

THESE N°28/16CSVS

**UNIVERSITE MOHAMMED V- RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**

Centre d'études doctorales des Sciences de la vie et de la santé  
Filière Epidémiologie Clinique Et Sciences Médicochirurgicales

**THESE DE DOCTORAT**

**CONTRIBUTION DES MUTATIONS GERMINALES DES GENES BRCA  
DANS LA SURVENUE DU CANCER DU SEIN CHEZ LES FEMMES  
MAROCAINES**

Présentée et soutenue le

Par

**HICHAM EL FAZAZI**

الدكتور عبد الصالح الخطيباني  
Médecin Colonel des F.A.R  
Professeur de Médecine Interne  
Médecin Conseil auprès de la  
Mutuelle des F.A.R

**JURY**

**Pr. Pr M. DEHAYNI**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V-Rabat

**Pr. A.ELKHATTABI**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V-Rabat

**Pr. M. ELAZZOZI**

Faculté des sciences, Université Mohammed V-Rabat

**Pr. M. BENHESSOU**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan 2- Casablanca

**Pr. M. NACHIT**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan 2- Casablanca

**Président de thèse**

**Directeur de thèse**

**Rapporteur**

**Rapporteur**

**Rapporteur**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما  
علمتنا إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة الآية 31

بِسْمِ اللَّهِ  
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# Dédicaces

---

*Je dédie ce travail...*

## **A la mémoire de mes grands Parents**

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis...

## **A mes très chers parents**

Ce travail, ne peut être que le fruit de vos sacrifices interminables et de  
votre affection inépuisable  
Que Dieu vous protège et vous procure santé et longue vie

**A ma chère femme SARRA, et mes adorables filles INES ET AMANI**

**A ma sœur SANAA, mes neveux HAKIM ET NABIL et MOHAMED**

**A mon frère BADR, ma nièce NEYLA AINSI QUE SAMIRA**

**A mon frère SIMO, ma nièce DALILA, ainsi que LAURA**

**Ainsi que toute ma famille et ma belle famille**

En gage d'une reconnaissance et d'un amour sans failles

## **A mes chers amis et collègues de travail**

Tarchouli Mohamed, Fouad Nya, Abdessamad El Bahri,  
En témoignage de mon grand respect et de ma profonde reconnaissance.

# Remerciements

---

Un travail scientifique n'est jamais le fruit d'une seule personne, il est l'émanation d'une communauté, d'un réseau d'enseignants et de chercheurs. C'est le moment de remercier toutes les personnes qui ont permis que ce travail se réalise :

Je remercie, le **Professeur Mohamed Adnaoui**, Doyen de la faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat. Qu'il trouve ici l'expression de ma haute considération.

Je remercie, le **Professeur Jamal Taoufik**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Vice Doyen et Directeur du Centre d'Etudes Doctorales. Je tiens à lui témoigner ma grande estime et ma profonde gratitude pour les efforts précieux qu'il ne cesse de consentir pour la promotion de la recherche scientifique et le rayonnement de Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

Je remercie, Mr le **Professeur Mohamed DEHAYNI**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Chef de pôle de chirurgie viscérale et gynécologie-obstétrique de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V. Je tiens à lui témoigner ma gratitude de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail et de présider le jury de thèse. Qu'il me soit permis d'exprimer aussi ma vive reconnaissance de m'avoir fait bénéficier de sa grande expérience professionnelle et sa pertinente rigueur scientifique.

Je le remercie vivement d'avoir toujours été là. Il ne m'a jamais épargné ni temps ni encouragements. Ses directives, m'ont été nécessaires tout au long de ma formation. Je voudrais vous témoigner ici cher Maître, en reconnaissance de vos qualités humaines et professionnelles, ma profonde gratitude et dire combien il m'a été agréable de travailler sous votre direction.

Je remercie le directeur de thèse, le **Professeur Abdessadak ELKHATTABI**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat. Je le remercie infiniment pour la confiance qu'il m'a gratifié en acceptant d'encadrer ce travail avec bienveillance et disponibilité malgré ses grandes responsabilités et ses permanentes préoccupations. Je voudrais également lui témoigner ma profonde reconnaissance pour sa patience, son soutien et ses conseils judicieux qui m'ont aidé efficacement à mener ce travail à terme.

Je remercie, le **Professeur Mohammed ELAZZOUZI**, Professeur à la Faculté des sciences de Rabat. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de juger ce travail et de participer à ce jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde considération en témoignage de ses hautes qualités humaines et professionnelles.

Je remercie, le **Professeur Mohammed NACHIT**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude pour avoir aimablement accepté de juger ce travail et de m'avoir honoré par sa présence dans le jury de thèse malgré les contraintes du déplacement. Ses qualités humaines et professionnelles exceptionnelles ont toujours suscité estime et admiration.

Je remercie, le **Professeur Mustapha BENHESSOU**, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca. Je le prie de bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance d'avoir accepté de juger ce travail et de n'avoir ménagé aucun effort pour siéger parmi le jury de thèse, malgré les obligations professionnelles et les contraintes du déplacement. Je tiens à lui exprimer aussi ma profonde estime pour sa bienveillance, sa sympathie et ses compétences professionnelles.

Je remercie également, **Mme Khadija El Harti**, responsable du secrétariat du Centre d'Etudes Doctorales de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, pour sa disponibilité, sa bienveillance, sa sympathie et ses conseils qui ont été pour moi d'une aide précieuse.

Je remercie également, toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail, y compris le Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3, et le service de gynécologie obstétrique de l'hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V, Rabat et le Laboratoire Diagnostic Génétique et Moléculaire, Centre Jean Perrin de Clermont-Ferrand.

# Sommaire

## PARTIE THEORIQUE

INTRODUCTION.....	16
1 - RAPPEL ANATOMIQUE.....	20
A. Structure générale.....	20
B. Le lobule.....	24
1. Structure.....	24
2- La cellule épithéliale.....	26
3- La cellule myoépithéliale.....	27
4- La membrane basale.....	27
5- Le tissu palléal.....	28
II- Histologie et cytologie pathologique de la glande mammaire.....	28
A -Histologie.....	28
B- Cellules souches et carcinogénèse de la glande mammaire.....	34
C-Anatomie et cytologie pathologiques des tumeurs épithéliales de la glande mammaire, classification.....	37
1-Types histologiques des cancers du sein.....	37
2-Grade.....	39
3-Stade.....	40
4-Immunohistochimie :Tests moléculaires mettant en évidence le récepteur aux oestrogènes, le récepteur à la progestérone et l'Human Epidermal Growth Factor Receptor 2.....	41
III-EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RISQUE.....	44
A -Épidémiologie des carcinomes mammaires.....	44

B -Facteurs de risques.....	44
1- Facteurs liés à la reproduction .....	44
2- Les hormones endogènes .....	45
3- Les hormones exogènes .....	45
4- Autres facteurs de risques .....	47
5- Facteurs génétiques .....	47
6- Nouveaux facteurs de risques en cours d'évaluation .....	48
<b>VI- DIAGNOSTIC .....</b>	<b>48</b>
A-diagnostic clinique.....	48
1-Circonstances de découverte.....	48
a- Examens clinique .....	49
B-examens radiologiques.....	50
1-La mammographie (3 incidences : face, profil, prolongement axillaire) .....	50
2-L'échographie.....	50
3-L'IRM .....	51
C-Examens cyto-histologiques.....	51
D-Bilan d'extension.....	51
1- Sur le plan locorégional .....	51
2- A distance.....	52
<b>V- THERAPEUTIQUES DES CARCINOMES MAMMAIRES .....</b>	<b>53</b>
<b>VI- ONCOGENETIQUE DU CANCER DU SEIN.....</b>	<b>54</b>
A-origine de la carcinogenèse .....	54
B-oncogénétique.....	55
C-Bases génétiques.....	58
1- Altérations génétiques somatiques dans le cancer du sein .....	58

2- profils d'expression génique en cancérologie mammaire.....	67
3-génétique et cancer du sein .....	69

## PARTIE EXPERIMENTALE

I-Matériel et méthodes .....	75
A-Sujets d'étude.....	75
B-Analyse moléculaire .....	76
C-Prévision in silico .....	77
D-Analyses statistiques.....	77
II-Résultats.....	77
III-Discussion.....	82
IV-CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	74
RESUME.....	75
REFERENCES.....	78

# ABBREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARN :	Acide Ribonucléique
ATM :	Ataxia-Telangiectasia-Mutated
BC or OC:	Breast cancer or ovarian cancer
BRCA :	Breast Cancer gene
CCDN1 :	Cyclin D1
CCI :	Carcinome canalaire infiltrant
CCIS :	Carcinome Canalaire In Situ
CDH1 :	Cadherin 1
c-erbB-2 :	Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2
CGH :	Comparative Genomic Hybridization
CIS :	Carcinome In Situ
CISH :	Chromogenic In Situ Hybridization
CK :	Cytokératine
CLI :	Carcinome lobulaire infiltrant
CLIS :	Carcinome Lobulaire In Situ
CT :	Chimiothérapie
EGF :	Epidermal Growth Factor
EGFR :	Epidermal Growth Factor Receptor
ER :	Estrogen Receptor
ESR1 :	Estrogen Receptor 1
FGF :	Fibroblast Growth Factor
FGFR :	Fibroblast Growth Factor Receptors
FISH :	Fluorescence In Situ Hybridization

GRB :	Growth Factor Receptor Bound Protein
HER-2 :	Human Epidermal growth factor Receptor 2
HT :	Hormonothérapie
IGF 1 :	Insulin-like Growth Factor 1
IHC :	Immunohistochimie
IRM:	Imagerie par resonance magnétique
Ki-67 :	cell cycle related nuclear protein
LIN :	Néoplasie Intra-Lobulaire
LOH :	Loss Of Heterogosity
OMS :	Organisation mondiale de la santé
P53 :	protéine 53
RE :	Récepteur OEstrogénique
RH :	Recepteurs Hormonaux
RP :	Récepteur Progestatif
RR :	Risque relatif
PCR :	Polymerase Chain Reaction
SBR :	Scarff Bloom et Richardson
TDLU :	Terminal Duct Lobular Unit
THS :	traitement hormonal substitutif
TMA :	Tissue Microarrays
TN :	Triple Négatifs
TNS :	Type Non Spécifique

# **INTRODUCTION**

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent dans le monde, c'est la deuxième cause de décès par cancer [1]. En Afrique du nord et au moyen orient, le cancer du sein est également le premier cancer de la femme. Il représente 14-42 % de tous les cancers féminins avec une augmentation exponentielle [1]. L'organisation mondiale de la santé considère le cancer du sein comme une priorité de santé publique et un problème majeure chez la femme dans cette région du monde [2].

Le cancer du sein prend naissance des cellules épithéliales qui tapissent l'unité terminale ductulo-lobulaire. On peut le classer comme carcinome invasif ou non invasif selon le franchissement ou non de la membrane basale. Les traitements systémiques (chimiothérapie CT, hormonothérapie HT, thérapeutiques ciblées) qui complètent le traitement local et locorégional sont délivrés sur la base de facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse thérapeutique. Malheureusement, malgré l'évolution considérable qu'a connue depuis une quinzaine d'années la prise en charge du cancer du sein [3], le dépistage et les traitements avec une bonne survie généralement, les facteurs histologiques, cliniques et moléculaires, ont globalement peu évolué et sont insuffisants vu l'hétérogénéité évolutive de la maladie [4], conduisant un certain nombre de patientes vers des traitements inadaptés, inutiles ou inefficaces, voire toxiques [5]. Cette incapacité de prise en charge précoce coïncide aujourd'hui avec la disponibilité croissante de nouvelles molécules anti-tumorales [6], ainsi que les exploits de la détermination de prédisposition génétique au cancer du sein dans ses formes précoces et familiales.

Depuis plusieurs années, les techniques de biologie se sont largement répandues dans les laboratoires de recherche. De nombreuses études ont permis d'améliorer notre compréhension de l'oncogénèse mammaire en identifiant quelques gènes clés dont les plus importants sont (BRCA, ERBB2, P53 ...).

L'étude du gène BRCA s'impose comme un sujet d'actualité permettant ainsi de s'investir dans plusieurs recherches afin d'élucider son incrimination oncogénétique.

Le cancer du sein apparaît aujourd'hui comme une maladie complexe caractérisée par l'accumulation de multiples altérations moléculaires qui confèrent à chaque tumeur un phénotype et un potentiel évolutif propres.

Perou et Sorli ont utilisé la technique de puces à ADN pour créer la nouvelle classification du cancer du sein [6, 7]. Ils ont démontré que cette néoplasie peut être classifiée selon les profils d'expression génique en quatre groupes :

**-Type luminal** : tumeurs qui expriment les récepteurs oestrogéniques.

**-HER-2 ou Erb-B2** : tumeurs qui sur expriment l'HER-2

**-Type normale** : dont les cellules ressemblent à celles du sein normal et aux fibroadénomes.

**-Type basal ou « triple négatif »** : tumeurs qui n'expriment pas les récepteurs hormonaux ni l'HER, et qui expriment les gènes trouvés normalement dans les cellules basales et myoépithéliales.

Les tumeurs de type luminal sont associées à un meilleur pronostic en comparaison avec les tumeurs de type basal ou HER-2 qui ont un profil clinique plus agressif.

Actuellement, la recherche des mutations germinales des prédispositions au cancer du sein, s'impose comme alternative préventive dans les formes précoces agressives ainsi que dans les formes familiales.

D'où l'intérêt de notre étude, dont le but est d'élucider l'impact de la contribution génétique dans la survenue du cancer du sein dans un contexte familial ou précoce.

# **PARTIE THEORIQUE**

# 1 - RAPPEL ANATOMIQUE

## *A. Structure générale*

La glande mammaire est un organe important chez la femme, jouant un rôle esthétique, affectif, sexuel ainsi que nutritif pendant l'allaitement. Son développement est continu depuis le stade embryonnaire, à travers la puberté, les cycles menstruels et la grossesse, jusqu'à l'atrophie à travers la ménopause.

Au sommet du mamelon s'abouchent 10 à 20 canaux. Certains sont rapidement borgnes mais la plupart vont, après une dilatation ampullaire fusiforme appelée sinus lactifère et située à hauteur de la plaque aréolaire, se ramifier en canaux de plus petit calibre jusqu'à aboutir aux structures terminales périphériques que sont les lobules éparpillés dans tout le sein (figure 1).

L'organe renferme donc deux structures essentielles, une structure à visée sécrétoire qui est le lobule et une structure à visée excrétrice qui est le canal excréteur encore appelé canal galactophore [8].

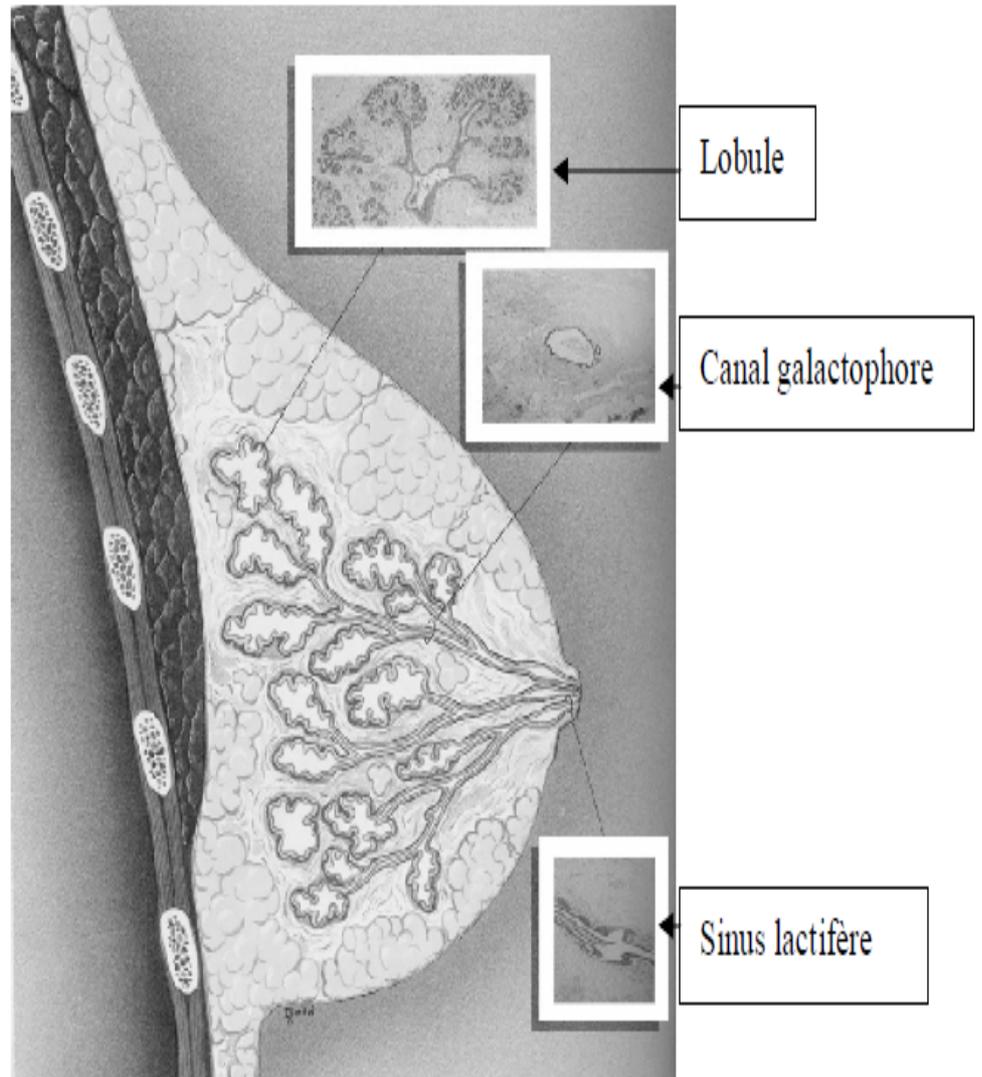
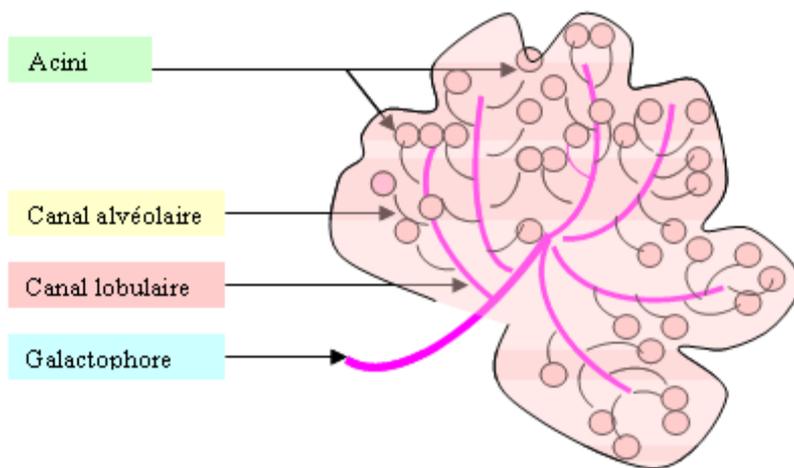


Figure 1 : représentation schématique de la structure générale d'un sein

La ramification d'un galactophore donne lieu à une formation arborescente qui, avec le tissu conjonctif ou adipeux qui l'entoure, est appelé lobe. Ce lobe mammaire( figure2), de forme pyramidale à pointe mamelonnaire, n'a pas de limites anatomiques propres et ne peut être matérialisé qu'à l'aide d'une injection intracanaulaire de colorants ou d'une galactographie.

