

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Génétique

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

La prédisposition Génétique du gène *BRCA1* au Cancer du sein

Présenté par : Neffaf Radia
Keniouche Nedjma
Bougherara oumaïma

Le 25/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Hanachi Sabah Professeur au CHU de Constantine
Examineur 1 : Sifi Karima Professeur au CHU de Constantine
Examineur 2 : Zekri Salima Maître assistante à EPH Daksi

**Année universitaire
2021 - 2022**

Les remerciements

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de notre stage et qui nous ont aidés lors de la rédaction de ce mémoire.

*Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre encadreur **Madame Hanachi Sabah**, professeur en Biochimie clinique au CHU de Constantine, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique du CHU Constantine et les intervenants professionnels responsables de notre formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci. Surtout M.talbi

Nous tenons à témoigner toute notre reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

M. Sedrati la cheffe de filière de génétique au département de biologie animale.

Tous les professeurs de notre parcours depuis 5 ans.

Et finalement, Nos vifs remerciements vont aux deux membre de jury qui ont donné de leur temps et leur patience Dr.Zekri Salima maître assistante à l'EPH Daksi et Pr.Sifi Karima professeur Hospitalo-universitaire au CHU de Constantine.

Dédicaces

Moi Keniouche Nedjma

Je dédie ce modeste travail

A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de

L'amour dont **keniouche Fatima et keniouche Zoubir** ne cessent de me combler. Que
dieu leur procure

Bonne santé et longue vie.

A celle que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de mon parcours

Ma tante ma jolie Ghanou

A toute ma famille, mes amis, et surtout ma cousine Gamra et ses deux petites filles
Rima et Loudjaïne

A mon binôme Radia et Oumaima et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
pour que ce projet se réalise, je vous dis merci.

Moi Bougherara Oumaima :

Je voudrais remercier

Mon cher père qui m'a poussé et aidé toute ma vie pour arriver a ce point

Mes chères sœurs <Laila et Hasna > qui sont le soutien, la volonté et ma source de positivité, je suis vraiment chanceuse de vous avoir dans ma vie

Mes chers frères <Oussama et Aymen > merci pour les encouragements et le soutien dans ma vie et surtout dans les moments difficiles

Je veux remercier toute ma famille et mes amies

Et pour finaliser avec une bonne chose, je veux rendre un grand hommage à ma vie « ma mère » <je t'aime maman malgré que tu sois loin de nous>.

Moi Neffaf Radia :

Je veux passer mon merci à :

Mes parents tout d'abord pour leur soutien et leur fidélité durant toute ma vie et qui m'ont donné la volonté et le pouvoir pour arriver jusqu'à ce point dans ma vie

Mes chère frères et sœurs, mes partenaires dans le meilleur et le pire merci pour vos encouragements

Je veux dire un mot à la fin pour mon père : tu es mon paradis et je suis là pour toi et grâce à toi

Je t'aime papa

DÉDICACES

A ceux qui nous ont donné la vie, qui étaient le symbole de la tendresse, de la sécurité et de la sûreté, qui se sont sacrifiés pour notre bonheur et notre réussite. Ceux qui nous ont quittés mais restent vivants parmi nous et dans nos cœurs et à chaque instant que nous vivons.

Moi **OUMAIMA BOUGHERARA** Moi **RADIA NEFFAF**

Je dédie cet humble travail

Avec Chaque goutte de

Difficultés qu'il contient

et tous les efforts que j'ai

Faits tout au long de mon parcours

Sur le chemin de la connaissance

Pour lever mon chapeau de gloire et de fierté

*à ma chère mère **FARIDA***

qui a toujours souhaité se réjouir

De me voir au jour de ma réussite

Je t'aime Mamman

Que dieu ait pitié de ton âme pure

et fasse de ta demeure la paradis

Je dédie ce modeste travail

*A mon cher père **NADIR** , tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux et honnête, je tiens à te remercier malgré ton absence pour ton amour et ta générosité.*

Ce travail est le fruit de tous les sacrifices que tu a consenti pour mon éducation

Je t'aime papa et je prie dieu d'avoir pitié de ton âme.

La mort nous a séparés à cause de vos souffrances avec la maladie maligne

Liste des abréviations

ARNm : ARN messenger

ATCD : Antécédents

ATM : *Ataxia telangiectasia mutated*

BRCA1 : *Breast Cancer susceptibility gene 1*

BRCA2 : *Breast Cancer susceptibility gene 2*

CAC : Centre Anti Cancéreux

CCI : Carcinome canalaire infiltrant

CCIS : Carcinome canalaire in situ

CDB : Cassure double brin d'ADN

CDH1 : Cadherine 1

CHK2 : *Checkpoint kinase 2*

CLI : Carcinome Lobulaire infiltrant

HER : Human Epidermal growth factor Receptor

IRM : Imagerie par Résonance magnétique

NHE : *Non-Homologue End-Joining*

P53 : Protéine 53

PCR : *Polymérase Chain Reaction*

PIKKs : *phosphatidylinositol 3-kinase-related kinases*

PTEN : *Phosphatase and tensin homologue*

RH : Recombinaisons homologues

RH : Récepteurs hormonaux

TP53 : *Tumor proteine 53*

Liste des figures

Figure	Page
1. Coupe anatomique simplifiée et schématique d'un sein.....	4
2. Les ganglions lymphatiques.....	6
3. Présentations schématiques de développement de la glande Mammaire.....	8
4. Le nombre des cas en 2020, deux sexes et tout âge.....	9
5. Différents étapes de la cancérogénèse	13
6. Différents sous-types d'adénocarcinome mammaire.....	15
7. Schémas d'un mammographe présentant les différentes parties constitutives leurs positions relatives.....	18
8. La méthode de microbiopsie.....	21
9. Classification biologique des cancers du sein et thérapies ciblées.....	24
10. La radiothérapie.....	26
11. Structures de la protéine BRCA1.....	31
12. Structure génomique du gène BRCA2.....	33
13. Structure de la protéine PTEN	37
14. Structure modulaire de la protéine p53 humaine.....	38
15. Domaine fonctionnels du gène ATM.....	42
16. Mécanismes potentiellement impliqués dans le risque du cancer du sein et les gènes connus qui y sont associés.....	43
17. Répartition selon les antécédents familiaux	45
18. Répartition selon la ménopause des patientes avec ATCD.....	47
19. Répartition selon la ménopause des patientes sans ATCD.....	48
20. Arbre généalogique de la première famille.....	55
21. Arbre généalogique de la deuxième famille.....	55
22. Arbre généalogique de la troisième famille.....	56

Liste des tableaux

Tableau	Page
I. Les statistiques d'incidence et de mortalité du cancer du sein	10
II. La classification ACR	20
III. La répartition des patientes selon l'âge	45
IV. La répartition des patientes selon la parité	46
V. La répartition selon l'âge de ménarches chez les femmes avec ATCD Familiaux.....	46
VI. La répartition selon l'âge de ménarches chez les patientes sans ATCD.....	47
VII. La répartition de la population d'étude selon la contraception orale	48
VIII. La répartition selon le type histologique chez les femmes avec ATCD	49
IX. La répartition selon le grade SBR chez les femmes avec ATCD.....	49
X. La répartition selon le type histologique chez les Patientes sans ATCD.....	50
XI. La répartition selon le grade SBR chez les patientes sans ATCD.....	50
XII. Récepteurs hormonaux chez des patientes avec ATCD.....	50
XIII. Récepteurs hormonaux chez des patientes sans ATCD.....	50
XIV. RécepteursHER2 chez les patientes présentes des ATCD.....	51
XV. RécepteursHER2 chez les patientes sans ATCD.....	51

Table des Matières

Introduction	1
<i>Chapitre I Rappel anatomique et physiologique du sein</i>	
1. le sein.....	3
2. Anatomie du sein	3
2.1 Sur le plan externe	3
2.2 sur le plan interne :	4
3. La physiologie du sein :	7
<i>Chapitre II : Le cancer du sein</i>	9
1. Le cancer du sein	9
2. Epidémiologie.....	9
2.1 Epidémiologie descriptive	9
2.2 Epidémiologie analytique	10
2.2.1 L'âge et sexe	10
2.2.2 Les facteurs hormonaux endogènes.....	11
2.2.3 Les facteurs exogènes.....	11
2.2.4. Les caractéristiques statur pondérale, la nutrition et la sédentarité	11
3. Cancérogenèse et développement tumoral	12
4. Les types histologiques du cancer du sein	13
4.1 Les carcinomes in situ.....	13
4.2 Les carcinomes infiltrants	14
5. Classification histologique	15
5.1 Classification TNM.....	15
5.2 La classification du grade (SBR)	16
6. Les symptômes	16
7. Dépistage.....	17
7.1 L'examen du sein	17
7.1.1 Interrogatoire	17
7.1.2 Inspection	17
7.1.3 palpation.....	17
7.2 La mammographie.....	18
8. Diagnostic	19
8.1 Imagerie	19

8.1.1 2 Echographie mammaire	19
8.1. La mammographie de diagnostic	19
8.1.3 IRM mammaire	19
8.2 Prélèvement	20
8.2.1 La classification moléculaires.....	22
9. Le conseil génétique.....	24
10. Traitement.....	25
10.1 .Traitements locorégionaux.....	25
10.1.1 La Chirurgie.	25
10.1.2 La radiothérapie.....	26
10.2 Traitement systémiques.....	27
10.2.1 La Chimiothérapie	27
10.2.2 L'hormonothérapie	27
10.2.3 Les thérapies ciblées.....	28
10.2.4 L'immunothérapie	28
Chapitre III : <i>La prédisposition génétique au cancer du sein</i>	29
1.La prédisposition génétique au cancer du sein	30
2. Les gènes de prédisposition au cancer du sein.....	30
2.1 Gènes à haut risque.....	30
2.1.1Le gène BRCA1	30
2.1.1.2Mutation de BRCA1.....	31
3.1.2La mutation de gène BRCA2.....	34
2.1.3Le gène CDH1.....	34
2.1.4 Le gène PTEN	36
2.1.5 Le gène TP53.....	38
2.2 Les gènes à bas risque.....	39
2.2.1 .Le gène CHEK2	39
2.2.2 Le gène ATM	41
PATIENTS ET METHODES	44
Type d'étude.....	44
Population d'étude.....	44
Questionnaire, enquête familiale et consentement	44
2.1 Prélèvement sanguin.....	Erreur ! Signet non défini.

2.2Extraction d'ADN	Erreur ! Signet non défini.
2.3 L'amplification par PCR.....	46
2.4 Séquençages direct	47
Résultats et discussion	47
1. Etude rétrospective	Erreur ! Signet non défini.
Etude épidémiologique	47
Répartition selon l'âge.....	48
1.Etude prospective	54
Conclusion et perspective	59
les références bibliographiques	60
Annexes	60

Introduction

Introduction

Le cancer du sein occupe, aujourd'hui, une place primordiale en cancérologie. Il s'inscrit en effet comme le cancer le plus fréquent et particulièrement dans les pays industrialisés avec plus d'un million de nouveaux cas par an à l'échelle mondiale (**François et al., 2007**), Il est situé au premier rang en terme d'incidence et de mortalité féminine par cancer dans le monde nettement devant le cancer colorectal et le cancer du poumon, de nos jours, on considère qu'une femme sur huit développera un cancer du sein au cours de sa vie, comparativement, chez l'homme ce cancer est extrêmement rare et concerne moins de 1 % de tous les cancers du sein. Cette pathologie reste la principale cause de mortalité féminine en Algérie et dans le monde et demeure donc un problème majeur de santé publique.

La carcinogénèse mammaire est un processus d'initiation et de transformation de cellules normales par de multiples étapes aboutissant à l'accumulation des altérations génétiques héréditaires responsable des formes héréditaires du cancer du sein ou bien des formes sporadiques dues à une combinaison de facteurs aussi bien génétiques qu'environnementaux, cette maladie multifactorielle et due à plusieurs facteurs de risque tel que l'âge, le mode de vie, l'obésité et plusieurs autres facteurs et essentiellement les antécédents personnels et familiaux qui constituent un risque majeur de cancer du sein.

La localisation puis l'identification de gènes de prédisposition héréditaire au cancer du sein ont constitué une avancée scientifique majeure dans la compréhension du cancer du sein familial (**Bonadona&Lasset, 2003**). Le *BRCA1* est l'un des gènes bien étudiés associés au cancer du sein. Le gène *BRCA1* est un des gènes de grande taille, situé sur le chromosome 17 et contenant 22 exons. Il joue un rôle essentiel dans la sauvegarde de l'intégrité de l'ADN. Des mutations délétères dans ce gène peuvent entraîner une accumulation de dommages à l'ADN qui prédisposent à la carcinogénèse. Les femmes porteuses du génotype muté *BRCA1* ont un risque de 70% à 80% de développer un cancer du sein à un âge précoce. Plus de cent mutations germinales du gène *BRCA1* ont été décrites dans des familles présentant de nombreux cas de cancer du sein, la grande majorité des mutations affectant ce gène entraîne un changement du cadre de lecture conduisant à un arrêt prématuré de la traduction et à la production de protéine tronquée. Un certain nombre de réarrangements différents ont été trouvés au niveau de l'exon 13 du gène *BRCA1*, des délétions et duplication (ins6KbEx13) ont été détectées chez plusieurs patientes responsable de cancer du sein (**Brant et al., 2005 ; Anja et al., 2016**).

Introduction

Notre travail est divisé en deux parties, la première est basée sur l'étude épidémiologique (en utilisant des dossiers cliniques de patientes de l'Est de l'Algérie admises au le service du CAC du CHU de Constantine et la deuxième, correspond à une étude moléculaire sur trois patientes atteintes de cancer du sein et présentant des antécédents familiaux (étude de l'exon 13 du gène BRCA1 prédisposant au cancer du sein) dans le but de :

- ✓ déterminer les facteurs de risques du cancer du sein dans notre population.
- ✓ mettre au point la PCR et la technique de séquençage de l'exon 13 du gène BRCA1 dans le laboratoire de biologie et génétique moléculaire à Constantine afin de chercher des éventuelles altérations génétiques.

Chapitre I

Rappel anatomique et physiologique du sein

1. le sein

Les seins sont des structures paires situées sur la paroi thoracique antérieure, dans la région pectorale. Ils sont présents aussi bien chez les hommes que les femmes, mais sont plus proéminents après la puberté chez la femme.

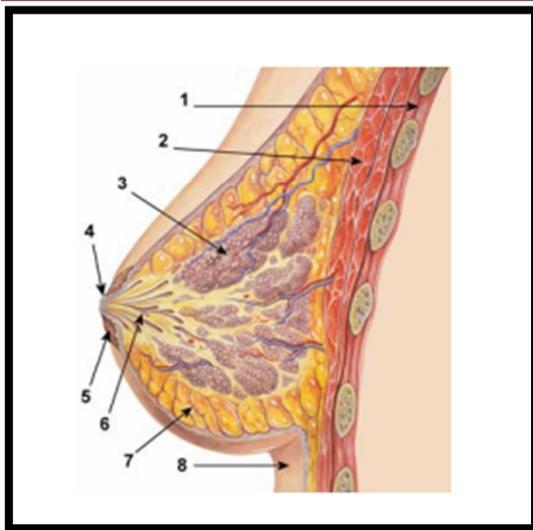
Les seins contiennent les glandes mammaires, C'est une glande accessoire de l'appareil reproducteur féminin. Les glandes mammaires sont les principales structures impliquées dans la lactation (**Kammath, 2022**).

2. Anatomie du sein

2.1 Sur le plan externe

Le sein contient trois zones : la peau, l'aréole et le mamelon.

- ❖ **La peau** : lisse et mince qui présente des veines au cours de la grossesse et la lactation. L'épiderme est adhérent au fascia pré-mammaires par des tractus fibreux. Elle ne glisse pas sur les tissus sous adjacent, elle est séparée de la glande par le muscle mamillaire, fait des fibres radiés.
- ❖ **L'aréole** : est un disque cutanée (forme circulaire) de 15 à 30 mm de diamètre qui s'agrandit au cours de la grossesse, elle a une coloration rosée chez les blondes et une couleur brunâtre chez les brunes et d'un noir mat chez les noir qui va être plus foncée à mesure que la grossesse évolue, en trouve aussi plus de 12 glandes autour de l'aréole qui s'appelles les glande aréolaires , ces saillies augmentent de volume pendant la grossesse.
- ❖ **Le mamelon** : est cylindrique et a une dimension variable d'une personne à l'autre de 1 cm de longueur et de 8 a 15 cm de largeur. Son sommet est perforé par les orifices des conduits lactifères (**Maurois & Kamina, 2007**).



- 1- Cage thoracique
- 2- Muscles pectoraux
- 3- Lobule
- 4- Mamelon
- 5- Aréole
- 6- Conduit galactophore
- 7- Tissu adipeux
- 8- Peau

Figure 01 : coupe anatomique simplifiée et schématique d'un sein (Duconge , 2009).

2.2 Sur le plan interne :

- **La glande mammaire**

La glande mammaire est une glande exocrine dont la fonction est la sécrétion lactée. Elle est située dans l'aponévrose superficielle de la paroi thoracique antérieure, elle est constituée de 15 à 20 lobes de tissu glandulaire de type tubulo-alvéolaire (**Blank, 2018**) chaque lobe est lui-même constitué de 20 à 40 lobules, et chaque lobule contient 10 à 100 alvéoles ou acini qui sont considérés comme des unités de base.

Les lobes sont séparés par du tissu conjonctif dense et sont entourés par de tissu adipeux abondant dans la majorité des glandes mammaires.

Les lobules sont entourés par de tissu conjonctif dense mais un peu moins que celui qui sépare les lobes. Le rôle de lobules est de produire le lait en période d'allaitement.

L'acinus ou l'alvéole est une cavité arrondie en forme de cul de sac qui constitue la partie sécrétrice de la glande (**Kari, 2017**).

Le lobe glandulaire se draine par un canal galactophore ou conduit lactifère, ces canaux convergents vers le mamelon, ils s'élargissent pour former les sinus lactifères.

Les canaux s'ouvrent sur le mamelon par une dizaine de pores (**Roux, 2013**).

- **Tissu adipeux et conjonctif**

Sont liées au tissu glandulaire, leur quantité est en grande partie responsable du volume des seins. On distingue deux couches :

- La couche antérieure pré glandulaire, elle est cloisonnée par des travées conjonctives : les ligaments de Cooper qui relient la peau à la glande.

- la couche postérieure qui est limitée par le fascia superficiel (**Harold, 2007**).

- **Vascularisation et système Lymphatique :**

La vascularisation du sein est très importante, le sein est un organe hautement vascularisé. On distingue l'artère principale mammaire interne et externe et des branches issues de la troisième, quatrième et cinquième artère intercostales. Pendant la grossesse et l'allaitement le sang artériel amène les nutriments nécessaires à la fabrication du lait (**Micheline et al., 2007**).

Concernant le système veineux, le réseau veineux profond assure un drainage vers les veines thoraciques internes, la veine axillaire et les veines intercostales.

Le réseau superficiel péri-aréolaire et péri-mamelonnaire (le cercle veineux de Haller) organisés en cercle autour de l'aréole du sein, visible chez la gestante et l'allaitante.

La bonne connaissance de la vascularisation mammaire permet la réussite de la reconstruction mammaire après traitement d'un cancer du sein.

Le sein est parcouru de vaisseaux sanguins et de vaisseaux lymphatiques. Les vaisseaux et les ganglions lymphatiques composent le système lymphatique qui assure la défense immunitaire.

Au niveau du sein, les ganglions lymphatiques sont situés :

- au niveau de l'aisselle (ganglions axillaires)
- au dessus de la clavicule (ganglions sus-claviculaires)
- sous la clavicule (ganglions sous-claviculaires)
- à l'intérieur du thorax (ganglions mammaires internes) (**Channell ; 2019**).

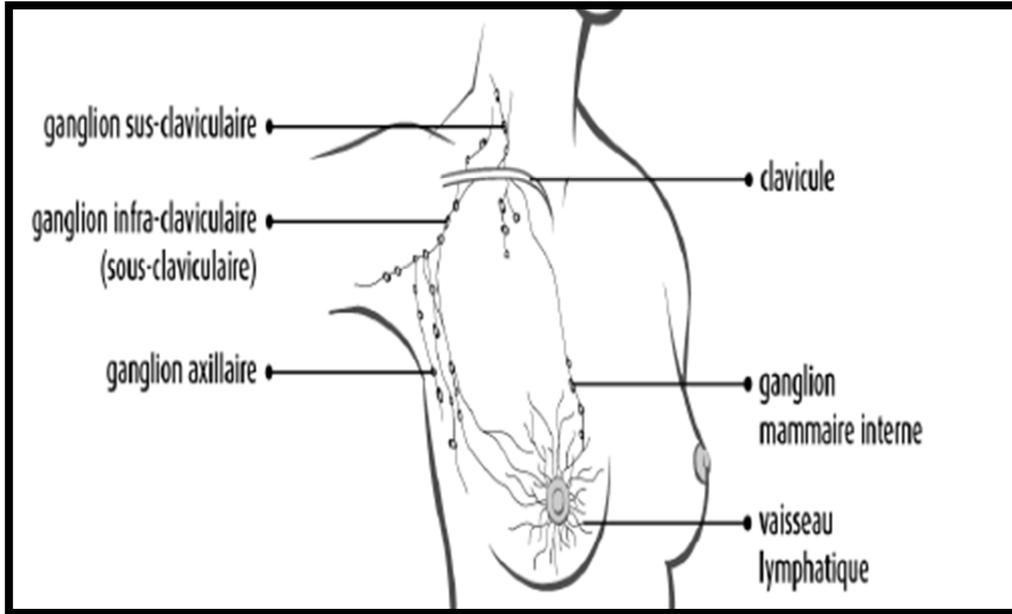


Figure 02 : les ganglions Lymphatiques (Kari, 2017).

- **Innervation :**

Les téguments du sein contiennent tous les extérocepteurs cutanés. l'aréole et le mamelon contiennent un plexus nerveux intradermique très dense possédant des corpuscules génitaux.

