



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abbes Laghrou \*Khenchela\*

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**  
**Département : Biologie Moléculaire et Cellulaire**

## MÉMOIRE

Présenté Pour l'Obtention du Diplôme de

**MASTER ACADEMIQUE**

**Filière : Sciences biologiques**

**Option : Génétique**

*Thème*

# La Génétique du cancer du sein

Présenté par :

**Djemel Manal**

**Haftari Ahlem**

**Devant le jury :**

**Président : M. BOUFENNARA Souhil (MCA) Université Abbes Laghrou Khenchela**

**Promoteur : M. BOUAZZA Lyas (MCB) Université Abbes Laghrou Khenchela**

**Examineur : M. BENZAADA Mostefa (MCB) Université Abbes Laghrou Khenchela**

**Soutenu le : 27 Aout 2020**

Promotion : 2019-2020

## Remerciement

1. *Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Mes plus vifs remerciements s'adressent d'abord à mon directeur de mémoire, le Docteur : **BOUAZZA Lyas**, L'Université Abbas Laghrour, (Khenchela) de m'avoir accordée l'honneur de diriger ce travail, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon plus profond respect.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury les Docteurs **Boufennara Souhil** et **Bensaada Mostefa** pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de participer à mon jury de mémoire.*

*Mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

...

# *Dédicace*

*C'est avec un coeur plein de joie que je dédie ce modeste travail à :*

*Mon promoteur Monsieur Bouazza qui nous a beaucoup aidées à réaliser ce travail.*

*Toute ma famille qui m'a aidée à connaître les portes du savoir, surtout à mes chers parents HACENE , NASSIRA qui m'ont beaucoup soutenue durant toute ma vie que Dieu les garde pour toujours.*

*A mes chers frères CHOVAIB , ZAKARIA et ma sœur ZAINEB*

*A mes grands parents*

*A mes chères cousine et cousins*

*A toutes mes amies : Sajida, Ines, sameh et surtout à ma chère binôme Manel avec laquelle on a partagé des moments agréables durant toute ces années.*

*Ahlem*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes de mon entourage qui ont su me rassurer et m'encourager, et m'aider tout au long de cette période :*

*À Mon promoteur de mémoire, le Docteur : BOUAZZA qui nous a beaucoup aidées à réaliser ce travail.*

*À mon cher père, qui est le pilier de toute réussite qui a toujours été là pour moi, et qui m'a donnée un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Que Dieu le garde pour toujours.*

*À ma très chère maman, que Dieu le tout puissant t'accorde sa sainte Miséricorde et t'accueille dans son vaste paradis. J'espère que de là où tu es, ce travail te rendra fière de moi.*

*À mes grands frères, Abd Elhak, Abd Ennour, Abd Elaali, merci pour votre encouragements et d'avoir toujours cru en moi.*

*À ma très chère soeur, Amel merci infiniment pour ton soutien morale.*

*À mes petits frères, Abd Elbaki, Abd Elaziz, Abd Elhalim sans vous je m'ennuierai, vous êtes la meilleure chose qui me soit arrivée.*

*À ma grand-mère, Masoouda, tu es mon modèle, tu m'inspire par ta force et ton courage, que DIEU te guérise.*

*À mon binôme et amie de ma vie, Ahlem je me souviens du premier jour où l'on s'était rencontrée, on a choisi le même parcours de spécialité dans notre étude "La génétique" et j'espère qu'on atteindra ensemble nos objectifs et que notre amitié durera éternellement.*

*À tous mes camarades de la promotion, nous avons partagé durant ces 5 ans tant de choses ensemble, je vous en remercie.*

*Manel*

## LISTE DES ABBREVIATIONS

<b>ADN</b>	Acide <b>D</b> éoxyribo <b>N</b> ucléique.....
<b>AJCC</b>	American <b>J</b> oint <b>C</b> ommittee of <b>C</b> ancer.....
<b>ARN</b>	Acide <b>R</b> ibo <b>N</b> ucléique.....
<b>ARNm</b>	<b>ARN</b> messenger.....
<b>ATM</b>	Ataxia <b>T</b> elangiectasia <b>M</b> utated.....
<b>Av. J.-C.</b>	<b>A</b> vant <b>J</b> ésus <b>C</b> hrist.....
<b>BARD1</b>	<b>BRCA1</b> -Associated <b>R</b> ING <b>D</b> omain 1.....
<b>BBP</b>	Bleu de <b>B</b> romo- <b>P</b> hénol.....
<b>BET</b>	<b>B</b> romure d' <b>É</b> thidium.....
<b>BRCA1</b>	<b>BR</b> east <b>C</b> ancer 1.....
<b>BRCA2</b>	<b>BR</b> east <b>C</b> ancer 2.....
<b>BRCT</b>	<b>BR</b> east cancer <b>C</b> Terminus.....
<b>BRP11</b>	<b>BRCA1</b> -Interacting <b>P</b> rotein 1.....
<b>CCI</b>	Carcinome <b>C</b> analaire <b>I</b> nfiltrant.....
<b>CCIS</b>	Carcinome <b>C</b> analaire <b>I</b> n <b>S</b> itu.....
<b>CHEK2</b>	<b>C</b> H <b>E</b> ckpoint <b>K</b> inase 2.....
<b>CHU</b>	Centre <b>H</b> ospitalier <b>U</b> niversitaire.....
<b>CLI</b>	Carcinome <b>L</b> obulaire <b>I</b> nfiltrant.....
<b>CLIS</b>	Carcinome <b>L</b> obulaire <b>I</b> n <b>S</b> itu.....
<b>CpG</b>	<b>C</b> ytosine- <b>p</b> hosphate- <b>G</b> uanine.....
<b>DDT</b>	<b>D</b> ichloro <b>D</b> iphényl <b>T</b> richloroéthane.....
<b>dNTP</b>	<b>d</b> éoxyribo- <b>N</b> ucléotide <b>T</b> ri- <b>P</b> hosphates.....
<b>EDTA</b>	Ethylene <b>D</b> iamine <b>T</b> etra- <b>a</b> cetic <b>A</b> cid.....
<b>EE</b>	Elston et <b>E</b> llis.....
<b>GST</b>	<b>G</b> lutathion <b>S</b> - <b>T</b> ransférase.....
<b>GSTA</b>	human <b>G</b> lutathione <b>S</b> - <b>T</b> ransferase <b>A</b> .....
<b>GSTK</b>	<b>G</b> lutathione <b>S</b> - <b>T</b> ransferase <b>K</b> appa.....

<b>GSTM</b>	Glutathione <b>S-Transferase Mu</b> .....
<b>GSTO</b>	Glutathione <b>S-Transferase Omega</b> .....
<b>GSTP</b>	Glutathione <b>S-Transferase P</b> .....
<b>GSTS</b>	Glutathione <b>S-Transferase S</b> .....
<b>GSTT</b>	Glutathione <b>S-Transferase Theta</b> .....
<b>GSTZ</b>	Glutathione <b>S-Transferase Zeta</b> .....
<b>HAP</b>	Hydrocarbure Aromatique Polycyclique.....
<b>IRM</b>	Imagerie par Résonance Magnétique.....
<b>LBK1</b>	Liver <b>Kinase B1</b> .....
<b>LKH-MSH2</b>	Lammer <b>Kinase Homolog- MutS protein Homolog 2</b> .....
<b>NGS</b>	Next Generation Sequencing.....
<b>OCCR</b>	Ovarian Cancer Cluster <b>Region</b> .....
<b>P53</b>	Protein <b>53</b> .....
<b>PCR</b>	Polymerase Chain <b>Reaction</b> .....
<b>PALB2</b>	Partner And Localizer of <b>BRCA2</b> .....
<b>PIF</b>	Prolactin Inhibiting <b>Factor</b> .....
<b>PI3K</b>	PhosphoInositide <b>3-Kinase</b> .....
<b>PR</b>	Progesterone <b>Receptor</b> .....
<b>PRF</b>	Prolactin <b>Releasing Factor</b> .....
<b>PTEN</b>	Phosphatase and <b>TEN</b> sin homolog.....
<b>RAD50</b>	<b>RAD</b> iation sensitive <b>50</b> .....
<b>RAD51</b>	<b>RAD</b> iation sensitive <b>51</b> .....
<b>SBR</b>	Scarff <b>Bloom et Richardson</b> .....
<b>STK1</b>	Serine <b>Threonine Kinase 11</b> .....
<b>TNM</b>	Tumor , <b>Nodes, Metastasis</b> .....
<b>UICC</b>	Union <b>Internationale</b> pour la lutte <b>Contre le Cancer</b> .....

## LISTE DES TABLEAUX

Page

<b>Tableau 1</b>	Autres types de Carcinome.....	12
<b>Tableau 2</b>	Caractéristiques des familles présentant des cas de cancer du sein héréditaire, familiaux et sporadiques.....	22
<b>Tableau 3</b>	Principaux allèles de susceptibilité au cancer du sein connu.....	25
<b>Tableau 4</b>	Pourcentage des familles présentant des mutations de BRCA1 ou BRCA2, selon le type cas sélectionné.....	28
<b>Tableau 5</b>	Risque d'autres types de cancers associé à une mutation délétère de BRCA1 ou BRCA2.....	30
<b>Tableau 6</b>	Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) utilisées lors de la PCR multiplex.....	44
<b>Tableau 7</b>	Composition du milieu réactionnel de la PCR multiplex pour l'amplification de la séquence du gène GSTM1 et du gène $\beta$ -globine.....	44
<b>Tableau 8</b>	La programmation des cycles de PCR.....	45
<b>Tableau 9</b>	Préparation du milieu réactionnel de la PCR.....	47
<b>Tableau 10</b>	Préparation du mix de digestion.....	48

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b>	Coupe verticale et antéropostérieure d'un sein masculin et d'un sein féminin.....	<b>01</b>
<b>Figure 2</b>	Coupe verticale et antéropostérieure représentant la structure d'un sein féminin....	<b>02</b>
<b>Figure 3</b>	Représentation schématique des ganglions lymphatiques du sein.....	<b>03</b>
<b>Figure 4</b>	Représentation schématique d'un acinus ou alvéole mammaire.....	<b>04</b>
<b>Figure 5</b>	Schéma représentatif du contrôle hormonal de la lactation.....	<b>06</b>
<b>Figure 6</b>	Cartographie des cancers féminins dans le monde.....	<b>08</b>
<b>Figure 7</b>	Représentation schématique d'un CCIS et d'un CLIS.....	<b>11</b>
<b>Figure 8</b>	Apparence des cellules cancéreuses aux différents grades du cancer du sein.....	<b>15</b>
<b>Figure 9</b>	relation entre les formes sporadique et héritées d'une même tumeur.....	<b>21</b>
<b>Figure 10</b>	Exemple d'une famille (la famille de Willems). Arbre généalogique montrant types de cancer et l'âge au moment du diagnostic.....	<b>24</b>
<b>Figure 11</b>	Carte génétique des deux chromosomes 17 et 13 porteurs des mutations reconnues pour leu sein, avec notamment les gènes BRCA1 (17q21), BRCA2 (13q12-13) et TP53.....	<b>27</b>
<b>Figure 12</b>	Quelques exemples d'arbres généalogiques de familles présentant un syndrome de I représentent des individus malades. Le cancer spécifique est indiqué sous chaque sy correspondent à l'âge auquel le cancer a été diagnostiqué.....	<b>31</b>
<b>Figure 13</b>	Structure des exons des gènes BRCA1 et BRCA2.....	<b>33</b>
<b>Figure 14</b>	Exemple d'histoires familiales. Famille avec une mutation de BRCA1 Famille avec BRCA2.....	<b>34</b>
<b>Figure 15</b>	Structure des gènes de la classe GSTM.....	<b>39</b>
<b>Figure 16</b>	Structure du gène GSTM1.....	<b>40</b>
<b>Figure 17</b>	Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments après migration.....	<b>45</b>
<b>Figure 18</b>	Photographie montrant le profil de migration électrophorétique de la PCR.....	<b>48</b>
<b>Figure 19</b>	Photographie montrant le profil de de migration électrophorétique d'une digestion enzymatique (M : marqueur de taille 50pb).....	<b>49</b>
<b>Figure 20</b>	Illustration schématique des étapes de la PCR-RFLP réalisée pour l'étude des 4hots spots (175, 248, 249 et 273).....	<b>51</b>
<b>Figure 21</b>	Illustration shématique montrant les bases de la détection simultanée d'une TP53 Arg72Pro et del/ins polymorphisme d'un intron de 316 bp.....	<b>54</b>
<b>Figure 22</b>	Electrophorégramme sur gel d'agarose montrant le résultat PCR-RFLP.....	<b>54</b>

## SOMMAIRE

Résumé.....	i
ملخص.....	ii
Abstract.....	iii
Introduction .....	iv
<b>I.</b> Chapitre I : La glande mammaire.....	<b>01</b>
1. Anatomie du sein.....	01
2. Histologie du sein.....	03
3. Physiologie du sein.....	04
4. Historique.....	05
5. Épidémiologie.....	06
5.1. Épidémiologie mondiale.....	07
5.2. Répartition géographique.....	08
5.3. Situation en Algérie.....	08
6. Types histopathologiques du cancer du sein.....	9
6.1. Carcinomes in-situ.....	9
6.2. Carcinomes infiltrant.....	10
6.3. Autres types de cancer du sein.....	11
6.4. Lésions et maladies du sein.....	11
7. Classification du cancer du sein.....	12
7.1. Stades de développement.....	12
7.2. Grades histopronostique.....	12
8. Facteurs de risque.....	13
8.1. Facteurs de risque personnels.....	13
8.2. Facteurs de risque physiologique.....	14
8.3. Facteurs hormonaux.....	14
8.4. Facteurs liés au mode de vie.....	15
8.5. Facteurs environnementaux.....	16
8.6. Facteurs de risque de récurrence.....	16

8.7.	Facteurs de risque chez l'homme.....	16
8.8.	Facteurs de risque génétique.....	16
<b>II.</b>	<b>Chapitre II: Génétique du cancer du sein.....</b>	<b>18</b>
<b>1.</b>	<b>Déterminants génétique du cancer du sein.....</b>	<b>18</b>
1.1.	Le cancer héréditaire et le cancer familial.....	18
1.2.	Cancer du sein, histoire familiale et prédisposition : Exemple d'une famille.....	21
<b>2.</b>	<b>La prédisposition génétique au cancer du sein.....</b>	<b>21</b>
2.1.	Gènes de susceptibilité au cancer du sein connus.....	22
2.1.1.	Les allèles à forte pénétrance .....	23
2.1.1.1.	Le Syndrome de cancer du sein et l'ovaire héréditaire, BRCA 1 et BRCA2.....	23
a.	Prévalence des mutations de BRCA1/2.....	24
b.	Pénétrance des mutations de BRCA1/2.....	25
2.1.1.2.	Syndrome de Li-Fraumeni.....	27
2.2.	Fonction et structure de BRCA 1/2.....	29
2.3.	Mutation et corrélation phénotype-génotype.....	31
2.4.	Autres gènes associés au cancer du sein.....	32
2.4.1.	Gènes à forte pénétrance.....	32
2.4.2.	Gène à pénétrance modéré et/ou faible.....	33
2.5.	Le gène GSTM1.....	35
<b>3.</b>	<b>La génétique clinique.....</b>	<b>36</b>
3.1.	Les tests de prédispositions génétiques au cancer du sein et la consultation génétique.....	36
3.2.	Dépistage et diagnostique génétique.....	37
3.3.	Surveillance prévention des femmes à haut risque.....	38
3.4.	Les traitements classiques des femmes porteuses d'une prédisposition génétique..	39
<b>4.</b>	<b>Modification épigénétique.....</b>	<b>40</b>
<b>5.</b>	<b>Conseil génétique.....</b>	<b>40</b>
5.1.	Test génétique.....	40
5.2.	Avenages, inconvénients et limites du test génétique.....	41
5.3.	Conseil génétique post-test génétique.....	41
<b>III.</b>	<b>Chapitre III : Méthodes de diagnostic moléculaires.....</b>	<b>43</b>
<b>I.</b>	<b>Méthodes utilisant le gène GSTM1.....</b>	<b>43</b>

I.1.	Prélèvement sanguin.....	43
1.2.	Extraction de l'ADN génomique.....	43
1.3.	Le génotypage du GSTM1.....	43
<b>II.</b>	Méthodes utilisant le gène GSTP1.....	46
2.1.	Le prélèvement sanguin.....	46
2.2.	L'étude moléculaire.....	46
2.2.1.	L'extraction d'ADN.....	46
2.2.2.	Le génotypage de la GSTP1.....	46
<b>III.</b>	Méthodes utilisant le gène p53.....	50
3.1.	Préparation des échantillons.....	51
3.2.	Extraction de l'ADN génomique.....	52
3.3.	PCR-RFLP.....	53
3.3.1.	Amplification de l'ADN par PCR.....	53
3.3.2.	Etablissement du profil de restriction RFLP.....	53

## Résumé

Le cancer est un phénomène multi-étapes résultant principalement de l'activation d'oncogènes (mutations acquises essentiellement) et/ou de l'inactivation d'un ou plusieurs gènes suppresseurs (mutations acquises et germinales) impliqués dans les mécanismes de la prolifération cellulaire. En amont, des situations constitutionnelles ou acquises peuvent léser les systèmes de réparation de l'ADN ou influencer le métabolisme des agents carcinogènes. Pour qu'il y ait prédisposition génétique au cancer, il suffit qu'une des étapes, c'est-à-dire une des mutations, se produise au niveau germinale et que cette altération ne soit pas incompatible avec la vie. Le cancer lui-même résultera de l'acquisition de mutations supplémentaires dans un ou plusieurs clones cellulaires d'un tissu particulier.

L'oncogénétique a pour objectif principal de caractériser une sous-population à haut risque de développement de cancers à un âge précoce afin de préconiser les recommandations pour un parcours optimisé de suivi et de soins.

Si nous prenons comme exemple la France, la prescription de tests génétiques *BRCA1/2*, chez les cas index et les apparentés, a plus que doublé en entre 2003 et 2009. Il existe maintenant un consensus pour dire que les résultats des tests de prédisposition génétique au cancer du sein/ovaire améliorent de manière significative la connaissance des patients sur leur statut « à risque » génétique et modifient de manière significative la prise en charge médicale.

Mots clés : Cancer, sein, génétique, *BRCA1/2*, PCR/RFLP.

## ملخص

السرطان هو ظاهرة متعددة المراحل ناتجة بشكل رئيسي عن تنشيط الجينات الورمية ( الطفرات المكتسبة اساسا) و / او تعطيل واحد او اكثر من الجينات الكابتة (الطفرات المكتسبة والطفرات الجرثومية ) المشاركة في آليات تكاثر الخلايا ؟ يمكن ان تؤدي المواقع الاولية او الدستورية او المكتسبة الى ائتلاف انظمة اصلاح الحمض النووي او التأثير على استقلاب العوامل المسببة للسرطان. بالنسبة للاستعداد الجيني للسرطان, يكفي ان تحدث احدى المراحل اي احدى الطفرات على المستوى الجرثومي وان هذا التغيير لا يتعارض مع الحياة. ينتج السرطان نفسه عن اكتساب طفرات اضافية في واحد او اكثر من الخلايا المستنسخة من نسيج معين.

الهدف الرئيسي من علم الوراثة السرطانية هو توصيف مجموعة سكانية فرعية معرضة بدرجة عالية لخطر الإصابة بالسرطان في سن مبكرة من اجل التوصية بتوصيات لمسار محسن من المتابعة والرعاية . اذا اخذنا فرنسا كمثال, فان وصفة الاختبارات الجينية BRCA1/2 في الفهرس والحالات ذات الصلة ، تضاعف

أكثر من الضعف بين عامي 2003 و 2009, هناك الآن الإجماع على أن نتائج اختبارات الاستعداد الوراثي للإصابة بسرطان يحسن الثدي / المبيض بشكل كبير معرفة المرضى بوضعهم "في المخاطر الوراثية وتعديل الرعاية الطبية بشكل كبير

**الكلمات المفتاحية :** سرطان, الثدي, وراثي , BRCA1/2.PCR/RFLP.



## **Abstract**

Cancer is a multi-stage phenomenon basically occurring as a result of the activation of oncogenes (essentially acquired mutations) and/or the inactivation of one or many suppressor genes (acquired and germinal mutations) necessary during cellular proliferation. Constitutional or induced situations might damage the cell's DNA repair system or impact the metabolism of carcinogenic agents. For there to be a genetic predisposition to cancer, one step –meaning one mutation- on a germinal level, compatible with life, would suffice. Cancer itself would result from acquiring multiple mutations on one or many multiplying cells of a particular tissue.

Oncogenetics' main objective is to identify sub-populations at high-risk of developing cancer at a young age and recommend the implementation of optimised guidelines on medical and supportive care for cancer patients.

In France for instance, the prescription of BRCA1/2 tests has more than doubled from 2003 to 2009. There is now a medical consensus suggesting that results of genetic predisposition to breast/ovarian cancer can significantly improve the patients' knowledge on their "genetic risk" state and modify the medical and supportive care provided to them.

**Keys words :** Cancer, breast, genetic, BRCA1/2, PCR/RFLP.

## **INTRODUCTION**

Le terme « cancer » ou tumeur maligne regroupe une famille de maladies impliquant une prolifération anarchique de cellules transformées au sein d'un tissu de l'organisme. Cependant toutes les tumeurs ne sont pas cancéreuses, c'est le cas des tumeurs bénignes. En effet, à l'inverse des tumeurs malignes (cancer), elles n'envahissent pas les autres tissus ou organes sains de l'organisme. Le cancer existe en plus de 100 types. Ces cellules anormales possèdent un potentiel d'invasion et de métastase conduisant éventuellement à une propagation incontrôlée dans d'autres parties du corps (*Cooper, 2000*).

Ce fléau touche des millions de personnes et peut apparaître à n'importe quel âge, il constitue la deuxième cause de décès mondial. Plus particulièrement, chaque année les cancers coûtent la vie à une femme sur sept (*Le Monde, 2016*).

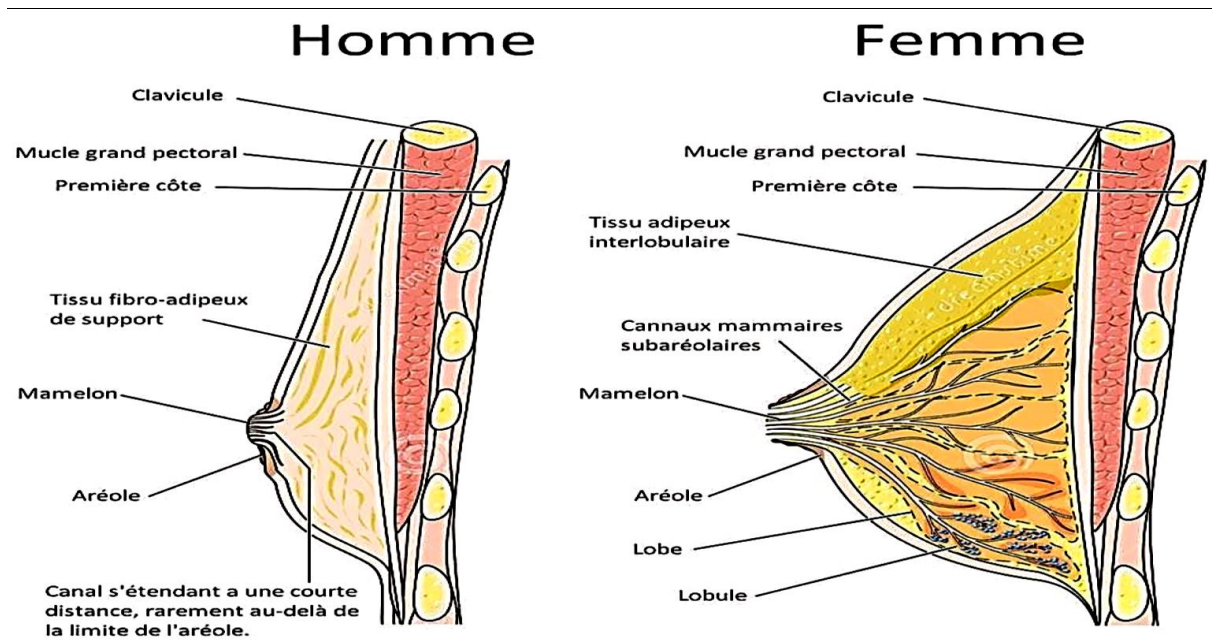
Avec environ 2 millions de cas diagnostiqués par an, le cancer du sein est aujourd'hui le cancer féminin le plus répandu et représente la cause la plus fréquente de décès chez les femmes, il constitue donc un cas majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Même si nous avons tendance à croire le contraire le cancer du sein touche également les hommes. Cependant, il est 100 fois plus fréquent chez les femmes (*Sharma et al., 2010; Sancho-Garnier, 2013; Ghoncheh et al., 2016*).

