



Article Original

Profil d'Expression de l'Oncoprotéine Her2 dans les Carcinomes Mammaires au Cameroun

Expression Profile of Her2 Oncoprotein in Breast Carcinoma in Cameroon

Ngo Pambe^{1,2}, CJ, Mayemi E^{1,3}, Atenguena E^{3,4}, Ananga Noa s^{5,6}, Essame O⁷, Mendimi Nkodo JM^{4,8}

Affiliations

1. Faculté de Médecine et des sciences biomédicales, Université de Garoua
2. Hôpital Général de Garoua,
3. Hôpital Général de Yaoundé
4. Faculté de Médecine et de sciences biomédicales, Université de Yaoundé I
5. Hôpital Général de Douala
6. Faculté de Médecine et des sciences pharmaceutiques, Université de Douala
7. Institut de Recherches Médicales et d'études de plantes Médicinales
8. Hôpital Jamot de Yaoundé

Auteur correspondant

Dr Mayemi épouse Tchofo Kingue
Emmanuella Régine service anatomie pathologique-morgue de l'hôpital général à Yaoundé
Tel : (+237) 674469395
Email: emmanuelaregine@yahoo.fr

Mots clés : cancer, sein, oncoprotéine her2, immunohistochimie, Cameroun

Key words: cancer, breast, HER2 oncoprotein, immunohistochemistry, Cameroon

RESUME

Introduction. Au Cameroun, peu d'études ont été effectuées sur l'expression de l'oncoprotéine HER2 dans les carcinomes mammaires. L'objectif de notre étude était d'étudier le profil d'expression de l'oncoprotéine HER2 dans les carcinomes mammaires au Cameroun. **Méthodologie.** Il s'agissait d'une étude transversale sur une période de 2 ans allant de 2013 à 2014, portant sur tous les cas de carcinome mammaire reçus au centre pasteur du Cameroun. Pour chaque cas nous avons déterminé l'âge, les types histologiques des tumeurs, le stade pathologique, le statut des récepteurs hormonaux de chaque cas, les grades histopronostiques selon Ellis et Elston, la recherche de l'oncoprotéine HER2, l'index de prolifération (Ki67). **Résultats.** Nous avons inclus 84 carcinomes mammaires avec une moyenne d'âge de 49,95±14,19. Les types histologiques observés étaient de façon décroissante canalaire, papillaire, lobulaire, colloïde et composite. La fréquence des cancers Her2+ était de 14% avec une prédominance pour les tumeurs non hormono-dépendantes (66,7%). La surexpression de l'oncoprotéine HER2 était plus importante pour les grades 2 et 3 selon Ellis et Elston (83%) et pour un index de prolifération supérieur à 20% soit 3/4 des tumeurs Her2+. Par ailleurs les cancers triple-négatifs étaient les plus fréquents soit 42,8% de tous les carcinomes mammaires. Il n'y avait pas d'association significative entre les facteurs morphologiques et l'expression de l'oncoprotéine Her2 dans les cancers mammaires : grade histologique (P=0,209), type histologique (P=1), récepteurs hormonaux (P=0,357) et l'index de prolifération (P=0,487). **Conclusion.** Les carcinomes mammaires surviennent chez la femme jeune dans notre milieu. Le phénotype "triple négatif" est plus fréquent. La fréquence des cancers Her2+ est de 14% avec une prédominance pour les tumeurs non hormono-dépendantes (66,7%). Par ailleurs le profil immunohistochimique des cancers du sein au CPC offre une rationalité pour un meilleur choix thérapeutique avec des molécules ciblées.