La sensibilité du sein est garantie par des nerfs cutanés, on distingue deux groupes de nerfs :

- Nerfs superficiels cutanés issus des plexus cervical, brachial et des nerfs intercostaux
- Nerfs profonds

Les informations sensibles sont véhiculées par les nerfs intercostaux jusqu'à la colonne dorsale de la moelle spinale où ils font synapse (**Brettes et al., 2007**).

Pendant l'allaitement, lorsque le bébé tète, la succion stimule les terminaisons nerveuses, un message est envoyé donc au cerveau, cette stimulation du mamelon et de l'aréole par le bébé est responsable de la sécrétion des hormones de la lactation par l'hypothalamus (**Beudry & Chiasson, 2006**).

3. La physiologie du sein

L'architecture de tissu sécréteur ou parenchyme de la glande mammaire est constitué d'un ensemble de lobe subdivisé en lobules eux même formés d'acini où la fonction sécrétrice est assuré , ces acini se connectent à des canaux rejoint au niveau du mamelon , tout se système est organisé autour d'un arbre galactophorique répartis dans tout le tissu fibreux et le tissu adipeux pour former la masse principale du sein , Cette structure reste primitive et atrophique chez l'homme car il n'y a pas de besoin physiologique de production de lait .

Le développement de la glande mammaire au coure de différents stades de la vie d'une femme est l'aboutissement d'un long processus de multiplication et de différenciation des cellules souche au niveau du parenchyme et du stroma en tissu mammaire, débuté de la vie foetale jusqu'à la ménopause étape par étape chacune de ces étape est contrôlée par l'association d'hormones dans les rapports des concentrations bien définie est agissant de manière séquentielles (**Hélène & Djiane, 1988**).

Le développement du sein pendant la vie foetale jusqu'à la naissance ne dépend pas des hormones sexuelles, il est exposé aux hormones placentaire qui stimulent la croissance des premières ébauches de la glande mammaire, cette dernière reste rudimentaire jusqu'à la naissance et se limite à quelque canaux dépourvus d'alvéoles qui se terminent par des bourgeons constitués de cellules épithéliales.

Au début de la puberté et sous l'influence des hormones stéroïdes ovariennes œstrogène et progestérone en association avec les hormones de croissance telle que le GH et les corticostéroïdes pour provoquer la croissance de l'épithélium canalaire et le stroma en conjonction avec le développement des alvéoles, les canaux d'épithélium commencent à s'allonger et pénètrent la couche lipidique de tout le sein ce qui entraine une augmentation de sa taille.

Le sein pendant la grossesse atteint son développement maximal en préparation à l'allaitement à cause d'une augmentation significative des taux de progestérone et d'œstrogène qui provoquent tous les deux une sécrétion des taux plus élevé de prolactine qui agit pour stimuler la <<Mammogenèse>>, ce qui conduit à une croissance marquée du système lobulo-alvéolaire qui prend la place du tissu adipeux.

Au période de lactation, la progestérone et l'œstrogène chutent rapidement à des niveaux très bas contrairement à la prolactine qui reste à des niveaux élevés ; plus l'ocytocine comme compagnon agissent de manière intégrée pour permettre la "lactogènese" Au cours de la ménopause le corps de la femme subit des changements morphologiques dont le sein, tous ces

changements étant étroitement liés à la perte d'hormones stéroïdes, Ce manque de stimulation hormonale se traduit par une atrophie de la glande mammaire par diminution progressive de la quantité de tissu glandulaire et une augmentation du tissu adipeux dans le sein (Verbeke, 2010).

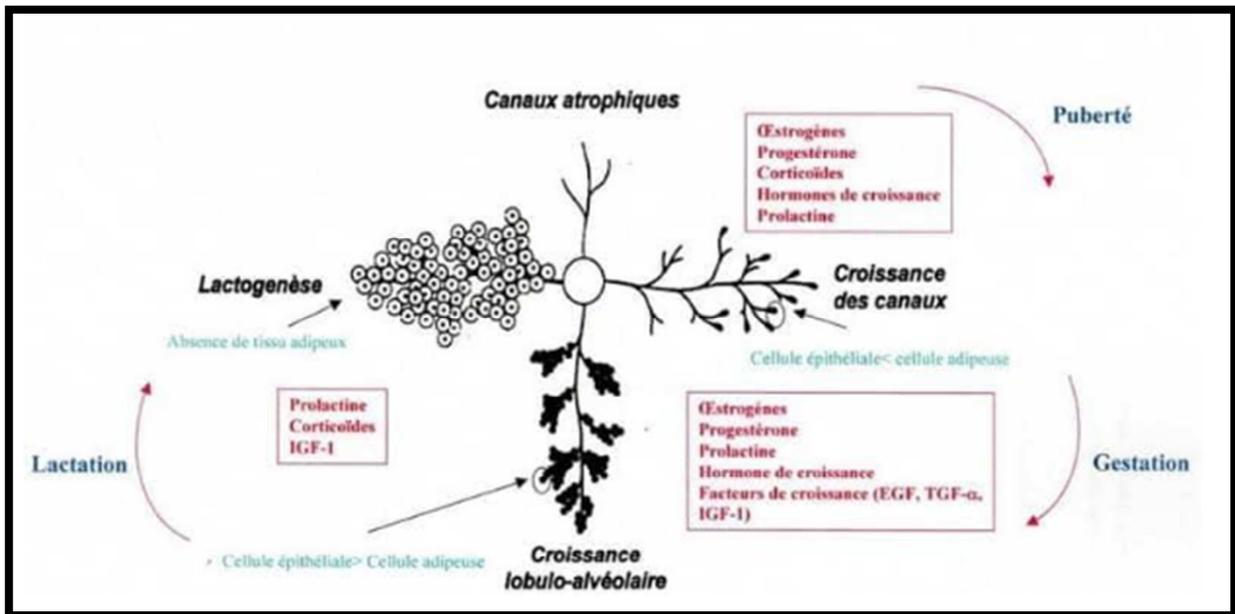


Figure 03 : Représentation schématique du développement de la glande mammaire (Laud, 1999).

Chapitre II

Le cancer du sein

1. Le cancer du sein

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme et la deuxième cause de décès parmi tous les cancers. Il se développe à partir des cellules initialement normales qui constituent la glande mammaire. Ces cellules se transforment et se multiplient de façon anarchique et excessive par des mutations ou des instabilités génétique (anomalie cytogénétique) pour former une masse cellulaire appelée tumeur maligne (**National Cancer Institute, 2018 ; Corgne, 2016**).

2. Epidémiologie

2.1 Epidémiologie descriptive

Les dernières statistiques mondiales affirment quelque résultat pour le cancer du sein :

Dans le monde

D'après les résultats annoncés en 2020, Le nombre de cas de cancer du sein dans le monde est de 2261419 soit un pourcentage égal à 11.7% et un taux de mortalité par cette maladie égale à 6.9% soit 9958133 cas.

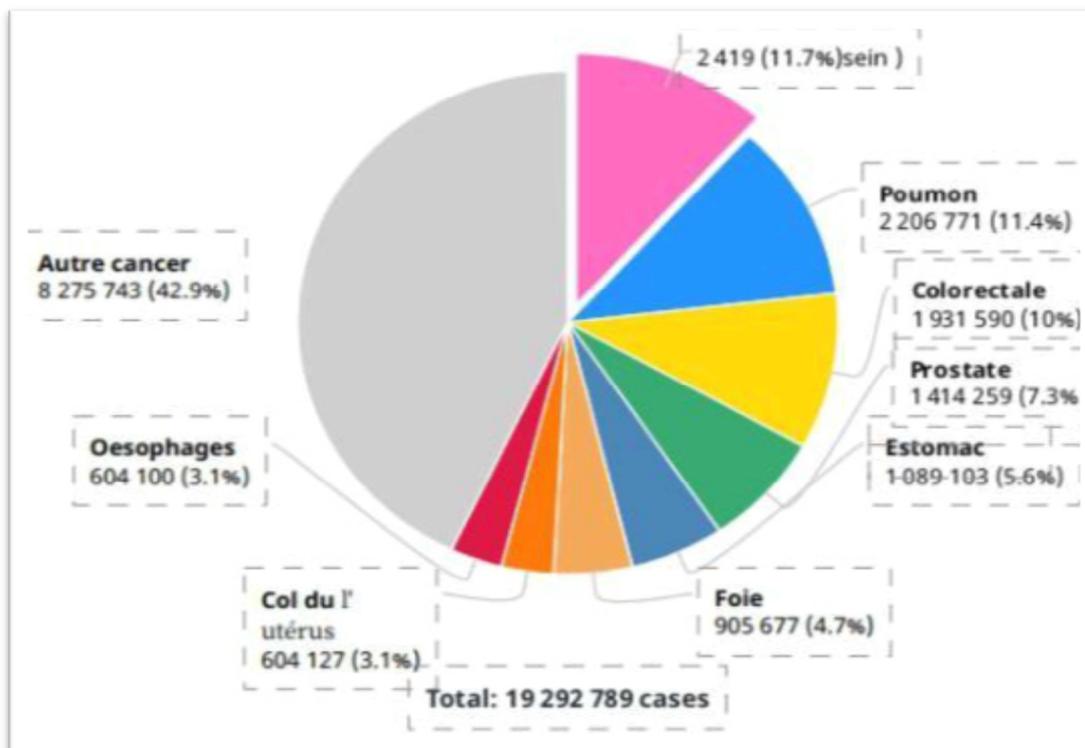


Figure 04 : le nombre de cas en 2020, deux sexes, tout âge (Cancer today, 2020)

En Afrique

Les résultats diffèrent selon la région, le pourcentage dans le nord africain est de 49.5% et la mortalité est de 18.8%, par contre dans le sud ou la vrai Afrique en trouve 50.4 % de cas.

Dans l'est et le milieu africain, les pourcentages sont presque égaux et sont de 33% dans l'est et de 32% et dans le milieu.

Tableau I : Les statistiques d'incidence et de mortalité du cancer du sein (Cancer today, 2020)

	Incidence						Mortalité					
	deux sexes		Males		Females		Deux sexes		Males		Females	
	Nouveau cas	Risque 0-74 (%)	Nouveau cas	Cum. risque 0-74 (%)	Nouveau cas	Cum. risque 0-74 (%)	Morts	Cum. risque 0-74 (%)	Morts	Cum. risque 0-74 (%)	Morts	Cum. risque 0-74 (%)
Ouest Africain	45 709	3.57	-	-	45 709	0.74 (%)	24 047	0.74 (%)	-	-	24 047	0.74 (%)
Centre Africain	17 896	3.40	-	-	17 896	3.40	9 500	1.93	-	-	9 500	1.93
Nort africain	57 128	5.12	-	-	57 128	5.12	21 524	1.89	-	-	21 524	1.89
Sud Africain	16 526	5.37	-	-	16 526	5.37	5 090	1.70	-	-	5 090	1.70
Est africain	49 339	4.49	-	-	49 339	4.49	25 626	2.47	-	-	25 626	2.47
Caribbe	14 712	5.48	-	-	14 712	5.48	5 874	2.00	-	-	5 874	2.00
Centre américaine	38 916	4.23	-	-	38 916	4.23	10 429	1.16	-	-	10 429	1.16
Sud Américain	156 472	6.14	-	-	156 472	6.14	41 681	1.50	-	-	41 681	1.50
Nord Américain	281 591	9.71	-	-	281 591	9.71	48 407	1.36	-	-	48 407	1.36
East Asie	551 636	4.60	-	-	551 636	4.60	141 421	1.13	-	-	141 421	1.13
Sud est asie	158 939	4.46	-	-	158 939	4.46	58 670	1.65	-	-	58 670	1.65
Sud central Asia	254 881	2.88	-	-	254 881	2.88	124 975	1.50	-	-	124 975	1.50
Ouest asie	60 715	5.00	-	-	60 715	5.00	20 943	1.73	-	-	20 943	1.73
Centre et East Européenne	158 708	6.28	-	-	158 708	6.28	51 488	1.75	-	-	51 488	1.75
Ouest Européenne	169 016	9.69	-	-	169 016	9.69	43 706	1.65	-	-	43 706	1.65
Southern Europe	120 185	8.45	-	-	120 185	8.45	28 607	1.44	-	-	28 607	1.44
Nort Européenne	83 177	9.35	-	-	83 177	9.35	17 964	1.45	-	-	17 964	1.45

En Algérie

Le pourcentage total des cas en Algérie est 21,5% pour les deux sexes mais pour les femmes seulement, il est de 40,3%.

2.2 Epidémiologie analytique

Bien que certains facteurs de risque du cancer du sein soient connus, ce cancer est considéré comme une maladie multifactorielle parce qu'il reste plusieurs facteurs inconnues et les causes exactes du cancer du sein ne sont pas bien élucidées.

2.2.1 L'âge et sexe

L'âge est le facteur de risque le plus important du cancer du sein, l'âge moyen de survenue de cancer du sein est de 55 ans. Le cancer du sein est beaucoup plus agressif chez une femme jeune que chez une femme ménopausée. C'est un cancer quasi exclusif de la femme. Il est 100 fois moins fréquent chez l'homme (Espié et al., 2012).

2.2.2 *Les facteurs hormonaux endogènes*

La puberté et la ménopause

La survenue des premières règles avant l'âge de 12 ans augmente le risque de cancer du sein, aussi les femmes qui ont leur ménopause après 55 ans.

La nulliparité

Parmi les premiers facteurs qui favoriseraient la survenue du cancer du sein, la nulliparité, ce risque a été prouvé par une comparaison des femmes qui n'ont pas eu d'enfant et les femmes qui ont eu au moins une grossesse chez qui le risque de cancer est réduit de 25%.

Plus l'âge de la première grossesse est jeune plus la protection est grande, dans ce cas la différenciation des glandes mammaires est ensuite moins sensible à l'effet de divers carcinogènes et l'inverse, plus la grossesse est tardive plus le risque de cancer est supérieur que celui des femmes nullipares.

L'allaitement

Les dernières études montrent que l'allaitement a un rôle protecteur contre le cancer du sein (diminution de 4% pour chaque année d'allaitement), cette protection est due à la sécrétion de la prolactine dans la période anovulatoire avec une sécrétion des œstrogènes.

2.2.3 *Les facteurs exogènes*

Contraceptifs oraux

Malgré les recherches menées sur ce sujet depuis 60 ans, aucune affirmation sur la relation entre le cancer et les contraceptifs n'a été établie. Certaines études retrouvent un risque de l'ordre de 1.5 chez les femmes jeunes ayant utilisé des CO pendant 5 ans.

Traitement hormonal substitutifs (THS)

Un grand nombre de chercheurs ont estimé que le traitement hormonal substitutif de la ménopause, s'il est associé avec un œstro-progestatif, augmente le risque de cancer du sein post-ménopausique. Le risque est lié à la durée d'utilisation du traitement.

2.2.4. *Les caractéristiques staturale-pondérale, la nutrition et la sédentarité*

- Le poids : plus le poids est élevé plus le risque d'atteinte par le cancer du sein est élevé aussi.

- Une alimentation riche en graisse et la consommation d'alcool
- l'activité physique : les femmes qui pratiquent une activité physique régulière ont un risque réduit par rapport aux femmes sédentaires (**Sancho & Colona, 2019**).

3. Cancérogénèse et développement tumoral

Une tumeur cancéreuse correspond à une prolifération anormale de certaines cellules, elles se divisent de manière incontrôlée et vont échapper à toute régulation. L'apparition d'une tumeur cliniquement détectable résulte d'une accumulation d'évènements génétiques altérant le fonctionnement de certains gènes contrôlant la prolifération et la division de la cellule normale. Différentes étapes ont été identifiées (initiation, promotion et progression) pour rendre compte de la conversion progressive d'une cellule normale en cellule malignes.

La cancérogénèse débute par l'étape d'initiation, au cours de laquelle l'information génétique d'une cellule est modifiée (une lésion au niveau de l'ADN), cette altération génétique irréversible peut être endogène (erreurs au cours de la réplication de l'ADN) ou exogène par un agent cancérogène physique ou chimique. Les cellules initiées échappent au contrôle normal de la division cellulaire (inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs). La cellule initiée n'est pas encore considérée comme une cellule cancéreuse car elle n'a pas encore acquis une autonomie de croissance (**Antonie et al., 2010**).

La phase de promotion est une phase longue et réversible, elle est caractérisée par l'expansion clonale sélective des cellules initiées par l'induction de la prolifération et/ou l'inhibition de l'apoptose. La promotion se caractérise par le maintien des modifications génétiques au sein de la cellule et par la sécrétion de promoteurs tumoraux tels que des cytokines, des facteurs de croissance au niveau de l'environnement tumoral. Chaque fois que la cellule se divise, elle réplique son matériel génétique, l'accumulation des mutations rend les cellules anormales et elles deviennent malignes mais pour l'instant localisée (cancer in situ) (**Mongaret&Sautou, 2016**).

Enfin, une dernière étape dite de progression se caractérisant par l'acquisition progressive de caractéristiques de plus en plus malignes, les cellules deviennent autonomes, acquièrent la capacité d'envahir les tissus voisins et de migrer.

Pour survivre, la tumeur cancéreuse induit la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, ils

vont lui fournir l'oxygène et les nutriments, ce que l'on appelle « néo angiogénèse » le cancer n'est plus localisé et devient invasif (Monier&Tubiana, 2008).

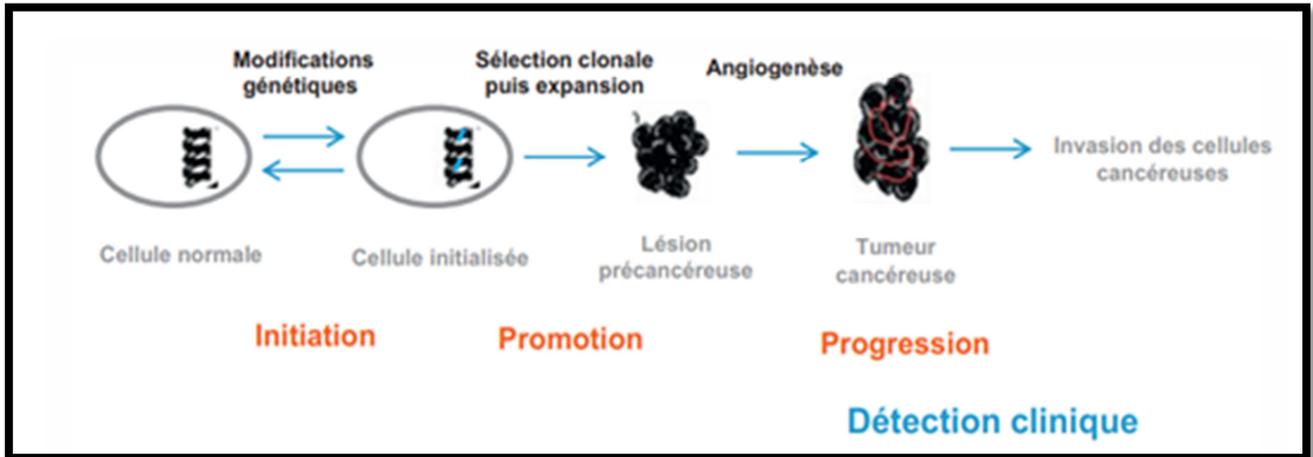


Figure 05 : Différentes étapes de la cancérogénèse (Mongaret&Sautou, 2016).

4. Les types histologiques du cancer du sein

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui se développe à partir des cellules épithéliales du sein. Principalement, le cancer du sein se présente sous la forme d'un adénocarcinome (le cancer du tissu glandulaire) parfois la tumeur maligne du sein se présente sous la forme d'un sarcome (cancer du tissu conjonctif) (Tchokonté, 2014). Au début, les cellules cancéreuses sont contenues dans le canal ou le lobule, c'est le cancer in situ. Lorsque les cellules cancéreuses se développent et franchissent la membrane basale, on parle de cancer invasif (infiltrant).

4.1 Les carcinomes in situ

- **Le carcinome canalaire in situ (CCIS)**

Est le plus fréquent parmi les formes de carcinomes non infiltrant. Il correspond à la prolifération de cellules malignes des canaux galactophores sans franchissement de la membrane basale mais peut évoluer vers un cancer infiltrant. Plus de 90% des CCIS sont diagnostiqués par la mammographie essentiellement par la découverte de foyers de micro calcifications (Cutuli, 2019).

- **Le carcinome lobulaire in situ (CLIS)**

Ou bien "néoplasie lobulaire", est d'un diagnostic clinique et radiologique difficile. Il se développe dans les canalicules intra-lobulaires qui sont comblés et distendus par une prolifération de cellules peu jointives sans envahissement du tissu conjonctif voisin. C'est une maladie d'évolution très lente et dans un certain nombre de cas, il évolue vers un cancer invasif (Espié et *al.*, 2005).

4.2 Les carcinomes infiltrants

- **Le carcinome canalaire infiltrant (CCI)**

Le type de cancer le plus fréquent, les cellules se propagent en dehors des canaux mammaires pour envahir les tissus voisins. Le diagnostic mammographique des CLI est considéré comme plus difficile. En effet, le CLI peut infiltrer le tissu mammaire de façon importante, tout en respectant son architecture, sans former de masse ni provoquer de fibrose.

- **Le carcinome lobulaire infiltrant (CLI)**

Une tumeur mal limitée, constituée de petites cellules avec un pléiomorphisme nucléaire peu marqué, non-cohésives, isolées ou en file indienne. Ces cellules infiltrent le tissu adipeux et réalisent, autour des canaux galactophoriques, des images typiques en cible (Paumier et *al.*, 2005).

Les sous-types spécifiques les plus courants comprennent le carcinome invasif lobulaire, tubulaire, cribiforme, métaplastique, apocrine, mucineux, papillaire et micro papillaire, ainsi que le carcinome médullaire, neuroendocrinien, et des glandes salivaires/ annexielles de la peau. Ces types de tumeurs spécifiques sont définis par leur morphologie, mais sont également liés à des caractéristiques cliniques, épidémiologiques et moléculaires particulières (Hans, 2013).

