

## **SOMMAIRE**

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE : RAPPELS.....</b>	<b>4</b>
<b>I- Anatomie du sein.....</b>	<b>5</b>
I-1-Configuration externe.....	5
I-2-Configuration interne.....	5
I-3-Rapports avec les autres organes.....	6
<b>II-Physiologie du sein.....</b>	<b>7</b>
II-1-Avant la puberté.....	8
II-2- Pendant la puberté.....	8
II-3- Pendant le cycle menstruel.....	8
II-4- Pendant la grossesse.....	8
II-5- Pendant la lactation.....	9
II-6- A la ménopause.....	9
<b>III-Histopathologie du cancer du sein.....</b>	<b>10</b>
III-1-Aspects macroscopiques des tumeurs.....	10
III-2- Aspects cytologiques.....	10
III-2-1- Classification histologique.....	10
III-2-1-1- Tumeurs épithéliales non infiltrantes.....	12
III-2-1-2- Tumeurs épithéliales infiltrantes.....	13
III-2-2- Classification clinique des cancers du sein.....	16
III-2-3- Classification SBR ou histopronostique.....	18
III-2-4- Classification prédictive.....	19
III-2-4-1- Evaluation des récepteurs hormonaux.....	19
III-2-4-2- Evaluation de l'expression de (HER2).....	19
<b>III-3-Diagnostic et traitement.....</b>	<b>20</b>
<b>    III-3-1- Diagnostic.....</b>	<b>20</b>
III-3-1-1-L'examen clinique.....	20
III-3-1-2-Les examens radiographiques.....	22
III-3-1-2-1- La mammographie.....	22

III-3-1-2-2- L'échographie mammaire.....	22
III-3-1-2-3-L'examen anatomopathologique .....	22
<b>III-3-2- Le traitement.....</b>	<b>23</b>
III-3-2-1- La chirurgie.....	23
III-3-2-2- La chimiothérapie.....	23
III-3-2-3- La radiothérapie.....	24
III-3-2-4- L'hormonothérapie.....	24
<b>IV- Epidémiologie du cancer du sein.....</b>	<b>25</b>
IV-1-Epidémiologie descriptive.....	25
IV-2- Les facteurs de risque.....	26
IV-2-1- L'âge.....	26
IV-2-2- Le sexe.....	27
IV-2-3- La vie génitale.....	27
IV-2-3-1-L'âge des premières règles.....	27
IV-2-3-2- Le nombre de jours de saignement.....	27
IV-2-3-3- L'âge à la ménopause.....	27
IV-2-3-4- L'âge de la première grossesse et la partie.....	28
IV-2-3-5-L'allaitement.....	28
IV-2-3-6-La Contraception Orale (CO).....	28
IV-2-3-7-Traitement Hormonal Substitutif (THS).....	28
IV-2-3-8-Obésité, diabète et syndrome métabolique.....	29
IV-2-3-9-Le risque histologique.....	30
IV-2-4- Les facteurs environnementaux.....	30
IV-2-4-1- L'alcool et le tabac.....	30
IV-2-4-2- Les radiations ionisantes.....	31
IV-2-5- Les facteurs génétiques.....	31
<b>V- Génétique du cancer du sein familial.....</b>	<b>31</b>
V-1- Les gènes majeurs.....	32
V-1-1- Les gènes BRCA1 et BRCA2.....	32
V-1-1-1-Généralités.....	32

V-1-1-2-Structures des gènes BRCA.....	33
V-1-1-3-Fonctions des gènes BRCA.....	33
V-1-1-3-1- La détection et la communication des dommages de l'ADN.....	34
V-1-1-3-2-La réparation de l'ADN.....	34
V-1-1-3-3- Le contrôle du cycle cellulaire .....	36
V-1-1-4- Mutation des gènes BRCA.....	37
V-1-2- Le gène p53.....	40
V-1-2-1-Généralités.....	40
V-1-2-2- Structure du gène p53.....	41
V-1-2-3-Structure et fonction de la protéine p53.....	41
V-1-2-4- Fonction et régulation.....	42
V-1-2-5- Mutation du gène p53.....	43
<b>V- 2- Les autres gènes.....</b>	<b>46</b>
<b>VI- Problématique de l'étude.....</b>	<b>47</b>
<b>DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE.....</b>	<b>49</b>
<b>I- Cadre d'étude et population .....</b>	<b>51</b>
I-1- Cadre d'étude.....	51
I-2- Population .....	51
<b>II-Méthodologie.....</b>	<b>53</b>
II-1-Extraction de l'ADN génomique.....	53
II-2- PCR-séquençage des exons cibles du gène BRCA1 .....	54
II-3- Génotypage du polymorphisme du codon 72 du gène p53.....	57
<b>III-</b>	
<b>Résultats.....</b>	<b>60</b>
III-1- Caractéristiques de la population d'étude .....	60
III-2- Mutations du gène BRCA1 dans les familles.....	66
III-3- Le gène p53 dans le cancer du sein.....	67

<b>IV-</b>	
<b>Discussion.....</b>	<b>73</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>77</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>81</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>90</b>

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

AA : acide aminé

ADN : Acide désoxyribonucléique

ATM : Ataxia Telangiectasia Mutated

ATR: ATM-related kinase

BRC / BRCT: BRCA1 C-terminal

BRCA1: Breast cancer1

BRCA2: Breast cancer2

CDH11: Cadherin11

Chk1 / Chk2 : Checkpoint kinase 1/2

DDB2 : Damaged-DNA binding protein p48

GADD45 : Growth arrest after DNA damage 45

HALD : Hôpital Aristide le Dantec

MRE11: Meiotic recombination 11

Nbs1: Nijmegen breakage syndrome 1

NHEJ : Non-homologous end joining

pb : Paire de base

PCR : Polymerase chain reaction

PTEN : Phosphatase and Tensine homologue

RAD50/51 : Radiation sensitivity abnormal 50 / 51

RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism

SKT11: Serine /Threonine kinase11

SNPs : single-nucleotide polymorphisms

THS : Traitement Hormonal Substitutif

TNF-alpha: Tumor necrosis factor-alpha

UV : Ultraviolet

ZBRK1: Zinc finger and BRCA1-interacting protein with a KRAB (KRuppel-Associated Box) domain

## **LISTE DES FIGURES**

**Figure 1 : Anatomie du sein**

**Figure 2 : Structure des gènes BRCA1 et BRCA2**

**Figure 3 : Détection et réparation des dommages de l'ADN ;**

**Figure 4 : Contrôle du cycle cellulaire**

**Figure 5 : Structure du gène p53**

**Figure 6 : La protéine p53 avec ses différents domaines**

**Figure 7 : La protéine p53 dans la régulation du cycle cellulaire**

**Figure 8 : Régulation des gènes suppresseurs de tumeur: exemple de p53**

**Figure 9 : Mutations du gène p53**

**Figure 10 : Electrophorégramme de séquençage**

**Figure 11 : Séquence du fragment d'ADN amplifié par PCR**

**Figure 12 : Arbre généalogique de la famille AS**

**Figure 13 : Arbre généalogique de la famille AB**

**Figure 14 : Arbre généalogique de la famille FY**

**Figure 15 : Photo de la PCR de l'exon 8 du gène BRCA1 visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%**

**Figure 16 : Photo de la PCR de l'exon 8 du gène BRCA1 visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%**

**Figure 17 : Photo de la PCR du gène p53 visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%**

**Figure 18 : Photo de digestion des produits PCR avec l'enzyme BstUI**

**Figure 19 : Ségrégation de l'allèle Arg dans la famille AB**

**Figure 20 : Ségrégation de l'allèle Arg dans la famille FY**

## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau I** : Classification histologique des cancers du sein selon l'OMS (2003)

**Tableau II** : Différentes mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 dans différentes populations

**Tableau III** : Les mutations les plus récurrentes des gènes BRCA1 et BRCA2 dans différentes populations

**Tableau IV**: Tampon de lyse des globules rouges

**Tableau V** : Tampon de lyse des globules blancs (tampon S.E)

**Tableau VI** : Tampon de lyse des protéines

**Tableau VII** : Tampon T.E

**Tableau VIII** : Mélange Phénol-chloroforme-alcool isoamylque

**Tableau IX** : Tampon de lyse des globules rouges

**Tableau X**: Liste des amorces des exons à amplifier

# **INTRODUCTION**

## **Introduction**

L'impact des cancers à l'échelle mondiale devient de moins en moins soutenable, tant le nombre de malades et de décès ont augmenté au cours des dernières années. Dans les pays développés, le cancer du sein est le premier cancer de la femme tandis qu'il occupe le second rang dans les pays en voie de développement. Il représente donc un problème de santé publique dans le monde. En 2010, selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le nombre de nouveaux cas serait estimé à 97.743 en Afrique avec une mortalité estimée à 52.855 [1, 2].

Au Sénégal à l'image des pays en voie de développement, la population subit les affres de ce cancer en termes d'incidence et de mortalité. Selon l'agence internationale de recherche sur le cancer, on dénombre plus de 853 cas de cancer du sein par an avec un taux de mortalité avoisinant les 50%. La plupart des femmes sont dépistées tardivement à un stade très avancé. De plus l'épidémie prend une allure particulière, avec un diagnostic à un âge de plus en plus jeune et sous une forme très agressive.

La majorité des cancers du sein sont sporadiques cependant 5 à 10% sont héréditaires et sont dus à une prédisposition génétique. Le mécanisme de la cancérogénèse dans les formes héréditaires implique le plus souvent des gènes suppresseur de tumeur parmi lesquels deux gènes majeurs, les gènes BRCA1 et BRCA2 [3]. L'identification de ces gènes dont certaines mutations confèrent un risque élevé de développer un cancer du sein a permis une meilleure compréhension des formes familiales de cancer du sein. Outre ces deux gènes il existe d'autres gènes impliqués dans la prédisposition au cancer du sein parmi lesquels on peut citer le gène p53 qui est également un gène suppresseur de tumeur. Plusieurs mutations du gène p53 ont été associées au cancer du sein sur différentes populations. Ces mutations ont été décrites sur les populations européennes, américaine, asiatique, mais rarement chez les populations africaines.

L'identification de mutations prédisposant au cancer du sein chez une patiente

ayant une histoire familiale de cancer devrait orienter vers une consultation d'oncogénétique pour une meilleure prise en charge mais surtout pour prévenir la survenue de ce cancer chez les autres membres de la famille porteurs de la mutation. Cette consultation est en routine dans les pays développés mais n'existe pratiquement pas en Afrique.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier le rôle des gènes BRCA1 et p53 dans la prédisposition aux formes familiales de cancer du sein au Sénégal. La présente étude a été réalisée au Laboratoire de Cytologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec en collaboration avec l'Institut Joliot Curie de l'Hôpital Aristide Le Dantec, l'unité d'immunogénétique de l'Institut Pasteur de Dakar et le laboratoire d'Oncogénétique de l'Institut Paoli-Calmette de Marseille en France.

## **PREMIERE PARTIE : RAPPELS**

## I- Anatomie du sein

### I-1- Configuration externe

Au nombre de deux, les seins occupent la partie antéro-supérieure du thorax de chaque côté du sternum, en avant des muscles pectoraux et en regard de l'espace compris entre la troisième et la septième côte. Cette situation varie en fonction de la forme et du type thoracique. Sur le plan morphologique, le sein est constitué de trois zones.

- La zone périphérique est lisse et se continue en dedans de l'aréole. Sa coloration est identique à celle de la peau adjacente.
- La zone intermédiaire appelée aréole est la zone de coloration rougeâtre et de forme circulaire située autour du mamelon.
- La zone centrale ou mamelon qui occupe le centre de l'aréole. Sa pigmentation est identique à celle de l'aréole. Les canaux galactophores y débouchent par des orifices.

### I-2-Configuration interne

Une coupe sagittale du sein en passant par le mamelon, permet de reconnaître de la surface vers la profondeur :

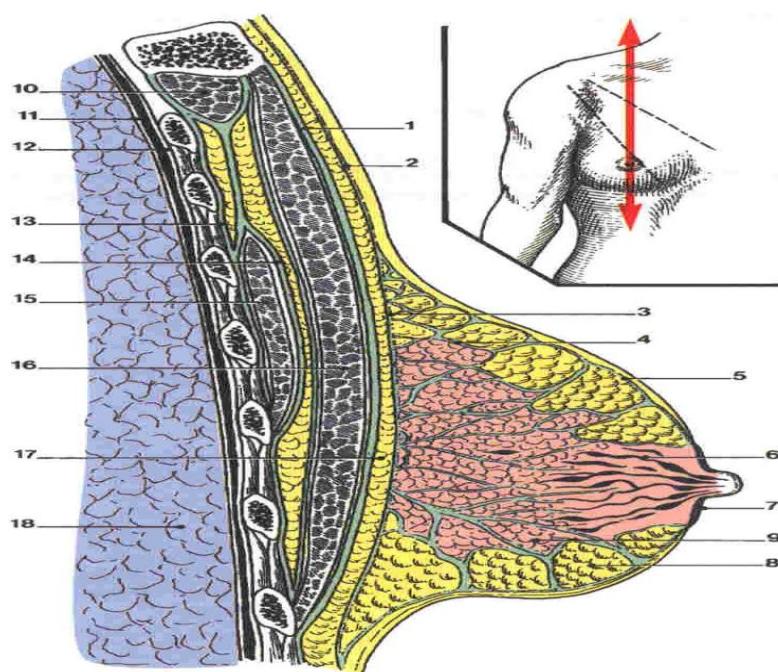
- L'enveloppe cutanée: qui comprend trois zones
  - La zone périphérique : le tissu cellulo graisseux pré-mammaire occupe ce plan
  - La zone moyenne aréolaire: la peau y est fine et mobile doublée du muscle aréolaire (muscles peauciers)
  - La zone centrale ou mamelon: son axe est occupé par les canaux galactophores entourés de fibres conjonctives élastiques et des fibres musculaires lisses.
- Corps mammaire ou glande mammaire : il est enveloppé par une mince lame de tissu conjonctif, la capsule, qui est composée de plusieurs lobes indépendants les uns des autres.

- La couche de cellule adipeuse dite rétromammaire. Elle est séparée du corps mammaire par la lame pré-mammaire du fascia superficialis thoracique.

### I-3- Rapports avec les autres organes

Situé en avant des muscles pectoraux et en regard de l'espace compris entre la troisième et la septième côte, la glande mammaire est rattachée aux structures de son voisinage.

- En avant la glande mammaire est rattachée à la peau grâce aux crêtes de Duret. Ces crêtes sont de structure fibroglandulaire constituée du feuillet superficiel du fascia superficialis et de prolongement de tissus conjonctifs. L'espace à travers les crêtes entre la peau et la glande mammaire est rempli par du tissu adipeux sans qu'il y ait une vraie zone de séparation.
- En arrière, la glande mammaire est rattachée à la paroi thoracique par la bourse séreuse de Chassaignac constituée en avant par le feuillet postérieur du fascia superficialis et en arrière par le fascia prépectorale. Il s'agit d'un plan de clivage postérieur rétro-glandulaire facilement individualisable, traversé par des vaisseaux performants [3] (**figure 1**).



## **Figure 1 : Anatomie du sein**

**1.** fascia pectoral, **2.**fascia superficialis thoracique (f.s.t), **3.**lame rétro-mammaire du f.s.t, **4.**ligament suspenseur du sein, **5.**lame pré-mammaire du f.s.t, **6.**conduits lactifères, **7.**aréole mammaire, **8.**couche graisseuse pré-mammaire, **9.**lobe mammaire, **10.**muscle.subclavier, **11.**plèvre, **12.**fascia endothoracique, **13.**fascia thoracique profond, **14.**fascia clavi-pectoral, **15.**muscle.petit pectoral, **16.**muscle.grand pectoral, **17.**Espace celluleux rétro-mammaire, **18.**poumon.

## **II- Physiologie du sein**

Les variations fonctionnelles du sein sont hormono-dépendantes. L'organisation tissulaire et l'activité épithéliale sont le résultat d'un équilibre entre les influences des hormones sexuelles (estrogènes et progestérone), de la prolactine, de l'hormone de croissance et de facteurs de croissance divers (EGF, insuline, IGF-1). A un moindre degré, les glucocorticoïdes et les minéralocorticoïdes peuvent également intervenir[4]. Ces variations fonctionnelles évoluent avec l'âge.

### **II-1-Avant la puberté**

Dans les jours qui suivent la naissance une sécrétion se produit dans les tubulo-alvéoles des lobules avec parfois un écoulement aux mamelons appelé « crise néonatale ». La régression se fait en une à deux semaines. Pendant l'enfance et jusqu'à la puberté, le système canaliculaire excréteur de la glande mammaire est rudimentaire et les tubulo-alvéoles sont absents [5].

### **II-2-Pendant la puberté**

Pendant la puberté et au cours des cinq à dix années suivantes, une prolifération intense du tissus épithelial et du stroma sous l'effet conjoint des estrogènes et de la progestérone, ainsi que des facteurs de croissance, accompagne la mise en place des structures glandulaires, des canaux, des canalicules et des lobules, en particulier de l'unité terminale ductulo-lobulaire

(UTDL), siège des cancers du sein. Cette prolifération épithéliale intense post pubertaire correspond aussi à une sensibilité élevée aux différents effets des carcinogènes, (produits chimiques, contraception orale, tabagisme précoce...) [6].

### **II-3-Pendant le cycle menstruel**

Les modifications au cours du cycle menstruel sont surtout nettes pendant la phase lutéale et sont marquées par une prolifération des acini, une ébauche de sécrétion dans certains territoires glandulaires et une infiltration oedemateuse lymphocytaire et monocytaire du tissu conjonctif. Cette modification se manifeste parfois cliniquement par une hypertrophie douloureuse des seins, c'est la mastodynies du syndrome prémenstruel. Après les règles les acini et l'infiltration oedemateuse régressent [4].

### **II-4- Pendant la grossesse**

Pendant les 5 premiers mois de gestation, la glande se congestionne: les vaisseaux se dilatent et l'appareil lymphatique s'hypertrophie. Les canaux et les acini prolifèrent ce qui réduit d'autant la proportion de tissu interstitiel fibro-adipeux. Une activité mitotique importante s'installe, c'est la phase cinétogène. Les derniers mois de la grossesse correspondent à la phase colostrogène, marquée par une réduction de l'activité mitotique, une accumulation de graisses et de granulations basophiles au niveau du pôle apical des cellules acineuses et l'apparition dans les tubes des corpuscules de Donné, grands éléments cellulaires de 10 à 40 microns, pourvus de 1 à 2 noyaux avec un protoplasme bourré de graisse [4].

### **II-5-Pendant la lactation**

Dans la période postnatale, les acini sont le siège de la sécrétion colostrogène qui atteint son maximum au 8<sup>e</sup> jour du post-partum. C'est à ce stade que débute la sécrétion de colostrum qui peut dans certains cas débuter dès les premiers mois de la grossesse. Pendant l'allaitement, les corps de Donné et les leucocytes disparaissent. Le tissu interstitiel disparaît presque complètement. Les cellules

acineuses en sécrétant le lait, passent par trois stades:

- un stade d'élaboration,
- un stade d'excrétion pendant lequel les cellules acineuses se trouvent décapitées et le pôle apical tombe dans la lumière. Cette modification des cellules se produit sous l'effet du microtraumatisme que provoque la succion.
- Le troisième stade est un stade de régénération.

Pendant le sevrage, on observe la régression des acini et la reconstitution du tissu fibro-adipeux [4].

## **II-6-A la ménopause**

La survenue de la ménopause ne correspond pas au début de l'involution mammaire. Celle-ci a débuté bien avant, vers l'âge de 35 ans, en rapport avec un mécanisme de vieillissement, probablement sous contrôle génétique. La chute brutale d'œstradiol ovarien ne fait qu'accentuer ce phénomène d'involution histologique [6]. Les acini disparaissent progressivement, les cellules épithéliales et myoépithéliales s'atrophient alors que la membrane basale s'épaissit. Le tissu conjonctif subit aussi une évolution avec altération des fibres élastiques et collagènes aboutissant à une apoptose mammaire. Le tissu adipeux se développe (involution adipeuse), favorable au dépistage du cancer du sein [4]. Cliniquement, les seins changent: ils deviennent souples, les tensions et les sensibilités mammaires régressent, puis disparaissent en l'absence de stimuli hormonaux endogènes ou exogènes [6].

## **III- Histopathologie du cancer du sein**

Le cancer du sein est défini comme une croissance relativement autonome de tissu néoformé au niveau de la glande mammaire. Maladie génétique de la cellule, le cancer du sein est dû à des mutations de gènes qui surviennent pour la plus part au cours du processus tumoral.

### **III-1- Aspects macroscopiques des tumeurs**

L'aspect des tranches mammaires prélevées est variable selon l'âge de la tumeur. La tumeur récente est de petite taille souvent enfouie dans un foyer

dysplasique ou située sur un de ses bords. Lorsque la tumeur est plus grande, son examen à l'œil nu révèle jusqu'à un certain point sa tendance à l'invasion.

### **III-2- Aspects cytopathologiques et classification des carcinomes**

L'examen anatomopathologique permet d'établir le diagnostic de malignité sur les prélèvements de cytologie, des biopsies et sur les pièces opératoires. Cet examen permet de faire une classification des tumeurs du sein. Cette classification est importante pour établir le pronostic et guider le traitement.

La classification des cancers du sein a été réalisée par l'Organisation Mondiale de la Santé(OMS) en 2003. Il existe plusieurs classifications, une classification histologique, une classification clinique (TNM), une classification histopronostique et une classification prédictive.

#### **III-2-1- Classification histologique**

Cette classification est présentée sur le **tableau I**.