ABSTRACT

Introduction. In Cameroon, few studies have been conducted on the expression of the HER2 oncoprotein in breast carcinomas. The objective of our study was to investigate the expression profile of the HER2 oncoprotein in breast carcinomas in Cameroon. **Methodology.** This was a cross-sectional study over a period of 2 years from 2013 to 2014, focusing on all cases of breast carcinoma received at the Pasteur Center in Cameroon. For each case, we determined the age, histological types of tumors, pathological stage, hormonal receptor status of each case, histoprognostic grades according to Ellis and Elston, HER2 oncoprotein search, and proliferation index (Ki67). **Results.** We included 84 breast carcinomas with a mean age of 49.95±14.19. The observed histological types were in descending order ductal, papillary, lobular, colloid, and composite. The frequency of Her2+ cancers was 14% with a predominance for non-hormone-dependent tumors (66.7%). HER2 oncoprotein overexpression was more common for grades 2 and 3 according to Ellis and Elston (83%) and for a proliferation index greater than 20%, accounting for 3/4 of Her2+ tumors. Furthermore, triple-negative cancers were the most common, accounting for 42.8% of all breast carcinomas. There was no significant association between morphological factors and HER2 oncoprotein expression in breast cancers: histological grade (P=0.209), histological type (P=1), hormonal receptors (P=0.357), and proliferation index (P=0.487). **Conclusion.** Breast carcinomas occur in young women in our environment. The "triple negative" phenotype is more common. The frequency of Her2+ cancers is 14% with a predominance for non-hormone-dependent tumors (66.7%). Furthermore, the immunohistochemical profile of breast cancers at the CPC provides a rationale for a better therapeutic choice with targeted molecules.



POUR LES LECTEURS PRESSÉS**Ce qui est connu du sujet**

L'OMS et les sociétés savantes recommandent pour tout nouveau cas de cancer du sein invasif, la connaissance du statut HER2/neu de la tumeur indispensable pour établir le diagnostic, le pronostic et la prédiction à une réponse à la thérapie

La question abordée dans cette étude

Profil d'expression de l'oncoprotéine HER2 des cancers mammaires diagnostiqués au Centre Pasteur du Cameroun (CPC) de janvier 2013 à avril 2015.

Ce que cette étude apporte de nouveau

1. Le carcinome mammaire est fréquent chez la femme jeune de moins de 50 ans (53,6%).
2. Le carcinome canalaire invasif est le type le plus fréquent.
3. Les tumeurs hormonodépendantes et les tumeurs avec expression des récepteurs à œstrogènes ou à la progestérone représentent 47,6% de la population.
4. La fréquence de surexpression de l'oncoprotéine HER2 est de 14% avec une prédominance pour les tumeurs non hormonodépendantes et les tumeurs avec une faible expression en récepteurs à œstrogène ou à progestérone.
5. La surexpression de l'oncoprotéine HER2 est plus importante pour les grades 2 et 3 ainsi que pour un index de prolifération supérieur à 20%.
6. On note une forte proportion de cancers mammaires dits triple-négatifs (42,8%).

Les implications pour la pratique, les politiques ou les recherches futures.

Des études multicentriques sur une population plus grande sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

INTRODUCTION

Le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2/neu, HER2, c-erb-B 2) est un membre de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase impliqué dans la prolifération, la survie, la migration et l'angiogenèse de plusieurs tumeurs solides (1,2). L'OMS et les sociétés savantes recommandent pour tout nouveau cas de cancer du sein invasif, la connaissance du statut HER2/neu de la tumeur indispensable pour établir le diagnostic, le pronostic et la prédiction à une réponse à la thérapie. En Afrique Noire francophone et au Cameroun en particulier plusieurs études concernant l'épidémiologie, les aspects anatomo-cliniques et le statut des récepteurs hormonaux des cancers du sein ont été effectuées (3-8). Cependant, peu d'études ont porté sur l'expression de l'oncoprotéine HER2 dans les carcinomes mammaires.

PATIENTES ET MÉTHODES**Echantillonnage**

Cette étude transversale nous a permis de recenser 93 cas de carcinome mammaire au CPC sur une période de 2 ans de 2013 à 2014 pour le volet rétrospectif et sur 4 mois de Janvier à Avril 2015 pour le volet prospectif. Pour chaque cas nous avons déterminé l'âge, les types histologiques des tumeurs, le stade pathologique, le statut des récepteurs hormonaux de chaque cas, les grades

histopronostiques selon Ellis et Elston, la recherche de l'oncoprotéine HER2, l'index de prolifération (Ki67).