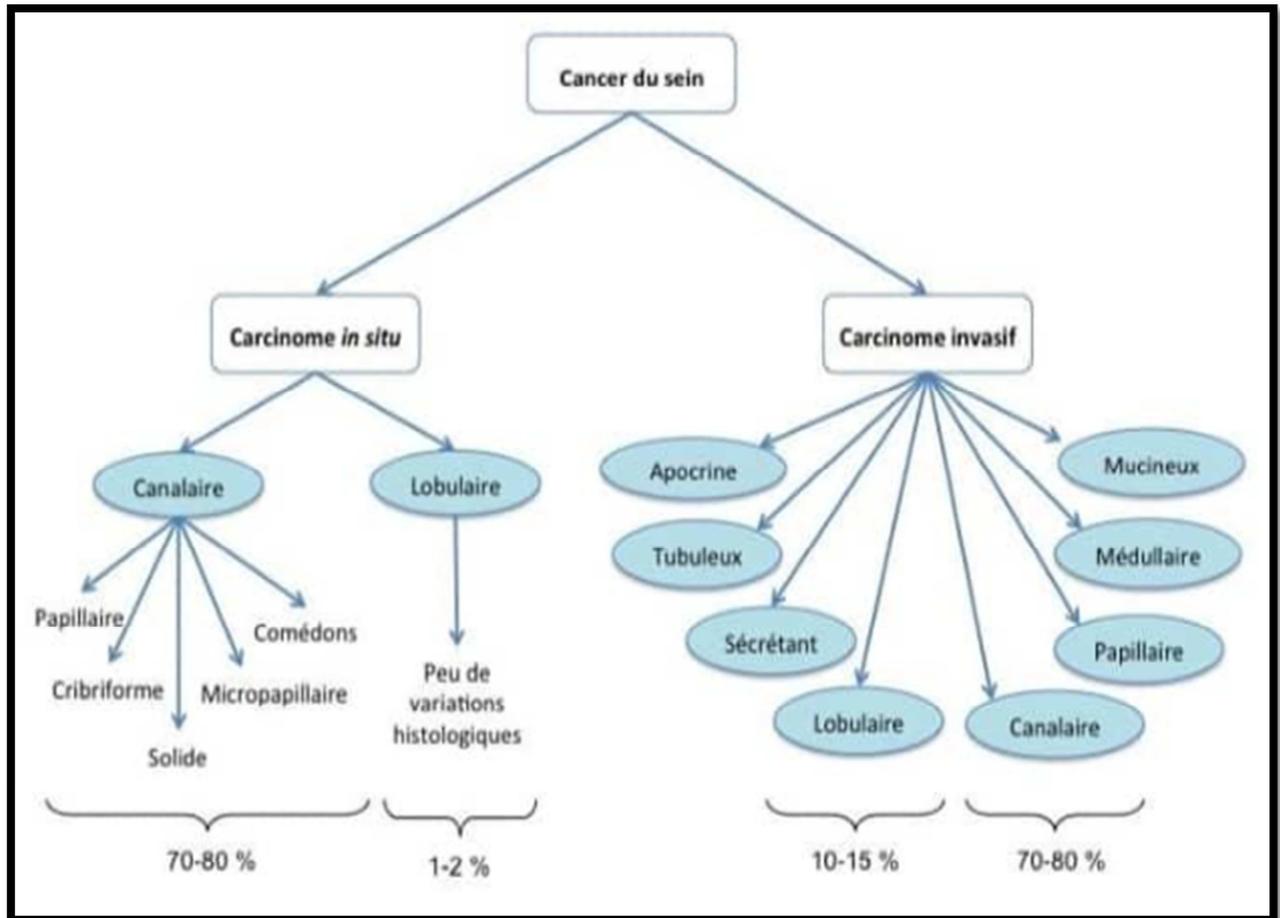


Figure 06 : Les différents sous-type d'adénocarcinomes mammaires (Malhotra et al., 2001).

5. Classification histologique

5.1. Classification TNM

La classification TNM proposée par « Pierre De noix » a été retenue comme la base de classifications par le comité de nomenclature et de statistique de l'UICC (union internationale contre le cancer). Elle est basée sur le principe de l'extension anatomique déterminé par la clinique et l'histologie (Puddu & Tafforeau, 2005). Elle permet de regrouper les tumeurs en groupe homogène sur un plan pronostic et thérapeutique. Elle classe les cancers selon leur taille (T), le statut ganglionnaire (N) et la présence de métastases (M). A partir de ce trépied, les résultats TNM sont regroupés en différents stades liés au pronostic : plus le stade est élevé, plus le pronostic est mauvais. Il existe plusieurs classifications TNM : une basée sur les données de l'examen clinique (cTNM), une sur les résultats anatomo-pathologiques (pTNM)

et d'autres pour les cancers traités par un traitement systémique premier (**Tardivon et al., 20017**).

5.2 La classification du grade (SBR)

Le classement histologique du carcinome mammaire a été suggéré pour la première fois en 1957 par « Scarff Bloom Richardson ». Au départ, il ne faisait pas partie intégrante de l'évaluation histologique du carcinome mammaire, car, on pensait que le classement était difficile à réaliser et non reproductible. Mais, les résultats de recherches ont montré que les facteurs pronostiques histo-morphologiques les plus importants pour les patientes atteintes d'un carcinome mammaire étaient le type histologique et le grade nucléaire. En 1994 l'application histologique des tumeurs de (SBR) a évolué aux aspirats de FNA du sein. Le grade histologique (SBR) permet de déterminer le degré d'agressivité d'une tumeur et repose sur trois caractéristiques : la formation de tubule, le pléomorphisme nucléaire et le compte de mitose.

- ✓ Grade I (bas grade) : 3-5
- ✓ Grade II (grade intermédiaire) : 6-7
- ✓ Grade III (haut grade) : 8-9 (**Pujani et al., 2014**).

6. Les symptômes

Pratiquement le premier signe du carcinome mammaire est toujours une seule tuméfaction palpable. La femme va découvrir une masse dans l'un de ses seins, la plupart du temps pas douloureuse. Il est possible que le cancer du sein ne cause aucun signe aux tout premiers stades de la maladie. Divers changements au niveau du sein peuvent s'observer :

- Une masse indolore au niveau du sein, une masse sous l'aisselle et un écoulement du mamelon étaient les symptômes les plus fréquemment identifiés.
- Rétraction cutanée, rougeurs, gonflement du sein, rétraction du mamelon.
- Changement de forme du sein, modification de sa taille (**Mirez et al.,2002**).

Même si les symptômes ne signifient pas forcément qu'il s'agit d'un cancer du sein, il est important de le détecter le plutôt possible.

Comme signes tardifs apparaissant souvent : la rétraction du mamelon, la rougeur et les douleurs osseuses, la fatigue et les troubles de la vision. Les symptômes tardifs sont occasionnés par la présence de métastases éloignées (**Khakbazan et al., 2014**).

7. Dépistage

Dépister c'est-à-dire découvrir ce qui est caché. Le dépistage du cancer du sein est la recherche par un examen systématique chez une femme asymptomatique d'anomalie traduisant une maladie débutante.

Le dépistage intervient dans la phase préclinique appelée « sojourn time » où la maladie n'est pas encore symptomatique mais détectable, l'objectif de la détection précoce par le dépistage est de prévenir ou de retarder la maladie ou atténuer ces conséquences, aussi, il permet de réduire la gravité et la mortalité. En cas d'anomalie, le dépistage permet de prendre en charge les femmes immédiatement.

- Les critères de participation au dépistage organisé du cancer du sein sont :
 - les femmes porteuses d'une mutation constitutionnelle (prédisposant au cancer du sein)
 - les femmes ayant des antécédents personnels ou familiaux ou ayant des facteurs de risque
 - toutes les femmes âgées de 50 à 74 ans (**Puddu&Tafforeau, 2005**).

7.1 L'examen du sein

7.1.1 Interrogatoire

On interrogera la patiente sur les antécédents familiaux, en faisant préciser le degré de parenté, on s'intéressera aussi aux antécédents personnels mammaires, au statut hormonal. C'est le dépistage du cancer du sein selon les facteurs de risque.

7.1.2 Inspection

L'observation attentive permettre de déceler parfois une légère rétraction de la peau ou du mamelon et aussi une asymétrie des seins. L'examen clinique s'effectue sur une patiente en position assise ou debout, les bras le long du corps avec un éclairage adapté et orientable.

7.1.3 La palpation

Un examen manuel consiste à tâter le sein en utilisant le plat des mains et des doigts. La palpation bilatérale en miroir des deux seins permet une comparaison droite/gauche. Elle

s'effectue sur une patiente assise ou debout puis couchée en se plaçant toujours du côté examiné (Chapuiss, 2006).

7.2. La mammographie

La mammographie est un examen radiologique des seins. Il permet d'obtenir des images sur un film photographique de l'intérieur du sein à l'aide de rayons x. Il est basé sur l'absorption différentielle des rayons x par les divers constituants du sein. On réalisera deux clichés par sein : un cliché de face et un cliché en oblique, ce qui permet de comparer les deux côtés de chaque sein. Le dépistage peut s'effectuer avec une mammographie analogique ou numérique, l'objectif est de détecter la tumeur de petite taille à un stade précoce pour permettre un traitement efficace.

La mammographie est plus évidente chez les femmes de 50 à 74 ans, mais chez les femmes jeunes, la glande mammaire est mal étudiée parce que l'intérêt de la mammographie est limitée par la forte densité de la glande mammaire qui gêne la lecture de la radiographie, en conséquence les mammographies sont difficiles à interpréter.

La mammographie présente plusieurs inconvénients tels que l'utilisation de rayonnements ionisants qui peuvent provoquer un cancer du sein radio-induit. Le tissu mammaire des jeunes femmes est plus sensible aux effets des radiations que celui des femmes plus âgées (Kennedy et al., 2009).

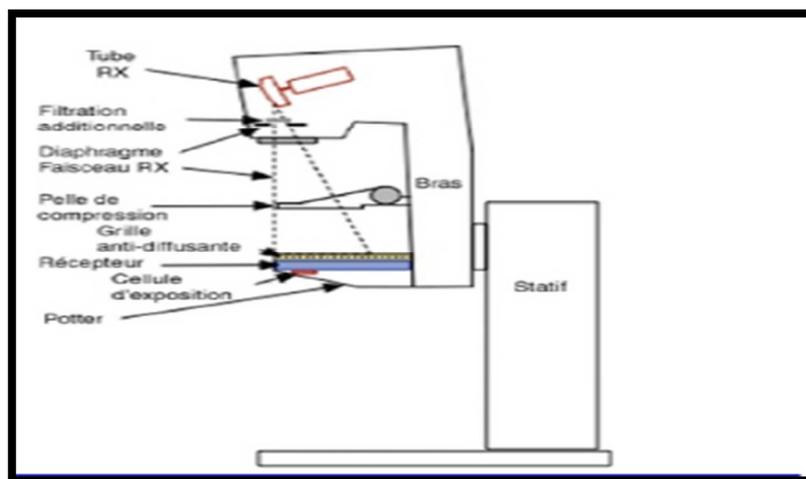


Figure 07 : Schéma d'un mammographe présentant les différentes parties constitutives et leurs positions relatives (Maisonnette & Sautière, 2009)

8. Diagnostic

8.1 Imagerie

8.1.1. *Echographie mammaire*

C'est un examen complémentaire à la mammographie. Il permet de générer des images précises de la partie interne des seins et des ganglions. C'est l'examen de référence lorsque les seins sont denses comme chez les femmes jeunes. Le radiologue applique un gel sur le sein pour faciliter le contact entre la peau et la sonde (Kari, 2017 ; Passildass, 2019).

8.1.2. *La mammographie de diagnostic*

La mammographie de diagnostic est réalisée lorsqu'une anomalie a été détectée au cours d'un examen de dépistage. Cet examen permet de déterminer s'il s'agit d'une anomalie bénigne ou maligne (Puddu&Tafforeau, 2005).

8.1.3. *IRM mammaire*

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) des seins, est la modalité d'imagerie la plus sensible pour la détection du cancer du sein. L'IRM crée une image à différentes sections transversales en appliquant un champ magnétique puissant avec des signaux RF, et un agent de contraste peut être appliqué pour augmenter la résolution de l'image. L'examen est un peu long (une demi-heure) indolore mais désagréable du fait du bruit que fait la machine. L'IRM du sein a été recommandée pour les sujets présentant un risque élevé de cancer du sein ou portant des mutations BRCA (Kinkel, 2017).

➤ **Classification des images**

- **La classification ACR**

Les conclusions apportées par les radiologues reposent sur les données de l'imagerie radiologique et échographique. La classification selon le système (BI-RADS) de l'Américain Collège Of Radiologie (ACR) qui classe les anomalies radiologiques en sept catégories (ACR0 à ACR6) est utilisée pour une meilleure reproductibilité des résultats (Ferrandez & serin, 2006).

Tableau II : la classification ACR (Guennoun et al., 2018).

	Signification et conduite à tenir
ACR 0	Image nécessitant un complément d'imagerie
ACR 1	Mammographie normale
ACR 2	Anomalies bénignes ne nécessitant ni surveillance ni examen complémentaire ➤ Suivi normal (2 ans)
ACR 3	Anomalie probablement bénigne pour laquelle une surveillance à court terme est conseillée (VPP < 2%) ➤ Surveillance rapprochée tous les 4/6 mois pendant 2 ans, si stabilité sur 2 ans et critère bénins = ACR 2
ACR 4	Anomalie indéterminée ou suspecte posant l'indication d'une vérification ➤ Prélèvements à visée diagnostique (VPP 2-95%)
ACR 5	Anomalie évocatrice d'un cancer ➤ Diagnostic histologique (VPP > 95%)
ACR 6	Anomalie correspondant à un cancer prouvé à l'histologie

8.2. Prélèvement

Il existe trois techniques de prélèvement à travers la peau (prélèvement percutané) : la cytoponction, la microbiopsie et la macrobiopsie.

- La cytoponction :

Est réalisée avec une simple aiguille qui permet de prélever quelques cellules au niveau de l'anomalie. Cette technique est rapide et peu douloureuse et ne nécessite pas d'anesthésie

- La microbiopsie :

On utilise une aiguille spéciale qui est pilotée par un "pistolet". L'aiguille est conçue pour couper un échantillon de tissu qui est ensuite ramené en même temps que l'aiguille est retirée. L'examen dure de vingt à trente minutes environ.

- La macrobiopsie :

Pour la macrobiopsie, l'aiguille utilisée est plus grosse et permet d'effectuer des prélèvements plus importants. Les tissus sont coupés puis aspirés dans le corps de l'aiguille.

La durée de l'examen est d'une heure environ. La micro et la macrobiopsie sont réalisées sous anesthésie locale et ne nécessitent pas d'hospitalisation (**Penault, 2014**).

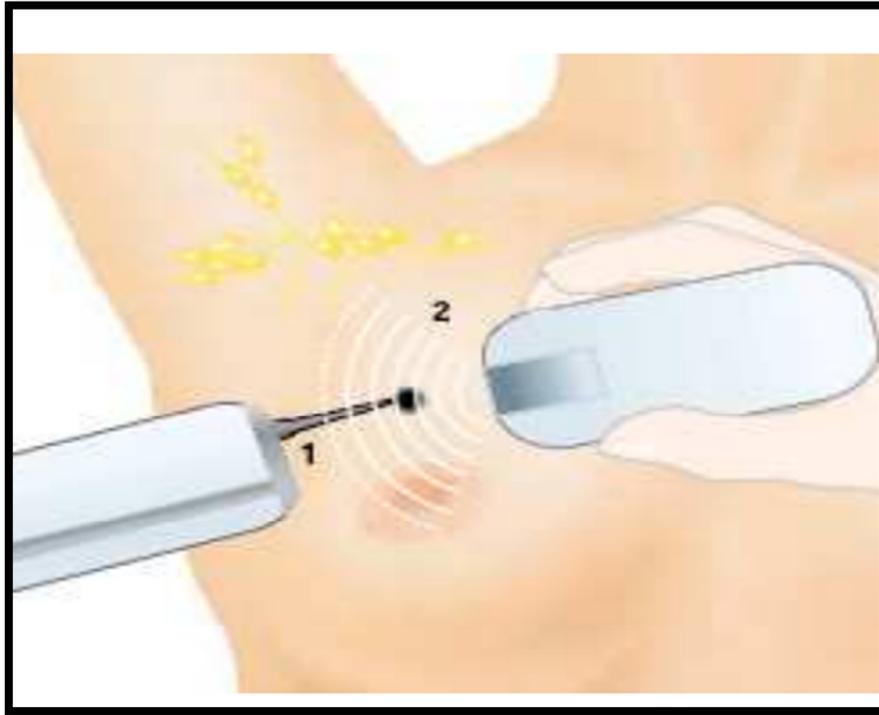


Figure 08 : La méthode de microbiopsie (Maisonnette & Sautière, 2009).

Une fois que le diagnostic du cancer du sein est établi, des analyses complémentaires permettent de caractériser la tumeur selon le type histologique, la présence ou non des différents marqueurs (récepteurs aux œstrogènes, récepteurs à la progestérone, le statut HER2, le pourcentage de l'index de prolifération Ki67) (**Passildas, 2019**). L'examen anatomopathologique est l'étape indispensable au diagnostic. En effet, l'utilisation de divers biomarqueurs est connue comme l'un des aspects importants du suivi des patients atteints de cancer du sein. Les biomarqueurs appropriés pourraient contribuer à une meilleure compréhension des voies cellulaires et moléculaires impliquées dans la pathogenèse du cancer du sein. Ces résultats pourraient aider à concevoir une approche thérapeutique efficace et à surveiller la réponse au traitement chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Le HER2, le récepteur d'œstrogène (ER) et le récepteur de progestérone (PR) pourraient être utilisés pour la classification du sous-typage des tumeurs du sein. L'hormone stéroïde, l'estradiol, joue un rôle essentiel dans l'initiation et la progression du cancer du sein.

8.2.1. *La classification moléculaires*

➤ **Le HER2**

Le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) est l'une des protéines importantes impliquées dans la pathogenèse du cancer du sein. HER2 est un membre de la famille des récepteurs du facteur de croissance épidermique qui possède une activité tyrosine kinase. Ce récepteur pourrait être impliqué dans la régulation de la croissance, de la survie et de la différenciation des cellules en ciblant de multiples voies de transduction du signal. HER2 est le premier marqueur moléculaire utilisé dans le cancer du sein : l'amplification de ce gène (HER2 hyperexprimé) définit un sous-type de cancer associé à une croissance tumorale accélérée, une fréquence plus élevée de récidives et un échec des traitements classiques. La détermination du statut des récepteurs hormonaux et de HER2 est obligatoire pour toutes les tumeurs invasives. Les cancers sur-exprimant le HER2 relèvent d'un traitement à base d'anti-HER2 dont le chef de file est un anticorps monoclonal le trastuzumab.

➤ **Le Ki-67**

Le Ki-67 est une protéine nucléaire et nucléolaire non histone codée par le gène MKI-67 qui se situe sur le chromosome 10q26.2 chez l'homme et qui compte 16 exons au total. C'est une protéine importante qui joue un rôle critique dans la pathogenèse du cancer du sein. Cette protéine est associée à la prolifération cellulaire. Il a été démontré que l'antigène nucléaire Ki-67 pouvait être exprimé dans certaines phases du cycle cellulaire, notamment les phases S, G1, G2 et M, mais qu'il était inexistant dans la phase G0 des cellules quiescentes ou au repos, ce qui suggère son rôle de marqueur de la prolifération cellulaire dans de nombreux cancers. Un indice Ki-67 élevé indique généralement un mauvais pronostic dans les conditions cliniques (Jafari et al., 2017).

➤ **Les récepteurs hormonaux (RH)**

L'œstrogène et la progestérone sont des hormones sécrétées de manière physiologique par les ovaires, principalement entre la puberté et la ménopause. Ces deux hormones exercent leurs actions par liaison aux récepteurs présents à la surface des cellules (récepteurs aux œstrogènes (RE) et récepteurs à la progestérone (RP)). La connaissance de la sensibilité du cancer du sein aux estrogènes est à l'origine de l'hormonothérapie. La sensibilité aux

estrogènes des cellules tumorales se fait par l'intermédiaire des récepteurs d'œstradiol (RE) et de progestérone (RP). La présence dans le tissu tumoral de l'un au moins des deux récepteurs est nécessaire pour définir l'hormonosensibilité de la tumeur. Les RH sont plus fortement exprimés dans les carcinomes lobulaires et canaux bien différenciés et pratiquement absents dans les carcinomes médullaires. Les tumeurs RH+ sont généralement de bas grade et moins invasives (**Gautier, 2019**).

La détermination du statut de récepteurs hormonaux et de HER2 se fait sur le prélèvement qui a servi au diagnostic de cancer, fixé et inclus en paraffine. En cas de négativité du statut de ces marqueurs sur biopsie ou prélèvement de cytologie, il est recommandé de refaire la technique sur la pièce opératoire en raison de la possible hétérogénéité tumorale.

Les cancers du sein luminaux sont enrichis en gènes liés au RE, tels que GATA3, et comprennent un sous-ensemble de carcinomes canaux invasifs sans type particulier, ainsi que certains des sous-types histologiques particuliers, notamment les carcinomes tubulaires, cribriformes et lobulaires. Le développement des techniques moléculaires à haut débit ont permis de mettre en évidence une nouvelle taxonomie des cancers du sein : la classification intrinsèque de « Perou » et ces collègues et de concevoir des signatures moléculaires pronostiques :

Luminal A : Les tumeurs sont RH+/HER2-, elles sont généralement de bas grade.

Luminal B : Les tumeurs sont soit RH+/HER2-, soit RH+/HER2+, sont de grade plus élevé

Cancers dits "triples négatifs" : RE-, RP- et HER- (**Penault, 2014**).

Un indice de prolifération Ki-67 de 13,25 %, arrondi à 14 %, a été suggéré comme le seuil optimal pour distinguer les tumeurs du luminal A des tumeurs du luminal B, les tumeurs du luminal B ayant un indice de prolifération Ki-67 plus élevé (**Carcle, 2017**).