**Tableau I : Classification histologique des cancers du sein selon l'OMS  
(2003) [7]**

<b>Tumeurs épithéliales</b>
<b>Tumeurs épithéliales non infiltrantes</b>
Carcinome canalaire in situ (CCIS)
Carcinome lobulaire in situ (CLIS)
<b>Tumeurs épithéliales infiltrantes</b>
<b>Carcinome infiltrant de type non spécifique (canalaire TNS)</b>
• Carcinome de type mixte
• Carcinome pléomorphe
• Carcinome avec cellules géantes ostéoclastiques
• Carcinome avec aspects choriocarcinomateux
• Carcinome avec aspects mélanocytaires
<b>Carcinome lobulaire infiltrant</b>
<b>Carcinome tubuleux</b>
<b>Carcinome cribiforme infiltrant</b>
<b>Carcinome médullaire</b>
<b>Carcinome produisant de la mucine</b>
• Carcinome mucineux
• Cystadénocarcinome et carcinome à cellules cylindriques sécrétantes
• Carcinome à cellules en bague à chaton
<b>Tumeurs neuroendocrines du sein</b>
• Carcinome neuroendocrine de type solide
• Carcinoïde atypique
• Carcinome à petites cellules
• Carcinome neuroendocrine à grandes cellules
<b>Carcinome papillaire infiltrant</b>
<b>Carcinome micropapillaire infiltrant</b>
<b>Carcinome apocrine</b>
<b>Carcinome métaplasique</b>
• Carcinome métaplasique de type épithelial pur
◦ Carcinome épidermoïde
◦ Adénocarcinome avec métaplasie à cellules fusiformes
◦ Carcinome adénoquaméus
◦ Carcinome mucoépidermoïde
• Carcinome métaplasique mixte à composante épithéliale et conjonctive
<b>Carcinome à cellules riches en lipides</b>
<b>Carcinome sécrétant</b>
<b>Carcinome oncocytaire</b>
<b>Carcinome adénoïde kystique</b>
<b>Carcinome à cellules acineuses</b>
<b>Carcinome à cellules claires (riches en glycogène)</b>
<b>Carcinome sébacé</b>
<b>Carcinome inflammatoire</b>
<b>Lésions myoépithéliales</b>
<b>Tumeurs mésenchymateuses</b>
<b>Tumeurs fibroépithéliales</b>
<b>Tumeurs du mamelon</b>
<b>Lymphomes malins</b>
<b>Tumeurs métastatiques</b>

Plusieurs types histologiques mentionnés au niveau du tableau sont décrits ci-dessous comme étant les types les plus fréquemment rencontrés.

### **III-2-1-1- Tumeurs épithéliales non infiltrantes**

#### **❖ Carcinome intracanalaire ou canalaire in situ (CCIS)**

Le CCIS est caractérisé par une prolifération anormale des cellules épithéliales qui ne dépassent pas la membrane basale du système ductulo-glandulaire, avec une préiction pour les unités terminales du système ductulo-lobulaire.

Il existe différents sous -types architecturaux qui ont peu d'indication pronostique par eux-mêmes (comédocarcinome, massif, cribiforme, micropapillaire et campon ou métaplasie cylindrique atypique). Il n'existe pas de classification consensuelle internationale, mais différentes classifications ont été proposées ces dernières années, principalement à partir de critères anatomopathologiques afin d'appréhender au mieux le pronostic et reconnaître les patients les plus à risque de développer une récidive locale ou une progression en carcinome invasif et donc adapter au mieux le traitement.

#### **❖ Carcinome lobulaire in situ (CLIS)**

Le CLIS est un néoplasie lobulaire intra-épithérial (NLI) de grades 2 ou 3. Il correspond à une prolifération non invasive de petites cellules non cohésives qui colonisent l'unité ductolobulaire. Les structures colonisées sont distendues et la lumière des canaux est obstruée [12]. Comme dans les cancers lobulaires invasifs, Une perte d'expression ou une inactivation du gène CDH1 codant pour la protéine d'adhésion E-cadhérine est très fréquemment observée. En immunohistochimie les CLIS expriment classiquement des récepteurs aux estrogènes et à la progestérone et sont négatifs pour HER2 et p53[8] . Il s'agit d'une lésion pré-ménopausique mais dont l'incidence est en forte augmentation au cours de ces dernières décennies, et concernait principalement les femmes ménopausées. De découverte histologique fortuite, sans traduction clinique ou radiologique [9, 10]. Il est bilatéral dans 40% des cas et multicentrique dans 60% à 80% des cas et associé à un excès de risque de cancer invasif du sein

homolatéral mais aussi controlatéral. Cet excès de risque persiste au-delà de 20 ans après le diagnostic [11, 12]. Il peut être associé à un carcinome lobulaire ou canalaire infiltrant dans 10% des cas [11].

### **III-2-1-2-Tumeurs épithéliales infiltrantes**

La classification OMS des carcinomes infiltrants datant de 1981 définissait sur un plan purement morphologique 14 entités différentes. Si cette classification paraît très simple, elle ne tenait pas compte de tous les problèmes rencontrés par les pathologistes en pratique quotidienne. Elle avait le mérite cependant de classifier, selon leurs aspects morphologiques, différents types de carcinomes infiltrants à pronostic inégal. Dans la nouvelle classification de l'OMS des carcinomes infiltrants du sein datant de 2002-2003 (**Tableau I**), 21 entités sont définies au total. Cette nouvelle classification tient compte des données morphologiques et immunohistochimiques et a le mérite d'être très exhaustive.

#### **❖ Carcinomes canalaires infiltrants (CCI)**

Il s'agit de la forme la plus fréquente de cancers du sein. Macroscopiquement, on retrouve le plus souvent une tumeur à contours étoilés, beige et dure à la coupe, plus rarement à contours net et de consistance molle. Le diagnostic histopathologique de carcinome canalaire infiltrant est un diagnostic d'exclusion. Les aspects histologiques sont variées, nombreux et conditionnent le pronostic. Il s'agit d'un groupe de tumeurs morphologiquement hétérogènes. Architecturalement, les cellules tumorales peuvent être arrangées en cordons, en groupes, en tubes ou en travées, alors que certaines tumeurs sont caractérisées par une tendance infiltrative solide avec peu de stroma associé. Dans un certain nombre de cas, la différenciation glandulaire peut donner l'apparence d'une structure tubulaire avec une lumière centrale dans les groupes des cellules tumorales. Occasionnellement des zones avec des cellules tumorales rangées en file indienne ou en cible peuvent être présentes, mais ces cellules tumorales ne présentent pas les caractéristiques cytomorphologiques des carcinomes

lobulaires infiltrants. La composante stromale est extrêmement variable. Il peut y avoir une grande prolifération cellulaire fibroblastique, un manque d'élément de connexion tissulaire ou une hyalanisation marquée. Des foyers de nécrose peuvent être présents. Dans une minorité de cas, un infiltrat lymphoplasmocytaire distinct peut être identifié [10].

#### ❖ **Carcinomes lobulaires infiltrants (CLI)**

Macroscopiquement, ces tumeurs sont mal définies, de contours irréguliers, palpables mais difficilement visibles. Histologiquement, la forme typique est constituée de cellules rondes isolées ou disposées en file indienne, plus rarement en plages. Les cellules sont monomorphes à noyaux ronds presque dépourvus d'anisocaryose. Le cytoplasme est acidophile, peu abondant et est souvent creusé d'une vacuole de sécrétion PAS (Periodic Acid-Schiff Stain : acide périodique-Schiff) ou bleu Alcian positive, déjetant le noyau en périphérie. Ces cancers sont majoritairement de grade 2 mais le grade est tout comme pour les cancers canalaires corrélé avec la survie. Il a été mis en évidence qu'il existait une corrélation entre les tumeurs de grande taille et un grade élevé. À la différence des cancers canalaires, les cancers lobulaires de grade 1, 2 ou 3 expriment tous très majoritairement les récepteurs hormonaux. Il existe des cancers lobulaires atypiques qui sont de plus mauvais pronostic que la forme typique et des formes mixtes de classification difficile entre canalaire et lobulaire [13, 14]. Son diagnostic clinique et radiologique est difficile. C'est un cancer d'évolution plus lente que le cancer canalaire avec de meilleurs facteurs pronostiques. Il métastase plus souvent au niveau du tractus digestif et des ovaires. Il est fréquemment associé à un caractère volontiers multifocal, multicentrique ou encore bilatéral en comparaison avec le CCI. Son pronostic n'est pas différent de celui des cancers canalaires infiltrants [14].

#### ❖ **Carcinome mucineux**

Le carcinome mucineux du sein est légèrement plus fréquent chez la femme âgée, dont l'âge médian de diagnostic est de 71 ans [15-17]. Dans le carcinome

mucineux du sein, on distingue deux formes : la forme pure et la forme mixte. Cette distinction est importante à préciser car elle a des implications sur le pronostic. Le carcinome mucineux pur du sein est connu par son incidence faible en métastases ganglionnaires (2-14 % contre 45-64 % dans les formes mixtes), ce qui explique le bon pronostic réservé aux formes pures [18, 19]. L'examen macroscopique retrouve une masse tumorale, bien limitée, crépitante à la palpation, à surface gélatineuse, filant à la coupe. La consistance est molle, de couleur grisâtre ou gris jaune. Histologiquement, le carcinome colloïde pur est caractérisé par la présence d'un tissu tumoral complètement entouré de mucus extracellulaire abondant, sans composante canalaire infiltrante ou lorsque celle-ci est présente ; il ne dépasse pas 10 % du volume tumoral global. La transition entre mucus et tissu conjonctif avoisinant est brusque ; le mucus abondant joue le rôle de barrière mécanique, ce qui atténue l'invasion cellulaire et confère à ce type un caractère moins agressif par rapport au type mixte. Le carcinome colloïde mixte est caractérisé par la présence, en plus de la composante mucineuse, d'une composante canalaire infiltrante. Celle-ci constitue plus de 10 % du volume tumoral total ; la transition entre mucus extracellulaire et tissu carcinomateux adjacent est progressive, les deux territoires se chevauchant par endroits [20].

### ❖ Carcinome papillaire

Le carcinome papillaire du sein est un type particulier rare, représentant environ 0,5% à 1% de l'ensemble des cancers mammaires. Il affecte préférentiellement les femmes âgées (70-80 ans) [21]. Le carcinome papillaire est un cancer de très bon pronostic [21]. Cependant, sa taille peut dans certains cas imposer une mastectomie, et son exérèse incomplète être à l'origine de récidives locales. Il s'agit d'un carcinome de bas grade histologique, présentant rarement des invasions lymphovasculaires ou des métastases. Histologiquement, les carcinomes papillaires mammaires se caractérisent par une arborescence d'axes fibro-vasculaires, tapissés par une prolifération de cellules épithéliales malignes

[21].Trois principales variantes de carcinomes papillaires mammaires sont actuellement décrites :

- 1/ les carcinomes papillaires encapsulés, ou intra-kystiques, les plus fréquents,
- 2/ les carcinomes papillaires solides,
- 3/ les carcinomes papillaires dits « invasifs », infiltrant de façon évidente le tissu conjonctif adjacent [21].

### ❖ **Carcinome apocrine**

Le carcinome apocrine du sein est un carcinome qui présente les caractéristiques cytologiques et immunohistochimiques des cellules apocrines sur plus de 90 % de la tumeur. Ils ne comportent pas de récepteurs d'œstrogènes ni de progestérone mais expriment souvent les récepteurs d'androgènes. La fréquence du carcinome apocrine dépend des critères diagnostiques qui sont variables. Elle oscille de moins de 1 à 4 % en se basant sur la microscopie optique seule [22]. L'âge de survenue varie de 19 à 86 ans, avec une prédominance chez les femmes âgées (60-70 ans) [23]. Le traitement et le pronostic ne semblent pas différer des autres carcinomes canalaires sans différenciation apocrine [22].

### **III-2-2-Classification clinique des cancers du sein**

Cette classification est basée sur la taille de la tumeur (T), la présence de nodules (N) et enfin la présence de métastases (M). Actuellement c'est la classification TNM 6<sup>e</sup> édition de 2002 qui est utilisée [24].

- Selon la taille de la tumeur primitive (T) on distingue :
  - **Tx** : détermination de la tumeur primitive impossible
  - **T0** : pas de signe de tumeur primitive (non palpable)
  - **Tis** : carcinome *in situ* : carcinome intra canalaire, ou carcinome intra lobulaire, ou maladie de Paget sans tumeur décelable
  - **T1**: tumeur  $\leq 2\text{cm}$  dans sa plus grande dimension
    - **T1mic** : micro invasion  $\square 0,1\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension
    - **T1a**: tumeur  $\square 0,1\text{ cm}$  et  $0,5\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension
    - **T1b**: tumeur  $\geq 0,5\text{ cm}$  et  $\square 1\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension

- **T1c**: tumeur  $\geq 1\text{cm}$  et  $\leq 2\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension
- **T2** : tumeur  $\square 2\text{ cm}$  et  $\leq 5\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension
- **T3** : tumeur  $\square 5\text{ cm}$  dans sa plus grande dimension
- **T4** : tumeur de toute taille avec extension directe de la paroi thoracique (a) ou à la peau (b)
  - T4a : extension de la paroi thoracique
  - T4b : œdème y compris la «peau d'orange» ou ulcération cutanée du sein, ou nodule de perméation
  - T4c : à la fois 4a et 4b
  - T4d : carcinome inflammatoire
- Selon la présence d'adénopathies régionales détectées à l'examen clinique ou radiologique on distingue 5 stades:
- Nx : appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire (du fait, par exemple d'une exérèse antérieure)
- N0 : absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional
- N1 : ganglions axillaires homolatéraux mobiles
- N2 : ganglions axillaires homolatéraux fixés entre eux ou à d'autres structures, ou présence clinique d'adénopathies cliniques axillaires.
  - N2a : ganglions axillaires homolatéraux fixés
  - N2b : ganglions mammaires internes homolatéraux cliniquement apparents sans adénopathies axillaires cliniques.
- N3 : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous claviculaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux avec envahissement des ganglions sus- claviculaires homolatéraux.
  - N3a : ganglions suspects sous claviculaires et axillaires homolatéraux
  - N3b : ganglions mammaires internes et ganglions axillaires homolatéraux suspects
  - N3c : ganglions sus claviculaires homolatéraux suspects

- ❖ Selon la présence de métastases (M) on distingue 3 stades
- **Mx** : renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance
- **M0** : absence de métastases à distance
- **M1** : Présence de métastase à distance

### **III-2-3-Classification SBR ou histopronostique**

L'importance du grade histopronostique en tant que facteur pronostique dans les cancers du sein n'est plus à démontrer. Le système le plus utilisé est le grade SBR (Scarff-Bloom-Richardson). Plus le grade SBR est élevé, plus le pronostic est péjoratif. Cette classification prend en compte trois critères histologiques, cotés de 1 à 3. Ces critères sont :

- L'architecture
  - ✓ la tumeur comprend que des tubes, coté 1
  - ✓ partiellement tubulaires, coté 2
  - ✓ la tumeur ne comprend aucun tube, coté 3
- Les atypies cytonucléaires :
  - ✓ noyaux réguliers monomorphes, coté 1
  - ✓ atypies modérées, coté 2
  - ✓ noyaux pléomorphes avec atypies marquées, coté 3
- Le nombre de mitoses: le nombre de mitoses est recherché sur 20 champs au fort grossissement en périphérie de la tumeur. Le nombre de mitose le plus important par grand champ est retenu
  - ✓ Si le nombre est de 1 ou 0 : le critère est coté 1
  - ✓ Si le nombre est de 2 : le critère est coté 2
  - ✓ Si le nombre est de 3 ou plus : le critère est coté 3

L'addition des trois critères permet de réaliser le grade : Ainsi on distingue :

- Grade I : lorsque la somme fait 3, 4 et 5
- Grade II : lorsque la somme fait 6 et 7
- Grade III : lorsque la somme fait 8 et, 9

Le grade SBR est réalisé sur tous les types histologiques de cancer infiltrant sauf le carcinome médullaire.

### **III-2-4- Classification prédictive**

La connaissance de l'expression des récepteurs hormonaux et de l'oncoprotéine Her2 ou cerb-b2 au niveau de la tumeur est importante. L'évolution de ces paramètres est fortement corrélée au pronostic et représente un critère essentiel pour la détermination du traitement approprié.

#### **III-2-4-1- Évaluation des récepteurs hormonaux**

La connaissance du statut des récepteurs hormonaux (RH, RE) est indispensable pour toute tumeur invasive (valeur prédictive de réponse au traitement). L'évaluation par immunohistochimie est maintenant la technique standard et remplace le dosage biochimique.

#### **III-2-4-2- Evaluation de l'expression de HER2**

Le statut du récepteur au facteur de croissance épidermique humain (HER2) permet avec le statut hormonal de déterminer différentes classes de carcinome mammaire avec un impact sur la prise en charge clinique. Her2 est un protooncogène dont le niveau d'expression varie en fonction des tumeurs. L'évaluation de ces paramètres permet de distinguer trois classes prédictives:

- Le sous-type luminal A est caractérisé par une expression des récepteurs hormonaux (œstrogènes (RE+) et/ou progestérone (RP+) et l'absence de surexpression de l'oncoprotéine Her2).
- Le sous-type luminal B à la même caractéristique en ce qui concerne les récepteurs hormonaux (RE+ et/ou RP+) mais il y a le plus souvent, une surexpression du l'oncoprotéine Her2.
- D'autres formes de cancers n'expriment pas les récepteurs hormonaux mais sont caractérisées par la présence ou l'absence d'une surexpression de Her2 : soit (RE-, RP-, Her2 +) ou (RE-, RP-, Her2-).

Ce dernier groupe appelé triple négatif ou Basal like exprime les cytokératines de haut poids moléculaire CK5/6 et/ou 17. C'est dans ce groupe que l'on

retrouve des mutations du gène BRCA1 (Breast cancer 1) mais aussi une variation selon la race. En effet aux États-Unis, les femmes afro-américaines pré-ménopausées développent beaucoup plus ce type de tumeurs par rapport aux autres femmes non-Africaines [7]. Ceci est confirmé par une étude au Mali qui montre que la plupart des cancers du sein au Mali sont triple négatif [25].

### **III-3-Diagnostic et traitement**

#### **III-3-1- Diagnostic**

Le diagnostic du cancer du sein repose essentiellement sur les examens cliniques, radiologiques et anatomopathologiques

##### **III-3-1-1- L'examen clinique**

Le cancer du sein peut être suspecté dans le cadre d'un dépistage (organisé ou individuel) en l'absence de tout symptôme ou devant l'apparition d'une symptomatologie mammaire.

###### **❖ Anamnèse**

L'interrogatoire, en particulier lors de la première consultation, doit recueillir un grand nombre de notions sur les antécédents et les facteurs de risque.

###### **❖ Examen physique**

L'examen du sein et des aires ganglionnaires doit être systématique et précis. Il doit être mené dans plusieurs positions, de façon bilatérale, symétrique et comparative. Les principaux signes cliniques particulièrement évocateurs à rechercher sont les suivants :

- **À l'inspection**, éventuellement à jour frisant, en position debout et assise, on recherchera la présence d'un méplat cutané, d'une inflammation localisée ou diffuse, d'une rétraction cutanée ou mamelonnaire d'apparition récente, d'une anomalie cutanée mamelonnaire, d'une asymétrie récente, d'un aspect de « peau d'orange », ou la présence de nodules dermo-épidermiques (nodules dits « de perméation »).

- **A la palpation**, effectuée les doigts bien à plat, on recherchera l'existence d'un ou plusieurs nodules dont les caractères évocateurs de malignité sont les suivants :
  - irrégularité, mauvaise limitation,
  - adhérence cutanée ou profonde,
  - consistance ferme voire dure,

Il importe de consigner la taille, la localisation et les principales caractéristiques cliniques de ce(s) nodule(s) sur un schéma :

- ❖ La taille doit être mesurée de façon aussi précise que possible, en millimètres,
- ❖ La localisation doit être effectuée en respectant la nomenclature usuelle: supéro-externe, supéro-interne, inféro-externe, inféro-interne, central ou rétro-aréolaire, axillaire.
- ❖ L'existence d'un écoulement mamelonnaire d'autant plus évocateur qu'il serait uni-orificiel et sanguine.
- ❖ La présence éventuelle d'adénopathies par la palpation des creux axillaires en notant le cas échéant leur taille et leur mobilité.

### **III-3-1-2-Les examens radiographiques**

#### **III-3-1-2-1- La mammographie**

La mammographie est la seule technique dont l'efficacité est prouvée pour le dépistage et dont le rapport cout/efficacité est acceptable. Elle permet de dépister le cancer infraclinique. Sa sensibilité est comprise entre 68 et 88% maximale dans les seins graisseux mais diminuant avec l'augmentation de la densité. Dans ce cas, une mammographie négative n'élimine pas la nécessité de pratiquer un examen complémentaire, en particulier l'échographie dont la spécificité est comprise entre 82 et 93% [26].

#### **III-3-1-2-2- L'Echographie mammaire**

L'échographie est un examen qui a largement profité des améliorations techniques. C'est l'examen complémentaire essentiel de la mammographie, en

particulier lorsque la densité du sein est élevée, car la sensibilité de la mammographie est alors plus faible.

### **III-3-1-3-L'examen anatomopathologique**

L'examen anatomopathologique est demandé après un diagnostic clinique suspectant une tumeur. Il sert à confirmer le diagnostic. On fait une biopsie ou un prélèvement sur pièce opératoire pour faire un examen histologique. Différents moyens sont utilisés depuis l'étude macroscopique jusqu'à la microscopie électronique, et la biologie moléculaire. Ce sont, l'observation des tissus (histopathologie) et celle des cellules isolées (cytopathologie) après un temps de préparation et de coloration en laboratoire des échantillons.

## **III-3-2- Le Traitement**

Le traitement du cancer repose essentiellement sur la chirurgie, la chimiothérapie, la radiothérapie et l'hormonothérapie.

### **III-3-2-1- La Chirurgie**

La chirurgie est la base de la prise en charge thérapeutique de la grande majorité des patientes, elle reste faisable quel que soit l'âge. Elle est le plus souvent réalisée en première intention et peut être suivie d'une chimiothérapie et ou d'une radiothérapie. Elle a pour objet d'enlever les tissus atteints par les cellules cancéreuses. Elle est parfois précédée d'un traitement médical qui peut permettre de réduire la taille de la tumeur afin de faciliter l'intervention.

On distingue deux types de chirurgie

#### **❖ La tumorectomie ou zonectomie**

Le traitement conservateur est souvent souhaité par les patientes dont il améliore la qualité de vie et le maintien de l'image corporelle. Elle doit assurer une exérèse complète des lésions tumorales, pour obtenir un résultat cosmétique satisfaisant et garantir en association avec l'irradiation, un taux de récidive locale le plus faible possible.