Les lobules sont essentiellement situés à la périphérie de l'organe (par rapport au mamelon) et ils sont plus particulièrement nombreux dans le quadrant supéro-externe [8].



**Figure 2 : représentation schématique d'un lobule mammaire**

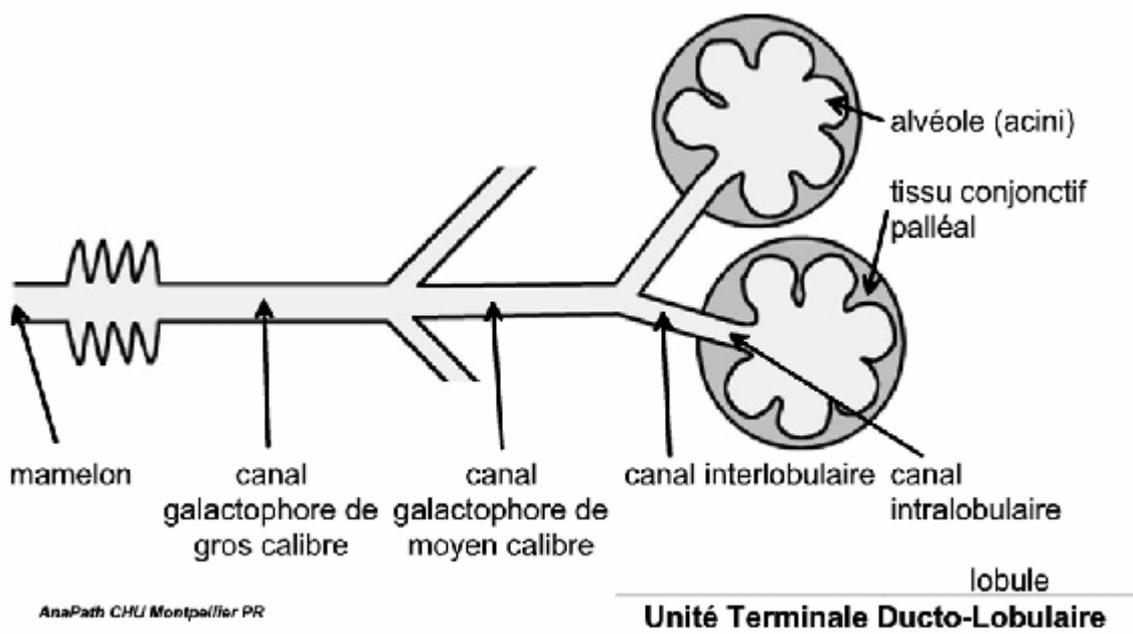
## ***B. Le lobule***

### **1. Structure**

Le lobule est une formation sphérique d'environ 0,5 à 1mm de diamètre constituée de petits tubes borgnes (appelés ductules terminaux) agencés de manière radiée autour d'un canal collecteur intralobulaire (le galactophore terminal intralobulaire).

Ces ductules terminaux, au nombre de 20 à 100, sont entourés par un tissu fibro-collagène lâche appelé tissu palléal et dont les limites périphériques séparent le lobule du tissu fibro-collagène de soutien.

Le revêtement épithélial des lobules est à double couche, la couche interne faite de cellules épithéliales bordant la lumière, la couche externe de cellules myoépithéliales [9]. En 1975, Wellings a développé le concept de TDLU (terminal duct lobular unit ou unité terminale ductulo-lobulaire) qui englobe le lobule et le galactophore terminal extralobulaire [10, 11] [10]. Ce galactophore terminal représente la dernière division du galactophore avant le lobule. Il est court et de longueur voisine de celle du diamètre lobulaire, soit environ 1mm. Ce TDLU, de par sa grande hormonoréceptivité, représente le lieu de développement de la plupart des proliférations épithéliales bénignes et malignes.



**Figure 3: représentation schématique d'une unité terminale ductulo-lobulaire**

## **2- La cellule épithéliale**

Elle est le point de départ de la très grande majorité des carcinomes mammaires. Dans au moins 98% des cas, le cancer du sein est un adénocarcinome développé à partir de l'épithélium glandulaire (principalement de celui de ces unités terminales). Même à l'état de repos, le lobule est le siège d'une sécrétion a minima provenant des cellules épithéliales. Cette sécrétion n'est pas forcément extériorisée au mamelon.

### **2-1 Aspect morphologique**

Les cellules glandulaires ou lactocytes présentent en effet des cycles d'activité que traduisent d'importants changements de la morphologie. Au repos elles sont basses, cuboïdes avec un noyau central ovalaire et un cytoplasme relativement peu abondant. Dans la phase de sécrétion elles deviennent au contraire hautes, avec un cytoplasme plus abondant qui déplace l'extrémité apicale dans la lumière glandulaire.

### **2-2 Aspect immunohistochimique**

L'expression de l'antigène épithélial spécifique (ASE) et de l'antigène épithélial membranaire (EMA) a été longtemps associé aux cellules luminales, mais la plupart utilisent actuellement pour la reconnaissance de ces cellules leur profil unique d'expression de cytokératines qui appartiennent aux filaments intermédiaires et qui sont divisés en deux types: acide (type I) et basale (type II) en se basant sur leurs caractéristiques de point isoélectrique, et en cytokératine de haut et de bas poids moléculaire. Les cytokératines 1 à 8 appartiennent au type I, alors que les cytokératines 9 à 20 appartiennent au type II. Chaque cellule épithéliale expriment au moins deux types différents de cytokératines.

Les cellules luminales expriment des marqueurs associés aux récepteurs hormonaux (récepteurs des oestrogènes et de la progestérone [12-13], certaines cytokératines (CK8, CK14, CK18) ainsi que des facteurs de transcription spécifiques comme GATA3 et FOXA1.

### **3- La cellule myoépithéliale**

Cette cellule n'est pas spécifique du sein puisqu'on la retrouve également dans les glandes salivaires et sudorales. Elle est située entre les cellules épithéliales et la membrane basale.

La cellule myoépithéliale participe à l'élaboration de la membrane basale et a des propriétés contractiles qui favorisent l'éjection du lait et l'apparition d'espaces intercellulaires permettant de meilleurs échanges entre l'épithélium et le tissu palléal.

#### **3-1 Aspect morphologique**

Les cellules basales sont morphologiquement hétérogènes, elles sont soit fusiformes ou cubiques, selon leur endroit dans le système canalaire du sein et selon le statut hormonal du tissu .

Les cellules myoépithéliales situées à la périphérie des canaux ont typiquement des hémidesmosomes, des filaments cytoplasmiques avec des densités focales et des vésicules de pinocytose le long de la membrane plasmique.

#### **3-2 Aspect immunohistochimique**

Les cellules basales sont le plus souvent définies par leur expression de l'actine muscle lisse. En plus, la vimentine, la glial fibrillary acid protein, le CD 10, la p63, la myosine muscle lisse, la protéine S100, la calponine et le caldesmon peuvent aussi définir les cellules myoépithéliales. En ce qui concerne les cytokératines, les cellules myoépithéliales possèdent des profils différents de cytokératine qui diffèrent de celui des cellules luminales. Elles expriment en général les cytokératines 5/6, 14 et 17 .

### **4- La membrane basale**

Il s'agit d'une structure membranaire soutenant l'épithélium, synthétisée par les cellules épithéliales. La membrane basale est une zone d'échange et de contact entre les structures épithéliales et le tissu conjonctif. En cancérologie, la membrane basale s'oppose au passage des cellules cancéreuses et son respect par les cellules néoplasiques a permis de définir le concept de carcinome in situ. Au-delà, se situe le tissu palléal ou manteau. En immunohistochimie, la membrane basale exprime la laminine ou le collagène de type IV .

## **5- Le tissu palléal**

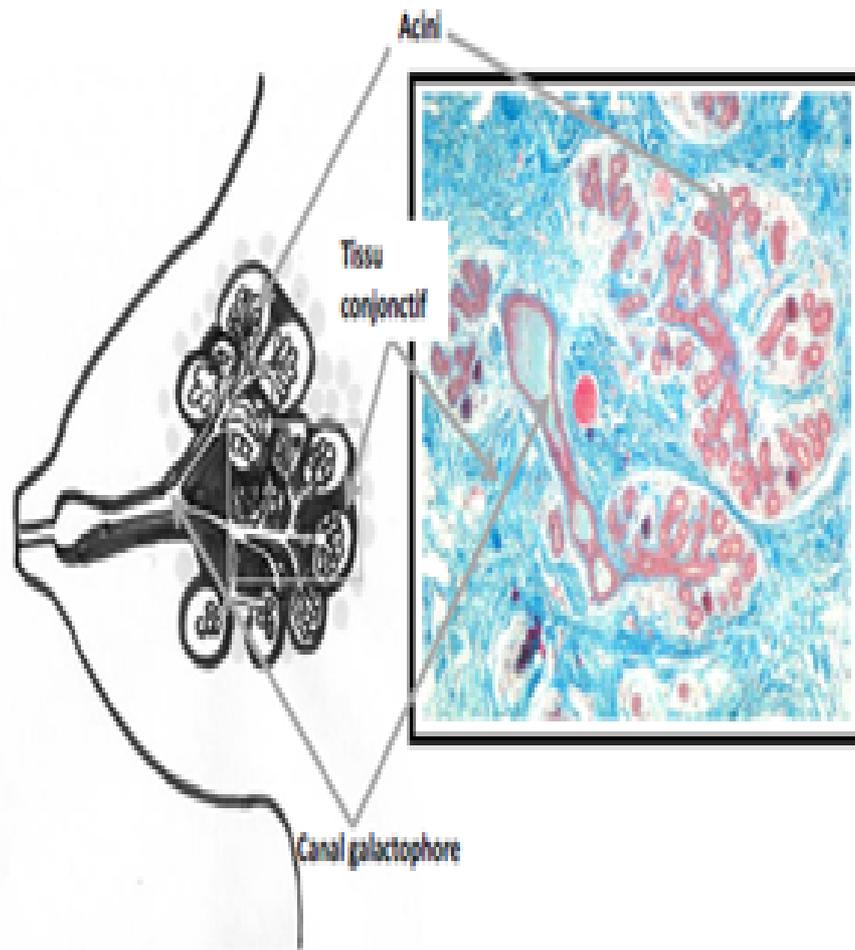
Il s'agit d'un tissu conjonctif très vascularisé enveloppant les ductules terminaux et généralement bien séparé du tissu conjonctif inter lobulaire environnant qui est plus dense. Sa densité est variable, en fonction du cycle hormonal ou de l'âge. Très actif, le tissu palléal est :

- un lieu d'échange où se produisent les modifications cycliques d'origine hormonale,
- un site privilégié de la croissance du tissu mammaire, en particulier à l'adolescence et chez l'adulte dans le phénomène d'adénose,
- propice au développement d'une réaction inflammatoire, en particulier dans les mastites ou au contact d'un carcinome in situ,
- à l'origine de tumeurs à dominance conjonctive comme le fibroadénome ou la tumeur phyllode.

## **II- Histologie et cytologie pathologique de la glande mammaire**

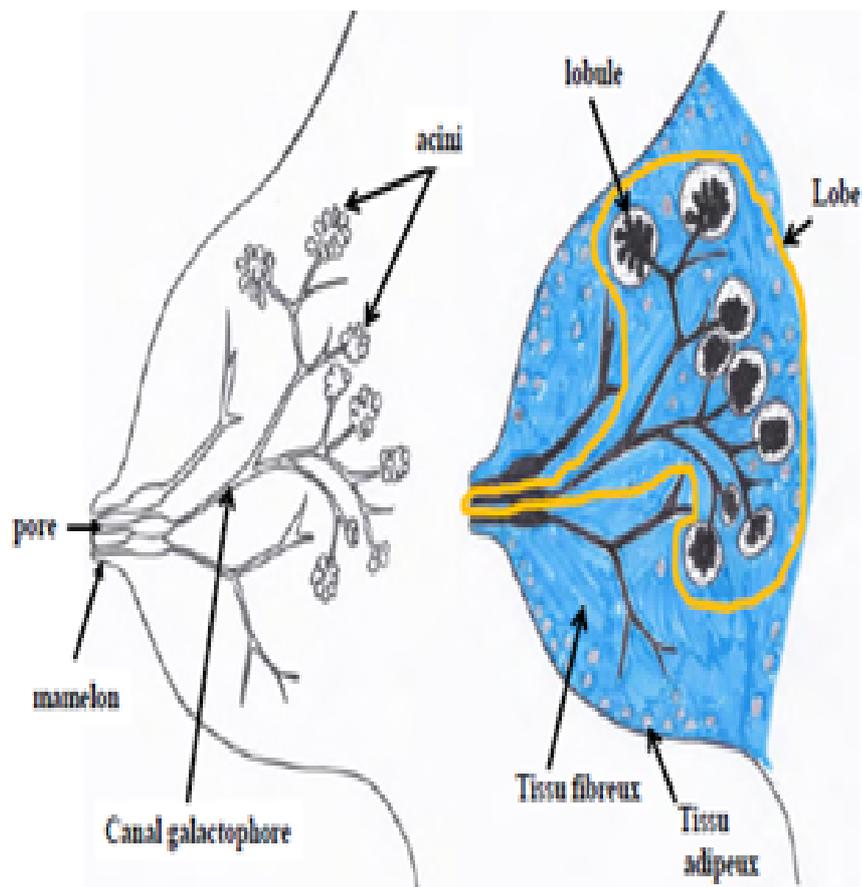
### ***A -Histologie***

La glande mammaire est une glande exocrine, composée d'unité acino-alvéolaire. Elle est constituée de canaux galactophores ramifiés et de portions sécrétrices. En dehors de la grossesse et de la lactation, la glande est dite au repos et les portions sécrétrices forment des bouquets de petites sphères appelés acini( figure 4). Pendant la grossesse et la lactation, les portions sécrétrices se multiplient, se dilatent et forment des alvéoles.



