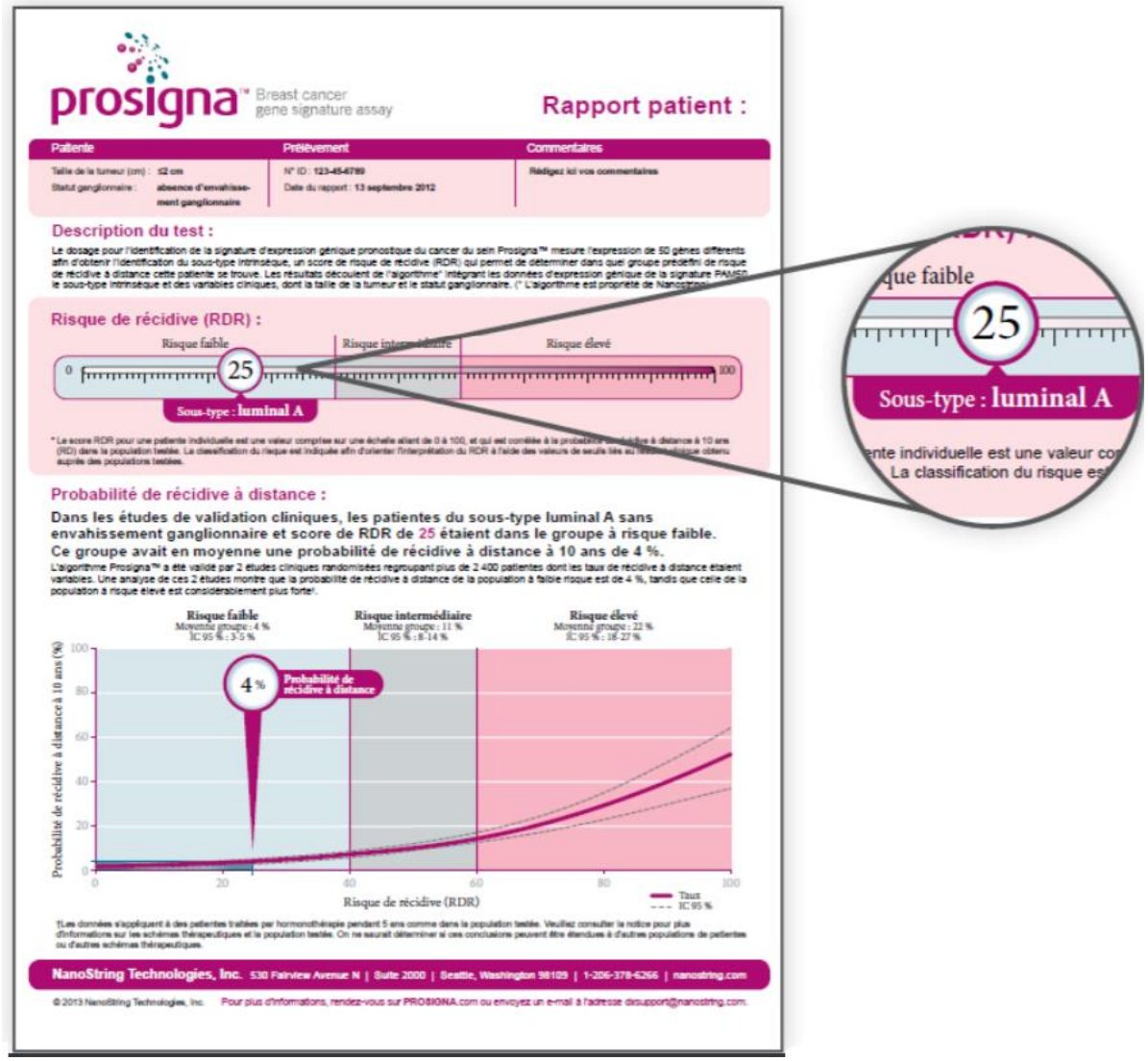
Certaines études isolent d'autres sous-types inconstamment identifies.

- Baso-luminal : les tumeurs de ce groupe proviendraient d'un progéniteur commun qui exprime des marqueurs de cellules basales (CK5/6) et de cellules luminales (CK8/18/19).

- Normal-like : l'expression génique est proche de celle du tissu mammaire normal. Le phénotype des tumeurs de ce sous type n'est pas décrit. Leur pronostic est intermédiaire. Ce sous type a disparu, il était probbalement du à des contaminations dans les prélevements par du tissu mammaire sain.

- sous type moléculaire apocrine : Caractérisé par
  - l'expression du récepteur aux androgènes (RA),
  - l'absence d'expression du récepteur aux estrogènes REα, et
  - l'expression paradoxale de gènes habituellement exprimés par les tumeurs luminales.

Annexe 8 :



prosigna™ Breast cancer gene signature assay

Rapport patient :

Patiente	Prélèvement	Commentaires
Taille de la tumeur (cm) : ≤2 cm Statut ganglionnaire : absence d'envahissement ganglionnaire	N° ID : 123-45-6789 Date du rapport : 13 septembre 2012	Rédigez ici vos commentaires

Description du test :

Le dosage pour l'identification de la signature d'expression génique pronostique du cancer du sein Prosigna™ mesure l'expression de 50 gènes différents afin d'obtenir l'identification du sous-type intrinsèque, un score de risque de récidive (RDR) qui permet de déterminer dans quel groupe prédéfini de risque de récidive à distance cette patiente se trouve. Les résultats découlent de l'algorithme* intégrant les données d'expression génique de la signature PAM50 le sous-type intrinsèque et des variables cliniques, dont la taille de la tumeur et le statut ganglionnaire. (* L'algorithme est propriété de NanoString)

Risque de récidive (RDR) :

Risque faible | Risque intermédiaire | Risque élevé

0 — 25 — 100

Sous-type : luminal A

* Le score RDR pour une patiente individuelle est une valeur comprise sur une échelle allant de 0 à 100, et qui est corrélée à la probabilité de récidive à distance à 10 ans (RD) dans la population testée. La classification du risque est indiquée afin d'orienter l'interprétation du RDR à l'aide des valeurs de seuils liés au risque obtenu auprès des populations testées.

Probabilité de récidive à distance :

Dans les études de validation cliniques, les patientes du sous-type luminal A sans envahissement ganglionnaire et score de RDR de 25 étaient dans le groupe à risque faible. Ce groupe avait en moyenne une probabilité de récidive à distance à 10 ans de 4 %.

L'algorithme Prosigna™ a été validé par 2 études cliniques randomisées regroupant plus de 2 400 patientes dont les taux de récidive à distance étaient variables. Une analyse de ces 2 études montre que la probabilité de récidive à distance de la population à faible risque est de 4 %, tandis que celle de la population à risque élevé est considérablement plus forte†.