#### **❖ La mastectomie**

Devant certaines indications, la mastectomie est la solution appropriée mais elle peut aussi être délibérément choisie par la patiente. Elle peut être réalisée par propreté en cas de volumineuses tumeurs nécrosées [4, 27, 28].

### **III-3-2-2-La chimiothérapie**

La chimiothérapie est un traitement médicamenteux qui vise à éliminer les cellules cancéreuses soit en les détruisant directement, soit en les empêchant de se multiplier. Il s'agit d'un traitement systémique qui agit dans l'ensemble du corps ce qui permet d'atteindre les cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation dans le corps. Les médicaments sont administrés le plus souvent par perfusion ou parfois par voie orale sous forme de comprimé.

- Protocoles**

Il existe plusieurs schémas pour le traitement des cancers du sein par chimiothérapie.

Le protocole classique et ancien de type CMF est souvent mal toléré chez les patientes âgées avec un risque d'inefficacité en cas de diminution des doses pour améliorer la tolérance.

Les schémas actuellement validés, au regard des données de la littérature, sont les suivants :

- les anthracyclines de première génération : doxorubicine  $60 \text{ mg/m}^2 \text{ J}_1 + \text{ Cyclophosphamide } 600 \text{ mg/m}^2 \text{ J}_1$  ou doxorubicineliposomale non pégylé  $60 \text{ mg/m}^2 \text{ J}_1$  (Myocet ® CephalonCorporate) + cyclophosphamide  $600 \text{ mg/m}^2 \text{ J}_1$  (4 cures)
- les schémas avec taxanes sans anthracycline : docétaxel  $100\text{mg/m}^2 \text{ J}_1 + \text{ cyclophosphamide } 600 \text{ mg/m}^2 \text{ J}_1$  (4 cures)
- le CMF : Cyclophosphamide  $600 \text{ mg/m}^2 \text{ J1 et J8} + \text{ Méthotrexate } 40 \text{ mg/m}^2 \text{ J1 et J8}$  + 5-Fluoro Uracile  $600 \text{ mg/m}^2 \text{ J1 et J8}$ .

### **III-3-2-3-La Radiothérapie**

La radiothérapie utilise des rayonnements ionisants pour détruire les cellules cancéreuses en bloquant leur capacité à se multiplier tout en préservant

le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants. Elle cible uniquement les parties du corps où les cellules sont susceptibles de se développer : il s'agit d'un traitement locorégional.

### **III-3-2-4-L'hormonothérapie**

L'hormonothérapie est un traitement du cancer du sein qui s'oppose à l'action des hormones féminines (œstrogènes et progestérones) au niveau des cellules cancéreuses. Les hormones féminines stimulent la croissance de certaines tumeurs dites hormonosensibles ou hormono-dépendantes. C'est-à-dire porteuses de récepteurs hormonaux. En s'opposant à ces hormones l'hormonothérapie vise à empêcher leur action stimulante sur les cellules cancéreuses des cancers du sein hormonosensibles. Il existe 2 types d'hormonothérapie. Les traitements médicamenteux agissent par voie générale sur toutes les cellules sensibles aux hormones en empêchant l'action stimulante des hormones sur ces cellules. On parle de traitement systémique.

Les traitements non médicamenteux visent à stopper la production d'œstrogènes par les ovaires grâce à la chirurgie (ovariectomie) ou à l'irradiation des ovaires (Radiothérapie).

Les cellules cancéreuses hormonosensibles ont pour caractéristiques de posséder des récepteurs hormonaux. Les récepteurs sont des protéines situées à la surface de la cellule. Ils détectent les hormones (œstrogène ou progestérone) qui passent dans le sang et les captent. La liaison entre les hormones et leurs récepteurs sur les cellules déclenche la stimulation de la croissance des cellules cancéreuses.

Le manque d'informations sur l'expression des récepteurs hormonaux est la cause de l'échec du traitement hormonal. En Afrique la majeure partie des cancers du sein ne sont pas hormonosensibles d'où la nécessité de déterminer l'expression des récepteurs hormonaux pour un traitement efficace du cancer du sein.

## **VI- Epidémiologie du cancer du sein**

### **IV-1- Epidémiologie descriptive**

Le cancer du sein est une épidémie mondiale avec 1,38 millions de cas diagnostiqués et 458.000 décès en 2008 [2]. Si l'épidémie semble être contrôlée dans les pays développés (avec 18.900 décès, ration décès/cas de 0,27), ce n'est absolument pas le cas dans les pays en voies de développement (avec 269.000 décès, ratio décès/cas de 0,38). La mortalité liée au cancer du sein est donc moins importante dans les pays développés. Cependant il reste toujours le cancer le plus mortel de tous les cancers dans le monde.

En Afrique subsaharienne, particulièrement au Sénégal, le cancer du sein pose un sérieux problème de santé publique. Son incidence et son taux de mortalité restent très élevés avec 20,8% et 16,9% respectivement. De plus l'épidémie prend une allure particulière, et survient à un âge de plus en plus jeune et sous une forme très agressive. Cette forme agressive ainsi que la survenue à un âge précoce sont corrélés avec le cancer triple négatif qui est retrouvé surtout chez les femmes africaines.

Le Sénégal est une parfaite illustration de l'épidémie dans les pays en voies de développement

Selon l'agence internationale de recherche sur le cancer, on dénombre plus de 853 cas de cancer du sein par an au Sénégal dont, 472 finissent par mourir soit un peu plus de la moitié des répertoriés. Les causes sont souvent liées au fait qu'au Sénégal non seulement les malades arrivent tardivement dans les structures de référence mais le taux de prise en charge est très faible.

### **IV-2-Les Facteurs de risque**

Bien que les causes exactes de nombreux cas de cancer du sein restent inconnues, plusieurs facteurs de risques ont été identifiés: il s'agit donc d'une maladie multifactorielle. Parmi les facteurs connus associés au risque de cancer du sein on peut noter l'âge, le sexe, les facteurs liés à la vie reproductive tels que l'allaitement, l'âge de la ménarche et de la ménopause, les facteurs environnementaux mais surtout des facteurs génétiques.

## **IV-2-1-L'âge**

Le risque d'avoir un cancer du sein augmente avec l'âge même si la maladie peut survenir à des âges très différents. Ce risque est faible chez les jeunes femmes. Environ 10% des cas de cancer du sein se manifestent chez les femmes de moins de 35 ans et environ de 20% avant 50 ans. Le cancer se développe le plus souvent autour de 60 ans. Près de 50% des cancers du sein sont diagnostiqués après 69 ans [29-31].

## **IV-2-2-Le sexe**

Le cancer du sein est un cancer exclusif de la femme. Il est 100 fois moins fréquent chez l'homme. La mortalité liée au cancer du sein chez l'homme est proche de celle du cancer des glandes salivaires [29-31].

D'un point de vue héréditaire un homme apparenté à une femme ayant un cancer du sein voit son risque multiplié par 2,8 qui correspond à un cas de cancer de plus pour 1500 hommes apparentés à une femme ayant le cancer. Le sexe est donc un facteur de risque majeur dans la survenue du cancer du sein.

## **IV-2-3-La vie génitale**

La vie génitale par ces différentes composantes est un facteur qui intervient dans la survenue du cancer du sein. Ces composantes sont :

### **IV-2-3-1-L'âge des premières règles**

L'âge des premières règles est loin d'être un facteur de risque reconnu de cancer du sein, tant avant la ménopause qu'après. Une augmentation modeste a cependant été décrite par certains auteurs en comparant un âge inférieur à 12 ans versus 15 ans, en particulier pour les cancers préménopausiques [32].

### **IV-2-3-2-Le nombre de jours de saignement**

Il n'y a pas de corrélation entre le nombre de jours de saignement et le risque de cancer du sein. Cependant, il existe une tendance significative à une diminution du risque avec la durée du saignement, diminution qui se manifeste en post-ménopause uniquement [33].

### **IV-2-3-3-L'âge à la ménopause**

L'insuffisance ovarienne physiologique (la ménopause) survient vers l'âge de 51 ans en moyenne. Il est admis que tout arrêt du fonctionnement ovarien, survenant entre 45 et 55 ans, est physiologique. Au-delà de 55 ans, il s'agit d'une ménopause tardive. Les ménopausées tardives sont associées à un risque plus élevé de cancer du sein. Ce risque augmente de 2,8 % par année de ménopause retardée à partir de 50 ans [34].

### **IV-2-3-4-L'âge à la première grossesse et la parité**

Deux facteurs liés au cancer du sein connus depuis longtemps et les plus reproductibles sont la baisse du risque de cancer du sein avec l'augmentation de la parité et l'augmentation du risque avec la nulliparité. Le risque de cancer du sein est plus élevé en cas d'une première grossesse à terme tardive après 35 ans [33].

### **IV-2-3-5-L'allaitement**

L'allaitement a un effet protecteur sur le cancer du sein : le risque diminuerait de 4,3% par année cumulée d'allaitement. Une des explications est que le nombre cumulatif de cycles menstruels ovulatoires est moindre chez les femmes qui allaitent, dans la mesure où l'allaitement retarde l'ovulation après une grossesse menée à terme. De longues durées d'allaitement sont aussi synonymes de longues périodes d'hypoestrogénie [35].

### **IV-2-3-6- La Contraception orale (CO)**

Selon la majorité des études publiées, la prise de contraception orale (CO) n'augmente pas le risque de cancer du sein chez la femme. Parmi les travaux qui s'attachent plus particulièrement à analyser ce risque avant l'âge de 45 ans, certains retrouvent une légère élévation du risque avec une durée plus longue de prise contraceptive, notamment avant la première grossesse à terme. En ce qui concerne les femmes plus âgées, aucune majoration du risque liée à la contraception orale n'a été retrouvée, certaines études évoquant même une baisse possible du risque [36].

#### **IV-2-3-7- Traitement hormonal substitutif (THS)**

Après des dizaines d'années de controverses, il semble se dégager un certain consensus sur ce sujet si polémique. L'association oestroprogesterative s'accompagne d'un risque relatif de 1,25 après 5 ans d'utilisation, et ce surrisque persiste en s'atténuant après l'arrêt. Lorsqu'un THM oestroprogestatif est instauré à proximité de la ménopause, même des durées courtes (moins de deux ans) de traitement pourraient être associées à un risque plus élevé de cancer du sein. Les associations d'estrogène et de progestérone micronisée pourraient constituer une exception à cet égard. L'utilisation d'estrogènes seuls n'est liée à aucune augmentation du risque : on observe même une diminution du risque de cancer du sein, qui persiste 5 ans après l'arrêt [37]. Une explication est que le risque n'est pas directement lié aux stéroïdes mais à leur impact sur l'insulinorésistance [38].

Le THS a un effet d'accélération de la croissance sur certains cancers infra-cliniques préexistants. Les données de la littérature sont en effet concordantes pour montrer que la prescription de THS est associée à un risque élevé de cancer du sein avec prédominance des carcinomes lobulaires invasifs [39]. Les cancers *in situ* augmentent aussi sous THM avec les progestatifs artificiels [37].

#### **IV-2-3-8- Obésité, diabète et syndrome métabolique**

L'obésité commence à être largement reconnue comme étant un facteur de risque de cancer du sein, mais aussi un facteur de mauvais pronostic [40]. Les femmes obèses ont des cancers d'histologie plus agressive: de grade plus élevé, un plus fort taux de prolifération, la présence d'emboles lymphatiques, un envahissement ganglionnaire plus fréquent avec également une incidence significativement plus élevée des formes triple négatives. Un élément très important chez ces patientes serait l'existence d'une insulinorésistance qui, jointe à l'expression d'insulin-like growth factor receptor (IGFR) à la surface des cellules tumorales, stimulerait la prolifération cellulaire et peut-être l'angiogenèse [38].

#### **IV-2-3-9- Le risque histologique**

Les Hyperplasies Atypiques(HA) du sein, aussi appelées lésions histologiques à risque de cancer du sein, s'intègrent dans la mastopathie fibrokystique : elles partagent toutes une hyperplasie épithéliale (soit la prolifération de ces cellules au-delà de l'architecture en double épaisseur cellulaire de l'épithélium tapissant les canaux galactophores et les lobules mammaires), associée à un aspect pathologique de ces cellules et de leur agencement. Actuellement, on divise les HA en trois groupes: les hyperplasies canalaires atypiques (HCA), les néoplasies lobulaires (NL) et les métaplasies cylindriques avec atypies (MCA). Leur signification clinique reste controversée. Toutes ces lésions sont au moins des marqueurs de risque de cancer du sein: leur présence place la patiente dans un groupe à risque accru de cancer du sein homo et controlatéral par rapport à la population générale. Parmi ces HA du sein, certaines ne sont pas un simple marqueur de risque (NL pléomorphes) mais probablement de véritables précurseurs de lésions malignes invasives [41].

#### **IV-2-4-Les facteurs environnementaux**

##### **IV-2-4-1-L'alcool et le tabac**

L'alcool est un facteur de risque reconnu de cancer du sein après la ménopause. L'alcool diminue l'insulinosensibilité et augmente les récepteurs de l'insuline dans les tumeurs [35]. Le risque relatif est de 1,5 pour une consommation supérieure à 5g d'alcool par jour (5 verres). La consommation d'alcool altère aussi le pronostic du cancer du sein [40].

Le lien établissant un risque de cancer entre le tabac et le cancer du sein est resté longtemps discordant. On sait aujourd'hui que l'effet carcinologique du tabac varie en fonction du niveau d'estrogènes circulants et du stade de maturité de la glande mammaire [6].

#### **IV-2-4-2-Les radiations ionisantes**

Le risque de cancer du sein lié aux radiations survient au-delà de 1Gy, il n'y a donc pas d'excès de risque induit par les examens radiologiques. En revanche, on constate un risque accru de cancer du sein controlatéral dans les quadrants du sein irradié à plus de 1Gy de manière incidente lors d'une radiothérapie du sein [42].

#### **IV-2-5- Les Facteurs génétiques**

Les études épidémiologiques à la recherche de facteurs de risque au cancer du sein ont presque toujours retrouvé une association avec l'histoire familiale. Ces agrégations familiales peuvent être imputées à deux causes :

- Soit la fréquence élevée des cancers du sein dans la population générale
- Soit une mutation germinale d'un gène conférant un risque élevé de développer un cancer du sein se transmettant dans la famille (gène de prédisposition).

### **V- La Génétique du cancer du sein familial**

La majorité des cas du cancer du sein sont sporadiques tandis que 5 à 10% sont dus à une prédisposition héréditaire. L'identification de certains gènes tels que les gènes BRCA1 et BRCA2 a permis une meilleure compréhension des formes familiales de cancer du sein. Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont les premiers à être cités dans la survenue du cancer du sein familial. Mais il existe d'autres gènes qui sont impliqués à des degrés moindres dans la survenue de ce cancer. Tous ces gènes interviennent dans moins de 25% des cancers du sein dits héréditaires Il existe donc d'autres facteurs dont l'identification serait d'une grande importance dans la recherche des causes du cancer du sein héréditaire.

## V-1-Les gènes majeurs

### V-1-1- Les gènes BRCA1 et BRCA2

#### V-1-1-1 Généralités

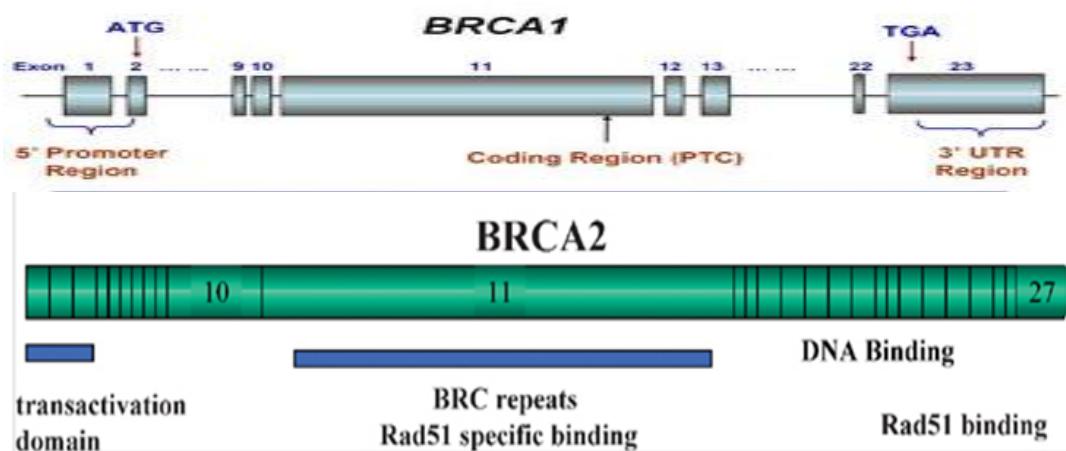
Les analyses familiales de ségrégation visant à expliquer l'excès des cas de cancer du sein dans les familles par la transmission d'un gène suivant un modèle mendélien, ont permis de mettre en évidence un facteur de prédisposition se transmettant selon le mode autosomique dominant à forte pénétrance [43]. Les études de liaison génétique à partir de ces familles à nombreux cas de cancer du sein (au moins 4 cas avant 60 ans) l'ont localisé sur le bras long du chromosome 17 (17q21) en 1990 [44, 45]. La même localisation a été retrouvée dans des familles à cas multiples de cancer du sein et de l'ovaire. Le gène BRCA1 fut cloné en 1994 [46].

A partir de l'analyse de familles comprenant des cas de cancer chez un homme [47] un second gène de prédisposition, BRCA2 fut localisé sur le bras long du chromosome 13 (13q12) et cloné en 1995 [48]. Il existe vraisemblablement plusieurs autres gènes impliqués dans la prédisposition génétique au cancer du sein. Malgré plusieurs études de liaisons génétiques, aucun autre locus n'a pu être formellement identifié. Il est possible que les formes familiales non liées aux gènes BRCA1 et 2 soient le fait de modèle de transmission plus complexes tels que les modèles récessifs paucigéniques ou multigéniques associant des interactions gènes-environnement [49, 50]. Ce type de prédisposition serait à l'origine d'un très grand nombre de cas de cancers du sein isolés. Signalons qu'il existe deux prédispositions au cancer du sein rares survenant dans un contexte familial ou individuel spécifique les syndromes de Li et Fraumeni (mutation constitutionnelle du gène p53) et la maladie de Cowden (mutation de PTEN).

Quels sont les caractéristiques spécifiques des gènes BRCA1 et BRCA2 pour que leurs mutations puissent aboutir souvent au cancer?

### V-1-1-2- Structures des gènes BRCA

Quoique les phénotypes des cancers mammaires et ovariens associés aux mutations de BRCA1 et de BRCA2 soient similaires, les deux gènes ne sont pas sensiblement apparentés de par leurs séquences. Etant donné les importantes différences entre les structures primaires, une ressemblance génomique entre BRCA1 et BRCA2 s'avère particulièrement frappante: les deux gènes sont très larges, s'étendant sur environ 80kb; tous les deux possèdent des exons centraux extrêmement longs codant pour plus de 50% de la protéine (**Figure 2**) ; Tous les deux gènes codent pour de très grosses protéines, formées respectivement de 1863 et de 3418 acides aminés. La comparaison entre les séquences en acide aminés des deux protéines humaines avec leurs équivalentes murines indique homologie d'environ 60% ;



**Figure 2:** Structure des gènes BRCA1 et BRCA2 [51]

### V-1-1-3- Fonctions des gènes BRCA

Les protéines BRCA1 et BRCA2 sont essentielles dans les mécanismes de contrôle de la recombinaison homologue ainsi que dans la réparation des cassures double brin de l'ADN. Ces gènes sont des suppresseurs de tumeur agissant en tant que «catetaker» en maintenant la stabilité génomique par opposition à des «gatekeepers» qui lorsque leur expression est altérée n'ont plus un contrôle normal de la division, promouvant ainsi directement l'expansion des cellules cancéreuses [52]. L'absence des activités de la protéine BRCA1 et

BRCA2 causerait une instabilité génomique par l'augmentation de la fréquence des altérations chromosomique tels que les bris double brins, l'aneuploïdie, l'amplification du centrosome, les réarrangements chrosomique. [49, 53, 54].

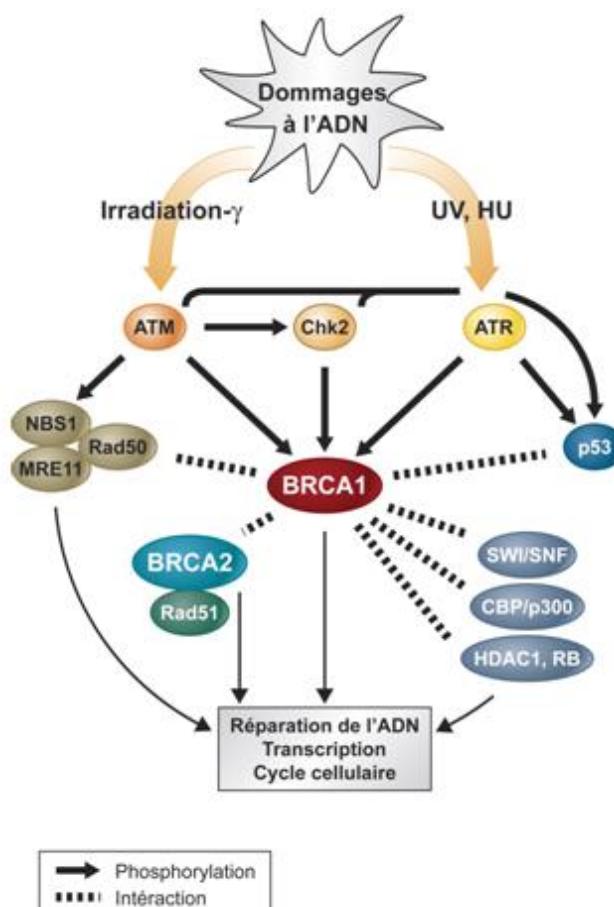
#### **V-1-1-3-1- La -Détection et la communication des dommages de l'ADN**

Comme plusieurs autres protéines contenant un domaine BRCT (BRCA1 C-terminal) BRCA1 est un senseur et un médiateur pour le recrutement des protéines ATM et ATR (AtaxiaTelangiectasia Mutated Related Kinase) et les protéines qu'elle phosphoryle aux sites de dommage de l'ADN [55, 56]. BRCA1 est impliqué dans la détection des dommages à l'ADN puisqu'il est rapidement phosphorylé dans une région riche en acides aminés Sérine et Glutamine, par la kinase ATM, ainsi que par la kinase ATR (activés suite à des dommages induits par des radiations UV ionisantes [57-59]. BRCA1 est aussi impliqué dans la transmission du signal des dommages à l'ADN puisqu'elle est essentielle à l'activation de la kinase chk1 et est phosphorylée par chk2 lors d'un arrêt du cycle cellulaire en phase G2M induit par des dommages à l'ADN [56-58] (**figure 3**). Des mutations germinales dans les gènes chk2 seraient retrouvées dans des familles avec présence du syndrome de LI Fraumeni généralement associé à des mutations du gène p53 [60, 61].