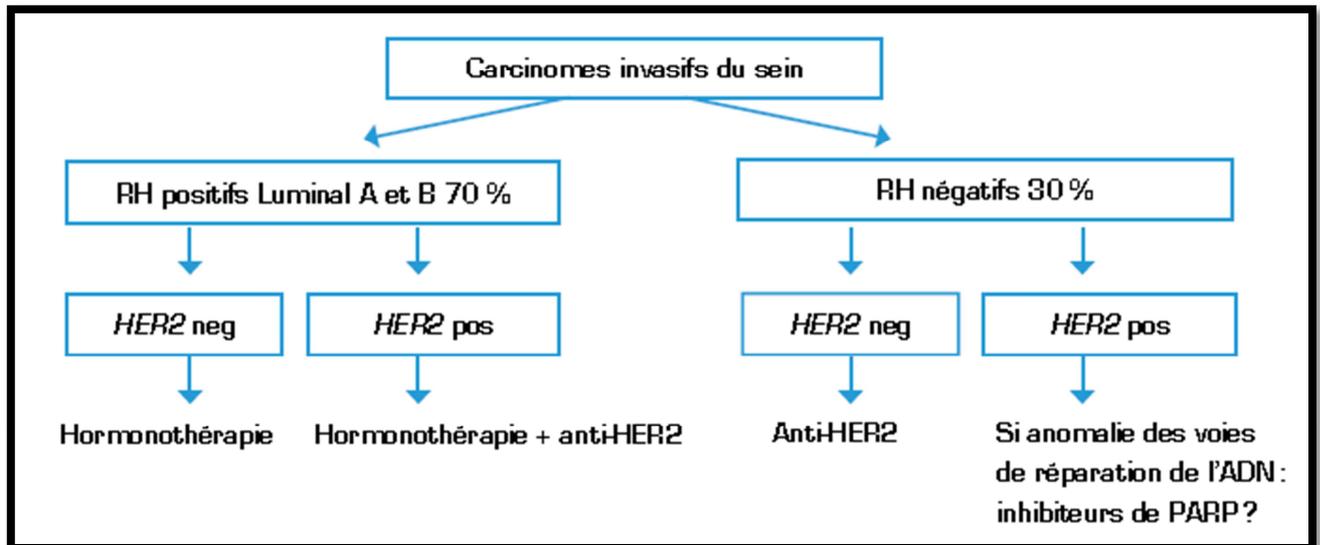


Figure 09 : classification biologique des cancers du sein et thérapies ciblées (Carclé, 2017).

9. Le conseil génétique

Le conseil génétique a pour but d'informer un patient, un couple ou leurs apparentés, sur les risques de transmission d'une affection en raison, le plus souvent, d'antécédents familiaux. La consultation de conseil génétique consiste à donner des informations sur la maladie et établir l'arbre généalogique dans le cadre de l'enquête familiale, il s'agit d'une démarche d'information et de prévention (Malzac, 2000).

Dans la tranche d'âge 25-40 ans, l'influence de l'hérédité dépasse un tiers des cas. La consultation d'oncogénétique et de dépistage précoce des cancers permet de reconnaître un contexte de prédisposition familiale et de mettre en place une stratégie de surveillance ciblée sur cette population de sujets très jeunes. L'arbre généalogique est le point de départ de la consultation, nous nous devons de chercher s'il existe dans la famille des membres atteints ou présentant des signes pouvant évoquer un syndrome suspecté, cela résume de façon visible le contexte familial et donne une vision globale de la famille.

La consultation de génétique est en effet conseillée pour bénéficier d'une meilleure prise en charge médicale. L'utilisation du test génétique en urgence se vérifie particulièrement quand son résultat peut avoir un impact sur le choix des modalités du traitement chirurgical ou des conséquences sur le traitement médical de la patiente. Les progrès technologiques les plus récents permettent aujourd'hui de rechercher des mutations sur plusieurs gènes de façon simultanée. Ces nouvelles techniques comme le séquençage à haut débit ou de nouvelle génération (Next generation sequencing : NGS) a rapidement trouvé sa place dans le

diagnostic génétique, Il devrait permettre l'identification de nouveaux gènes de prédisposition au cancer du sein et de préciser le rôle de certains gènes « candidats ». Les personnes ayant été informés de la présence d'une mutation BRCA1/2 dans la famille pourrait bénéficier de mesures de surveillance et de prévention efficaces (Cohen, 2019).

10. Traitement

Après une série d'examens complémentaires de diagnostic et de dépistage qui permet la détection de la maladie, le traitement est basé sur l'exposition des patientes atteintes d'un cancer du sein à une approche multidisciplinaire qui intervient de manière intégrée dans la prise en charge de la maladie pour parvenir à une décision thérapeutique associée et adaptée généralement au stade de la maladie, au type et taille de la tumeur de chaque patiente, en tenant compte de son bilan complet de l'état de santé et sa préférence personnelle qui a été discutée lors d'une consultation spécifique. Le traitement comprend en générale une chirurgie associée à une radiothérapie visant à contrôler la maladie dans le sein, les ganglions lymphatiques et les régions voisines (traitement locorégional), ainsi qu'un traitement systémique (médicaments contre le cancer administrés par voie orale ou intraveineuse) parmi les médicaments figurent les traitements endocriniens chimiothérapie, hormonothérapie, et dans certains cas, la thérapie biologique ciblée (anticorps) visant à traiter les métastases et/ou à réduire le risque de propagation du cancer. Ces différents traitements sont souvent combinés et peuvent être très efficace et offrir une probabilité de survie élevée en particulier si la maladie est détectée précocement (National Cancer Institute, 2018).

10.1 .Traitements locorégionaux

10.1.1 La Chirurgie.

La chirurgie est le traitement de référence de la plupart des cancers du sein. Elle consiste lors d'une intervention chirurgicale à enlever la tumeur et les éventuelles greffes cancéreuses, elle est le plus souvent réalisée en premier après le diagnostic, d'ailleurs c'est le seul traitement qui peut être réalisé et suivie d'une chimiothérapie et /ou d'une hormonothérapie et /ou d'une radiothérapie. Ces traitements complémentaires de la chirurgie sont dits adjuvants destinés à réduire la taille de la tumeur avant l'opération pour améliorer l'efficacité. L'intervention chirurgicale vise à enlever uniquement la tumeur et les cellules qui l'entourent par une chirurgie mammaire conservatrice, appelée « tumorectomie » qui a pour but de préserver le reste du sein, ou bien par une intervention qui consiste à enlever la totalité du sein par une chirurgie mammaire non conservatrice, appelée « mastectomie », Dans ce cas, il est également

nécessaire de retirer un ou plusieurs ganglions lymphatiques par curage axillaire (exérèse du ganglion sentinelle) pour préciser si la tumeur s'étend au-delà du sein, déterminer si un traitement complémentaire par chimiothérapie ou hormonothérapie est nécessaire ou si une radiothérapie des ganglions est justifiée. Le curage ganglionnaire, quand il est nécessaire, permet de réduire le risque de récurrence (Morère et al., 2011 ; Jahanmohan, 2019).

10.1.2. La radiothérapie

La radiothérapie occupe une place essentielle dans le traitement locorégional du cancer du sein. Elle permet de détruire d'éventuelles cellules cancéreuses microscopiques qui n'auraient pas été retirées par la chirurgie par l'utilisation des radiations à haute énergie dirigées précisément sur la zone à traiter, tout en préservant le mieux possible les tissus sains et les tissus avoisinants et est donc systématique en cas de tumorectomie. La façon dont la radiothérapie est administrée dépend du type et du stade du cancer, elle est habituellement effectuée après la chirurgie mais également en fin de traitement après la chimiothérapie adjuvante, soit à partir d'une source externe de rayonnement dirigés vers la zone à traiter (radiothérapie externe) soit à partir d'une source radioactive placée à l'intérieur du corps à proximité des cellules cancéreuses (radiothérapie interne ou curiethérapie). Ce traitement dure en générale cinq semaines à raison de quatre à cinq séances de quelques minutes par jour ; elle peut entraîner une rougeur locale et exceptionnellement une brûlure ce qui nécessite au préalable de repérer les zones à irradier (Hennequin et al., 2016 ; National Cancer Institute, 2018).

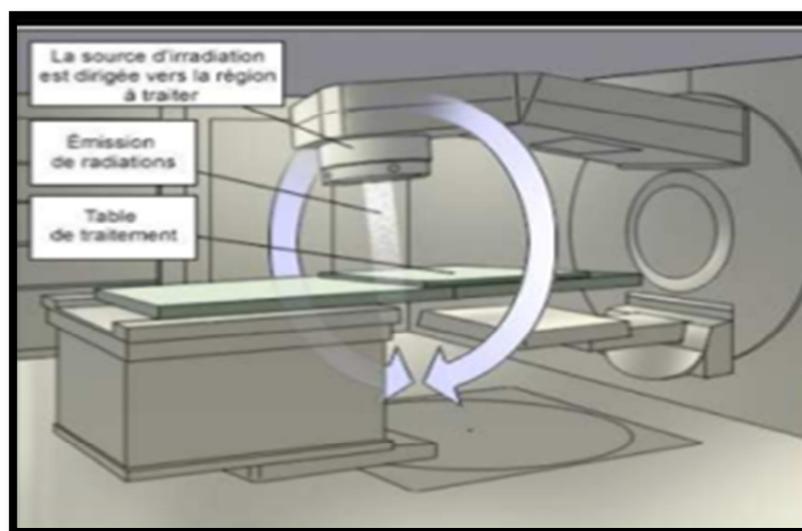


Figure 10 : La radiothérapie (Maisonnette & Sautière, 2009).

10.2. Traitement systémiques

10.2.1. *La Chimiothérapie*

La chimiothérapie est un traitement médicamenteux qui consiste en l'utilisation des substances chimiques anticancéreuses souvent prise par perfusion intraveineuse agissant sur les mécanismes de la division cellulaire et visant à empêcher les cellules cancéreuses de proliférer dans l'ensemble du corps et provoqué leur mort par apoptose. Plusieurs séances de chimiothérapie pendant une certaine période de temps sont nécessaires pour détruire toutes les cellules, cette succession de cycles peut être administrée avant la chirurgie en situation néo-adjuvante qui a pour but de réduire la taille de la tumeur trop volumineuse pour être opérée d'emblée et de permettre une éventuelle chirurgie conservatrice dans un deuxième temps, mais le plus souvent, elle est prescrite après la chirurgie en situation adjuvante, pour réduire le risque de développer des métastases et limiter le risque de récurrence espérant d'augmenter les chances de guérison (Morère et al., 2011 ; Fondation ARC pour la recherche sur le cancer, 2020 ; Jahanmohan, 2019).

10.2.2. *L'hormonothérapie*

Les cellules cancéreuses de certaines tumeurs du sein hormonosensibles ont pour caractéristique de posséder des récepteurs situés sur leur surface spécifiques aux hormones stéroïdiennes féminines (œstrogène et progestérone), la liaison qui se produit entre ces hormones et leurs récepteurs sur les cellules est capable de stimuler la croissance de ces cellules cancéreuses, l'hormonothérapie intervient alors comme un élément-clé dans l'approche thérapeutique des cancers du sein hormono-dépendants. En principe ce traitement est administré par l'intermédiaire des inhibiteurs qui permettent soit de bloquer l'action de ces hormones au niveau des récepteurs hormonaux des cellules tumorales. Il est généralement prescrit aux femmes non ménopausées, soit d'empêcher leur production par une intervention chirurgicale (ovariectomie) ou médicalement par la prise d'agonistes de la LH-RH prescrits aux femmes ménopausées. L'hormonothérapie vient le plus souvent compléter un premier traitement (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie...) en situation adjuvante lors d'une rechute de la maladie (Morère et al., 2011 ; national cancer institut, 2018 ; institut curie, 2020).

10.2.3. Les thérapies ciblées

Les thérapies ciblées forment une classe innovante des traitements médicamenteux contre le cancer du sein qui agissent spécifiquement sur les cellules cancéreuses en ciblant leurs caractéristiques propres qui sont représentées par leurs récepteurs hormonaux , leur code génétique ou leurs composés internes. Ainsi, ce type de traitement peut empêcher les cellules cancéreuses de se diviser, de se développer et de se propager en bloquant la transmission de l'information et de stopper la formation de vaisseaux sanguins autour de la tumeur. Ils cherchent comme leur nom l'indique à cibler ces spécificités afin de limiter leur action aux cellules cancéreuses sans nuire aux cellules saines ,l'administration de ces traitements n'est efficace que si la tumeur est porteuse de la cible que le médicament tente de bloquer avant d'initier une thérapie ciblée ce qui nécessite de faire des tests complémentaires pour orienter le choix du traitement qui est pris sous forme de comprimés par voie orale ou sous forme d'injection intraveineuse ou sous-cutanée pour une durée qui dépend généralement du type de cancer , du type de médicament et de l'état de santé de la patiente (**Cler, 2016 ; Faure ,2015 ; National Cancer Institute, 2018**).

10.2.4. L'immunothérapie

Le système immunitaire a pour rôle de protéger l'organisme et détruire les particules étrangères, comme les bactéries ou les virus, ainsi que les cellules anormales, comme les cellules cancéreuses qui parviennent à déjouer le système immunitaire pour ne pas être reconnues comme des cellules étrangères ou anormales. Les mécanismes de défense de l'organisme sont alors incapables de cibler ces cellules tumorales .Une nouvelle approche thérapeutique a été développée faisant partie des thérapies ciblées connue sous le nom d'immunothérapie qui intervient pour stimuler plus efficacement les défenses de l'organisme pour qu'ils agissent comme un médicament naturel contre les cellules cancéreuses pour les rendre plus reconnaissable par le système immunitaire , ce traitement repose sur les anticorps monoclonaux, notamment les inhibiteurs de points de contrôle, les anticorps bispécifiques, le transfert adoptif de cellules ou encore la vaccination anti-tumorale. Les médicaments d'immunothérapie sont généralement des perfusions intraveineuses administrées en cycles de 2 à 6 semaines pendant une période allant jusqu'à 2 ans dans un contexte métastatique, et d'une durée plus courte (1 mois à 1 an) pour des indications adjuvantes ou néo-adjuvantes (**Faure, 2015 ; Antoni et al., 2016**).

Chapitre III

La prédisposition génétique au cancer du sein

1. La prédisposition génétique au cancer du sein

Les syndromes de prédisposition héréditaire au cancer du sein représentent 5 à 10% des cancers du sein. La cause la plus probable du cancer du sein est due à des gènes à forte pénétration comme les gènes BRCA1 et BRCA2 et à un certain nombre de gènes à faible pénétration. Les protéines régulées par ces gènes responsables des formes héréditaires sont liées par des mécanismes communs et la perte de fonction augmente l'instabilité génétique (Antonie et al., 2010). Les altérations génétiques en question sont héréditaires et peuvent être transmises de génération en génération. Dans la plupart des cas, il s'agit d'une transmission autosomique dominante : un parent porteur a un risque sur deux de transmettre la prédisposition à chacun de ses enfants, soit 50 %. Il peut s'agir d'une transmission par le père ou par la mère, avec la même probabilité.

En présence d'une mutation BRCA1, les femmes ont un risque à vie de 70-80% de développer un cancer du sein et un risque de 50% de développer un cancer de l'ovaire. Les femmes porteuses d'une mutation BRCA2 ont un risque à vie de 50-60% de développer un cancer du sein et de 30% de développer un cancer de l'ovaire. Ces gènes appartiennent à la famille des gènes suppresseurs de tumeurs pour leur capacité à réparer l'ADN endommagé par un processus connu sous le nom de réparation des cassures double-brin de l'ADN. Par conséquent, une mutation héréditaire de l'un ou l'autre de ces gènes, associée à une perte d'hétérozygotie, prédispose les cellules à l'instabilité chromosomique et augmente considérablement la probabilité de transformation maligne et de développement d'un cancer.

Les gènes responsables des formes héréditaires sont divisés en gènes à haut risque comme le BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53, LKB1/STK11 et CDH1, et en gènes à bas risque ; CHEK2, TGFb1, CASP8 et ATM (Anja et al., 2016 ; Cohen-Haguenaer, 2019).

2. Les gènes de prédisposition au cancer du sein

2.1. Gènes à haut risque

2.1.1. Le gène BRCA1

De nombreux chercheurs ont utilisé l'analyse de liaison pour déterminer l'emplacement chromosomique des gènes héréditaires d'intérêt, En 1990, « King » et ses collègues de l'université de Californie ont réalisé des études de liaison génétique dans 23 familles comprenant 146 cas de cancer du sein à début précoce, et ont pu mettre en évidence une petite région du chromosome 17 qui était probablement responsable de la nature héréditaire du

cancer du sein. En 1994, le gène BRCA1 a été cloné à l'aide de méthodes de clonage positionnel et d'une analyse du polymorphisme simple brin (**Hoang-Lien & Gilks-Blake, 2017**). Le BRCA1 est un gène humain correspondant au profil d'un gène « suppresseur de tumeur », Les mutations héréditaires de ce gène sont responsables d'environ 45% des formes familiales de cancer du sein, il peut jouer aussi un rôle important dans de nombreux cancers sporadiques. Le gène BRCA1 joue un rôle fondamental dans la protection du génome, il code des protéines essentiellement impliquées dans la réparation des cassures double brin de l'ADN par recombinaison homologue. Le gène BRCA1 est impliqué aussi dans le cycle cellulaire et l'apoptose (**Anja et al. , 2016**).

Structure du gène BRCA1

Le gène humain BRCA1 est situé sur le bras long du chromosome 17, dans la région 2 et la bande 1 (17q21.31). Il a été identifié et cloné en 1994. Il contient 22 exons, cette région codante comprend 5,5 Kb et code une protéine de 1863 acides aminés. La protéine BRCA1 constituée d'un domaine RING en N-terminal possède une activité E3 ubiquitine ligase qui catalyse l'ubiquitination des protéines, cette activité est favorisée par l'association avec le domaine RING de la protéine BARD1 formant un hétérodimère BRCA1-BARD1 et deux domaines BRCT en C-terminal également retrouvés dans de nombreuses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN et le cycle cellulaire, Le domaine BRCT est un domaine de liaison aux phosphoprotéines avec une spécificité pour les protéines phosphorylées par les kinases ATM/ATR (**Cohen-Haguenaer, 2019**).

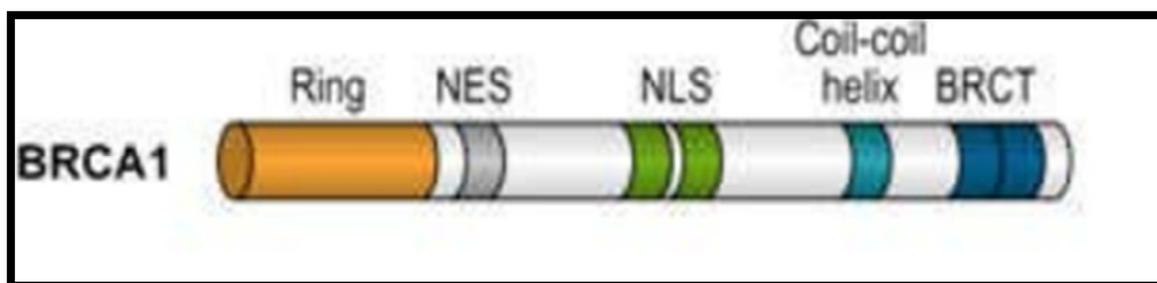


Figure 11 : Structure de La protéine BRCA1

2.1.1.2. Mutation de BRCA1

En présence d'une mutation BRCA1, les femmes ont un risque à vie de 70-80% de développer un cancer du sein et un risque de 50% de développer un cancer de l'ovaire alors, chez les hommes, le risque à vie de développer un cancer du sein n'est que de 1,2 % pour les porteurs de la mutation BRCA1. Les mutations associées au risque sont les mutations qui

entraînent une protéine tronquée, elles sont présentes dans toute la séquence codante de BRCA1. Les porteurs de la mutation ont une mutation germinale alors que Les mutations somatiques du gène BRCA1 sont rares. Les changements épigénétiques dans le gène BRCA1, comme l'hyperméthylation du promoteur et la perte de sa fonction ont également été signalés dans les tumeurs sporadiques. La majorité des mutations constitutionnelles qui touche le BRCA1 sont de type « perte de fonction », de transmission autosomique dominante. La théorie des deux évènements de Knudson proposée en 1971, explique le processus de tumorigenèse, par l'inactivation successive des deux allèles d'un gène suppresseur de tumeurs : première mutation constitutionnelle, héritée ou de novo, sur l'un des allèles du gène, puis la survenue d'une seconde mutation somatique sur l'autre allèle (Perte d'hétérozygotie) (Anja et al., 2016 ; Cohen-Haguenaer, 2019).

Tous les types de mutations ont été identifiés, y compris les décalages de cadre de lecture, les erreurs de sens, les non-sens, les insertions, les mutations d'épissage, les mutations silencieuses et les mutations dans les régions non traduites, Les mutations les plus pathogènes sont les mutations de décalage de cadre de lecture et les mutations non-sens, car elles conduisent à un codon stop prématuré qui donne une protéine tronquée. Les mutations aux N et C extrêmes du gène BRCA1 entraînent plus de cancers du sein et moins de cancers de l'ovaire que les mutations situées au milieu du gène BRCA1. Trois domaines de la protéine BRCA1 sont mutés chez les patients cancéreux avec une fréquence relativement élevée. Ces domaines comprennent le domaine RING (exons 2 à 7), une région codée par les exons 11 à 13, et le domaine BRCT (exons 16 à 24).

Les exons 11-13 couvrent plus de 65 % de la séquence de BRCA1 et codent deux séquences de localisation nucléaire (NLS) et des sites de liaison pour plusieurs protéines (tels que protéines RB, cMyc). Les acides aminés codés par ces exons contiennent également des portions d'un domaine à enroulement qui médient les interactions avec PALB2, ainsi qu'une portion d'un domaine contenant une sérine (SCD) qui est phosphorylé par ATM. Le grand nombre de mutations survenant dans cette région, dont beaucoup avec la perte de grandes parties de la séquence, suggère que cette région est importante pour la fonction de suppression de tumeur de BRCA1.

De multiples études ont trouvé des mutations dans le domaine BRCT de BRCA1 dans les cancers du sein et/ou des ovaires. Plus précisément, la mutation de résidus hydrophobes dans le noyau hydrophobe du domaine BRCT inhibe la capacité de BRCA1 à reconnaître les

phospholigands. Cela suggère que la mutation d'un résidu nécessaire à la reconnaissance d'un substrat entraverait la capacité de BRCA1 à remplir son rôle dans la voie de réparation des dommages à l'ADN. Il est probable que les mutations dans le domaine BRCT de BRCA1 conduisent à une altération de la fonction de p53, contribuant éventuellement au phénotype du cancer (Clark *et al.*, 2012).