Le cancer du sein est causé par une croissance anormale et incontrôlée de cellules dans le sein. En réalité, les cellules cancéreuses se développent en des régions spécifiques, définissant ainsi différents types de cancer du sein. Il se caractérise également par des signes, symptômes, stratégies préventives, ainsi que des facteurs de risque spécifique. Ces facteurs peuvent être environnementaux ou génétiques, de forme sporadique ou héréditaire, impliquant des gènes de prédisposition comme *BRCA1* ou *BRCA2*, ou encore des gènes impliqués dans le système de détoxification de l'organisme, tel que les gènes polymorphes de la famille des *GST*. De nombreuses études pointent du doigt plus particulièrement le gène *GSTM1* qui aurait un rôle significatif dans la survenue du cancer du sein (*Sull et al., 2004; Sharma et al., 2010*).

## Chapitre I : La glande mammaire

### 1. Anatomie du sein

Contrairement aux apparences, les hommes possèdent également « des seins ». Cet organe est donc présent chez les deux sexes, la différence réside dans la taille, qui est dû particulièrement aux hormones ainsi que dans le fait que les glandes mammaires ne sont fonctionnelles que chez la femme (Marieb and Hoehn, 2007) (**Figure 1**).

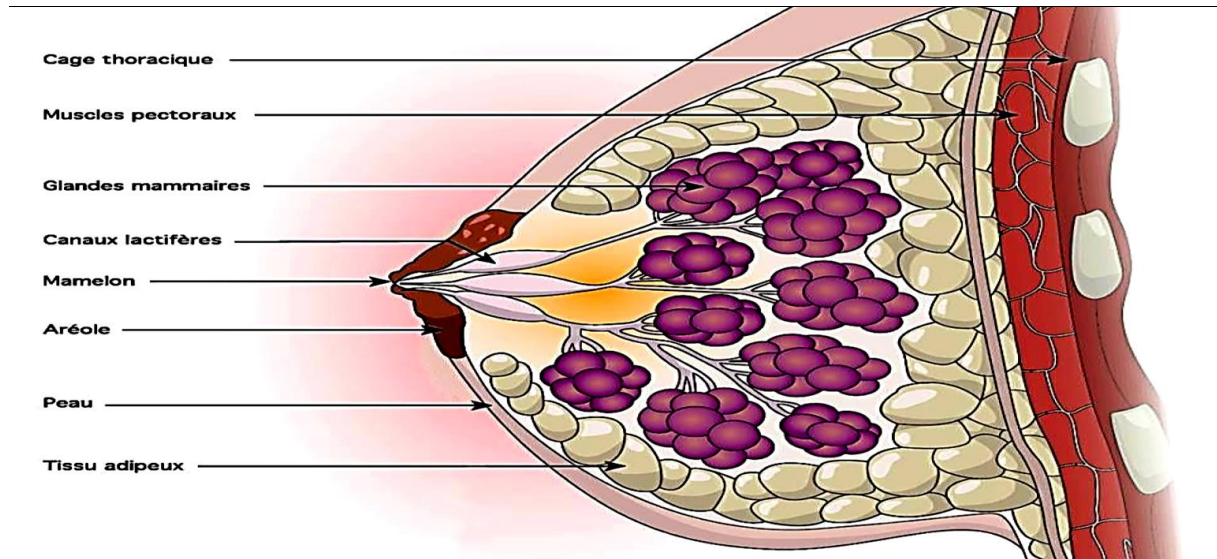


**Figure 1** : Coupe verticale et antéro-postérieure d'un sein masculin et d'un sein féminin.

La femme a plus de tissu mammaire que l'homme, les glandes mammaires masculines ne se développent pas à la puberté et reste sous forme atrophiée.

Les seins sont situés dans la partie antéro-supérieur du thorax, en avant du muscle pectoral de chaque côté. Ils sont asymétriques et ont en moyenne de 11 à 12 cm de haut et 10 cm de large et ne contiennent pas de muscle. Leur forme, leur volume, et leur consistance varient d'une femme à l'autre. Chacun est formé d'une glande mammaire qui est apparentée aux glandes sudoripares localisée dans l'hypoderme, et qui est composée de 15 à 25 lobes, chaque lobe est constitué de nombreux lobules eux même formés d'acini (alvéoles) reliés à des canaux lactifères. Ces lobes sont disposés en rayons autour de l'aréole mammaire qui est une peau pigmentée de 3 à 5 cm de diamètre qui entoure le mamelon. L'ensemble est enrobé et séparé

par du tissu adipeux et du tissu conjonctif dense et le tout est recouvert par la peau (Marieb and Hoehn, 2007) (Figure 2).



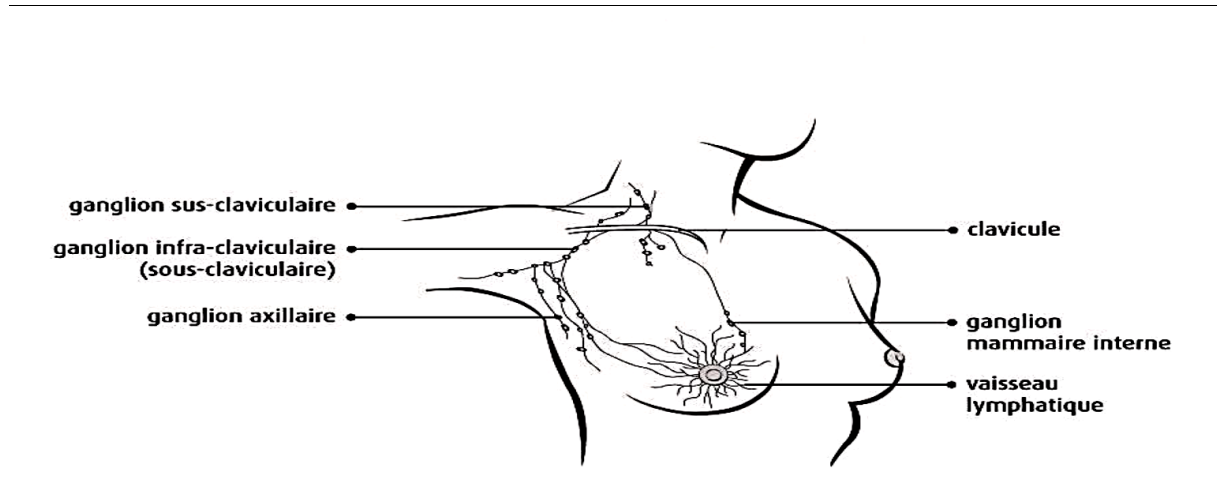
**Figure 2** : Coupe verticale et antéro-postérieure représentant la structure d'un sein féminin.

Le tissu conjonctif interlobulaire forme les ligaments de Cooper qui sont des bandes serrées de fibres de soutiens suspenseurs du sein qui le fixent et qui détermine sa forme (Marieb and Hoehn, 2007).

Le sein contient aussi de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques. Le système lymphatique, qui fait partie du système immunitaire, est un réseau de vaisseaux et de ganglions lymphatiques qui traversent tout le corps. Les ganglions lymphatiques du sein sont de trois groupes et jouent un rôle de filtration et de protection contre les infections.

**(Figure 3) :**

- Les ganglions axillaires situés au niveau des aisselles.
- Les ganglions sus-claviculaire situés au-dessus de la clavicule.
- Les ganglions sous-claviculaire ou infra-claviculaire situés au-dessous de la clavicule.
- Les ganglions internes mammaires situés à l'intérieur du thorax, autour du sternum.



**Figure 3 :** Représentation schématique des ganglions lymphatiques du sein .

## 2. Histologie du sein

Les glandes mammaires sont des glandes exocrines, plurilobées, lobulées, et acineuses. Elles sont assimilables aux glandes sudoripares de par leur embryologie et histologie. Sur le plan histologique les glandes mammaires présentent deux formations essentielles (*Dadoune et al., 1990*) (**Figure 4**).

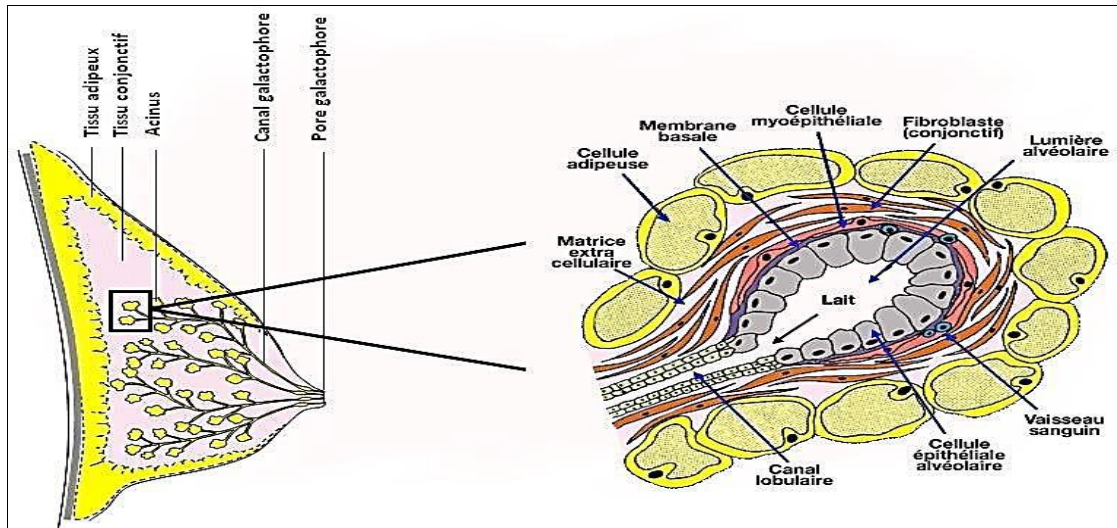
### 2.1. Les acini mammaires

Aussi appelées les tubulo-alvéoles mammaires ou simplement alvéoles. Ce sont des formations sphériques considérées comme l'unité principale de la lactation. Elles sont formées d'une membrane basale et d'un épithélium qui délimitent une lumière. L'épithélium est composé par une assise de cellules sécrétrices de forme cubique ou cylindrique et de cellules myoépithéliales de forme aplatie qui s'interposent de place en place sur la lame basale (*Dadoune et al., 1990*).

### 2.2. Les canaux galactophores

Les acini débouchent dans des canaux galactophores. Ce sont des structures lobulaires ramifiés. Ils sont d'abord intra-lobulaires revêtus d'un épithélium cubique entouré de cellules myoépithéliales. Chaque canal intra-lobulaire se jette dans un canal inter-lobulaire qui est quant à lui revêtu d'un épithélium stratifié, lui-même drainé par un canal collecteur revêtu d'épithélium cutané qui s'ouvre au niveau du mamelon par le pore galactophore (*Junqueira et al., 2007*).

Ces éléments sont répartis dans un tissu conjonctif cellulo-graisseux intra-lobulaire et inter-lobulaires et le tout délimité par les adipocytes qui forment le tissu adipeux (*Dadoune et al., 1990*).



**Figure 4 :** Représentation schématique d'un acinus ou alvéole mammaire (Delouis, 2017).

### 3. Physiologie du sein

Bien que n'étant pas une partie de l'appareil reproducteur féminin à proprement parler, les glandes mammaires sont considérées comme d'importantes glandes accessoires. Leur développement est un signe de puberté. En effet, avant la puberté le tissu mammaire ne subit aucune croissance importante. À partir de ce moment, il va se différencier selon le sexe : chez l'homme, les glandes mammaires garderont leur aspect atrophié, tandis qu'il y aura développement chez la femme au même temps que les ovaires. En réalité, il y aura une liaison physiologique entre le développement de ces glandes et le cycle génital, plus précisément sous l'influence des hormones stéroïdiennes ovariennes qui augmentent de manière cyclique (Masson, 1940 ; Schwegler, 2011) (Figure 5).

#### - Les oestrogènes

Les oestrogènes sont produits par les ovaires dans la première phase du cycle menstruel. L'oestrogène est sans aucun doute l'une des hormones les plus importantes pour la croissance des seins. Elle contribue au développement des seins pendant la puberté et la grossesse en contrôlant la prolifération et la division des cellules mammaires. Après l'ovulation la concentration d'oestrogène diminue et le sein revient à sa taille normale. Si une grossesse survient, la concentration d'oestrogène reste élevée pour poursuivre le développement du sein en préparation à l'allaitement. À la ménopause, l'absence d'oestrogène provoque la déshydratation du tissu conjonctif du sein qui perd en élasticité.

#### - La progestérone

C'est une hormone qui fonctionne avec les oestrogènes pour réguler le développement des seins. Elle est sécrétée par les ovaires (corps jaune) pendant la deuxième phase du cycle menstruel et donc après l'ovulation. Le bon fonctionnement des tissus mammaires hypertrophiés par l'oestrogène est maintenu par la progestérone une fois que la concentration de l'oestrogène diminuée. S'il y a grossesse, la concentration de progestérone restera élevée et contrôlera le développement des tissus glandulaires, favorisant ainsi l'allaitement.

### - La prolactine

C'est une hormone sécrétée par les cellules lactotropes de l'antéhypophyse. Elle exerce deux effets essentiels : Tout d'abord, un effet mammotrope pendant la puberté, la prolactine travaille en association avec les oestrogènes et la progestérone pour assurer le développement des glandes mammaires. Ensuite un effet lactogénique en cas de grossesse et après l'accouchement, en stimulant la production de lait au niveau des lobules mammaires. La sécrétion de cette hormone est régulée par deux facteurs hypothalamiques : Un stimulateur de la sécrétion, le PRF (Prolactin Releasing Factor) et un inhibiteur, le PIF (Prolactin Inhibiting Factor).

### - L'ocytocine

Cette hormone synthétisée par l'hypothalamus et sécrétée par la posthypophyse, et qui agit sur les muscles lisses de l'utérus (endomètre et myomètre) et des glandes mammaires (cellules myoépithéliales). Elle permet l'éjection du lait par les canaux galactophores en provoquant la contraction des cellules myoépithéliales qui entourent les acini.

La stimulation de la prolactine ainsi que l'ocytocine n'est maintenue que s'il y a tétée. Plus le bébé tète, plus l'éjection et la production de lait sont importantes (Sherwood, 2011).

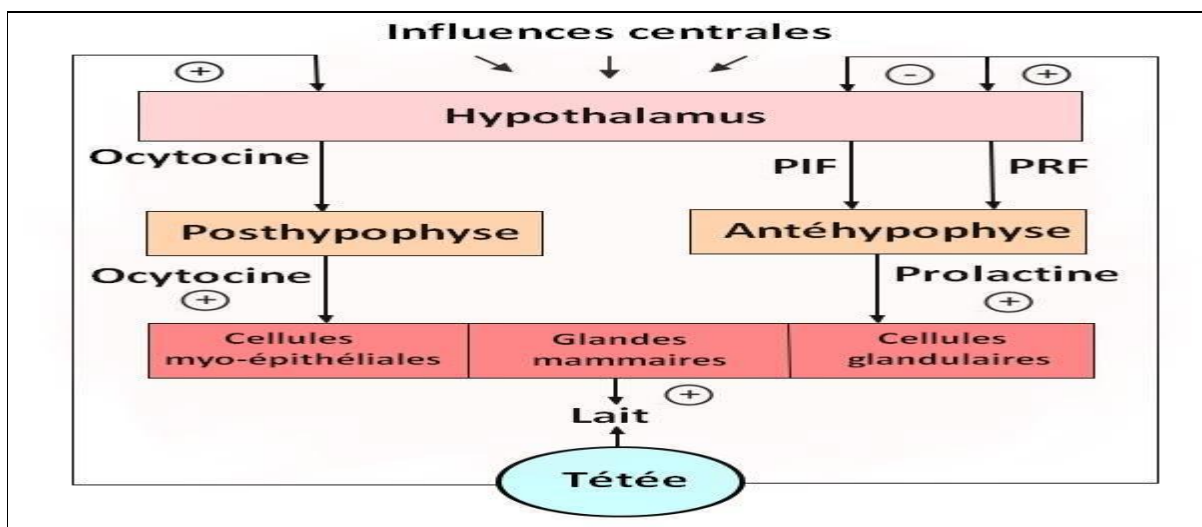


Figure 5 : Schéma représentatif du contrôle hormonal de la lactation (Sherwood, 2011).

Le cancer du sein fait référence à une tumeur maligne qui s'est formée dans les tissus mammaires .Ce type de cancer touche rarement les hommes. Cependant, il est le plus diagnostiqué et représente la deuxième cause de décès par cancer mondialement chez la femme (*NBCF, 2017*).

#### **4. Historique**

Il est couramment remarqué qu'il semble y avoir beaucoup plus de cas de cancer à ce jour qu'il y en avait auparavant. Toutefois, il est très difficile de dire si le cancer du sein est réellement plus commun dans la société d'aujourd'hui, ou si notre perception est faussée. Ce qui est sûr c'est que, de par sa complexité, il a été considéré étant un défi pour la médecine depuis l'antiquité.

Les premiers textes médicaux des anciens grecs et égyptiens décrivaient des maladies susceptibles d'avoir été des cancers. En effet, le premier cas de cancer du sein a été documenté en Égypte vers 1600 av. J.-C..Le Edwin Smith Papyrus, un texte ancien trouvé en 1860 dans une tombe égyptienne, a décrit huit cas de cancer du sein. Les premiers médecins essayant de le traiter ont écrit sur la maladie mystérieuse: "Il n'y a pas de traitement!" (*Lakhtakia, 2014*). Dans la littérature grecque antique, Hippocrate (460-370 av. J.-C.), considéré comme« le père de la médecine », a probablement décrit le premier vrai cas de cancer du sein dans l'histoire chez une femme nommée Abdera. Elle présentait un cancer du sein (karkinôma) associé à un saignement du mamelon (*Retief and Cilliers, 2011*).

Le médecin romain Aulus Cornelius Celsus (25 av.J.-C – 50 ap.J.-C) a décrit le cancer du sein dans son manuscrit "De Medicina", définissant quatre stades de la maladie: cacoethes (stade précoce et tumeur chirurgicalement curable), carcinome sans ulcération cutanée, carcinome avec ulcération et lésion avancée (*Retief and Cilliers, 2011*).

À travers les âges, de nombreuses théories concernant la cause du développement d'un cancer du sein ont vu le jour. Parmi les premières, les anciens Grecs, par exemple, croyaient qu'il était généralement causé par des déséquilibres dans les fluides essentiels qui contrôlent le corps (théorie des humeurs) en particulier un excès de la bile noire (*Lakhtakia, 2014*).

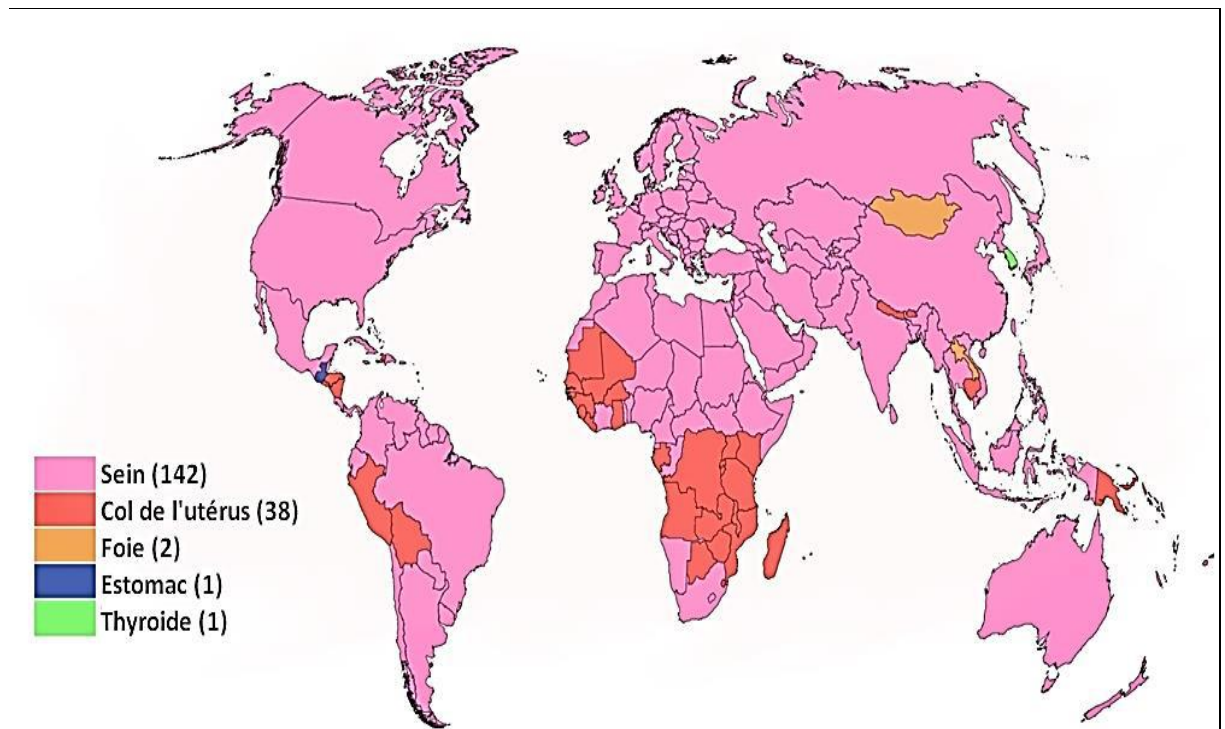
Du 17ème au 18ème siècles, une grande variété d'explications ont été proposées : Des blessures physiques au niveau du sein, contagion virale, et diverses formes de blocages lymphatiques (*Aronowitz, 2007*).

Au 19ème siècle, le désespoir est tel que le chirurgien écossais John Rodman suggéra que le cancer du sein était simplement lié à la peur de développer un cancer (*Aronowitz, 2007*).

La recherche continue encore aujourd'hui. Ce n'est qu'au milieu du 20ème siècle, avec la découverte de l'ADN, que les scientifiques ont finalement pu commencer à comprendre le rôle de la génétique dans le cancer du sein (*Borgen, 2000*).

## 5-Épidémiologie

Globalement, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes, tant en termes de mortalité qu'en termes d'incidence, à la fois dans les pays développés et en développement. Il représente également à lui seul 50% des cancers gynécologiques (sein, ovaires, corps et col de l'utérus) (*Mahnane and Hamdi Cherif, 2012; Sancho-Garnier, 2013*) (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Cartographie des cancers féminins dans le monde

Le cancer du sein représente environ un quart de tous les cancers touchant les femmes dans le monde. Cependant, dans certaines régions d'Afrique et d'Amérique du Sud, le cancer du col de l'utérus est un problème plus important (*OMS, 2012*).

### 5.1. Épidémiologie mondiale

Selon Globocan 2012, des tendances remarquables de cancer chez les femmes ont été observées. En effet, au niveau mondial, il est généralement estimé qu'une femme sur neuf (environ 11%) est diagnostiquée d'un cancer du sein chaque année et qu'une femme sur 30 (environ 3,4%) en mourra. Ainsi, il représente maintenant un cancer sur quatre chez les femmes (*Ferlay et al., 2014; Chiquette and Hogue, 2014*).

Depuis les dernières estimations en 2008, l'incidence a augmenté de plus de 20%, et la mortalité de 14%. En 2012, le cancer du sein arrive en 2ème position des cancers les plus fréquemment diagnostiqués dans le monde (1,7 million de cas, ou 11,9% du total), après celui du poumon (avec 1,8 million de cas, soit 13,0 % du total). Toutefois, une augmentation substantielle a été observée en 2015 avec 2,4 millions de cas diagnostiqués. Le cancer du sein est aussi l'une des principales causes de mortalité par cancer dans le monde avec 523 000 décès rapportés en 2015 (*Ferlay et al., 2014; Global Burden of Disease Cancer Collaboration et al., 2017*).

Bien que sa fréquence augmente dans la plupart des régions du monde (140 des 184 pays couverts par GLOBOCAN), il existe des inégalités entre les pays développés et les pays en développement. En réalité, l'incidence est légèrement plus élevée dans les pays développés, mais la mortalité est relativement plus fréquente dans les pays en développement. Ceci est principalement dû au moyens de détection et de traitement qui sont moins accessibles dans ces pays (*Ferlay et al., 2014*).