#### **V-1-1-3-2-La Réparation de l'ADN**

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont impliqués dans la réparation de l'ADN par leur propriété d'activation de la transcription des gènes de réparation par excision de nucléotides [57, 62, 63] (**figure 3**). Suite à des dommages à l'ADN, BRCA1 augmente la liaison de p53 au promoteur de DDB2 (Damaged-DNA binding protein p48) ce qui active la transcription de ce gène produisant la petite sous-unité d'un hétérodimère qui se lie à l'ADN endommagé [63-65]. De plus la protéine BRCA1 interagit avec RAD50 et l'ADN dans le complexe protéique MRE11/RAD50/Nbs1 pour réguler l'activité nucléase de MRE11 nécessaire à la réparation des bris d'ADN double brins générés par des rayons X [66].

BRCA2 intervient également dans la réparation des bris d'ADN. L'inactivation de BRCA2 cause l'accumulation spontanée d'anomalies chromosomiques tels que les bris de chromosomes et des échanges de chromatides sœurs inadéquats résultant en la présence de structure chromosomique aberrant, impliquant ainsi BRCA2 dans la réparation des bris double brin de l'ADN [67]. C'est par son interaction avec RAD51 que BRCA2 est impliquée cette réparation par des mécanismes très fiables impliquant l'appariement des brins d'ADN homologue [64-66]. La délétion de l'exon 11 de BRCA2 comprenant cette région d'interaction n'empêche pas la réparation des bris d'ADN double brins mais empêche la réparation de ce bris par recombinaison homologue. En effet, cette région centrale contient les motifs BRC par lesquels BRCA2 se lie directement à RAD51 [68, 69].

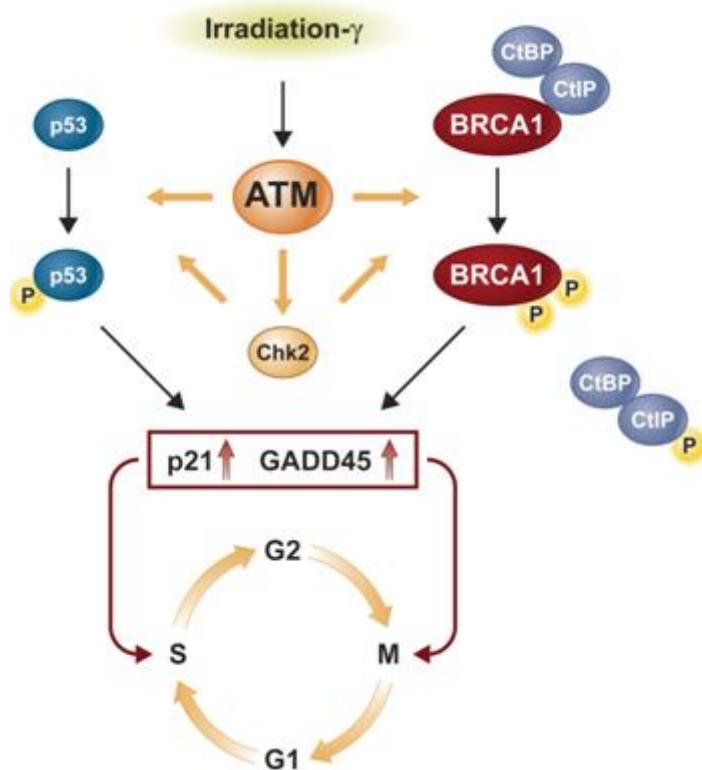


**Figure 3: Détection et réparation des dommages de l'ADN[68]**

### V-1-1-3-3- Le contrôle du cycle cellulaire

BRCA1 peut diriger la cellule vers l'apoptose d'une part en activant la transcription de TNF alpha, un signal extracellulaire majeur dans la mort cellulaire programmée et d'autre part en abolissant l'inhibition transcriptionnelle de GADD45. Cette inhibition prévaut dans les conditions normales par l'interaction de BRCA1 avec ZBRK1 sur une séquence de l'intron 3 de GADD45 [65, 70, 71].

BRCA2 est aussi présent dans un même complexe que p53 et interagit avec une protéine puisqu'elle inhibe l'activité transcriptionnelle de ce composant clé du cycle cellulaire et de la réparation de l'ADN. De plus BRCA2 interagit et est phosphorylée par la protéine hBUBR1, une kinase impliquée dans un point de contrôle de la mitose (phase M) du cycle cellulaire lorsque des fuseaux de microtubules sont endommagés [72]. Ce type de dommages induit l'expression des transcrits de ces 2 protéines et provoque une co-localisation au noyau ce qui implique BRCA2 dans un point de contrôle mitotique du cycle cellulaire [72] (**Figure 4**).



## **Figure 4 : Contrôle du cycle cellulaire [68]**

### **V-1-1-4-Mutations des gènes BRCA**

Les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables de la plupart des cancers du sein. Ces mutations sont de type inactivateur. Il s'agit dans la majorité des cas de mutations conduisant à une protéine tronquée (frameshift), de délétions ou d'insertions de quelques nucléotides rompant le cadre de lecture, des anomalies d'épissage ou enfin des réarrangements de grande taille observés aujourd'hui essentiellement pour le gène BRCA1. Des mutations faux-sens substituant un acide aminé à un autre, ont été également rapportées.

La prévalence de ces mutations varie selon les populations et les facteurs environnementaux et géographiques. Les tableaux II et III illustrent les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 décrites chez différentes populations.

**Tableau II : Différentes mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 dans différentes populations [73].**

Mutation	Race/Ethnicity*
<b>BRCA1</b>	
185delAG (n = 8)	Ashkenazi Jewish
185delAG	White (Irish/German)
633delC	White (Italian/Australian)
943ins10	African American
1205delGA	White (Northern European)
1374delG	White (Dutch)
1406insA	White (German)
1625del5	African American
1832del5 (n = 2)	African American
2080delA	White (Dutch)
2576delC	White (European)
2800delAA	White (Scottish)
3604delA	White (European)
3883insA	African American
4280delTC	White (Italian)
5296del4 (n = 2)	African American
5385insC (n = 5)	Ashkenazi Jewish
5385insC	White (German)
C61G	White (Polish/Slavic/Austrian)
C61G	White (Norwegian/German)
C61G	Ashkenazi Jewish
C64Y	White (German/French/Swiss)
E908X	White (Irish/German)
E1060X	White (European)
E1134X	White (Italian)
Q563X	White (German/Danish)
Q780X	White (French)
R1443X	White (Belgian/Irish)
W1782X	White (Irish)
Y1563X	White (Irish)
<b>BRCA2</b>	
1433delG	African American
1536del4	African American
1982delA	White (English/Irish)
2157delG	White (German)
2816insA	African American
3972del4	Ashkenazi Jewish
5466insT	White (Polish)
5950delCT (n = 3)	White (German)
6174delT (n = 6)	Ashkenazi Jewish
6696delTC	African American
7297delCT	White (Dutch/German)
7795delCT	African American
8525delC	White (unknown)
9132delC	White (English/Irish)
Q321X	White (European)
W2619X	White (Italian)
Y3098X	White (Italian/Irish)

\*White defined as non-Hispanic, non-Jewish.

**Tableau III: Les mutations les plus récurrentes des gènes BRCA1 et BRCA2 dans différentes populations [73].**

**Table 4.** Recurrent Mutation Characteristics

Mutation	Family Race/Ethnicity*	Mean Age at Breast Cancer Diagnosis, y	No. of Breast and Ovarian Cancers in First- and Second-Degree Relatives†
185delAG (n = 9)	Ashkenazi Jewish	41	4
	Ashkenazi Jewish	40	4
	Ashkenazi Jewish	40	3
	Ashkenazi Jewish	41	1
	Ashkenazi Jewish	33	2
	Ashkenazi Jewish	51	3
	Ashkenazi Jewish	40	2
	Ashkenazi Jewish	53	1
	White (German)	38	1
1832del5 (n = 2)	African American	47	4
	African American	43	2
5296del4 (n = 2)	African American	36	1
	African American	46	4
5385insC (n = 6)	Ashkenazi Jewish	39	2
	Ashkenazi Jewish	47	2
	Ashkenazi Jewish	42	2
	Ashkenazi Jewish	48	3
	Ashkenazi Jewish	51	8
	White (German)	58	3
C61G (n = 3)	White (Polish)	50	2
	White (German)	45	4
	Ashkenazi Jewish	29	2
5950delCT (n = 3)	White (German)	47	5
	White (German)	42	3
	White (German)	52	2
6174delT (n = 6)	Ashkenazi Jewish	48	3
	Ashkenazi Jewish	57	6
	Ashkenazi Jewish	65	4
	Ashkenazi Jewish	36	5
	Ashkenazi Jewish	56	3
	Ashkenazi Jewish	47	3

\*White defined as non-Hispanic, non-Jewish.

†Count does not include proband.

Actuellement, une mutation délétère de BRCA1 ou BRCA2 n'est identifiée que dans 20% environ des familles devant un contexte évocateur de prédisposition au cancer du sein [74]. Cette proportion est néanmoins plus

élevée en présence de certaines caractéristiques, comme l'observation de cancer de l'ovaire ou de cancer du sein chez l'homme [75].

L'absence d'identification de mutation des gènes BRCA ne permet pas d'éliminer avec certitude une prédisposition héréditaire dans une famille donnée. Il est probable que certaines anomalies complexes des gènes BRCA1 et BRCA2 ne sont pas détectées en raison d'une sensibilité des techniques de recherche des mutations inférieure à 100% (90 à 95%). Par ailleurs, le cas index analysé dans certaines familles peut parfois correspondre à une phénocopie, empêchant d'identifier la mutation (cas sporadique de cancer du sein non muté dans une famille où il existe une mutation BRCA1/2).

Au-delà de des gènes BRCA1 et 2, des études d'épidémiologie génétique, comme les études de jumeaux, ont suggéré l'existence d'autres gènes de prédisposition au cancer du sein c'est le cas du gène p53 [72, 76].

## **V-1-2- Le gène p53**

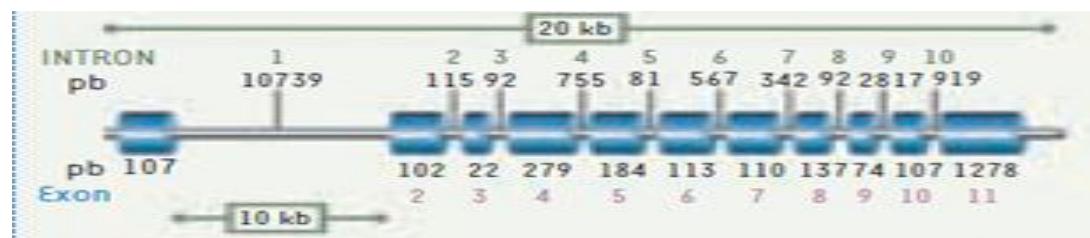
### **V-1-2-1 Généralités**

Le gène p53 encore noté TP53 est impliqué dans un large spectre de pathologies tumorales survenant chez l'enfant et l'adulte jeune. Il joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité du génome en régulant l'arrêt de la prolifération cellulaire et l'apoptose des cellules en réponse à divers stress génotoxique endogènes ou exogènes. A l'état normal la protéine p53 est instable, inhibée et dégradée via MDM2 (Mouse Double Minute 2) son principal inhibiteur. En réponse aux dommages de l'ADN, le taux de protéine p53 s'élève rapidement, essentiellement par stabilisation de la protéine permettant la formation de tétramères, par le biais du domaine d'oligomérisation, et l'activation de la fonction de «DNA-binding protein ». L'activation de p53 induit ou inhibe l'expression de plus de 150 gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, l'apoptose ou la réparation des cassures d'ADN. p53 est muté ou inactivé dans plus de 50% des tumeurs. Des modifications post-traductionnelles de p53 par phosphorylation de résidus sérine ou thréonine dans

les régions N-terminal ou C-terminal de la protéine représentent un mécanisme important de régulation de son activité.

### V-1-2-2 -Structure du gène p53

Le gène p53 humain est localisé sur le bras cour du chromosome 17 en 17p13.1. Il comporte 11 exons et 10 introns avec un exon 1 non-codant. (**Figure 5**).



**Figure 5:** Structure du gène p53 [77]

### V-1-2-3-Structure et fonction de la protéine p53

La protéine p53 est une phosphoprotéine de 393 acides aminés de poids moléculaire 53KDa. On la retrouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules tumorales. Les principaux domaines de la protéine p53 sont :

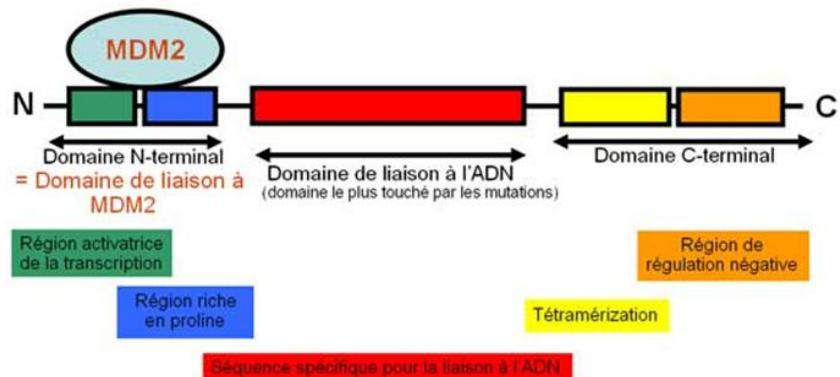
- Un domaine amino-terminal (résidu 1-42) nécessaire à l'interaction avec les composants de l'appareil transcriptionnel.

- Une région riche en résidus proline (63-97) intervenant dans l'apoptose.

- Un domaine central hydromorphe (102-292) dont la structure tridimensionnelle permet la fixation spécifique à l'ADN et au sein duquel on retrouve la majorité des mutations inactivatrices mise en cause dans divers cancers humains.

- Un domaine impliqué dans la tétramérisation (323-356).

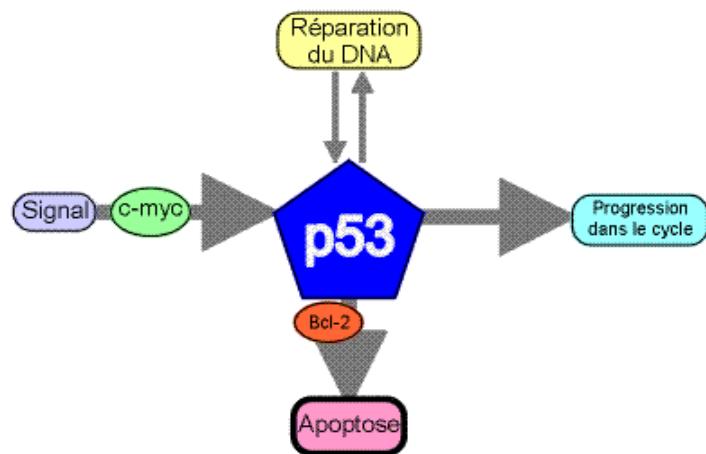
- Un domaine carboxyterminal (363-393) intervenant dans la régulation négative de p53 (**figure 6**).



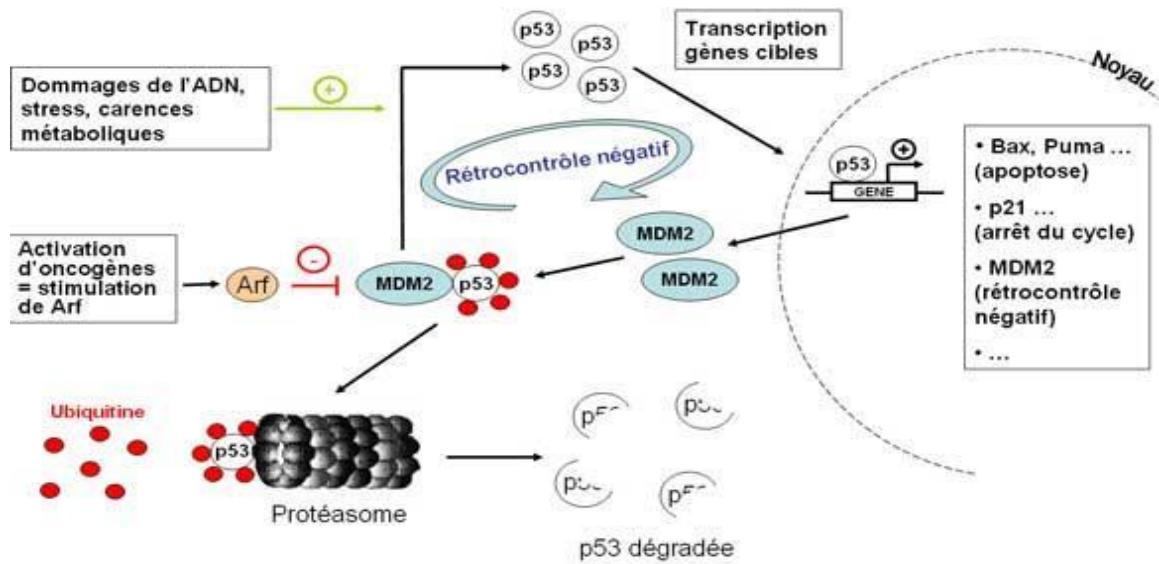
**Figure 6: La protéine p53 avec ses différents domaines [78]**

#### V-1-2-4-Fonction et régulation

p53 un facteur de transcription qui régule l'expression d'une multitude de gènes permettant de moduler la réponse p53 [79]. Par sa capacité à arrêter la prolifération cellulaire en bloquant le cycle et en activant la mort apoptotique, p53 est un candidat évident comme gène suppresseur de tumeur d'autant qu'il est activé par différents stress cellulaires rencontrés lors de la progression tumorale (dommages à l'ADN, activation oncogénique, hypoxie...). Cependant, il apparaît que la réponse apoptotique n'est pas la seule arme de p53 pour cette activité suppresseur de tumeur. L'activation de la transcription de CDKN1A/P21 est extrêmement sensible à des élévations minimes de p53 et bloque le cycle cellulaire. Un arrêt prolongé du cycle est capable d'activer la sénescence cellulaire. Ce mécanisme serait un des moyens d'élimination des lésions précancéreuses [79] (**figures 7 et 8**).



**Figure 7: La protéine p53 dans la régulation du cycle cellulaire[80]**

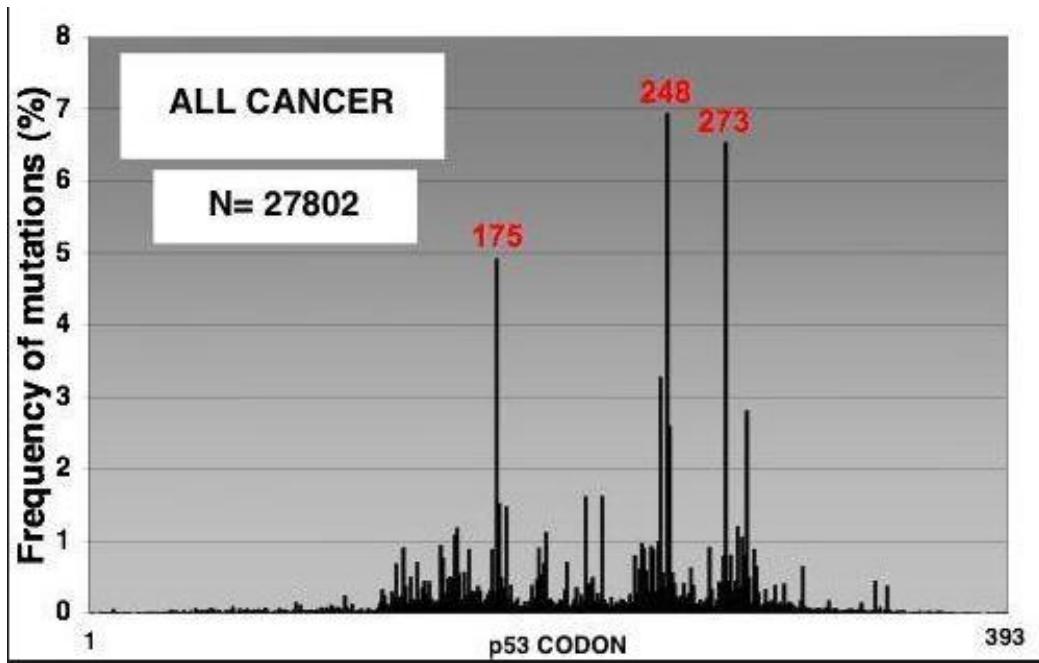


**Figure 8: Régulation des gènes suppresseurs de tumeur: exemple de p53**

[78]

### V-1-2-5-Mutations du gène p53

Le gène p53 est le gène suppresseur de tumeur le plus fréquemment muté dans les cancers humains. Plusieurs polymorphismes du gène p53 ont été décrits [75, 81]. La plupart sont des SNPs touchant une seule base nucléotidique. La majorité de ces variants est localisée dans les introns et n'ont pas d'effet sur la protéine. Parmi les polymorphismes affectant les régions codantes plusieurs s'accompagnent d'un changement d'acide aminé. Il existe plusieurs hot spots sur les résidus proline en position 47 et 72 et sur les résidus Arginine en position 175, 248, 249, 273 qui contribuent à plus de 25% des mutations faux-sens identifiées dans les cancers humains [82] (**figure9**).