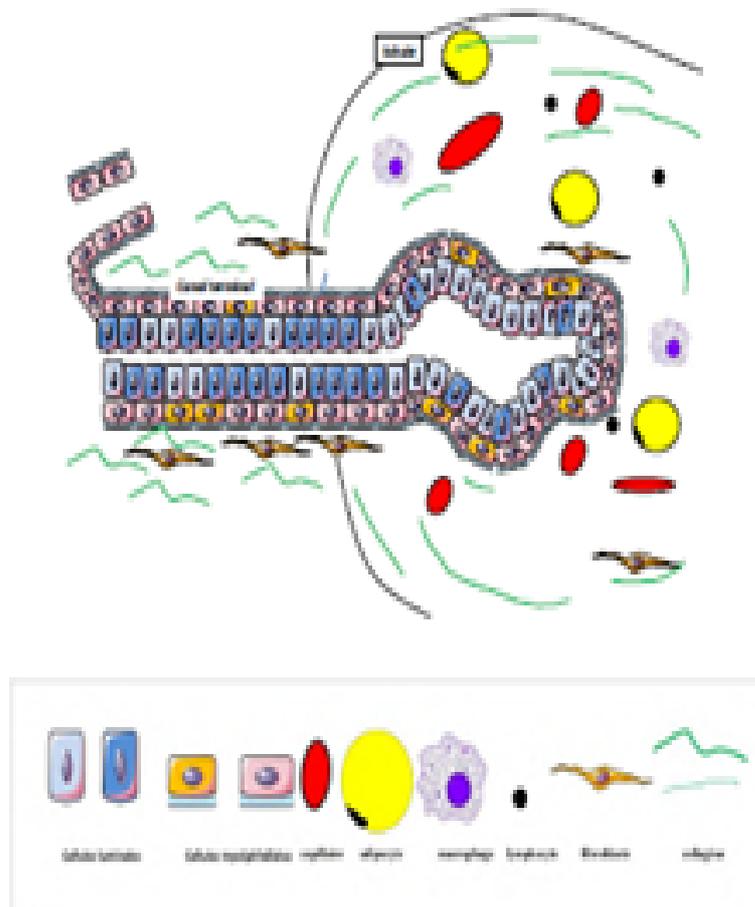
**figure 4 : coupe sagittale de la glande mammaire**

La glande se divise en lobes et en lobules. Un lobe est constitué de tissu épithélial et de tissu conjonctif. Le tissu épithélial d'un lobe correspond à un canal galactophore et à toutes ses ramifications jusqu'aux acini. Le tissu conjonctif qui le soutient est un tissu conjonctif dense. Un lobule correspond à une sous unité du lobe. Il s'agit également d'une structure épithéliale et conjonctive. La partie épithéliale comprend la terminaison de la dernière ramification du canal galactophore et les acini qui en naissent. Le tissu conjonctif dans lequel se trouve ces structures épithéliales lobulaires est un tissu conjonctif lâche appelé le tissu palléal. On observe plusieurs lobules par lobes et il existe en moyenne 12 lobes par glande mammaire (figure 5).



**figure 5 : schéma d'histologie de la glande mammaire**

Les structures épithéliales de la glande mammaire correspondent à un épithélium qui est bistratifié et cubo-cylindrique depuis l'origine du canal galactophore jusqu'aux acini. Il repose comme la plupart des épithéliums sur une membrane conjonctive spécialisée : la membrane basale. En regard de la lumière se trouvent les cellules épithéliales dites luminales. Ce sont ces cellules qui remplissent la fonction sécrétoire. Entre les cellules luminales et la membrane basale se trouvent les cellules myoépithéliales (figure 6). Ces dernières ont pour rôle d'assurer la contraction et possèdent donc dans leur cytoplasme des protéines contractiles. Autour des acini, le tissu conjonctif lâche, dit palléal, est constitué d'une proportion équivalente, de substance fondamentale, de fibres et de cellules (fibroblastes, plasmocytes, lymphocytes et macrophages). Ce tissu se caractérise aussi par la présence de nombreux capillaires (figure 6). Le tissu conjonctif dense qui soutient les lobes contient une prédominance de fibres (collagènes et élastiques) par rapport aux éléments cellulaires et à la substance fondamentale. Dans ce type de tissu les éléments cellulaires sont en majorité des fibroblastes.



**Figure 6 : représentation schématique des parois galactophoriques et des acini**

## ***B- Cellules souches et carcinogénèse de la glande mammaire***

L'unité terminale ducto-lobulaire (UTLD) a été définie à l'origine comme la partie de l'arbre galactophorique contenant la dernière ramification d'un canal galactophore et le lobule qu'elle dessert (figure 7-7bis). Depuis, la littérature semble parfois réduire l'UTLD au lobule [12-14]. L'UTLD est reconnue comme l'unité fonctionnelle de la glande mammaire. C'est à partir de cette unité qu'au moment de la grossesse et de la lactation vont se développer de nouvelles UTLD, de nouveaux lobules et les alvéoles. Il est aussi admis que c'est à partir de cette unité que proviennent la plupart des tumeurs bénignes et malignes de la glande mammaire. Les cellules souches qui permettent le renouvellement des structures sont localisées au niveau de l'assise basale entre les cellules myoépithéliales. Les cellules souches capables de reproduire de nouvelles UTLD se trouvent au niveau des canaux terminaux extra lobulaire (figure6). Ce sont des cellules multipotentes (progéniteurs précoces) capables de donner naissance aux deux types de cellules : luminales et myoépithéliales. Il existe d'autres cellules progénitrices plus tardives qui vont se trouver au niveau du lobule (figure 6-7).

Cependant ces cellules progénitrices tardives sont plus engagées dans le processus de différenciation et ne pourront renouveler qu'un seul des deux types cellulaires luminal ou myoépithélial, elles sont unipotentes. Les cellules multipotentes des canaux terminaux sont des cellules quiescentes qui ne se mettent en division que lorsque le stock de cellules progénitrices tardives lobulaires est épuisé ou ne suffit pas, par exemple lors de la grossesse et de la lactation. Ces cellules sont donc la plupart du temps hors cycle. Les cellules progénitrices tardives des lobules sont des cellules qui régulent l'homéostasie quotidienne et qui sont donc en cycle et prolifèrent activement[12, 14] . En ce qui concerne l'émergence des tumeurs, il est proposé que la transformation des cellules souches précoces ou tardives soit à l'origine des populations tumorales initiales (cellules souches cancéreuses) capables de générer tous les phénotypes carcinomateux que l'on observe dans les cancers mammaires. Certains émettent l'hypothèse par exemple que les cancer ER positifs (ER+) proviendraient de progéniteurs ER+ et les carcinomes ER négatifs (ER-) de progéniteur ER-[14] . Par ailleurs, il a été montré récemment, que le risque de cancer du sein décroît avec l'involution du lobule et plus précisément qu'il était proportionnel au nombre d'acini par lobule et à la taille des lobules [13] .

## Unité terminale ductolobulaire UTLD

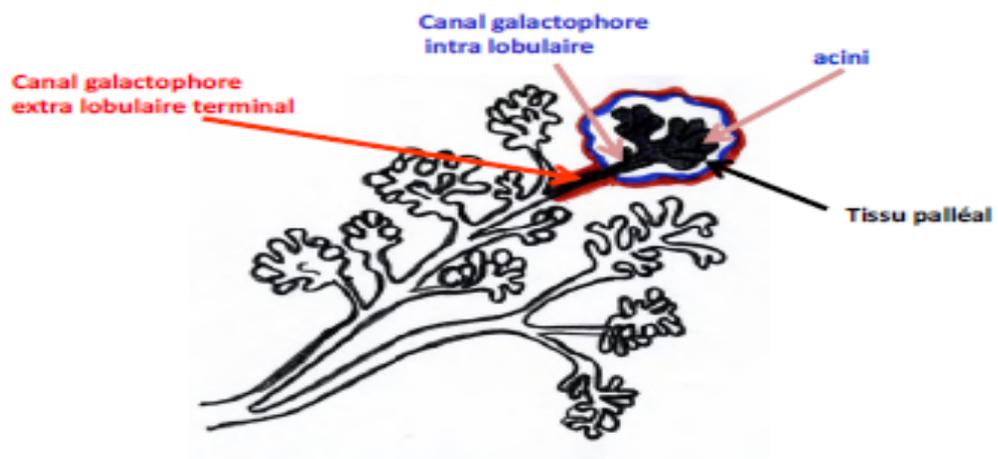
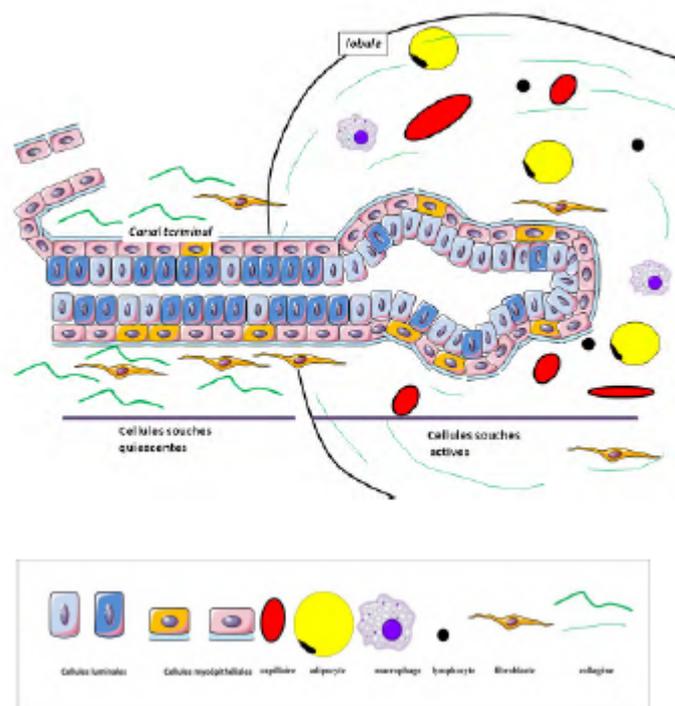


figure 7 :unite terminale ductuolobulaire



**Figure 7 bis: localisation des cellules souches quiescentes et actives**

## **C-Anatomie et cytologie pathologiques des tumeurs épithéliales de la glande mammaire, classification**

### **1-Types histologiques des cancers du sein**

Le sein est constitué de différents tissus : épithélial, conjonctif, immunitaire et vasculaire qui peuvent donner tous les types des cancers. On peut donc observer des cancers d'origine épithéliale, mésenchymateuse, ou encore lymphomateuse. Les plus fréquents sont de loin les cancers épithéliaux, les carcinomes, que l'on nomme couramment « cancers du sein ». Parmi les nombreux types de cancers épithéliaux, les deux types, les plus fréquents sont les carcinomes invasifs d'aucun type special (NST pour No Special Type), (ou encore appelés carcinomes canauxaires invasifs NOS pour carcinome canalaire Not Otherwise Specified) et les carcinomes lobulaires. Ces cancers peuvent être précédés de lésions précurseurs tels que les carcinomes canauxaires ou lobulaires in situ. Il existe également des lésions proliférantes telles que les hyperplasies typiques ou atypiques évoluant selon une histoire impactée par des facteurs environnementaux, endogènes ou exogènes .

Le cancer invasif NST que nous appellerons carcinome canalaire représente 75% des tumeurs mammaires invasives. Ces cancers sont d'aspect très varié. Les cellules carcinomateuses forment des cordons, des ilots, des travées ou présentent une différenciation glandulaire. Les noyaux peuvent être petits, réguliers et uniformes, ou très pléomorphiques avec de nombreux et gros nucléoles. L'activité mitotique peut être minime ou aller jusqu'à 80%. Le tissu conjonctif ainsi que les cellules inflammatoires sont d'abondance variable. Le carcinome invasif lobulaire représente environ 15% des tumeurs mammaires invasives. Il s'agit d'une prolifération de petites cellules peu cohésives, dispersées dans un tissu conjonctif dense ou rangées en cordons linéaires infiltrants. Les noyaux sont ronds entourés d'une fine couronne cytoplasmique alors que les mitoses sont peu fréquentes [15] . Ainsi , on distingue deux types de carcinomes :

## a- LES CARCINOMES IN SITU :

- **Lésions de type canalaire**

### Abandon de la terminologie de DIN (« Ductal Intra-Neoplasia »)

Ancienne terminologie	UDH	DIN 1A	DIN 1B	DIN 1C	DIN2	DIN3
Classification OMS 2012	HCS	Atypies planes	HCA	CIC bas grade	CIC grade intermédiaire	CIC haut grade

HCS : hyperplasie canalaire simple  
HCA : hyperplasie canalaire atypique  
CCIS : carcinome canalaire in situ

DIN : ductal intraepithelial neoplasia  
UDH : usual ductal hyperplasia

- **Lésions de type lobulaire**

### Abandon de la terminologie de LIN (« Lobular Intra-Neoplasia »)

Ancienne terminologie	LIN 1 / LIN 2	LIN 2	LIN 3	LIN 3
Classification OMS 2012	HLA	CLIS classique	CLIS pléomorphe	CLIS avec nécrose

HLA : hyperplasie lobulaire atypique  
LIN : lobular intraepithelial neoplasia  
CLIS : carcinome lobulaire in situ

## b- LES CARCINOMES INVASIFS

Classification OMS 2012	Classification OMS 2003
Carcinome infiltrant de type non spécifique (NST/NOS)	Carcinome canalaire infiltrant SAI (sans autre indication)
Carcinome lobulaire infiltrant : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Classique</li> <li>• Pléomorphe</li> </ul>	Carcinome lobulaire infiltrant <ul style="list-style-type: none"> <li>• Classique</li> <li>• Pléomorphe</li> </ul>
Carcinome tubuleux	Carcinome tubuleux
Carcinome cribriforme	Carcinome cribriforme infiltrant
Carcinome mucineux	Carcinome produisant du mucus
Carcinome avec « aspects médullaires » : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome médullaire</li> <li>• Carcinome infiltrant NST « avec aspects médullaires »</li> </ul>	Carcinome médullaire

Carcinome micropapillaire infiltrant	Carcinome micropapillaire infiltrant
Carcinome apocrine	Carcinome apocrine
Carcinome métaplasique de type non spécifique (NST) : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome adéno-squameux de bas grade</li> <li>• Carcinome métaplasique pseudo-fibromatosique</li> <li>• Carcinome épidermoïde</li> <li>• Carcinome à cellules fusiformes</li> <li>• Carcinome métaplasique avec différenciation mésenchymateuse</li> <li>• Carcinome myoépithélial</li> <li>• Carcinome métaplasique mixte</li> </ul>	Carcinome métaplasique : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome à métaplasie épithéliale pure (carcinome épidermoïde, carcinome à cellules fusiformes, carcinome adéno-squameux, carcinome muco-épidermoïde).</li> <li>• Carcinome à métaplasie épithéliale/mésenchymateuse</li> </ul>
Carcinome papillaire infiltrant	Carcinome papillaire infiltrant
Carcinome à différenciation neuroendocrine <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumeur neuroendocrine bien différenciée</li> <li>• Tumeur neuroendocrine peu différenciée</li> <li>• Carcinome à différenciation neuroendocrine</li> </ul>	Tumeurs neuroendocrines du sein : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome neuroendocrine solide</li> <li>• Tumeur carcinoïde atypique</li> <li>• Carcinome à petites cellules</li> <li>• Carcinome neuroendocrine à grandes cellules</li> </ul>
Carcinome sécrétant	Carcinome sécrétant (juvénile)
Carcinome muco-épidermoïde	Cf. carcinome métaplasique
Carcinome oncocytaire	Carcinome oncocytaire
Carcinome adénoïde kystique	Carcinome adénoïde kystique
Carcinome à cellules claires riche en glycogène	Carcinome à cellules claires riche en glycogène
Carcinome de type glande salivaire/glande annexielle cutanée	

## 2-Grade

Les carcinomes invasifs vont être gradés. Le grade se base sur 3 critères :

- la formation de glandes
- le pléomorphisme nucléaire
- le compte mitotique.

Un score numérique allant de 1 à 3 est utilisé pour chacun des critères.

L'évaluation de la présence de glandes est établie sur l'ensemble de la tumeur analysée alors que l'évaluation du pléomorphisme nucléaire prend en compte la zone où les noyaux sont les plus irréguliers avec les nucléoles les plus proéminents.

Pour le compte mitotique, c'est la zone où se trouve la plus forte prolifération qui est prise en compte.

Le grade est déterminé par l'addition des trois facteurs les uns avec les autres, ainsi :

- Le grade I, avec un score allant de 3 à 5, correspond à des carcinomes bien différenciés.
- Le grade II, avec un score de 6 à 7, correspond aux carcinomes moyennement différenciés.
- Le grade III, avec un score de 8 ou 9, correspond à des carcinomes peu différenciés.

En conséquence, le grade I comprend les carcinomes les moins agressifs et de bon pronostic et le grade III comprend les carcinomes les plus agressifs et de mauvais pronostic. Le grade II comprend donc les carcinomes modérément agressifs.

Les différents grades histologiques correspondent à des profils génomiques, transcriptomiques et protéomiques distincts. Il existe une corrélation inverse entre le grade des tumeurs et la survie des patients qui présentent un cancer du sein invasif. Le grade est un puissant facteur pronostique et un élément clé concernant les décisions cliniques [15]

### **Grade des carcinomes mammaires d'après Eltson et Ellis, 1991[16]**

Tableau 1 Grade des carcinomes mammaires d'après Eltson et Ellis, 1991

Morphologie	score
Formation de glandes et de tubules	
concerne > 75% de la tumeur	1
concerne 10 - 75% de la tumeur	2
concerne < 10 % de la tumeur	3
<b>Pléomorphisme nucléaire</b>	
Noyau petit, uniforme et régulier	1
Augmentation modérée de la taille et variabilité de leur aspect	2
Variations marquées	3
<b>Compte des mitoses</b>	dépend du diamètre du champ
Pour un champ de 0,60 mm	
≤ 10	1
11 et 20	2
≥ 20	3
<b>Grade final</b>	
<b>Grade I</b>	score total entre 3 et 5
<b>Grade II</b>	score total de 6 ou de 7
<b>Grade III</b>	score total de 8 ou de 9

### **3-Stade**

C'est le stade TNM publié par l'American Joint Committee sur le Cancer qui est largement reconnu et utilisé. Ce système est basé sur l'extension de la tumeur au niveau de son site primitif (Tumor T), sur l'envahissement des ganglions régionaux (Nodes N) et sur la présence de métastases (M). Cette évaluation est importante pour la prise de décision thérapeutique. En ce qui concerne l'envahissement des ganglions lymphatiques, il s'agit du facteur pronostique individuel le plus important[17]. La métastase ganglionnaire est corrélée à la taille de la tumeur et au nombre de foyers de carcinomes invasifs.