Le gène BRCA2

Le gène BRCA2 tire son nom de l'expression anglaise « Breast Cancer » qui signifie « cancer du sein 2 ». Découvert durant les années 1990, ce gène fait partie de la famille de gènes qu'on appelle « suppresseurs de tumeurs ». Le gène BRCA2 est présent en deux copies chez tous les êtres humains et il est localisé sur le chromosome 13 (foulkstein & william , 2004).

La structure du gène BRCA2

Ce gène est localisé sur le chromosome 13 dans la région q12-13(22), il est constitué de 26 exons, la partie codante présente une taille de 10.2kb sur le totale de 86 kb. Avec 3418 acides aminés (384 kDa), BRCA2 présente une taille considérable organisée en plusieurs domaines et motifs fonctionnels. La région N-terminale contient deux sites d'interaction protéine-protéine (pour PALB2, EMSY), un site de liaison à l'ADN (appelé domaine N-terminal de liaison à l'ADN ou NTD), et il est prédit qu'il est intrinsèquement désordonné

Le domaine central de BRCA2 contient huit répétitions BRC, couvrant près d'un tiers de la protéine, et constituant la partie primaire de la protéine, et les principaux sites d'interaction de RAD51. Le domaine complexe C-terminal de liaison à l'ADN (CTD) est capable de se lier à la fois à l'ADNs et à l'ADN double brin.

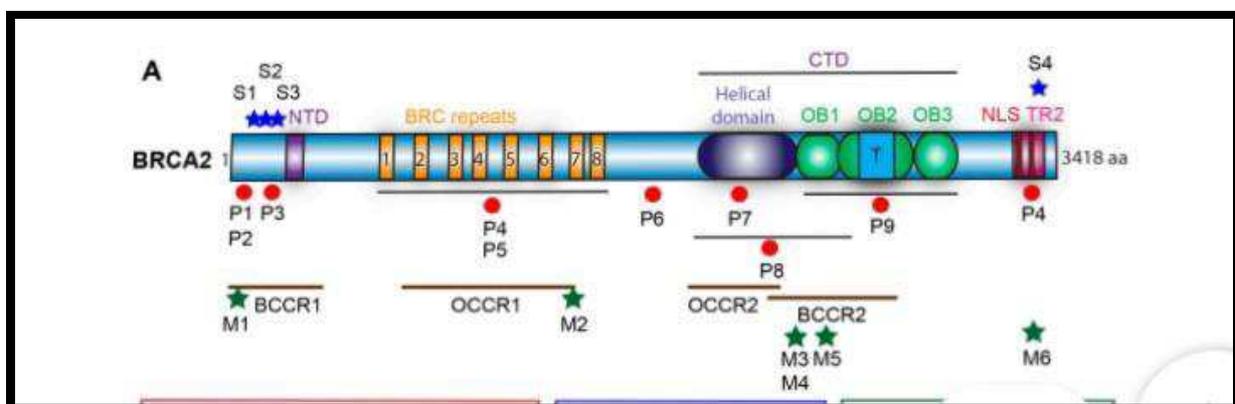


Figure 12 : Structure Génomique du gène BRCA2 (Tonin, 2006).

3.1.2. Les mutations du gène BRCA2

Les mutations germinales du gène BRCA2 rendent compte d'environ la moitié des syndromes familiaux de cancers du sein et de l'ovaire. Un ensemble de données récemment acquises sur la biologie des gènes BRCA2 convergent pour suggérer que le statut de prédisposition au cancer du sein liée aux mutations de ces deux gènes est une maladie de la réponse aux lésions génotoxiques. L'existence d'une interaction fonctionnelle du BRCA2 et RAD51 BRCA2, pourrait refléter l'instabilité génétique et le risque élevé d'inactivation de gènes qui jouent un rôle critique dans le contrôle du cycle cellulaire

L'altération constitutionnelle du gène BRCA2 est détectée dans 20 à 30% des formes familiales de cancer du sein. La fréquence de mise en évidence d'une mutation BRCA2 selon des critères généalogiques reste modeste. La définition des caractéristiques tumorales communes aux tumeurs du sein survenant dans un contexte de prédisposition lié à BRCA2 a pour objectif l'identification de caractéristiques propres aux tumeurs BRCA2 permettant de mieux définir les indications de recherche de mutations de ce gène, et l'identification de facteurs impliqués dans la tumorigénèse des cancers du sein liés à BRCA2. L'étude des profils génomiques des tumeurs BRCA2 a caractérisé la délétion récurrente des bras longs des chromosomes 13 et 14. L'analyse supervisée des données d'expression entre les tumeurs BRCA2 et les tumeurs familiales BRCA2 a identifié une signature spécifique des tumeurs BRCA2. Les exons des chromosomes 13 & 14 pour 5 tumeurs informatives et leur ADN constitutionnel ont été séquencés afin d'identifier la ou les cibles des régions délétées. Cette analyse a permis la caractérisation de variants somatiques qui seront à étudier dans une large série de cas BRCA2 et contrôles pour conclure sur leur rôle dans la tumorigénèse liée à BRCA2. La caractérisation de pertes de matériel chromosomique spécifiques aux tumeurs BRCA2, rapportée dans plusieurs études, offre une perspective diagnostique avec le développement d'un test FISH utilisable en pratique clinique pour préciser les indications d'une recherche de mutation du gène BRCA2, mais suggère également la présence de gènes cibles candidats dont l'inactivation est requise lors de la cancérisation mammaire liée à BRCA2 (Bouisson & yves, 2013).

2.1.3 .Le gène CDH1

Un gène codant pour la protéine d'adhésion E-cadhérine, dans près de la moitié des familles avec HDGC suite à la mise en évidence d'un excès de cancers lobulaires du sein (CLS) dans

les familles porteuses de mutations de CDH1. La perte de fonction du gène E-cadhéline (CDH1) a été liée à la susceptibilité diffuse au cancer gastrique, et des mutations germinales inactivatrices dans CDH1 caractérisent le syndrome du cancer gastrique diffus héréditaire (HDGC). L'hyperméthylation dans la région promotrice CDH1 est un phénomène fréquent dans les carcinomes gastriques diffus peu différenciés et elle a été identifiée comme le principal mécanisme d'inactivation de l'allèle de type sauvage restant dans les cas de HDGC. Des critères spécifiques sont utilisés pour identifier les patients suspects de HDGC et qui doivent être recherchés pour des mutations germinales CDH1. Un dépistage précis est obligatoire pour les porteurs non affectés de CDH1 mutée et certaines personnes à haut risque pourraient être envisagées pour une gastrectomie prophylactique. De plus, les mutations germinales CDH1 peuvent prédisposer au carcinome lobulaire du sein et au cancer de la prostate (Graziano et al., 2003).

La structure du gène CDH1

Les gènes suppresseurs de tumeurs (TSG) sont d'importants régulateurs de la prolifération cellulaire. En accord avec le modèle récessif de Knudson, la perte de fonction de ces gènes et l'acquisition du phénotype cancéreux surviennent après inactivation des deux allèles. L'analyse de déséquilibre allélique affectant des marqueurs polymorphes dans les pathologies cancéreuses mammaires a démontré la récurrence d'altérations du bras long du chromosome 16. Les régions morbides ainsi identifiées sont suspectées d'abriter des gènes suppresseurs de tumeur. L'une de ces régions altérées est localisée en 16q22.1. La construction d'un contig de 152 clones génomiques de type PAC/BAC s'étendant sur 2,8 Mb et couvrant cette région a été réalisée. L'orientation du contig a été obtenue par FISH et la structure du contig contrôlée par macro cartographie de restriction. L'annotation du contig a reposé sur la combinaison de criblage de séquences présentées par PCR, sous clonage d'îlots CpG et piégeage d'exon électronique permettant d'affecter 68 unités de transcription dont 29 gènes connus de la région. Parmi ceux-ci, le gène CDH1 codant pour la protéine d'adhésion membranaire cadhérine E. Ce gène suppresseur de tumeur est impliqué dans la survenue d'une forme rare de cancer du sein : les carcinomes lobulaires infiltrants. Cependant, il n'est pas impliqué dans les autres formes alors que celles-ci sont également la cible de pertes alléliques en 16q22.1. L'hypothèse de la présence d'une autre activité tumorale suppressive dans cette région est émise (Philippe- Rocca, 2000).

Les mutations du gène CDH1

Des mutations héréditaires du gène de la E-cadhérine (CDH1) ont été décrites récemment chez trois parents maoris atteints d'un cancer gastrique familial. Le cancer gastrique familial est génétiquement hétérogène et il n'est pas clair quelle proportion de la susceptibilité au cancer gastrique dans les populations non maories est due aux mutations germinales de CDH1. Par conséquent, les chercheurs ont criblé huit parents de cancer gastrique familial d'origine britannique et irlandaise pour les mutations germinales de CDH1, par analyse SSCP des 16 exons et séquences flanquantes. Chaque famille contenait deux cas de cancer gastrique chez des parents au premier degré dont un atteint avant l'âge de 50 ans, ou trois cas ou plus de cancer gastrique. Des mutations (un non-sens et un site d'épissage) ont été détectées dans deux familles (25 %). Il a été prédit que les deux mutations tronqueraient la protéine E-cadhérine dans le domaine du peptide signal. Dans une famille, il y avait des preuves de non-pénétrance et de susceptibilité aux cancers gastrique et colorectal ; ainsi, en plus de six cas de cancer gastrique, un porteur de la mutation CDH1 a développé un cancer colorectal à l'âge de 30 ans. Les chercheurs ont confirmé que les mutations germinales du gène CDH1 provoquent un cancer gastrique familial chez les populations non maories. Cependant, seule une minorité de cancers gastriques familiaux peut être expliquée par des mutations de CDH1. La perte de la fonction de la E-cadhérine a été impliquée dans la pathogenèse des cancers colorectaux sporadiques et d'autres cancers, et ces résultats fournissent des preuves que les mutations CDH1 prédisposent au cancer colorectal précoce. Ainsi, CDH1 devrait être étudiée comme cause de susceptibilité héréditaire aux cancers gastriques et colorectaux (**Frances et al., 1999**).

2.1.4. Le gène PTEN

Le gène PTEN (phosphatase and tensin homologue) code pour une phosphatase antagoniste de PI3K à double spécificité (sérine et thréonine), joue le rôle d'important gène suppresseur de tumeur en régulant négativement la voie de signalisation cellulaire et les différentes voies de l'apoptose, et dans nombreuses autres processus cellulaires tels que la polarité, la migration, le métabolisme et la sénescence (**Capuana, 2019 ; Bubien, 2016**).

La structure du gène PTEN

Le gène PTEN est localisé sur le bras long du chromosome 10 en q23.31 , c'est un gène de 9 exons, il s'étend sur 120 000 paire de base , sa séquence codante produit une protéine de 403 acides aminés avec une masse moléculaire d'environ 47166 Da .Le PTEN humain présente

une structure de 4 domaines fonctionnels différents : un domaine de liaison et de phosphatase N-terminal sont responsables de l'interaction membranaire de PTEN principalement avec le phospholipide PIP2, et un domaine phosphatase de liaison (C2) qui a un double rôle pour la déphosphorylation des protéines et des lipides et la capacité de se lier aux phospholipides de la membrane ce qui participe à sa localisation membranaire, une queue C-terminale contenant le domaine de liaison PDZ impliquée dans sa régulation, Contrôle principalement les interactions protéine-protéine (Capuana, 2019 ; Vladimir, 2009) (figure 13).

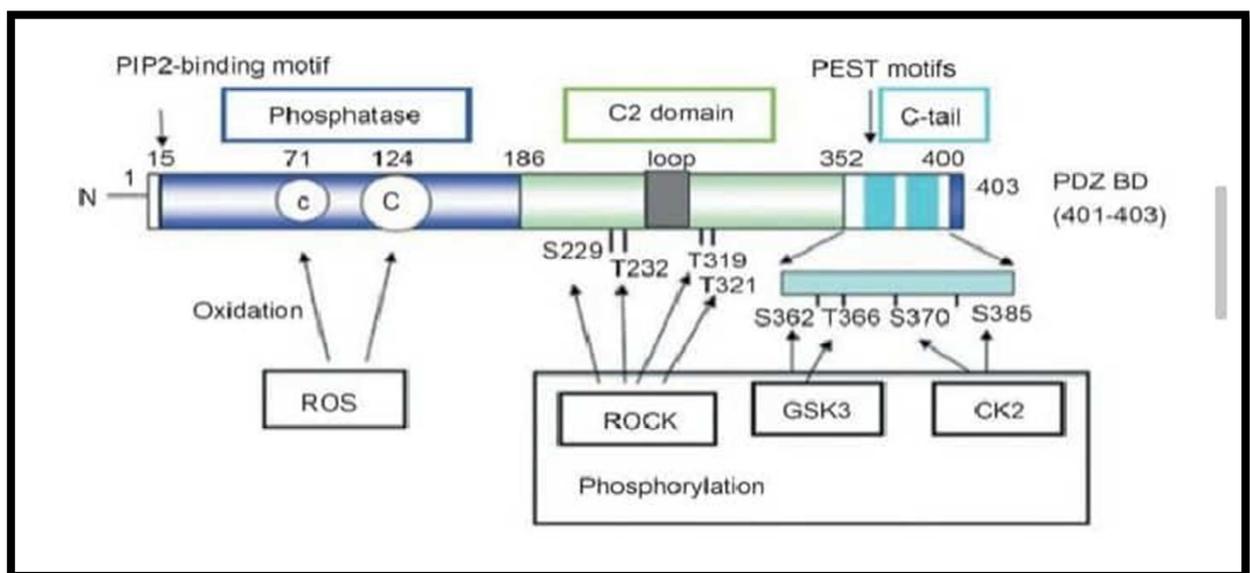


Figure 13 : La protéine PTEN est formée de multiples domaines : un domaine phosphatase pour déphosphoryler à la fois les lipides et les protéines, un domaine C2 pour l'interaction avec la membrane et une queue C principalement impliquée dans sa régulation. Quelques acides aminés dans la région N-terminale sont responsables de l'interaction membranaire de PTEN, principalement avec le phospholipide PIP2. Adapté de (Capuana, 2008).

Mutations du gène PTEN

Une mutation germinale dans le gène PTEN entraînant une perte de fonction de sa protéine peut conduire au syndrome de Cowden, un syndrome autosomique dominant responsable de la prédisposition à plusieurs tumeurs telles que le cancer du sein. Le niveau de risque de cancer du sein des femmes porteuses d'une mutation germinale du gène PTEN est considéré comme « très élevé » et les tests génétiques chez les apparentés peuvent être mis en œuvre. : 50 % développent un cancer du sein au cours de leur vie, à un âge moyen de 40 ans (Viassolo et al., 2016 ; Capuana, 2019).

2.1.5. Le gène TP53

Une prédisposition héréditaire au cancer du sein a été liée aux mutations du TP53, un gène "suppresseur de tumeur " qui est un siège d'altération génétique fréquentes en pathologie tumorale humaine, il code pour la protéine P53 qui agit sous forme d'un facteur de transcription central impliqué dans de multiples voies de signalisation cellulaire, et joue un rôle crucial dans le contrôle du cycle cellulaire et le maintien de l'intégrité du génome par la stimulation des différents mécanismes de réparation de l'ADN (excision de base et la recombinaison non homologue). En réponse à des signaux intra et extra-cellulaires, le P53 permet en outre l'induction de l'apoptose lorsque la réparation est impossible (Jaber, 2016 ;Bubien, 2016).

Structure du gène TP53

Le gène TP53 qui est connu classiquement sous le nom de "gardien du génome" est cartographié sur le bras court du chromosome 17 en p13.1, c'est un gène de grande taille composé de 19198 nucléotides du premier exon à l'exon 11 répartis sur environ 20 kb d'ADN génomique, la séquence codante de ce gène est commencée dans le deuxième exon et se termine dans le dernier exon donnant naissance à un ARN messager de 2,8 kb, la protéine pleine longueur traduite compte 393 acides aminés (AA) avec un poids moléculaire empirique d'environ 53 kDa d'où son nom P53. C'est un facteur de transcription qui sous sa forme homotétramérique présente une structure modulaire typique des facteurs de transcription à 5 domaines fonctionnellement distincts : un domaine de transactivation N-terminal (AA 1-42), un domaine riche en proline (AA 63- 97) impliqué dans l'apoptose, un domaine centrale de liaison à l'ADN (AA 102–292), un domaine de tétramérisation et un domaine régulateur C-terminale (Vladimir, 2009 ; Jaber, 2016) (figure 14).

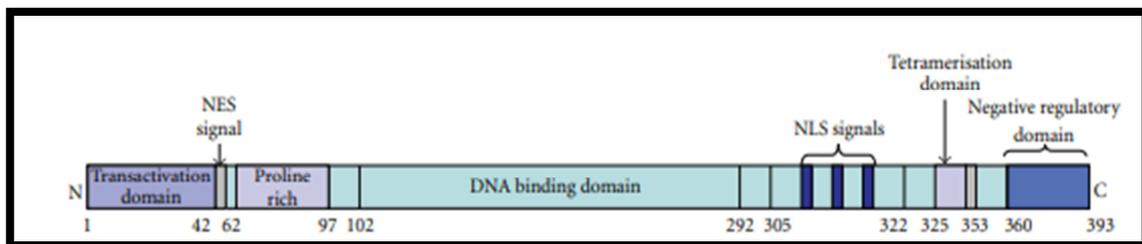


Figure 14 : structure modulaire de la protéine P53 humaine. La P53 contient un domaine Amino-terminal de transactivation (TAD) qui peut être subdivisé en sous-domaines TAD1 et TAD2, suivie d'une Région Riche en Proline (PRR), un domaine centrale (DNA-binding Domain) et un domaine de tétramérisation (OD) puis un domaine régulateur carboxyle-terminal (CTD). Adapté de (Jaber, 2016).

Mutations du gène TP53

Le facteur de transcription p53 codé par le gène humain TP53 se distingue comme un suppresseur de tumeur clé et un maître régulateur de différentes voies de signalisation. Il est impliqué dans le processus de tumorigénèse. En effet ,des mutations constitutionnelles du gène TP53 ont été signalées le plus souvent des mutations faux-sens dans lesquelles un seul nucléotide est remplacé par un autre dans les exons 5-8 au niveau du domaine de liaison à l'ADN qui reconnaît le promoteur des gènes cibles de p53, par conséquent , l'expression d'une protéine mutée contient seulement une seule substitution d'acide aminé dont la fonction est altérée, cette mutation constitue, dans sa forme classique, le syndrome de Li Fraumeni qui est associée à des risques très élevés de cancer mammaire survenant à un âge très jeune (médiane de 25 ans) en tant que la deuxième altération génétique la plus fréquente dans ce type de cancer (**Viassolo et al., 2016 ; Noa et al., 2011; Jaber, 2016**).

2.2 Les gènes à bas risque

2.2.1 .Le gène CHEK2

La variation génétique de CHEK2 dans la prédisposition héréditaire au cancer a été indiquée pour la première fois en 1999, des mutations germinales de CHEK2 ont été découvertes chez des patientes atteintes du syndrome de Li-Fraumeni et du syndrome de LFS-like (LFL) de type sauvage p53, suggérant que le gène CHEK2 pourrait être un nouveau gène de prédisposition au syndrome de Li-Fraumeni. Les personnes atteintes du syndrome de Li-Fraumeni ont tendance à être plus susceptibles d'avoir un cancer du sein ainsi que d'autres cancers (**Nevanlinna & Bartek, 2006**).CHEK2 est le principal intermédiaire dans la réponse cellulaire aux lésions de l'ADN double brin. Cette phosphoprotéine nucléaire joue un rôle dans la voie de signalisation de la réparation de l'ADN, ainsi que dans la stabilité et l'intégrité de l'ADN (**Kastan & Bartek, 2004**).

Structure de CHEK2

La checkpoint kinase 2 (CHEK2, Chk2), est la protéine produite par le gène CHEK2 qui se localise sur le chromosome humain 22q12.1. Le gène humain s'étend sur environ 50 kilo bases (kb) d'ADN génomique et se compose de 14 exons. La structure de la protéine CHEK2 présente trois domaines caractéristiques ; un domaine N-terminal SQ/TQ cluster (résidus d'acides aminés 20-75), un domaine associé à la tête de fourche (FHA) (résidus 112-175), et un domaine sérine/thréonine kinase (résidus 225-490) chacun ayant des fonctions spécifiques.

Le SQ/TQ est un domaine régulateur contenant sept résidus de sérine ou de thréonine suivis de glutamine, sites de phosphorylation putatifs préférés par la protéine kinase ATM qui active CHEK2 en réponse aux rayonnements ionisants et à d'autres agressions génotoxiques qui provoquent des cassures double-brin de l'ADN. Le domaine FHA est impliqué dans la liaison à d'autres protéines phosphorylées. Le domaine kinase catalytique occupe presque toute la moitié carboxy-terminale de CHEK2, et il présente une homologie structurelle, y compris une boucle d'activation, avec d'autres kinases sérine/thréonine (**Stolarova et al., 2020**). L'activation du gène CHEK2 en réponse à un dommage cellulaire empêche la progression du cycle cellulaire vers la mitose et provoque l'arrêt du cycle cellulaire à la phase G1. Par son activité kinase multiple, CHEK2 joue un rôle majeur dans la régulation du cycle cellulaire, de l'apoptose et de la réparation de l'ADN. En réponse aux lésions de l'ADN double brin. Ces fonctions de CHEK2 dans le cycle cellulaire soulèvent la possibilité qu'un dysfonctionnement de CHEK2 puisse conduire au développement du cancer du sein (**Nevanlinna & Bartek, 2006**).