**Figure 9: Mutations du gène p53 [83]**

En fonction de leur impact sur la structure et la fonction de p53 ces mutations peuvent être divisées en 2 catégories principales:

- Les mutations dites de contact (P47S, P72R, R248W et R273H) qui rompent directement la liaison de p53 sur les promoteurs cibles et entraînent des changements subtils de la conformation de la protéine des mutations dites structurelles (R175 et R249S) qui altèrent franchement la conformation de la protéine ou dénaturent le domaine de liaison à l'ADN de sorte que les fonctions suppresseur de tumeur sont perdues [84]. En général, les mutants faux-sens gardent la possibilité de former des tétramères mais perdent tout ou une partie de la fonction de DNA-binding et d'activité transcriptionnelle [85]. Le polymorphisme du codon 72 est beaucoup plus fréquent avec les différences significatives de répartition en fonction des populations. Il s'accompagne d'un changement structural de la protéine, sur le résidu 72 une proline (P) est remplacé par une Arginine (R) (P72R). Il est situé dans une région riche en proline importante dans l'arrêt de la prolifération cellulaire et la fonction apoptotique de p53 [86, 87]. Le variant p72 aurait une capacité accrue d'arrêter le cycle cellulaire tandis que le variant R72 serait un

inducteur de l'apoptose [88]. Cependant l'activité du variant R72 pourrait varier en fonction du statut de p53: quand p53 est sauvage, R72 pourrait inhiber la croissance tumorale en augmentant la fonction apoptotique. En effet p73 interagit avec certaines formes mutantes de p53 et non avec la forme sauvage [89]. Chez les individus hétérozygotes, l'allèle R72 serait plutôt sujet aux mutations tandis que l'allèle p72 serait fréquemment perdu par délétion. Les formes mutantes ont également des fonctions oncogéniques. Plusieurs mécanismes d'action sont possibles:

- interférence de la protéine mutante avec la protéine normale résiduelle due à l'allèle non muté en formant des hétéro-dimères(effet inhibiteur dominant-négatif) et/ou gain de fonction conférant un avantage sélectif de prolifération aux cellules mutantes pour p53 [79, 82] ou conférant une résistance des cellules à l'apoptose p53-indépendante induite par les cytotoxiques [90].
- Certains mutants sont également capables d'interagir avec Daxx (Death-domainassociatedprotein) inhibant l'activation Daxx-dépendante D'ASK1 (Apoptosis Signal-régulating Kinase1) et la Voie JNK, (Jun N-terminal Kinase) favorisant ainsi la prolifération [91].
- Des études récentes ont également montré que des mutants avaient un rôle oncogène en contribuant à l'instabilité génétique par inactivation de la voie ATM [92]. La voie ATM est activée lors de dommages à l'ADN avec des cassures doubles brin et est impliquée dans la réparation de l'ADN [93].
- Ces formes mutantes sont également sujettes à des régulations par phosphorylation. Il a été montré par exemple que la phosphorylation post-transcriptionnelle de la Sérine 392 des formes mutantes pourrait induire des modifications conformationnelles stabilisant les hétéro-oligomères entre protéine sauvage et protéine mutée contribuant ainsi à l'effet inhibiteur négatif

La valeur pronostique des mutations de p53 a fait l'objet d'une abondante littérature. Il semble par exemple que dans le cancer du sein, on retrouve une valeur pronostique en particulier des mutations qui touchent le domaine DNA-binding et cette valeur pronostique est plus marquée dans certains sous-groupes de tumeurs [94].

## V-2-Les autres gènes

D'autres gènes de prédisposition, responsable de syndromes rares et comportant un risque élevé de cancer du sein (mutations rares de forte pénétrance), ont été identifiés. Ce sont principalement:

- Le gène PTEN, dont l'altération est responsable de la maladie de Cowden se manifestant par de multiples lésions hyperplasiques, hamartomateuses et tumorales impliquant de nombreux organes.
- Le gène STK11 responsable lorsqu'il est muté du syndrome de Peutz-Jeghers associant principalement des polypes gastro-intestinaux hamartomateux, une lentiginose de la muqueuse buccale, de la sphère anale et des doigts;
- Le gène CDH11, impliqué dans la prédisposition héréditaire au cancer de l'estomac de type diffus.
- Un troisième gène de prédisposition de forte pénétrance (appelé BRCA3) a été longtemps recherché mais les tentatives pour le mettre en évidence par les études de liaison génétique dans les familles à haut risque ont échoué et il est probable qu'il n'existe pas.

## VI - Problématique de l'étude

La plupart des cancers du sein sont sporadiques (90 à 95%), c'est-à-dire qu'ils surviennent spontanément et ne semblent pas être liés à un risque héréditaire. Les cancers du sein héréditaires représentent 5 à 10% de l'ensemble des cancers mammaires [95]. Plusieurs facteurs génétiques sont impliqués dans la survenue du cancer du sein héréditaire avec deux gènes majeurs de prédisposition héréditaire qui sont BRCA1 et BRCA2. Toutefois, d'autres gènes apparaissent également impliqués comme (p53, ATM...).

Les altérations génomiques des gènes BRCA dans le cancer du sein sont à l'origine de 65 % des cas familiaux [75]. Il existe un grand nombre de mutations connues des gènes BRCA1 et BRCA2. Près de 1000 mutations différentes dont beaucoup sont associées à un risque accru de cancer du sein, ont été rapportées dans la base de données du « National Cancer Institute » [96].

Les mutations BRCA1 et BRCA2 ne paraissent pas impliquées dans la progression tumorale des cancers du sein sporadiques. Les cancers liés à des mutations de BRCA1 ou de BRCA2 présentent des caractéristiques tumorales sensiblement différentes de celles des tumeurs sporadiques. Ainsi les cancers “BRCA1 ou BRCA2” présentent le plus souvent un grade avancé et une histologie de type médullaire par rapport aux cancers sporadiques [97]. Près de 80 % des tumeurs du sein, survenant chez des femmes porteuses d'une mutation de BRCA1, n'expriment pas les récepteurs œstrogènes [98, 99], alors que le taux de positivité des récepteurs œstrogènes, dans les cas sporadiques et les tumeurs liées à une mutation de BRCA2, est de l'ordre de 60 à 70 % [99, 100]. Cette expressivité tumorale moindre des récepteurs œstrogènes dans les cancers du sein liés à BRCA1 par rapport aux cancers sporadiques serait surtout présente avant l'âge de cinquante ans [101].

En plus des gènes BRCA, le gène p53 est très souvent muté dans les cancers humains. Plusieurs études portant sur différentes populations ont montré que le polymorphisme du codon 72 situé au niveau de l'exon 4 du gène p53 serait associé à une prédisposition au cancer du sein [102, 103]. La plupart de ces études ont porté sur des populations Européennes et Asiatiques et rarement sur les populations Africaines.

La connaissance des mutations des gènes BRCA1, BRCA2 et p53 aurait donc un impact sur la prévention et la prise en charge du cancer du sein. A ce jour il n'existe pas encore au Sénégal d'étude sur les mutations des gènes BRCA1, BRCA2 et p53 impliquées dans le cancer du sein. C'est à la suite de ce constat que nous avons décidé de rechercher les mutations du gène BRCA1 et d'étudier

le codon 72 du gène p53 dans la prédisposition au cancer du sein familial au Sénégal, avec comme objectifs spécifiques

- D'étudier l'épidémiologie du cancer du sein familial au Sénégal.
- D'identifier les mutations du gène BRCA1 dans le cancer du sein familial au Sénégal.
- D'étudier le polymorphisme du codon 72 du gène p53 dans le cancer du sein familial.
- Etudier l'association de ces mutations avec le cancer du sein.

## **DEUXIEME PARTIE : NOTRE ETUDE**

# **POPULATIONS ET METHODES**

## **I- CADRE D'ETUDE ET POPULATION**

### **I-1-Cadre d'étude**

La première étape de notre étude à savoir le recrutement des patientes a été réalisé à l’Institut du cancer de Dakar. Il s’agit d’un institut créé en 1960, affilié à l’UCAD ‘et spécialisé en cancérologie. Il est localisé dans l’Hôpital Aristide Le Dantec (HALD).

L’institut comprend un pôle de chirurgie, un pôle de radiothérapie un pôle de chimiothérapie, un secteur de consultation et un secteur où sont hospitalisés les patients.

La seconde partie du travail a été réalisée au laboratoire de Cytologie Clinique, Cytogénétique et Biologie de la reproduction de l’Hôpital Le Dantec en collaboration avec l’Unité d’Immunogénétique de l’Institut Pasteur de Dakar.

Ses prestations sont représentées par des examens de biologie de la reproduction comme:

- La Colpocytologie de dépistage du cancer du col utérin
- La Colpocytologie à visée hormonale
- Le test post coïtal de Huhner
- Les tests cyto-spermologiques: spermogramme et spermocytogramme

On y pratique également des examens de cytogénétique médicale et d’immunogénétique.

Ces deux services du CHU de l’hôpital Aristide Le Dantec font partie des principaux centre spécialisés dans le dépistage, la prévention et le traitement du cancer du sein et de col de l’utérus au Sénégal et dans la sous -région.

### **I-2- Population**

Il s’agit d’une étude pilote portant sur des patientes atteintes de cancer du sein et des membres de leur famille. Les patientes ont été identifiées et recrutés à l’institut curie de l’hôpital Aristide Le Dantec. Les membres de leur famille ont été contactés puis convoqués pour effectuer les prélèvements. Ils ont tous donné leur consentement éclairé. **Annexe 1**

Trois patientes atteintes de cancer du sein ayant chacune une histoire familiale, suivies à l’Institut Joliot Curie de l’Hôpital Le Dantec ont été recrutées. Une enquête familiale a été réalisée et des membres de chacune des familles ont également été inclus dans l’étude après consentement éclairé. Chez chaque individu recruté un prélèvement de sang veineux a été réalisé sur tube EDTA pour l’extraction de l’ADN.

- La patiente AS : elle est décédée récemment. Son enquête familiale a révélé de nombreux cas de cancer du sein dans la famille. Il a aussi été noté des mariages entre proches parents faisant évoquer la notion de consanguinité. Dans cette famille 41 personnes ont été prélevées.

- La patiente AB : c'est une jumelle atteinte de cancer du sein bilatéral associé à un cancer de l'ovaire. Une enquête familiale a révélé la présence de plusieurs cas de cancer du sein et de l'utérus au sein de la famille. Sa sœur jumelle est décédée de cancer du sein. Dans cette famille des prélèvements de sang ont été effectués sur 9 personnes.

- La patiente FY : il s'agit d'une jeune fille de 25 ans atteinte d'une forme agressive de cancer du sein. L'enquête familiale a révélé la présence d'antécédents familiaux de cancer du sein. Pour cette famille 11 membres ont été recrutés.

## **II-METHODES**

### **II-1-Extraction de l'ADN génomique**

L'ADN a été extrait à partir de sang total par la méthode phénol/chloroforme [104]. Après lyse des globules rouges par choc osmotique et des globules blancs par la protéinase K, l'ADN a été isolé en utilisant la différence de solubilité entre les acides nucléiques et les contaminants dans un mélange de phénol/chloroforme. L'ADN est ensuite précipité avec de l'éthanol absolue puis dissout dans un milieu tamponné.

#### **Extraction de L'ADN**

##### **Mode opératoire.**

- 1- Centrifuger le prélèvement sanguin après ponction veineuse sur tube EDTA à 1800 tours/mn pendant 10mn à 4°C
- 2- Récupérer la couche de globules blancs située entre le plasma et le culot de globule rouge
- 3- Lyser les globules rouges contaminants par le tampon de lyse des globules rouges. Agiter par retournement, incuber dans la glace pendant 10mn en agitant de temps en temps
- 4- Centrifuger à 2500 tours/mn pendant 10 mn à 4°C, éliminer le surnageant. Répéter cette étape jusqu'à l'obtention d'un culot de globules blancs clair. Poursuivre l'extraction de L'ADN ou conserver à -20°C.
- 5- Ajouter au culot leucocytaire :

500µl de tampon SE

2ml de tampon protéinase K

75µl de protéinase

Placer les tubes à 50°C pendant 4heures;

- 6- Ajouter dans chaque tube, le même volume de mélange phénol-chloroforme-alcool isoamylque. Incuber à 25°C pendant toute la nuit.

- 7- Centrifuger les tubes à 2500°C rpm pendant 10mn. Récupérer le surnageant dans un récipient propre et additionner un égal volume d'isopropanol. L'ADN précipite (méduse)
- 8- Centrifuger le mélange (surnageant-isopropanol) à 400rpm pendant 30mn. Eliminer le surnageant, puis laver avec de l'éthanol à 70%. Eliminer le surnageant, sécher le tube et récupérer le culot au fond du tube (ADN soluble) avec du T.E (100µl).

### **Réactifs pour l'extraction de L'ADN**

**Tableau IV: Tampon de lyse des globules rouges**

Sucrose	27,375g
Tris HCL	2,5ml
MgCL <sub>2</sub>	1.25ml
Eau distillée	250ml

Après autoclave, ajouter

250µl de Triton X-100

**Tableau V : Tampon de lyse des globules blancs (tampon S.E)**

NaCl 5M	3,75 ml
EDTA 0,5M	12 ml
Eau distillée qsp	250 ml

**Tableau VI : tampon de lyse des protéines**

Sucrose	67,5g
EDTA 0 ,5M	0,5 ml
SSC 20X	50 ml
Eau distillée qsp	250 ml

Après autoclave, ajouter 5ml de SDS à 10%

**Tableau VII : tampon T.E**

Tris HCl 1M pH 7,5	1 ml
EDTA 0,5	200 µl
Eau distillée qsp	100 ml

**Tableau VIII: Mélange Phénol-chloroforme-alcool isoamylique**

Phénol+ 0,15g d'OH 8quinoléine	150 ml (25)
Chloroforme	144 ml (24)
Alcool isoamylique	6ml (1V)

## **II-2-PCR- Séquençage des exons cibles du gène BRCA1**

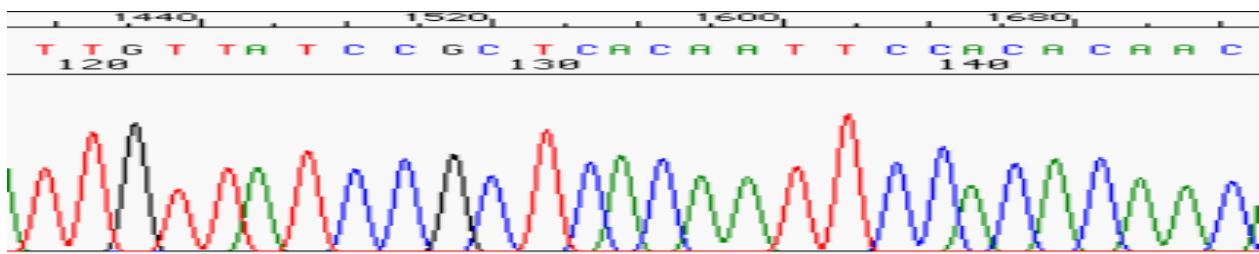
L'ADN génomique extrait a été utilisé pour l'amplification par PCR des exons les plus potentiellement mutés du gène BRCA1 dans les populations Africaines (2, 8, 13, 22). La PCR a été réalisée dans un volume final de 25µl avec 50 ng d'ADN ; du tampon PCR 10x ; 1,5Mm de MgCl<sub>2</sub> ; 2,5µl de dNTPs 4mM ; 20pmol de chaque couple d'amorce amplifiant les différents exons cibles et 1U de Taq polymérase. Les conditions PCR ont été 94°C pendant 5 minutes suivis de 35 cycles constitués chacun de 30 secondes à 94°C, une minute à 56-59°C et une minute à 72°C, puis d'un cycle de 10 minutes à 72°C. Les amorces utilisées pour chaque exon sont représentées dans le tableau IX.

**Tableau IX: Liste des amorces des exons à amplifier**

Gènes	Exons	Amorces sens	Amorces anti sens	Taille (pb)
BRCA1	2	GAAGTTGTCATTATAAACCC	TCTGTTCATTTGCATAGGAG	227
	8	CTGGCCAATAATTGCTTGAC	CTTCCCAAAGCTGCCTACCAC	261
	11a	GCCAGTTGGTTGATTCCACC	CCTTACTTCCAGCCCCATCTG	404
	11b	CATTACAGCATGAGAACAGCAG	GCATTTGATTGAGACTCCCC	376
	11c	GTTAGGTTCTGATGACTCACATG	GTCTTTGAAGTGCCAAATCTGC	408
	11d	GCGTAAAAGGAGACCTACATCAG	GGTGGGCTTAGATTCTACTGAC	393
	11e	CTGAGGAGGAAGTCTTCTACCA	GGGTCTTCAGCATTATTAGACAC	410
	11f	CCCAATGGATACTTAAAGCCTTC	GCTGAAGTTAACAAATGCACCT	405
	11g	GGGACTAATTCATGGTTGTCC	CCTGAGCCTCCTTGATAC	418
	11h	CCTAGAGCCTCCTTGATAC	GTTGCAAAACCCCTAATCTAAGC	441
	11i	GGGCCAAAATTGAATGCTATGC	CTATTCTGGCCCTCTTCG	400
	11j	GAAGAGCTCCCTGCTTCCA	GTAAAATGAGCTCCCCAAAAGC	520
	13	CTTGTAGTTCCATACTAGGTG	GGTCCTTACTCTTCAGAAGG	376
	22	GAGGGCCTGGGTTAAGTATGC	TGTGTCCTCCCTCTGACTG	172

Après l'amplification PCR des différents exons, les produits PCR ont été directement séquencés après purification, avec les amorces sens et antisens (F et R), par la méthode de Sanger [105]. Ce séquençage a été réalisé dans le cadre d'une collaboration au Laboratoire d'Oncogénétique de l'Institut Paoli-Calmette de Marseille en France.

Le principe de cette méthode repose sur l'incorporation aléatoire par une ADN polymérase de didésoxyribonucléotides interrupteurs de chaîne présent dans le milieu réactionnelle. Les ddNTPs en compétition avec les dNTPs dans le milieu réactionnel, sont incorporés aléatoirement lors de la réaction de séquence, générant ainsi des fragments de différentes tailles et marqués de différentes couleurs fluorescentes. Les fragments de différentes tailles ainsi synthétisés sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide. La lecture du gel est réalisée par balayage automatique d'un laser qui permet de détecter les différents fluorochromes couplés aux 4 ddNTPs. Le résultat de ce balayage se présente sous forme d'un électrophorégramme représentant la succession des bases composant le fragment d'ADN séquencé (**figure 10**).



**Figure 10 : Electrophorégramme de séquençage**

### II-3-Génotypage du polymorphisme du codon 72 du gène p53

Le génotypage du polymorphisme du codon 72 du gène p53 a été réalisé par la méthode PCR-RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Nous avons choisi les amores p53F (5'TCC CCC TTG CCG TCC CAA3') et p53R (5'CGT GCA AGT CAC AGA CTT3') encadrant le polymorphisme du codon 72 situé au niveau de l'exon 4 du gène p53, en utilisant la séquence de référence du gène p53 (NT\_010718.16) et avec l'aide du logiciel Primer3 [106]. La PCR a été réalisée en ajoutant à 50ng d'ADN, du MgCl<sub>2</sub> (1.5mM), 2.5μl de dNTPs à 10mM, 0.2U de Taq polymérase (Applied Biosystems, USA), le tampon PCR (1X), chacune des amores à une concentration de 20nM et de l'eau stérile dans un volume final de 25μl. Le programme PCR utilisé a consisté en une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 min, suivie de 35 cycles d'amplification comprenant chacun une dénaturation de l'ADN à 94°C pendant 30s, une hybridation des amores à 57°C pendant 30s, et une élongation à 72°C pendant 30s ; une élongation finale a été ensuite réalisée à 72°C pendant 10mn. Le produit PCR a été visualisé sur gel d'agarose en présence de bromure d'éthydium et d'un marqueur de poids moléculaire. Le génotypage du codon 72 du gène p53 a été réalisé par RFLP avec l'enzyme de restriction BstUI qui reconnaît une séquence d'ADN spécifique (5'CGCG3')

et coupe la molécule d'ADN générant ainsi deux fragments. La digestion de 10μl du produit PCR a été réalisée par 2 unités de BstUI à 60°C pendant 3 heures. Le produit de digestion a été visualisé après migration sur gel d'agarose à 1%.en présence de bromure d'éthydium.

La séquence du fragment amplifié est représentée sur la **figure 11**.

Sequence alignment showing the p53 gene with restriction sites and mutations:

```

1 tcccccttgcgtccaa gcaatggatgattgatgtgtcccgacatattgaacaa 60
    ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ *
    Séquence reconnue par BstUI
    cgcc
    Codon 72
    120
    accaagtgtacttctgggtccaggctacttcgaggggtttacggctccgacgaggggcgc
    ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ *
    180
    gtggcccccgtcaccaggcagctctacaccggcgccccctgcaccagccccctctggccc
    caccggggacgtggtcgtcgaggatgtggccgcgggacgtggtcggggaggaccggg
    ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^
    240
    ctgtcatttctgtcccttcccagaaaacctaccaggcagctacggttccgtctggc
    gagagttagaagacagggaagggttttgatgtccgtcgatgccaaggcagacccg
    ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^
    300
    ttcttgcatctggacagccaagtctgtgacttgcacg
    aagaacgtaaagaccctgtcggtttcagacactgtgc
    ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^ * ^
    p53R
  
```

Annotations:

- p53F**: Primer at the top left.
- BstUI**: Recognition site highlighted in yellow at codon 72 (position 120).
- Codon 72**: Boxed codon 72 (cgcc).
- p53R**: Primer at the bottom right.
- Position 294**: A red arrow points to a mutation in the sequence: **ttcagacactgtgc**.