Il est nécessaire de rappeler que la grande majorité des types de cancer ont un taux d'incidence plus élevé chez les hommes que chez les femmes, l'une des rares exceptions évidentes à la règle étant le cancer du sein. Effectivement, on estime, par exemple, que sur les 1,7 millions de cas diagnostiquée en 2012, les hommes représentaient moins de 1% (*OMS, 2012*).

## **5.2. Répartition géographique**

En Europe, le cancer du sein est le plus commun devant le cancer de la prostate avec presque 500,000 cas enregistrés (13,3%) et 150,000 cas de décès (7,5%) rapportés en 2012. En effet, le cancer du sein enregistre plus de cas de décès que tout autre cancer en Europe et on estime qu'une européenne sur huit peut être diagnostiquée d'un cancer du sein avant l'âge de 85 ans (*Ferlay et al., 2014*).

En Asie, il est également le cancer le plus répandu mais avec toutefois un nombre de cas enregistrés inférieur à celui de l'Europe, 240,000 cas diagnostiqués (26,5%) et environ 110,000 cas de décès (19,8%). Notant que les cancers gynécologiques sont fréquent en Asie

avec en 2ème position le cancer du col de l'utérus et en 4ème position le cancer des ovaires (*GLOBOCAN, 2012*).

Légère différence en Amérique qui enregistre un taux plus faible avec environ 400,000 cas diagnostiqués (14,2%) et seulement 92,000 cas de décès (7,1%), le cancer du sein arrive en 2ème position juste après le cancer de la prostate. Enfin, en Afrique, il prend la tête du classement juste avant le cancer du col de l'utérus et de la prostate avec presque 100,000 cas enregistrés (15,5%) en 2012 et 50,000 cas de décès (*GLOBOCAN, 2012*).

### **5.3. La situation en Algérie**

Le cancer du sein est sans aucun doute le cancer le plus répandu en Algérie. En effet, selon y aura environ 11,000 nouveaux cas enregistrés chaque année dont 80 cas sont diagnostiqués à un stade actif. Le nombre de cas de décès, quant à lui, s'élèverait à 3500 et son incidence augmenterait de 7% par an (*Plan national cancer, 2014*).

Selon le rapport du registre du cancer de Constantine de 2014, le cancer du sein occupe la première place et représente à lui seul la moitié des cancers féminins à Constantine (320 cas soit 46,6%). 323 cas ont été enregistrés, 320 cas féminins (99,07%) et 3 cas masculins (0,93%) (*Registre du cancer de Constantine, 2014*).

## **3. Types histopathologiques du cancer du sein**

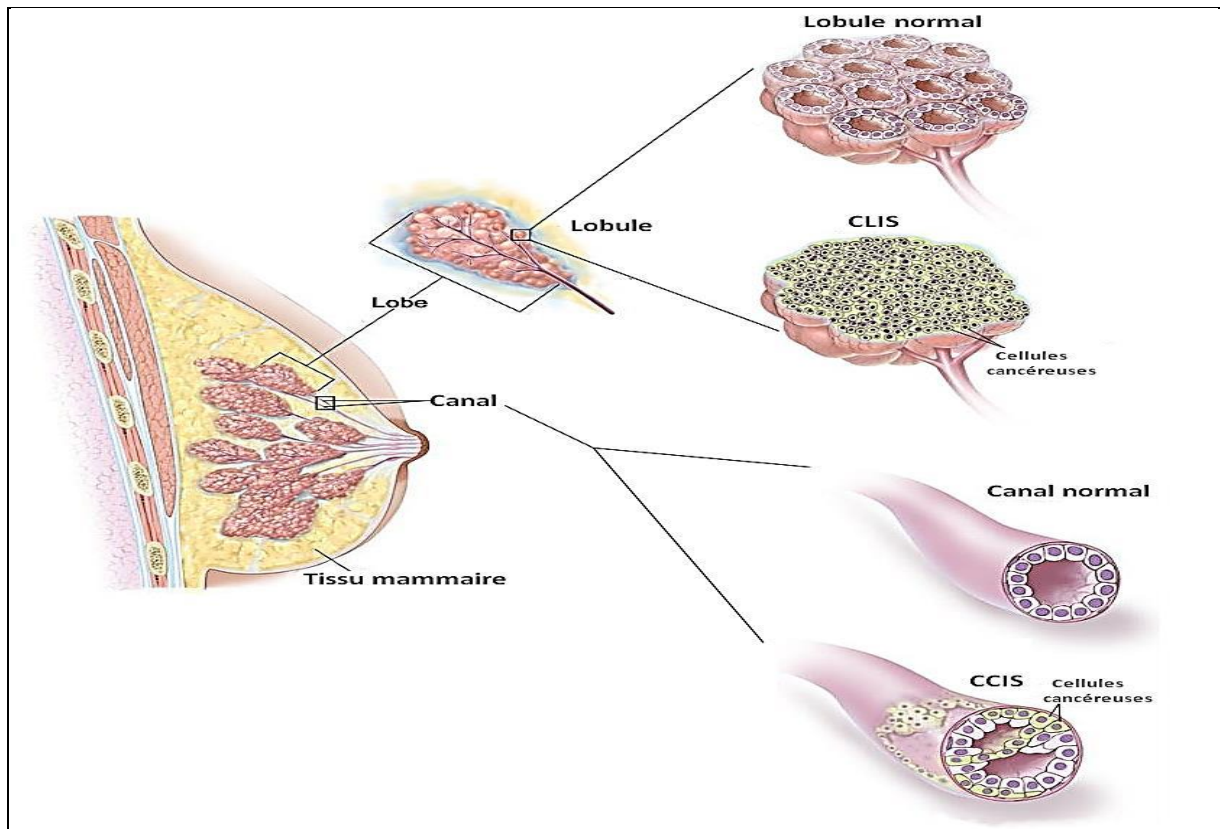
Le cancer du sein représente 95% des tumeurs mammaires. Il peut se développer au niveau de n'importe quelle cellule de la glande mammaire ce qui lui confère un large éventail de types histologiques. La grande majorité proviennent des tissus épithéliaux et sont donc des carcinomes. Ces derniers peuvent être divisés en fonction de leurs caractéristiques d'infiltration des tissus environnants en carcinomes non invasifs (in Situ) et en carcinomes invasifs (infiltrant) ainsi que selon le type de cellule qui prolifère soit à partir des canaux galactophore, on parle alors de carcinome canaux, soit à partir des acini situés dans les lobules, ce sont les carcinomes lobulaires (*Sørli et al., 2001; Chiquette and Hogue, 2014*).

### **3.1. Carcinomes In Situ**

Les carcinomes in situ sont définis par une prolifération locale dans la lumière de la glande mammaire soit au niveau des canaux galactophoriques ou des acini. Dépourvus de capacité de métastase, ils ne franchissent pas la lame basale, n'infiltrant pas les tissus conjonctifs sous-jacents, et ne se propagent pas vers les ganglions lymphatiques ou vers d'autres organes. Il existe 02 types (*Holland et al., 1994; Adam and Petit, 2016*) (**Figure 7**).

- **Le carcinome canalaire in-situ (CCIS)**, se développe à l'intérieur des canaux galactophores et des terminaisons ducto-lobulaires, il n'infiltré pas le tissu conjonctif.
- **Le carcinome lobulaire in situ (CLIS)**, aussi appelé néoplasie lobulaire, il se développe à partir des lobules, il n'infiltré également pas le tissu conjonctif mais peut se propager dans les canaux extra-lobulaires.

En absence de diagnostic et sans traitement adéquat, ce type de carcinome peut poursuivre son développement et devenir alors un carcinome « infiltrant » ayant alors la possibilité d'invasion et de métastase (*Schnitt, 2003*).



**Figure 7 :** Représentation schématique d'un CCIS et d'un CLIS (*Winslow, 2012*)

### 3.2. Carcinomes Infiltrants

Ce type est également appelé carcinome invasif, il est la conséquence des cellules cancéreuses qui franchissent la lame basale et envahissent ainsi les tissus mammaires environnant. La plupart des cancers du sein sont invasifs. Il existe plusieurs types de cancers infiltrants du sein, chacun avec des caractéristiques qui lui sont propres et certains types plus communs que d'autres, (*Barroso-Sousa and Metzger-Filho, 2016; Chiquette and Hogue, 2014*)

:

- **Le carcinome canalaire infiltrant (CCI) :** Il représente la forme la plus fréquente (76%). Tout comme le carcinome canalaire in situ, il prend ses origines à partir des canaux galactophores mais à la différence, il finit par envahir les tissus adjacents.

- **Le carcinome lobulaire infiltrant (CLI) :** Deuxième type de cancer du sein le plus fréquent (8%) après le carcinome canalaire infiltrant. Tout comme le CLIS, il commence à se développer à partir des lobules pour ensuite se propager dans les tissus mammaires voisins.

- **Autres carcinomes infiltrants :** Plus rare et dits de pronostiques plus favorable (*Chiquette and Hogue, 2014*) (**Tableau 01**).

**Tableau 1 :** Autres types de Carcinome.

<b>Carcinome</b>	<b>Particularité</b>	<b>Fréquence%</b>
<b>Carcinome mucineux</b>	Cellules cancéreuses sécrétant du mucus.	<b>2,4</b>
<b>Carcinome tubuleux</b>	Forme des tubules et de petites structures glandulaires.	<b>1,5</b>
<b>Carcinome médullaire</b>	Limité, constitué de cellules peu différenciées dans un stroma peu abondant.	<b>1,2</b>
<b>Carcinome papillaire</b>	Représente un groupe hétérogène de tumeurs	<b>1,0</b>

- **Maladie de Paget du mamelon :** Autre carcinome rare, ce type affecte la peau du mamelon. En effet, des cellules cancéreuses développent à partir de l'épiderme du mamelon. Cette maladie se manifeste par une plaque eczémateuse associant croûtes et rougeur. La plupart des personnes atteintes de la maladie de Paget ont également souvent une ou plusieurs tumeurs dans le même sein, généralement un carcinome canalaire in situ ou infiltrant (*Chiquette and Hogue, 2014*).

Les carcinomes mammaires chez l'homme sont les mêmes que chez la femme avec une prédominance pour le carcinome intra-canalaire in situ (*Benahsen, 2016*).

### **3.3. Autres types de cancer du sein**

D'autres tumeurs malignes mammaire autre que les carcinomes existent mais sont relativement rare (*Benahsen, 2016*).

#### - Les sarcomes

Les sarcomes représentent moins de 1 % des cancers du sein. Ce sont des tumeurs malignes qui se développent aux dépens du tissu conjonctif mammaire et peuvent envahir les zones environnantes avec un potentiel de métastases vers d'autres parties du corps. Ils peuvent être divisés en deux catégories : le développement de novo (primaire) ou le développement lié à une radiothérapie (secondaire)(*Yin et al., 2016*).

Il existe un type de tumeur dit « mixte » appelée le carcino-sarcome qui associe des cellules cancéreuses épithéliales ainsi que mésenchymateuse.(*Ghanem et al., 2013*)

#### - Les lymphomes

Ils représentent entre 0,04 et 0,5% de la totalité des cancer du sein Bien que les tumeurs malignes hématologiques n'affectent que rarement les glandes mammaires, la majorité d'entre eux sont des lymphomes. Ces derniers se manifestent par une ou plusieurs masses qui peuvent être confondu avec des maladies bénignes et malignes du sein. La plupart des lymphomes mammaires primaires sont de type non hodgkinien à cellules de type B (*Shim et al., 2013; Chiquette and Hogue, 2014*).

### 4. Classification des cancers du sein

#### 4.1. Stades de développement

Une fois qu'un cancer du sein a été diagnostiqué, il est indispensable d'en déterminer le stade. La stadification est un processus qui permet d'évaluer la gravité du cancer d'un individu en fonction de la taille ainsi que l'étendue de la tumeur. Ceci permet de prédire l'évolution de la maladie, et de ce fait établir une meilleure stratégie thérapeutique (*American Joint Committee on cancer, 2017*). Le système de stadification le plus couramment utilisé par les professionnels est le système TNM (Tumor [tumeurs], Nodes [ganglions], Metastasis [métastases]). Adopté par « American Joint Committee of Cancer » (AJCC) et l'Union Internationale pour la lutte Contre le Cancer (UICC), ce système de classification permet aux médecins de mettre en évidence les différents stades du cancer en fonction de certains critères (*American Joint Committee on cancer, 2017*) :

- **La taille de la tumeur (T)** : l'évaluation de la taille et de l'étendue de la tumeur primitive indique le degré d'évolution du cancer.

- **L'atteinte ou non des ganglions lymphatiques régionaux (N)** : si les cellules cancéreuses s'étendent au-delà de la membrane basale leurs premières cibles sont les ganglions lymphatiques axillaires.

- **Présence ou non de métastase (M)** : les cellules cancéreuses peuvent se développer et se propager dans d'autres parties du corps au-delà du système lymphatique.

Ces 3 critères combinés définissent les différents stades du cancer du sein allant du stade 0 au niveau du quel le cancer se limite uniquement aux canaux et lobules du sein, jusqu'au stade VI où le cancer s'est propagé à d'autres organes du corps .

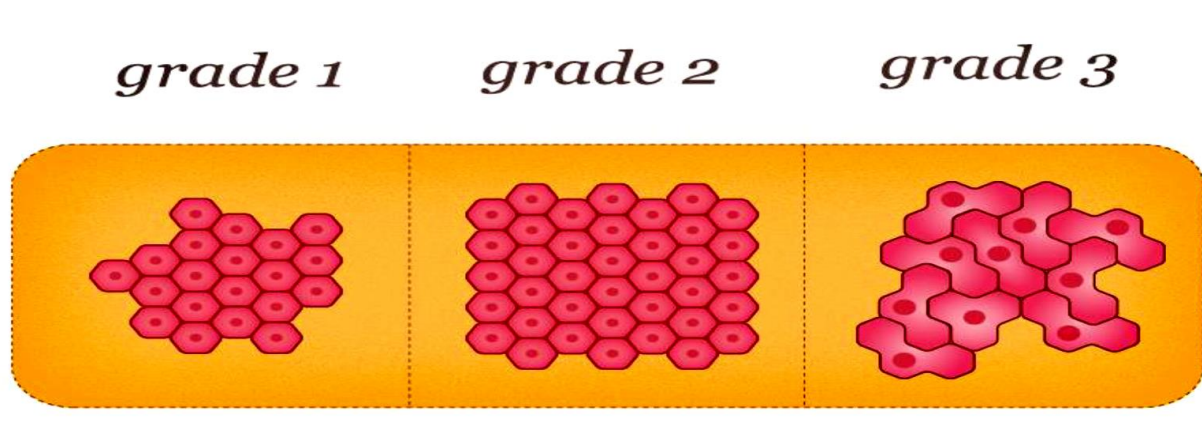
#### 4.2. Grades histopronostiques

Les grades histopronostiques SBR (Scarff Bloom et Richardson) ou EE (Elston et Ellis) d'un cancer décrivent le potentiel agressif de la tumeur. Généralement, les cancers de «bas grade» ont tendance à être moins agressifs que les cancers de «haut grade». Pour identifier le grade d'une tumeur, l'anatomo-pathologiste effectue un prélèvement de la tumeur et se base sur différents critères microscopiques pour définir son grade tels que : l'apparence des cellules cancéreuses par rapport aux cellules normales, la fréquence à laquelle elles se divisent ainsi que leur caractéristique nucléaires. Ces différents critères permettent de définir 3 grades (*Rakha et al., 2010; Demmer, 2013*) (**Figure 8**) :

- **Le grade I (SBR I)**: Tumeur bien différenciée, les cellules cancéreuses sont semblables aux cellules normales, et elles se multiplient peu.

- **Le grade II (SBR II)**: Tumeur modérément différenciée, les cellules cancéreuses sont légèrement plus grandes que les cellules normales, de forme variable et croissent plus rapidement que les cellules normales.

- **Le grade III (SBR III)** : Tumeur peu différenciée ou non différenciée, les cellules cancéreuses ont un aspect différent des cellules normales et elles se multiplient rapidement.



**Figure 8** : Apparence des cellules cancéreuses aux différents grades du cancer du sein (*NBCF, 2017*).

#### 5. Facteurs de risques

L'apparition d'un cancer du sein n'a pas de cause unique et bien définie. En effet, il résulte de l'interaction de plusieurs facteurs de risque qui augmentent la probabilité de le développer. Cependant le fait d'avoir un ou plusieurs facteurs de risque ne signifie pas que la personne va être atteinte. De plus plusieurs femmes n'ayant aucun facteur de risque connu ont développé un cancer du sein (*Meister and Morgan, 2000*). Il existe divers facteurs de risques du cancer du sein :

### **5.1. Facteurs de risque personnels**

#### **- Le sexe**

Le simple fait d'être une femme représente le facteur de risque le plus important du cancer du sein. Bien que les hommes puissent également développer ce type de cancer, les femmes sont, toutefois, 100 fois plus susceptibles (*Meister and Morgan, 2000*).

#### **- L'âge**

Le risque pour une femme de développer un cancer du sein au cours de sa vie augmente avec l'âge. Environ 75% des cas de cancer du sein surviennent après l'âge de 50 ans et touchent rarement les femmes de moins de 30 ans (*NBOCC, 2009*).

#### **- Les Antécédents personnels**

D'une part, les femmes qui ont déjà eu un cancer du sein ont 3 à 4 fois de risque de développer un autre cancer controlatéral. En effet, certaines femmes ayant présentée un CLIS ou un CCIS risquent d'avantage d'avoir un deuxième cancer du sein. D'autre part, les femmes qui ont déjà été touché par une pathologie mammaire bénigne présentent également un risque. Mais ce dernier dépend du type de lésion (*Meister and Morgan, 2000*).

### **5.2. Facteurs de risques physiologiques**

#### **- La Grossesse**

Les femmes qui ont donné naissance à leur premier enfant à un âge relativement avancé présentent un risque plus accru de développer un cancer du sein que celles qui ont eu leur première grossesse à terme à un jeune âge. De plus, les femmes n'ayant jamais eu d'enfant ont un risque plus élevé que celles qui en ont eu un ou plusieurs (*Jamin, 2011*).

#### **- L'allaitement**

L'allaitement maternel est considéré comme un facteur protecteur. Cela s'explique principalement par la réduction du nombre de cycles ovulatoires et donc la diminution du taux d'oestrogène accompagnant chaque cycle (*Meister and Morgan, 2000*).

#### **- La ménopause**

Une ménopause précoce est liée à un risque plus faible de cancer du sein. Elle survient lorsque les ovaires cessent de produire les hormones ovariennes, principalement l'oestrogène. Les femmes qui entrent en ménopause à un âge plus avancé (après 55 ans environs) auront une production prolongée d'hormones ovariennes et donc un risque plus élevé de développer un cancer du sein (*Meister and Morgan, 2000*).

### **5.3. Facteurs hormonaux**

#### **- Exposition aux oestrogènes**

Le cancer du sein est majoritairement hormonodépendant, c'est-à-dire que les cellules cancéreuses sont sensibles à certaines hormones, plus particulièrement aux oestrogènes sécrétés par les ovaires et le tissu graisseux mammaire. Des taux élevés d'oestrogène dans le corps, surtout à la ménopause, augmenteraient considérablement le risque de survenu d'un cancer du sein (*Travis and Key, 2003*).

#### **- Hormonothérapie substitutive**

L'hormonothérapie de substitution est utilisée pour compenser les faibles taux d'hormones sexuelles à la ménopause, en particulier d'oestrogène. Ces traitements substitutifs, lorsqu'ils sont prolongés, augmenteraient considérablement le risque de cancer du sein. (*Brinton et al., 2008*).

#### **- Contraceptifs oraux**

Selon une étude la relation entre la contraception orale et le risque de cancer du sein reste controversée. Certaines études suggèrent qu'elle augmenterait légèrement le risque de cancer du sein, tandis que d'autres ont montré une faible association, voire inexistante. Il a même été rapporté que la durée de prise des contraceptifs oraux était peu importante et que le risque de survenue d'un cancer du sein diminuerait de manière significative 10 ans après l'arrêt de leurs utilisations. Toutes ces contradictions laisse à croire que le sujet est encore mal compris (*Kamińska et al., 2015*).

### **5.4. Facteurs liés au mode de vie**

#### **- Obésité et absence d'activité physique**

Les femmes en surpoids et/ou obèses et ménopausées ont plus tendance à être diagnostiquée d'un cancer du sein. Ceci serait dû à une production accrue d'oestrogène par le tissu graisseux qui jouerait un rôle dans le développement du cancer du sein. Dans ce sens, un poids élevé à la ménopause entrainerait un excès de tissu graisseux qui secrèterait ainsi une quantité plus importante d'oestrogène (*Rehman et al., 2010*).

Étroitement liée à l'obésité, l'absence d'activité physique en plus d'une mauvaise alimentation, en particulier chez les femmes ménopausées, sont également considérés comme des facteurs de risque (*Fournier et al., 2008*).

#### **- Tabac**

Le tabagisme ou l'exposition à la fumée secondaire auraient fortement un lien avec le développement d'un cancer du sein. En effet, il a déjà été prouvé que la fumée du tabac est cancérigène. Toutefois, son rôle précis dans la survenue d'un cancer du sein reste incertain. Des études suggèrent que le tabagisme est associé à des taux plus élevés d'hormones sexuelles et donc d'oestrogène, ceci pourrait ainsi expliquer en partie son implication (*Key et al., 2011; International Agency for Research on Cancer, 2017*).

#### **- Alcool**

La consommation excessive ou même modérée d'alcool est associée à un grand risque de survenue d'un cancer du sein. Les recherches actuelles suggèrent que le fait de consommer plus d'un verre par jour augmenterait le risque. Cependant, tout comme pour le tabac, le mécanisme exact de son implication reste incompris mais serait lui aussi associé à des taux plus élevés d'hormones sexuelles (*Rinaldi et al., 2006; Fournier et al., 2008*).

### **5.5. Facteurs environnementaux**

#### **- Radiations ionisantes**

L'exposition à des radiations ionisantes et l'accumulation de doses à un jeune âge, pour cause de traitement médical (en particulier pour les lymphomes de Hodgkin) ou accident nucléaire, peut augmenter le risque de développer un cancer du sein (*Chiquette and Hogue, 2014*).

#### **-Exposition à des produits chimiques et polluants**

De nombreux produits et composés chimiques au quels nous sommes souvent ou tous les temps exposés sont considérés comme cancérigènes : Pesticides, produits de ménages, produits cosmétiques, dioxines, polluants tels que les organochlorés (BPC, DDT, etc..) et les polychlorobiphényles. Certains joueraient un rôle de perturbateurs endocriniens capable de modifier le fonctionnement du système hormonal en interférant avec les oestrogènes (*Macon and Fenton, 2013*).

### **5.6. Facteurs de risque de récurrence**

Il existe toujours un risque pour que le cancer du sein réapparaisse peu de temps après traitement ou dix années plus tard, on parle alors de récurrence. Certains facteurs sont associés à un risque de récurrence, la plupart sont anatomopathologiques tel que la taille de la tumeur,

l'atteinte des ganglions lymphatiques axillaires, le type histologique, et le grade. L'obésité, le manque d'exercice, ainsi que les radiothérapies effectuées précédemment augmenteraient aussi le risque de récurrence (*Chiquette and Hogue, 2014 ; Chen et al., 2016*)

### **5.7. Facteurs de risque chez l'homme**

Généralement, un homme a beaucoup moins de risque de développer un cancer du sein. Toutefois, il peut être susceptible à certains facteurs similaires à ceux de la femme tel que : l'obésité, la sédentarité, la consommation d'alcool, le tabagisme, et l'exposition aux radiations ionisantes. D'autres facteurs de risque propre à l'homme existent comme des taux d'oestrogènes supérieurs à la normale, ainsi que certaines conditions comme des pathologies testiculaires ou le syndrome de Klinefelter. En effet, certaines études ont montré que les hommes atteints de ce dernier ont plus tendance à avoir un cancer du sein, ce syndrome entraîne une diminution des taux d'androgène et une augmentation des taux d'oestrogène, cette association reste cependant incomprise du fait de la rareté des deux maladies (*Hultborn et al., 1997; Brinton et al., 2008*).