Le temps de rémission et la survie globale diminuent avec le nombre de ganglions atteints. La positivité des ganglions lymphatiques est un signe de dissémination de la maladie dans l'organisme bien au delà du sein et du creux axillaire. Le curage ganglionnaire n'est donc pas curatif et aura peu d'effet sur la survie [15]

#### **4-Immunohistochimie :Tests moléculaire , le récepteur aux oestrogènes, le récepteur à la progestérone et l'HER2 /CLASIFICATION**

Trois marqueurs biologiques sont recherchés en pratique courante pour la prise en charge des patients avec un cancer du sein invasif : le récepteur à l'œstrogène ER $\alpha$ , le récepteur à la progestérone (PR) et l'Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2). Ils sont tous les trois des cibles ou des indicateurs pour des thérapies efficaces dans ce cancer[18].

##### **- Étude de signatures génétiques**

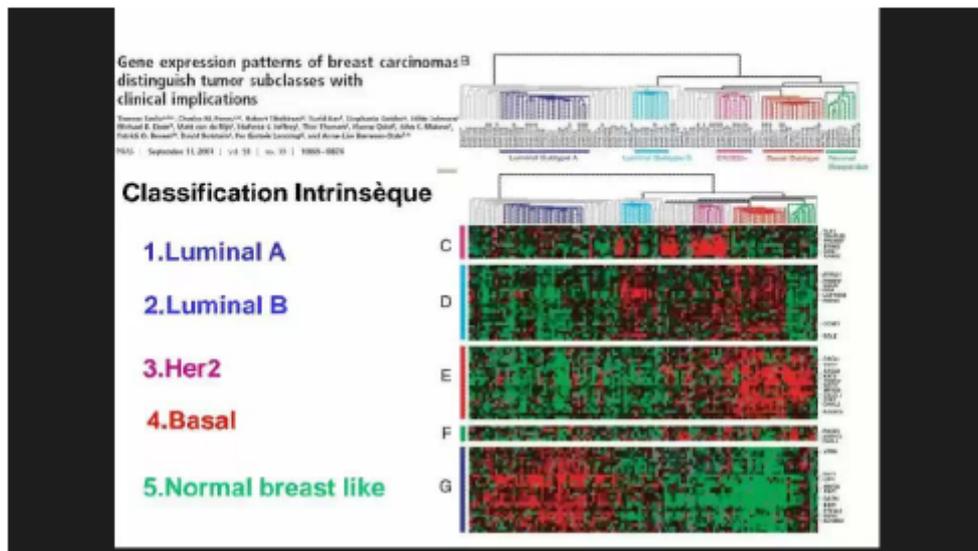
Des études se développent basées sur des techniques de microarray afin de déterminer des groupes d'expression de gènes qui seraient de bon ou de mauvais pronostic ou de bon et de mauvais répondeur à la thérapeutique[19].

#### **4.1-Une nouvelle classification moléculaire consensus pour la prise en charge thérapeutique**

Dans l'évolution actuelle de la prise en charge des cancers du sein qui tend à établir une cartographie moléculaire individuelle de chaque cancer afin de pouvoir les traiter plus spécifiquement et donc plus efficacement, une nouvelle classification a été mise en place. Les carcinomes invasifs du sein sont des tumeurs qui présentent une grande hétérogénéité et cette nouvelle classification issue du consensus (St Gallen, 2011)[20] prend mieux en compte les différences notamment moléculaires qui existent entre les différents adénocarcinomes et qui nécessitent des thérapies plus ciblées [6, 7] .

## CRITERE ET CLASSIFICATION MOLECULAIRE

Sous type moléculaire	Expression immunohistochimique
Luminal A	RO>10%,RP<20%, Ki67<14%
Luminal B	RO>10%, RP<20%, HER2 possible ki67>14%
Her-2	RO<10% HER2 (3+)
Triple-négatifs	RO<10%, RP<10%,HER2 (-) et ki67 très élevé



## 4-2 Classification anatomo-clinique

Le choix d'une stratégie thérapeutique adaptée à chaque patiente est basé sur la caractérisation détaillée des tumeurs mammaires. L'évaluation tumorale au cas par cas permet une prise en charge optimale tout en évitant l'utilisation de traitements inutiles et potentiellement délétères. Plusieurs classifications sont actuellement utilisées dans ce but.

T	Extension locale
<b>TX</b>	Détermination de la tumeur primitive impossible
<b>T0</b>	Pas de signe de la tumeur primitive
<b>Tis</b>	Carcinome in situ
<b>T1</b>	Tumeur ≤ 2cm dans sa plus grande dimension
<b>T2</b>	Tumeur > 2cm et ≤ 5cm dans sa plus grande dimension
<b>T3</b>	Tumeur > 5cm dans sa plus grande taille
<b>T4</b>	Tumeur de toutes tailles avec extension directe à la paroi thoracique ou à la peau
N	Envahissement des ganglions
<b>NX</b>	Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire
<b>N0</b>	Absence de signes d'envahissement ganglionnaire régional
<b>N1</b>	Ganglions axillaires cliniquement suspects homolatéraux mobiles
<b>N2</b>	Ganglions axillaires homolatéraux fixés entre eux ou à d'autres structures
<b>N3</b>	Ganglions mammaires internes homolatéraux
M	Développement de métastases
<b>MX</b>	Détermination impossible de l'extension métastatique
<b>M0</b>	Absence de métastases à distance
<b>M1</b>	Présence de métastases à distance

### Classification simplifiée TNM (Tumor Node Metastasis) des cancers du sein.

Caractéristiques morphologiques des tumeurs correspondantes aux lettres chiffrées de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC)

	Extension locale	Envahissement des ganglions	Développement de métastases
<b>Stade 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Stade I</b>	T1	N0	M0
<b>Stade IIA</b>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>Stade IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Stade IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
<b>Stade IIIB</b>	T4	N0, N1, N2	M0
<b>Stade IIIC</b>	Tous T	N3	M0
<b>Stade IV</b>	Tous T	Tous N	M1

Classification par stade des tumeurs par l'American Joint Committee on Cancer (AJCC).

### **III-EPIDEMIOLOGIE ET FACTEURS DE RISQUE**

#### ***A -Épidémiologie des carcinomes mammaires***

Les carcinomes invasifs mammaires sont les cancers les plus fréquents chez la femme et représentent 23% de tous les cancers dans le monde et 27% dans les pays développés [9]. Comme pour la plupart des tumeurs épithéliales leur incidence augmente rapidement avec l'âge. Les populations qui présentent un risque élevé se trouvent en Australie, en Europe et en Amérique du Nord. Dans les pays moins développés, comme l'Afrique Sub-Saharienne, le sud et l'est de l'Asie incluant le Japon, le risque de carcinome mammaire est faible. Il a été constaté une augmentation de l'incidence de ces carcinomes chez les migrants de pays où le risque est faible vers des pays où le risque est élevé.

L'environnement semble donc jouer un rôle important dans le développement de ces tumeurs.

Par ailleurs, actuellement, son incidence augmente dans les pays en voie de développement et diminue dans les pays développés où s'est mis en place un dépistage systématique par mammographie ainsi qu'une diminution de l'utilisation d'hormones substitutives chez la femme ménopausée. Le pronostic de ce cancer est bon s'il est diagnostiqué à un stade précoce. De plus les avancées thérapeutiques sont particulièrement marquantes depuis le début des années 1990 grâce à l'association du dépistage, des traitements adjuvants hormonaux et chimiothérapeutiques [21].

#### ***B -Facteurs de risques***

L'origine des cancers du sein est multifactorielle, mais est plus particulièrement associée aux facteurs relatifs à la reproduction et aux hormones stéroïdes sexuelles. Mais, actuellement, une prédisposition génétique est une des étiologies les plus fondées. Ainsi on distingue[22] :

##### **1- Facteurs liés à la reproduction**

La maladie est plus fréquente chez les femmes qui ont eu leurs menstruations tôt, une ménopause tardive, qui sont restées nullipares ou qui ont eu peu d'enfants et à un âge tardif. L'infertilité et l'absence de lactation apparaissent aussi comme des facteurs de risques [15, 21] .

## **Les hormones endogènes**

Les hormones stéroïdes sexuelles (androgènes, œstrogènes, progestérone) jouent un rôle important dans le développement des carcinomes mammaires. L'incidence de ces carcinomes augmente plus avant la ménopause (8% par an) qu'après (2% par an) où le taux d'hormones est plus faible. Ce taux est plus faible après la ménopause car la production ovarienne d'oestrogènes et de progestérone va cesser et la production d'androgènes va diminuer [23]. Cependant, chez les femmes ménopausées, il persiste quand même une production d'hormones stéroïdes périphériques (par exemple par le tissu adipeux ou la surrénale) qui se traduit par des taux d'hormones plus ou moins important chez ces femmes. C'est ainsi qu'il a été constaté qu'après la ménopause plus la concentration sanguine des oestrogènes et des androgènes est importante plus le risque de développer des carcinomes mammaires augmente.

## **2- Les hormones exogènes**

### **a- Les contraceptifs oraux**

Pendant longtemps les contraceptifs ont été soupçonnés d'augmenter le risque de carcinome mammaire car ils contiennent des oestrogènes et de la progestine (hormone synthétique ressemblant à la progestérone) à des concentrations plus élevées que celles d'un cycle ovulatoire. Les données récoltées par le Collaborative group on Hormonal Factors in Breast Cancer en 1996 sur plus de 50 études (53 000 cas) ont montré qu'il n'y avait presque aucune augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes ayant pris des contraceptifs, même pendant plus de dix ans. Par contre, il y avait une augmentation modérée du risque (risque relatif (RR) = 1.24) chez les femmes qui étaient en cours d'utilisation de contraceptifs oraux ou qui les avaient arrêtés depuis moins de 10 ans. En conclusion de ces études, l'International Agency for Research on Cancer (IARC), a classé les contraceptifs oraux comme des carcinogènes de type I. Une étude américaine plus récente portant sur 4575 femmes atteintes d'un cancer du sein et 4682 cas contrôles âgées de 35 à 64 ans[24] a montré qu'il n'y avait aucun risque même chez les usagers en cours de traitement quelque soit la dose d'oestrogènes (éthinyll estradiol ou mestranol) utilisée, quelque soit le type de progestine et quelque soit l'âge des patientes[25].

## **b-Traitement de substitution hormonale chez la femme ménopausée**

En 1997, une étude très large réanalysant 51 études épidémiologiques (soit 52 705 cas de femmes atteintes de carcinomes mammaires et 108 411 femmes contrôles) a été menée dans le but de mesurer les risques de cancer du sein lié à la prise de traitements hormonaux substitutifs (THS) (Collaborative group, 1997). Cette étude a montré que la prise de ces traitements augmentait le risque de carcinome mammaire. RR, dans cette étude, était de 1,35 chez les femmes qui étaient sous THS depuis plus de 5 ans. Après 5 ans le RR augmentait proportionnellement avec la durée d'utilisation. Il est à noter que cette augmentation du risque est similaire à celle observée chez les femmes qui ont une ménopause tardive. Par ailleurs dans cette même étude il a été constaté que l'augmentation du risque de carcinome mammaire s'arrêtait après l'arrêt du traitement et disparaissait au bout de 5 ans d'arrêt. Une étude plus récente[26] a été effectuée sur 1 084 110 femmes du Royaume Uni âgées de 50 à 64 ans. Ces femmes ont été incluses dans l'étude "the Million Women Study" entre 1996 et 2001 et ont été suivies pour l'incidence et la mortalité des carcinomes mammaires. Les patientes en cours de THS au moment du recrutement ont eu un risque plus important de développer un carcinome mammaire (RR = 1,66) et d'en mourir (RR = 1,22) que celles qui n'en avaient jamais consommé. L'incidence du cancer du sein était plus importante pour les traitements associant des oestrogènes à de la progestérone (RR=2) que pour les autres traitements substitutifs, oestrogènes seuls (RR=1.30) et Tibolone (progestatif) (RR = 1.45). Les résultats étaient similaires quel que soit le type d'oestrogènes (œstrogène équin ou oestradiol) et de progestagènes (medroxyprogestérone acétate, norethisterone, norgestrel ou levonorgestrel) et quels que soient les doses et les modes d'administration.

Pour chaque type de traitement hormonal le risque de cancer du sein augmentait, dans cette étude aussi, proportionnellement à la durée totale d'utilisation. Pour 10 ans d'utilisation le risque était de 5 carcinomes mammaires supplémentaires pour 1000 femmes pour une thérapie substitutive comprenant les oestrogènes seuls et de 19 pour 1000 pour une thérapeutique associant les oestrogènes et des progestagènes. Les patientes ayant arrêté leur traitement ne présentaient pas d'augmentation du risque d'incidence ni de mortalité. De plus il a été montré dans cette étude que le risque était d'autant plus élevé chez les femmes minces[27].

En résumé, les femmes en cours d'utilisation de traitement substitutif ont un risque accru de survenue de carcinome mammaire et de mortalité par ce cancer et cet effet est augmenté chez les femmes qui prennent une association d'œstrogènes et de progestérone.

### 3- Autres facteurs de risques

#### **a-Adiposité, activité physique et nutrition, alcool et tabac**

Dans les populations industrielles, le risque de cancers du sein est inversement proportionnel à la masse adipeuse chez les femmes pré-ménopausées et c'est l'inverse chez les femmes ménopausées [28]. Chez les femmes pré-ménopausées l'augmentation de la masse adipeuse s'associe à des cycles anovulatoires plus fréquents et donc à une exposition hormonale endogène plus faible. A l'inverse, le surpoids et l'obésité ont été incriminés dans 10% des cas de carcinomes mammaires chez la femme ménopausée aux Etats Unis[15]. Cela s'explique par le fait que chez les femmes ménopausées c'est le tissu adipeux qui est à l'origine d'une grande partie de la production d'oestrogènes. Ainsi, les femmes en surpoids ou obèses ménopausées sont soumises à un taux plasmatique d'oestrogènes plus important que les autres.

En ce qui concerne les régimes alimentaires, le régime dit "non sain" des pays développés [29, 30] et au contraire le régime à base de fruits et de légumes[31] dit "sain" ne sont pas associés aux risques de carcinomes mammaires. Néanmoins, les consommations de viande rouge, surtout grillée [29], et d'alcool même à faible dose ont été associés à un risque accru de carcinomes mammaires [32]. Par ailleurs les phyto-oestrogènes sont des composés non stéroïdiens présents dans de nombreux végétaux (ex fèves de soja), qui partagent des similitudes de structure avec les oestrogènes et qui sont particulièrement associés au régime alimentaire en Asie. Il est suggéré qu'il existe une relation inverse entre un régime alimentaire riche en phyto-oestrogènes et l'incidence du cancer du sein. En effet, les femmes asiatiques ont un risque 4 à 6 fois plus faible de développer un cancer du sein que les femmes occidentales[33].

### 4- Facteurs génétiques

Les études portant sur les antécédents familiaux et sur les jumeaux montrent l'implication importante de la susceptibilité génétique dans le développement des carcinomes mammaires[34]. Néanmoins peu de gènes ont été identifiés. De rares mutations génétiques touchant 11 gènes différents sont à l'origine d'une augmentation du risque de développer un carcinome mammaire [35]. Parmi ces 11 gènes, les syndromes les plus importants en clinique sont associés à des mutations de *BRCA1* et *BRCA2* et de *TP53*. Le syndrome BRCA-1 et BRCA-2 est hérité de façon autosomique dominant et est associé avec un risque important de cancer du sein et de l'ovaire. L'incidence en Europe varie de 0.12 % à 0.32%. En ce qui

concerne la mutation de *TP53*, elle va augmenter le risque de carcinome mammaire dans un contexte de syndrome de Li-Fraumeni.

Ce syndrome se transmet aussi de façon autosomique dominante et se caractérise principalement par la survenue de sarcomes, de carcinomes mammaires, de tumeurs cérébrales et de la surrenale. Son incidence mondiale est de 0.02 % à 0,005%[15] .

## **5- Nouveaux facteurs de risques en cours d'évaluation**

Récemment de nouveaux facteurs de risque facilement mesurables ont été étudiés et sont en cours d'évaluation.

Il s'agit premièrement de l'appréciation de la densité du tissu mammaire par mammographie[36]. En effet, il a été observé que le risque de carcinome mammaire était plus important chez les femmes qui présentaient un parenchyme mammaire dense. Un parenchyme mammaire est diagnostiqué dense, en mammographie, lorsqu'il est riche en stroma ou en tissu épithélial et qu'il contient peu de tissu adipeux.

La densité osseuse apparaît aussi comme un paramètre mesurable, pouvant être considéré comme un facteur de risque, dans le sens où elle représente l'exposition aux oestrogènes à laquelle une femme a été soumise au cours de sa vie. Ainsi, plus la densité osseuse est importante plus il y aurait de risque de développer un carcinome mammaire et à l'inverse les femmes qui présenteraient une forte diminution de leur taille ou des fractures en vieillissant auraient un risque moindre[37].