**Figure 11:** Séquence du fragment d'ADN amplifié par PCR

# **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### **III- RESULTATS**

#### **III-1- Caractéristiques de la population d'étude**

##### **- La patiente AS**

Il s'agit d'une femme de 53 ans atteinte de cancer du sein droit. Elle a comme histoire personnelle 11 gestes, 8 pares, 8 enfants vivants bien portant, date d'apparition des premières règles à 16 ans, l'âge de la première grossesse à 16 ans, le dernier jour des règles à Août 2010, la dernière grossesse à 38 ans. Elle prenait des contraceptions sous forme de pilules et d'injection.

Le cancer du sein a été diagnostiqué chez elle à l'âge de 53 ans. L'examen anatomopathologique a révélé un adénocarcinome canalaire moyennement différencié de grade clinique T4dN1M0 et pronostic SBRII. La tumeur n'est pas hormonodépendante avec absence de surexpression de l'oncoprotéine cerb-b2 (triple négatif).

Au cours de sa prise en charge thérapeutique à l'Institut Curie, elle a subit une chirurgie avec ablation du sein droit, 7 cures de chimiothérapie et quelques séances de radiothérapie. Elle est décédée récemment à la suite de métastases cérébrales.

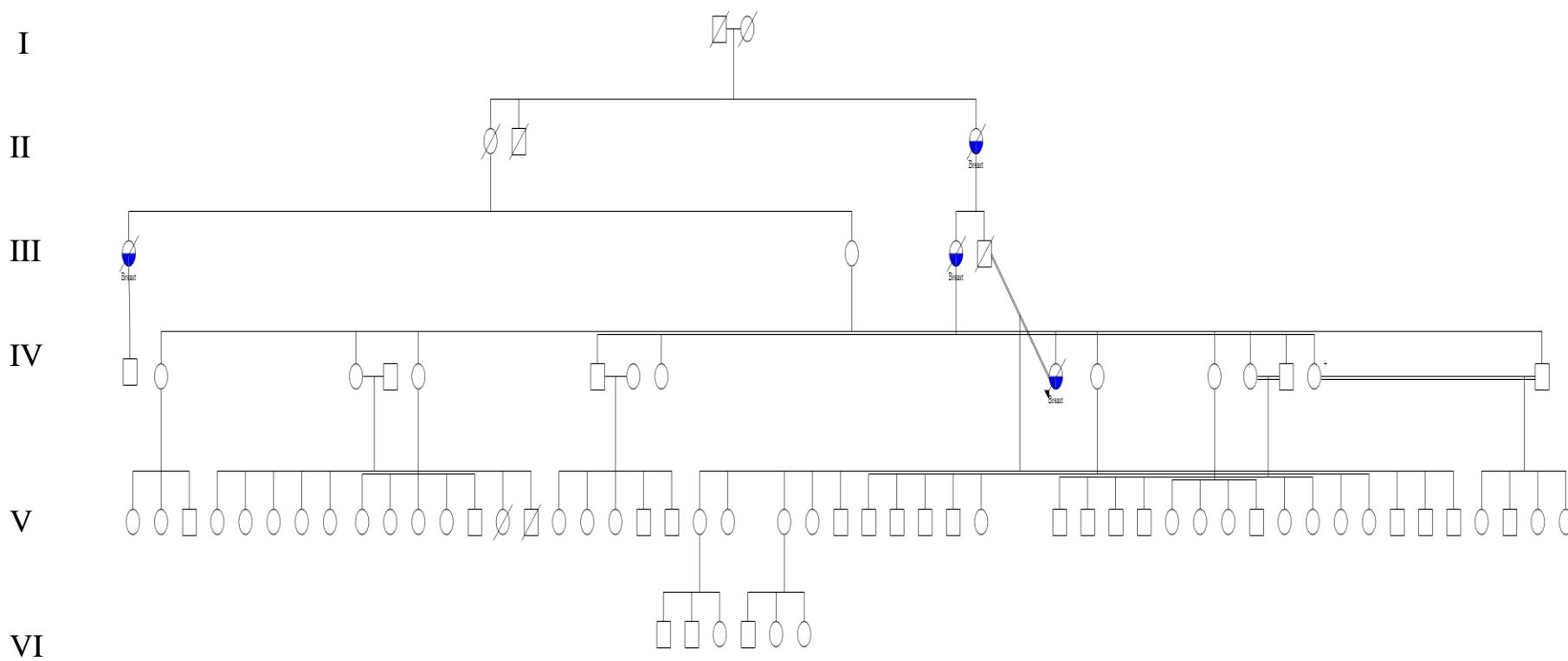
Comme antécédents familiaux elle a:

- Deux tantes maternelles décédées de cancer du sein.
- Sa grande mère maternelle est également décédée de cancer du sein.

L'arbre généalogique de cette famille est représenté sur la **figure 12**.



Cancer du sein



**Figure 12. Arbre généalogique de la famille AS**

### - La patiente AB

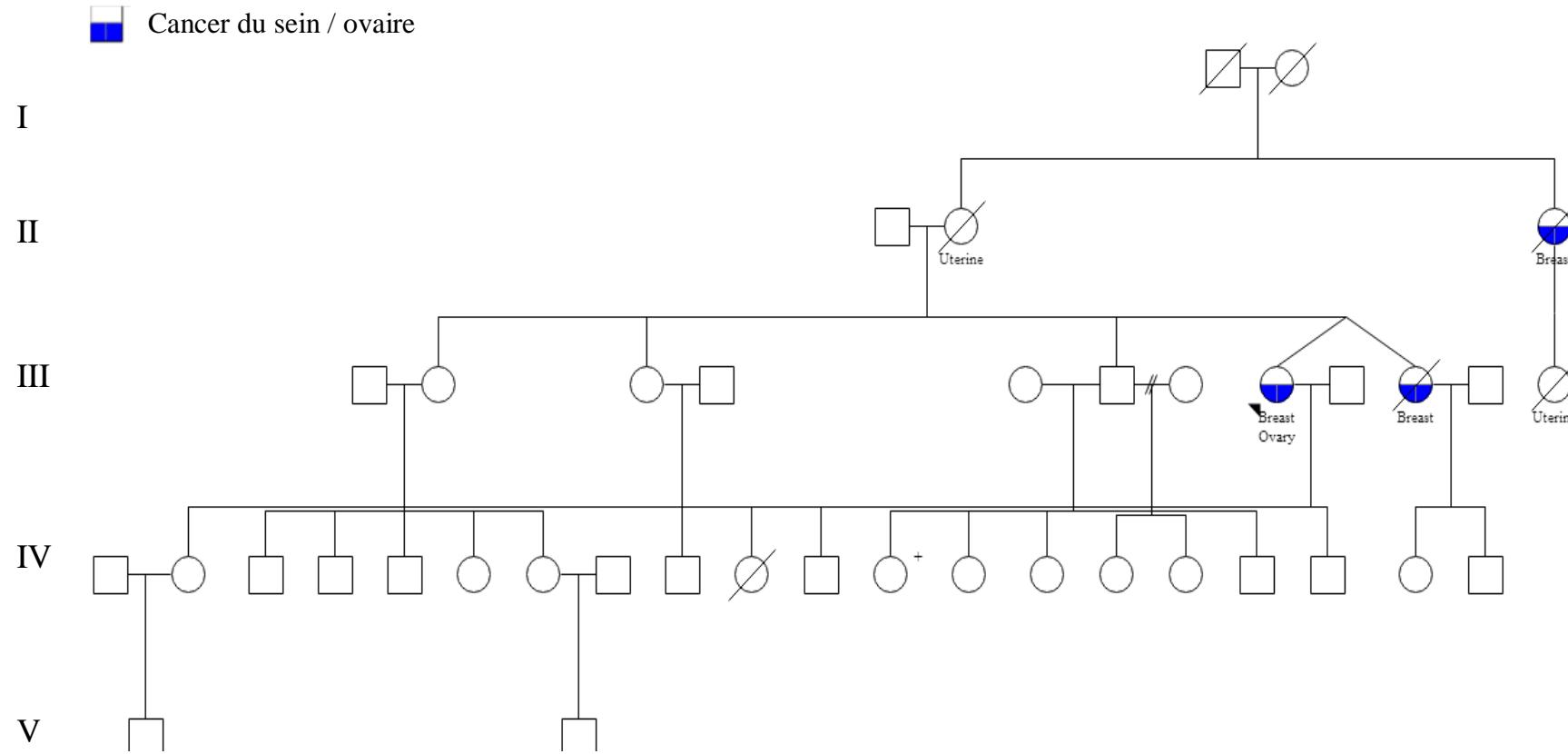
Il s'agit d'une jumelle qui est en rémission d'un cancer du sein bilatéral associé à un cancer de l'ovaire droit. Elle a comme histoire personnelle 7 gestes 7 pares, 4 enfants vivants bien portant ; l'âge des premières règles à 15 ans, l'âge de la première grossesse à 17 ans. Elle n'a jamais été sous pilules contraceptives.

Le diagnostic a été établi à l'âge de 50 ans. L'examen anatomo-pathologique a montré un adénocarcinome canalaire moyennement différencié de grade histopronostique SBRII. La tumeur n'est pas hormonodépendante avec absence de surexpression de l'oncoprotéine cerb-b2 (triple négatif).

La prise en charge thérapeutique à l'Institut Curie a d'abord été chirurgicale avec une tumorectomie des seins, des ovaires et de l'utérus suivie de 7 cures de chimiothérapie. La patiente a eu plusieurs antécédents de cancers dans sa famille.

- Sa sœur jumelle est décédée de cancer du sein.
- Sa maman est décédée de cancer de l'utérus.
- Sa tante est décédée de cancer du sein
- Une de ses cousines germaniques est également décédée de cancer de l'utérus.

L'arbre généalogique de sa famille est représenté sur **la figure 13.**



**Figure 13.** Arbre généalogique de la famille AB

### - **La patiente FY**

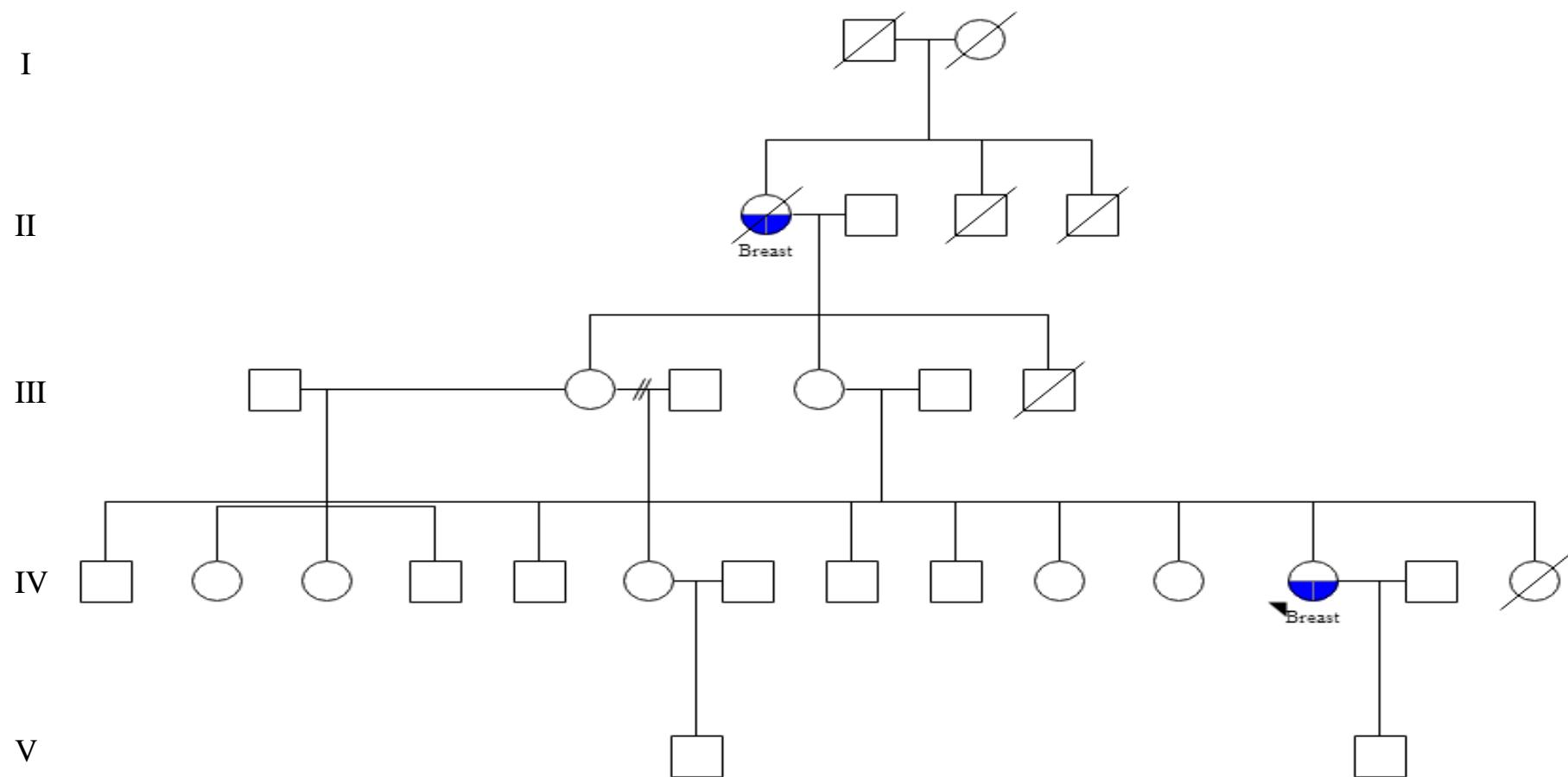
Il s'agit d'une jeune fille de 25 ans qui a fait un cancer du sein droit. Elle a comme histoire personnelle 2 gestes 1 pare, 1 enfant vivant bien portant ; l'âge des premières règles à 13 ans, l'âge de la première grossesse à 19 ans. Elle prenait une contraception sous forme de pilules.

La tumeur est un carcinome canalaire infiltrant invasif moyennement différencié avec une composante intra-canalaire associée. Elle est cliniquement classée T4bN2M0 avec un grade histopronostique SBRI. Ceci montre l'aspect agressif de cette tumeur qui est également caractérisée par une surexpression des récepteurs œstrogéniques et progestéroniques et l'absence de surexpression de l'oncoprotéine Her2.

La patiente a subit 2 chirurgies comprenant une tumorectomie puis une exérèse ganglionnaire axillaire droite suivie de 6 cures de chimiothérapie. Elle est actuellement en rechute et doit refaire plusieurs cures de chimiothérapie.

L'enquête familiale a révélé que sa grand-mère maternelle est décédée de cancer du sein. L'arbre généalogique de la famille est présenté sur la **figure 14**.

 Cancer du sein



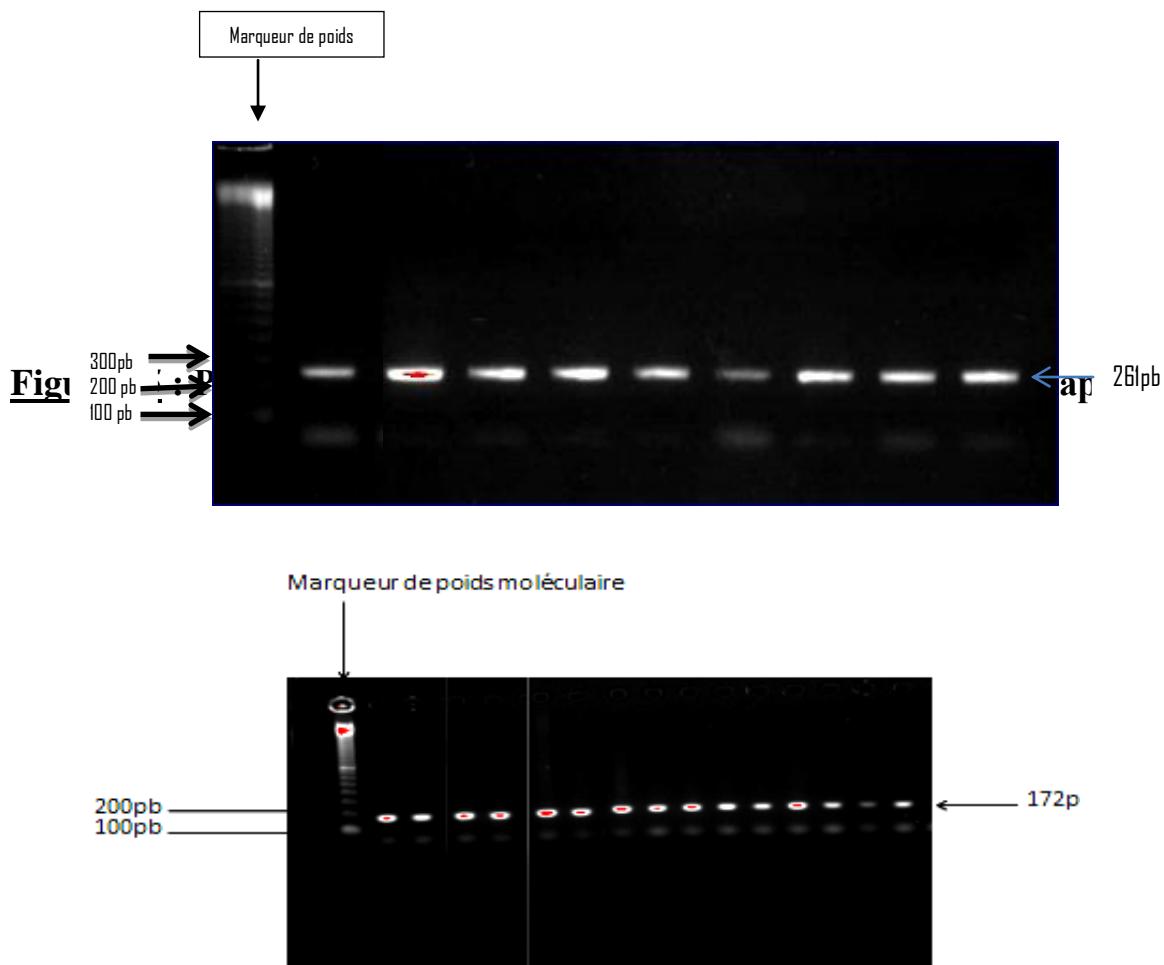
**Figure 14. Arbre généalogique de la famille FY**

### III-2- Mutations du gène BRCA1 dans les familles

Les résultats présentés ici concernent uniquement les exons 8 et 22 du gène BRCA1 sur les 4 exons les plus souvent mutés dans le cancer du sein chez les populations négroïdes. Les autres exons n'ont pas encore été étudiés.

#### - Amplification PCR des exons 8 et 22 du gène BRCA1

L'amplification par PCR des exons 8 et 22 du gène BRCA1 a permis d'obtenir des fragments à la taille attendue (**figures 15 et 16**).



**Figure 16 :** Photo de la PCR de l'exon 8 du gène BRCA1 visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

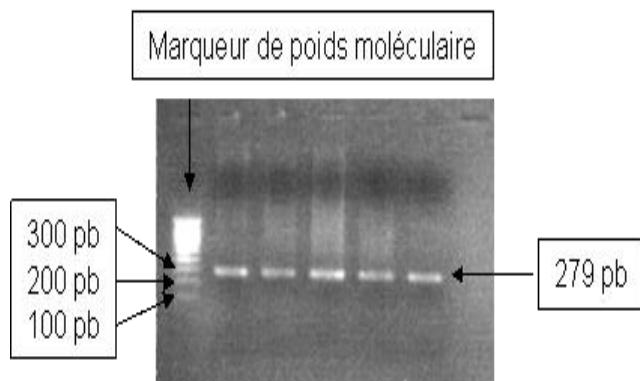
#### - Résultat du séquençage des exons 8 et 22

Le séquençage des produits PCR des exons 8 et 22 du gène BRCA1 n'a pas identifié de mutations dans notre population d'étude (**Annexe 2**).

### **III-3- Le codon 72 du gène p53 dans les familles étudiées**

#### **- Le génotypage du codon 72**

Pour le génotypage du codon 72 du gène p53, nous avons d'abord amplifié par PCR l'exon 4 du gène p53. Ceci nous a permis d'obtenir un fragment de 279pb correspondant à la taille attendue (**figure 17**).



**Figure 17 : Photo de la PCR du gène p53 visualisé après électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.**

Le codon 72 a ensuite été génotypé par une digestion des produits PCR avec l'enzyme de restriction BstUI. L'enzyme reconnaît une séquence d'ADN qui lui est spécifique (CGCG). Lorsqu'on fait agir BstUI sur le produit PCR obtenu, deux cas de figure sont observés :

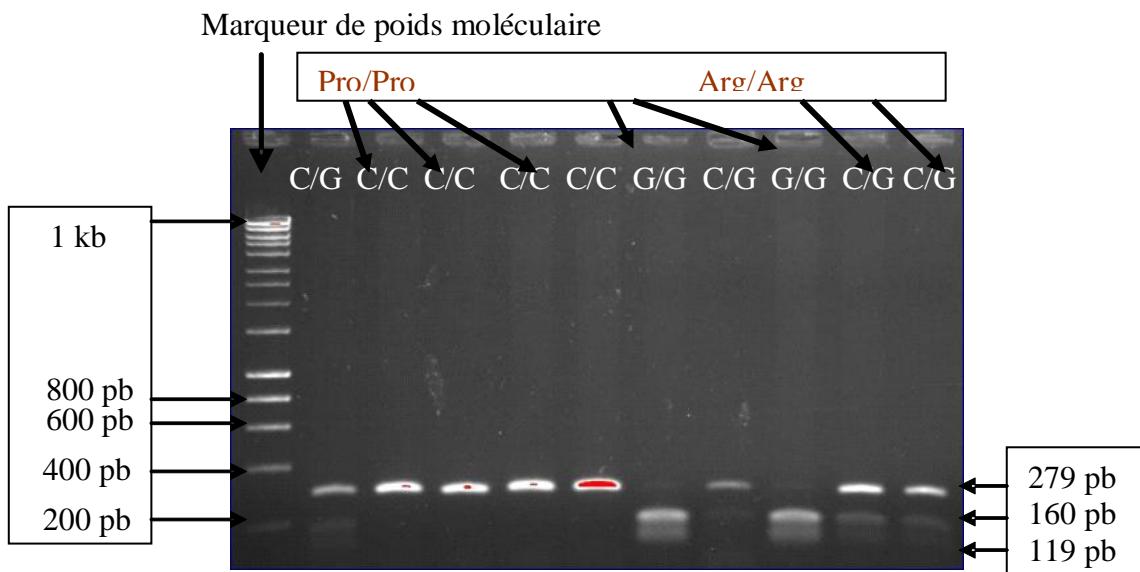
- S'il y a présence d'une guanine (G) au niveau du codon 72 (CGC, allèle ARG), l'enzyme reconnaît sa séquence spécifique et coupe le produit PCR générant ainsi 2 fragments de taille respective 119 et 160 pb.
- S'il y a présence d'une cytosine (C) au niveau du codon 72 (CCC, allèle PRO), BstUI ne reconnaît pas sa séquence spécifique et donc ne coupe pas le produit PCR de 279pb.