### **5.8. Facteurs de risque génétiques :**

Des mutations sporadiques à l'hérédité, plusieurs facteurs génétiques jouent un rôle prépondérant dans le développement d'un cancer du sein. Ces facteurs peuvent agir seuls ou en interaction avec les facteurs de risque cités précédemment. Beaucoup de gènes semblent être associés au cancer du sein, certain plus que d'autres, cette partie sera développer dans le chapitre suivant.

## Chapitre II : Génétique du cancer du sein

### 1. Déterminants génétique du cancer du sein

L'hérédité dans la survenue des cancers est un problème qui n'a été abordé que depuis une dizaine d'années (Terki K, *et al.*, 2012). En effet, que la grande majorité des cancers du sein sont «sporadiques », on distingue environ 10% de formes « héréditaires », identifiables dans certaines familles comportant un excès de cancer du sein et caractérisé en générale par un jeune âge au diagnostic (<45 ans). Des analyses de ségrégation démontrant que, dans ces familles, la susceptibilité, est transmise selon un mode de transmission autosomique dominant à forte pénétrance. Une hétérogénéité génétique est observé, compatible avec l'existence de plusieurs gènes de susceptibilité (Faunteun., 1999).

Parmi les facteurs de risque des cancers du sein, l'histoire familiale et/ou l'hérédité apparaissent clairement comme des déterminants majeurs. Il est actuellement admis qu'un antécédent de cancer du sein dans une famille augmente le risque de chaque apparenté de développer un cancer du sein au cours de sa vie. Des études épidémiologiques ont révélé que les facteurs impliqués dans la cancérogénèse mammaire pouvaient avoir un effet différent sur le risque de cancer du sein en présence ou en absence d'antécédents familiaux (Terki K, *et al.*, 2012).

#### 1.1. Le cancer héréditaire et le cancer familial

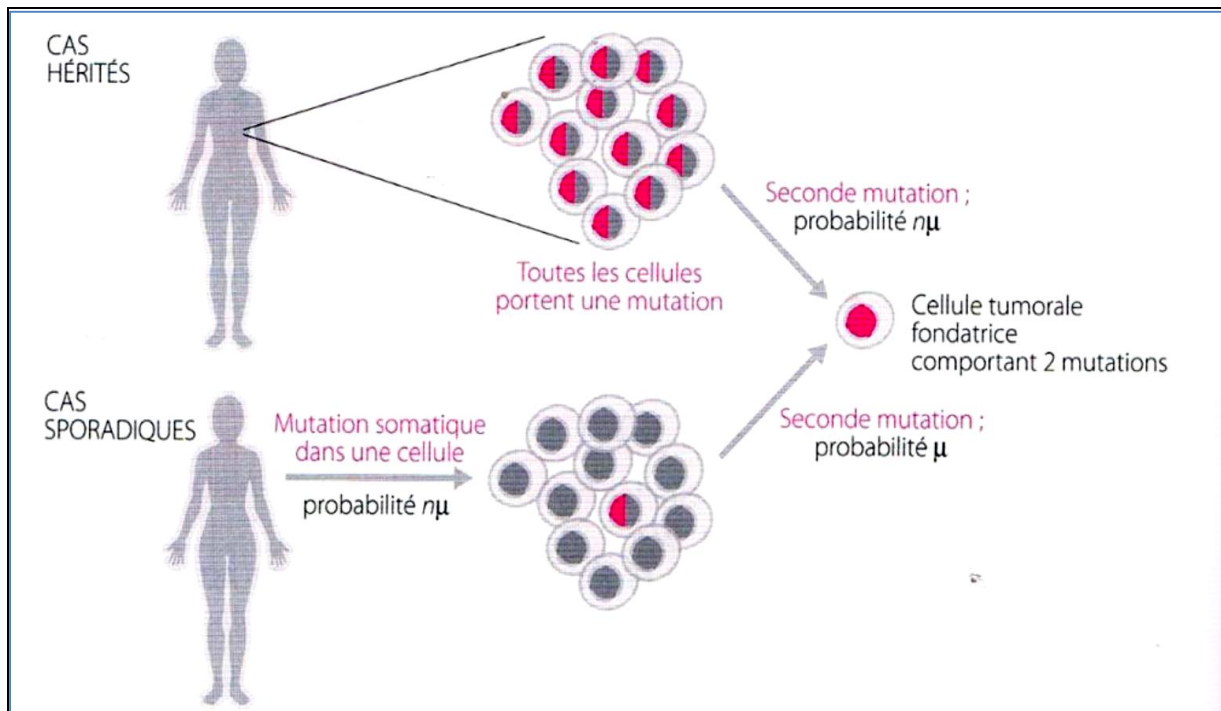
Pour les cancérologues, le terme « cancer familial » se réfère habituellement à un cancer qui frappe plusieurs membres de la famille sans pour autant être héréditaire ; alors qu'un « cancer héréditaire » décrit les cancers qui sont transmissibles et, dans certaines cas, familiaux. Dans la plupart des syndromes de cancers héréditaire et dans la quasi-totalité des formes sporadiques, plusieurs mutations dans une cellule somatique sont nécessaires pour le démarrage et le développement d'un cancer (Pasternak., 2003).

Parmi ces cancers survenant à l'intérieur d'une même famille, on considère comme « héréditaires » ceux pour lesquels une mutation d'un gène de susceptibilité est connue, ou qu'une telle mutation est suspectée sur la base du risque élevé retrouvé dans la famille. Le terme « familial » est quant à lui utilisé lorsque le cancer est retrouvé chez au moins deux parentes au premier et/ou au second degré, sans que la transmission mendélienne d'une susceptibilité soit apparentée. Le reste des cas de cancers apparait en l'absence d'une histoire familiale de cancer du sein et sont habituellement appelées des cas « sporadique » (Desjardins., 2010).

Cependant, la découverte de nouveaux allèles de susceptibilité et l'étude exhaustive des antécédents familiaux liées à certain cas pourraient permettre de reclassifier une partie des cancers familiaux (et même certains cancers sporadiques) en tant que cancer héréditaires (Desjardins., 2010).

La comparaison entre les formes héréditaires familiale et les formes sporadiques révèle deux différences importantes :

- Les formes familiales se manifestent à un âge plus jeune.
- Les formes familiales sont souvent multifocales.



**Figure 9** : relation entre les formes sporadiques et héréditaires d'une même tumeur. (Sznajer et al., 2009).

Les études de liaison ont permis l'identification des gènes de susceptibilités impliqués dans de nombreux syndromes de cancers familiaux. Une fois le gène responsable identifié, des mutations de ses gènes peuvent être recherchées dans les tumeurs sporadiques ; dans ce contexte un nombre significatif de gènes suppresseurs de tumeur a été identifiée (Sznajer et al., 2009).

Le tableau suivant range les cancers en trois classes différentes : cancer héréditaire, cancer familial, et cancer sporadique et explique les caractéristiques spécifiques pour chacun (Tableau 2).

**Tableau 2** : Caractéristiques des familles présentant des cas de cancer du sein héréditaire (Desjardins., 2010).

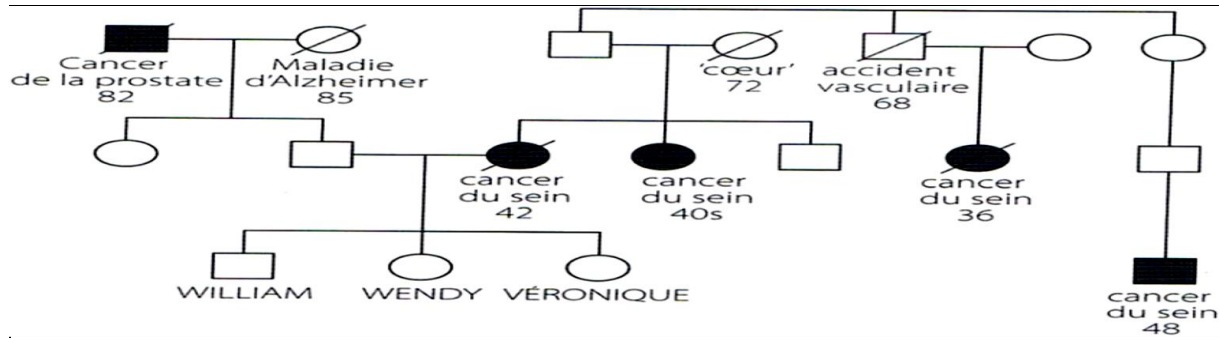
Classification	Caractéristiques
<b>Cancer héréditaire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Transmission autosomique dominante apparente de type spécifique de cancer</li> <li><input type="checkbox"/> Âge plus jeune au diagnostic du cancer que ce qui est attendu</li> <li><input type="checkbox"/> Multiples cancers primaires chez un même individu</li> <li><input type="checkbox"/> Regroupement de cancers rares</li> <li><input type="checkbox"/> Cancer bilatéral ou multifocal</li> <li><input type="checkbox"/> Parents au premier degré des individus atteints ont un risque de 50% d'être porteurs de la même mutation</li> <li><input type="checkbox"/> Pénétrance incomplète et expression variable, de telle façon que les porteurs obligatoires de la mutation familiale peuvent ne pas être affectés par le cancer et que l'âge au diagnostic du cancer parmi les parents sera variable</li> <li><input type="checkbox"/> Les individus qui n'ont pas la mutation familiale ont le même risque que la population générale de développer un cancer</li> </ul>
<b>Cancer familial</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Plus de cas d'un ou plusieurs type(s) de cancer(s) à l'intérieur d'une même famille que ce qui est statistiquement attendu, mais pas de patron d'héritabilité clair</li> <li><input type="checkbox"/> Âge variable au diagnostic</li> <li><input type="checkbox"/> Peut résulter du regroupement par chance de cas sporadiques</li> <li><input type="checkbox"/> Peut résulter de facteurs génétiques communs, d'un environnement et/ou d'habitudes de vie similaires</li> <li><input type="checkbox"/> Ne présente pas habituellement les caractéristiques classiques des syndromes de cancers héréditaires</li> </ul>

<b>Cancer sporadique</b>	<ul style="list-style-type: none"><li><input type="checkbox"/> Les cancers dans la famille sont probablement dus à des causes non héréditaires</li><li><input type="checkbox"/> Âge du diagnostic typique</li><li><input type="checkbox"/> Même s'il y a plus d'un cas dans la famille, il n'y a pas de patron de transmission héréditaire clair</li><li><input type="checkbox"/> La probabilité est très basse que la recherche de mutations de gènes de susceptibilité sera positive, le test génétique n'offrira pas d'information supplémentaire sur le risque de cancer.</li></ul>
--------------------------	---

### 1.2. Cancer du sein, histoire familiale et prédisposition

Dans certaines familles, plusieurs personnes, par fois sur plusieurs générations, peuvent être touchées par un cancer du sein. On ne sait pas précisément ce qui est à l'origine de cette maladie ; il s'agit d'une maladie dite multifactorielle. De nombreux facteurs, dont les antécédents familiaux, interviennent mais n'expliquent pas à eux seuls le cancer. Dans des études portant sur de grands nombres de femmes, ils ont trouvé un peu plus de cancers du sein chez les femmes dont une parente proche était atteinte.

Pour cela, la consultation d'un oncogénéticien est importante afin d'évaluer plus précisément le poids d'une histoire familiale par une réalisation d'un arbre généalogique puis organiser la recherche de l'anomalie génétique en cause dans la famille (Figure 7). En pratique, des anomalies des gènes BRCA1 et BRCA2, qui ont un risque sur deux de se transmettre d'une personne à ses descendants, peuvent expliquer des histoires familiales. Cette recherche se fera dans un premier temps chez des sujets déjà atteints de la maladie dans la famille, car la probabilité de trouver l'anomalie génétique (mutation) est bien plus élevée c'est-à-dire il faut faire une consultation d'oncogénétique, cette analyse complète des deux gènes à partir d'un prélèvement sanguin prendra plusieurs mois (Nogues et al., 2013).



**Figure 10 :** Exemple d'une famille (la famille de Willems). Arbre généalogique montrant les différents types de cancer et l'âge au moment du diagnostic: (Sznajer et al, 2009).

## 2. La prédisposition génétique au cancer du sein

La démarche en oncogénétique s'attache à identifier des personnes à risque élevé de développer un cancer du sein ; les patientes sont adressés en consultation lorsque est suspectée une prédisposition génétique sur la base de leur histoire familiale (nombre de cas, association familiale de cancers évocateurs) et/ou personnelle (précocité, multiplicité des atteintes, caractéristiques histologiques du cancer, signes cliniques associées...) (Gonçalves., 2013).

### 2.1 Gènes de susceptibilité au cancer du sein connus

Environ 5% des cancers du sein sont associées à un gène de prédisposition à forte pénétrance : BRCA1 ou BRCA2, le plus souvent ; Certaines configurations familiales font évoquer d'autres gènes à forte pénétrance (Exemple du syndrome de Li-Fraumeni avec le gène P53, ou encore du gène CDH1). Parfois, il s'agit de la présence de signes cliniques ou d'antécédents personnels non néoplasiques évocateurs (par exemple dans les syndromes de Cowden, ou de Pentz-Jeghers). Mais en pratique, même lorsque l'histoire clinique justifie l'analyse des gènes BRCA1 ou BRCA2, l'analyse moléculaire n'identifie une mutation que chez environ 10 à 15%. Des femmes testées (en France en 2011, ceux sont 860 mutations BRCA1 ou BRCA2 qui ont été identifiées sur 7393 prescriptions).

Il existe donc un nombre significatif de femmes qui, bien que cette analyse BRCA se soit révélée négative, ont des antécédents personnels ou familiaux évocateurs d'une susceptibilité génétique au développement des cancers ; plusieurs hypothèses peuvent être alors soulevées dans ces confirmations-là :

- Des faits négatifs spécifiques BRCA1/BRCA2 : on suspecte que certaines mutations ne sont pas encore détectées ;

- L'implication d'un ou de plusieurs autres gènes de prédisposition au cancer du sein à pénétrance modérée ou faible, soient non encore identifiés, soient connus (RAD51C, PALB2, CHEK2, RAD50....).

- L'existence d'interactions entre plusieurs gènes, interactions gènes-Environnement (Gonçalves., 2013).

Aujourd'hui, L'étude de l'héritabilité d'une prédisposition au cancer du sein a permis de mettre en évidence trois catégories d'allèles de susceptibilités, chacune de ces catégories étant associées à un risque relatif et à une prévalence dans la population (Tableau 4).

La première classe est constituée d'allèles rares de forte pénétrance (BRCA1, BRCA2, TP53) et de pénétrance incertaine (PTEN, STK11, CDH1) associés à un risque élevé de cancer du sein, et qui ont été identifiés par l'intermédiaire de syndromes familiaux. La seconde catégorie d'allèles de susceptibilité regroupe des allèles relativement rares et de pénétrances modérées (*ATM, CHEK2, BRIP1/FANCI, PALB2/FANCD1*) associés à un risque moins grand de développer un cancer du sein (*Desjardins., 2010*).

Ces gènes ont été identifiés principalement par l'intermédiaire d'une approche de type « gène candidat » dans laquelle la recherche de mutations est effectuée directement dans un gène sélectionné sur la base d'une probabilité antérieure liée à sa fonction. La toute dernière catégorie d'allèles récemment identifiées est constituée d'allèles communs de faible pénétrance, associés à un risque faible de cancer du sein. Puisque ces allèles ne confèrent qu'une augmentation très faible de la susceptibilité au cancer du sein, leur identification nécessite l'utilisation d'études de grande envergure regroupant plusieurs milliers d'individus provenant de plusieurs pays et représentant habituellement plusieurs ethnies (*Desjardins., 2010*).

**Tableau 3** : Principaux allèles de susceptibilité au cancer du sein connus.

Type d'allèle	Gène	Loci	Syndrome associé	Risque de cancer du sein (IC 95%) <sup>1</sup>	Fréquence des porteurs <sup>2</sup>
Forte pénétrance	<i>BRCA1</i>	17q21	Cancer du sein et de l'ovaire héréditaire	RC à 70 ans de 65%	0,10%
	<i>BRCA2</i>	13q12	Cancer du sein et de l'ovaire héréditaire / Anémie de Fanconi	RC à 70 ans de 45%	0,10%
	<i>TP53</i>	17p13.1	Li-Fraumeni	RR: 18,1 (8,6-33,2)	rare
Pénétrance incertaine	<i>PTEN</i>	10q23.3	Cowden	RC à vie de 25-50%	rare
	<i>STK11/LKB1</i>	19p13.3	Peutz-Jeghers	RC à 70 ans de 30-50%	rare
	<i>CDHI</i>	16q22.1	Cancer gastrique héréditaire diffus	RR: 6,6 (5,9-7,3)	rare
Pénétrance intermédiaire	<i>ATM</i>	11q22-23	Ataxie-Télangiectasie	RR: 2,37 (1,51-3,78)	0,40%
	<i>CHEK2</i>	22q12.1		OR: 2,6 (1,3-5,4)	0,40%
	<i>BRIP1/FANCF</i>	17q22-24	Anémie de Fanconi	RR: 2,0 (1,2-3,2)	0,10%
	<i>PALB2/FANCN</i>	16p12.1	Anémie de Fanconi	RR: 2,3 (1,4-3,9)	rare
Faible pénétrance	<i>FGFR2*</i>	10q	-	OR: 1,26 (1,23-1,30)	38%
	<i>TOX3/TNRC9*, LOC643714*</i>	16q	-	OR: 1,20 (1,16-1,24)	25%
	<i>MAP3K1*</i>	5q	-	OR: 1,13 (1,10-1,16)	28%
	-	8q24	-	OR: 1,08 (1,05-1,11)	40%
	<i>MRPS30*</i>	5p12	-	OR: 1,19 (1,13-1,26)	25%
	<i>LSP1*, H19</i>	11p15	-	OR: 1,07 (1,04-1,11)	30%
	-	2q35	-	OR: 1,20 (1,14-1,26)	50%
	<i>CASP8</i>	2q33	-	OR: 0,88 (0,84-0,92)	13%
	<i>EDHCD1*, RNF146*</i>	6q22.33	-	OR: 1,41 (1,25-1,59)	27%

### 2.1.1. Les allèles à forte pénétrance

Les mutations constitutionnelles délétères *BRCA1*, et *BRCA2* (syndrome sein/ovaire), et *TP53* (syndrome Li-Fraumeni) sur les chromosomes 17 et 13 sont responsables chez la femme de cancers mammaires et ovariens qui surviennent fréquemment dans le jeune âge (*Jegu., 2014*).

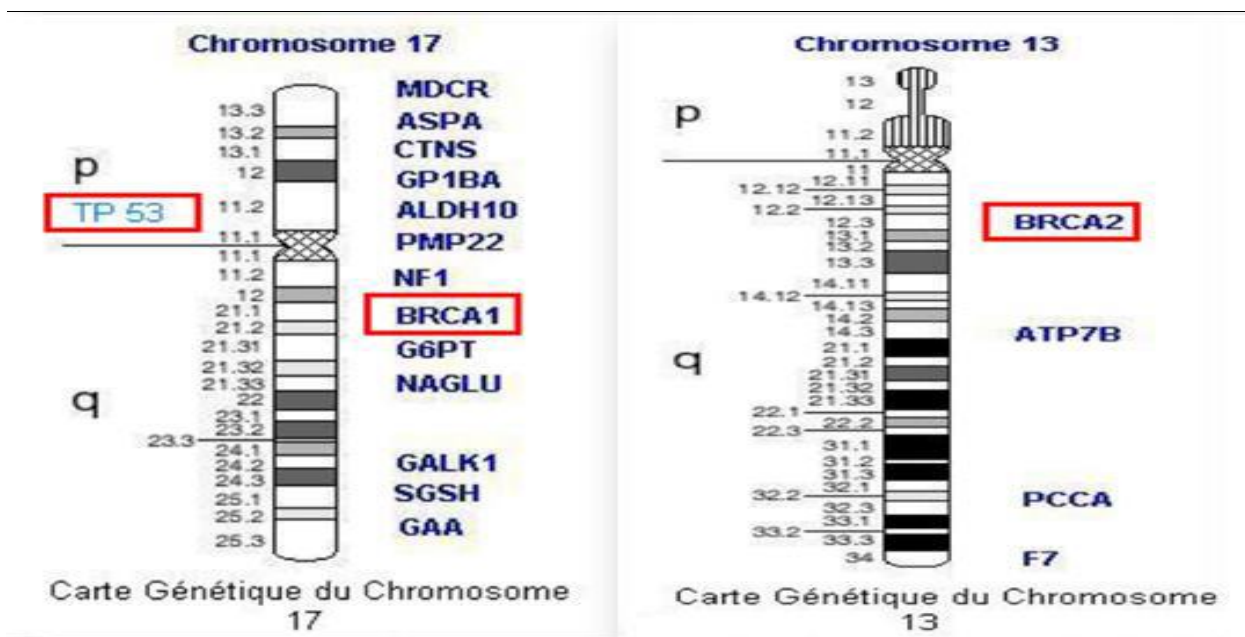
#### 2.1.1.1. Le syndrome de cancer du sein et de l'ovaire héréditaire, *BRCA1* et *BRCA2*

Ce syndrome de cancer du sein héréditaire le plus couramment retrouvé chez les familles présentant une forte histoire familiale. On doit à Henry Lynch, au début des années 1970, la réalisation qu'une agrégation de cas de cancers du sein et de l'ovaire, semble souvent apparaître à un jeune âge dans certaines familles. Le syndrome HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer) est caractérisé par la présence de cancers du sein avant la ménopause, de cancers de l'ovaire, de cancers du sein bilatéraux, de cancers du sein chez l'homme, et par la présence chez un même individu de cancers du sein et de l'ovaire (*Desjardins, 2010*).

Les syndromes de prédisposition héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire sont dus à des mutations constitutionnelles délétères (MCD) de gènes de prédisposition à transmission autosomique dominante (*Jegu, 2014*).

En 1990, par analyse à partir d'une vaste famille comptant de nombreux patients atteints, un locus potentiellement associée à la susceptibilité d'apparition du cancer mammaire précoce à été localisé sur le chromosome 17q21, appelée Breast cancer locus 1, a été présenté par Hall et collaborateurs. A précédé de quelques années la localisation d'un second locus au chromosome 13q12-13 (figure 8) (Sznajer *et al.*, 2009).

Le développement des connaissances en génétique a permis de caractériser en 1994 et 1995 deux gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, les gènes BRCA1 et BRCA2, dont les mutations délétères confèrent un risque tumoral très élevée (Chomper., 2003), (Leblond *et al.*, 2012).



**Figure 11** : Carte génétique des deux chromosomes 17 et 13 porteurs des mutations reconnues pour leur rôle dans la prédisposition aux cancers du sein, avec notamment les gènes BRCA1 (17q21), BRCA2 (13q12-13) et TP53.

### 1. Prévalence des mutations de BRCA1/2

Les mutations germinales des gènes BRCA1 et BRCA2 rendent compte d'environ la moitié des syndromes familiaux de cancers du sein et de l'ovaire. De manière remarquable, des mutations germinales, dans des gènes impliqués dans le contrôle de l'intégrité du génome, peuvent rendre compte de la majorité de ces situations héréditaires (Faunteun, 1999).

Ces mutations, qui prédisposent à un risque élevé de cancer du sein et/ou de l'ovaire à un âge jeune sont présentes chez une femme sur 400 dans la population générale, chez une

femme atteinte de cancer du sein sur 50, chez une femme sur 10 en cas de cancer de l’ovaire (Clergue et al., 2015).

La détermination de la prévalence exacte des mutations de BRCA1 et BRCA2 est un problème complexe, puisque cette dernière est influencée par la population (ou le sous-groupe de patients) et la méthode de détection employée. En effet, concernant les cas de cancers du sein et de l’ovaire provenant de la population générale, la fréquence des mutations de BRCA1 est estimée à 0-7% alors que celle de BRCA2 est estimée à 1-3%. Lorsque la recherche de mutation est restreinte à des patientes présentant des caractéristiques associées à des syndromes héréditaires mais en absence d’histoire familiale établie ou rapporté, la prévalence des mutations BRCA1 et BRCA2 augmente. En général, on estime que des mutations de BRCA1 et BRCA2 sont retrouvées dans 16-24% des familles présentant une histoire familiale, et on observe une proportion variable des cas reliés à BRCA1 et BRCA2 en fonction du type d’histoire familiale (Desjardins., 2010).

**Tableau 4** : Pourcentage des familles présentant des mutations de BRCA1 ou BRCA2, selon le type cas sélectionné (Desjardins., 2010).