Risque faible	Risque intermédiaire	Risque élevé
Moyenne groupe : 4 % IC 95 % : 3-5 %	Moyenne groupe : 11 % IC 95 % : 8-14 %	Moyenne groupe : 22 % IC 95 % : 18-27 %

Probabilité de récidive à distance à 10 ans (%) — 100, 80, 60, 40, 20, 0

4 % Probabilité de récidive à distance

0, 20, 40, 60, 80, 100

Risque de récidive (RDR)

Taux — IC 95 %

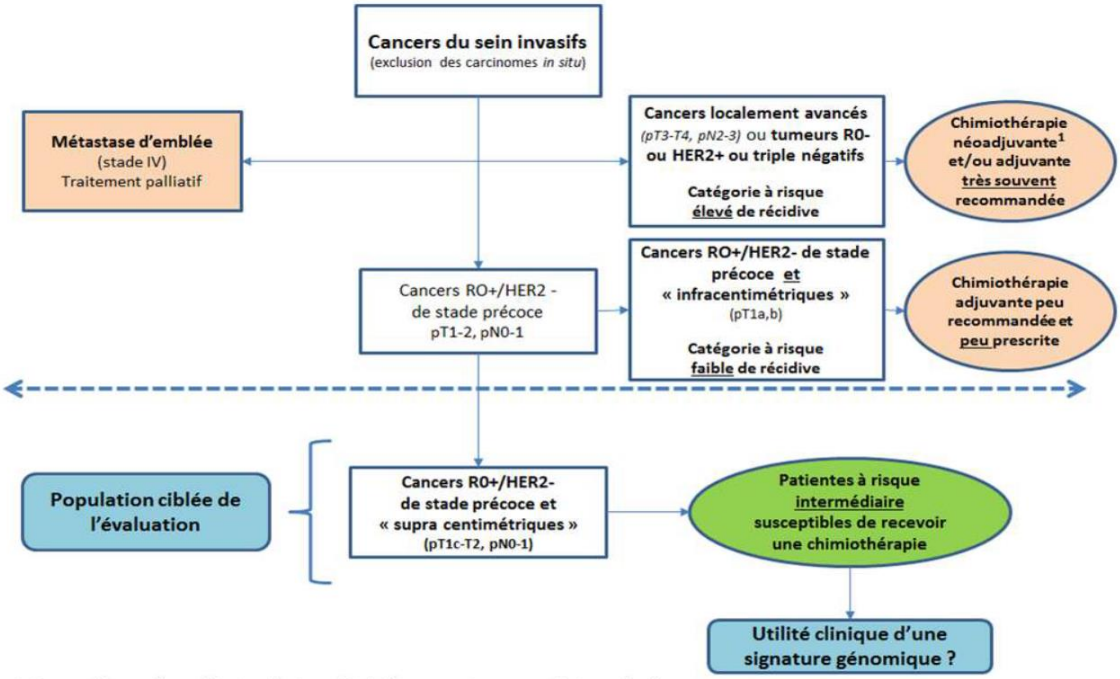
†Les données s'appliquent à des patientes traitées par hormonothérapie pendant 5 ans comme dans la population testée. Veuillez consulter la notice pour plus d'informations sur les schémas thérapeutiques et la population testée. On ne saurait déterminer si ces conclusions peuvent être étendues à d'autres populations de patientes ou d'autres schémas thérapeutiques.

NanoString Technologies, Inc. 530 Fairview Avenue N | Suite 2000 | Seattle, Washington 98109 | 1-206-378-6266 | nanostring.com

© 2013 NanoString Technologies, Inc. Pour plus d'informations, rendez-vous sur PROSIGNA.com ou envoyez un e-mail à l'adresse dxsupport@nanostring.com.

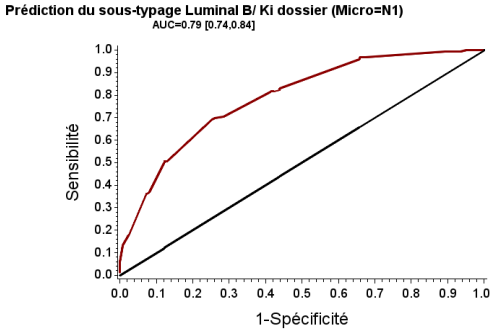
Annexe 9. Indications HAS

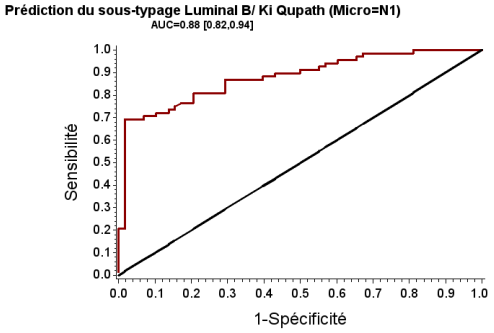
Figure 1 : Population ciblée préalablement pour l'évaluation susceptible de recevoir de la CTA

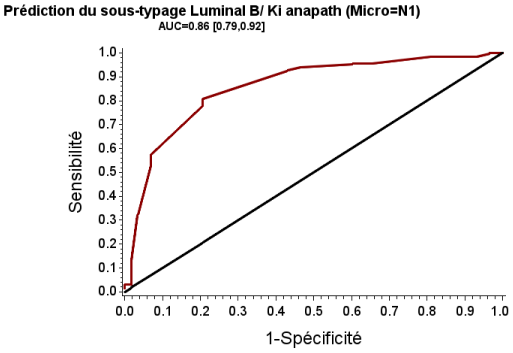


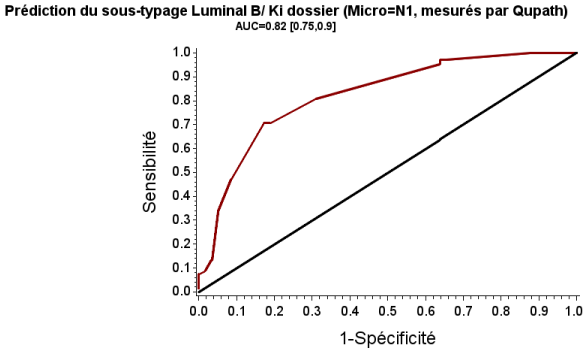
1- En complément d'une réduction du risque de récidive, un traitement systémique néoadjuvant (chimiothérapie, hormonothérapie, antiHER2) adapté en fonction du profil tumoral (hormono-résistance, statut HER2) vise à améliorer le taux de conservation du sein et de résécabilité complète d'une tumeur localement avancée.