Immunohistochimie

Il s'agissait d'une part d'identifier tous les comptes-rendus de diagnostic de carcinomes invasifs du sein avec analyse immunohistochimique dans les registres des laboratoires du CPC et procéder à la relecture des lames correspondantes. D'autre part les échantillons fixés au formol tamponné à 10% pendant 6 sans dépasser 72 heures pour les pièces opératoires étaient soumis après réception au laboratoire à un examen d'histopathologie standard. Ensuite des analyses immunohistochimiques étaient réalisées après confirmation histologique du cancer. La technique de l'immunohistochimie était faite manuellement ; elle consistait en plusieurs étapes après un choix minutieux des blocs tissulaires et la réalisation de coupes de 3 µm et laissé à incubation à température ambiante. Un déparaffinage, une réhydratation, l'inhibition de la peroxydase endogène, un démasquage antigénique par la chaleur dans du tampon citrate 10mM pH6 dilué au 1/10^{ème} pendant 45 min à 95° dans le bain-marie ; puis nous avons laissé refroidir à température ambiante pendant 20min. Nous avons procédé ensuite au blocage de la fixation non-spécifique des anticorps, puis l'application de l'anticorps primaire pendant 30 minutes pour RP : RM-9102-R7 (7.0ml) et RE : RM9101-S0-R7 (7.0ml), et pour anti-oncoprotéine humaine c-erbB2 :C-erbB-2/her-2/neu 7ml à température ambiante, suivi de l'application de l'anticorps secondaire (BiotinylatedGoat Anti-Polyvalent) pendant 10 min et l'application de la Streptavidinperoxydase. La révélation de la peroxydase endogène à l'abri de la lumière a été faite par ajout d'une goutte du DAB Plus CHROMOGEN à 2 ml de DAB Plus Substrate ; enfin une contre-coloration à l'Hématoxyline-éosine. Un contrôle positif 3+ a été ajouté pour chaque série d'immunomarquage. Les résultats ont été codifiés comme suit : Les récepteurs hormonaux ont été considérés positifs lorsque plus de 10% des cellules tumorales présentaient un marquage nucléaire. Nous avons donc une classification en deux groupes (+ et -). Les résultats de l'analyse du statut HER2 ont été considéré comme positif lorsque plus de 10% de cellules tumorales avaient un marquage membranaire périphérique total en cadre, d'intensité forte (Score 3+), et négatif lorsque le marquage membranaire complet était d'intensité faible à modérer (Score 2+), incomplet ou nul (Score 1+, 0).

Statistiques

Des analyses statistiques ont été faites par les Logiciels SPSS 10 et Microsoft office Excel 2010, pour le traitement des données et la comparaison des caractéristiques morphologiques des tumeurs. La valeur p a été calculée à l'aide du test Fisher avec un seuil de signification inférieur à 5%.

RÉSULTATS

Cette étude nous a permis de recenser 93 cas de carcinomes mammaires avec analyse immunohistochimique au CPC, soit 78 cas pour la phase rétrospective et 15 cas pour la phase prospective. Au cours de notre étude, nous avons recensé 12 cas de

carcinomes mammaires invasifs HER2 positif soit 14% de notre échantillon (Figure 1). L'interprétation des analyses immunohistochimiques n'a pas été possible pour 9 de nos patientes dont le prélèvement présentait des artéfacts de fixation et de déshydratation.

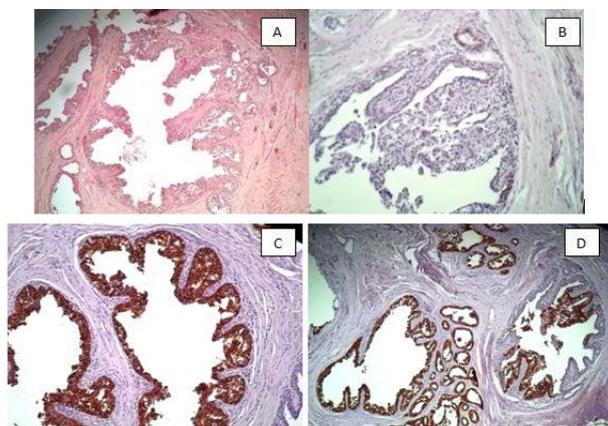


Figure 1. Carcinome papillaire HER2-positif (a) HE x20; (b) Immunohistochimie des récepteurs à l'œstrogène avec marquage nucléaire d'intensité forte de moins de 10% cellules tumorales, IHC = 0 (x40); (c) et (d) Immunohistochimie de l'oncoprotéine HER2 avec marquage membranaire périphérique total en cadre, d'intensité forte de 90% des cellules tumorales, score IHC = 3 (x20).