Type de cas	BRCA1 (%)	BRCA2 (%)
Cancers du sein et de l'ovaire, non sélectionnés sur la base de l'histoire familiale	1-7	1-3
Cancers de l'ovaire, sans indication d'histoire familiale	4-29	0,6-16
Cancers du sein précoces, sans indication d'histoire familiale	0,7-10	1-6
Cancers du sein chez l'homme, sans indication d'histoire familiale	–	7-14
Cancers du sein avec la présence d'une histoire familiale	0-29	1,5-25

## 2. Pénétrance des mutations de BRCA1/2

Suite à l’identification de BRCA1 et BRCA2, il devient évident que des mutations de ces deux gènes confèreraient un risque élevé de cancer du sein et de l’ovaire (Desjardins., 2010). En 2000, plus de 800 mutations différentes étaient enregistrées dans la base de données

du National Institute Of Health, The BreastCancerInformation Core (<http://www.nhgri.nih.gov>). La diversité de ces mutations et leurs distributions tout le long de ces très grands gènes compliquent la première recherche de mutation dans une famille donnée, chaque famille ayant en quelque sorte sa mutation «privée» (*Chompert., 2003*).

Dans la population générale, il est estimé qu'un individu sur 300 à 800 est porteur d'une mutation de ces gènes (soit en France 17000 à 45000 femmes de 30 à 69ans avec une estimation de 2000 cancers du sein et 200 cancers de l'ovaire par an). Aujourd'hui plus de 1200 et 1300 mutations ont été rapportées par BRCA1 et BRCA2 respectivement. La méta-analyse d'Antoniou reconnaît respectivement pour BRCA1 et BRCA2 un risque cumulé sur la vie mammaire de 65% et 45%, et ovarien de 39% et 11% (*HamdiChrif et al., 2010*). Les données plus récentes de Cheu et Parmigiani retrouvent respectivement des risques de 57% et 49% pour le sein et 40% et 18% pour l'ovaire en âge de 70ans (*Jegu., 2003*).

Bien qu'une part de la variabilité associée à ces estimations soit clairement due à des différences méthodologiques, il semble que la pénétrance d'une mutation en particulier puisse être influencée par des facteurs génétiques et environnementaux propre aux patients, comme c'est le cas par exemple pour certaines mutations fondatrices. Il est maintenant clair que la pénétrance peut être influencée par une corrélation génotype-phénotype puisque les estimations présentées sont la plus part du temps des moyennes d'un ensemble de mutations. Cependant, certaines études semblent démontrer un effet hétérogène dans lequel la position de certaines mutations pourraient influencer le risque confère (*Desjardins., 2010*).

Le type des mutations causales de la prédisposition et leur localisation sur les gènes pourraient avoir des effets qui leurs sont spécifique. Une corrélation génotype/phénotype a été évoquée, liée à la position des mutations sur le gène BRCA1 et BRCA2. Le risque de cancer du sein associé aux mutations de la région central de BRCA1 et BRCA2 est plus faible que pour les autres mutations et le risque de cancer de l'ovaire lié aux mutations situées en 3' plus faible par rapport au reste du gène (*Desjardins., 2010*).

En conseil génétique, il n'est pas possible de tenir compte d'une corrélation génotype/phénotype pour la prise en charge des patientes avec mutation BRCA1 et BRCA2. Quoi qu'il en soit, les types de cancer sont différents pour une mutation dans des familles différentes et dans une même famille, ce qui suggère l'implication de gènes « modificateurs » (*Chompert., 2003*).

Les études visant à déterminer le risque de cancer du sein et de l'ovaire chez les porteurs de mutations de BRCA1 et BRCA2 ont mis en évidence la présence d'une variabilité

du risque entre les familles de même qu'à l'intérieur d'une même famille. La raison exacte de cette variabilité du risque entre les porteurs n'est pas claire, mais elle peut conceptuellement être le résultat du partage d'allèles de gènes de modification ou de facteurs de risque environnementaux. De plus, dans les familles où l'on retrouve une mutation de BRCA1 ou de BRCA2, il est souvent assumé que les individus qui obtiennent un test négatif pour la présence de la mutation sont au même risque que la population générale. Cependant, certaines études semblent démontrer que le risque chez ces individus serait de 2 à 5 fois supérieures à celui de la population. Cette augmentation pourrait être le résultat de facteurs génétiques et/ou environnementaux se regroupent dans ces familles. En plus, de cancer du sein et de l'ovaire, des mutations de BRCA1 et BRCA2 sont aussi associées à un risque accru de cancers à d'autres sites anatomique. Un résumé des principales études évaluant le risque d'autres cancers associés à ces mutations est présenté au Tableau 6 (Desjardins., 2010).

**Tableau 5** : Risque d'autres types de cancers associés à une mutation délétère de BRCA1 ou BRCA2 (Desjardins., 2010).

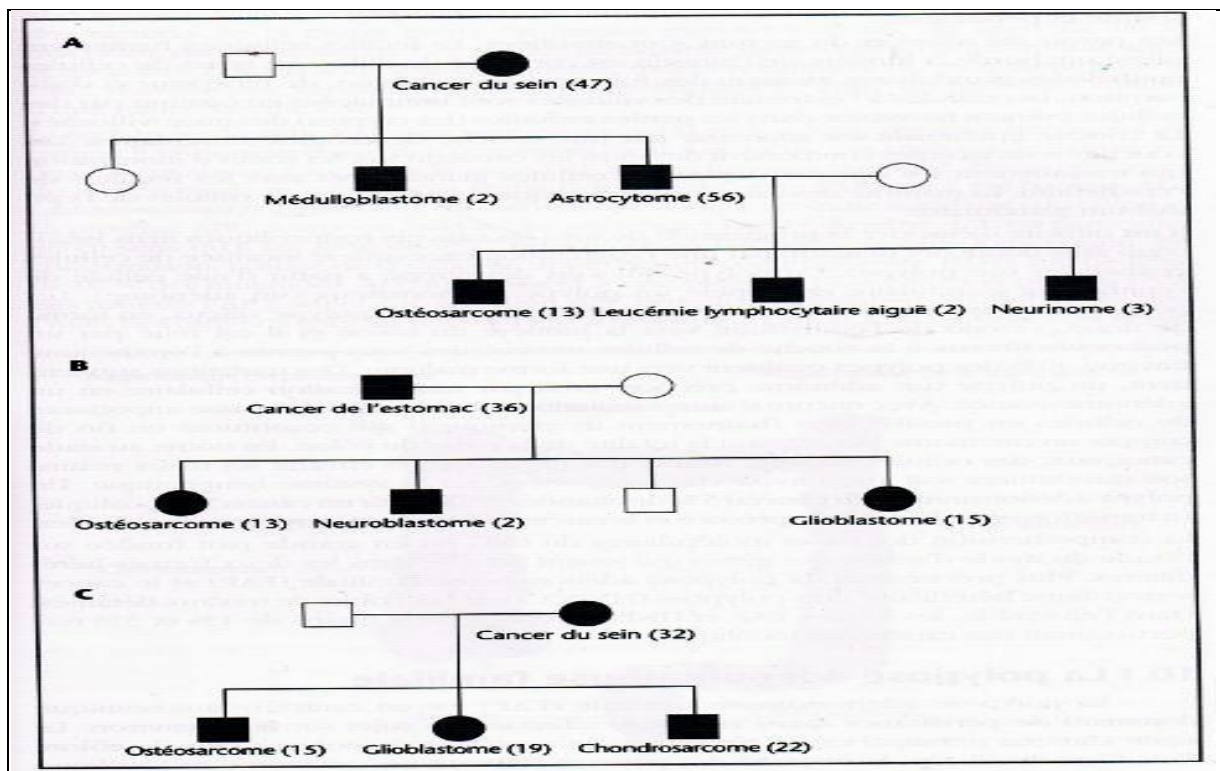
Organe	RR (IC 95%)			
	BRCA1	Thompson et coll. 2002 <sup>74</sup>	Brose et coll., 2002 <sup>71</sup>	Ford et coll. 1994 <sup>66</sup>
Pancréas		2,26 (1,26-4,06)	2,8 (1,46-4,07)	
Col de l'utérus		3,72 (2,26-6,10)		
Corps de l'utérus		2,65 (1,69-4,16)		
Prostate		1,82 (1,01-3,29)		3,33 (1,78-6,20)
Colon		2,03 (1,45-2,85)	2,0 (1,5-2,5)	4,11 (2,36-7,15)
Foie		4,06 (1,77-9,34)		
Gastrique			6,9 (4,25-9,38)	
	BRCA2	BCLC 1999 <sup>102</sup>	van Asperen et coll. 2005 <sup>103</sup>	
Pharynx et cavité buccale		2,26 (1,09-4,58)	7,3 (2,0-18,6)	
Pancréas		3,51 (1,87-6,58)	5,9 (3,2-10,0)	
Prostate		4,65 (3,48-6,22)	2,5 (1,6-3,8)	
Os			14,4 (2,9-41,1)	
Mélanomes malins		2,58 (1,28-5,17)		
Vésicule biliaire		4,97 (1,50-16,52)		
Estomac		2,59 (1,46-4,61)		
Foie		4,18 (1,56-11,23)		

### 2.1.1.2. Syndrome de Li-Fraumeni

En 1969, Frederick Li (né en 1940) et Joseph Fraumeni (né en 1933) décrivent pour la première fois un syndrome de sarcomes se développant à l'enfance, ont identifié cinq familles avec divers cancers se manifestant précocement au fil des générations successives (Pasternak.,

2003). Ces familles présentant aussi une histoire familiale médicale importante de cancers, dont des cancers du sein. Le syndrome de Li-Fraumeni est caractérisé par une hérédité de type autosomique dominante, l'apparition de tumeurs à un âge précoce, ainsi que le développement de tumeurs primaires multiples chez un même individu (Figure 9) (Desjardins., 2010).

Il a été difficile de poser les premières bases génétiques du LFS. Les approches cytogénétiques ne révélaient aucune anomalie chromosomique systématique. Les analyses de liaison étaient impossibles en raison de la rareté du syndrome, de la petite taille des familles et de la morbidité élevée. Dans cette optique, et en raison du spectre étendu de cancers, on a postulé l'existence d'une mutation germinale dans un gène suppresseur de tumeur. Le seule autre gène suppresseur de tumeur connu à l'époque étaient TP53, ce gène code une protéine nucléaire, la P53, et ainsi qu'il l'a été établi plus tard, cette protéine joue un rôle important dans la régulation de la prolifération cellulaire, l'arrêt de la croissance et la réparation de l'ADN (Pasternak., 2003).



**Figure 12 :** Quelques exemples d'arbres généalogiques de familles présentant un syndrome de Li-Fraumeni. Les symboles noirs représentent des individus malades. Le cancer spécifique est indiqué sous chaque symbole noir. Les nombre entre parenthèse correspondent à l'âge auquel le cancer a été diagnostiqué. (Pasternak, 2003).

Le gène TP53 encode une protéine hautement conservée entre les espèces et qui agit dans le choix de la cellule entre l'arrêt du cycle cellulaire pour la réparation de l'ADN ou l'enclenchement du programme de mort cellulaire (apoptose), (*Desjardins., 2010*). Les sites des mutations germinales dans TP53 chez les familles LFS. Sont très proches de la distribution des mutations somatiques dans TP53 dans les formes sporadiques de cancers. Beaucoup de mutations LFS sont de type faux sens et sont localisées dans la région de la protéine P53 qui se lie à l'ADN (*Pasternak., 2003*).

Parmi les familles chez lesquelles une mutation de TP53 à été identifiée, le risque de développer un cancer est de plus de 50% à 30ans et plus de 90% des porteurs de ces mutations développeront un cancer avant 70 ans. Ce risque très élevé à l'âge adulte est en majeure partie du au risque important de cancer du sein. On estime le RR de cancer du sein associée à une mutation de TP53 est de 18,1 (IC 95% 8,6-33,2). La majorité de ces cancers du sein surviennent entre 20 et 44 ans (*Desjardins., 2010*).

La mutation du gène TP53 (syndrome de Li-Fraumeni) confère un risque de développer un cancer du sein, avant 45ans, 18 fois plus important que celui de la population générale (Daguet et al., 2008). Bien que les mutations de TP53 soient hautement pénétrantes, le syndrome de Li-Fraumeni est un syndrome rare, avec moins de 400 familles rapportées mondialement. Des mutations germinales de TP53 sont rarement retrouvées chez des familles ne présentant que des cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire (*Desjardins., 2010*).

## **2.2. Fonction et structure de BRCA ½**

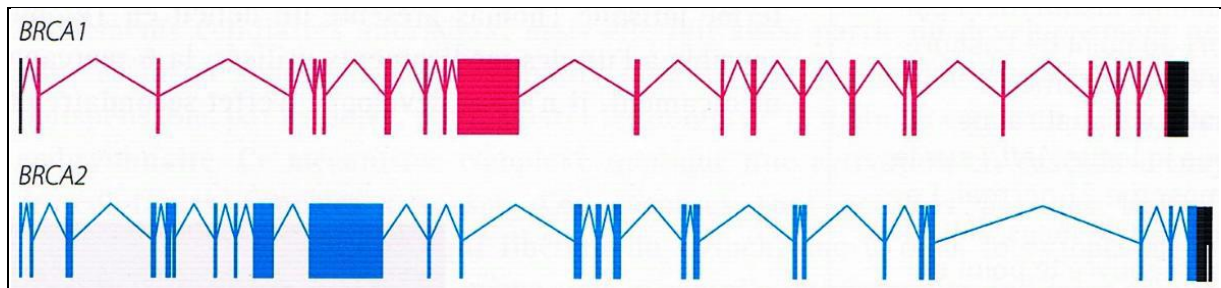
Depuis leur identification au milieu des années 90, BRCA1 et BRCA2 ont été considérablement étudiés. Alors que des mutations de ces gènes sont retrouvées avec une grande fréquence dans les familles présentant une histoire familiale très chargée de cancer du sein et de l'ovaire, des altérations de ces deux gènes ne sont que rarement associées à des cancers du sein de types sporadique. Bien qu'étant toutes deux associées au syndrome HBOC (Hereditary Breast and Ovarien Cancer), les protéines BRCA1 et BRCA2 ont des structures protéiques présentant peu de similarité l'un avec l'autre et avec des protéines aux fonctions connues (*Desjardins., 2010*).

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont de grands gènes ; le gène suppresseur de la tumeur BRCA1 est de grande taille 81Kb répartis en 24 exons de taille inégales, (l'exon 11 où ont été détectées de nombreuses mutations représentant à lui seul près de 60% du gène), (*Chompert et al., 2003*) (*Jegu., 2014*). Le gène code pour une protéine de 1863 acides aminés (*Pasternak., 2003*), (*Sznajder et al., 2009*). Ainsi le gène BRCA2 présente un poids moléculaire de 70 Kb,

comporte 27 exons (Jegu, 2014). Il code pour une protéine de 3418 acides aminés (Figure10),(Sznajer et al, 2009), (Faumteun, 1999).

Les protéines de très grande taille ont souvent des fonctions multiples en interagissant avec des protéines multiples. Leur rôle principal est leur implication dans la connaissance des altérations touchant en même temps les deux brins de la double hélice d'ADN et la signalisation de ces anomalies aux éléments contrôlant le cycle cellulaire, ces protéines jouent également un rôle dans le contrôle de la transcription. Les gènes BRCA1 et BRCA2 se comportent comme des gènes suppresseurs de la tumeur au sens où dans les formes familiales, on retrouve des mutations constitutionnelles avec perte de fonction. L'allèle normal est inactivé dans les tumeurs (Pasternak., 2003).

La protéine de BRCA1 présente trois domaines identifiés par analogie de séquence avec des motifs polypeptidiques connus : un domaine à doigt ring (Cys3-His-Cys4) liant potentiellement le zinc dans la région amino-terminale, suggérant que la protéine BRCA1 puisse être impliquée dans des interactions avec d'autres protéines et/ou avec l'ADN. Ce domaine est effectivement impliqué dans l'interaction avec BARD1, l'un des partenaires protéiques identifiées de BRCA1 un exé net de 70 résidus acides, responsable d'une surcharge négative à proximité de l'extrémité carboxy-terminale ; une répétition carboxy-terminale d'un motif BRCT, décrit initialement dans BRCA1, motif présent dans un groupe de protéines potentiellement impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire (Faunteun, 1999).



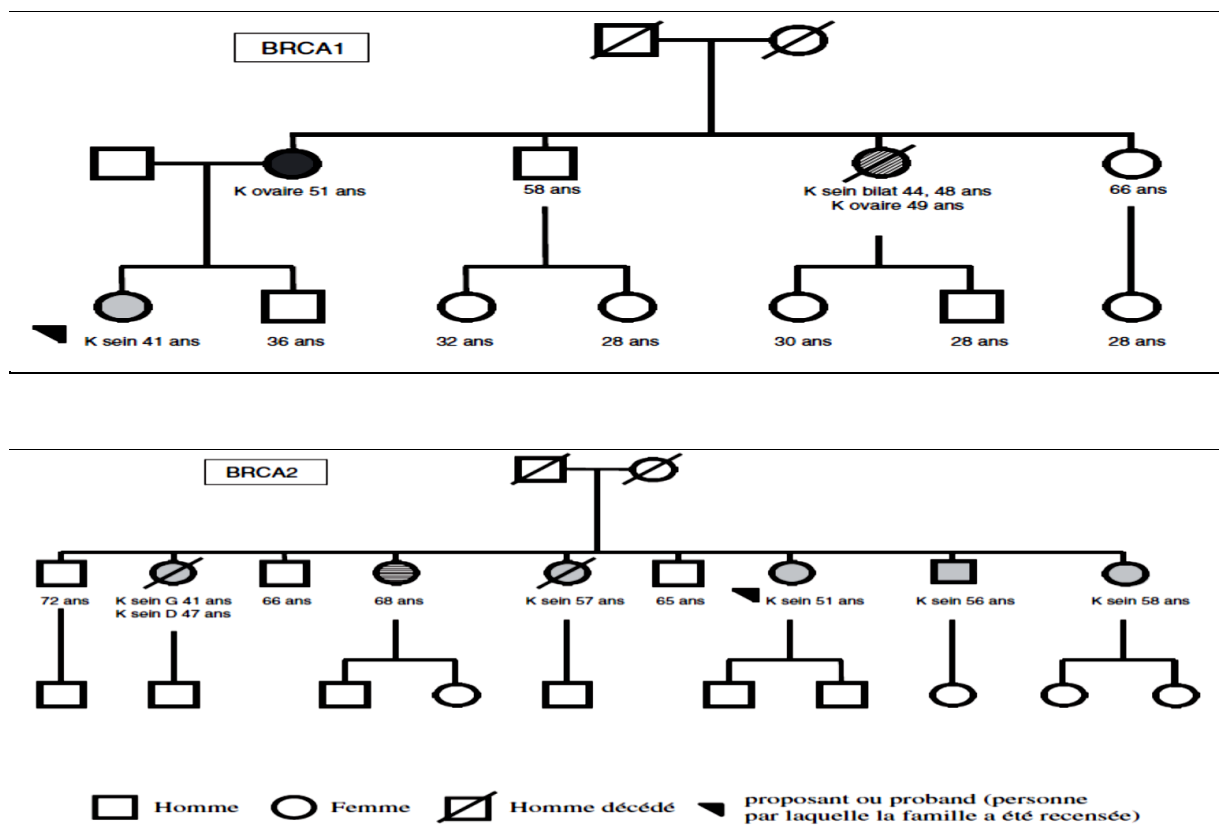
**Figure 13** : Structure des exons des gènes BRCA1 et BRCA2.(Sznajer et al., 2009).

Les mutations de BRCA1 ou BRCA2 représentent 40% des mutations identifiées de prédispositions héréditaire au cancer (Figure 11). Les protéines codées par ces gènes sont impliquées dans les voies de réparations de l'ADN, principalement la voie de la recombinaison homologue. De ce fait la perte de fonctionnalité de BRCA1 ou BRCA2 pourrait modifier la sensibilité des tumeurs à certaines chimiothérapies (Clergue et al, 2015).

Les fonctions principale des deux gènes est de préserver la structure chromosomique via leur implications dans les processus de réparation de l'ADN et la combinaison, le contrôle du cycle cellulaire et la transcription d'autre gènes (Chompert., 2003).

Le BRCA1 code pour une protéine qui joue de multiples rôles dans la réparation de l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire, et le maintien de l'intégrité du génome, où le gène BRCA2 code pour une protéine impliquée dans les mécanismes de réparation des lésions double brin de l'ADN (Jegu., 2014).

Les fonctions normales des gènes suppresseurs de tumeurs : les gènes suppresseurs de tumeur agissent en freinant la croissance cellulaire sont impliquées dans un grand nombre de contrôles cellulaires. Les deux domaines principaux concernent les points de contrôles du cycle cellulaire et le contrôle de l'apoptose (Sznajer et al., 2009).



**Figure 14** : Exemple d'histoires familiales. Famille avec une mutation de BRCA1 Famille avec une mutation de BRCA2. (Houdebine et al., 2014).

### 2.3. Mutation et corrélation phénotype-génotype

Le cancer du sein est une maladie génétiquement et histopathologiquement hétérogène. Actuellement plus de 1800 mutations ont été identifiés dans chacun des deux gènes. Il s'agit le

plussouvent de mutations avec décalage de cadre de lecture, résultant à la production d'une protéine tronquée ou aberrante. Il existe une corrélation entre le génotype et le phénotype associé. En effet, le type de mutation ainsi que sa position dans le gène peuvent modifier le risque de développer un cancer du sein, de l'ovaire, ou autres en l'augmentant ou en le diminuant (*Petrucci et al., 2016*). Par exemple, il a été rapporté (*Le Caignec, 2000; Lecarpentier, 2012*):

- Une mutation au niveau de l'exon 13 du gène BRCA1 était associée à un plus grand risque de cancer de l'ovaire.
- Les domaines fonctionnels du gène BRCA1 (domaine Ring et BRCT) sont hautement conservés et seraient associés à une prolifération tumorale particulièrement agressive, comparé aux régions variables qui seraient quant à elles, associée à des tumeurs faiblement prolifératives.
- Au niveau du gène BRCA2, une région centrale nommée OCCR (Ovarian Cluster Region) a été décrite et serait associée à un faible risque de cancer du sein.
- Enfin Une mutation au niveau de BRCA2, serait associée à un risque de cancer du sein chez l'homme mais aussi de la prostate.

#### **2.4. Autres gènes associés au cancer du sein**

Il est important de souligner le fait que, parmi les individus atteints et présentant de forts antécédents familiaux, seulement 40 % de ces cancer du sein sont causés par des mutations au niveau des gènes BRCA1, BRCA2, ainsi que p53 qui est impliqués dans la majorité des cancers. Ceci suggère que dans les 60% des cas restant, d'autres gènes, peuvent également moduler le risque de cancer du sein une fois muté. Certains de ces gènes sont associés à des syndromes génétiques assez rares. Ils sont classés selon leur niveau de leur pénétrance (*Walavalkar et al., 2015*).

##### **2.4.1. Gènes à forte pénétrance**

###### **2.4.1.1. Le gène P53**

Le gène *p53* (Protein 53) est un gène suppresseur de tumeur situé sur le bras court du chromosome 17 (17p13.1). Tout comme BRCA1/BRCA2, il agit selon un mode récessif mais se transmet selon un mode autosomique dominant. Il code un facteur de transcription qui impliqué dans de nombreux mécanismes cellulaires afin de réguler l'expression de certains gènes cibles, et ce principalement par des mécanismes anti-prolifératifs induisant l'arrêt du cycle cellulaire ainsi que l'apoptose. La majorité des mutations au niveau du gène p53 sont des substitutions conduisant à des mutations faux-sens (*Walavalkar et al., 2015*).

Le syndrome de Li-Fraumeni est provoqué par une mutation dans le gène p53. C'est un syndrome rare du sujet jeune qui le prédispose génétiquement à diverses formes de cancers, dont le cancer du sein avec un risque de 85 à 90 % (*Chiquette and Hogue, 2014; Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.1.2. Le gène *PTEN***

Le gène *PTEN* (Phosphatase and TEnsinHomolog), est également un gène suppresseur de tumeur qui est situé au niveau du bras long du chromosome 10 (10q23.3). Il code pour une phosphatase (la phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase) qui est un régulateur négatif qui intervient dans le métabolisme et la croissance cellulaire (*Maehama and Dixon, 1998; Walavalkar et al., 2015*).