Annexe 10- Courbes ROC, Concordance du sous type moléculaire clinico pathologique (avec Ki67 QuPath versus Ki67 du compte rendu) et sous type du test prosigna avec cut off 14% et cut off 20%

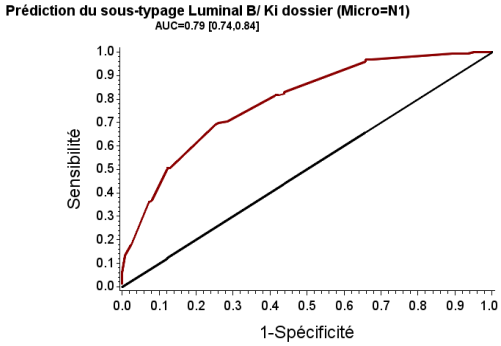


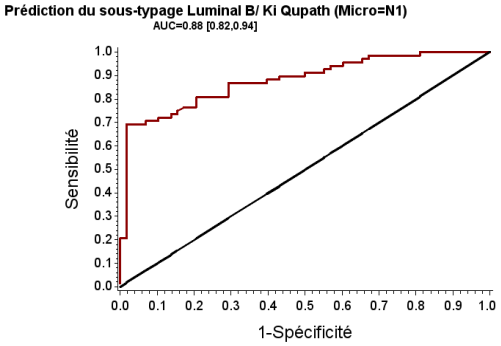


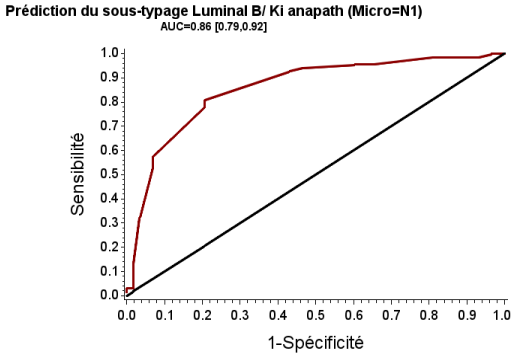


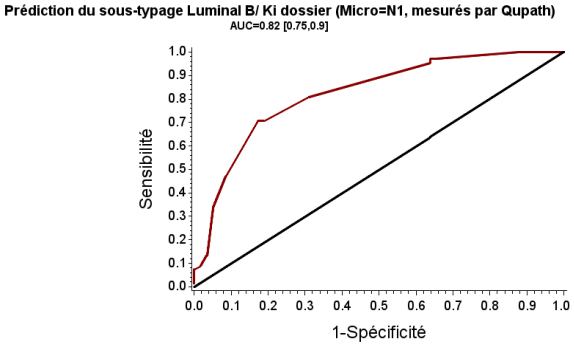


Annexe 11- Courbes ROC pour détermination du seuil Ki67 pour détermination du sous type moléculaire



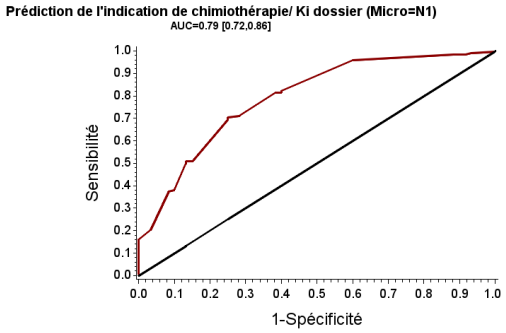


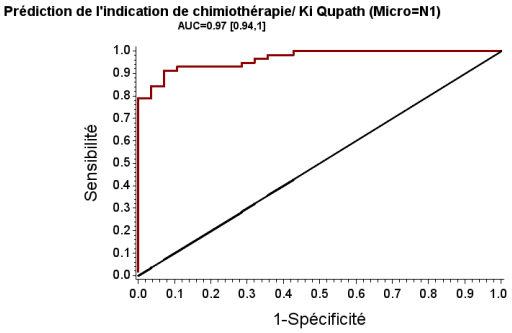


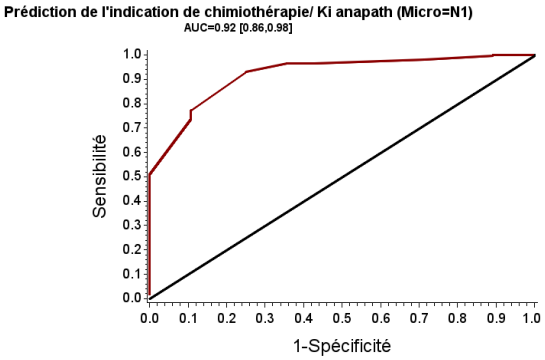


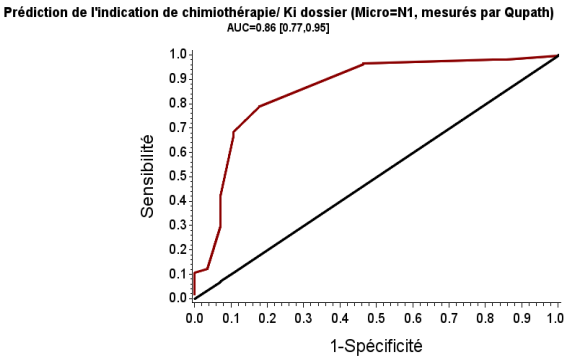
Annexe 12- Courbes ROC pour le seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque
En considérant les patients micro-métastatiques N1

Courbes ROC en fonction des Ki67 en continu en ne prenant en compte que les patients à risque faible et élevé