Mutations du gène CHEK2

La kinase CHEK2 contribue à maintenir l'intégrité génomique. Les preuves accumulées suggèrent que CHEK2 est un suppresseur de tumeur et que ses défauts peuvent prédisposer à plusieurs types de cancer. Au niveau moléculaire, les défauts de CHEK2 conduisent soit à une perte d'expression de CHEK2, soit à une atteinte de la fonction de CHEK2 en tant que molécule de signalisation. La mutation Y390C se produit dans le domaine sérine/thréonine kinase ce qui perturbe la fonction kinase de CHEK2 et empêche la phosphorylation des facteurs en aval dans la voie de signalisation. Dans des conditions normales, ATR se situe en amont de CHEK2 et provoque sa phosphorylation. Ensuite, CHEK2 phosphoryle p53, ce qui arrête la progression du cycle cellulaire de G1 à S lorsque la stabilité de l'ADN est endommagée jusqu'à ce que les dommages de l'ADN soient réparés. Cependant, la mutation Y390C de CHEK2 empêche l'activation de p53 et la prolifération des cellules avec un manque de réparation de l'ADN, ainsi qu'une accumulation de mutations dans le génome des cellules qui conduisent finalement à la prolifération des cellules tumorales et à leur métastases (**Nevanlinna&Bartek, 2006 ; Bartkova et al., 2005**). Chez les porteuses d'une mutation de BRCA1, BRCA2 ou CHEK2, le risque de cancer du sein pour une femme ayant des antécédents familiaux positifs de cancer du sein est supérieur à celui d'une porteuse de la même mutation, mais qui n'a pas d'antécédents familiaux de cancer du sein. L'effet est

particulièrement fort chez les porteurs de mutations de CHEK2, pour cette raison, CHEK2 a été décrit comme un modificateur du risque d'autres gènes de susceptibilité.

Les études ont identifié une mutation de CHEK2 qui est plus élevée chez les personnes de race blanche d'origine d'Europe du Nord et de l'Est (La mutation : 1100delC) c'est une mutation fondatrice et sa distribution est restreinte, Le risque de cancer du sein au cours de la vie pour les femmes présentant une mutation 1100delC et dont un parent au premier degré est atteint d'un cancer du sein est d'environ 25 %. Un âge précoce au moment du diagnostic du cancer a été associé à la mutation 1100delC dans certaines études, mais pas dans toutes (Narod, 2010).

2.2.2. Le gène ATM

Le gène ATM pour (Ataxia-telangiectasia mutated) code pour une protéine kinase impliquée dans de nombreuses fonctions cellulaires, elle assure notamment le maintien de l'intégrité du génome, en jouant un rôle central en tant que "transmetteur" dans le contrôle du cycle cellulaire, l'apoptose, dans la détection et la signalisation des dommages causés à l'ADN. Elle intervient ainsi dans la réparation des cassures double-brin (CDB) survenant lors d'une agression physique tel des radiations ionisantes via l'activation de deux mécanismes : la recombinaison homologue (RH) entre deux molécules sœurs d'ADN et la jonction non homologue (NHE) des brins brisés, mais son rôle a aussi été démontré dans la mobilisation de protéines de réparation (Anne-Laure, 2017 ; Tatfi2019).

La structure du gène ATM

Le gène ATM situé sur le chromosome 11 en q22-23 a été identifié en 1988 par analyse de liaison, puis identifié en 1995 par clonage positionnel chez des patients présentant un syndrome d'Ataxie-Télangiectasie. Il s'étend sur 150 kb et est composé de 66 exons dont 62 codent pour une importante protéine kinase possédant 3056 acides aminés pour un poids de 350 kDa, la protéine ATM fait partie de la super famille des PI-3-Kinases et possède un domaine catalytique présentant des homologies avec le domaine catalytique de toutes les protéines de la famille PI3K (pour Phosphatidyl Inositol-3 Kinase), Ce domaine est encadré par un domaine FAT en N-terminal (de 500 acides aminés) et un domaine FATC en C-terminal (de 35 acides aminés). Par ailleurs, quatre autres domaines fonctionnels se distinguent : le domaine NLS assurant le transport de la protéine au noyau, le domaine à

leucine zipper, le domaine FAT contenant la sérine 1981 (site d'auto-phosphorylation d'ATM) et le domaine PI3-K (Bubien, 2016 ; Anne-Laure, 2017 ; Tatfi, 2019) (figure 15).

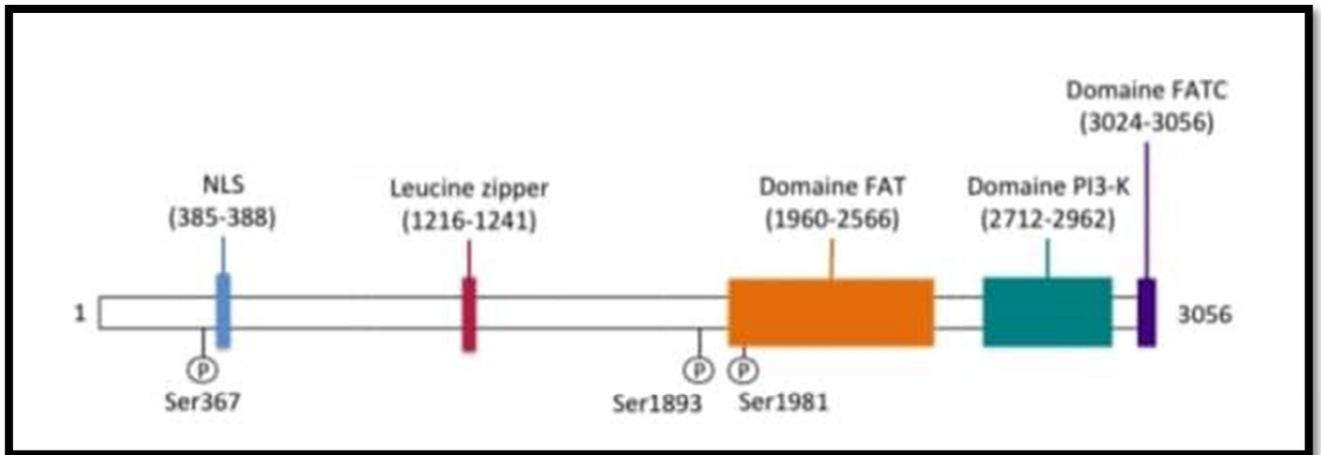


Figure 15: Domaines fonctionnels (Anne-Laure, 2017).

Les mutations du gène ATM

À l'état homozygote, une mutation germinale bi-allélique du gène ATM est à l'origine du syndrome pédiatrique ataxie-télangiectasie vient d'être identifié comme étant associé à un risque accru de tumeurs malignes, notamment mammaires. Alors qu'à l'état hétérozygote, les mutations d'un seul allèle dans le gène ATM semblent prédisposer aussi à la survenue de certains cancers dont et principalement le cancer du sein (Cohen-Haguenauer, 2019 ; Viassoloetal., 2016 ; Anne-Laure, 2017).

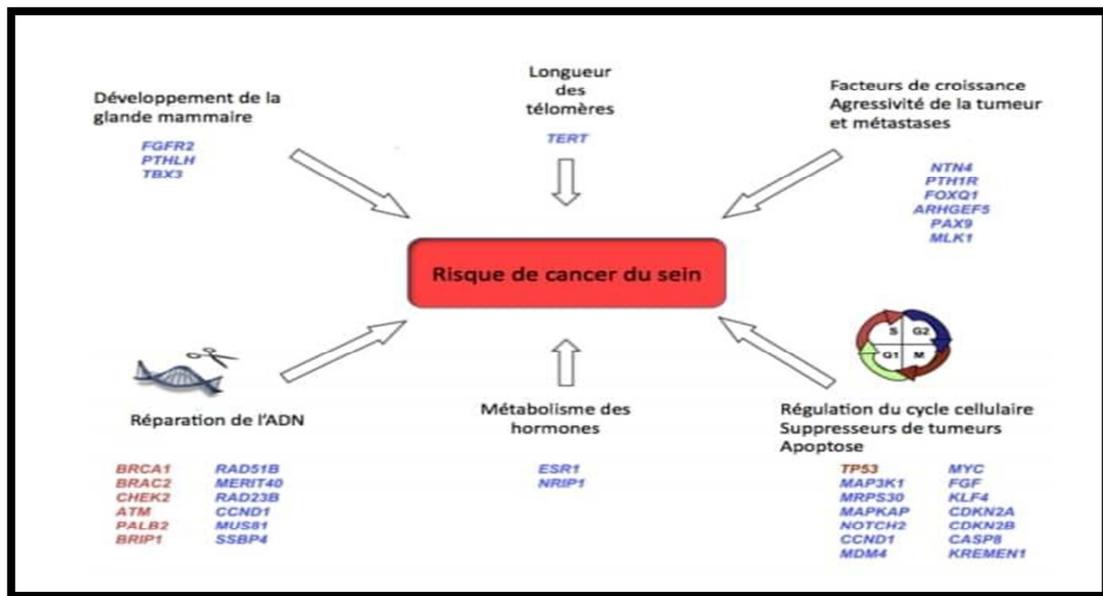


Figure 16: Mécanismes potentiellement impliqués dans le risque de cancer du sein et les gènes connus qui y sont associés. Les gènes en rouge correspondent aux allèles de prédisposition à forte et moyenne pénétrance, alors que les gènes en bleu correspondent aux allèles à faible pénétrance (Anne-Laure, 2017).

Partie pratique

III. Patients et méthodes

Type d'étude

Dans le cadre de notre sujet de recherche sur la prédisposition du gène BRCA1 dans la survenue du cancer du sein, Nous avons réalisé une étude descriptive rétrospective et une étude prospective dont le principale objectif est la mise au point de la PCR de l'exon 13 du gène BRCA1, de sa PCR de séquence puis son séquençage.

Population d'étude

Notre travail sur ce sujet se divise en :

- ✓ Une étude rétrospective pour l'année 2017 portant sur 127 cas présentant un cancer du sein, dont 21 cas avec un âge moyen de 45 ans et des antécédents familiaux.
- ✓ Une étude prospective réalisée sur 3 patientes présentant un cancer du sein héréditaire avec un âge moyen de 40 ans.

Ces patientes ont été recrutées parmi les malades du service du CAC du Centre Hospitalier Universitaire Ben Badis de Constantine (CHUC), la réalisation pratique du travail s'est effectuée au niveau de laboratoire de recherche de Biologie et de Génétique Moléculaire de la faculté de médecine « Salah Boubnider » de Constantine.

Questionnaire, enquête familiale et consentement

Le recueil des renseignements cliniques a été effectué à l'aide d'un questionnaire réalisé à cet effet (annexe), nous avons précisé l'âge, le sexe, les antécédents personnels et familiaux du cancer du sein ou d'autres cancers, la consanguinité, l'élaboration des arbres généalogiques les plus complets possible à partir de l'histoire familiale de la maladie. Un consentement éclairé a été obtenu de chaque patiente.

1. Etude prospective

2.1 Prélèvement sanguin

Mode de prélèvement

Le prélèvement sanguin pour l'étude génétique (l'extraction de l'ADN) est recueilli stérilement sur un tube de type Vacutainer à EDTA (anticoagulant et inhibiteur des nucléases) en quantité de 6 à 10 ml. Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot.

2.2 Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN des cellules pour permettre son analyse.

Principe

Les leucocytes sont séparés du sang totale par lyse hypotonique et traitement ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase k. l'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminée par précipitation au Nacl . La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol. L'ADN est solubilisée en phase aqueuse et le rapport de la DO 260 nm sur la DO 280 nm (longueur d'onde d'absorption des protéines) est déterminé. Il doit être compris entre 1.8 à 2 (**Annexe 2**).

2.3 L'amplification par PCR

Principe

La « Polymerase Chain Reaction » est une technique de biologie moléculaire qui permet d'obtenir par une succession de réplifications in vitro d'importantes quantités d'ADN. Un cycle d'amplification est déroulé sur trois étapes : dénaturation, hybridation et élongation. Après la préparation du mix de la PCR (**Annexe 3**). Nous avons pris 24µl de mix avec 1µl d'ADN pour chaque tube. Ensuite les cycles de la PCR se sont déroulés dans un thermocycleur (35 cycles pendant 2h30). Les conditions d'amplification sont les suivants :

Programme PCR :

95°C Dénaturation 5 min

94°C Dénaturation 60 sec	} 35 cycles
60°C Hybridation 60 sec	
72°C Elongation 60 sec	

72°C Elongation finale 10 min

➤ Contrôle de l'amplification

Le contrôle a été réalisé par électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 1,5% coloré par le BET : on ajoute 1,5 g d'agarose à 100 ml de tampon TBE.

➤ **Électrophorèse et visualisation des produits d'amplification**

On procède, enfin, à l'étape de révélation des produits amplifiés. La spécificité des bandes observées sur le gel est confirmée à l'aide du marqueur de taille. Les produits PCR doivent être visualisés afin de vérifier l'efficacité de l'amplification des échantillons étudiés. Pour cela, les 10 μ l de chaque produit d'amplification des échantillons sont déposés lentement dans les puits du côté de la cathode selon l'ordre des échantillons dans les tubes PCR. Un marqueur de taille de poids moléculaire connu est déposé aussi en parallèle avec les échantillons préalablement mélangés avec du bleu de bromophénol qui permet de suivre leur migration au cours de l'électrophorèse pour estimer la taille des amplicons qui doit être de 1301pb. L'électrophorèse est démarrée à 100V, pendant 20 minutes. Cette durée dépend toutefois de la taille des fragments amplifiés.

A la fin de l'électrophorèse, le gel est visualisé, puis photographié au-dessus de l'éclairage UV permettant de visualiser les fragments d'ADN ainsi que la position des fragments du marqueur de taille qui doit apparaître sous forme de bandes fluorescentes. Cette analyse permet de vérifier la spécificité de la séquence amplifiée. Pour cela, on doit s'assurer de la taille de la bande correspondante à cette séquence, il faut vérifier que le produit PCR du témoin négatif ne montre pas de bande amplifiée pouvant correspondre à une contamination par un ADN étranger.



Photographie 01 : contrôle de produit PCR.

2.4. Séquençages direct

Principe

Le séquençage consiste à déterminer la succession des nucléotides qui compose l'ADN. La technique la plus utilisée c'est la technique de Sanger qui détermine l'ordre de quatre nucléotides dans un brin d'ADN en utilisant des dNTP et une faible concentration de ddNTP qui agissent comme terminateur de chaîne. Cette terminaison se fait au niveau des nucléotides correspond aux dédésoxyribonucléotide incorporé dans la réaction. Chaque ddNTP est marqué par un fluorochrome, ces fluorochromes émettent de fluorescences de couleurs différentes, chacune de ces couleurs physique est convertie en une couleur informatique par un logiciel. La réaction de séquençage a été réalisée avec le kit de séquençage Big Dye Terminator de Applied Biosystems .

Les différentes étapes du séquençage sont les suivantes :

- Purification des produits PCR (**Annexe 2**).
- PCR de séquence
- Purification des produits de la PCR de séquence
- séquençage

Utilisation du séquenceur "Applied Biosystems / HITACHI" avec un logiciel permettant l'analyse de résultats. Enfin, la comparaison de l'ordre des bases des séquences obtenues par rapport à la séquence sauvage (séquence de référence) pour identifier les modifications.

IV. Résultats et discussion

1. Etude rétrospective

Etude épidémiologique

Nous avons réalisé une étude rétrospective du cancer du sein à partir des dossiers des patientes de l'année 2017 au niveau du service de CAC de l'hôpital universitaire de Ben Badis Constantine. D'abord tous les cas sont des femmes (127cas). Les femmes sont significativement et considérablement plus touchées par le cancer du sein que les hommes. Le cancer du sein présente une prédominance féminine nette.

Parmi les 127 cas, nous nous sommes intéressées uniquement aux patientes présentant des ATCD familiaux de cancer du sein.

Répartition selon l'âge

Tableau III : La répartition des patientes selon l'âge

Age (année)	Nb de patientes Sans ATCD	Nb de patientes avec des ATCD
]30,40]	16	4
]40,50]	34	8
]50,60]	34	6
]60,70]	15	3
]70,80]	7	0
Total	106	21

Il est prouvé de longue date que l'incidence du cancer du sein augmente nettement avec l'âge, qui devient un facteur de risque sérieux dès la quatrième décennie. D'après nos résultats on observe que la tranche d'âge entre 40-50 ans est celle qui compte le nombre le plus élevé de patientes dans la population avec des ATCD soit 8 cas (**Figure**).

Aussi nous avons 4 personnes atteintes dont l'âge est entre 30 et 40 ans donc nous avons 57, 14% des cas c'est-à-dire plus que la moitié avant l'âge de la ménopause (un âge précoce) par rapport au celles qui ne présentent aucun ATCD et dont l'âge de survenu du cancer se situe entre 50 et 70 ans.

Répartition selon les ATCD familiaux

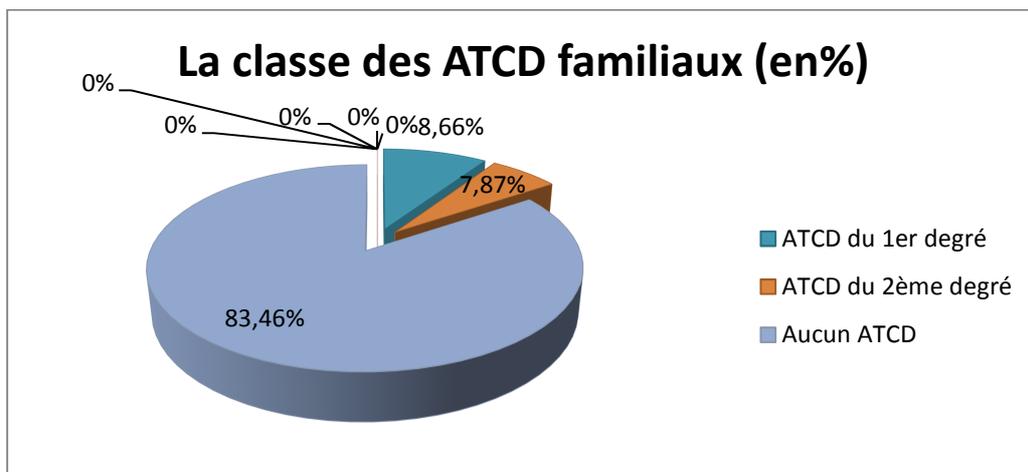


Figure 17 : Répartition selon les antécédents familiaux

Partie pratique

La notion d'antécédent familial de cancer du sein a été retrouvée dans notre série dans 16,53% (8,66% de 1^{er} degré et 7,87% de 2^{ème} degré) le reste de patientes ne présente pas des ATCD familiaux de cancer du sein. Il a été relevé dans plusieurs études que plus il y a de apparentés surtout de 1^{er} degré atteints d'un cancer du sein plus la probabilité qu'il soit lié à des mutations BRCA1/2 est forte. De même que la survenu d'un cancer du sein à un âge précoce.

Répartition selon la parité

Tableau IV: Répartition selon la parité

Patientes avec ATCD	Patientes sans ATCD
La Parité : 71,43%	La parité : 88,68%
La nullipare : 23,80%	La nullipare : 11,32%

Dans notre échantillon la majorité des patientes ont des enfants, soit 71,43% des patientes avec ATCD et 88,68% des patientes sans ATCD. L'étude de Espié et *al.*, 2012 au sujet de la parité, montre qu'en cas de première grossesse à un âge tardif (après 30 ans), chaque nouvelle parité augmenterait le risque de cancer du sein. Par rapport à une nullipare, le Risque Relatif (RR) du cancer du sein pour une femme ayant eu sa première grossesse à terme avant 20 ans est de 0,5. Ce risque est plus important chez les femmes ayant une première grossesse après 35 ans que chez les nullipares (RR= 1,2). Le nombre d'enfants, d'autant que la patiente les a eus à un âge jeune, semble également avoir un rôle protecteur contre le cancer.

Répartition selon l'âge de ménarches

Tableau V : répartition selon l'âge de ménarches chez les femmes avec ATCD familiaux

Nombre	Age	Fréquence
12	= 12 ans	57,14%
4	13-14 ans	19,04%
5	≥15 ans	23,80%

La majorité des femmes de notre population d'étude sont mariées et ont des enfants, sauf 23,80% des cas qui sont célibataires (figure) on observe que 57,14% des patientes ont eu leurs ménarches à l'âge de 12 ans. Les ménarches tardives de (13-14 et de ≥ 15 ans) font la

Partie pratique

particularité de la plupart de nos patientes. Selon la littérature, les ménarches précoces (avant 12 ans) et la nulliparité sont associées à une incidence plus élevée de cancer du sein.

Tableau IV : Répartition selon l'âge de ménarches chez les patientes sans ATCD

Age	Fréquence
<12 ans	15,09%
=12 ans	28,30%
13-14 ans	35,85%
≥15 ans	18,86%

15,09% des patientes sans ATCD ont leurs ménarches à un âge précoce (avant 12 ans) alors que 18,86% les ont eues à un âge tardif. Plusieurs études incriminent l'âge des premières règles comme facteur de risque, plus les règles sont survenues tôt plus le risque est élevé.

Répartition selon la ménopause

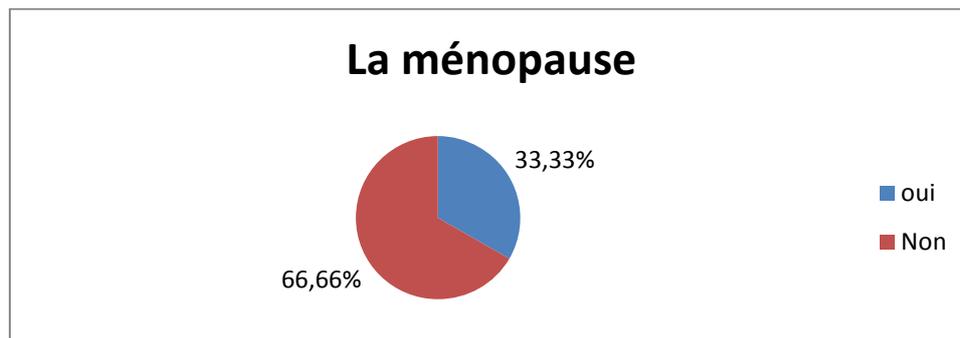


Figure 18 : Répartition selon la ménopause chez les patientes avec ATCD.