## **VI- DIAGNOSTIC**

### ***A-diagnostic clinique***

#### **1-Circonstances de découverte**

En général il s'agit de la découverte d'une tuméfaction non douloureuse au niveau d'un sein, ou autres lésions mammaires. De plus, il peut s'agir d'une découverte à travers une mammographie de dépistage. Cet examen est, en effet maintenant souvent réalisé à cause d'un facteur de risque particulier ou par principe ou dans le cadre d'une campagne de dépistage. Il est par ailleurs de plus en plus performant pour déceler de petites lésions. Ailleurs, c'est l'examen systématique d'un médecin qui découvre la lésion soit dans le cadre d'un examen général soit dans le cadre d'un examen orienté (ganglion palpé dans l'aisselle, anomalies cutanées, osseuses révélées par des douleurs faisant craindre des métastases etc...) En pratique on observe moins de tumeurs localement évoluées qu'auparavant (moins de T3-

T4 moins de T2 supérieurs à 3 cm) et plus de tumeurs infracliniques. Les deux raisons principales sont, premièrement, que les femmes hésitent moins à consulter précocement en cas d'anomalie suspecte (elles sont plus informées qu'il peut s'agir d'un cancer et elles savent que pris tôt ce cancer peut guérir plus facilement avec moins de risque d'avoir un traitement mutilant) et, deuxièmement, que des mammographies peuvent maintenant être réalisées partout facilement.

### a- Examens clinique

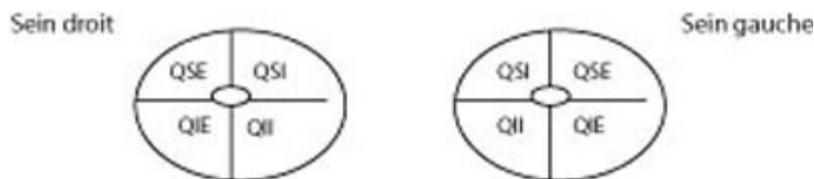
- Interrogatoire :

#### -Concernant la patiente :

- Age, poids, taille, état général
- Taille des seins
- Statut ménopausique, prise ou non d'un traitement substitutif ou d'une contraception
- Antécédents personnels
- Antécédents néoplasiques familiaux avec âge de survenue afin de repérer une indication d'enquête oncogénétique
- Pour les patientes de plus de 75 ans (ou selon l'âge physiologique chez les patientes de moins de 75 ans), la détection d'une fragilité sera effectuée grâce au questionnaire, suivie d'une évaluation oncogériatrique si un risque de fragilité est mis en évidence

#### - Concernant la tumeur :

- Côté, topographie (quadrant, distance par rapport au mamelon)



- Taille clinique et rapport tumeur / volume mammaire

- Une tuméfaction dure et indolore est un cancer s'il y a une rétraction cutanée visible spontanément ou provoquée par l'examen.

- Son association à une adénopathie axillaire, surtout si le ganglion est dur et mesure plus de 1 cm.
  - Beaucoup plus rarement l'existence d'une poussée inflammatoire avec rougeur et chaleur locales associées à la tuméfaction ou l'existence d'un envahissement cutané (infiltration « en peau d'orange », ulcération).
- Rapports à la peau et aux plans profonds de la lésion
  - Etat du mamelon
  - Inflammation cutanée localisée ou étendue
  - Présence d'adénopathie axillaire et sus-claviculaire
  - La présence ou l'absence de signes cliniques en faveur de métastases.

Possibilité de réaliser un schéma résumant la topographie. Staging de la tumeur selon la classification TNM

## ***B-examens radiologiques***

### **1-La mammographie (3 incidences : face, profil, prolongement axillaire)**

- a. Dans sa forme typique, avec ou sans tumeur palpable, le cancer infiltrant se manifeste par une opacité stellaire ou à contours spiculés, entourée d'un halo clair et associé à des micro-calcifications groupées en amas à la fois au niveau de l'opacité et un peu de distance. L'opacité est plus petite que la tumeur palpable. Avec un pareil tableau le diagnostic est quasi certain.
- b. Les signes radiologiques sont souvent incomplets. L'opacité reste évocatrice si ses contours sont irréguliers. Les micro calcifications sont parfois peu nombreuses ou très petites, ou les deux obligeant à les rechercher « avec une loupe ».
- c. Pour les carcinomes in situ on note l'existence de micro calcifications linéaires, polymorphes.

### **2-L'échographie**

Elle peut compléter et donner des arguments en faveur du cancer devant certaines images mammographiques ambiguës. Elle permet dans tous les cas de repérer les kystes liquidiens.

### **3-L'IRM**

L'IRM, compte tenu de sa relative rareté en France, n'est pas utilisée en routine pour le diagnostic de cancer du sein. Elle permet de particulièrement bien définir la tumeur et ses contours.

### ***C-Examens cyto-histologiques***

*La biopsie* est l'élément de base du diagnostic. Elle est réalisée soit à l'aiguille (microbiopsies par aiguilles à biopsie) soit chirurgicalement en extemporané c'est-à-dire avec lecture immédiate et traitement chirurgical immédiat. Dans ce dernier cas un examen anatomopathologique plus approfondie est réalisé secondairement (technique prenant du temps) qui non seulement confirme le diagnostic extemporané, mais précise l'histopronostic (classification de Scarff, Bloom et Richardson) permet de doser les récepteurs hormonaux etc...

Beaucoup plus rarement c'est *la cytologie*, faite par une personne entraînée qui réalise l'ensemble de la procédure (ponction, étalement, fixation, coloration, lecture) qui permet de porter le diagnostic, de donner un cytopronostic et de doser les récepteurs hormonaux. En cas de doute (éléments cytologiques douteux où caractères clinico-radiologiques très évocateurs de cancer avec une cytologie négative) on réalise systématiquement une biopsie voire, un examen extemporané.

En cas de très petit foyer les ponctions sont réalisées avec repérage stéréostaxique. Souvent dans ces cas seules, l'exérèse permet de faire le diagnostic (exérèse avec repérage radiologique en préalable).

### ***D-Bilan d'extension***

#### **1- Sur le plan locorégional**

- On précise le siège de la tumeur et ses dimensions en cm (pas uniquement la plus grande dimension). Un schéma et une photographie en position couchée (en position de traitement) avec repérage du centre de la tumeur par rapport au centre du mamelon (coordonnées géographiques).

- On recherche une éventuelle extension cutanée (peau d'orange, infiltration avec ulcération) et une éventuelle extension en profondeur (tumeur mobile avec les pectoraux à la manœuvre de Tillaux, ou fixée à la paroi thoracique).
- On précise s'il y a des adénopathies cliniques, leur taille et leur siège. En cas de doute sur le caractère pathologique ou non d'une adénopathie axillaire (ganglion mou de moins de 1 cm), si un geste chirurgical n'est pas d'emblée envisagé on peut réaliser une ponction cytologique.
- On note des signes éventuels d'inflammation locale au niveau de la tumeur, ou régionale au niveau du sein dont la valeur pronostique est grande lorsqu'ils existent.
- Sur les mammographies on recherche un éventuel deuxième foyer dans le sein homolatéral et dans l'autre sein.

## **2- A distance**

On recherche des métastases à distance pour les cancers infiltrants d'1 cm ou plus. Au minimum, pour tous les cas, afin d'avoir un élément comparatif, on réalise des radiographies pulmonaires et une échographie abdomino pelvienne. Pour les tumeurs de plus de 3 cm, les tumeurs SBRII ou III ou avec cytopronostic 2 ou 3, les tumeurs avec adénopathie clinique ou à l'examen anatomopathologique (curage ou cytologie) et les tumeurs évolutives, on réalise un examen TDM thoracique et abdominal, une scintigraphie osseuse et, si on peut, un PET. En cas d'anomalie suspecte à la scintigraphie on la précise par TDM et éventuellement IRM.

## **VI- Thérapeutiques des carcinomes mammaires**

C'est une prise en charge multidisciplinaire nécessitant la participation de plusieurs acteurs, gynécologue, plasticien, oncologue, radiothérapeute, rééducateur et psychologue .La prise en charge sera alors établie après avoir analysé les données cliniques radiologiques et histologiques.

L'ablation chirurgicale de la tumeur demeure aujourd'hui encore la première étape du traitement des carcinomes du sein et peut s'accompagner d'un curage ganglionnaire. De plus, un traitement par radiothérapie est souvent associé afin de diminuer les récurrences locorégionales. En fonction de l'extension du carcinome, de son type et de son grade, seront également associés de l'hormonothérapie, des chimiothérapies et des traitements spécifiques contre de nouvelles cibles

## **V- ONCOGENETIQUE DU CANCER DU SEIN**

### ***A-origine de la carcinogenèse***

L'organisme humain compte quelques trente milliards de cellules. Chacune d'elles contient l'information génétique nécessaire à sa duplication pour remplacer des cellules mortes. Mais une mutation génétique peut induire une multiplication cellulaire sans contrôle. Ce phénomène favorise l'apparition de nouvelles mutations et augmente ainsi le rythme de ces divisions anarchiques. Ces premières cellules cancéreuses forment alors une tumeur. Isolée à proximité d'un vaisseau sanguin, la tumeur attire à elle de nouveaux vaisseaux (angiogenèse). Ainsi nourrie en oxygène et en nutriments, elle va grossir. Ces vaisseaux permettront aussi d'envoyer des cellules cancéreuses dans l'organisme. Certaines créeront des tumeurs secondaires ou métastases, qui à leur tour mobiliseront leurs propres vaisseaux pour grossir et «s'exporter». La même opération peut avoir lieu en colonisant le système lymphatique. Le traitement des cancers repose sur la chirurgie (ablation chirurgicale de la tumeur et de ses extensions), la radiothérapie et les traitements médicaux systémiques (chimiothérapie, hormonothérapie, ...). Récemment, de nouvelles molécules sont apparues et agissent aux différents stades de développement de la tumeur : en bloquant l'angiogenèse et le signal de prolifération des cellules cancéreuses. [38]

Un cancer est une pathologie caractérisée par la présence d'une tumeur maligne formée à partir de la transformation par mutations et/ou instabilité génétique (anomalies cytogénétiques), d'une cellule initialement normale[38]. La transformation cellulaire tumorale se traduit notamment par une perte de contrôle du cycle cellulaire, une insensibilité à l'apoptose, des anomalies de la réparation de l'ADN. Les cancers sont alors classés selon le type de la cellule dans laquelle s'est produite la première transformation (lymphomes, carcinomes, sarcomes) ; cette première cellule maligne s'étant ensuite divisée, formant la tumeur primaire constituée de cellules clonales.

#### **Différentes formes de cancer :**

1- Lymphomes : Ce terme désigne différentes formes de maladies cancéreuses des lymphocytes. Contrairement aux leucémies, les cellules cancéreuses n'envahissent pas la circulation sanguine mais touchent en particulier les ganglions lymphatiques. On distingue la maladie de Hodgkin et quelque vingt formes de lymphomes non hodgkiniens.

2- Carcinomes : C'est une tumeur qui se développe à partir des cellules d'un épithélium

et représente 85% des tumeurs, par opposition à sarcome. Un carcinome est aussi qualifié de tumeur solide puisqu'il forme un bloc de cellules plus ou moins soudées entre elles par opposition aux cellules leucémiques qui se déplacent librement dans le sang.

3- Sarcomes : Famille de tumeurs malignes qui se développent à partir des cellules du tissu conjonctif, cellules assurant le lien entre les éléments d'un même organe et occupant une fonction de remplissage et de soutien (armature). Les sarcomes représentent environ 10% de tous les cancers.

Les facteurs génétiques interviennent dans 5-10% des cancers du sein. Ils sont surtout responsables des cancers qui surviennent avant 40 ans. Le risque est plus important si le cancer s'est déclaré chez une parente de premier degré (sœur, mère, fille) et il est d'autant plus élevé que le cancer est apparu à un âge plus précoce. Deux gènes (BRCA I et II) (BRCA étant l'abréviation de «BReast CAncer»), ont été isolés et sont responsables de 3- 10% des cancers du sein. Tous deux sont familiaux et sont associés à une apparition précoce du cancer du sein. Le gène BRCA I (anomalie sur le chromosome 17 figure 3) est associé au cancer de l'ovaire. Le gène BRCA II (anomalie sur le chromosome 13 Figure 3) est associé au cancer du sein de l'homme.

### ***B-oncogénétique***

L'oncogénétique est une branche de la génétique dont l'objectif est de déterminer si certains cancers peuvent être héréditaires. En effet, le dysfonctionnement de certains gènes prédispose aux cancers. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. En Europe, 1 femme sur 8 développera un cancer du sein. Dans 10 % des cas, l'apparition de ce cancer serait liée à un facteur héréditaire. L'objectif de l'oncogénétique vise donc à évaluer le risque héréditaire de cancer afin d'établir une surveillance médicale adéquate. Des analyses moléculaires sur les gènes de prédisposition au cancer seront aussi proposées afin de permettre un suivi sur le long terme et un dépistage familial.

Les gènes sont localisés dans les chromosomes au sein des noyaux de nos cellules. Ils contiennent toutes les informations nécessaires au fonctionnement de nos cellules. Certains gènes contrôlent plus spécifiquement notre croissance et notre développement, tandis que d'autres sont en charge de la réparation de notre ADN. En effet, tout au long de la vie d'une cellule, l'ADN peut être endommagé à la suite de contraintes physiques ou chimiques.

Les gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein sont BRCA 1/BRCA 2. Ce sont des gènes de grande taille présents respectivement sur les chromosomes 17 et 13. Le rôle des

gènes BRCA1 et BRCA2 est de nous protéger des cancers en réparant l'ADN endommagé, on parle alors de gènes suppresseurs de tumeur. Des mutations dans d'autres gènes peuvent également être suspectées lorsqu'il y a dans la famille d'autres types de cancers, tels que des tumeurs osseuses, des tumeurs thyroïdiennes ou des tumeurs digestives.

#### Comment ces gènes favorisent-ils le développement d'un cancer ?

Nos cellules se divisent en permanence. Ceci permet aux nouvelles cellules de remplacer celles qui vieillissent et meurent. Normalement, ce processus est contrôlé par des gènes. Quand ce processus de contrôle dysfonctionne et que les divisions cellulaires deviennent anarchiques, un cancer peut se développer.

Ainsi, on parle de prédisposition héréditaire au cancer du sein BRCA1 / BRCA2 lorsqu'une personne naît avec une mutation dans le gène BRCA, et par conséquent, le contrôle des divisions cellulaires ne fonctionne pas correctement. Les cellules se divisent en accumulant plus rapidement des erreurs (le gène BRCA qui joue le rôle de gardien de l'intégrité du génome ne fonctionne pas), pouvant entraîner l'apparition précoce d'un cancer. Il y aura dès lors un risque augmenté de développer un cancer. Ce risque est de 50 à 70% pour le cancer du sein et de 10 à 40% pour le cancer de l'ovaire.

Lorsqu'un individu est porteur d'une mutation dans un gène BRCA1 ou BRCA2, son risque de présenter un cancer est de [39] :

- Sein 30%-80%

-Sein controlatéral 12% -27%

-Ovaire 1% -40%

-Sein homme 0, 1%-10%

-Prostate : 15%

-Pancréas 0,5%-7%

-Autres cancers liés à une mutation BRCA : pancréas, endomètre, mélanome, colon.

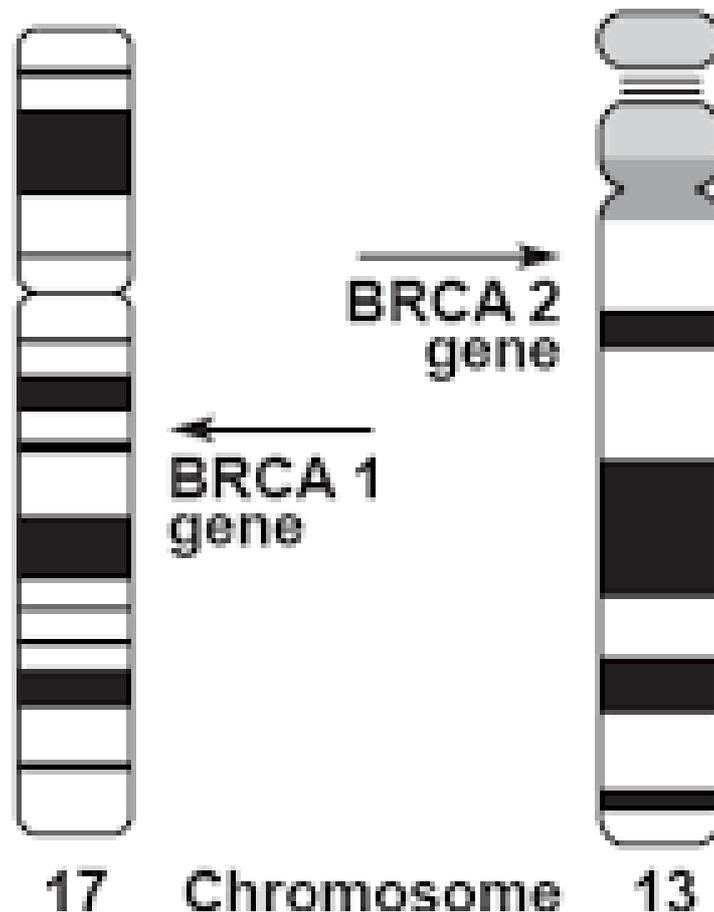
Pour ces cancers, le risque est plus élevé que dans la population générale mais reste inférieur à 10% avant l'âge de 70 ans.