Les mutations au niveau de ce gène sont responsables du syndrome de Cowden qui est une affection génétique rare caractérisée par de multiples hamatomes (malformation tissulaire d'aspect tumoral) associés à un risque élevé de cancers de la thyroïde, de l'endomètre ainsi que du sein avec 25 à 50 % (*Chiquette and Hogue, 2014; Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.1.3. *CDH1***

Le gène *CDH1*, localisé sur le bras long du chromosome 16 (16q22.1). Il code pour l'E-cadhérine qui est une molécule d'adhésion cellule-cellule dépendante du calcium et exprimée au niveau des cellules épithéliales (*Apostolou and Fostira, 2013*).

Certaines formes de cancer gastrique de type diffus héréditaires sont associées à des mutations au niveau du gène *CDH1* et les sujets atteints présentent un risque de 50 à 60 % de développer un cancer du sein (*Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.1.4. *STK11/LKB1***

Le gène *STK11/LKB1* (Serine Threonine Kinase 11/ Liver Kinase B1) est un gène suppresseur de tumeur localisé au niveau du bras court du chromosome 19 (19p13.3) et qui code pour une protéine essentielle pour la régulation du cycle cellulaire et l'apoptose (*Apostolou and Fostira, 2013*).

Les mutations constitutionnelles du gène *STK11/LKB1* sont associées au syndrome de Peutz-Jeghers caractérisé par le développement de polypes hamartomateux dans tout le tractus gastro-intestinal, et par une pigmentation cutanéomuqueuse. Les sujets atteints présentent un risque accru de développer des cancers gastro-intestinaux ainsi que des cancers du sein avec un risque d'environ 30 % (*Walavalkar et al., 2015*).

### **2.4.2. Gène à pénétrance modérée et/ou faible**

#### **2.4.2.1. *CHK2***

Le gène CHEK2 (CHEckpoint Kinase 2) est situé sur le bras long du chromosome 22(22q12.1). C'est également un gène suppresseur de tumeur dont le produit est une serine thréonine kinase qui est activée en réponse aux dommages de l'ADN. C'est un régulateur négatif de la prolifération cellulaire qui agit en phosphorylant les protéines impliquées dans le fonctionnement des points de contrôles (*Apostolou and Fostira, 2013*).

Tout comme p53, les mutations du gène CHEK2 sont associées au syndrome de Li-Fraumeni et donc a été montré comme impliqués dans l'augmentation du risque de cancer du sein de 20%. Une mutation particulière, 1100 delC (délétion d'une cytosine en position 1100) a été décrite, et les individus hétérozygotes pour cette mutation ont un risque deux à trois fois plus élevé de développer un cancer du sein (*Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.2.2. PALB2**

PALB2 (Partner And Localizer of BRCA2) est localisé sur le bras court du chromosome 16 (16p12.2). Il code pour une protéine qui interagit avec BRCA1 et qui est donc impliqué dans la réparation des cassures doubles brins de l'ADN par recombinaison homologue (*Walavalkar et al., 2015*).

Les mutations au niveau du gène PALB2 sont associées à l'anémie de Fanconi qui est une maladie génétique héréditaire rare se manifestant par une insuffisances médullaire, des anomalies du développement, et confèrent un risque de 20% de développer un cancer du sein, et plus récemment, un cancer du pancréas (*Apostolou and Fostira, 2013; Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.2.3. BRIP1**

Le gène BRIP1 (BRCA1-Interacting Protein 1) est situé sur le bras long du chromosome 17 (17q22.2). Il code pour une hélicase qui interagit avec le domaine BRCT du BRCA1 et intervient donc dans la réparation des cassures doubles brins de l'ADN par recombinaison homologue (*Walavalkar et al., 2015*).

A l'instar de PALB2, les mutations du gène BRIP1 sont impliquées dans la survenue de l'anémie de Fanconi. C'est donc également un gène de prédisposition qui confère un risque de 20 % de développer un cancer du sein (*Apostolou and Fostira, 2013; Walavalkar et al., 2015*).

#### **2.4.2.4. ATM**

ATM (AtaxiaTelangiectasiaMutated) est un gène localisé sur le bras long du chromosome 11(11q22-q23). Son produit est une protéine kinase apparentée à la famille des protéines PI3K (PhosphoInositide 3-kinase). Il est impliqué dans la réparation de l'ADN double

brins en régulant des protéines telles que : BRCA1, p53, ainsi que CHEK2) (*Apostolou and Fostira, 2013; Walavalkar et al., 2015*).

L'ataxie télangiectasie est une maladie rare dont le gène responsable est le gène ATM une fois muté. Elle est caractérisée par une dégénérescence neurologique progressive, une ataxie cérébelleuse, une immunodéficience, ainsi qu'un risque de 20% de développer un cancer du sein (*Apostolou and Fostira, 2013; Walavalkar et al., 2015*).

D'autres gènes dont les mutations confèrent un risque accru de développer un cancer du sein, ont été rapportés tels que : RAD50, RAD51, BARD1, LKH-MSH2 .... (Liste non exhaustive) (*Chiquette and Hogue, 2014*)

### **2.5. Le gène GST**

L'organisme possède un système multienzymatique complexe permettant de neutraliser les effets toxiques de plusieurs composés carcinogènes auxquels il est constamment exposé (les nitrosamines ou les HAP par exemple). Ce système fait intervenir plusieurs gènes, parmi eux, la famille de la glutathion S-transférase (GST) qui code pour une enzyme hépatique impliquée dans certains processus vitaux, ainsi que dans les mécanismes de détoxification (phase II), via la conjugaison du glutathion réduit (GSH) avec de nombreux substrats tels que les produits pharmaceutiques et les polluants environnementaux. Cette enzyme, d'environ 25 kDa, est dimérique. Chaque sous-unité comprend deux sites de fixation, le site « G » spécifique pour la GSH, ainsi que le site « H » pour le substrat.

Basé essentiellement sur la similarité de leurs séquences protéiques, les gènes de cette famille ont été répartis en huit classes (GSTM, GSTA, GSTP, GSTT, GSTZ, GSTS, GSTK et GSTO), dont cinq présente un polymorphisme génétique (GSTM, GSTA, GSTP, GSTT, et GSTZ). Certains de ces polymorphismes peuvent être associés à un risque de développer un cancer du sein, qui varie d'un individu à un autre (*Wang.,1988; Habdous et al., 2004*).

#### **2.5.2. La classe GSTM**

Les gènes de cette classe sont au nombre de 5 : GSTM1, GSTM2, GSTM3, GSTM4, et GSTM5. Ils sont organisés en un cluster au niveau du bras court du chromosome 1 (1p13.3) et sont espacés les uns des autres d'environ 20 Kb selon cette disposition : 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-3' (*Wang., 1988*).

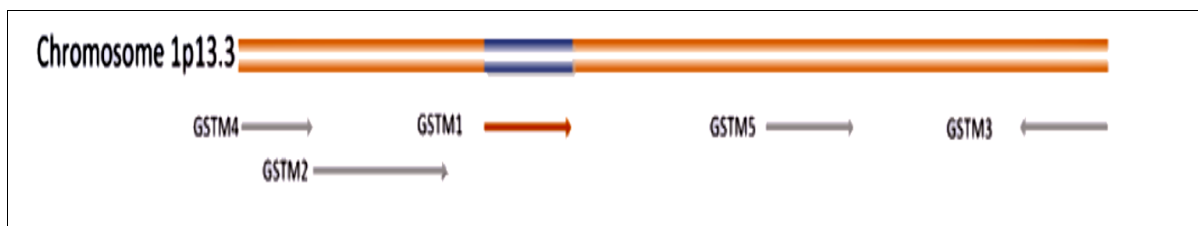


Figure 15 : Structure des gènes de la classe GSTM.

### 2.5.3. Le gène GSTM1

Parmi les polymorphismes les plus étudiés, ceux relatifs à la sous-classe GSTM1. Ce gène est composé de 8 exons et code pour la glutathione S-transferase mu 1. Cette enzyme intervient dans la détoxification des composés électrophiles, y compris les cancérogènes, les médicaments thérapeutiques, les toxines environnementales et les produits du stress oxydatif, par conjugaison avec le glutathion (Wang.,1988; Pearson et al., 1993).

Les variations génétiques au niveau de ce gène peuvent modifier la susceptibilité d'un individu aux carcinogènes et aux toxines et affecter la toxicité et l'efficacité de certains médicaments. D'autre part, Une délétion de ce gène a été associée à une susceptibilité à un certain nombre de cancers, dont le cancer du sein. Dans ce sens, plusieurs études ont démontré une augmentation de risque significative chez les femmes présentant le GSTM1 nul, notamment chez les femmes ménopausées (Sull et al., 2004).

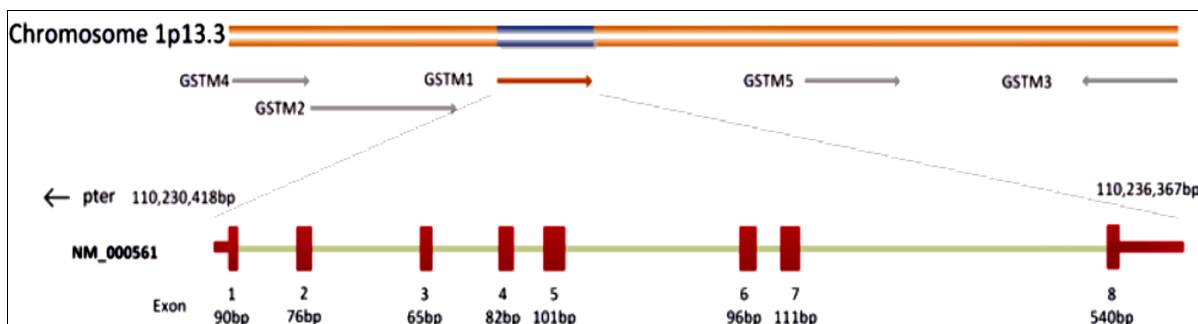


Figure 16 : Structure du gène GSTM1 .

## 3. La génétique clinique

Une prise en charge optimale, en génétique clinique comme dans les autres spécialités médicales, repose sur un diagnostic précis. Les principales interventions que l'on peut proposer en génétique clinique sont : le conseil génétique, la réalisation de tests génétiques et le traitement (Houdebine et al., 2014).

### 3.1. Les tests de prédispositions génétiques

La localisation et l'identification de deux gènes de prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire, BRCA1 et BRCA2, ont permis l'introduction dans les nouvelles pratiques cliniques, de tests biologiques de prédispositions génétiques destinées aux personnes supposées à haut risque (*Sevilla et al., 2004*).

La diffusion de ces nouvelles pratiques médicales et biologiques se fait avec les difficultés traditionnelles de toutes activités innovantes, auxquelles peuvent s'ajouter de fortes incertitudes relatives à la revendication de droit de propriété sur les gènes et au financement des actes médicaux et biologiques. Dans ce contexte, l'évolution de l'offre de tests de prédisposition génétique est analysée à travers deux enquêtes réalisées pour décrire les profils d'activité en 1998 et en 2001 de l'ensemble des acteurs médicaux. Dans ces nouvelles pratiques : les médecins assurent les consultations d'oncologie génétique, les centres où ont lieu ces consultations spécialisées et les laboratoires associés réalisant les analyses de biologie moléculaire. Les consultations d'oncologie génétique se sont mise en place, ont pour but d'informer les sujets et d'évaluer leurs risques d'être génétiquement prédisposés, c'est-à-dire d'être porteurs d'une mutation délétère sur un gène de prédisposition, BRCA1 ou BRCA2 pour le cancer du sein/ovaire, et de poser l'indication d'un test génétique. La prédisposition génétique au cancer du sein est caractérisée par un risque élevé de cancer du sein.

La recherche de prédisposition génétique commence par l'analyse biologique de la personne associée au risque le plus élevé dans la famille d'être porteur d'une mutation. Cette personne est définie sur la base de l'histoire individuelle (âge plus précoce de survenue du cancer, plusieurs cancers associées....) et familiale. Cette première recherche est techniquement lourde : elle nécessite l'analyse de la séquence codante des gènes. Si une mutation est identifiée, un test peut être réalisé chez les autres membres de la famille supposés à un risque et venant en consultation. Ce test est alors simple et consiste à vérifier la présence ou l'absence de la mutation reconnue chez le cas index (*Sevilla et al., 2004*), (*Bonaiti et al., 2011*).

L'histoire familiale doit être reconstituée le plus complètement et précisément possible, sur au moins 3 générations, tous les apparentés recensés qu'ils soient indemnes de tumeur ou non, les diagnostics confirmés par un document médicale ou mieux un compte-rendu histopathologique. Enfin, l'origine géographique de la branche impliquée peut orienter vers une recherche moléculaire précise. Un faisceau d'arguments permet de poser le diagnostic de prédisposition héréditaire, plusieurs cancers du sein et/ou de l'ovaire dans la même branche parentale, maternelle ou paternelle, un degré faible d'apparentement entre les femmes atteintes, un âge précoce au diagnostic, un cancer bilatéral, un cas de cancer du sein et de l'ovaire chez

les même femme, la présence de cas de cancer du sein chez un homme et accessoirement les caractéristiques des tumeurs BRCA1 (typiquement une tumeur grade SBR3, RH négatif ou une histologie médullaire). Si la prédisposition est soupçonnée, elle ne peut être démontrée que par la caractérisation de la mutation responsable de la survenue des cancers. Différents modèles ont été développés pour calculer la probabilité de détecter une mutation selon les caractéristiques familiales et personnelles. Etant donné le caractère « privé » ou spécifique des mutations pour chaque famille, la recherche est basée sur le cas atteint qui de plus, a la plus grande probabilité d'avoir une mutation d'un gène de prédisposition et dont on peut disposer d'un prélèvement sanguin à partir duquel on extrait l'ADN (cas index) (*Chompert., 2003*).

L'identification de l'altération génétique responsable de l'histoire familiale et le pré-requis pour un diagnostic pré symptomatique (*Pasternak., 2003*). En cas d'identification de la mutation, une surveillance clinique et mammographique particulière et des mesures prophylactiques telles que la chirurgie peuvent être proposées (*Sevilla et al., 2004*).

### **3.2. Dépistage et diagnostic génétique**

Actuellement, les femmes à haut risque (antécédent personnel de cancer du sein, prédisposition génétique BRCA1 et BRCA2, nombreux antécédents familiaux de néoplasies mammaires et/ou ovariennes sans mutation prouvée après études génétique) ne sont pas incluses dans le dépistage de masse. (*Houdebine et al., 2014*).

La prise en charge de ces patientes porteuses d'une prédisposition génétique au développement d'un cancer du sein repose soit sur la chirurgie prophylactique, soit sur un dépistage adapté à leur risque. Si la mastéctomie bilatérale prophylactique réduit l'incidence des cancers du sein de 90% chez les femmes BRCA1/2, le caractère mutilant d'une telle intervention la rend difficilement acceptable pour les femmes. L'autre option est celle du dépistage qui consiste en un examen clinique des seins tous les 6 mois, une mammographie et une échographie mammaire annuelle. Les cancers du sein survenant chez les femmes mutées BRCA1 sont fréquemment de haut grade histo-pronostique et de caractérisation échographique plus difficile. Malgré une surveillance radiologique régulière environ 50% des cancers sont diagnostiqués entre 2 examens de dépistage par mammographie dans cette population. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est la technique d'imagerie la plus sensible dans la détection de cancers infiltrants et ses performances sont indépendantes de la densité mammaire. Plusieurs études ont montré son intérêt dans le dépistage du cancer du sein dans des populations à haut risque (*Daguet et al., 2008*).

### **3.3. Surveillance prévention des femmes à haut risque**

La prise en charge des femmes « à haut risque » est largement discutée et demanderait un développement plus important .elle se base aujourd'hui sur la détection précoce des tumeurs, la chirurgie prophylactique, et la chimio prévention.

**- Détection précoce des tumeurs**

Elle comprend un examen clinique des seins 2 à 3 fois par an dès l'âge de 25 ans, comme la moitié des cancers du sein surviennent avant 50 ans, la surveillance par mammographie doit commencer tout vers l'âge de 25 à 30 ans, voire 5 ans avant l'âge de survenue du cancer familial le plus précoce. La faible sensibilité de cet examen due en partie à la densité des seins des jeunes femmes entraîne un nombre élevé des« cancers de l'intervalle » ce qui plaide pour un examen bi-annuel. La mammographie a montré ses limites dans la détection des cancers du sein héréditaire. En raison de la radiosensibilité particulière supposée des tissus sains due aux fonctions des gènes BRCA1 et BRCA2, on ne peut éliminer l'hypothèse d'éventuels cancers du sein radio-induits par les très nombreuses mammographies (*Chompert., 2003*).

L'usage de l'IRM se généralise et les résultats des premières études sont assez convaincants. Le dosage des marqueurs sérique n'est pas préconisé en raison de leur trop faible valeur prédictive positive pour le dépistage du cancer du sein. De nouvelles méthodes sont à l'étude comme l'aspiration à l'aiguille des fluides des canaux galactophores ou la ductoscopie par fibre optique permettant le lavage et éventuellement la biopsie ou même l'ablation des lésions pré-maligne par laser ou radiofréquence (*Chompert., 2003*).

**- Chirurgie prophylactique (mastectomie prophylactique):**

Elle diminue le risque tumoral d'au moins 90%, son bénéfice en terme de gain d'années de vie est surtout profitable aux femmes dont le risque cumulé est élevé donc aux plus jeunes (*Chompert., 2003*). Il existe trois types de mastectomie

-La mastectomie totale (patey modifié).

-La mastectomie totale qui conserve l'étui cutanée (skin sparingmastéctomy).

-La mastéctomie sous-cutanée qui conserve l'étui cutané et la plaque aréolomamelonnaire (PAM).

Les études récentes confirment l'efficacité de la mastéctomie. Il s'agit d'études spécifiques portant sur des personnes ayant des « MCD » BRCA. L'efficacité de cette intervention ne peut être remise en cause, son niveau peut être néanmoins, discuter et la position des experts de ce groupe est que le chiffre présent de 90% apparait comme une « estimation raisonnable ». Le risque d'échec de la mastéctomie prophylactique en termes de cancer du sein dépend de

nombreux facteurs dont : le volume est la densité mammaire, le type de mammectomie retenu, la voie d'abord l'extension de la chirurgie dans le creux axillaire (*Eisinger et al., 2006*).

### **3.4. Les traitements classiques des femmes porteuses d'une prédisposition génétique**

Le traitement des cancers du sein repose, en première intention, sur la chirurgie. Quand le diagnostic est suffisamment précoce, l'acte chirurgical peut se limiter à une tumorectomie : la tumeur est enlevée en préservant au maximum la glande mammaire. Ce traitement conservateur est systématiquement associé à la radiothérapie, afin de réduire de façon importante les risques de récidives locales (*Institut Curie, France, 2009*).

Cependant, il existe un nombre non négligeable de situations où l'ablation complète du sein « mammectomie » s'impose récidive après : traitement conservateur, cancer multicentrique ou multifocal, prédisposition génétique (mutation de BRCA1/2) et parfois demande spécifique de la patiente (*Institut Curie, France, 2009*). Une mastéctomie prophylactique constitue un choix possible pour les femmes porteuses de mutations du gène BRCA2, les femmes porteuses de mutations BRCA1 choisissent souvent de recourir à une ovariectomie. Dans ces cas, une reconstruction mammaire est proposée à la patiente (*Sznajder et al., 2009*). La chimiothérapie peut être prescrite à divers stades de la maladie (*Hammatzadeh et al., 2016*). Elle est parfois administrée avant l'acte chirurgical « chimiothérapie néo-adjuvante » pour réduire la taille de la tumeur et permettre ainsi un traitement chirurgical conservant le sein ; elle peut également être prescrite après l'acte chirurgical « chimiothérapie adjuvante » pour réduire significativement le risque de rechute à distance (*Gewefel et al., 2014*). L'hormonothérapie est destinée aux femmes dont la tumeur est porteuse de récepteurs hormonaux positifs, soit plus de 80 % des cas (*Gewefel et al., 2014*).

### **4. Modification épigénétique**

Les altérations épigénétiques consistent en des modifications de l'expression génique qui sont héréditaires mais qui n'implique pas de modification de la séquence d'ADN. Ces phénomènes épigénétiques sont médiés par plusieurs mécanismes moléculaires qui sont étroitement liés. Celles-ci incluent la méthylation de l'ADN, des modifications post-traductionnelles des histones, le recrutement de facteurs de remodelage de la chromatine et l'expression d'ARN non codants.

Outre les mutations génétiques, les mécanismes épigénétiques jouent un rôle important dans le développement d'un cancer du sein. Des études récentes ont démontré que dans les formes sporadiques, le gène BRCA1 est régulièrement inactivé par des mécanismes épigénétiques. En

effet, sa répression par méthylation des îlots CpG confère un phénotype tumoral «BRCAness» similaire à celui généralement observé chez les porteurs de la mutation BRCA-1 (*Lips et al., 2013*).

## **5. Conseil génétique**

Le conseil génétique est un processus qui consiste à informer les individus présentant une forte histoire familiale d'une maladie héréditaire, en l'occurrence le cancer du sein, de la probabilité de le développer et/ou de le transmettre ainsi que des options qui s'offrent à eux en termes de tests génétiques à effectuer et de gestion de la maladie (*Sequeiros and Guimarães, 2009*).

La possibilité qu'un individu soit génétiquement prédisposé à la survenue d'un cancer du sein doit toujours être prise en considération. C'est pour cela que les antécédents familiaux doivent être évalués aussi bien du côté maternel que paternel. En effet, ces antécédents supposent la présence d'une mutation au niveau d'un gène de prédisposition, le plus souvent BRCA1/BRCA2, mais ce n'est nécessairement pas le cas. C'est là qu'intervient le conseil génétique (*Chiquette and Hogue, 2014; Agnese and Pollock, 2016*).

Après un interrogatoire approfondi établi par le médecin, l'individu est référé à un généticien qui évaluera la pertinence de ces antécédents familiaux (sur trois générations de préférence). Il l'informerá de la possibilité d'un test génétique, de ses bénéfices potentiels, de ses risques, ainsi que de ses limites (*Chiquette and Hogue, 2014*).

### **5.1. Test génétique**

Un test génétique est recommandé pour les sujets présentant une histoire familiale de cancer du sein. Ce test permet d'affirmer ou d'infirmer la présence d'une mutation au niveau des gènes de prédisposition. En raison de la forte incidence du cancer du sein, BRCA1 et BRCA2 figurent actuellement parmi les gènes les plus séquencés au monde. En effet, Le séquençage de ces gènes est particulièrement considéré comme la méthode de référence actuellement pour l'identification d'une éventuelle mutation chez les sujets atteints d'un cancer du sein. Jusqu'à récemment, les mutations au niveau des gènes étaient identifiées par séquençage selon Sanger. Cette méthode à faible débit est utilisée pour déterminer une partie de la séquence nucléotidique du génome d'un individu, dans ce cas, les gènes BRCA1/2. Cette technique utilise l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) des régions d'intérêt suivie par le séquençage des fragments générés (*Lynch et al., 2015*).

Néanmoins, la baisse des coûts et l'amélioration de l'efficacité du séquençage à haut débit (séquençage de nouvelle génération NGS) ont rendu le séquençage complet des gènes

plus rentables. Contrairement à la méthode de Sanger, cette technique à haut débit utilise un ensemble d'approches parallèles capables de traiter plusieurs séquences d'ADN simultanément. Dans ce sens, des tests génétiques utilisant le séquençage de nouvelle génération appelée « Multi-gene panel tasting » ont permis de rechercher simultanément d'éventuelles mutations au niveau de plusieurs gènes associés à un risque de survenue d'un cancer du sein en plus de BRCA1/2 (p53, CDH1, PALB2...) (*Lynch et al, 2015*).

### **5.2. Avantages, inconvénients et limites du test génétique**

Les sujets candidats à un test génétique doivent être informés des avantages, des inconvénients ainsi que des limites de ce test. En effet, même s'il permet d'identifier les membres d'une famille à risque, de les prendre précocement en charge, et de réduire ainsi l'incidence du cancer du sein, il peut peser comme une charge émotionnelle, personnelle, et familiale. Un résultat positif ne signifie pas que le sujet développera obligatoirement un cancer du sein, tout comme un résultat non-concluant ne signifie pas automatiquement que le risque de survenue d'un cancer du sein est égale à celui de la population générale (*Chiquette and Hogue, 2014*).