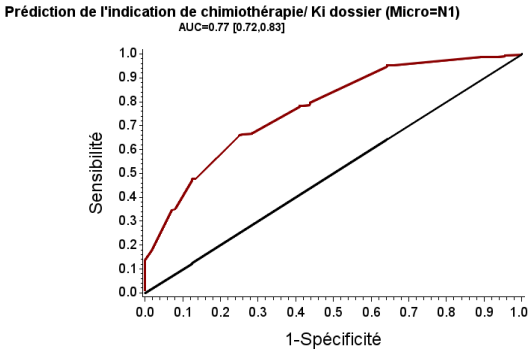


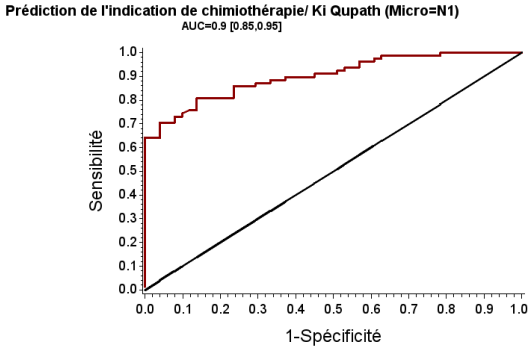


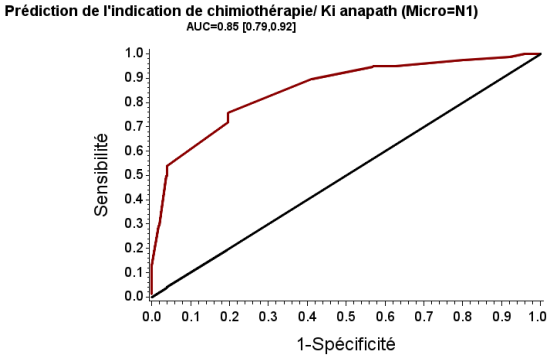


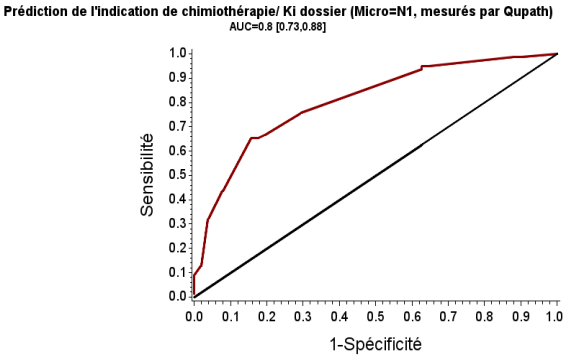
Courbes ROC en fonction des Ki67 en continu en prenant en compte tous les patients

NB : Les patients intermédiaires Luminal A sont considérés à risque faible et à risque élevé si Luminal B, Basal ou Her2 enrichi. En cas de risque élevé le test prosigna indique une chimiothérapie et pas de chimiothérapie en cas de risque faible.



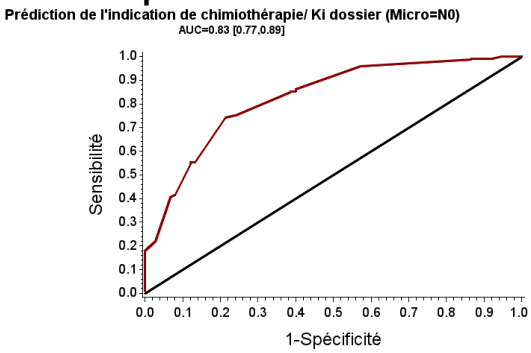


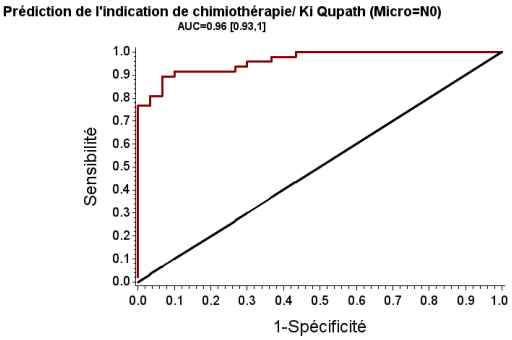


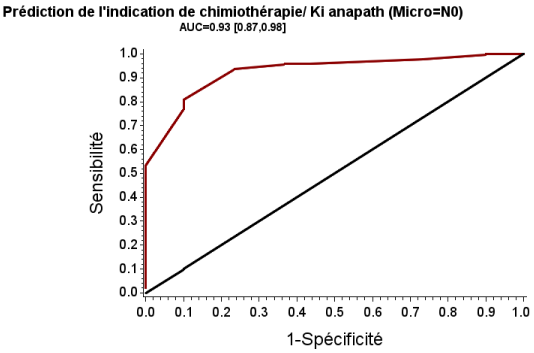


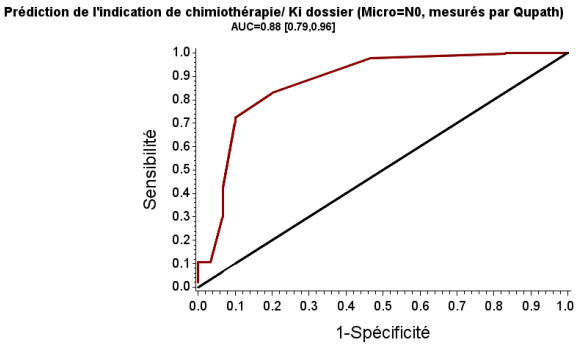
<u>En considérant les patients micro-métastatiques N0</u>

Courbes ROC en fonction des Ki67 en continu en ne prenant en compte que les patients à risque faible et élevé



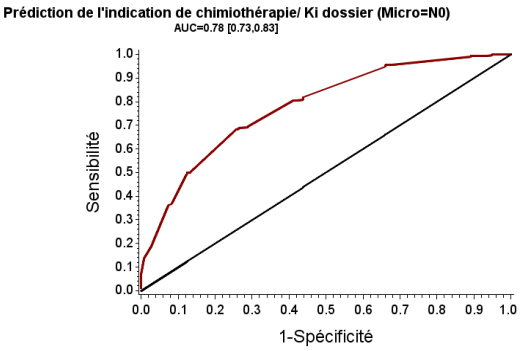


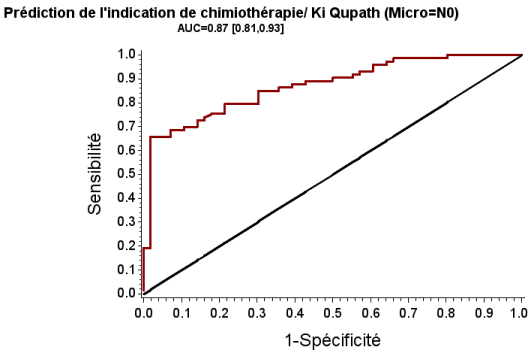


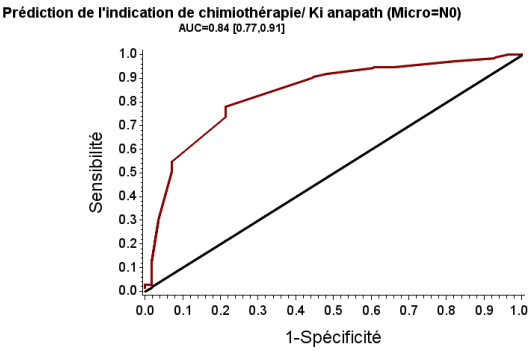


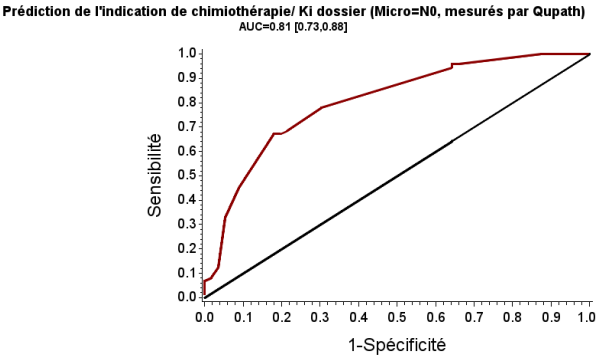
Courbes ROC en fonction des Ki67 en continu en prenant en compte tous les patients

NB : Les patients intermédiaires Luminal A sont considérés à risque faible et à risque élevé si Luminal B, Basal ou Her2 enrichi. En cas de risque élevé le test prosigna indique une chimiothérapie et pas de chimiothérapie en cas de risque faible.