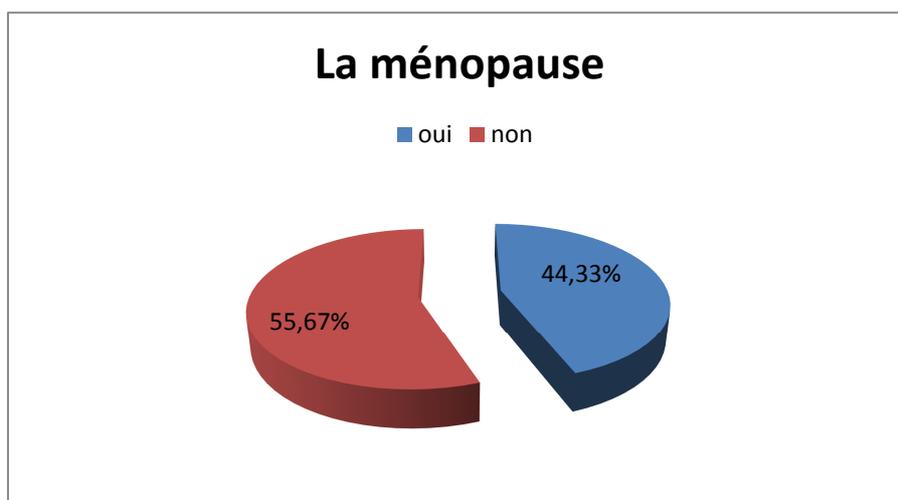


Figure 19 : Répartition selon la ménopause chez des patientes sans ATCD

Dans notre étude, 33,33% des patientes avec ATCD sont ménopausées contre 44,33% chez les patientes sans ATCD. Selon l'étude de Espié et *al.*, 2012, un âge tardif de la ménopause ressort souvent aussi comme facteur de risque de développer un cancer du sein. En effet, Pour chaque année d'élévation de l'âge de la ménopause, il y a une augmentation du risque de survenu de cancer du sein d'environ 3% à 4 %.

Répartition selon la contraception orale

Tableau VII: Répartition de la population d'étude selon la contraception orale

Patiente avec ATCD	Patientes sans ATCD
Oui : 28,57%	Oui : 43,39%
Non : 71,43%	Non : 56,61%

On observe que 71,43% des patientes avec des ATCD et 56,61% des patientes sans ATCD de notre série ne prennent pas de contraceptifs, ce qui concorde avec l'étude menée par Senhadji et El kébir en 2010 qui montre que ni le type de contraceptif utilisé ni la durée de traitement n'ont révélé de lien avec la maladie. Les différents groupes de contraceptifs oraux rendent difficile l'établissement d'une éventuelle relation entre l'utilisation de chacune d'elles et l'apparition d'un cancer du sein. La majorité des enquêtes ne prouve pas de manière significative et ne donne pas une indication claire sur cette liaison ni sur l'effet tumorigène de la durée de la prise des contraceptifs.

La majorité des études publiées n'ont pas retrouvé, toutes femmes confondues, d'élévation du risque de cancer du sein liée à la contraception orale. Plusieurs études se sont particulièrement

Partie pratique

attachées à l'élévation du risque de cancer du sein avant 45 ans. . En ce qui concerne les femmes plus âgées, aucune élévation du risque avec la contraception orale n'a été retrouvée, certaines études évoquent même une possible réduction du risque. En cas de mutation BRCA1/2, les études étaient contradictoires, une méta-analyse a été effectuée regroupant 18 études et 2855 femmes avec un cancer du sein et ne retrouve pas d'augmentation significative du risque : RR= 1,13. Il n'a pas été observé d'effet duré.

La pilule n'est donc pas contre-indiquée en cas de mutation BRCA ; mais, il est recommandé de l'utiliser à visée contraceptive (Espié *et al.*, 2012). Alors qu'une autre étude indique que le risque de cancer du sein est augmenté d'environ 25 % chez les femmes utilisant couramment les contraceptifs oraux et que cet accroissement de risque chute dès l'arrêt de la consommation, de sorte que, 10 ans après l'arrêt de l'utilisation, aucune augmentation significative de risque n'est manifeste (Nkondjock & Ghadirian, 2005).

Répartition selon le type histologique et le grade

Tableau VIII : Répartition selon le type histologique chez les femmes avec ATCD

Nombre	Résultats Biopsie	Fréquence
15	Cancer canalaire infiltrant (CCI)	71,42%
2	Cancer in situ	9,52%
2	Cancer lobulaire infiltrant	9,52%
1	Carcinome mucineux ou colloïde	4,76%
1	Carcinome ?	4,76%

Tableau IX : Répartition selon le grade SBR chez les femmes avec ATCD

SBR1	SBR2	SBR3
0%	76,19%	23,81%

Dans notre série, le carcinome canalaire infiltrant est le type histologique le plus observé (71,42%), le grade histopronostique de SBR dans cette série a révélé la prédominance du grade 2 (76,19%) suivi du grade 3 à (23,81%) alors que le grade 1 n'existe pas. Sur le plan histologique, le CCI est le type histologique le plus fréquent, son agressivité est liée à une plus grande fréquence des cancers indifférenciés (grade 3) (Znati *et al.*, 2014).

Partie pratique

Tableau X : répartition selon le type histologique chez les patientes sans ATCD

Carcinome canalaire infiltrant	Autres types
70,75%	29,25%

Tableau XI : Répartition selon le grade SBR chez les patientes sans ATCD

SBR1	SBR2	SBR3
4,16%	53,12%	42,71%

Notre étude a retrouvé un carcinome canalaire infiltrant chez 70,75% des cas. Le CCI reste toujours le plus fréquent chez notre deux groupe de patientes ce qui concorde avec les données de la littérature.

Concernant le grade SBR, 53,12% des cas sont de grade 2 et 42,71% sont de grade 3. Toutes les études montrent que le risque métastatique et la survie sont fortement corrélés au grade, ainsi le grade de SBR 3 est de mauvais pronostic par rapport au grade 1 et 2 ce qui montre l'agressivité de la tumeur chez plusieurs patientes.

Répartition selon les résultats anatomopathologiques

Tableau XII : Récepteurs hormonaux chez des patientes avec ATCD

RH+	RH-
83,33%	16,67%

Tableau XIII: Récepteurs hormonaux chez des patientes sans ATCD

RH+	RH-
64,15%	35,85%

Nos résultats indiquent aussi bien chez les patientes avec ATCD que sans ATCD, la prédominance des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux avec 83,33% chez les patientes avec ATCD et 64,15% chez les patientes sans ATCD. Selon l'étude de **Penault-Liorca, 2014** et plusieurs autres études, Les récepteurs hormonaux aux œstrogènes sont des marqueurs de différenciation tumorale alors que la positivité des récepteurs aux progestérones témoigne de la fonctionnalité des récepteurs aux œstrogènes, et la positivité de récepteurs hormonaux de ces deux hormones (progestérone et œstrogène) chez ces patientes sont des facteurs pronostiques puisque l'expression de ces récepteurs est un élément de bon pronostic et surtout prédictif de la réponse au traitement hormonal.

Tableau XIV: Récepteurs HER2 chez les patientes présentent des ATCD

HER2 +	HER2 -
41,67%	58,33%

Tableau XV : Récepteurs HER2 chez les patientes sans ATCD

HER2 +	HER2 -
26,92%	73,08%

Les récepteurs HER2 étaient négatifs dans 58,33% des cas de patientes avec ATCD et dans 73,08% des cas de patientes sans ATCD surtout dans les CCI, ce cancer est essentiellement hormono-dépendant (HER2 -). Dans notre série nous retrouvons les différentes types moléculaires ce qui concorde avec les données de la littérature (la classification de Perou) :

Luminal A : Les tumeurs sont RH+/HER2-, Elles sont généralement de bas grade

Luminal B : Les tumeurs sont soit RH+/HER2-, soit RH+/HER2+, sont de grade plus élevé

Cancers dits "triples négatifs" : RE-, RP- et HER- (**Penault, 2014**).

La présence de ces récepteurs (tumeur RH+) est de bon pronostic et indique une tumeur hormono-sensible. Leur absence est de moins bon pronostic, les tumeurs R- répondent mieux à la chimiothérapie. Le statut HER2 était un facteur de mauvais pronostic avant l'introduction des traitements par trastuzumab et est un facteur prédictif d'une réponse aux thérapies anti-HER2.

2. Etude prospective

Les trois sujets de notre étude sont des patientes atteintes d'un cancer du sein et présentant des ATCD de 1^{er} degré. Le questionnaire a été réalisé directement par un interrogatoire avec les patientes.

Des arbres généalogiques ont été réalisés à partir de l'histoire familiale de chaque patiente avant de réaliser le séquençage.

La patiente 1 : Age : 51 ans

Mariée

Pré-ménopausée

Siège de la tumeur : sein droite

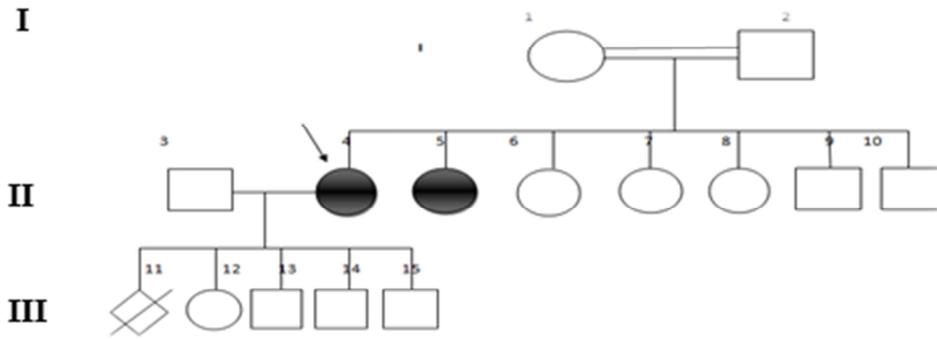


Figure 20 : Arbre généalogique de famille 1 ; la Patiente 4 et sa sœur (5) sont atteintes.

La patiente 2 : Age : 35 ans

Mariée

Pré-ménopausée

Siège de la tumeur : sein droit

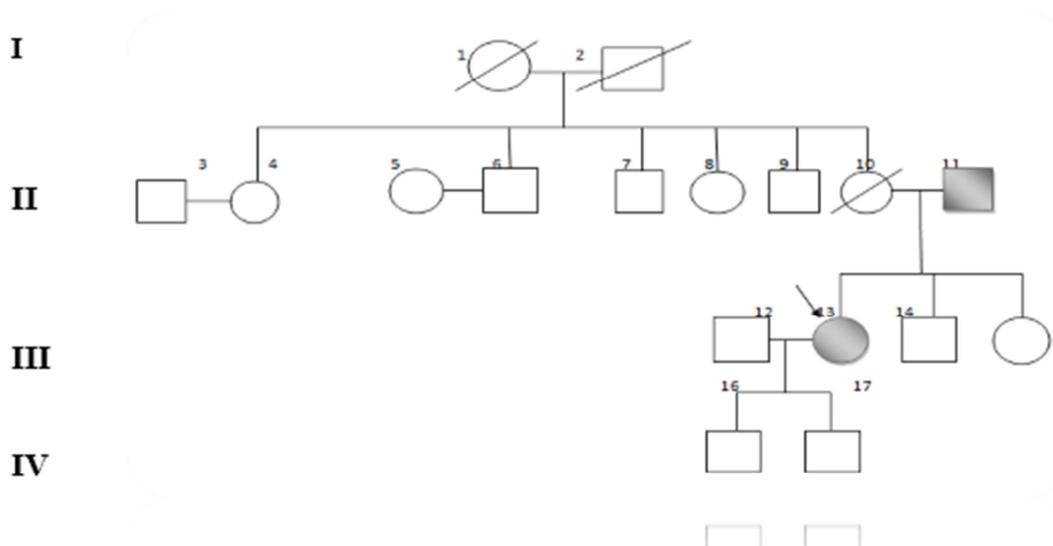


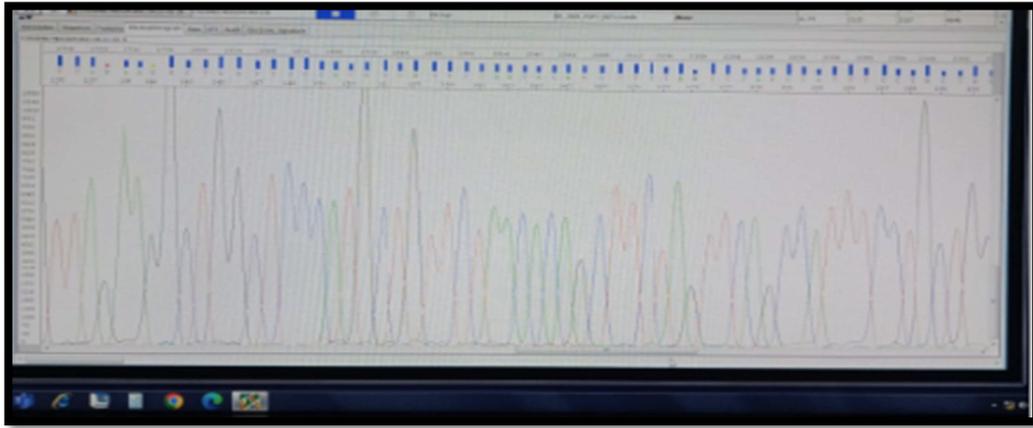
Figure 21 : Arbre généalogique de la famille 2. Patiente 13 est et son père (11) sont atteints.

Patiente 3 : Age : 39 ans

Célibataire

Pré-ménopausée

Siège de la tumeur : sein gauche



Photographie : Résultats de Chromatogrammes du séquençage d'une partie de l'exon 13.

Nous avons comparé l'enchaînement des bases des trois séquences obtenues par séquençage avec la séquence sauvage de l'exon 13 du gène BRCA1 : aucune modifications n'a été détecté, les trois séquences sont identiques entre elles et à la séquence sauvage. Nos résultats montrent que l'exon 13 de notre trois patientes est intact.

Nos résultats ne sont pas en accord avec plusieurs études qui ont trouvé des modifications au niveau de l'exon 13 du gène BRCA1 prédisposant au cancer du sein exactement une duplication d'un fragment de 6Kb au niveau de l'exon 13 a été observé dans différentes populations .

Une duplication d'un fragment de 6 kb comprenant l'exon 13, ins6kbEx13, est considérée comme une mutation fondatrice commune originaire du nord de la Grande-Bretagne (**Kremeyer et al., 2005**), cette duplication de l'exon 13 a été vérifiée aussi par Kremeyer et *al.* (2005) dans six familles suédoises de cancer du sein et de l'ovaire apparemment non apparentées. Ils ont testé les patients d'un ensemble de 142 familles de cancer du sein et de 52 familles de cancer du sein et de l'ovaire pour détecter la mutation ins6kb Ex13 de BRCA1. La même mutation était détecté chez une femme ayant hérité de sa mère une duplication de 6 kb de l'exon 13 (ins6KbEx13) dans le gène BRCA1 (Melinda et *al.*, 2008). Aussi selon les travaux de Brank et *al.*(2005) qui ont été fait au nord-américains pour déterminer la prévalence de cinq mutations du réarrangement du gène BRCA1, Les résultats obtenus chez 2 634 porteurs de mutation, ont montré une duplication de 6 kb de l'exon 13 du gène BRCA1. Il est intéressant de noter que la duplication de l'exon 13 a également été observée chez des patientes d'origines diverses, notamment afro-américaines, latino-américaines/caraïbes, d'Europe centrale/de l'Est et allemandes (**Brank et al., 2005**).

Partie pratique

Notre étude été effectuée sur un échantillon de taille restreinte (3 patientes) peut être c'est la raison pour laquelle nous n'avons pas trouvé les anomalies retrouvés dans la littérature, aussi nos patientes ont peut être des altérations sur les autres exons des gènes BRCA1 et/ou BRCA2.

V. Conclusion et perspective

Notre travail comporte deux volets, une étude épidémiologique rétrospective et une étude prospective. Les résultats de l'étude épidémiologique montre que cette pathologie est grave vue son âge de survenue. L'âge est le facteur de risque le plus important surtout chez les patientes porteuses de mutation BRCA1 ou ayant des antécédents familiaux. Nous avons noté aussi la prédominance du carcinome canalaire infiltrant chez 70,75% des patientes avec gravité élevé de grade 2 et 3.

Concernant les contraceptifs, la majorité des études publiées n'ont pas retrouvé d'élévation du risque de cancer du sein liés à la contraception orale. Nous avons noté également que la positivité de récepteurs hormonaux est un facteur de bon pronostic. Les récepteurs HER2 joue quant à eux un rôle essentiel dans le choix de la thérapie.

5% des cancers du sein sont liés à une prédisposition génétique. Les mutations les plus fréquentes touchant le gène BRCA1 sont impliquées dans 80% de cancer du sein. Il a été identifié sur plusieurs études de mutation de type ins6KbEx13 dans l'exon 13 alors que notre étude sur les séquences de l'exon 13 des trois patientes n'a détectée aucune modification au niveau de cet exon.

Perspectives

- Il nous manque plusieurs paramètres épidémiologiques dans cette étude tels que : l'allaitement, l'âge de la première grossesse et le siège de la tumeur. Dans l'avenir il serait intéressant d'étudier ces facteurs.
- Nos résultats concernant l'étude prospective peuvent être dus à la taille restreinte de notre échantillon, dans l'avenir il serait préférable d'augmenter le nombre des patientes pour obtenir des résultats plus concluants.
- Le gène BRCA1 est de grande taille et les altérations génétiques peuvent être localisées dans n'importe quel exon de ce gène, il faut séquencer tout le gène pour augmenter la chance de détecter ces altérations.

Les références bibliographiques

Anja R., Chang-Claude J & Schmidt M.K., 2016. Gene environment interaction and risk of Breast cancer. *British journal of cancer*, 114(2), 125-133.

Antonie M., Teilhac F., Poulet B & Cros J., 2010. De la cellule mammaire normale à la cellule cancéreuse, 34(1), 0–22

Bartkova J., Horejsi Z & Koed K., 2005. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*, 434(7035), 864–870

Bastian D., 1999. Développement et anatomie du sein normal. *Le sein. Editions ESKA, Paris*, p21-24.

Bekkouche N., (2018).population masculine au sein des familles avec mutation germinale dans le gène BRCA1 et BRCA2 aspects cliniques et pathologique des cancers. Thèse de doctorat. Sciences Biomédicales. Faculté de médecine. Université de Montréal .p 11

Belyi, V. A., Ak, P., Markert, E., Wang et al., 2010. The origins and evolution of the p53 family of genes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(6), a001198.

Boisserie-Lacroix M., Hurtevent-Labrot G., Ferron S., Bonnefoi H. et al., 2013. Corrélations imagerie-classification moléculaire des cancers du sein. *Journal de Radiologie Diagnostique et Interventionnelle*, 94(11), 1071–1083.

Bonadona V & Lasset C., 2003. Prédispositions héréditaire au cancer du sein. Après BRCA1 et BRCA2, quel (s) autre (s) gène (s) ?, 90(7), 587-594

Børresen-Dale A., 2003. TP53 and breast cancer. *Human mutation*, 21(3), 292-300.

Broek A., Urbanus, J. H., Floore A. N., Dahler E. C. et al., 2000. ATM-heterozygous germline mutations contribute to breast cancer–susceptibility. *The American Journal of Human Genetics*, 66(2), 494-500. .

Bubien v., 2016. Identification de nouveaux gènes de prédisposition héréditaire au cancer du sein par génotypage tumoral et séquençage de nouvelle génération : thèse de doctorat :Génétique. Université de Bordeaux, P50-57 .

Buxeraud J., Fougere É., 2020. Les médicaments du cancer du sein. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(598), 14-17.

Capuana L., 2019. Role of PTEN during collective cell migration .thèse de doctorat. Cellular Biology. Sorbonne université. P 44-48 .

Chennell P., 2019. Cancer du sein féminin et prise en charge à l'officine. Thèse de doctorat. Université clermont Auvergne UFR de pharmacie. P.14-30

Clark S.L., Roudriguez A.M., Snyder R.R., Hankins G. et al., 2012. STRUCTURE-FUNCTION OF THE TUMOR SUPPRESSOR BRCA1. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 1(1), 1–8.

Clere N & Faure S, 2018. L'hormonothérapie anticancéreuse. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(578), 8-11.

Clere N., 2016. *Les traitements du cancer du sein. Actualités Pharmaceutiques*, 55(558), 20–25.

Cohen-Haguenauer O., 2019. Prédilection héréditaire au cancer du sein (1). *médecine/sciences*, 35(2), 138–151

Cohen-Haguenauer O., 2019. Predisposition héréditaire au cancer du sein (1). *Génétique*, 35(2), 51-138.

Corgne A., 2016. Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge du cancer du sein après chirurgie mammaire. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie de Dijon.p.20

Dekeuxer C., 2013. Transmission des informations médicales et projet d'enfant : le conseil génétique dans le contexte du rétinoblastome et du cancer du sein et des ovaires dit héréditaire. *Éthique & Santé*, 10(1), 34–42.

Delozier T., 2010. Hormonothérapie du cancer du sein. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 39(8), 71-78.

Donna T.G., 2007. Inside the Lactating Breast: The Latest Anatomy Research, 52(6), 556-563

Ellis H., Mahadevan V, 2013. Anatomy and physiology of the breast. *Surgery (Oxford)*, 31(1), 11-14.