La prédisposition héréditaire au cancer du sein BRCA1 / BRCA2 a un risque de transmission à la descendance : Les mutations des gènes BRCA se transmettent sur un mode autosomique dominant, mais, ont une pénétrance incomplète (toutes les personnes porteuses de la mutation ne développeront pas forcément de cancer)

Ces mutations sont la plupart du temps héritées d'un des deux parents.

En résumé, lorsque l'un de nos parents est porteur d'une mutation génétique BRCA,

on a 1 risque sur 2 d'avoir hérité de la mutation. De la même façon, une personne porteuse d'une mutation dans un de ses gènes BRCA a un risque sur deux de la transmettre à sa descendance[40] .



**Représentation des gènes BRCA 1 et BRCA 2 sur les chromosome 13 et 17  
(cancer control, 2004, cancer research and cancer institute ,Inc)**

D'après le protocole défini à Amsterdam [41] , les tests de recherche de ces gènes ne sont pratiqués que chez les patientes suivantes: soit un minimum de 3 antécédents familiaux de cancer du sein dont 1 avant 50 ans sur 1 ou 2 générations dans une même branche de la famille y compris du côté paternel, soit 1 antécédent familial avant 40 ans, soit un antécédent familial de cancer bilatéral dont 1 avant 50 ans.

- Le gène TSG101

- le gène d'ataxie-télangiectasie prédispose au cancer du sein (100 fois chez l'homozygote).
- cancer du sein faisant partie de syndromes familiaux cancéreux comme le syndrome de Li-Fraumeni, le syndrome de Muir et la maladie de Cowden
- Polymorphisme RASSF1A et cancer du sein

Bien qu'en bonne santé, certaines femmes sont porteuses de mutations sur les gènes BRCA1 ou BRCA2. Ces altérations leur confèrent un risque très élevé de cancer du sein et, en cas de mutation sur le gène BRCA1. Ces mutations peuvent être transmises aussi bien par la mère que par le père et sont dominantes. Ainsi, la personne porteuse de ce gène défectueux a une chance sur deux de le transmettre à ses enfants. On estime que les altérations des gènes BRCA1 et BRCA2 seraient responsables d'environ 5 % des cas de cancers du sein et de l'ovaire. Pour une femme ayant hérité d'une de ces mutations, le risque d'avoir un cancer du sein avant 80 ans atteint 56 à 87 % selon les études, alors qu'il est de 8 % dans la population générale.

Ces cancers sont souvent :

- Plus précoces, diagnostiqués à 43 ans en moyenne, contre 60 ans dans la population générale
- Plus agressifs, ce qui accentue encore la nécessité d'un dépistage adapté à ce risque particulier.

En cas de mutation du gène BRCA1, le risque de cancer de l'ovaire est de 44 à 63 %. Lorsque l'on suspecte l'existence de l'une de ces mutations, soit parce qu'il y a de nombreux cancers du sein dans la famille, soit parce qu'une mutation a déjà été détectée chez un membre de la famille, il est possible de faire un test de dépistage. .

## ***C-BASES GNETIQUES***

Il est évident que le cancer du sein survient à la suite de lésions cumulatives d'un ou plusieurs gènes, incluant l'activation d'oncogènes, et l'inactivation de gènes suppresseurs[42] ;

### **1- Altérations génétiques somatiques dans le cancer du sein**

#### **1-1 Méthode d'étude des altérations somatiques**

##### *1-1-1 Mesure du contenu en ADN*

La cytométrie en flux permet, après coloration des noyaux par un colorant spécifique de l'ADN, de mesurer la quantité d'ADN, proportionnelle à la quantité de fluorescence émise par les cellules. Une forte proportion des tumeurs du sein (environ 70 %) est aneuploïde.

#### *1-1-2 Analyse cytogénétique*

Au premier regard, l'observation d'un caryotype de tumeur de sein ne montre qu'un ensemble complexe d'anomalies chromosomiques que l'on aurait tendance à prendre pour le reflet de perturbations non spécifiques. Pourtant, certaines de ces anomalies semblent récurrentes apportant ainsi de précieux renseignements sur la localisation de gènes potentiellement impliqués dans ce cancer [43]. Par exemple, le chromosome 1, le plus fréquemment altéré dans les tumeurs du sein, est affecté par des monosomies 1p, des polysomies 1q, des isochromosomes 1q ainsi que des délétions télomériques du bras court. D'autres pertes (3p24,p26 ; 6q22,q27 ; 11q22,q25 ; et 17p13,1) et gains (8q) sont aussi fréquemment observés.

#### *1-1-3 Hybridation in situ*

Elle permet de mettre en évidence des régions amplifiées ou perdus du génome. Cette technique a ainsi permis de caractériser une vingtaine de régions chromosomiques amplifiées et détectées dans les tumeurs du sein[44]. Certaines de ces régions, précédemment détectées par des techniques cytogénétiques et moléculaires, semblent associées à des oncogènes – 8p11 (EGFR1), 8q24 (MYC), 11q13 (CCND1) et 17q12 (ERBB2) –ou à des gènes suppresseurs de tumeurs connus– 13q14 (RB1), 17p13 (TP53) [43].

#### *1-1-4 Analyse moléculaire*

Les anomalies génétiques les plus fréquemment observées dans les tumeurs du sein sont des amplifications d'ADN, principalement au niveau de protooncogènes, de facteurs de croissance et de leurs récepteurs, mais aussi des mutations, des hyperméthylations et des pertes d'allèle (LOH pour loss of heterozygosity) qui pourraient inactiver des gènes suppresseurs de tumeurs.

## 1-2- Gènes altérés dans le cancer du sein

### 1-2-1 Amplification et surexpression de proto-oncogènes

Trois proto-oncogènes ont été trouvés amplifiés dans plus de 15 % des tumeurs mammaires :

- Proto-oncogène MYC :

Ce gène, localisé en 8q24, code pour un facteur de transcription impliqué dans la croissance et la différenciation cellulaire et dans l'apoptose [51]. Cependant, il ne possède pas encore d'application thérapeutiques

- Proto-oncogène ERB-B2

Ce gène appartient à la famille des gènes ERB-B dont le premier découvert (ERB-B1 ou EGFR) est le récepteur de l'EGF (epidermal growth factor). Plus récemment, deux autres gènes de cette famille, ERB-B3 et ERB-B4, ont été identifiés. Cette famille multigénique code pour des récepteurs trans-membranaires à activité tyrosine kinase. A ce jour, il n'est pas connu de ligand spécifique ou du récepteur Erb-B2. En fait, Erb-B2 ne serait pas un récepteur à part entière, mais un modulateur de signaux transmis par l'intermédiaire des récepteurs Erb-B1 (EGFR), Erb-B3 et Erb-B4 en formant des hétérodimères avec ces dernières [45]. Bien que les quatre gènes de la famille Erb-B semblent tous intervenir dans l'oncogenèse mammaire, seul le gène Erb-B2 est significativement amplifié dans les tumeurs du sein. Il est surexprimé dans environ 20 % des cancers du sein invasifs et dans 60 % des comédocarcinomes [46].

- Proto-oncogène CCND1

Ce gène code pour la cycline D1. La surexpression de ce gène a été identifiée dans des adénocarcinomes mammaires des souris transgéniques [47].

D'autres gènes ont été trouvés amplifiés à moindre taux (10 % et moins) dans des tumeurs mammaires. C'est le cas des gènes FGFR1 (8p11) et FGFR2 (10q26), qui codent pour deux récepteurs membranaires de facteurs de croissance de la famille FGF (fibroblast growth factor), et du gène IGF1R (15q26) codant pour le récepteur de l'IGF1 (insulin-like growth factor1) [46].

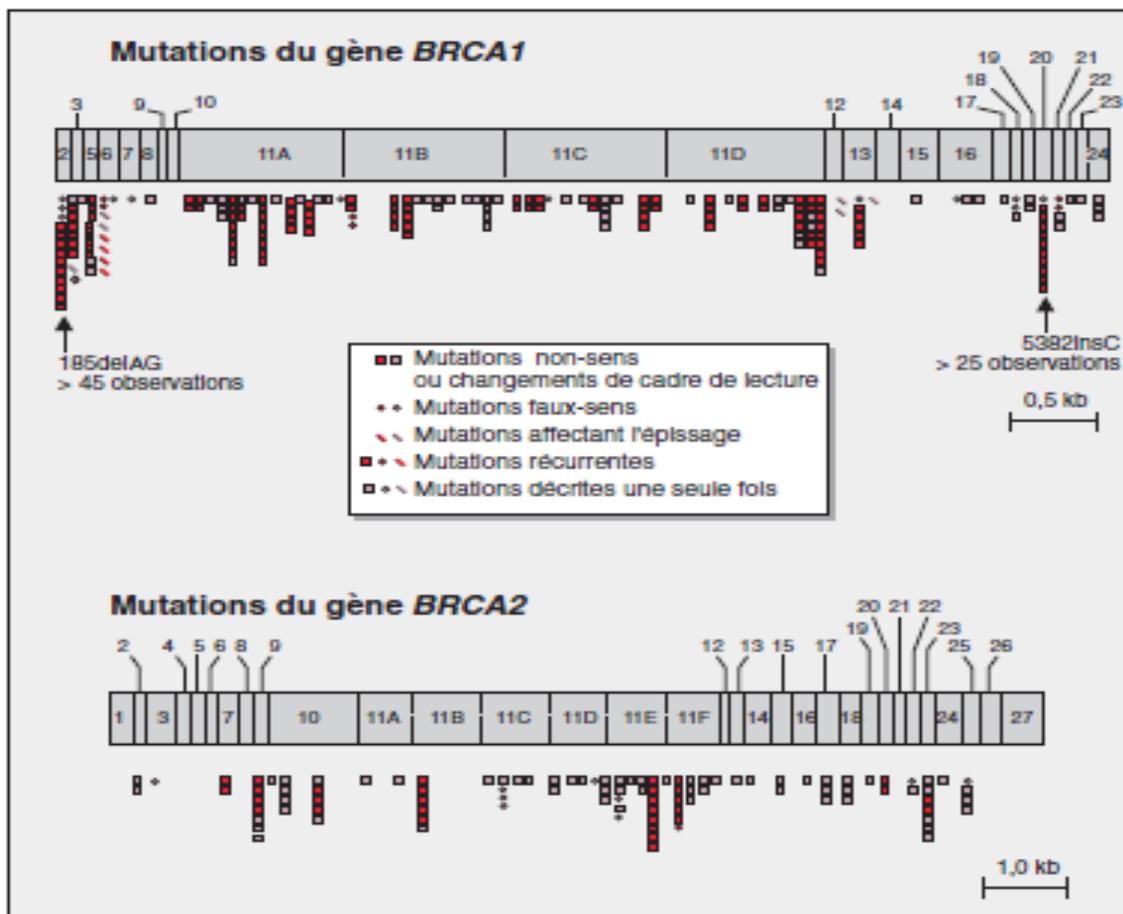
### 1-2-2 Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs

- **Le groupe des gènes BRCA**

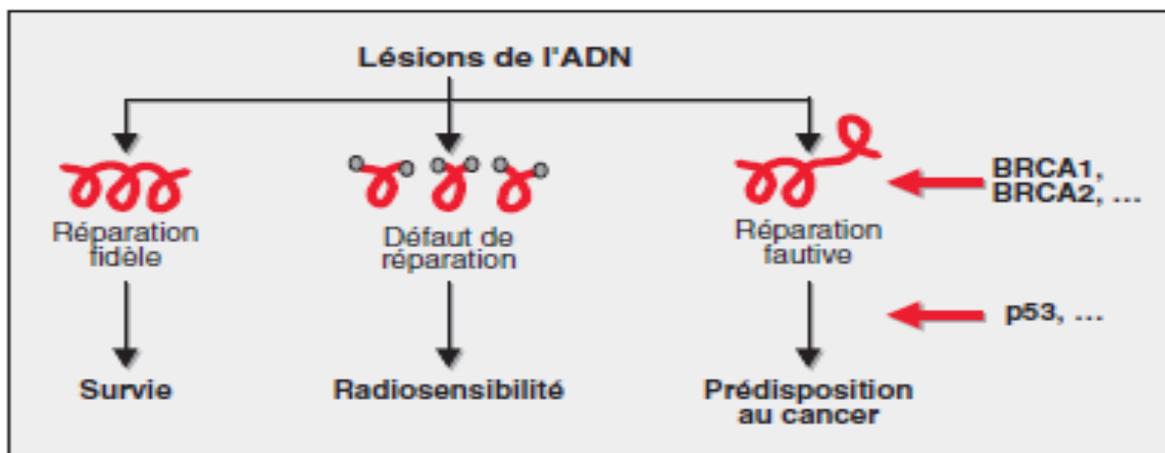
Il y a deux gènes connus dans le groupe de ces gènes : BRCA1 et BRCA2. Ils ont été découverts en 1994 et 1995 et ils sont localisés sur les chromosomes 17 et 13 respectivement [48].

Les études épidémiologiques indiquent qu'une femme porteuse d'une mutation de BRCA1 présente un risque de cancer du sein au cours de sa vie (risque cumulatif) de 80 %, ce chiffre est à comparer avec celui d'une population féminine sans anomalie génétique qui est de 8 %. Pour le gène BRCA2 le risque de cancer du sein est de 50 à 85 %. La survenue du cancer est dans ce cas plus tardive qu'avec une mutation de BRCA1[46] [50-55].





**SPECTRES DES MUTATIONS GERMINALES BRCA**



**CONSEQUENCES DES LESIONS DE REPARATION DE L'ADN SUITE AU  
MUTATIONS GERMINALES BRCA**

Les gènes BRCA1 et BRCA2 codent pour des protéines impliquées physiologiquement dans la réparation des lésions de l'ADN. BRCA1 est une protéine clé dans la détection de

lésions de différentes natures, cassures simple et double brin, anomalies nucléotidiques, dans l'adaptation du cycle cellulaire à la phase de réparation ainsi que dans la mobilisation des protéines de réparation proprement dites. BRCA2 apparaît avoir un rôle plus spécifique dans la recombinaison homologue [55]. Bien que BRCA1 et BRCA2 aient une expression ubiquitaire, le risque tumoral, secondaire à l'inactivation complète de l'une ou l'autre de ces protéines, est principalement mammaire, et dans une moindre mesure ovarien.

L'hypothèse la plus communément admise pour expliquer ce paradoxe repose sur le rôle des oestrogènes qui, par leur effet mutagène direct et leur effet prolifératif indirect, favoriseraient l'émergence du processus tumoral [49].

Un grand nombre de mutations peuvent affecter BRCA1: environ 500, et elles sont réparties tout le long du gène; de même pour BRCA2: environ 300 mutations qui sont, elles aussi, réparties sur toute la longueur du gène. En effet il faut rechercher chacune de toutes les mutations possibles pour chacun des deux gènes, pour pouvoir affirmer l'origine génétique des cas de cancers de la famille. Après la première identification, les dépistages au sein de la famille sont plus simples car la modification génique précédemment identifiée est la seule à être recherchée [15, 21] .

### - **Le gène TP53**

Le gène TP53 est localisé sur le chromosome 17p (voir carte chromosomique). Les mutations germinales du gène TP53 sont dominantes. Ce gène code pour une phosphoprotéine nucléaire de 53kd. Elle a deux rôles principaux :

- régulateur négatif de la croissance et de la prolifération cellulaire ;
- réparation des altérations de l'ADN.

En cas de modification de la molécule d'ADN, la protéine p53 arrête le cycle cellulaire en phase G1, permettant aux mécanismes de réparations de l'ADN de se mettre en oeuvre avant la duplication de ce dernier. La protéine p53 est aussi un acteur de la mort cellulaire programmée. Une inactivation du gène TP53 permettrait le maintien des modifications de l'ADN et de ce fait un développement à terme, de cellules malignes [50].

Le gène TP53 serait impliqué dans environ 25 à 30 % des cas de cancers du sein. Bien que les mutations germinales du gène TP53 soient présentes dans toutes les cellules somatiques, les tumeurs malignes, dont les mutations sont la cause, ne sont présentes que dans les cellules de certains organes, les cellules cibles [18-59- 60]. Les mutations de la lignée TP53 augmente de façon générale le risque de cancer et plus fortement le risque de cancer du sein. L'ensemble des problèmes causés par ces mutations a été appelé le syndrome de Li-Fraumeni [51].

### - **Le gène ATM**

En 1999, une équipe américaine a mis en évidence une interaction entre deux gènes de l'organisme dont les mutations simultanées pourraient être à l'origine de 10 % de tous les cancers du sein. Ces deux gènes sont BRCA1 et ATM. Le gène ATM est localisé sur le chromosome 11q22-23. Ses rôles sont divers : il participe aussi bien au contrôle du cycle cellulaire (G1 et G2), à la réparation des cassures double-brins, à la recombinaison au cours de la méiose, qu'à la maturation des gènes d'immunoglobulines.