Annexe 13 : Description de la population en fonction du niveau de risque

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=300)*	*1 (n=68)*	*2 (n=110)*	*3 (n=122)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
Age au diagnostic		n	300	68	110	122	0.081
		Mean (SD)	58.29 (11.83)	55.69 (11.45)	58.13 (12.00)	59.89 (11.70)	
		Median [Min - Max]	60.00 [29.00-84.00]	56.00 [34.00-75.00]	58.50 [29.00-78.00]	61.00 [35.00-84.00]	
Sexe	Féminin	n (%)	298 (99.33)	68 (100.0)	110 (100.0)	120 (98.36)	0.349
	Masculin	n (%)	2 (0.667)			2 (1.639)	
Type de chirurgie	Tumorectomie	n (%)	236 (81.66)	53 (80.30)	90 (85.71)	93 (78.81)	0.394
	Mastectomie	n (%)	53 (18.34)	13 (19.70)	15 (14.29)	25 (21.19)	
		Number of missing data	11	2	5	4	
Chirurgie sein droit/gauche	Gauche	n (%)	146 (50.69)	31 (46.97)	52 (50.00)	63 (53.39)	0.691
	Droit	n (%)	142 (49.31)	35 (53.03)	52 (50.00)	55 (46.61)	
		Number of missing data	12	2	6	4	
Grade SBR	1	n (%)	28 (9.655)	15 (22.73)	8 (7.619)	5 (4.202)	<.001
	2	n (%)	211 (72.76)	46 (69.70)	83 (79.05)	82 (68.91)	
	3	n (%)	51 (17.59)	5 (7.576)	14 (13.33)	32 (26.89)	
		Number of missing data	10	2	5	3	
Stade pT	1b	n (%)	22 (7.333)	9 (13.24)	10 (9.091)	3 (2.459)	0.011
	1c	n (%)	159 (53.00)	34 (50.00)	63 (57.27)	62 (50.82)	
	2	n (%)	112 (37.33)	22 (32.35)	37 (33.64)	53 (43.44)	
	3	n (%)	7 (2.333)	3 (4.412)		4 (3.279)	
Emboles vasculaires	Non vus	n (%)	202 (70.38)	45 (68.18)	72 (69.23)	85 (72.65)	0.518
	Rares	n (%)	28 (9.756)	6 (9.091)	8 (7.692)	14 (11.97)	
	Nombreux	n (%)	57 (19.86)	15 (22.73)	24 (23.08)	18 (15.38)	
		Number of missing data	13	2	6	5	
Récepteurs oestrogène (%)		n	277	63	101	113	0.474
		Mean (SD)	96.17 (10.47)	94.92 (12.39)	96.37 (11.09)	96.68 (8.598)	
		Median [Min - Max]	100.0 [30.00-100.0]	100.0 [40.00-100.0]	100.0 [30.00-100.0]	100.0 [60.00-100.0]	
		Number of missing data	23	5	9	9	
Récepteurs oestrogène (score)		n	278	63	101	114	0.096
		Mean (SD)	2.835 (0.409)	2.794 (0.446)	2.782 (0.482)	2.904 (0.297)	
		Median [Min - Max]	3.000 [1.000-3.000]	3.000 [1.000-3.000]	3.000 [1.000-3.000]	3.000 [2.000-3.000]	

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=300)*	*1 (n=68)*	*2 (n=110)*	*3 (n=122)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
	1	n (%)	4 (1.444)	1 (1.587)	3 (3.000)		0.123
	2	n (%)	38 (13.72)	11 (17.46)	16 (16.00)	11 (9.649)	
	3	n (%)	235 (84.84)	51 (80.95)	81 (81.00)	103 (90.35)	
		Number of missing data	22	5	9	8	
Récepteurs progestérone (%)		n	276	63	101	112	0.019
		Mean (SD)	66.20 (38.63)	71.44 (36.89)	71.70 (36.23)	58.29 (40.59)	
		Median [Min - Max]	90.00 [0.000-100.0]	90.00 [0.000-100.0]	90.00 [0.000-100.0]	70.00 [0.000-100.0]	
		Number of missing data	24	5	9	10	
Récepteurs progestérone (score)		n	277	63	101	113	0.026
		Mean (SD)	2.462 (0.919)	2.492 (0.931)	2.594 (0.839)	2.327 (0.968)	
		Median [Min - Max]	3.000 [0.000-3.000]	3.000 [0.000-3.000]	3.000 [0.000-3.000]	3.000 [0.000-3.000]	
	0	n (%)	24 (8.696)	5 (7.937)	7 (7.000)	12 (10.62)	0.089
	1	n (%)	10 (3.623)	4 (6.349)	2 (2.000)	4 (3.540)	
	2	n (%)	57 (20.65)	9 (14.29)	16 (16.00)	32 (28.32)	
	3	n (%)	185 (67.03)	45 (71.43)	75 (75.00)	65 (57.52)	
		Number of missing data	23	5	9	9	
HER (score)		n	275	62	100	113	0.985
		Mean (SD)	0.964 (0.832)	0.952 (0.876)	0.960 (0.777)	0.973 (0.860)	
		Median [Min - Max]	1.000 [0.000-2.000]	1.000 [0.000-2.000]	1.000 [0.000-2.000]	1.000 [0.000-2.000]	
	0	n (%)	100 (36.36)	25 (40.32)	32 (32.00)	43 (38.05)	0.194
	1	n (%)	85 (30.91)	15 (24.19)	40 (40.00)	30 (26.55)	
	2	n (%)	90 (32.73)	22 (35.48)	28 (28.00)	40 (35.40)	
		Number of missing data	25	6	10	9	
DDISH	Non amplifié	n (%)	82 (96.47)	20 (100.0)	25 (96.15)	37 (94.87)	0.795
	Equivoque	n (%)	3 (3.529)		1 (3.846)	2 (5.128)	
		Number of missing data	215	48	84	83	
FISH	Non amplifié	n (%)	7 (63.64)	3 (100.0)	1 (50.00)	3 (50.00)	0.727
	Equivoque	n (%)	3 (27.27)		1 (50.00)	2 (33.33)	
	Amplification	n (%)	1 (9.091)			1 (16.67)	
		Number of missing data	289	65	108	116	
Ki67 dossier		n	282	60	104	118	<.001