Espié M., Hamy S.A., Eskenazy S., Cuvier C. et al., 2012. Epidémiologie du Cancer du Sein. *EMC-Gynécologie*, 7(4), 1-17

Espié M., Hocini H, Cuvier C., Giacchetti S. et al., 2005. Cancer lobulaire in Situ du Sein. Particularités diagnostiques et évolutives, 33(12), 0- 969

- Faure S.,** 2015. Thérapies ciblées anticancéreuses (1/2). *Actualités pharmaceutiques*, 54(546), 57-61.
- Ferrandez J.C & Serin D.,** 2006. Réduction du cancer du sein : douleur et qualité de vie. France. Masson P.3-25
- Gruel N.,** 2013. Etude des altérations de la polarité et de l'adhésion cellulaire dans les cancers du sein. Thèse de doctorat. Sciences agricoles .Université Paris Sud-Paris XI .p7-8.
- Hans S.P & Hans K.,** 2013. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4 th Edition, Focusing on issues and updates from the 3rd Edition. *Breast Care*, 8(2), 149-154
- Harness J.K., Willey S & Shawna C.,** 2017. Operative Approaches to Nipple-Sparing Mastectomy. | *Nipple and Breast Anatomy*, 22(5), 11–19
- Harold E.,** 2007. *Anatomy of the breast*, 25(6), 251-253.
- Hoang-Lien N., Gilks-Blake C.,** 2017. Hereditary Breast and Ovarian cancer syndrome. *Advances in Anatomic pathology*, 25(2), 85-95.
- Jaber S.,** 2016. Impact des dérégulations de p53 : du syndrome Li-Fraumeni aux syndromes d'insuffisance médullaire héréditaire. Thèse de doctorat .Biologie moléculaire. Université Pierre et Marie Curie .P10-41.
- Jahanmohan J. P.,** 2019. Les cancers du sein agressifs: conséquences de la ménopause chimio-induite chez les femmes jeunes atteintes d'un cancer du sein non métastatique et facteurs pronostiques de la rechute du cancer du sein triple négatif. Thèse de doctorat. Biologie Santé –Physiologie .Pathologie (oncologie). Université Clermont Auvergne.P32-42.
- Kari Z.,** 2017. Etude épidémiologique de cancer du sein à Bouira et Boumerdes et recherche de facteurs de risque. Thèse de doctorat. Université Akli Mohand bouira.P.5-14
- Kastan M.B.& Bartek J.,** 2004. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432(7015), 316–323
- Kennedy D.A. , Lee T & Seely D.,** 2009. A Comparative Review of thermography as a Breast Cancer Screening Technique. *Integrative Cancer therapies*, 8(1), 9-16
- Khakbazan Z., Taghipour A., Latifnejad R.R., Mohammadi E., et al.,** 2014. HelpSeeking Behavior of women with Self- Discovered Breast Cancer Symptims : A Meta-Ethnographic Synthesis of patient Delay. *Plos ONE*, 9(12), 11-26

Kinkel K., 2017. Protocole abrégé en IRM mammaire : erreur ou certitude ?. *Imagerie de la Femme*, 27(2), 149–151

Klauning J., Kamendulis L & Lisa M., 2004. Annual review of pharmacology and toxicology , 44(1), 239-267.

Le carpentier J., 2012. Étude des facteurs modificateurs du risque de cancer du sein des femmes à risque génétique élevé .thèse de doctorat .Santé publique et épidémiologie. Université Paris Sud. P 47-48.

Livon D., Moretta J & Noguès C., 2019. Les femmes à haut risque de cancer du sein: quelle attitude?. *La Presse Médicale*, 48(10), 1092-1100.

Mirez A.J., Hunter M.S & Richards MA., 2002. Women's Knowledge and beliefs regarding breast Cancer, 86(9), 1373-1378.

Mongaret C & Sautou., 2016. Cancérogène et maladie cancéreuse, 22(2), 25-27.

Monier R & Tubiana M., 2008. Cancérogène. Accroissement des connaissances et évolution des concepts,10(5), 319–347.

Morère J. F., Aapro, M. S., Penault-Llorca, F & Salmon R, 2007. *Le cancer du sein*. Springer Paris .p8.

Moretta J., Berthet P., Bonadona V., Caron O et al., 2018. Recommandations françaises du Groupe Génétique et Cancer pour l'analyse en panel de gènes dans les prédispositions héréditaires au cancer du sein ou de l'ovaire. *Bulletin du Cancer*, 105(10), 907-917.

Muller E., 2017. Les défis du séquençage à haut débit dans l'exploration génétique des cancers du sein et de l'ovaire. Thèse de doctorat .Génétique humaine. Normandie Université,P 54-59 .

Narod S.A., 2010. Testing for CHEK2 in the cancer genetics clinic. Ready for time ?, 78(1), 1-7

Nevanlinna H & Bartek J., 2006. The CHEK2 gene and inherited breast cancer susceptibility, 25(43), 5912–5919

- Nguyen-Dumont B.**, (2010). Study of differential allelic expression in the breast cancer intermediate-risk susceptibility genes CHEK2, ATM and TP53. Thèse de doctorat . Lyon 1 .P32-34.
- Nkondjock A & Ghadirian P.**, 2005. Facteurs de risque du cancer du sein. médecine/sciences, 21(2), 175–180.
- Nogaret J.M.**, 2010. Le cancer du sein : un regard optimiste vers l’avenir. France. Academia Bruylant.P.15-18
- Ouedrago P.A., Kouame N., Ngoan D & Kouame K.**, 2013. La pratique de l’IRM mammaire au centre hospitalier de Chambéry. Médecine Nucléaire, 37(10-11), 486–489
- Pandya A., Sonali E & Richard G.**, 2011. Breast development and anatomy clinical obstriccs and gynecology; 54(1), 91-95.
- Penault-Liorca F.**, 2014. Evolution de la classification des cancers du Sein. Biologie Aujourd’hui, 208(4), 251-259
- Perrine M.**, 2000. Apport du conseil génétique dans la prise en charge des pathologies constitutionnelles du globule rouge, 2000(324), 63–66
- Pharoah P.D., Day N.E & Caldas C.**, 1999. Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *British journal of cancer*, 80(12), 1968-1973.
- Pruthi S., Gostout B., Lindor N & Noralane M.**, 2010. Identification and Management of Women With BRCA Mutations or Hereditary Predisposition for Breast and Ovarian Cancer. Mayo Clinic Proceedings, 85(12), 1111–1120
- Renault A.L.**, 2017. Identification de facteurs génétiques modifiant le risque de cancer chez les porteuses d'une mutation constitutionnelle d'ATM & profil tumoral des tumeurs du sein associées à une perte de fonction d'ATM. Thèse de doctorat .Biochimie et Biologie Moléculaire. Université Paris-Saclay .P 61-63 .
- Rivlin N ., Brosh R ., Oren M & Rotter V.**, 2011. Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis. *Genes & Cancer*, 2(4), 466-474.
- Roger M.**, 2000. Aspects fondamentaux : mécanismes de cancérogenèse et relation dose–effet. , 323(7), 0–610.

Stevens R. E., 2005. Radiotherapy for In Situ, Stage I, and Stage II Breast Cancer. In Breast cancer (pp. 499-536). Churchill Livingstone.

Stolarova L., Lenka K., Jantova M., Soukupova J. et al., 2020. *CHEK2 Germline Variants in Cancer Predisposition: Stalemate Rather than Checkmate. Cells, 9(12), 2675–2688*

Tatfi M., 2019. Rôle de la protéine ATM dans la régulation des gènes de latences du virus d'Epstein-Barr (EBV) .thèse de doctorat .Université Paris Saclay (COMUE).P 18-19

Van –Orsouw N. J., Dhanda R. K., Elhaji Y., Narod S. A et al., 1999. A highly accurate, low cost test forBRCA1 mutations. *Journal of medical genetics, 36(10), 747-753.*

ViassoloV., Ayme, A., & Chappuis P. O., 2016. Cancer du sein: risque génétique. *Imagerie de la Femme, 26(2), 95-104.*

Wang L., 2017. Early Diagnosis of Breast Cancer. *Sensors, 17(7), 1572-1579*

Znati K., Bennis S., Abbass F., Akasbi Y. et al., 2014. Cancer du sein chez la femme jeune dans le Nord-Est du Maroc. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité, 42(3), 149–154*

Annexes

Annexe 01 : Questionnaire utilisé

Fiche des patientes atteintes du cancer du sein

Le présent questionnaire qui vous est adressé s'inscrit dans le cadre d'une étude sur le cancer du sein, il est destiné à accueillir des informations qui seront exploitées à des fins exclusivement scientifiques.

*** Merci pour votre participation ***

Questionnaire		cancer du sein		
Date de prélèvement : / ... /	N° de patientes :			
Nom :	Prénom :	Age :	Adresse :	
Profile épidémiologique :				
Taille :	Poids :	IMC :		
Profession :	Age de diagnostic :			
Statut hormonal :	Activité génitale <input type="checkbox"/>	Age de ménarche :		
Cycle régulier / irrégulier				
Cycle ≤ à 24 jrs <input type="checkbox"/>				
Cycle de 25 à 31 jrs <input type="checkbox"/>				
Cycle ≥ à 32 jrs <input type="checkbox"/>				
Ménopausée :	oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Age de ménopause :	
Situation familiale :	mariée <input type="checkbox"/>	Célibataire <input type="checkbox"/>	veuve <input type="checkbox"/>	Divorcé <input type="checkbox"/>
ATCD personnel :				
Age de mariage :				
Nombre d'enfant :				
Age de première grossesse :				
Allaitement au sein :	oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Durée :	
Contraception orale :	oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Durée : Type :	
Fausse couche :	oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	nombre : Age de grossesse :	
D'autres maladies :				
Traité :	oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>		

Annexe 02 : Les étapes de l'extraction d'ADN

Préparation des leucocytes

- Dans un tube flacon de 50 ml. Mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20 : 5 laissez 10 min dans la glace
- centrifuger 10 min à 3900 g
- aspirez le surnageant avec la trompe à vide
- ajoutez quelque ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pastette
- compléter à 25ml avec du TE 20 : 5 et laissez 10 min dans la glace
- centrifugez dans les mêmes conditions de la première fois
- aspirez le surnageant avec la trompe à vide ➡ obtention du culot des leucocytes

Extraction de l'ADN

- Transvasez le culot du leucocyte dans tube flacon de 15 ml.
- ajoutez 3ml de tampon de lyse (Na cl 400mM ; EDTA 2mM ; Tris 10mM ; pH 8,2).
- ajoutez 200µl de SDS à 10 %.
- ajoutez 100 µl de protéinase k à 10 mg / ml.
- agitez le tube sur roue à 37 °C une nuit.
- Le lendemain, refroidir dans la glace.
- Ajoutez 1ml de Nacl 4M et agitez vigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifugez 15 min à 2500 rpm .
- Transvasez le surnageant dans un tube de falcon de 15µl, ajoutez 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la formation de la méduse visible à l'œil nu (Laissez éventuellement 30 min à 20°C (si la pelote ne se forme pas)
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans éthanol à 70% .
- mettre la pelote dans un tube nunc

Solubilisation :

- Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE 10 :1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- laisser une nuit sur un agitateur rotateur à 37°C, puis température ambiante jusqu'à dissolution Complète (de 1 jusqu'à 3 jrs).

Annexe 03 : composition du mix réactionnel de PCR

Mix PCR	Volume en μL / échantillon	Nombre d'échantillon + Blanc
Tampon (10X)	2,5 μL	12,5 μL
MgCl ₂ (25mM)	2 μL	10 μL
Amorce F (10 μM)	0,5 μL	2,5 μL
Amorce R (10 μM)	0,5 μL	2,5 μL
Taq Gold /optimase	0,2 μL	1 μL
H ₂ O	14,3 μL	71,5 μL
dNTP (1,5 mM)	4 μL	20 μL

ADN 1 μL + 24 μL de mix

Pour un volume réactionnel final = 25 μL

Annexe 4 : programme des PCR du gène BRCA1

Étapes PCR	Taq Gold
Activation	95°C - 5min
Dénaturation	94°C - 60 s
Hybridation	60°C - 60 s
Elongation	72°C - 60 s
Elongation finale	72°C – 10 min

Répétition des étapes 2.3 et 4 pendant 35 cycles

Contrôle de la PCR sur gel d'agarose à 1,5 %

Annexe 05 :

Purification

Binding Buffer + 10 ml isopropanol.

-Wash Buffer +64 ml Ethanol.

- 1 Volume de produit PCR +4 Volume Binding Buffer.

-Ensuite centrifuger (12000t/min) pendant 1min.

-Ensuite ajouter 650 μL de wash Buffer puis centrifuger (12000t/min) 1 à 2 min.

-puis Elution Buffer +50 μL reps et centrifuger (12000t/min).

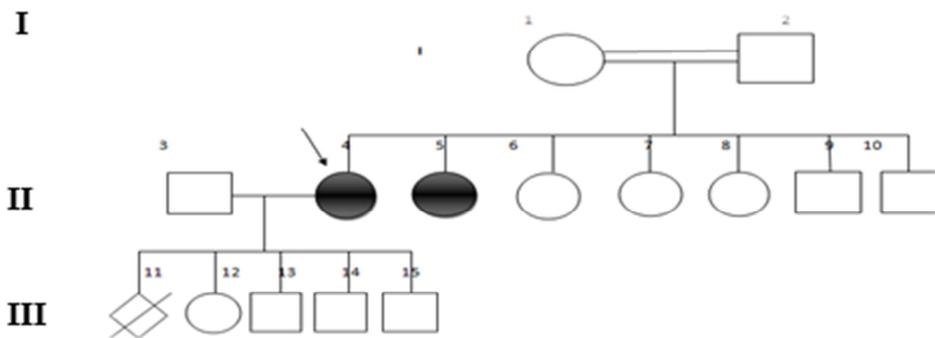
Annexe 06 :

Gène BRCA1

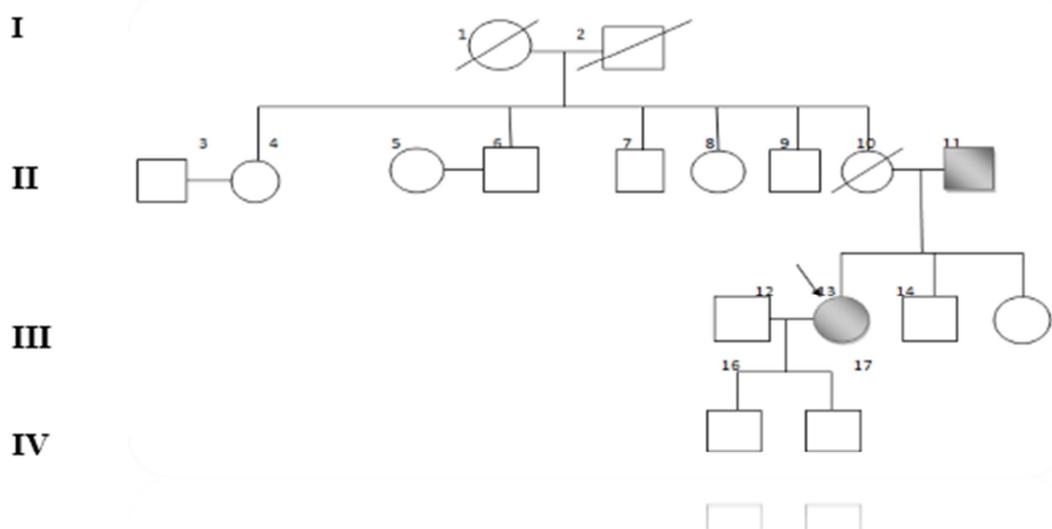
Exon 13 :

```
46081 gtatgatata ttttcattta atggaaagct tctcaaagta tttcattttc ttggtgcat  
46141 ttatcgtttt tgaagcagag ggataccatg caacataacc tgataaagct ccagcaggaa  
46201 atggctgaac tagaagctgt gftagaacag catgggagcc agccctctaa cagctaccct  
46261 tccatcataa gtgactcttc tgccttgag gacctgcaa atccagaaca aagcacatca  
46321 gaaaaagggtg tgtattggtg gccaaacact gatattctaa gcaaaattct ttccttccc
```

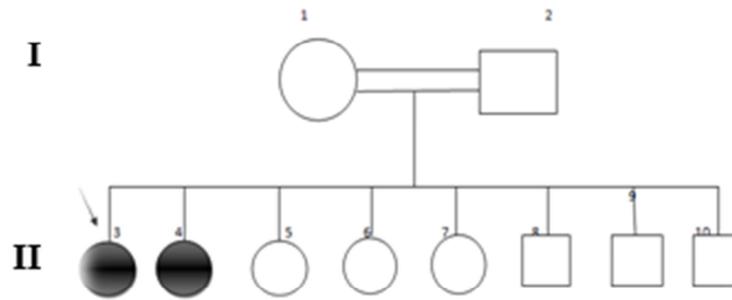
Annexe 07 : Arbres généalogiques des trois familles étudiées



Arbre généalogique de la famille F1 .



Arbre généalogique de la famille F2.



Arbre généalogique de la famille F3 .

الملخص

سرطان الثدي هو المرض الخبيث الأكثر شيوعاً عند النساء يغطي عملنا جزئياً حيث يتكون الجزء الأول في تحديد معايير وبائية و سريرية معينة تتعلق بسرطان الثدي لدى المرضى و لديهم تاريخ عائلي باستخدام سجلاتهم الطبية . كشفت الدراسة أن سرطان الثدي يصيب هؤلاء النساء في سن مبكرة (بين 30 و 50 عاماً) (57,14%) غالبية هؤلاء المرضى مصابون بسرطان الأفتنية الارتشاحي (71,42%) و هم من الدرجة الثانية و الثالثة من SBR. الملف الجيني و الجزئي لمرضى سرطان الثدي و لديهم تاريخ عائلي من الدرجة الأولى . بدأنا بمرضانا الثلاثة من أجل البحث عن تعديلات على exon13 من جين BRCA1 الذي يهيئ للإصابة بسرطان الثدي . بعد مقارنة التسلسلات الثلاثة ل exon 13 لمرضانا التي تم الحصول عليها عن طريق التسلسل مقابل التسلسل الرجعي، لم يتم الكشف عن أي تعديل و كانت القطعة الدالة لهم سليمة . استبيان مباشر لبحث عوامل الخطر و إنشاء شجرة العائلة. ثم الانتقال إلى تقنيات الاستخراج و PCR و التسلسل من الحمض النووي.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي ، الاستعداد الوراثي ، جين BRCA1 ، التسلسل .

Abstract

Breast cancer is the most frequent malignant pathology in women. Our work deals with two parts, the first epidemiological is to determine some epidemiological and clinical parameters related to breast cancer in 21 patients with breast cancer and have a family history using their medical records. The study reveals that breast cancer affects these women at an early age (between 30 and 50 years) (57,14 %) the majority of these patients have infiltrating ductal carcinoma (71,42%) and are grade SBR 2 and 3.

The second is to study the genetic and molecular profile of patients with breast cancer and have a family history of 1st degree. We started with the direct questionnaire to look for risk factors and to establish the family tree. Then we proceeded with the extraction, pcr and sequencing techniques using the DNA of our three patients in order to look for modifications at exon 13 of the BRCA1 gene predisposed to breast cancer. After comparison of the three sequences of exon 13 of our patients obtained by sequencing against the reference sequence no modification was detected and the exon 13 of each patient was intact.

Keywords: Breast cancer, genetic predisposition, BRCA1 gene, sequencing.

Résumé

Le cancer du sein est la pathologie maligne la plus fréquente chez la femme. Notre travail porte sur deux parties, la première épidémiologique et consiste à déterminer certains paramètres épidémiologiques et cliniques liés au cancer du sein chez 21 patientes atteintes d'un cancer du sein et ayant des antécédents familiaux en utilisant leur dossier médical. L'étude révèle que le cancer du sein touche ces femmes à un âge précoce (entre 30 et 50 ans) (57,14%) la majorité de ces patientes ont un carcinome canalaire infiltrant (71,42%) et sont de grade SBR 2 et 3.

La seconde est d'étudier le profil génétique et moléculaire des patientes atteintes d'un cancer du sein et ayant une histoire familiale de 1er degré. Nous avons commencé par le questionnaire direct pour rechercher les facteurs de risque et établir l'arbre généalogique. Puis nous avons procédé aux techniques d'extraction, de PCR et de séquençage à partir de l'ADN de nos trois patientes afin de rechercher les modifications de l'exon 13 du gène BRCA1 prédisposant au cancer du sein. Après comparaison des trois séquences de l'exon 13 de nos patientes obtenues par séquençage contre la séquence de référence aucune modification n'a été détectée et l'exon 13 de chaque patient était intact.

Mots-clés : Cancer de sein, prédisposition génétique, BRCA1, séquençage.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par **Neffaf Radia**
Bougherara oumaima
Keniouche Nedjma

La prédisposition Génétique du gène *BRCA1* au Cancer du sein

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Résumé

Le cancer du sein est la pathologie maligne la plus fréquente chez la femme, cette pathologie reste la principale cause de mortalité féminine en Algérie et dans le monde et demeure un problème majeur de santé publique.

Objectifs

Deux études ont été fait, l'une rétrospective épidémiologique et l'autre prospective moléculaire sur des patientes atteintes d'un cancer du sein de différents stade et type. Notre objectif c'est de déterminer les facteurs de risques du cancer du sein d'une part et d'autre part de rechercher des éventuelles altérations génétiques au niveau de l'exon 13 du gène *BRCA1* prédisposant au cancer du sein chez 3 patientes par la mise au point de la PCR et le séquençage

Méthode

Une étude rétrospective effectuée sur 127 patientes à partir de leurs dossiers médicaux dont 21 patientes avec des antécédents familiaux. Le séquençage de l'exon 13 du gène *BRCA1* réalisé chez 3 patientes.

Résultats

L'âge est le facteur de risque le plus important, l'apparition de cancer du sein augmente avec l'âge alors que le cancer du sein familial apparait à un âge précoce. Le carcinome canalaire infiltrant est le plus fréquent chez 71,42 % des patientes et le grade SBR est de 2 et 3 dans la majorité des cas.

L'étude moléculaire ne montre aucune modification au niveau de l'exon 13 du gène *BRCA1* et les trois séquences de l'exon 13 de notre patientes sont intactes.

Conclusion

D'autres études sur des échantillons plus larges seront nécessaires pour de détecter les altérations génétiques. Afin de chercher des modifications sur le gène *BRCA1* et son association avec cancer du sein il faut séquencer tout le gène.

Mots-clés : Cancer du sein, prédisposition génétique, BRCA1, Exon13, PCR, séquençage

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie et génétique moléculaire. Faculté de médecine. Université Constantine 3

Encadreur :	Hanachi Sabah	Pr CHU Constantine
Examineur 1 :	Sifi Karima	Pr CHU Constantine
Examineur 2 :	Zekri Salima	Maitre assistante EPH Daksi