Dans notre série, environ la moitié des patientes présentant une tumeur HER2 positive était âgée de moins de 50 ans avec une moyenne d'âge de 51,17± 12,51 ans. La surexpression de l'oncoprotéine HER2 est importante pour les grades 2 et 3. Cette observation est conforme aux données de la littérature (15, 16). En effet, la surexpression croît avec le grade. Il n'y a pas de corrélation entre l'expression de l'oncoprotéine HER2 et le grade histologique ($p = 0,209$). L'invasion ganglionnaire a été notée pour tous les cas avec plus de 10 ganglions axillaires envahis dans 22% des cas (Tableau 1).

Tableau I. Récapitulatif des caractéristiques morphologiques en fonction de l'expression de l'oncoprotéine HER2

Variables	HER2		P
	HER2 positif	HER2 négatif	
Type histologique			
Canalaire	10	60	1
autres	2	12	
Taille de la Tumeur			
Tis- T2	2	16	0,704
T3	7	32	
Nombre de Ganglions Envahis			
N0	0	9	0,329
N1- N3	9	34	
Grade Histologique			
G1-2	7	45	0,209
G3	4	9	
Stade Pathologique			
Stade 0 -II	1	19	0,147
Stade III- IV	8	31	
< 20%	2	20	
≥20%	8	40	

Aucun cas de métastase à distance n'a été observé parmi les tumeurs HER2 + de notre échantillon. Les carcinomes mammaires HER2+ de notre série avaient un index de prolifération supérieur à 20% dans 75% des cas. Notre étude a présenté une forte incidence de tumeur non hormono-dépendante parmi les cancers HER2 soit 66,7%. Pour les types histologiques répertoriés dans notre étude plus le grade histologique est élevé moins les récepteurs hormonaux sont positifs et plus la surexpression de l'oncoprotéine HER2 est fréquente (Tableau 2).

Tableau II. Fréquence de la surexpression de l'oncoprotéine HER2 en fonction des récepteurs hormonaux

Variables	HER2		P
	HER2 positif	HER2 négatif	
Récepteurs hormonaux			
RE-RP-	8	36	0,357
RE+RP-.RE-RP+	4	36	
.RP+RP+			
RP+	1	13	0,680
RP-	11	59	
RE+	3	36	0,129
RE-	9	36	
Index de prolifération			
< 20%	2	20	0,487
≥20%	8	40	

DISCUSSION

Le carcinome mammaire est un ensemble de plusieurs entités moléculaires associées à une histoire naturelle et un traitement spécifique. Au cours de notre étude, nous avons recensé 12 cas de carcinomes mammaires invasifs HER2 positif soit 14% de notre échantillon. Nos résultats sont plus bas par rapport à ceux de la littérature qui sont de l'ordre de 25-30%. En Afrique on note une forte incidence des tumeurs HER2 positive comparée à la race blanche, cette différence serait probablement liée à la méthode d'étude basée sur l'immunohistochimie (9). Cette technique présente une sensibilité et une spécificité variables par rapport l'hybridation in situ. Il est donc recommandé d'utiliser la FISH pour l'étalonnage de la technique IHC notamment la détermination des cas ayant eu un score de 2+ (10-12). Un taux de 9,5% de tumeur avec un score 2+ aurait dû bénéficier d'un test de confirmation par FISH. Ceci expliquerait pourquoi notre fréquence des cancers HER2+ est basse. Dans notre série, environ la moitié des patientes présentant une tumeur HER2 positive était âgée de moins de 50 ans avec une moyenne d'âge de 51,17± 12,51 ans. Huang et al en Belgique rapportent un résultat similaire sur une série de 1362 carcinomes du sein avec une surexpression de l'oncoprotéine HER2 à moins de 50 ans pour 34,9% de cas (12-15). La surexpression de l'oncoprotéine HER2 est importante pour les grades 2 et 3. Cette observation est conforme aux données de la littérature (15, 16). En effet, la surexpression croît avec le grade. Il n'y a pas de corrélation entre l'expression de l'oncoprotéine HER2 et le grade histologique ($p = 0,209$). Les cancers HER2 positifs sont associés à une