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=300)*	*1 (n=68)*	*2 (n=110)*	*3 (n=122)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
(%)		Mean (SD)	19.53 (13.57)	12.22 (9.026)	17.65 (12.95)	24.91 (13.91)	
		Median [Min - Max]	18.00 [1.000-80.00]	10.00 [1.000-35.00]	15.00 [1.000-80.00]	24.00 [1.000-80.00]	
		Number of missing data	18	8	6	4	
Ki67 anapath (%)		n	129	28	44	57	<.001
		Mean (SD)	14.62 (9.617)	6.321 (3.973)	13.73 (7.340)	19.39 (10.21)	
		Median [Min - Max]	15.00 [1.000-60.00]	5.000 [1.000-15.00]	11.50 [2.000-30.00]	17.00 [3.000-60.00]	
		Number of missing data	171	40	66	65	
Ki67 Qupath (%)		n	129	28	44	57	<.001
		Mean (SD)	15.85 (11.00)	5.730 (3.573)	13.57 (6.932)	22.58 (11.50)	
		Median [Min - Max]	14.13 [0.810-63.23]	4.705 [0.810-14.37]	13.36 [2.900-30.19]	19.92 [5.250-63.23]	
		Number of missing data	171	40	66	65	
Taille tumorale (mm)		n	299	68	109	122	0.070
		Mean (SD)	20.58 (10.96)	20.96 (15.61)	18.80 (6.960)	21.97 (10.62)	
		Median [Min - Max]	19.00 [6.000-120.0]	17.00 [6.000-120.0]	18.00 [7.000-40.00]	20.00 [6.000-70.00]	
		Number of missing data	1	0	1	0	
Statut ganglionnaire	0	n (%)	213 (71.00)	56 (82.35)	76 (69.09)	81 (66.39)	0.245
	0i+	n (%)	22 (7.333)	5 (7.353)	9 (8.182)	8 (6.557)	
	1 mi/2 mi	n (%)	43 (14.33)	5 (7.353)	16 (14.55)	22 (18.03)	
	1/2	n (%)	22 (7.333)	2 (2.941)	9 (8.182)	11 (9.016)	
Sous type moléculaire	A	n (%)	136 (45.33)	68 (100.0)	56 (50.91)	12 (9.836)	<.001
	B	n (%)	157 (52.33)		52 (47.27)	105 (86.07)	
	Basal	n (%)	2 (0.667)		1 (0.909)	1 (0.820)	
	Her2 enrichi	n (%)	5 (1.667)		1 (0.909)	4 (3.279)	
Risque de récidive		n	300	68	110	122	<.001
		Mean (SD)	50.34 (18.71)	27.71 (10.06)	46.01 (11.43)	66.86 (10.56)	
		Median [Min - Max]	53.00 [4.000-92.00]	29.50 [4.000-40.00]	48.00 [16.00-60.00]	68.00 [33.00-92.00]	
Probabilité de récidive à distance en %		n	300	68	110	122	<.001
		Mean (SD)	14.71 (8.780)	5.206 (1.482)	11.01 (2.425)	23.34 (6.762)	
		Median [Min - Max]	13.00 [2.000-44.00]	5.500 [2.000-7.000]	11.00 [6.000-15.00]	22.00 [15.00-44.00]	
Indication de	Non	n (%)	88 (30.77)	34 (53.97)	37 (35.24)	17 (14.41)	<.001

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=300)*	*1 (n=68)*	*2 (n=110)*	*3 (n=122)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
chimiothérapie avant test prosigna	Oui	n (%)	198 (69.23)	29 (46.03)	68 (64.76)	101 (85.59)	
		Number of missing data	14	5	5	4	
Indication de chimiothérapie après test prosigna (en considérant les patients micro-métastatiques N1)	Non	n (%)	124 (41.33)	68 (100.0)	56 (50.91)		<.001
	Oui	n (%)	176 (58.67)		54 (49.09)	122 (100.0)	
Indication de chimiothérapie après test prosigna (en considérant les patients micro-métastatiques N0)	Non	n (%)	133 (44.48)	68 (100.0)	56 (51.38)	9 (7.377)	<.001
	Oui	n (%)	166 (55.52)		53 (48.62)	113 (92.62)	
		Number of missing data	1		1		
Chimiothérapie réaliséz ou non	Non	n (%)	116 (49.79)	50 (100.0)	49 (62.82)	17 (16.19)	<.001
	Oui	n (%)	117 (50.21)		29 (37.18)	88 (83.81)	
		Number of missing data	67	18	32	17	

Annexe 14 : seuil du ki67 en considérant patients micrométastase NO pour determiner niveau de risque

Recherche d'un seuil du Ki67 pour déterminer le niveau de risque, en ne prenant en compte que les patients à risque faible et élevé

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=77)*	*ELEVE (n=47)*	*FAIBLE (n=30)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
Ki67 dossier (%) pour les 300 cas		n	177	101	75	<.001
		Mean (SD)	19.93 (14.00)	26.14 (14.11)	11.69 (8.629)	
		Median [Min - Max]	20.00 [1.000-80.00]	25.00 [2.000-80.00]	10.00 [1.000-35.00]	
	< 20	n (%)	86 (48.59)	26 (25.74)	59 (78.67)	<.001
	>= 20	n (%)	91 (51.41)	75 (74.26)	16 (21.33)	
		Number of missing data	13	4	9	
Ki67 anapath centralisé (%) pour les 129 cas		n	77	47	30	<.001
		Mean (SD)	14.38 (10.49)	19.53 (10.14)	6.300 (3.843)	
		Median [Min - Max]	15.00 [1.000-60.00]	20.00 [3.000-60.00]	5.000 [1.000-15.00]	
	< 13	n (%)	36 (46.75)	9 (19.15)	27 (90.00)	<.001
	>= 13	n (%)	41 (53.25)	38 (80.85)	3 (10.00)	
Ki67 Qupath (%) pour les 129 cas		n	77	47	30	<.001
		Mean (SD)	16.00 (12.37)	22.56 (11.51)	5.729 (3.464)	
		Median [Min - Max]	13.68 [0.810-63.23]	20.95 [5.250-63.23]	4.705 [0.810-14.37]	
	< 11.22	n (%)	33 (42.86)	5 (10.64)	28 (93.33)	<.001
	>= 11.22	n (%)	44 (57.14)	42 (89.36)	2 (6.667)	
Ki67 dossier (%) pour les 129 cas		n	77	47	30	<.001
		Mean (SD)	18.55 (15.08)	24.62 (15.47)	9.033 (7.955)	
		Median [Min - Max]	15.00 [1.000-80.00]	20.00 [5.000-80.00]	5.000 [1.000-35.00]	
	< 15	n (%)	32 (41.56)	8 (17.02)	24 (80.00)	<.001
	>= 15	n (%)	45 (58.44)	39 (82.98)	6 (20.00)	

Courbes ROC en fonction des Ki67 en continu en prenant en compte tous les patients

NB : Les patients intermédiaires Luminal A sont considérés à risque faible et à risque élevé si Luminal B, Basal ou Her2 enrichi. En cas de risque élevé le test prosigna indique une chimiothérapie et pas de chimiothérapie en cas de risque faible.

Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=129)*	*NON (n=56)*	*OUI (n=73)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
Ki67 dossier (%) pour les 300 cas		n	282	121	160	<.001
		Mean (SD)	19.53 (13.57)	12.69 (8.589)	24.77 (14.35)	
		Median [Min - Max]	18.00 [1.000-80.00]	10.00 [1.000-40.00]	21.50 [2.000-80.00]	
	< 20	n (%)	142 (50.35)	90 (74.38)	51 (31.88)	<.001
	>= 20	n (%)	140 (49.65)	31 (25.62)	109 (68.13)	
		Number of missing data	18	12	6	
Ki67 anapath		n	129	56	73	<.001

	Test	*Classes*	*Statistics*	*All (n=129)*	*NON (n=56)*	*OUI (n=73)*	*p-valeur (wilcoxon ou fisher-exact)*
centralisé (%) pour les 129 cas		Mean (SD)	14.62 (9.617)	9.054 (6.610)	18.89 (9.405)		
		Median [Min - Max]	15.00 [1.000-60.00]	7.000 [1.000-40.00]	20.00 [2.000-60.00]		
	< 13	n (%)	60 (46.51)	44 (78.57)	16 (21.92)		<.001
	>= 13	n (%)	69 (53.49)	12 (21.43)	57 (78.08)		
Ki67 Qupath (%) pour les 129 cas		n	129	56	73		<.001
		Mean (SD)	15.85 (11.00)	8.734 (5.439)	21.31 (11.09)		
		Median [Min - Max]	14.13 [0.810-63.23]	7.975 [0.810-29.73]	19.92 [3.890-63.23]		
	< 13.56	n (%)	59 (45.74)	44 (78.57)	15 (20.55)		<.001
	>= 13.56	n (%)	70 (54.26)	12 (21.43)	58 (79.45)		
Ki67 dossier (%) pour les 129 cas		n	129	56	73		<.001
		Mean (SD)	18.33 (13.67)	11.25 (8.404)	23.77 (14.47)		
		Median [Min - Max]	15.00 [1.000-80.00]	10.00 [1.000-40.00]	20.00 [5.000-80.00]		
	< 20	n (%)	70 (54.26)	46 (82.14)	24 (32.88)		<.001
	>= 20	n (%)	59 (45.74)	10 (17.86)	49 (67.12)		

VIII. TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableaux :

Tableau 1 : Classification du risque par plage de RDR et etat ganglionnaire 27
Tableau 2 : Description de la population generale 48
Tableau 3 : Sous type moleculaire et risque 50
Tableau 4 : Evaluation des emboles vasculaires 50
Tableau 5 : Evaluation des Recepteurs Hormonaux 51
Tableau 6 : Impact du test Prosigna® sur l'indication de chimiotherapie (CT) en considerant les patients micro-metastatiques comme N1 55
Tableau 7 : Impact du test Prosigna® sur l'indication de chimiotherapie en considerant les patients micro-metastatiques comme N0 55
Tableau 8 : Description des 129 cas analyse par logiciel QuPath 58
Tableau 9: Recherche d'un seuil du Ki67 pour determiner le sous type moleculaire 66
Tableau 10 : Recherche d'un seuil du Ki67 pour determiner le niveau de risque, en ne prenant en compte que les patientes a risque faible et eleve 67
Tableau 11 : Recherche d'un seuil du Ki67 pour determiner le niveau de risque, en ne prenant en compte tous les patientes 68
Tableau 12 : Evaluation de la concordance du sous type moleculaire clinico pathologique et du sous type moleculaire du test selon un cut off a 14% ou cut off a 20% dans la cohorte des 300 patients 71
Tableau 13 : Evaluation de la concordance du sous type moleculaire clinico-pathologique (avec Ki67 QuPath versus Ki67 du CR d'anatomopathologie) et sous type du test Prosigna avec un cut off a 14% et un cut off a 20%.... 72
Tableau 14: Tableau de comparaison population N0 et N1 76

Figures :

Figure 1 : Evolution naturelle du cancer du sein 4
Figure 2 : Anatomie de la glande mammaire 5
Figure 3 : Histologie du tissu mammaire normal 15
Figure 4 : Les sous types luminal A et luminal B : pronostics differents 17
Figure 5 : Survie sans maladie en fonction en fonction du type de cancer et du traitement par chimiotherapie- essai DBCG77B (Nielsen TO et al., abstr.S1-08, San Antonio 2015) 17
Figure 6 : Les sous types intrinseques ont une expression genique distincte 24
Figure 7 : Algorithme avec des calculs complexes bases sur PAM50 et des criteres histocliniques 24
Figure 8 : Etapes du test Prosigna® 25
Figure 9 : Likelihood Ratio x 2 Values for Years 0-10, Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer 32
Figure 10 : Hybridation du CodeSet avec l'ARNm 37
Figure 11 : Elimination des sondes rapporteuses en exces 37
Figure 12 : Liaison des sondes rapporteuses hybridees a la surface de la cartouche 38
Figure 13 : Alignement et immobilisation des sondes rapporteuses hybridees 38
Figure 14 : Collecte des donnees 38
Figure 15 : Analyse du profil d'expression du patient 39

Graphes :

Graphe 1 : Localisation tumorale 49
Graphe 2 : Ki67 moyen en fonction du niveau de risque, du sous type moleculaire et du grade SBR 57
Graphe 3: Ki67 moyen en fonction du grade SBR concernant les 129 cas 59
Graphe 4 : correlation du Ki67 en fonction du grade SBR concernant les 129 cas 60
Graphe 5 : Ki67 moyen en fonction du niveau de risque concernant les 129 cas 61
Graphe 6 : Correlation du Ki67 en fonction du niveau de risque concernant les 129 cas 62
Graphe 7 : Ki67 moyen en fonction du sous type moleculaire concernant les 129 cas (graphe de gauche en prenant en compte tous les sous types moleculaires, et graphe de droite en ne conservant que Luminal A et Luminal B) ... 62