Trois génotypes différents sont alors observés chez les patientes:

- Le génotype homozygote ARG/ARG : on visualisera deux bandes, l'une de taille 119pb et l'autre à 160pb

- Le génotype homozygote PRO/PRO : il apparait une seule bande à 279pb

- Le génotype hétérozygotes ARG/PRO: on aura 3 bandes de tailles respectives 119pb, 160pb et 279pb (**figure 18**).



**Figure 18: Photo de digestion des produits PCR avec l'enzyme BstUI**

- **Ségrégation des allèles du codon 72 dans les familles**

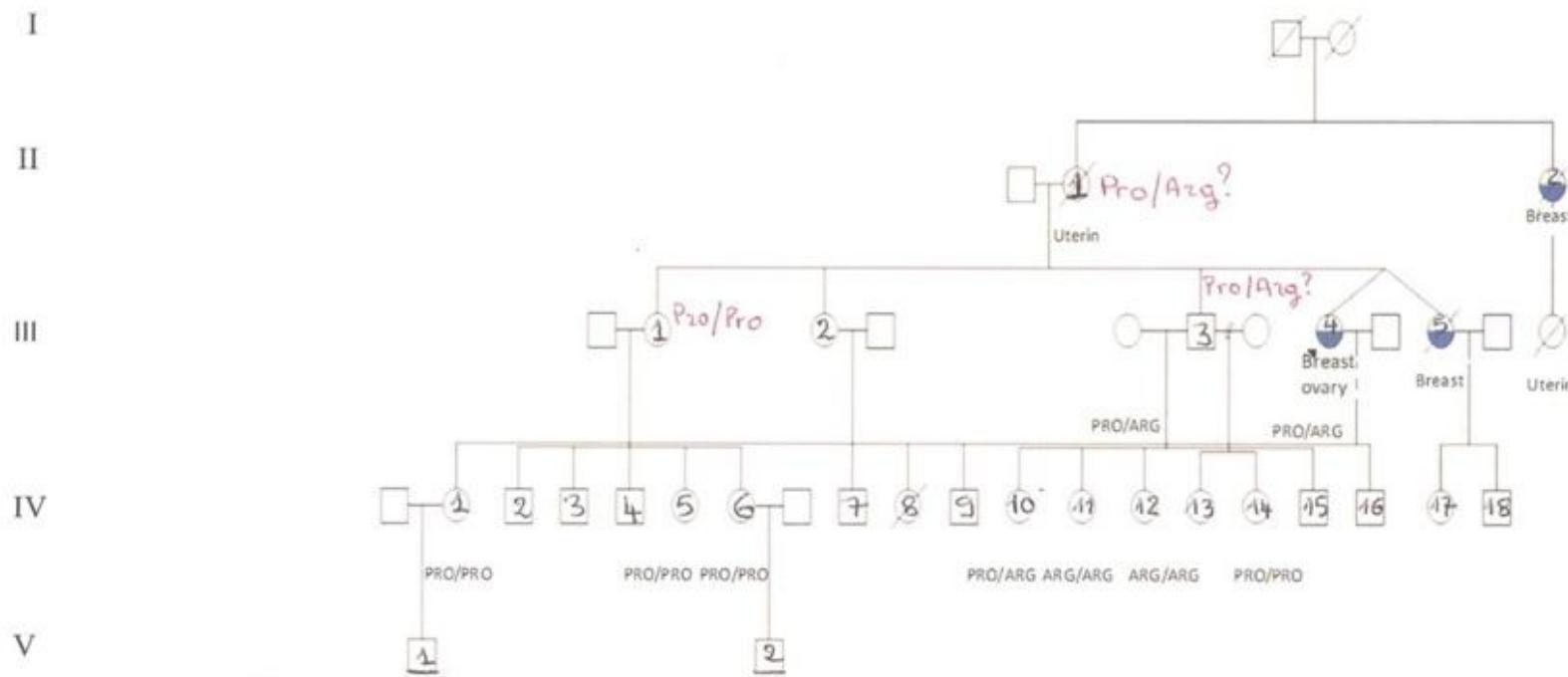
Les résultats obtenus ont montré la présence de l'allèle ARG chez les patientes AB et FY à l'état hétérozygote et homozygote respectivement (**figures 18 et 19**). Pour la famille AS, tous les individus étudiés étaient homozygotes pour l'allèle Proline (PRO /PRO).

L'étude de la ségrégation des allèles du codon 72 chez les différents membres de ces deux familles serait en faveur d'une ségrégation de l'allèle Arginine du codon 72 du gène p53 avec le cancer du sein. Pour la famille AB, les génotypes obtenus chez les nièces du cas index (IV/10, IV/11, IV/12) prédisent le génotype

Pro/Arg pour leur père (II/3) qui est un frère du cas index AB (III/4). Ceci laisse alors supposer que la mère de AB qui est décédée du cancer du col de l'utérus (II/1) est probablement de génotype Pro/Arg et que sa sœur décédée de cancer du sein (II/2) pourrait avoir le même génotype.

De plus, la nièce du cas index (IV/10) a été diagnostiquée de kystes de l'ovaire et elle est hétérozygote Pro/Arg ce qui renforcerait la thèse que l'allèle Arginine du codon 72 pourrait jouer un rôle dans la prédisposition au cancer du sein dans cette famille. Un suivi médical régulier de toutes les filles de cette famille possédant l'allèle Arg devrait être mis en place afin de prévenir le développement d'un cancer du sein ou de l'utérus (**Figure 19**).

■ Cancer du sein



**Figure 19 : Ségrégation de l'allèle Arg dans la famille AB**

Pour la famille FY le cas index est homozygote pour l'allèle Arginine (IV/12) Ses deux parents sont hétérozygote Pro/Arg. L'étude de la ségrégation des allèles dans cette famille a montré que la tante du cas index est également hétérozygote Pro/Arg (III/1) ce qui suppose que sa mère (II/1) qui est décédé de cancer du sein est probablement de génotype Pro/Arg. Ceci serait en faveur d'un rôle que jouerait l'allèle arginine dans la prédisposition au cancer du sein (**Figure 20**). Un suivi médical devrait donc être instauré chez les membres de cette famille possédant l'allèle Arginine (III/1, III/2, IV/6, IV/10) pour prévenir le développement d'un cancer du sein.

■ Cancer du sein

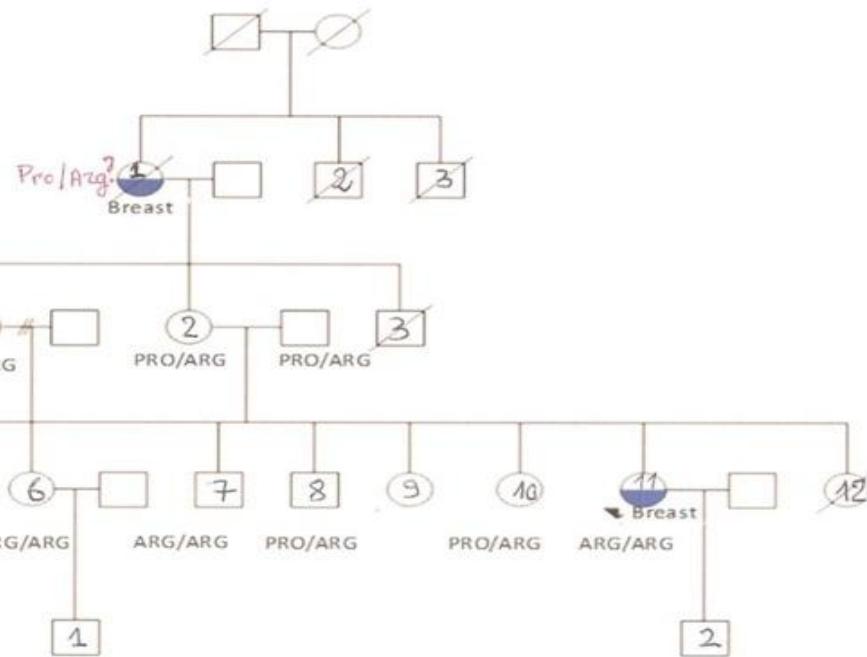
I

II

III

IV

V



**Figure 20 : Ségrégation de l'allèle Arg. dans la famille FY**

## **DISCUSSION**

### **Prédisposition génétique au cancer du sein familial et conseil génétique**

Les cancers du sein, de l'ovaire et de l'utérus sont dus à une prédisposition héréditaire dans 5 à 10% des cas. Ces cancers se transmettent selon un mode autosomique dominant. L'identification des gènes de prédisposition à ces types de cancer a connu une avancée importante ces dernières années et a eu un impact majeur dans la prise en charge clinique des formes familiales. Une histoire familiale de cancer du sein, de l'ovaire ou de l'utérus doit conduire à une investigation plus poussée afin d'évaluer le risque génétique.

L'estimation du risque individuel de chaque femme dans les familles à risque nécessite une connaissance de l'histoire personnelle de chacune (âge au diagnostic, parité, âge des premières règles, âge de la ménopause) et de disposer de son arbre généalogique sur 3 à 4 générations [107]. C'est le cas des trois patientes recrutées dans notre étude dont chacune a dans sa famille deux à plusieurs cas de cancers du sein parfois associé à celui de l'ovaire et/ou de l'utérus.

L'histoire personnelle de nos patientes a montré un âge précoce au diagnostic (< 55 ans). Ces données recoupent celles de Christinat et collaborateurs qui ont rapporté un âge au diagnostic inférieur ou égale à 60 ans dans les formes familiales de cancer du sein [107]. Cet âge précoce au diagnostic serait associé à la présence de mutations géniques impliquées dans la prédisposition au cancer du sein [108]. De même la multiparité et l'âge tardif à la ménopause (>55ans) ont été rapportés comme étant des facteurs de risque du cancer du sein [109]. Deux de nos patientes AS et AB avaient un nombre de geste □ 6. Seule la patiente FY est une primipare mais avec un diagnostic très précoce de cancer du sein à l'âge de 24 ans, en faveur d'une prédisposition génétique.

Les arbres généalogiques de nos patientes sont également tous informatifs dans la mesure où ils sont tous composés de plus de 4 générations (figure 12, 13, 14). Ceci permet en tenant compte des données personnelles de déterminer pour chaque femme de la famille le risque génétique lors d'une consultation oncogénétique. Le calcul du risque permettra

d'identifier les individus à haut risque de cancer du sein. Il repose sur l'évaluation de l'histoire personnelle et familiale, la détermination de la probabilité de mutation génique et

la mise en place d'un suivi psychosocial et d'une stratégie de surveillance. La réduction du risque se fera par la chirurgie prophylactique ou la prévention pharmacologique en particulier l'hormonothérapie.

### **Mutation des gènes BRCA dans le cancer du sein familial**

L'identification des mutations géniques responsables de la prédisposition au cancer du sein est le souci majeur lors de la consultation d'oncogénétique. Plusieurs gènes de prédisposition ont été associés au développement du cancer du sein avec deux gènes majeurs BRCA1 et BRCA2. La présence d'une mutation de ces gènes confère un risque 10 à 30 fois plus élevé de développer un cancer du sein comparé à la population générale. Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont mutés dans 47 à 66% et 40 à 57% des cas de cancer du sein respectivement [107]. Plus de 1000 mutations différentes ont été identifiées sur chacun des gènes BRCA et leurs prévalences varient en fonction de l'origine géographique des populations. Certaines mutations sont retrouvées à des fréquences très élevées chez des groupes ethniques spécifiques comme les juifs Ashkenases, les français Canadiens, les Norvégiens. Ces mutations sont dites à effet fondateur et prédisposent au cancer du sein. D'autres mutations associées au cancer du sein sont retrouvées chez différentes populations à travers le monde mais à des fréquences variables [108]. En Afrique très peu d'études se sont intéressées aux mutations des gènes BRCA dans le cancer du sein [110]. Les mutations identifiées sont principalement localisées au niveau des exons 2, 5, 8, 11, 13, 14, 22 pour BRCA1 et 9, 10, 11 et 22 pour BRCA2 [108, 110]. Ceci explique le choix des exons étudiés dans la population Sénégalaise.

Les résultats préliminaires de la recherche de mutations du gène BRCA1 au niveau des exons 8 et 22 n'a pas identifié de mutation dans les 3 familles étudiées. Ce résultat pourrait s'expliquer d'une part par l'absence de mutations de ces exons dans la population sénégalaise et/ou leur localisation au niveau des autres exons non encore étudiés (exons 2, 5, 11, 13, 14). Ces autres exons sont en cours d'étude et les résultats qui seront obtenus permettront d'identifier les mutations du gène BRCA1 impliquées dans la prédisposition

au cancer du sein au Sénégal. Nous envisageons également d'étudier tous les autres exons du gène mais aussi ceux du gène BRCA2 en recrutant davantage de familles.

D'autre part il a été rapporté qu'un âge précoce au diagnostic de cancer du sein serait associé à une absence de mutations des gènes BRCA [111]. Ceci serait également en faveur de l'absence de mutation observée au niveau des exons étudiés dans notre population d'étude. Les résultats globaux sur les autres exons et ceux du gène BRCA2 permettront de discuter cette association sur une population plus importante.

### **Le codon 72 du gène p53 dans le cancer du sein familial**

Outre le gène BRCA1 nous nous sommes également intéressés au codon 72 du gène p53 dont l'allèle Arginine a également été impliqué dans la prédisposition à plusieurs types de cancer chez différentes populations [112, 113]. La ségrégation des allèles du codon 72 a montré que l'allèle Arginine serait associé à une prédisposition au cancer du sein dans les familles AB et FY ce qui serait en concordance avec les résultats obtenus dans des études d'association cas/contrôles rapportées chez les populations Caucasiennes et Asiatiques [114, 115]. Cependant cette association n'est pas toujours répliquée sur d'autres populations de même groupe ethnique. Ainsi l'absence d'association de l'allèle Arginine avec le risque de cancer du sein a été rapportée par différentes études [116, 117].

Par ailleurs il a été rapporté sur deux populations Tunisienne et Turc l'association entre un haplotype du gène p53 contenant l'allèle Arginine du codon 72 (Ins16bp-Arg72-G13964) avec un risque élevé de cancer du sein [118, 119]. Ces résultats corroborent ceux obtenus dans notre étude et confirment le rôle que jouerait l'allèle Arginine de p53 dans la prédisposition au cancer du sein. Une analyse systématique de toutes les mutations du gène ainsi que des différents haplotypes dans une population donnée devrait permettre de confirmer ces résultats dans la population sénégalaise.

# **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES**

Le cancer du sein est le premier cancer de la femme dans les pays développés et le second dans les pays en voie de développement. Au Sénégal, la population subit les affres de ce cancer en termes d'incidence et de mortalité. La majorité des cancers du sein sont sporadiques; cependant 5 à 10% sont des formes familiales. Le mécanisme de la carcinogénèse dans les formes héréditaires implique plusieurs gènes majeurs suppresseurs de tumeurs comme les gènes BRCA1, BRCA2 et p53. Plusieurs mutations conférant une prédisposition génétique au cancer du sein ont été décrites dans ces gènes chez les populations caucasiennes, asiatiques et américaines mais rarement chez les populations africaines. Notre travail avait pour objectif principal de rechercher les mutations du gène BRCA1 et d'étudier le codon 72 du gène p53 dans la prédisposition au cancer du sein au Sénégal.

Pour cela trois patientes (AS, AB et FY) atteintes de cancer du sein ayant chacune une histoire familiale, suivies à l'Institut Joliot Curie de l'Hôpital Aristide Le Dantec ont été recrutées. Une enquête familiale a été réalisée et des membres de chacune des familles ont également été inclus dans l'étude après consentement éclairé. Sur chaque individu recruté un prélèvement de sang veineux a été réalisé sur tube EDTA pour l'extraction de l'ADN. La recherche de mutations du gène BRCA1 a été effectuée par PCR-séquençage des exons les plus souvent muté chez les populations Africaines et le codon 72 du gène p53 génotypé par PCR-RFLP.

Les résultats préliminaires du séquençage des exons 8 et 22 du gène BRCA1 n'ont pas identifié de mutations conférant une prédisposition génétique dans la population étudiée.

Les autres exons du gène sont en cours d'étude.

Concernant l'étude du codon 72 du gène p53, les résultats obtenus ont montré la présence de l'allèle ARG chez les patientes AB et FY à l'état hétérozygote (PRO/ARG) et homozygote (ARG/ARG) respectivement. Pour la patiente AS, tous les individus étudiés dans la famille étaient homozygotes pour l'allèle Proline (PRO /PRO).

L'étude de la ségrégation des allèles du codon 72 chez les différents membres des familles AB et FY est en faveur d'une ségrégation de l'allèle Arginine du codon 72 du gène p53

avec le cancer du sein. En effet pour la famille AB l'étude de la ségrégation des allèles a montré que les génotypes obtenus chez les nièces du cas index (IV/10, IV/11, IV/12)

prédisent le génotype Pro/Arg pour leur père (III/3) qui est un frère du cas index AB (III/4). Ceci laisse alors supposer que la mère de AB qui est décédée du cancer du col de l'utérus (II/1) est probablement de génotype Pro/Arg et que sa sœur également décédée de cancer du sein (II/2) pourrait avoir le même génotype. De plus, la nièce (IV/10) du cas index a été récemment diagnostiquée de kystes de l'ovaire et elle est hétérozygote Pro/Arg, ce qui renforcerait la thèse que l'allèle Arginine du codon 72 pourrait jouer un rôle dans la prédisposition au cancer du sein dans cette famille. Un suivi médical régulier de toutes les filles de cette famille possédant l'allèle Arg devrait être mis en place afin de prévenir le développement d'un cancer du sein ou de l'utérus.

Pour la famille FY le cas index est homozygote pour l'allèle arginine (IV/12) tandis que ses deux parents sont hétérozygote Pro/Arg. L'étude de la ségrégation des allèles dans cette famille a également montré que la tante du cas index est également hétérozygote Pro/Arg (III/1) ce qui suppose que la mère du cas index (II/1) qui est décédé de cancer du sein serait probablement de génotype Pro/Arg. Cela suggère le rôle que jouerait l'allèle arginine dans la prédisposition au cancer du sein dans la famille.

Globalement, les résultats obtenus dans ce travail suggèrent que l'allèle Arginine du codon 72 du gène p53 serait associé à une prédisposition au cancer du sein dans les familles étudiées. Un suivi médical devrait donc être instauré chez les membres de sexe féminin des familles étudiées possédant l'allèle Arginine pour prévenir le développement d'un cancer du sein.

Cependant nous envisageons d'élargir cette étude pilote par le recrutement d'autres familles et par l'étude de tous les exons du gène p53 de même que des gènes BRCA1 et BRCA2. Les résultats obtenus devraient certainement permettre d'initier la mise en place d'une consultation d'oncogénétique à l'Institut Joliot Curie de l'Hôpital Le Dantec.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

## **REFERENCES**

1. Adesunkanmi, A.R., et al., The severity, outcome and challenges of breast cancer in Nigeria. *Breast*, 2006. **15**(3): p. 399-409.
2. IARC, Cancer Incidence Mortality and prevalence world health organisation. 2011(<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>.Accessed31st december2011).
3. Cloogh Kb, H.D., et Salomon RJ Chirurgie locorégionale des cancers EMC. Elsevier Paris, 2003. Techniques chirurgicales -Gynécologie: p. 41-970.
4. Brettes JP, M.C.G.B.e.a., cancer du sein. Elsevier Masson, 2007: p. 358.
5. Catala M, A.J., Poitier J., Organes, systèmes et appareils. Histologie, 2011.
6. Brettes JP, M.C., Risque de cancer du sein chez la femme ménopausée: quelle est la part du traitement hormonal de la ménopause parmi les autres facteurs de risques? Médecine thérapeutique Endocrinologie et Reproduction, 2004. **6**: p. 109-117.
7. Tavassoéli F.A, D.P.W., Tumors of the breast and femal genital organs. pathology and genetics, 2003.
8. Morère JF, M.F., soulières D, Le cancer du sein. Springer, 2007: p. 1027.
9. Aziz, N. and O. Mansor, The role of anatomists and surgeons in clinical anatomy instruction inside and outside the operating room. *Malays J Med Sci*, 2006. **13**(1): p. 76-7.
10. Diab, S.G., R.M. Elledge, and G.M. Clark, Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2000. **92**(7): p. 550-6.
11. Aziz, D., et al., The role of reexcision for positive margins in optimizing local disease control after breast-conserving surgery for cancer. *Breast J*, 2006. **12**(4): p. 331-7.
12. Santé(HAS), H.A.d., Place de l'IRM dans le bilan d'extension locorégionale préthérapeutique du cancer du sein. Rapport d'évaluation technique,[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr), 2011.
13. Chérif Idrissi N, E.G.N., Dami k et al, Aspect particulier d'un carcinome mucineux pur du sein. Imagerie de la femme 2007. **17**: p. 46-48.
14. Herrera, A., Cancer du sein de la femme âgée. journal d'oncogériatrie, 2011.
15. Debiais, F., inhibiteurs de l'aromatase,analogues de LH-RH et ostéoporose. sciencesdirect revue du Rhumatisme, 2011. **78**: p. 81-87.
16. Kaufman, B., et al., Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol*, 2009. **27**(33): p. 5529-37.