histoire clinique particulièrement agressive, ils tendent à se développer et à se propager plus rapidement (1-2, 17-18). Certains auteurs ont observé pour les tumeurs HER2-positives une taille supérieure à 2 cm pour 50% des patients par Huang et al en 2005 en Belgique et 70% des cas par Mbala et al en 2008 en République Démocratique du Congo (15, 19). De même, deux tiers soit 66,6% des cancers HER2 + ont une taille supérieure à 2 cm dans notre série avec une extension cutanée pour 2 de nos patientes. L'invasion ganglionnaire a été notée pour tous les cas avec plus de 10 ganglions axillaires envahis dans 22% des cas. En 2005 Park et al sur une série de 116 cancers du sein avec invasion axillaires relèvent une surexpression de l'oncoprotéine HER2 dans 85,3% des cas (16). Ces trouvailles sont similaires à celles de Toni I et al en 2013 pour 120 cas de carcinomes mammaires avec invasion axillaire soit 70% (20). Aucun cas de métastase à distance n'est observé parmi les tumeurs HER2 + de notre échantillon. La prolifération cellulaire anarchique, non régulée est l'un des caractères principaux des tumeurs malignes. Ainsi la prolifération tumorale est un facteur majeur associé au pronostic. L'index de prolifération Ki67 et l'index mitotique sont les 2 indices utilisés pour évaluer la prolifération tumorale en routine. L'index mitotique se définit comme le nombre de mitoses de la région périphérique de la tumeur. Il est utilisé pour déterminer le grade histologique (système de Nottingham). Il n'y a pas encore de recommandation standard pour évaluer le Ki67. Ainsi, il n'est pas encore établi comme un biomarqueur en routine pour le pronostic du cancer du sein. Toutefois la valeur de l'index Ki67 en fonction du statut HER2 et des récepteurs hormonaux permet d'orienter le clinicien pour une thérapie adéquate. La chimiothérapie étant fortement recommandée pour les tumeurs avec un index de prolifération élevé (21). Les carcinomes mammaires HER2+ de notre série avaient un index de prolifération supérieur à 20% dans 75% des cas. De même un taux de 87,2% de tumeurs avec KI67 élevé est observé par Nishimura et al dans leur étude portant sur la valeur pronostic du Ki67 dans les rechutes locorégionales des carcinomes mammaires (22). Nirmala et al en Australie retrouvent un index de prolifération supérieur à 10% des cas pour une série de 203 cancers du sein sans invasion ganglionnaire (23). De nombreux tissus sont sensibles aux hormones stéroïdiennes qui ont pour effet d'en modifier l'état fonctionnel. Actuellement l'étude des récepteurs hormonaux fait partie de l'arbre décisionnel clinique pour le cancer du sein, afin d'établir le pronostic lié au potentiel évolutif de la tumeur et aux thérapeutiques adjuvantes. Parmi les types moléculaires, les tumeurs HER2 positives non hormono-dépendantes et les tumeurs triples négatives sont particulièrement associées à un mauvais pronostic (9). Notre étude a présenté une forte incidence de tumeur non hormono-dépendante parmi les cancers HER2 soit 66,7%. Une prévalence élevée des tumeurs non hormono-dépendantes et HER2+ a été retrouvée en Afrique et en Chine par rapport à l'Occident (9). De façon isolée nous avons noté une faible expression des récepteurs aux œstrogènes soit 25% et une absence relative d'expression