La portion codante est grande : 12 000 paires de bases. C'est au niveau de la réparation des cassures double brin de l'ADN qu'il y a interaction entre les deux gènes : un des produits du gène ATM est responsable de la phosphorylation de la protéine BRCA1, nécessaire à la réparation des cassures dans les doubles brins d'ADN après action de radiations ionisantes[52]

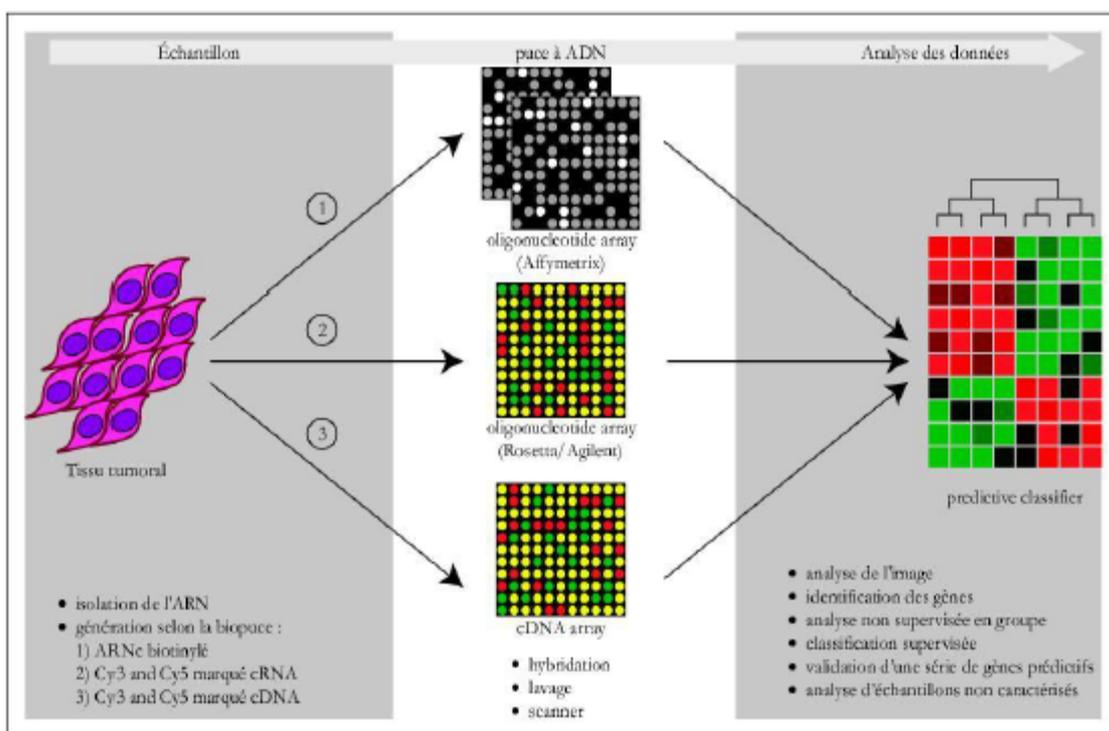
Très peu d'autres gènes suppresseurs de tumeur montrent la présence d'un taux non négligeable de mutations somatiques dans les tumeurs. On peut cependant noter le gène CDH1 codant pour la cadhérine E qui semble muté spécifiquement dans les carcinomes lobulaires invasifs [50].

## 2- profils d'expression génique en cancérologie mammaire

Les récentes avancées dans la connaissance de la génétique moléculaire, associées aux nouvelles techniques à haut débit, offrent l'opportunité d'identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques, pronostiques, ainsi que de nouvelles cibles thérapeutiques. La technique récemment développée des « tissue microarrays »(TMA) autorise la fabrication d'un profil d'expression moléculaire sur des échantillons cliniques. Le pathologiste est maintenant capable d'établir ce profil sur une très large échelle de l'immunohistochimie (IHC), de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ou de l'hybridation in situ sur ARN (CISH).

Cette méthode offre de nombreux avantages : très grand nombre de cas analysés simultanément pour de très nombreux marqueurs, techniques dans des conditions identiques, sur des quantités faibles de matériel d'archive, donnant une excellente corrélation avec les méthodes standards, tout en permettant une économie de temps, d'anticorps ou de sondes.

La puce à ADN (DNA microarray ou DNA chip en anglais) définit un ensemble de procédés caractérisés par un même schéma expérimental : un acide nucléique (ADN/ARN) à caractériser, la cible, est extrait d'un groupe homogène de cellules ou d'un tissu d'intérêt, puis « marqué » (coloré avec un composé fluorochrome ou marqué radioactivement)(figure8) et co-hybridé avec un acide nucléique provenant d'un groupe cellulaire témoin, sur un support solide (lame de verre, membrane de nylon...) présentant à sa surface entre 100 et 100 000 spots d'acides nucléiques immobilisés, à séquences et emplacements connus, les sondes [62-63-64-65].



**Figure 8 : Vue schématique des différentes étapes d'analyse des cellules tumorales par les biopuces d'expression. Le marquage de la cible diffère selon le type de biopuce utilisé tandis que l'analyse des résultats d'hybridation n'est pas spécifique d'une méthode donnée.**

Selon le type de biopuces à ADN utilisé, il sera possible d'étudier le génome ou le transcriptome d'un groupe homogène de cellules (ou un tissu). L'ADN génomique d'intérêt est extrait de deux groupes de cellules, un échantillon témoin et un échantillon de cellules d'intérêt. L'ADN d'intérêt, marqué en rouge par exemple, est co-hybridé sur la lame avec l'ADN génomique témoin coloré en vert.

L'intensité et la couleur du signal émis en fin d'hybridation par chacun des spots d'ADN génomique permettent de déterminer le type d'altération génomique pour ce fragment d'ADN. Ainsi un spot rouge démontrera une sur-représentation de cette région d'ADN génomique dans les cellules étudiées (amplification, duplication), tandis qu'un spot vert démontrera une perte de matériel génétique pour cette région d'ADN génomique (délétion, perte d'allèle).

La technique des biopuces à ADN a permis l'étude des états d'expression d'un groupe cellulaire tumoral, à un moment donné [53]. Ces travaux constituent la base technique d'un grand nombre d'études utilisant les microarrays [54].

C'est en oncologie que l'utilisation des biopuces est désormais la plus courante. Ainsi, il est possible de déterminer l'état d'expression de groupes tumoraux définis et homogènes (profiling) avec pour finalité une classification des tumeurs fondée sur ces profils d'expression (clustering) [55].

La plupart de ces classifications réalisées à partir des profils d'expression génique de tumeurs recourent les classifications anatomopathologiques et/ou immunohistochimiques, mais font également apparaître de nouveaux sous-groupes tumoraux de définition ou d'évolution différentes des précédents .

### **3-génétique et cancer du sein :**

Le cancer du sein est un cancer fréquent : environ 10 à 12 femmes sur 100 développeront un tel cancer durant leur vie. Si on estime qu'environ 20 à 30% des cancers du sein surviennent dans un contexte familial\*, seulement 5 à 10% d'entre eux sont attribuables à une « prédisposition génétique majeure ». Quand on parle de prédisposition génétique au

cancer du sein, on considère en effet trois catégories différentes de gènes, selon le risque relatif\* de cancer du sein auquel ils sont associés (les définitions des différentes catégories de risque ci-dessous, reprises de [56, 57] :

**1) Gènes responsables d'un « haut risque » (« prédisposition génétique majeure ») :**

Lorsque la patiente est porteuse d'un variant ou d'une mutation dans l'un de ces gènes, cela multiplie le risque de cancer du sein par un facteur d'au moins 4 ou 5 par rapport à la population générale (= risque relatif  $\geq 4$ ). Les gènes responsables d'un tel risque relatif sont : BRCA1 et BRCA2 . Les autres gènes représentent < 1% des cas, et sont généralement associés à un tableau clinique et/ou à une histoire familiale assez caractéristique : gène TP53 et Syndrome de Li-Fraumeni, gène PTEN et Syndrome de Cowden, gène STK11/LKB1 et Syndrome de Peutz-Jeghers, gène CDH1 et cancer gastrique diffus héréditaire.

**2) Gènes responsables d'un « risque modéré » :** Certains gènes ont été associés à un risque relatif « modéré », de l'ordre de 2 à 4. Il s'agit par exemple des gènes PALB2, CHEK2, ATM ... (signalons néanmoins que le gène PALB2 est rapporté dans certaines études récentes comme peut-être associé à un risque relatif plus important). En réalité, en fonction de la présence concomitante d'autres facteurs de risque, génétiques mineurs, environnementaux, de mode de vie, et/ou hormonaux, les femmes porteuses d'un variant dans l'un de ces gènes se retrouveront soit dans une catégorie à « haut risque », soit dans une catégorie à « risque modéré ». Il n'est pas toujours possible aujourd'hui de faire la distinction entre les deux situations et donc de proposer une surveillance réellement adaptée au risque personnalisé dans ces situations.

**3) Gènes responsables d'un « faible risque » :** Certains variants génétiques sont associés à un risque relatif « faible », en général < 1,5. Chacun de ces variants est fréquent dans la population (= polymorphismes). Un variant isolé ne suffirait pas à faire basculer une patiente dans un groupe à « haut risque ». L'effet final sur le risque individuel dépendra de l'association de plusieurs variants à risque, et d'autres facteurs, non génétiques (environnement, mode de vie, hormonaux).

## EN PRATIQUE

A ce jour, des tests génétiques ne peuvent et ne doivent pas être proposés à toutes les patientes. Ce serait trop coûteux pour la société, et l'on risquerait de se tromper dans l'évaluation du risque tumoral si l'on se basait exclusivement sur les tests génétiques :

- on risquerait d'inquiéter inutilement certaines patientes en présence d'un « variant de signification clinique incertaine »
- on risquerait d'en rassurer d'autres à tort, puisque l'évaluation du risque de cancer du sein ne se résume pas à la présence ou à l'absence d'une mutation dans un gène, mais dépend aussi d'autres facteurs non génétiques.

En Belgique (et ailleurs dans le monde), on estime qu'un test génétique (screening BRCA1 et BRCA2 initialement, mais screening actuellement étendu à d'autres gènes) est utile et peut être proposé dès que la probabilité qu'une patiente soit porteuse d'une mutation est d'au moins 1/10\*. Les outils permettant d'évaluer cette probabilité sont basés, soit sur des critères empiriques, soit sur des extrapolations obtenues à partir de logiciels informatiques validés par la littérature scientifique internationale (ex : IBIS, BOADICEA, BRCAPRO) à travers un système de score, qui a l'avantage de pouvoir être utilisé par la patiente directement. On doit comptabiliser séparément la branche maternelle et la branche paternelle, ce qui signifie que chaque patiente obtiendra donc 2 scores différents (2 pour le score de Manchester et 2 pour le score d'Eisinger), et on considère le plus élevé.

- Score de Manchester : test génétique justifié si  $\geq 16$  Score
- d'Eisinger : consultation de génétique si  $\geq 3$

Dans tous les cas, ces outils se basent sur le type et le nombre de cancers qu'une patiente a développés, sur l'âge de survenue et sur l'histoire familiale. sur 12 Certaines situations sont évocatrices d'une prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire : cancer du sein précoce, plusieurs cancers du sein chez une même patiente, plusieurs personnes avec un cancer du sein dans la famille, présence d'un cancer du sein chez un homme, présence d'un cancer sévère de haut grade de l'ovaire, présence d'autres types de cancers dans la famille ou chez la patiente (ex : association d'une histoire de cancer du sein ou de l'ovaire avec une histoire familiale de mélanome, cancer du pancréas). Selon ces informations, un test génétique, consistant en une simple prise de sang, sera éventuellement proposé à la patiente. Un grand principe de base est que l'on commencera par tester le « cas

index »ou « proband », c'est-à-dire le patient atteint chez lequel la probabilité de trouver une mutation est la plus importante. Si une mutation clairement délétère, dans un gène à « haut risque », a été identifiée chez une personne de la famille, on peut proposer aux apparentés sains de rechercher la même mutation (« test génétique présymptomatique »\*). Un test présymptomatique ne pourra être proposé que chez une personne majeure, et uniquement dans le cadre d'une consultation de génétique, avec l'encadrement médical et psychologique adéquat [58].

Bonnafant B et al. Bull Cancer vol. 98 • N° 7 • juillet 2011

Phénotype	Score de Manchester	Score d'Eisinger
<i>Femme cancer du sein (ans)</i>		
Avant 30 ans	11	4
30-39	8	3
40-49	6	2
50-59	4	
50-69		1
60 ans et plus	2	
<i>Homme cancer du sein</i>		
Tout âge		4
Avant 60 ans	13	
60 ans et plus	10	
<i>Cancer de l'ovaire</i>		
Tout âge		3
Avant 60 ans	13	
60 ans et plus	10	
<i>Cancer du pancréas</i>	1	
<i>Cancer de la prostate</i>		
Avant 60 ans	2	
60 ans et plus	1	
<i>Tumeur triple négative</i>	4	

**Score de Manchester** : test génétique justifié si  $\geq 16$

**Score d'Eisinger** : consultation de génétique si  $\geq 3$

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

Le cancer du sein est la tumeur cancéreuse la plus fréquente et la plus mortelle des cancers chez la femme dans le monde. Le cancer du sein représente 23-33% de tous les cancers féminins.

On remarque qu'il existe plus de cas de cancer du sein dans les pays développés que dans ceux en voie de développement. (19,3 pour 100 000 femmes en Afrique de l'Est à 89,7 pour 100 000 femmes en Europe occidentale).

Le cancer du sein est considéré comme étant le 2ème cancer le plus commun chez les deux sexes ensemble. Ce cancer est un vrai problème de santé mondiale, et son incidence a connue une augmentation annuelle globale d'environ 0,5% depuis 1990, puis une hausse de 3-4 % [8]

L'incidence du cancer du sein dans l'Afrique du nord, y compris le Maroc, augmente pour devenir la principale forme de cancer répandue chez les femmes.

Il faut noter que l'incidence normalisée selon l'âge pour 100 000 habitants avec cancer du sein était respectivement de 23,5 en Algérie et en et de 16,7 en Tunisie, contre 91,9 en France.

La taille et le grade des tumeurs mammaires en Afrique du Nord sont plus élevés, alors que l'âge médian de début est (48) de dix ans plus jeune que la médiane européenne / nord-américaine de 61.

Au Maroc le cancer du sein est devenue le cancer le plus courant, représentant 36% de tous les cancers [9]. Dans les registres (Casablanca et de Rabat) ce cancer a rapidement dépassé le cancer du col de l'utérus en fréquence [59].

Le taux d'incidence du cancer le plus élevé enregistré chez les femmes au Registre du cancer du Grand Casablanca est le cancer du sein (ASR par 100 000 pour le cancer du sein et pour le cancer du col de l'utérus en 2004 respectivement 35,0 et 13,5).

L'âge moyen au moment du diagnostic était de 48,1 ans ( $\pm$  11,3). Les taux par tranche d'âge ont augmenté à partir de 35 ans et ont atteint un sommet dans le groupe des 40 à 54 ans.

Les taux ont diminué dans les groupes des plus âgées. Le carcinome canalaire infiltrant était le plus fréquent, représentant 70% des cas. La contribution de facteurs génétiques tels que la mutation de BRCA peut contribuer à une plus grande fréquence du cancer du sein.

La détection des altérations du gène BRCA permet de reconnaître des sujets porteurs de mutation germinale dans ce gène et à haut risque de développer un cancer du sein et / ou de l'ovaire [60]. Parmi les porteurs de mutations BRCA1 jusqu'à 70 ans, 56-80% et 10-30% développent ces deux types de cancer (sein et ovaire) respectivement

De plus, les femmes porteuses d'une mutation connue de BRCA1 atteintes du cancer du sein, p présentent un risque de 40 à 60% de développer une deuxième cancer mammaire[56].

Les mutations BRCA1 semblent également associés à un risque plus élevé de développer des tumeurs de la prostate, colorectales et pancréatiques[61].

Les mutations dans les gènes BRCA varient entre les populations, certaines présentant une fréquence élevée de mutations de ce gène[62]. Beaucoup de ces altérations peuvent être récurrentes et peuvent contribuer d'une façon variable au risque de cancer du sein dans les populations[63].

Par exemple, les juifs ashkénazes, norvégiens, hollandais et islandais ont un taux plus élevé de certaines altérations génétiques dans BRCA1.

Au Maroc, la contribution des mutations des gènes BRCA chez les patientes avec cancer du sein reste inexplorée et peu d'études de génétique moléculaire du statut BRCA ont été rapportées..

Afin d'étudier la contribution des mutations germinales de BRCA1 à au cancer du sein dans la population marocaine, nous avons examiné 121 cas de ce cancer pour des altérations dans tous les exons codants et les jonctions d'épissage du gène BRCA1 [64].

## **I-Matériel et méthodes**

### ***A-Sujets d'étude***

Des cas de cancer du sein ont été identifiés au département d'obstétrique et de gynécologie de l'hôpital d'enseignement militaire Mohammed V de Rabat, au Maroc. Les cas ont été choisis selon les critères suivants : âge au diagnostic <45 ans pour les cas sporadiques ; deux parents ou plus au premier degré avec cancer du sein et / ou cancer de l'ovaire, pour les cas familiaux. Au total, 121 cas ont été inclus entre décembre 2011 et juin 2012. Un consentement éclairé a été obtenu de toutes les participantes, au moment du prélèvement du sang périphérique. Tous les cas ont rempli des questionnaires sur l'épidémiologie et les antécédents familiaux et ont fourni un échantillon d'ADN pour le dépistage du BRCA. Les caractéristiques cliniques et pathologiques, y compris l'âge au diagnostic, la localisation de la tumeur, l'aspect mono- ou bilatéral, le stade de la maladie, le type histologique, l'atteinte ganglionnaire, métastase, la classification tumorale et le récepteur aux estrogènes / progestérone. ER et PR étaient considérés négatifs si le marquage tumoral était inférieur à 10%. Un résultat négatif pour HER2 a été défini comme immunohistochimie 0 ou 1+. Le cancer du sein triple négatif était caractérisé par l'absence de ER, PR et HER2 / neu.