GRAPHE 8 : VARIATION DU KI67 EN FONCTION DES DIFFERENTES TECHNIQUES D'EVALUATION ET DU SOUS TYPE MOLECULAIRE CONCERNANT LES 129 CAS 63
GRAPHE 9 : COURBES ROC : KI67 EN FONCTION DES DIFFERENTES TECHNIQUES POUR EVALUER LE SOUS TYPE MOLECULAIRE 63
GRAPHE 10 : CORRELATION DU KI67 EN FONCTION DU SOUS TYPE MOLECULAIRE CONCERNANT LES 129 CAS 64
GRAPHE 11 : CORRELATION DES TECHNIQUES ENTRE ELLES 65
GRAPHE 12 : VARIATION DE LA PROBABILITE DE RECIDIVE A DISTANCE DES CAS N1MI EN FONCTION DE LA CATEGORISATION EN N0 OU N1 74
GRAPHE 13 : CAS LUMINAL A : NIVEAU DE RISQUE EN FONCTION DU POIDS ATTRIBUE AU STATUT PN1MI : N1 OU N0 74
GRAPHE 14 : CAS LUMINAL B : NIVEAU DE RISQUE EN FONCTION DU POIDS ATTRIBUE AU STATUT PN1MI : N1 OU N0 75

Images :

IMAGE 1 : LOGICIEL QUPATH 41
IMAGE 2 : OUVERTURE D'UNE LAME SCANNEE D'IMMUNOHISTOCHIMIE KI67 DANS LE LOGICIEL QUPATH 41
IMAGE 3 : SELECTION D'UNE ZONE REPRESENTATIVE 42
IMAGE 4 : COMPTAGE CELLULAIRE PAR LE LOGICIEL DE TOUTES LES CELLULES DETECTABLES AVEC COMPTE DE CELLULES POSITIVES POUR L'IMMUNOHISTOCHIMIE ET CELLES NEGATIVES 42
IMAGE 5 : APPRENTISSAGE AU LOGICIEL A RECONNAITRE LES CELLULES DU STROMA ENVIRONNANT VERSUS LES CELLULES TUMORALES 43
IMAGE 6 : COMPTAGE DU NOMBRE DE CELLULES TUMORALES POSITIVES POUR L'IMMUNOHISTOCHIMIE VERSUS LES NEGATIVES, SANS COMPTER LES CELLULES DE L'ENVIRONNEMENT TUMORAL 43

Organigrammes :

ORGANIGRAMME 1 : MODIFICATION DE LA DECISION THERAPEUTIQUE POUR LES CAS OU IL EXISTAIT UNE INDICATION THEORIQUE DE CHIMIOTHERAPIE EN PRE TEST SELON LES CRITERES ONCOPRATIK 53
ORGANIGRAMME 2 : MODIFICATION DE LA DECISION THERAPEUTIQUE POUR LES CAS OU IL N'EXISTAIT PAS D'INDICATION THEORIQUE DE CHIMIOTHERAPIE EN PRE TEST SELON LES CRITERES ONCOPRATIK 54

IX. ABREVIATIONS

RH = récepteur hormonaux

RP = récepteur progestérone

RE = récepteur estrogène

CR = compte rendu

CS = cancer du sein

IHC : immunohistochimie

HIS = hybridation in situ

SBR = Scarff-Bloom-Richardson

IPC = Institut Paoli Calmette

SG = signature génomique

DM : Données manquantes

PRD = Probabilité de récidive à distance

RIHN = Référentiel des actes innovants hors nomenclatures

CTA = Chimiothérapie adjuvante

RCP = Réunion de Concertation Pluridisciplinaire

AJCC = American Joint Committee on Cancer

UICC = International Union against Cancer

qRT-PCR = quantitative reverse transcriptase - polymerase chain reaction

FDA = Food and Drug Administration

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les moeurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

ORDRE NATIONAL DES MÉDECINS
Conseil National de l'Ordre

Apport de la signature génomique par Prosigna® dans la décision de prise en charge thérapeutique adjuvante par chimiothérapie chez des patients atteints de cancer du sein RH+ HER2- : étude rétrospective à propos de 300 cas à l'Institut Paoli Calmettes.

Introduction : Plusieurs signatures moléculaires validées pour la décision de traitement adjuvant du cancer du sein sont utilisées dans la pratique clinique. L'une d'elles, Prosigna® fournit un algorithme utilisant l'expression d'une cinquantaine de gènes (PAM 50) et des variables clinico-pathologiques (taille et statut ganglionnaire). Cette signature permet la classification des tumeurs en sous-types moléculaires (Luminal A, Luminal B, HER2-enrichi, Basal-like) et fournit un score de risque de récidive à 10 ans.

Objectif : Evaluer l'impact du résultat du score Prosigna® sur la prise de décision de chimiothérapie adjuvante. Evaluer l'expression de l'index de prolifération Ki67 dans la prédiction du niveau de risque et du sous type moléculaire du test Prosigna®.

Méthodes : Mon travail de thèse repose sur une étude rétrospective à propos de 300 patients présentant un cancer du sein au stade précoce RH+/HER2-, qui ont bénéficié du test Prosigna® à l'IPC entre août 2016 et octobre 2019. L'analyse du Ki67 a été réalisée en faisant appel au machine learning sur lames digitalisées par le biais d'une plateforme de lecture d'image en open source, QuPath en le comparant à l'analyse manuelle du Ki67.

Résultats : En analysant les résultats du score Prosigna® et les décisions de traitement adjuvant basées sur les critères de prise de décision institutionnels, nous avons observé un taux de modification de choix thérapeutique dans 33%. Avec une tendance significative à rétrograder sur la décision de chimiothérapie dans 21,33%, largement supérieure à l'upgrading dans 11,89% (Sensibilité : 80,12%, Spécificité : 46,96%, p : 0.0056).

Nous avons mis en évidence une corrélation significative de l'expression du Ki67 avec des critères histo-pronostiques tel que le grade SBR et le sous type moléculaire et le niveau de risque évalués par le score Prosigna®, que ce soit avec des techniques d'analyse manuelle ou par intelligence artificielle, avec une supériorité pour la technique d'intelligence artificielle. On obtient par intelligence artificielle un seuil du Ki67 à 13,56 pour déterminer le sous type moléculaire et le niveau de risque.

Conclusion : L'utilisation du test Prosigna® a eu une incidence claire sur la prise de décision thérapeutique et notre cohorte nous a permis de tenter d'établir des seuils optimaux pour le Ki67 afin de prédire le sous type moléculaire et le niveau de risque rendu par le test.

Mots clés : Récepteur hormonaux/ HER2/ critère histo-pronostique /classification moléculaire / signature génomique / PAM50 / Prosigna® / Luminal / Ki67 / QuPath / sous type moléculaire / niveau de risque / indication de chimiothérapie.