à progestérone dans 91,7% des tumeurs HER2+. La présence du récepteur œstrogénique dans les cellules cancéreuses du sein entraînerait la réduction de la concentration de l'oncogène HER2 (15). L'expression de l'oncoprotéine HER2 serait donc inversement corrélée à l'expression des récepteurs à œstrogène et à la progestérone (10,24). Les tumeurs RE+/RP- représentent 25% des cancers HER2+ dans cette étude. Grazia et al aux Etats Unis dans une série de 54 865 cancers du sein suggèrent un pronostic agressif des tumeurs RE+/RP- avec surexpression de l'oncoprotéine HER2 par rapport aux tumeurs hormonodépendantes (RE+/PR+) et HER2-positives. Pour les types histologiques répertoriés dans notre étude plus le grade histologique est élevé moins les récepteurs hormonaux sont positifs et plus la surexpression de l'oncoprotéine HER2 est fréquente. La fréquence de la surexpression de l'oncoprotéine HER2 semble être positivement liée au grade histologique de la tumeur et inversement proportionnelle à l'expression des récepteurs hormonaux (15, 17).

CONCLUSION

Les carcinomes mammaires surviennent chez la femme jeune dans notre milieu. Le phénotype "triple négatif" est plus fréquent. La fréquence des cancers Her2+ est de 14% avec une prédominance pour les tumeurs non hormono-dépendantes (66,7%). Par ailleurs le profil immunohistochimique des cancers du sein au CPC offre une rationalité pour un meilleur choix thérapeutique avec des molécules ciblées.

Limites

Nos difficultés et limites rencontrées étaient celles d'une population d'étude relativement peu importante et sans nul doute non représentative de tous les cas de carcinome mammaire rencontrés dans notre milieu.

Remerciements

Les auteurs remercient Mr Amida pour l'analyse statistique des résultats, Dr Atangana Paul A, Mr Atangana martin Vital pour la collecte des données.

Contribution des auteurs

Conception et design de l'étude : Mayemi Emmanuella. Collecte des données : Mayemi E, analyse et interprétation des données : Mayemi E, Atanguena E, Atangana P. Rédaction du manuscrit : Mayemi E, Révision du manuscrit : Mayemi E, Ananga Noa, Ngo Pambe, Essame O, Mendimi Nkodo. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale du manuscrit.

Conflit d'intérêt

Aucun

RÉFÉRENCES

1. Robert G Fenton, Dan L Longo. Biologie cellulaire du cancer et angiogenèse : Harrison Principes de médecine interne ; 16^e édition Flammarion 2006;453-64
2. Yuhong LU, Xiaolin Zi, Michaël Pollak. Molecular mechanisms underlying IGF-I-induced attenuation of the growth-inhibitory activity of trastuzumab (herceptin) on SKBR3 breast cancer cells. *Int.J.cancer*.2004;108:334-341
3. J. Didi-KoukoCoulbaly, A B Effi, G A Horo, A. Diabate, K. Mbra, I. Adoubi, M. Toure, A. Ossen, K.A. Echimane. Prévalence des récepteurs hormonaux et de HER2 dans le