17. society, A.c., American cancer society guidelines for the Early detection of cancer2011(<http://www.cancer.org/Healthy/findCancerEarly/cancerScreeningGuidelines/american-cancer-society-guidelines-for-the-early-detection-of-cancer>).
18. Richards, M.A., et al., Influence of delay on survival in patients with breast cancer: a systematic review. Lancet, 1999. **353**(9159): p. 1119-26.
19. Seigneurin A, E.C., Labarère J et al, comparaison de l'incidence des cancers de l'intervalle selon le nombre de clichés réalisés par sein lors d'une mammographie de dépistage Revue d'Epidémiologie et d'Epidémiologie et de Santé Publique 2010. **58**: p. 52-53.
20. Rudenstam, C.M., et al., Randomized trial comparing axillary clearance versus no axillary clearance in older patients with breast cancer: first results of International Breast Cancer Study Group Trial 10-93. J Clin Oncol, 2006. **24**(3): p. 337-44.
21. Dridi M, A.A., Place des inhibiteurs de l'aromatase dans le traitement du cancer du sein :aspects pharmocologiques et cliniques J pharm Clin, 2007. **26**: p. 5-14.
22. Cutuli, B., et al., Breast conserving treatment (BCT) for stage I-II breast cancer in elderly women: analysis of 927 cases. Crit Rev Oncol Hematol, 2009. **71**(1): p. 79-88.
23. Tredan, O., et al., Carboplatin/cyclophosphamide or carboplatin/paclitaxel in elderly patients with advanced ovarian cancer? Analysis of two consecutive trials from the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens. Ann Oncol, 2007. **18**(2): p. 256-62.
24. Wittekind, L.H.S.a.C., Classification of Malignant Tumours. TNM Classification of Malignant Tumours, 2002. **6 ième édition**.
25. Ly, M., et al., High incidence of triple-negative tumors in sub-saharan Africa: a prospective study of breast cancer characteristics and risk factors in Malian women seen in a Bamako university hospital. Oncology, 2012. **83**(5): p. 257-63.
26. Balu-Maestro, C., et al., [Breast cancer screening imaging: what do we do]. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2010. **39**(1): p. 3-10.
27. Reed, M.W., R.A. Audisio, and L. Wyld, The role of surgery in the treatment of older women with breast cancer. Clin Oncol (R Coll Radiol), 2009. **21**(2): p. 103-10.
28. Kataja, V. and M. Castiglione, Primary breast cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol, 2009. **20 Suppl 4**: p. 10-4.
29. Espié M, G.A., Le sein. Le sein:ParisESKA 1995: p. 644.
30. Espié M, T.B., Cuvier C,et al, épidémiologie des lésions malignes du sein. Encyclopédie Med Chirur,Paris,ElsevierGynécologie, 2001. **840 A-15**.
31. Mousseau M, G., Cancer du sein:épidémiologie,bilan d'extension,modalités thérapeutique. Medecine nucléaire, 2002. **26**: p. 1-15.
32. Parsa, P. and B. Parsa, Effects of reproductive factors on risk of breast cancer: a literature review. Asian Pac J Cancer Prev, 2009. **10**(4): p. 545-50.
33. Park, C.C., et al., Outcome at 8 years after breast-conserving surgery and radiation therapy for invasive breast cancer: influence of margin status and systemic therapy on local recurrence. J Clin Oncol, 2000. **18**(8): p. 1668-75.

34. Nechuta, S., N. Paneth, and E.M. Velie, Pregnancy characteristics and maternal breast cancer risk: a review of the epidemiologic literature. *Cancer Causes Control*, 2010. **21**(7): p. 967-89.
35. Jamin, C., effets des facteurs de reproduction sur le risque cancer du sein: revoir les les croyances :. La lettre du Sénologue, 2011. **n°363**.
36. Espié, M.F.S., Hamy As., contaception orale et cancer du sein. La Lettre du Gynécoloque, 2011. **363**.
37. M, E., cancer du sein chez la femme agees. springer, 2007: p. 99-116.
38. Jamin, C., [Which hormones promote breast cancer in postmenopause: estrogens, progestins, insulin and/or adipocytokines?]. *Gynecol Obstet Fertil*, 2010. **38**(1): p. 1-3.
39. Li, C.I., et al., Relationship between menopausal hormone therapy and risk of ductal, lobular, and ductal-lobular breast carcinomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008. **17**(1): p. 43-50.
40. B., D.L., Alcool, Obésité et cancer du sein. La lettre du Sénologue, 2010. **48**.
41. Lavoue, V., et al., [Atypical epithelial hyperplasia of the breast: current state of knowledge and clinical practice]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2010. **39**(1): p. 11-24.
42. B, M.C.D.L., 11 Cours supérieur francophone sur le cancer du sein Nice 2009(<http://www.cours-rcp-nice-saintpaul.fr>).
43. Williams, W.R. and D.E. Anderson, Genetic epidemiology of breast cancer: segregation analysis of 200 Danish pedigrees. *Genet Epidemiol*, 1984. **1**(1): p. 7-20.
44. Hall, J.M., et al., Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science*, 1990. **250**(4988): p. 1684-9.
45. R, F., Epidémilogie du cancer de la femme agées:. La lettre du Sénologue, 2010. **n°49**: p. 8-10.
46. Miki, Y., et al., A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science*, 1994. **266**(5182): p. 66-71.
47. Stratton, M.R., et al., Familial male breast cancer is not linked to the BRCA1 locus on chromosome 17q. *Nat Genet*, 1994. **7**(1): p. 103-7.
48. Wooster, R., et al., Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature*, 1995. **378**(6559): p. 789-92.
49. Koonin, E.V., S.F. Altschul, and P. Bork, BRCA1 protein products ... Functional motifs. *Nat Genet*, 1996. **13**(3): p. 266-8.
50. Kerr, P. and A. Ashworth, New complexities for BRCA1 and BRCA2. *Curr Biol*, 2001. **11**(16): p. R668-76.
51. Powell, S.N. and L.A. Kachnic, Roles of BRCA1 and BRCA2 in homologous recombination, DNA replication fidelity and the cellular response to ionizing radiation. *Oncogene*, 2003. **22**(37): p. 5784-91.
52. Kinzler, K.W. and B. Vogelstein, Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature*, 1997. **386**(6627): p. 761, 763.
53. Rosen, E.M., et al., BRCA1 gene in breast cancer. *J Cell Physiol*, 2003. **196**(1): p. 19-41.
54. Narod, S.A. and W.D. Foulkes, BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nat Rev Cancer*, 2004. **4**(9): p. 665-76.

55. Beger, C., et al., Identification of Id4 as a regulator of BRCA1 expression by using a ribozyme-library-based inverse genomics approach. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(1): p. 130-5.
56. Motoyama, N. and K. Naka, DNA damage tumor suppressor genes and genomic instability. *Curr Opin Genet Dev*, 2004. **14**(1): p. 11-6.
57. Tibbetts, R.S., et al., Functional interactions between BRCA1 and the checkpoint kinase ATR during genotoxic stress. *Genes Dev*, 2000. **14**(23): p. 2989-3002.
58. Chen, J., Ataxia telangiectasia-related protein is involved in the phosphorylation of BRCA1 following deoxyribonucleic acid damage. *Cancer Res*, 2000. **60**(18): p. 5037-9.
59. Cortez, D., et al., Requirement of ATM-dependent phosphorylation of brca1 in the DNA damage response to double-strand breaks. *Science*, 1999. **286**(5442): p. 1162-6.
60. Bell, D.W., et al., Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science*, 1999. **286**(5449): p. 2528-31.
61. Bartek, J. and J. Lukas, Chk1 and Chk2 kinases in checkpoint control and cancer. *Cancer Cell*, 2003. **3**(5): p. 421-9.
62. Yarden, R.I., et al., BRCA1 regulates the G2/M checkpoint by activating Chk1 kinase upon DNA damage. *Nat Genet*, 2002. **30**(3): p. 285-9.
63. Liu, Y., et al., Regulation of BRCA1 phosphorylation by interaction with protein phosphatase 1alpha. *Cancer Res*, 2002. **62**(22): p. 6357-61.
64. Boukamp, P., et al., Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J Cell Biol*, 1988. **106**(3): p. 761-71.
65. Jin, S., et al., BRCA1 activation of the GADD45 promoter. *Oncogene*, 2000. **19**(35): p. 4050-7.
66. Paull, T.T., et al., Direct DNA binding by Brca1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(11): p. 6086-91.
67. Patel, K.J., et al., Involvement of Brca2 in DNA repair. *Mol Cell*, 1998. **1**(3): p. 347-57.
68. Yoshida, K. and Y. Miki, Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci*, 2004. **95**(11): p. 866-71.
69. Shao, N., et al., Induction of apoptosis by the tumor suppressor protein BRCA1. *Oncogene*, 1996. **13**(1): p. 1-7.
70. Fan, S., et al., p300 Modulates the BRCA1 inhibition of estrogen receptor activity. *Cancer Res*, 2002. **62**(1): p. 141-51.
71. Harkin, D.P., et al., Induction of GADD45 and JNK/SAPK-dependent apoptosis following inducible expression of BRCA1. *Cell*, 1999. **97**(5): p. 575-86.
72. Futamura, M., et al., Potential role of BRCA2 in a mitotic checkpoint after phosphorylation by hBUBR1. *Cancer Res*, 2000. **60**(6): p. 1531-5.
73. Nanda, R., et al., Genetic testing in an ethnically diverse cohort of high-risk women: a comparative analysis of BRCA1 and BRCA2 mutations in American families of European and African ancestry. *JAMA*, 2005. **294**(15): p. 1925-33.
74. Bonaiti-Pellie, C., et al., [Cancer genetics: estimation of the needs of the population in France for the next ten years]. *Bull Cancer*, 2009. **96**(9): p. 875-900.

75. Ford, D., et al., Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. *The Breast Cancer Linkage Consortium*. Am J Hum Genet, 1998. **62**(3): p. 676-89.
76. Wong, A.K., et al., RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene brca2. J Biol Chem, 1997. **272**(51): p. 31941-4.
77. <http://www.stjude.org/stjude/v/index.jsp?vgnextoid=ed17ca796f775310VgnVCM10000290115acRCRD&vgnextchannel=26103a045780c210VgnVCM1000001e0215acRCRD>, (consulté le 12 janvier 2014).
78. [http://masterbiologie.fr/M1\\_web/index2.php?id=4&p=5](http://masterbiologie.fr/M1_web/index2.php?id=4&p=5), ( consulté le 10 janvier 2014).
79. Vousden, K.H. and C. Prives, Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. Cell, 2009. **137**(3): p. 413-31.
80. <http://acces.ens-lyon.fr/biotic/gpe/dossiers/p53/html/mutasoma.htm>, (consulté le 10 janvier 2014).
81. Antoniou, A.C. and D.F. Easton, Models of genetic susceptibility to breast cancer. Oncogene, 2006. **25**(43): p. 5898-905.
82. Hainaut, P. and M. Hollstein, p53 and human cancer: the first ten thousand mutations. Adv Cancer Res, 2000. **77**: p. 81-137.
83. [http://p53.free.fr/Database/p53\\_cancer/p53\\_breast.html](http://p53.free.fr/Database/p53_cancer/p53_breast.html), 10 janvier 2014 18h35.
84. Joerger, A.C. and A.R. Fersht, Structure-function-rescue: the diverse nature of common p53 cancer mutants. Oncogene, 2007. **26**(15): p. 2226-42.
85. Kern, S.E., et al., Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulated gene expression. Science, 1992. **256**(5058): p. 827-30.
86. Walker, K.K. and A.J. Levine, Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(26): p. 15335-40.
87. Sakamuro, D., et al., The proline-rich region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. Oncogene, 1997. **15**(8): p. 887-98.
88. Pim, D. and L. Banks, p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. Int J Cancer, 2004. **108**(2): p. 196-9.
89. Marin, M.C., et al., A common polymorphism acts as an intragenic modifier of mutant p53 behaviour. Nat Genet, 2000. **25**(1): p. 47-54.
90. Li, R., et al., Mutant p53 protein expression interferes with p53-independent apoptotic pathways. Oncogene, 1998. **16**(25): p. 3269-77.
91. Ohiro, Y., et al., Inhibition of stress-inducible kinase pathways by tumorigenic mutant p53. Mol Cell Biol, 2003. **23**(1): p. 322-34.
92. Xu, Y., Induction of genetic instability by gain-of-function p53 cancer mutants. Oncogene, 2008. **27**(25): p. 3501-7.
93. Xu, Y., DNA damage: a trigger of innate immunity but a requirement for adaptive immune homeostasis. Nat Rev Immunol, 2006. **6**(4): p. 261-70.
94. Petitjean, A., et al., TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. Oncogene, 2007. **26**(15): p. 2157-65.
95. Beghin, A., Implications de la protéine Arl2 dans le phénotype tumoral et les mécanismes de chimiorésistance dans le cancer du sein. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat université Claude Bernard - Lyon 1, 52-2007, 2007.

96. Pujol P., N.C., Lesur A., This P., Stoppa-Lyonnet D., Maudelonde T Hormonothérapie chez la femme porteuse d'une mutation BRCA 1 ou 2. Journées de la SFSPM, Nancy, 2004. **26**: p. 372-385
97. Eisinger, F., et al., BRCA1 and medullary breast cancer. *JAMA*, 1998. **280**(14): p. 1227-8.
98. Eisinger, F., et al., Novel indications for BRCA1 screening using individual clinical and morphological features. *Int J Cancer*, 1999. **84**(3): p. 263-7.
99. Stoppa-Lyonnet, D., et al., Familial invasive breast cancers: worse outcome related to BRCA1 mutations. *J Clin Oncol*, 2000. **18**(24): p. 4053-9.
100. King, M.C., et al., Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP-P1) Breast Cancer Prevention Trial. *JAMA*, 2001. **286**(18): p. 2251-6.
101. Pujol, P., et al., Rising levels of estrogen receptor in breast cancer over 2 decades. *Cancer*, 1994. **74**(5): p. 1601-6.
102. Sospitsin, E.N., et al., Evidence against involvement of p53 polymorphism in breast cancer predisposition. *Int J Cancer*, 2003. **103**(3): p. 431-3.
103. Zhang, Z.W., et al., Prognostic value of TP53 codon 72 polymorphism in advanced gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004. **10**(1 Pt 1): p. 131-5.
104. Albarino, C.G. and V. Romanowski, Phenol extraction revisited: a rapid method for the isolation and preservation of human genomic DNA from whole blood. *Mol Cell Probes*, 1994. **8**(5): p. 423-7.
105. Gonzalez de Castro, D., et al., A comparison of three methods for detecting KRAS mutations in formalin-fixed colorectal cancer specimens. *Br J Cancer*, 2012. **107**(2): p. 345-51.
106. Rozen, S. and H. Skaletsky, Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol Biol*, 2000. **132**: p. 365-86.
107. Christinat, A. and O. Pagani, Practical aspects of genetic counseling in breast cancer: lights and shadows. *Breast*, 2013. **22**(4): p. 375-82.
108. Ibrahim, S.S., E.E. Hafez, and M.M. Hashishe, Presymptomatic breast cancer in Egypt: role of BRCA1 and BRCA2 tumor suppressor genes mutations detection. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010. **29**: p. 82.
109. Dominique Stoppa -Lyonnet, M.G.-V., Isabelle Coupier, PascaleThis1, Nadine Andrieu, Diagnostic des patientes à risques de cancer du sein. le sein, 2006: p. 1-10.
110. Oluwagbemiga, L.A., A. Oluwole, and A.A. Kayode, Seventeen years after BRCA1: what is the BRCA mutation status of the breast cancer patients in Africa? - a systematic review. *Springerplus*, 2012. **1**(1): p. 83.
111. Vos, J.R., et al., Proven non-carriers in BRCA families have an earlier age of onset of breast cancer. *Eur J Cancer*, 2013.
112. Saranath, D., et al., HPV16/18 prevalence in cervical lesions/cancers and p53 genotypes in cervical cancer patients from India. *Gynecol Oncol*, 2002. **86**(2): p. 157-62.
113. Storey, A., et al., Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature*, 1998. **393**(6682): p. 229-34.

114. Hrstka, R., P.J. Coates, and B. Vojtesek, Polymorphisms in p53 and the p53 pathway: roles in cancer susceptibility and response to treatment. *J Cell Mol Med*, 2009. **13**(3): p. 440-53.
115. Noma, C., et al., Association of p53 genetic polymorphism (Arg72Pro) with estrogen receptor positive breast cancer risk in Japanese women. *Cancer Lett*, 2004. **210**(2): p. 197-203.
116. De Vecchi, G., et al., The p53 Arg72Pro and Ins16bp polymorphisms and their haplotypes are not associated with breast cancer risk in BRCA-mutation negative familial cases. *Cancer Detect Prev*, 2008. **32**(2): p.140-3.
117. Hou, J., et al., p53 codon 72 polymorphism and breast cancer risk: A meta-analysis. *Exp Ther Med*, 2013. **5**(5): p. 1397-1402.
118. Buyru, N., et al., p53 genotypes and haplotypes associated with risk of breast cancer. *Cancer Detect Prev*, 2007. **31**(3): p. 207-13.
119. Trifa, F., et al., Haplotype analysis of p53 polymorphisms: Arg72Pro, Ins16bp and G13964C in Tunisian patients with familial or sporadic breast cancer. *Cancer Epidemiol*, 2010. **34**(2): p. 184-8.

## **ANNEXES**



-Ethnie :  
-Profession  
-Notion de consanguinité :  
-Intoxication : -tabac : -alcool : -autre :  
-Pathologie :  
Mère  
-âge :  
-Ethnie :  
-Profession  
-Notion de consanguinité :  
-Intoxication : -tabac : -alcool : -utilisation de déodorants en spray  
-Pathologie :  
Fratrie:  
-numéro dans la fratrie :  
Frères : -nombre : Pathologies :  
Sœurs :- nombre :  
Pathologies  
Arbre généalogique :

## **Histoire de la maladie**

Age de révélation du cancer :  
Durée des symptômes cliniques avant la première consultation :

## **Examen actuel**

### **Clinique :**

Coté où se trouve le cancer :  
Type de tumeur :  
Taille de la tumeur :  
Grade du cancer :  
Stade du cancer :  
Atteinte ganglionnaire :

### **Paraclinique :**

Dosage des marqueurs tumoraux : date analyse :  
Autres analyses :

## **Traitements :**

Médical :  
Interventionnel :  
Chirurgical :

### **Evolution :**

Durée du suivi jusqu'à la dernière consultation :  
Evolution :  
Qualité du résultat opératoire :  
Complications

## Déclaration de sujet

Cette étude m'a été expliquée. Je me porte volontaire pour participer à cette recherche. J'ai eu l'opportunité de poser des questions avant ma participation à l'étude et je peux en poser ultérieurement à chacun des chercheurs listés plus haut. Je peux me retirer à n'importe quel moment de cette étude.

Nom et Prénom du sujet :

Signature du sujet :

Marque du sujet si consentement verbal :

Date :

## ANNEXE 2

Résultats du séquençage des exons 8 et 22

ECH EXON	E8	E22
AB1	NEGATIF	NEGATIF
AB2	NEGATIF	NEGATIF
AB3	NEGATIF	NEGATIF
AB4	NEGATIF	NEGATIF
AB5	NEGATIF	NEGATIF
AB6	NEGATIF	NEGATIF
AB7	NEGATIF	NEGATIF
AB8	NEGATIF	NEGATIF
AB9	NEGATIF	NEGATIF
AS1	NEGATIF	NEGATIF
AS2	NEGATIF	NEGATIF
AS3	NEGATIF R BRUISTE	NEGATIF
AS4	NEGATIF	NEGATIF
AS5	NEGATIF	NEGATIF
AS6	NEGATIF R ECHEC	NEGATIF
AS7	NEGATIF R ECHEC	NEGATIF
AS8	NEGATIF R BRUISTE	NEGATIF
AS9	NEGATIF	NEGATIF
AS10	NEGATIF	NEGATIF
AS11	NEGATIF	NEGATIF
AS12	NEGATIF	NEGATIF
AS13	NEGATIF	NEGATIF
AS14	NEGATIF	NEGATIF
AS15	NEGATIF	NEGATIF
AS16	NEGATIF	NEGATIF
AS17	NEGATIF	NEGATIF
AS18	NEGATIF	NEGATIF
AS19	NEGATIF	NEGATIF
AS20	NEGATIF	NEGATIF
AS21	NEGATIF	NEGATIF
AS22	NEGATIF	NEGATIF
AS23	NEGATIF	NEGATIF
AS24	NEGATIF	NEGATIF
AS25	NEGATIF	NEGATIF
AS26	NEGATIF	NEGATIF
AS27	NEGATIF	NEGATIF
AS28	NEGATIF	NEGATIF
AS29	NEGATIF	NEGATIF
AS30	NEGATIF	NEGATIF
AS31	NEGATIF	NEGATIF
AS32	NEGATIF	NEGATIF
AS33	NEGATIF	NEGATIF
AS34	NEGATIF BRUISTE	NEGATIF
AS35	NEGATIF	NEGATIF
AS36	NEGATIF	NEGATIF
AS37	NEGATIF	NEGATIF
AS38	NEGATIF	NEGATIF
AS39	NEGATIF	NEGATIF
AS40	NEGATIF	NEGATIF
AS41	NEGATIF	NEGATIF
FY1	NEGATIF	NEGATIF
FY2	NEGATIF	NEGATIF
FY3	NEGATIF	NEGATIF
FY4	NEGATIF	NEGATIF
FY5	NEGATIF	NEGATIF
FY6	F FAIBLE / R ECHEC	NEGATIF
FY7	NEGATIF	NEGATIF
FY8	NEGATIF	NEGATIF
FY9	NEGATIF	NEGATIF
FY10	NEGATIF	NEGATIF
FY11	NEGATIF	NEGATIF

# **SERMENT DE GALIEN**

« **J**e jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

**D**'Honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

**D**'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

**D**e ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers les malades et sa dignité humaine.

**E**n aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

**Q**ue les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

**Q**ue je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque. »

**VU**  
**LE PRESIDENT DU JURY**

**VU**  
**LE DOYEN**

**VUE ET PERMIS D'IMPRIMER  
LE RECTERU DE L'UNIVERSITE CHEICKH ANTA DIOP DE DAKAR**