### **5.3. Conseil génétique post-test génétique**

Le conseil génétique post-test permet principalement de notifier le sujet de ses résultats. Dans ce cas la présence d'un psychologue est souhaitée en cas de réaction excessive à la vue des résultats. Ce conseil doit inclure une présentation des options concernant la prise en charge, la gestion du risque, ainsi qu'une discussion sur les risques encourus par les autres membres de la famille. Effectivement, il est important, d'identifier les apparentés et d'encourager le sujet à partager l'information avec eux afin de les sensibiliser (*Chiquette and Hogue, 2014; Agnese and Pollock, 2016*).

## Chapitre III : Méthodes de diagnostic moléculaires

### 1. Méthodes utilisant le gène *GSTM1*

#### 1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement de sang total préconisé pour l'extraction de l'ADN a été recueilli stérilement dans deux tubes vacutainer pour chaque patient en présence de l'anticoagulant EDTA (Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid).

#### 1.2. Extraction de l'ADN génomique

L'Extraction de l'ADN est une procédure utilisée pour isoler l'ADN des noyaux des leucocytes présents dans le sang total prélevé. Elle permet donc de séparer et de purifier l'ADN de tous les autres constituants nucléaires, y compris les molécules qui lui sont fortement liées. Il existe de plusieurs méthodes d'extraction et de purification de l'ADN. Dans notre étude c'est la technique utilisant le solvant inorganique NaCl qui a été employée.

Les principales étapes de cette méthode sont :

- Hémolyse du sang et isolément des leucocytes.
- Lyse des cellules leucocytaires.
- Séparation de l'ADN des complexes nucléoprotéiques et autres débris cellulaires.
- Extraction et purification de l'ADN
- Concentration de l'ADN par précipitation à l'alcool.
- Redissolution de l'ADN dans une solution tampon.

#### 1.3. Le génotypage du *GSTM1*

Pour la mise en évidence du génotypage du polymorphisme de la sous classe *GSTM1*, r une PCR multiplex doit être réalisée, suivie d'une séparation des produits de cette PCR par migration électrophorétique sur gel d'agarose et de leur visualisation après exposition aux UV

- **La PCR multiplex** La PCR multiplexe (M-PCR) est une variation de la PCR conventionnelle. Son principe de base, qui contrairement à la PCR classique, implique l'amplification de plusieurs séquences cibles simultanément en utilisant des paires multiples d'amorces dans le mélange réactionnel. La PCR multiplex plus rapide et plus économique, a une spécificité et une sensibilité similaires à celles de la PCR simplex. Les délétions du gène *GSTM1* ont été analysées par PCR multiplex avec contrôle *β-globine*. La *β-globine* est utilisée comme témoin interne, pour confirmer si l'amplification PCR est réussie et pour s'assurer que la *GSTM1*-null était due à la délétion des allèles GST et non à l'échec de la PCR.

**Tableau:** Séquences d'amorces sens (F) et anti sens (R) utilisées lors de la PCR multiplex.

Amorce	Séquences (5'→3')	Taille du fragment amplifié
<i>GSTM1</i> (F)	(5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3')	230 pb
<i>GSTM1</i> (R)	(5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3')	
$\beta$ -globine (F)	(5'-ACA CAA CTG TGT TCA CTA GC--3')	110 pb
$\beta$ -globine (R)	(5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3').	

Après dilution de 10 $\mu$ l d'ADN concentré dans 10 $\mu$ l d'eau distillé, dans chaque tube Eppendorf, nous avons préparé le milieu réactionnel (mix) contenant les différents réactifs nécessaires à la réalisation de la PCR multiplex :

**Tableau 7 :** Composition du milieu réactionnel de la PCR multiplex pour l'amplification de la séquence du gène *GSTM1* et du gène  $\beta$ -globine.

Réactifs	Volumes nécessaires pour un échantillon ( $\mu$ l)
H <sub>2</sub> O	4,04
MgCl <sub>2</sub> à 1,5 final (50mM)	0,6
Amorce sens <i>GSTM1</i> (100 ng/ $\mu$ l)	2
Amorce anti-sens <i>GSTM1</i> (100 ng/ $\mu$ l)	2
Amorce sens $\beta$ -globine (100 ng/ $\mu$ l)	2
Anti-sens $\beta$ -globine (100 ng/ $\mu$ l)	2
Tampon 10X	2
Taq DNA 5U/ $\mu$ l	0,16
dNTP 0,2 final	3,2
DNA 20 à 50 ng/ $\mu$ l	2
Total	20

Les tubes de PCR contenant les différents réactifs ainsi préparés, sont déposés dans un thermocycleur et le déroulement des cycles de PCR est conditionné comme suit :

**Tableau 8 :** La programmation des cycles de PCR.

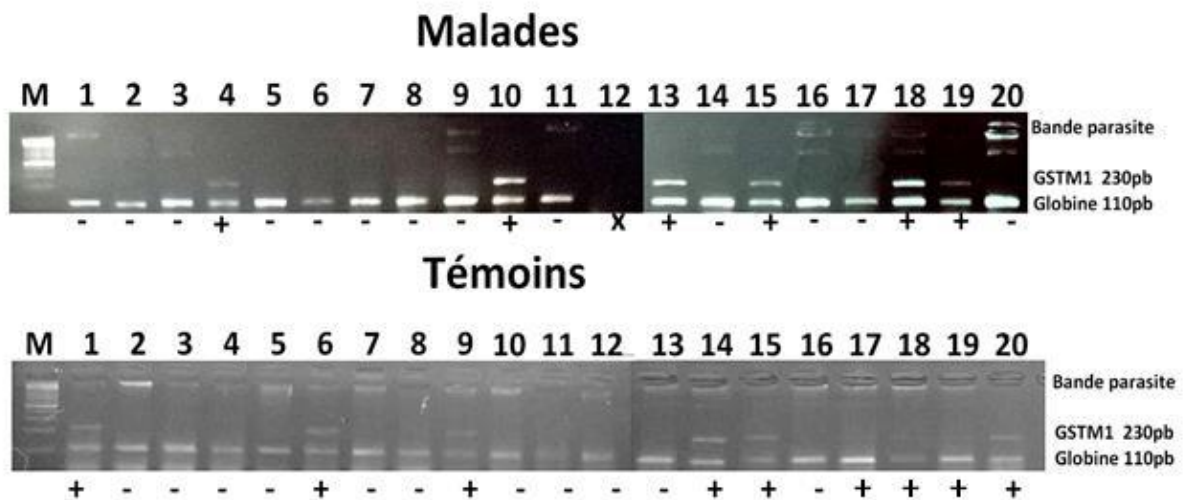
Nombres de cycle	Étape	Température (C°)	Durée
1 cycle	Dénaturation initiale	95	4min
37 cycles	Dénaturation	94	30s
	Hybridation	53	30s
	Élongation	72	30s
1 cycle	Élongation finale	72	10min

**-Migration électrophorétique sur gel d'agarose**

La migration des produits de PCR colorés au BBP (dilué au 1/2 dans le TBE1X) se fait sur un gel d'agarose (UltraPure™ Agarose) à 3% préparé avec du BET. La migration se fait sous un courant à 100V pendant 30 min et en parallèle avec le marqueur de taille XIV (Marquer XIV - 100 pb, Roche®).

Après migration, le gel est soumis au rayon UV ce qui permet la visualisation des produits de PCR amplifié.

**Résultats de l'analyse génétique (D'après le mémoire : Étude statistique, histologique et moléculaire du cancer du sein dans la région de Constantine.)**



**Figure 17 :** Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3%) des fragments après migration.

- 1-20 : sujets - M : marqueur - (-) : GSTM1-null - (+) : GSTM1 présent

Cette analyse génétique vise à identifier une possible association entre le polymorphisme du gène *GSTM1* et le cancer du sein.

La visualisation au rayon UV de la migration des fragments d'amplification du gène *GSTM1* sur le gel électrophorétique a reflété 2 bandes. La première bande, de 110pb, correspond au gène de la  $\beta$ -globine, tandis que la deuxième bande, de 230pb, correspond quant à elle au gène *GSTM1*. La présence de quelques bandes parasites peuvent être notées.

## **II. Méthodes utilisant le gène *GSTP1***

### **2.1. Le prélèvement sanguin**

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

- Le prélèvement se fait sur les patientes et les témoins qui répondent aux critères.
- Le consentement est obligatoire
- Le prélèvement est réalisé dans un tube EDTA (Ethylen-Diamine- Tetra-acétique Acide) sous vide. Il s'agit de 6 à 8 ml du sang qui sera conservés à une température de 4°C jusqu'au moment des manipulations.

### **2.2. L'étude moléculaire**

L'étude moléculaire consiste en une recherche du polymorphisme A313G du gène de la *GSTP1* au niveau du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire (UC3).

#### **2.2.1. L'extraction d'ADN**

L'ADN de chaque sujet est extrait à partir des leucocytes du sang périphérique recueillis dans un tube EDTA, suivant la technique au NaCl. Ainsi les leucocytes sont séparés du sang total par une lyse hypotonique et traité ensuite par un détergent sodium dodécyle sulfate (SDS) et une protéinase K, et de cette manière l'ADN nucléaire est libéré dans le milieu. la pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse.

#### **2.2.2. Le génotypage de la *GSTP1***

Pour la mise en évidence du génotype du polymorphisme A313G de la *GSTP1*, la technique PCR/RFLP consiste à la réalisation des étapes suivantes :

- Amplification par PCR (polymérase chaîne réaction).
- Une migration électro-phorétique sur gel d'agarose pour le contrôle du produit PCR (s'assurer qu'il n'y a pas de contamination).
- Digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Alw26I

· Une migration électro-phorétique sur gel d'agarose pour la révélation du résultat de digestion (génotype A313G).

### 1. L'amplification par PCR

#### **Le principe :**

la PCR est une méthode de biologie moléculaire permettant d'amplifier des séquences d'ADN cible, définies en plusieurs millions d'exemplaires. La PCR est une réaction en chaîne de  $n$  cycles successifs d'amplification, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent. Un cycle d'amplification est composé de trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation.

**Tableau 09 : Préparation du milieu réactionnel de la PCR**

<b>Mix de PCR</b>	<b>Concentrations</b>	<b>Quantités <math>\mu\text{l}</math> pour un échantillon</b>
Eau distillé		16.7 $\mu\text{l}$
Tampon	10X	2.5 $\mu\text{l}$
MgCl <sub>2</sub>	(25mM)	1.5 $\mu\text{l}$
dNTP	(5mM)	2 $\mu\text{l}$
Amorce F	(10pM)	0.5 $\mu\text{l}$
Amorce R	(10pM)	0.5 $\mu\text{l}$
Taq polymérase		0.3 $\mu\text{l}$
ADN cible		1 $\mu\text{l}$

#### **Amorces:**

Amorce F : 5' - ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA -3'

Amorce R : 5' - TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT -3'

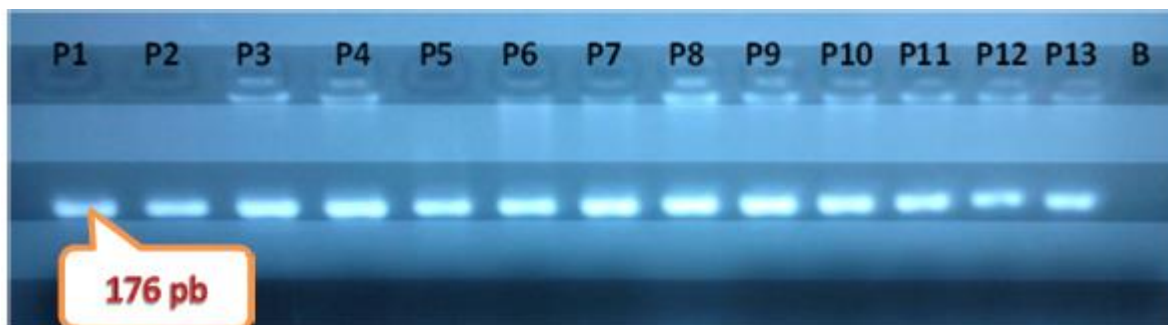
Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris 24 $\mu\text{l}$  de ce mélange avec 1 $\mu\text{l}$  d'ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit : dénaturation initiale à 94°C pendant 5 minutes, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C, une hybridation à 60°C ET une élongation à 72°C et enfin une élongation finale à 72°C pendant 10 minutes.

Le contrôle des produits PCR s'effectue par électrophorèse sur un gel d'agarose 2% additionné de 10  $\mu\text{l}$  de BET (Bromure d'éthidium) qui est un agent intercalant entre les bases nucléotidiques de l'ADN et émettent une coloration rouge lors de l'excitation par des UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, on dépose 10 $\mu\text{l}$  de produits PCR en présence de 3  $\mu\text{l}$  du colorant Bleu de bromophenol (BBP) qui permettent de suivre le front de migration.

Parallèlement un échantillon sans ADN (témoin négatif) est inclus dans la série à amplifier et sert de control de contamination. Le dépôt se fait du côté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 60 à 100 volts pendant 45 mn.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Le gel est photographiable et permet de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille. Ce contrôle permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de PCR grâce au puits contenant le blanc.



**Figure 18 :** Photographie montrant le profil de migration électrophorétique de la PCR

## 2. Digestion des produits PCR

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par l'enzyme de restriction Alw26I. Pour cela il faut préparer une quantité d'un mix pour la digestion selon le nombre des amplifias à être digérés. Ce mix de digestion contient de l'enzyme (Alw26I) et un tampon qui sera délivré dans le kit de l'enzyme et de l'eau.

**Tableau 10:** Préparation du mix de digestion

Nucléase free water (eau)	17µL
Tampon 10X	2µL
Alw26I	1-2µL
Produit PCR	10 µL

Nous préparons pour chaque échantillon un tube qui contient 10µL de produits PCR additionnés de 20µL de mix de digestion, les tubes sont ensuite incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C

## 3. Electrophorèse des produits de la digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose 3%. Le gel est visualisé grâce à l'addition BET (10µl).

Les acides nucléiques chargés négativement, sont déposés du côté de la cathode et migrent vers l'anode dans le champ électrique. La migration des fragments d'ADN dépend de leurs tailles ; plus le fragment a une taille élevée, moins la migration électrophorétique par rapport au puits d'inclusion est importante. A l'inverse des fragments de petite taille ont une distance de migration plus élevée.

Lorsqu'on obtient une nette séparation des différents fragments (après 2h 30mn de migration) le gel est photographié après trans illumination aux UV.

#### 4. Profile RFLP obtenu

L'enzyme de restriction Alw26I reconnaît et clive la séquence 5'...GTCTC (n) '3, elle clive le site de restriction suivant :



La présence d'une la mutation A313G crée un site de coupure pour l'enzyme de restriction Alw26I, les fragments d'ADN obtenus seront de 93 et 83 bases s'il y a mutation soit des fragments de 176 pb en cas d'absence de mutation, et par conséquent on peut distinguer entre des sujets porteurs ou homozygotes.

Le génotype homozygote normal (AA) est représenté par une seule bande de 176pb, le génotype homozygote muté (GG), est représenté par deux bandes 93pb et 83pb et le génotype hétérozygote AG est caractérisé par trois bandes 176pb, 93pb et 83pb.

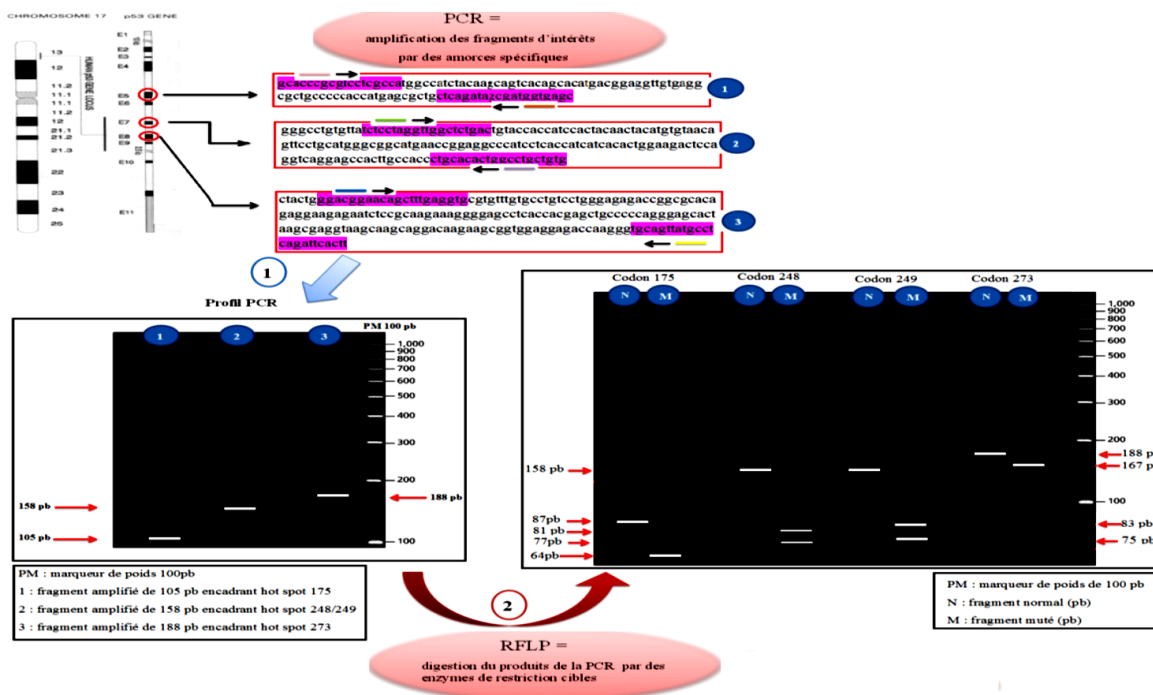


**Figure 19** : Photographie montrant le profil de de migration électrophorétique d'une digestion enzymatique (M : marqueur de taille 50pb).

### III. Méthodes utilisant le gène p53

Dans un premier temps, une extraction d'ADN est réalisée à partir de pièces de tissus mammaires. Un fragment d'ADN précis est amplifié en de multiples copies par une réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN ou PCR (Polymerase Chain Reaction), qui est une méthode de biologie moléculaire ayant pour but d'amplifier sélectivement un segment spécifique d'ADN double brin en utilisant des amorces oligonucléotidiques de séquence définie. Dans notre étude, nous avons utilisé 3 couples d'amorces pour amplifier 3 fragments précis d'ADN du gène p53, contenant les 4 codons "hot spots" (175, 248, 249 et 273). La détermination de la taille est vérifiée sur gel d'agarose après marquage au bromure d'Ethidium (BET).

Pour détecter la présence ou l'absence des mutations de p53 dans le cancer du sein, une RFLP doit être réalisée (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Elle permet d'identifier le polymorphisme cible par application des restrictions des endonucléases au niveau l'ADN. Pour cela, l'ADN est digéré par des enzymes de restriction spécifiques. La coupure de l'ADN se fait en un site particulier reconnu par l'enzyme. Chaque enzyme reconnaît une séquence d'ADN qui lui est spécifique. Le produit de digestion est visualisé sur un gel d'agarose à 4%. Selon le nombre de bandes générées, on peut déduire la présence ou l'absence de mutations.



**Figure 20 :** Illustration schématique des étapes de la PCR-RFLP réalisée pour l'étude des 4 hot spots (175, 248, 249 et 273).

### **3.1. Préparation des échantillons**

Les tissus biopsies ou chirurgicalement excisés pour l'analyse et le diagnostic histopathologique sont souvent fixés au formol et inclus en paraffine pour le stockage à long terme.

Les étapes de déparaffinage et de réhydratation sont nécessaires et indispensables, préalablement :

5. -Le déparaffinage a été réalisé en présence du xylène et sous la hotte : dans des tubes Eppendorf 1,5 ml, nous avons mis les échantillons sous forme de pièces coupées par un microtome, ensuite nous avons complété comme suit :

- ajouter 800 µl de xylène dans chaque tube ;
- agiter par retournement pendant 15 min (grâce une plaque rotatoire) ;
- centrifuger à la vitesse maximale (14000 tpm) pendant 2 min, éliminer le surnageant (paraffine dissous dans le xylène), sans perturber le culot cellulaire ;
- répéter l'étape de déparaffinage par le xylène 2 fois supplémentaires pour enlever totalement la paraffine.

6. La réhydratation a été réalisée en trois étapes utilisant différentes concentration d'alcool "éthanol" (100%, 70%, 50%) dont le volume d'alcool ajouté est proportionnelle avec la quantité de culots cellulaires :

- ajouter au culot cellulaire 600 µl d'éthanol 100 % (dans notre cas) ;
- vortexer, centrifuger à 14000 tpm pendant 3 min ;
- éliminer l'éthanol par pipetage ;
- réhydrater les échantillons en ajoutant de l'éthanol à 70% puis à 50% (suivre les mêmes étapes que précédemment) ;
- éliminer l'éthanol à 50 %. Les culots cellulaires ont été séchés en tubes renversés, à température ambiante, pendant 5 min.

### **3.2.. Extraction de l'ADN génomique**

L'extraction de l'ADN a été réalisée à partir des cellules déparaffinées et réhydratées au cours de l'étape précédente. Elle s'effectue en plusieurs étapes (selon le protocole de Pikor L.A., Enfield K.S.S., Cameron H., et Lam W.L. DNA Extraction from Paraffine).

- ajouter 315 µl de tampon de lyse (10 mM Tris pH = 7,5 ; 100 mM EDTA ; 50 mM NaCl) plus 5 µl de protéinase K (10 mg/ml) aux culots cellulaires ;
- incubé les tubes à 55°C pendant 1 h 30 min avec vortex chaque 5 à 10 min ;
- laver par ajout de 100 µl de NaCl 6 M à chaque tube ;

- vortexer pendant 6 min puis une centrifuger à 13000 tpm pendant 10 min, à température ambiante ;
- transférer minutieusement le surnageant contenant l'ADN, presque 250 µl/tube dans un nouveau tube ;
- ajouter 200 µl d'isopropanol pour précipiter l'ADN ;
- retourner et secouer les tubes afin de bien mélanger le contenu. A la fin, une pelote blanchâtre et compacte d'ADN est observée ;
- la pelote d'ADN a été culotée grâce à une centrifugation prolongée à vitesse maximale de 13000 tpm/10 min à température ambiante ;
- enlever l'isopropanol par pipetage. Le culot d'ADN devrait rester coller au fond du tube ;
- ajouter 300 µl d'éthanol au culot d'ADN, mélanger ;
- centrifuger quelques secondes ;
- éliminer l'éthanol. Le culot d'ADN devra être séché à température ambiante pendant 30 min (tube renversé) ;
- resuspendre l'ADN dans de l'eau distillée, grâce à l'ajout de 30 µl d'H<sub>2</sub>O distillée. Une incubation à 55°C pendant 10 min ;
- L'ADN est ensuite quantifié, aliquoté et conservé à -20°C jusqu'à usage ultérieur.

### **3.3. PCR-RFLP**

#### **3.3.1. Amplification de l'ADN par PCR**

La PCR permet d'amplifier des séquences autour des sites de mutations en quantités suffisantes pour réaliser l'analyse par RFLP. La spécificité des amorces et des enzymes de restriction utilisées pour l'analyse mutationnelle a été préalablement validée par une étude antérieure.

Une vérification de la spécificité de toutes les amorces et les enzymes de restriction incluses dans notre étude a été réalisée *in silico* en utilisant l'outil bio-informatique.

Amorces sens et antisens utilisées pour l'amplification par PCR de différentes séquences cibles de gène p53.

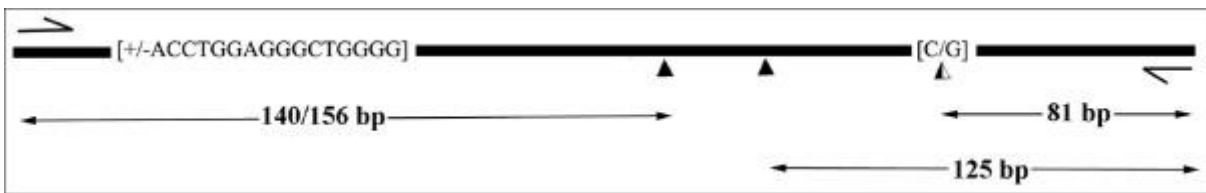
Les amplifications ont été optimisées après plusieurs essais concernant la concentration en MgCl<sub>2</sub>, la température d'hybridation et le nombre de cycles.

#### ➤ **Visualisation des fragments amplifiés**

La détermination de la taille des produits de PCR se fait par une migration électrophorétique sur un gel d'agarose à 2%.