- cancer du sein au service de cancérologie du CHU de Treichville. Résultats préliminaires. *Bull Cancer* 2008 ; 95 (9) : 799-803
4. CNLC (2007) : Guide de la prise en charge des cancers du Cameroun. Première édition, MINSANTE 2007: 38-35
 5. Belley Priso E, Nguemgne C, Nana Njamen T, EgbeObenchemti T, Mouné. Profil Épidémiologique et Clinique de la Pathologie Mammaire à L'Hôpital Général de Douala (Cameroun) . *Health Sci. Dis.*2010; 11 (2).
 6. Effa'a Christian Serges. Statut des recepteurs hormonaux dans les carcinomes in\fasifs du sein dans deux structures sanitaires de Yaounde ; Mémoire de fin d'études de spécialisation en anatomie pathologique;FMSB 2008
 7. MetogoNtsamaJunie Annick. Les aspects anatomo-cliniques et immunohistochimiques des cancers du sein de la femme ; Thèse de doctorat en médecine ; FMSB 2012
 8. Atangana, P. J., Tchenté Nguefack, C., Totoum Fotsing, C., et al. Aspects Immunohistochimiques des Cancers du Sein à Douala et à Yaounde. *Health Sci. Dis.*2017; 18(3).
 9. Eng A, McCormack V, dos-Santos-Silva. Receptor-Defined Subtypes of Breast Cancer in Indigenous Populations in Africa: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Med.*2014;11(9)
 10. Carolina Gutierrez,RachelSchiff.HER 2: Biology, Detection, and Clinical Implications. *Arch Pathol Lab Med.* 2011 January ; 135(1): 55–62.
 11. AzadehStark,GenaKucera, Mei Lu,Sarah Claud And Jennifer Griggs. Influence of health insurance status on inclusion of HER-2/neu testing in the diagnostic workup of breast cancer patients. *International Journal for Quality in Health.*2004;16(6):517–521
 12. AC. Wolff, M. E. Hammond, Lisa McShane, D. F. Hayes, Mitch Dowsett, D. G. Hicks, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *Journal of Clinical Oncology.* 2013; 31 (31):3997– 4014.
 13. S. Alran,C Rousset-Jablonski. Particularités du cancer du sein chez la femme jeune. réalités en gynécologie-obstétrique.2013;170 :21-26
 14. G Enow-Orock, R Mbu, NM Ngowe, FK Tabung, E Mboudou, P Ndom, N Nkele, W Takang, JL Essame-Oyono, A Doh. Gynaecological cancer profile in Yaounde population Cameroon. *Clinics in mother and child health.* 2006; 3(1):437-444,
 15. Huang HJ, Neven P, Drijkoningen M, Vergote I. Association between tumour characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer. *J Clin Path.* 2005; 58: 611-616.
 16. K. Park, S. Han, H. J. Kim, J. Kim, and E. Shin.HER2 status in pure ductal carcinoma in situ and in the intraductal and invasive components of invasive ductal carcinoma determined by fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry. *Histopathology.* 2006; 48 (6):702–707.
 17. Nida Iqbal, Naveed Iqbal.Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers : Overexpression and Therapeutic Implications; *Molecular Biology International.*2014;10:1055
 18. ZsoltGabos, Richie Sinha, John Hanson, Nitin Chauhan, Judith Hugh, John R. Mackey and Bassam Abdulkarim. Prognostic Significance of Human Epidermal Growth Factor Receptor Positivity for the Development of Brain Metastasis After Newly Diagnosed Breast Cancer. *J Clin Oncol.*2006;24:5658-5663
 19. Mbala NL, Mbanzulu PN, Kalengayi RM, Neven P, De Villiers, Kabongo MP, Tozin R, Kitenge K. Detection de la surexpression de l'oncogene her-2/neu (c-erb-b2) dans les cancers mammaires chez les femmes congolaises de Kinshasa. *Annales africaines de Médecine.* 2008 ; 1(3)
 20. Ibrahim T, Farolfi A, Scarpi E, Mercatali L, Medri L, Ricci M, Nanni O, Serra L and Amadori D: Hormonal receptor, human epidermal growth factor receptor-2, and Ki67 discordance between primary breast cancer and paired metastases: clinical impact. *Oncology* 2013; 84:150-157.
 21. Jeffrey S Roos,Jonathan a Flecher, Gerald P Linette and al.The Her/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target therapy. *The Oncologist*;8:305-25
 22. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Tashima R, Toyozumi Y. Prognostic significance of Ki-67 index value at the primary breast tumor in recurrent breast cancer. *Molecular and clinical oncology* 2014;10: 1062-1068
 23. Pathmanathan N, Balleine RL, Jayasinghe UW, Bilinski KL, Provan PJ, Byth K, Bilous AM, Salisbury EL and Boyages J: The prognostic value of Ki67 in systemically untreated patients with node-negative breast cancer. *J ClinPathol* 2014; 67: 222-228.
 24. Arpino G, Weiss H, Lee AV, Schiff R, Deplacido: Estrogen receptor positive, progesterone receptor negative breast cancer: Association with growth factor receptor expression and tamoxifène resistance. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97:1254.