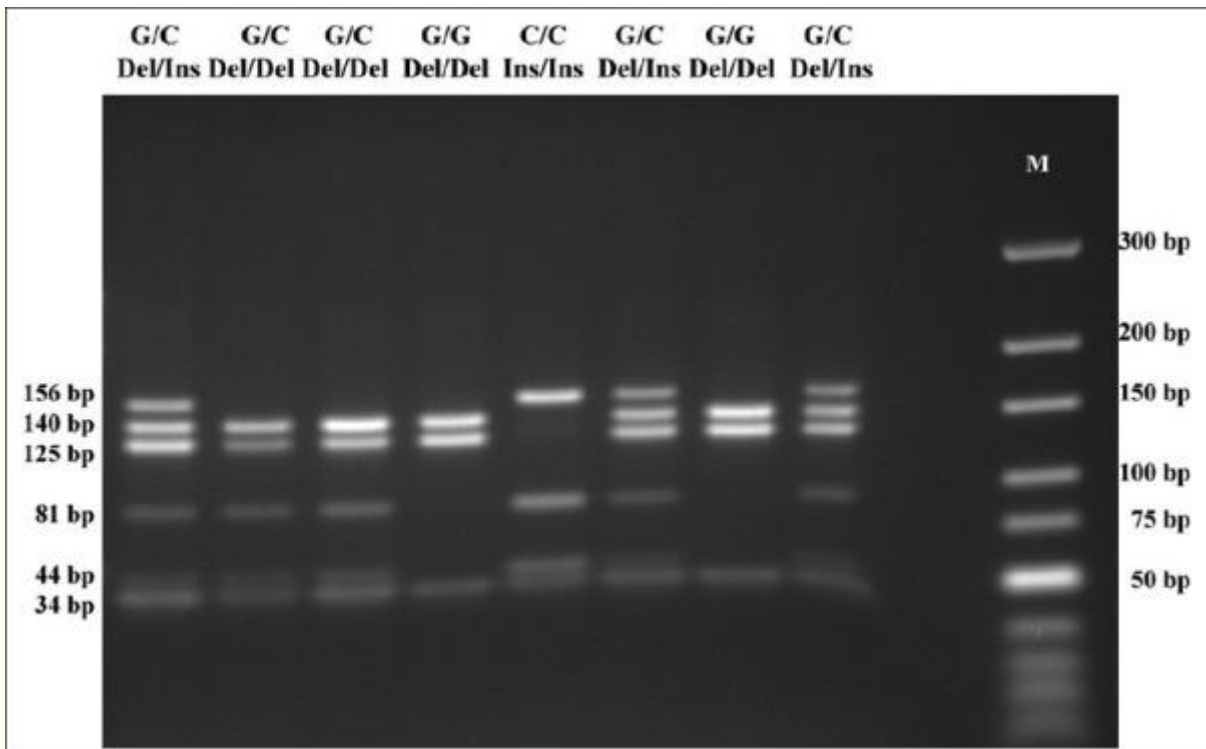
#### **3.3.2. Etablissement du profil de restriction RFLP**

La PCR permet d'amplifier une région définie du gène p53 puis d'appliquer la technique RFLP sur le produit de PCR. L'ADN est soumis à une enzyme de restriction qui coupe la molécule en un endroit précis, définis par une séquence de bases, appelé sites de restriction. Lorsqu'une mutation est introduite dans la séquence de l'ADN, il peut y avoir création ou perte d'un site reconnu par une enzyme de restriction. Cette non-coupeure de l'ADN est détectée par une variation du nombre et de la longueur des fragments d'ADN (fragments de restriction) obtenus après digestion enzymatique, et séparation par électrophorèse.



**Figure 21 :** Illustration schématique montrant les bases de la détection simultanée d'une TP53 Arg72Pro et del/ins polymorphisme d'un intron de 316 bp.

Après la séparation des fragments en utilisant une électrophorèse sur gel d'agarose un résultat peut être utilisé comme montré dans la l'électrophorégramme de la figure 21.



**Figure 22 :** Electrophorégramme sur gel d'agarose montrant le résultat PCR-RFLP.

## Conclusion

L'analyse moléculaire poursuit plusieurs buts. Il s'agit de décrypter les mécanismes de la cancérogenèse, de préciser les cibles mais aussi le cas échéant de relier ces éléments d'ordre mécanistique à des éléments cliniques tels que les corrélations génotype-phénotype, les éléments morphologiques et pronostiques, d'orienter les traitements (détermination préalable d'une résistance au traitement), d'aider au diagnostic, de rechercher une maladie résiduelle, mais également d'identifier les sujets à haut risque dans les familles. On ne se contente donc plus simplement de décrire et comprendre les mécanismes de la cancérogenèse, mais également d'envisager les finalités médicales de ces découvertes. Le but ultime étant le développement, à partir de ces connaissances, de nouvelles stratégies thérapeutiques.

En perspective, il est établi que les tests de prédisposition génétique aux cancers du sein et/ou de l'ovaire permettent d'identifier des mutations délétères des gènes *BRCA1/2*. Ces tests sont pratiqués couramment dans les pays industrialisés depuis le milieu des années 2000 dans un contexte relativement prudent et organisé, contrôlé pour l'instant majoritairement par une offre régulée par le milieu médical pour les systèmes de santé socialisés. Dans ce contexte, les informations que ces tests apportent, pour les formes génétiques peu fréquentes de cancers liés à ces mutations, sont devenues des éléments majeurs de décision quant à la prise en charge préventive optimale définie sur la base du risque biologique individualisé.

## Références Bibliographiques

- Adam, C., Petit, T. (2014) : Mémento De Pathologie.
- Aronowitz, R.A.(2007) : Unnaturalhistory: Breast cancer and American society. Cambridge UniversityPress.
- American Joint Committee on cancer (AJCC). (2017): What is Cancer Staging?.
- Apostolou, P., Fostira, F.(2013):.HereditaryBreast Cancer: The Era of New SusceptibilityGenes. BioMedRes.
- Agnese, D.M., Pollock, R.E.(2016) : Breast Cancer Genetic Counseling: A Surgeon's Perspective.
- Anderson, B.O., Lipscomb, J., Murillo, R.H., Thomas, D.B. (2015) : Breast Cancer, in: Gelband, H., Jha, P., Sankaranarayanan, R., Horton, S. (Eds.), Cancer: Disease Control Priorities, Vol 3. The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank, Washington (DC).
- Borgen, P.(2000) : Breast Cancer in the 20th Century: Quest for the IdealTherapy. Ochsner J. Vol 2: 5–9.
- Barroso-Sousa, R., Metzger-Filho, O.(2016): Differencesbetween invasive lobular and invasive ductalcarcinoma of the breast: results and therapeutic implications. Ther. Adv. Med. Oncol. Vol 8: 261–266.
- Brinton, L.A., Richesson, D., Leitzmann, M.F., Gierach, G.L., Schatzkin, A., Mouw, T., Hollenbeck, A.R., Lacey, J.V.(2008): Menopausal Hormone Therapy and Breast Cancer Risk in the NIH-AARP Diet and HealthStudyCohort. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol. Vol 17: 3150–3160.
- Brinton, L.A., Richesson, D.A., Gierach, G.L., Lacey, J.V., Park, Y., Hollenbeck, A.R., Schatzkin, A. (2008): Prospective Evaluation of RiskFactors for Male Breast Cancer. JNCI J. Natl. Cancer Inst. Vol 100: 1477–1481.
- Bonaiti B, Alarcon F, Bonadona V, Pennec S, Andrieun N, Stoppa-Lyonnet D, Perdry H, Bonaiti-Pellie C, (2011): Nouveau système de score pour le diagnostic des prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire associées à BRCA1/2. Le groupe Génétique et Cancer, Bulletin du cancer, 98.
- Cooper, G.M. (2000): The Development and Causes of Cancer.
- Chiquette, J., Hogue, J.-C.(2014) :La sénologie au quotidien les défis mammaires en pratique courante. CHU Qué. - Cent. Mal. Sein Deschênes-Fabia - Hôp. St-Sacrement.
- Chen, X., Liu, L., Wang, Y., Liu, B., Zeng, D., Jin, Q., Li, M., Zhang, D., Liu, Q., Xie, H.(2016): Identification of breast cancer recurrence risk factors based on functional pathways in tumor and normal tissues. Oncotarget Vol 8: 20679–20694.
- Cancers Du Sein De La Recherche De Pointeaux Soins Innovants (2009) : Dernières avancées et développements prometteurs, Institut Curie –France-.

- Chompert A, 2003 : Diagnostic génétique du cancer du sein et de l’ovaire héréditaire. Gynécologie obstétrique et biologie de reproduction, Elsevier, 32 ; 101-119.
- Clergue O, Jones N, Sevenet N, Quenel-Tueux N, Debled M, (2015) : La connaissance du statut de BRCA1 devrait-elle avoir un impact sur le choix d’un cytotoxique dans le cancer du sein ? revue de la littérature, bulletin de cancer,245-255.
- Dadoune, J.-P., Hadjiisky, P., Siffroi, J.-P. (1990): Histologie.
- Delouis.(2017): Glande mammaire : histologie.
- URL : <http://www.vetopsy.fr/reproduction/lactation/glandes-mammaires-histologie.php>
- Desjardins S, 2010. Analyse de gènes candidats au cancer du sein impliqués dans les interactions avec BRCA1 et BRCA2. Faculté de médecine à université de Laval Québec, 215.
- Doru, P.(2017):What to Know About Breast Cancer Symptoms. URL:<https://www.verywell.com/symptoms-of-breast-cancer-430640>.
- Daguet E, Malhaire C, Hardit C, Athanasiou A, El Khoury M, Thibault F, Olliver.L, Tardivon A , (2008): Dépistage du cancer du sein par IRM chez les femmes porteuses d’une mutation génétique. Elsevier Masson, 783-790.
- Eisinger F, Bressac B, Castaigne D, Cottu P.H, Lansac J, Lefranc J.P, Lesur A, Nogues C, Pierret J, Puy-Pernias S, Sobol H, Tardivon A, Tristant H, Villet R, (2006) : Identification et prise en charge des prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l’ovaire. Elsevier SAS ,230-250.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I, Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, D.M., Forman, D., Bray, F.(2015):Cancer incidence and mortalityworldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int. J. Cancer Vol 136.
- Fournier, A., Touillaud, M., Clavel-Chapelon, F.(2008):Facteurs de risque de cancer du sein. 30° Journ. Société Fr. Sénologie Pathol. Mammaire Journ. Baule FRA 2008-11-05 Prév. Cancer Sein Mythe Ou RéalitéBreast Cancer Prev. Myth Real.
- Faunteun J, (1999) : la prédisposition héréditaire au cancer du sein liée à BRCA1 et BRCA2 : une maladie de la réponse aux lésions génotoxiques ?, laboratoire de génétique oncologique, institut Gustave-Roussy-France-,38-44.
- Ferreira, L.M.(2017):Skin Irritation or Dimpling | Symptoms of Breast Cancer | News. Breast Cancer News.
- Ghoncheh, M., Pournamdar, Z., Salehiniya, H.(2016): Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP Vol 17: 43–46.
- Global Burden of Disease Cancer Collaboration.(2017): Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, YearsLivedWithDisability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015: A SystematicAnalysis for the Global Burden of DiseaseStudy. JAMA Oncol. Vol 3: 524.
- Globocan.(2012):Fact Sheets by Cancer.URL:[http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx).

- Ghanem, S., Khoyaali, S., Naciri, S., Glaoui, M., Mesmoudi, M., Errihani, H (2013): Une tumeur rare et distincte du cancer du sein: le carcinosarcome, à propos de huit cas et revue de la littérature. *Pan Afr. Med. J.* Vol 14.
- Goncalves A, Moretta J, Eisinger F, Bertuci F (2013): Médecine personnalisée et cancer du sein : médecine anticipatoire, évaluation pronostique et ciblage thérapeutique. *Bulletin du cancer*, 1295-1310.
- Gewefel H, Salhia B, (2014): Breast cancer in adolescent and youngadultwomen *Clinicalbreast cancer*, Elsevier, 390-395.
- Holland, R., Peterse, J.L., Millis, R.R., Eusebi, V., Faverly, D., Zafrani, B.(1994): Ductalcarcinoma in situ: aproposal for a new classification. Presented at the Seminars in diagnostic pathology: 167–180.
- Hultborn, R., Hanson, C., Köpf, I., Verbiene, I., Warnhammar, E., Weimarck, A (1997): Prevalence of Klinefelter’s syndrome in male breast cancer patients. *AnticancerRes.* Vol 17: 4293–4297.
- Hamdi-Christ M, Zaidi.Z, Abdellouche D, Hamdi S, Lakhdari N, Djema Bendjazia A, Laoumari S, Mahnane A, Moussaoui H, Kadri L, et Guerra D, (2010) : Registre du cancer du Sétif (Algérie) : incidence, tendance et survie, 1986-2005. Springer-Verlag, 2 : 245-258.
- Huizen, J.(2016) :Breast cancer: Lumps, causes, riskfactors. URL:<https://www.medicalnewstoday.com/articles/313490>.
- Houdebine S, Doutriaux I, Geffroy D, Labbe C, Nenciu D, Meingan P, Ricaud M , (2014) : Dépistage du cancer du sein. Elsevier Masson ,
- Hemmatzade M, Mohammadi H, Jadidi-Niaragh F, Asghari F, Yousefi M, 2016. The role of oncomirs in the pathogenesis and treatment of breast cancer *Biomedicine&pharmacotherapy*, Elsevier Masson, 129-139.
- Habdous, M., Siest, G., Herbeth, B., Vincent-Viry, M., Visvikis, S.(2004) : Polymorphismes des glutathion S-transférases et pathologies humaines : bilan des études épidémiologiques. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* Vol 62: 15–24.
- Institute for Quality and Efficiency in Health Care.(2017): Breast cancer: Overview. PubMedHealth.
- Junqueira, L., Carneiro, J., Kelley, R.(2007): *Basic Histology*. Appleton Lange Norwalk Conn.
- Jamin, C.(2011) : Effets des facteurs de reproduction sur le risque de cancer du sein : revoir les croyances.
- Jegu M, Some Der A, Morcel K, Abadie C, Fritel X, Leveque J, (2014) : Cancer du sein et de l’ovaire liées aux mutations constitutionnelles délétères BRCA1 & 2 et reproduction : revue de la littérature. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, Elsevier Masson –France-, 8.
- Kamińska, M., Ciszewski, T., Łopacka-Szatan, K., Miotła, P., Starosławska, E.(2015): Breast cancer riskfactors. *PrzeglądMenopauzalnyMenopauseRev.* Vol 14: 196–202.

- Key, T., Reeves, G., Roddam, A., Helzlsouer, K., Alberg, A., Rollison, D., Dorgan, J., Brinton, L.(2011) : Circulating sex hormones and breast cancer risk factors in postmenopausal women: reanalysis of 13 studies. *Br. J. Cancer* 105–709.
- Le Monde. (2016): Cancer : explosion du nombre de décès chez les femmes.
- Lakhtakia, R.(2014) : A Brief History of Breast Cancer. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* Vol 14: 166–169.
- Leblond D, Bredart A, Dolbeault S, De Pauw A, Stoppalyonnet D, Sultan S, 2012, Adéquation de la perception du risque de prédisposition génétique BRCA1/2 chez des femmes atteintes de cancer du sein (cas index) et facteurs associés, *bulletin du cancer*, 673-684.
- Lynch, Julie A., Venne, V., Berse B. (2015): Genetic tests to identify risk for breast cancer in *Seminars in oncology nursing*, WB Saunders, Vol. 31, no. 2 : 100-107.
- Le Caignec, C.(2000) : Prédispositions au cancer du sein et/ou de l’ovaire. Université Henry Poincaré - Nancy 1.
- Le corgne, A.(2016) : Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge du cancer du sein, après chirurgie mammaire. Université de Bourgogne
- Lecarpentier, J.(2012): Étude des facteurs modificateurs du risque de cancer du sein des femmes à risque génétique élevé. Université Paris Sud - Paris XI, France.
- Lips, E.H., Mulder, L., Onk, A., van der Kolk, L.E., Hogervorst, F.B.L., Imholz, A.L.T., Wesseling, J., Rodenhuis, S., Nederlof, P.M.(2013): Triple-negative breast cancer: BRCAness and concordance of clinical features with BRCA1-mutation carriers. *Br. J. Cancer*, Vol 10: 2172–2177.
- Marieb, E.N., Hoehn, K.(2007): *Human anatomy & physiology*. Pearson Education / 1118–1120.
- Masson, G. (1940): *Physiologie de la glande mammaire*. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* Vol 4: 138–143.
- Mahane, A., Hamdi Cherif, M.(2012): Épidémiologie du cancer du sein en Algérie. *Registre du cancer de Setif*.
- Meister, K., Morgan, J.(2000): *Risk Factors for Breast Cancer*. *Am Cncl on Science, Health*
- Macon, M.B., Fenton, S.E.(2013) : *Endocrine Disruptors and the Breast: Early Life Effects and Later Life Disease*. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, Vol 18: 43–61.
- Maehama, T., Dixon, J.E.(1998): The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate. *J. Biol. Chem.* Vol 273 : 13375–13378.
- Menezes, G.L., Knuttel, F.M., Stehouwer, B.L., Pijnappel, R.M., van den Bosch, M.A.(2014): *Magnetic resonance imaging in breast cancer: A literature review and future perspectives*. *World J. Clin. Oncol.* Vol 5: 61–70.
- Monge, M., Bergeron, C., Lacroix, I., Olichon, D., Schlageter, M.-H.(2006): *Cancérologie et biologie : marqueurs tumoraux organe par organe.*, Elsevier Masson SAS. ed. Muriel Chabert.
- Montazeri, A., Vahdaninia, M., Harirchi, I., Harirchi, A.M., Sajadian, A., Khaleghi, F., Ebrahimi, M., Haghighat, S., Jarvandi, S.(2008) : *Breast cancer : need for greater women awareness of warning signs and effective screening methods*. *Asia pacific family. Medicine*.

- Mathelin, C.(2016): L'examen clinique des seins. Médecine Thérapeutique, Vol 22: 374–381.
- NBOCC. (2009): Breast cancer risk factors: a review of the evidence.
- NBCF.(2017) : Breast Cancer Facts : The National Breast Cancer Foundation. URL:<http://www.nationalbreastcancer.org/breast-cancer-facts>. -Noguès.C et Tardivon.A, 2010. Histoire familiale et cancer du sein -quel dépistage? Europa donna –France- coalition Européenne contre le cancer du sein, 74.
- National Cancer Institute (2018): Breast Cancer Treatment. Cancer Institute. URL:[https://www.cancer.gov/types/breast/patient/breast-treatment-pdq#section/\\_148](https://www.cancer.gov/types/breast/patient/breast-treatment-pdq#section/_148)
- OMS.(2012): Women's cancer factsheets. URL:[http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx).
- Pasternak J.J, 2003. Génétique moléculaire humaine «une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires». Boeck université, 511.
- Petrucelli, N., Daly, M.B., Pal, T.(2016) :BRCA1- andBRCA2-Associated HereditaryBreast and Ovarian Cancer, GeneReviews. University of Washington, Seattle (WA).
- Pearson, W.R., Vorachek, W.R., Xu, S.J., Berger, R., Hart, I., Vannais, D., Patterson, D. (1993): Identification of class-mu glutathionetransferasegenes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. American Journal of HumanGenetics, Vol 53 : 220–233.
- Parthasarathy, V., Rathnam, U.(2012) :NippleDischarge: An Early Warning Sign of Breast Cancer. International JournalofPreventiveMedicine, Vol 3: 810–814.
- PDQ AdultTreatment Editorial Board.(2002) : Breast Cancer Treatment: Patient Version, in: PDQ Cancer Information Summaries. National Cancer Institute (US), Bethesda (MD).
- Retief, F.P., Cilliers, L.(2011) :Breast cancer in antiquity. SAMJ South Afr. Med. J., Vol 8: 513–515.
- Rakha, E.A., Reis-Filho, J.S., Baehner, F., Dabbs, D.J., Decker, T., Eusebi, V., Fox, S.B., Ichihara, S., Jacquemier, J., Lakhani, S.R., Palacios, J., Richardson, A.L., Schnitt, S.J., Schmitt, F.C., Tan, P.-H., Tse, G.M., Badve, S., Ellis, I.O.(2010) : Breast cancer prognostic classification in the molecularera: the role of histological grade. Breast Cancer Res. Vol 12 : 207.
- Renehan, A.G., Soerjomataram, I., Tyson, M., Egger, M., Zwahlen, M., Coebergh, J.W., Buchan, I.(2010) : Incident cancer burdenattributable to excess body mass index in 30 European countries. Int. J. Cancer Vol 3: 692–702.
- Rinaldi, S., Peeters, P., Bezemer, I., Dossus, L., Biessy, C., Sacerdote, C., Berrino, F., Panico, S., Palli, D., Tumino, R.(2006) :Relationship of alcoholintake and sexsteroid concentrations in blood in pre-and post-menopausalwomen: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Causes Control, Vol 8: 1033–1043.
- Richard G. Margolese, Gabriel N. Hortobagyi, Thomas A. Buchholz.(2003): Diagnosis and Screening. Hamilton (ON): BC Decker.Vol 6.
- Sharma, G.N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P., Sharma, K.K.(2010): Various types and management of breast cancer : an overview. J. Adv. Pharm. Technol. Res. Vol 2: 109–126.
- Sancho-Garnier, H. (2013) : Epidémiologie des cancers gynécologiques: utérus, ovaire, vulve, vagin. Cancers Gynécologiques Pelviens Elsevier Masson Paris : 85–99.

- Sull, J.W., Ohrr, H., Kang, D.R., Nam, C.M.(2004) : Glutathione S-transferase M1 status and breast cancer risk: ameta-analysis. *Yonsei Med. J.*, Vol 4: 683–689.
- Sherwood, L.(2011) :Fundamentals of humanphysiology. Cengage Learning : 228-259
- Sørlie, T., Perou, C.M., Tibshirani, R., Aas, T., Geisler, S., Johnsen, H., Hastie, T., Eisen, M.B., Van De Rijn, M., Jeffrey, S.S.(2001) :Gene expression patterns of breastcarcinomasdistinguishtumorsubclasseswithclinical implications. *Proc. Natl. Acad. Sci*, Vol 19: 10869–10874.
- Schnitt, S.J.(2003) :Benignbreastdisease and breast cancer risk: morphology and beyond. *Am. J. Surg. Pathol*,Vol: 6 : 836–841.
- Shim, E., Song, S.E., Seo, B.K., Kim, Y.-S., Son, G.S.(2013) :LymphomaAffecting the Breast: A PictorialReview of Multimodal Imaging Findings. *J. Breast Cancer*, Vol 3: 254–265.
- Sznajer Y et Verloes A, 2009, génétique médicale « de la biologie à la pratique clinique », Boeck université, 460.
- Sevilla C, Bourret P, Nogues C, Moatti J P, Sobol H, 2004. L'offre de tests de prédisposition génétique au cancer du sein ou de l'ovaire en France, Groupe Génétique et Cancer, Médecine et science, Erudit, 787-792.
- Sequeiros, J., Guimarães, B.(2009) :Definitions of geneticesting.
- Séradour, B.(2007) : Le dépistage du cancer du sein:: Un enjeu de santé publique. Springer Science & Business Media. Vol 2
- .Travis, R.C., Key, T.J.(2003): Oestrogenexposure and breast cancer risk. *Breast Cancer Res. BCR*, Vol5 :239–247.
- Terki K, Messid N, Meguenni I, Dablaoui F, Djaroud Z Mokhtari L, Chafi B, 2012. Cancer du sein Epidémiologie et facteurs de risque (CHU° Oran 2008-2009), CHU Oran Algérie, 257,258
- Winslow, T.(2012) :Ductal and LobularCarcinoma In Situ *Natl. Cancer Inst.*
- Walavalkar, V., Khan, A., Kandil, D.(2015) : Familial Breast Cancer and GeneticPredisposition in Breast Cancer, in: *PrecisionMolecularPathology of Breast Cancer*. Springer: 15–37.
- Wang YP, Roe B, Pearson WR. (1998): Characterization of the human class mu glutathionetransferasegene cluster and the GSTM1 deletion, *J. Biol. Chem.* Vol 6: 3517-3527
- Yin, M., Mackley, H.B., Drabick, J.J., Harvey, H.A.(2016) : Primaryfemalebreastsarcoma: clinicopathologicalfeatures, treatment and prognosis. *Sci. Rep.* Vol 6: 31497.