## ***B-Analyse moléculaire***

L'ADN génomique a été extrait des lymphocytes du sang périphérique en utilisant une méthode standard d'extraction au phénol-chloroforme. Le sang a d'abord été digéré avec le tampon lysé I (Tris 30 mM, EDTA 5 mM et NaCl 50 mM) et le tampon lysé II (20% SDS, 100 µg / ml de protéinase K) suivi de l'extraction avec du phénol saturé Tris et de l'alcool chloroforme (24 : 1) et finalement récupéré par précipitation à l'éthanol. La quantité et la qualité des échantillons d'ADN ont été déterminées par une absorbance UV et une électrophorèse sur agarose.

L'analyse de mutation a été réalisée par séquençage direct de l'ADN de tous les exons codants et de chaque intron adjacent du gène BRCA1. Les réactions de PCR ont été effectuées dans un volume de 15 µl avec 25 ng d'ADN génomique, 1 x tampon de réaction, 0,3 mM de dNTPs, 1 nM d'amorce directe et inverse et 0,5 unité de Taq polymérase (amorces de Sigma Aldrich, France et tous les autres réactifs d'Applied Biosystems, Lifetech, France). La PCR a été effectuée dans un thermocycleur MWG Bioblock avec dénaturation initiale à 94 ° C pendant 2 min, suivie de 30 à 35 cycles de (94 ° C 20 s, 54 ° C 20 s, 72 ° C 20 s), à l'exception de l'exon 7 (15 cycles de 94 ° C 20 s, 60 ° C 10 s, 72 ° C 20 s puis 25 cycles de 94 ° C 20 s, 56 ° C 15 s, 72 ° C 20 s), exon 9 (94 ° C 20 s, 56 ° C 20s, 72 ° C 20 s) et exon 23 (5 cycles de 94 ° C 20 s, 57 ° C 20 s, 72 ° C 20 s puis 30 cycles de 94 ° C 20 s, 53 ° C 20 S, 72 ° C 20 s). L'exon 11 a été analysé dans neuf fragments de PCR chevauchants. Les produits de PCR ont été vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose contenant du Gel Red (Interchim, France, moins toxique que le bromure d'éthidium) et visualisés par exposition à la lumière ultraviolette. Les produits amplifiés ont été purifiés par digestion enzymatique Exo-Sap (GE Healthcare, USA), selon les instructions du fabricant. Les réactions en séquence ont été effectuées sur des produits de PCR purifiés avec ExoSap en utilisant des réactifs BigDye.v3.1 (Applied Biosystems, amorces disponibles sur demande) et purifiés sur Sephadex™ G-50 Fine (GE Healthcare). Le séquençage du cycle consistait en une étape de dénaturation initiale à 94 ° C pendant 11 minutes, suivie de 25 cycles à 94 ° C pendant 10 secondes, à 52 ° C pendant 5 secondes et à 70 ° C pendant 3 minutes. Le séquençage a été effectué en utilisant un système d'électrophorèse capillaire 3130XL (Applied Biosystems). L'alignement sur les séquences de référence a été effectué en utilisant le logiciel Seqman (DNA Star Inc, Madison, WI, USA). Toutes les mutations ont été confirmées par une seconde amplification indépendante et un deuxième échantillon d'ADN, si possible.

Tous les variants de séquence ont été nommés et sont mentionnés dans le manuscrit selon la nomenclature utilisée par les lignes directrices de la HGVS (Human Genome Variation Society), en utilisant le codon d'initiation de la traduction ATG comme nucléotide. +1. Des mutations sont également fournies à l'aide de la nomenclature BIC (Breast Cancer Information Core).

### ***C-Prévision in silico***

L'effet clinique potentiel des variantes non classées (de signification inconnue) (UV) a été évalué par des analyses de la sévérité des changements d'acides aminés et de leur conservation entre les espèces. Ces analyses ont été effectuées à l'aide d'outils Web d'analyse prédictive. Variation Alignement-Grantham Déviation Grantham (Align GVGD) [17], et les scores de tri intolérant à partir de tolérants [18].

### ***D-Analyses statistiques***

L'analyse statistique a utilisé le test du chi carré, avec  $P < 0,05$  comme seuil pour la différence significative.

## **II-Résultats**

Six mutations délétères ont été identifiées parmi les 19 cas ayant des antécédents familiaux positifs (31,6%) et une mutation parmi 102 cas sporadiques à début précoce (1%). La plupart des porteurs de mutations pathogènes sont des patients à début précoce (6 patients soit 7, 86%); l'âge d'apparition précoce est  $\leq 45$  ans.

Les mutations pathogènes comprenaient deux mutations de décalage de trame (c.798\_799delTT, c.1016dupA), une mutation faux-sens (c.5095C> T) et une mutation non-sens (c.4942A> T) (Tableau 1).

Dix variantes faux-sens des UV et d'autres polymorphismes rares ont également été identifiées.

La mutation c.798\_799delTT (p.Ser267LysfsX19), située dans l'exon 11, a été identifiée dans deux cas non apparentés (3371-01A et 3432-01A). Les deux transporteurs ont montré une histoire familiale du cancer du sein. Le cas index (3371-01A) et une sœur présentaient un cancer du sein bilatéral de moins de 40 ans. Le c.798\_799delTT est une mutation de trame incluant deux petites délétions, une délétion de deux bases (TT), qui provoquent un signal de protéine tronqué au codon 285.

La mutation c.1016dupA (p.Val340LysfsX6) a été détectée dans deux cas non apparentés (3430-01B, 3450-01A), toutes les deux ayant des antécédents familiaux évocateurs d'une prédisposition génétique au cancer du sein et / ou cancer de l'ovaire. Les deux familles avaient des phénotypes différents: l'un contenait quatre cas de cancer de sein, mais pas de cancer de l'ovaire, et les trois autres, un cancer de l'ovaire et deux cas de cancer de sein. Les antécédents familiaux des deux cas concordent avec le fait que cette mutation est très pénétrante pour le cancer du sein et cancer de l'ovaire. Le cas index 3450-01BA présentait également une variante de signification inconnue. Le c.1016dupA est une mutation de décalage de trame due à l'insertion d'un A au niveau de l'acide nucléotidique 1135 du codon 340 dans l'exon 11, qui devrait conduire à un codon d'arrêt prématuré 345 et à une protéine tronquée.

La mutation c.5095C> T (p.Arg1699Trp), localisée dans l'exon 18, a été identifiée dans deux cas non apparentés, tous deux ayant de forts antécédents familiaux de cancer. La mutation entraîne un changement non conservateur de l'arginine en tryptophane à la position hautement conservée 1699 dans le domaine BRCT N-terminal du gène BRCA1.

La mutation non-sens c.4942A> T (p.Lys1648X), située dans l'exon 16, a été retrouvée dans un cas précoce sans antécédents familiaux de cancer de sein et / ou un cancer de l'ovaire. La mutation c.4942A> T était une adénine pour la substitution de thymine sur le nucléotide 4942 et conduisant à un codon d'arrêt prématuré en position 1648.

De plus, les UVs (Unclassified Variants) BRCA1 ont été identifiés chez 13 (10,7%) des 121 cas analysés. Au total, dix UV faux-sens ont été observés, huit d'entre eux ayant des antécédents familiaux positifs de cancer de sein (tableau 2). L'UV le plus fréquemment détecté était c.5117G> C (p.Gly1706Ala), trouvé dans quatre cas. Les autres UV n'ont été observés qu'une seule fois.

La mutation c.1941T> G (p.Ser647Arg), s'est produit dans un cas avec une mutation délétère (c.1016dA). Align-GVGD catégorisé 1/10 (10%) en C55, 0/10 en C65, C45, C35 ou C25 et 9/10 (90%) en C0. Les effets fonctionnels de ces dix UV ont également été interprétés à l'aide des outils bioinformatiques PolyPhen-2 et SIFT (tableau2).

L'âge moyen au diagnostic du cancer du sein était de  $44 \pm 1,9$  an (IC à 95%, 43,5 - 44,5) chez les porteurs de BRCA1 et de  $42,2 \pm 5,1$  ans (IC à 95%, 41,8 - 42,5) chez ceux sans mutations délétères ( $p > 0,05$ ).

La majorité des cas de cancer de sein étaient compris entre 23 et 59 ans et 94 (79%) avaient été diagnostiqués avant l'âge de 45 ans.

Il y avait 86 (70%) patients avec cancer du sein unilatéral et 5 (4,1%) avec une forme bilatérale.

Des antécédents familiaux de cancer de sein et / ou cancer de l'ovaire ont été enregistrés dans 19 cas (16%), et 12 (10,2%) avaient un parent du premier degré diagnostiqué avec cancer de sein et / ou cancer de l'ovaire.

La plupart des cas ont été diagnostiqués avec un carcinome canalaire infiltrant. Scarff-Bloom-Richardson grade II et III étaient prédominants (respectivement 41% et 44% des cas).

Les ganglions lymphatiques axillaires contenaient des métastases (N +) dans 26 cas (21%).

Les mutations de BRCA1 étaient significativement associées à la négativité de l'ER (p <0,001) et à la négativité de PR (p <0,001) et à la négativité de HER2 (p <0,001).

Les mutations du gène BRCA1 étaient plus fréquentes dans le cancer du sein triple négatif que dans le cas des tumeurs du sein non triples négatives (p <0,001).

Age moyen	de 44 ± 1,9 ans	23-59
Age BRCA	de 42,2 ± 5,1	
AVANT 45 ANS	94	(79%)
UNILATERAL	89	(70%)
BILATERAL	5	(4,1%)
Bloom-Richardson grade II et III	50+54	respectivement 41% et 44% des cas
N+	26	(21%).

**Tableau 1 : Caractéristiques clinico-pathologiques des cas "de cancer du sein" marocains avec des mutations germinales délétères de BRCA**

Cas	âge au moment du DC	exon	Variante génétique	conséquence	familial ou sporadique	mutation type	histologie	stade	ER	PR	HER	Ménopause
3371-01A	44	11	c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	Familial	FS	CCI	III	-	-	-	Pré
3432-01A	40	11	c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	Familial	FS	CCI	III	-	-	-	Pré
3430-01B	44	11	c.1016dupA	p.Val340LysfsX6	Familial	FS	CCI	III	-	-	-	Pré
3450-01A	46	11	c.1016dupA	p.Lys1698X	Familial	FS	CCI	II	-	-	-	Post
3393-01A	45	16	c.4942A>T	p.Lys1648X	Sporadique	NS	bifocal CCI	II	-	-	-	Pré
4051-01A	44	18	c.5095C>T	p.Arg1699Trp	Familial	MS	CCI	III	-	-	-	Pré
4051-01A	45	18	c.5095C>T	p.Arg1699Trp	Familial	MS	CCI, N+	IV	-	-	-	Pré

**Tableau 2 : “ Unclassified Variants” des variantes s non classés de BRCA1**

Variante génétique	consequence	GV	GD	Align-GVGD class	Polyphen	SIFT
c.196A>T	p.Asn66Tyr	163.23	25.33	C0	0.996 (probably damaging)	0.04 (not tolerated)
c.666A>T	p.Gln222Asn	272.33	0	C0	0.651 (possibly damaging)	0.22 (tolerated)
c.1417A>T	p.Asn473Tyr	134.97	35	C0	0.979 (probably damaging)	0.07 (tolerated)
c.1941T>G	p.Ser647Arg	95.08	28.37	C0	0.991 (probably damaging)	0.09 (tolerated)
c.2251A>C	p.Met751Leu	240.36	0	C0	0.00 (benign)	1.00 (tolerated)
c.2869C>A	p.Gln957Lys	241.77	26.66	C0	0.883 (possibly damaging)	1.00 (tolerated)
c.2925A>T	p.Gln975H	261.51	0	C0	0.489 (possibly damaging)	0.05 (tolerated)
c.3115G>T	p.Ala1039Ser	235.38	0	C0	0.074 (benign)	0.60 (tolerated)
c.4776C>A	p.Asn1592Lys	231.18	34.45	C0	0.00 (benign)	0.31 (tolerated)
c.5117G>C	p.Gly1706Ala	0	60	C55	-	0.00 (not tolerated)

lign-GVGD a été utilisé pour évaluer plus avant l’effet fonctionnel des UV faux-sens, avec l’alignement sur 13 séquences BRCA1 et BRCA2 . Align-GVGD, Align Grantham Variation Grantham Deviation; GV: Grantham Score de variation, GD: Grantham Score de déviation, PolyPhen, Phénotypage de polymorphisme; SIFT, tri intolérant du tolérant.

### III-Discussion

Bien que l'analyse de la liaison génétique suggère que la prévalence de la mutation du gène BRCA dans le cancer du sein familiale et / ou le Cancer de l'ovaire, est d'environ 45-90% [48, 65], la fréquence de la mutation BRCA1 dans le cancer du sein familial varie de 1 à 35% [66, 67]. Bien que Miki et al. [23] avaient rapporté environ 62%, la taille de l'échantillon était extrêmement faible. Dans le présent, les mutations BRCA1 ont été identifiées dans 31,6% (6/19) des cas avec cancer du sein familiale. Ceci est en contraste avec 10,3% des familles françaises à cancer du sein et / ou cancer de l'ovaire présentant une mutation BRCA1. La fréquence des mutations de BRCA1 parmi les familles algériennes était de 36,4% (4/11) [68]. La prévalence des mutations BRCA1 rapportées dans une étude récente menée sur des familles tunisiennes (37,5%) est environ 2,5 fois supérieure à celle rapportée initialement (15,6%)[69] .

Les changements dans les comportements de reproduction des femmes d'Afrique du Nord étaient étroitement liés au niveau d'éducation et au statut socioéconomique des femmes. L'urbanisation et l'évolution technologique jouent un rôle dans ces changements. Les changements dans les niveaux de vie et les modes de vie ont affecté l'âge à la première grossesse et le nombre d'enfants produits. La pénétrance des mutations du gène BRCA peut être modifiée par d'autres gènes à risque ou protecteurs ou par des facteurs environnementaux, notamment l'histoire de la reproduction et le régime alimentaire. L'effet du mode de vie sur cette pénétrance est significatif, car les études sur les populations occidentales montrent que les porteurs nés après 1940 ont une incidence de BC plus élevée et une apparition plus précoce que les porteurs nés avant 1940[70].

Les cas uniques ne sont généralement pas acceptés pour les tests génétiques des gènes héréditaires. Sans implication forte de facteurs héréditaires, tels que le jeune âge au diagnostic (<35 ans), les tumeurs multifocales ou bilatérales et / ou l'histologie de type médullaire. Dans la plupart des populations occidentales, ces tests ne sont pas rentables, avec seulement 2,6% des familles de 2 cas en Finlande présentant une mutation BRCA [11], et très peu de cas sporadiques étant positifs aux États-Unis. D'autres études suggèrent cependant que le dépistage de familles à deux cas ou de cas isolés avant l'âge de 36 ans peut être efficace dans certaines populations [39, 71]. Cette étude a montré une prévalence plus faible des mutations BRCA1 (1%) dans les cas BC diagnostiqués avant l'âge de 45 ans et non sélectionnés pour les antécédents familiaux de la maladie. En Algérie, 9,8% (5/51) des cas sporadiques précoces (<38 ans) étaient associés à des mutations du gène BRCA1 [68]. Au moins deux explications

peuvent contribuer à cette observation : les antécédents familiaux des patientes, inclus dans cette étude peuvent ne pas avoir été exacts, notamment en ce qui concerne les antécédents familiaux paternels. Cela aurait pu conduire à une mauvaise classification des cas familiaux en tant que cas sporadiques, ce qui confondrait les estimations de la prévalence des mutations germinales dans le cancer sporadique. En outre, une structure de population différente en Algérie, avec une incidence relativement faible de BC, révèle la plus grande contribution des facteurs génétiques.

### **Mutations délétères du gène BRCA1 au Maroc**

Récemment, Tazzite et ses collaborateurs [64] ont sélectionné 40 patientes de 39 familles de cancer du sein et / ou de l'ovaire chez lesquelles on avait diagnostiqué un cancer invasif du sein ou de l'ovarien. Les formes d'hérédité impliquent quatre mutations BRCA1 (c.798\_799delTT, c.3279delC / 3398delC, c.2805delA / 2924delA, c.5062-5064delGTT) dans les familles avec cancer du sein, et une mutation (c.181T> G) dans un cancer du sein et du cancer de l'ovaire à caractère familial. De plus, 22 variantes de BRCA1 comprenant des polymorphismes distincts et des UV ont été identifiées [56]. Dans notre étude [72], nous avons identifié six mutations délétères parmi 19 cas ayant des antécédents familiaux positifs et une mutation parmi 102 cas sporadiques précoces. Les mutations pathogènes incluaient c.798\_799delTT, c.1016dupA c.5095C> T parmi les cas familiaux et c.4942A> mutations T sporadiques.

La mutation c.798\_799delTT a été rapportée dans des familles algériennes, tunisiennes et marocaines [64, 68, 73, 74], suggérant la première mutation non juive fondée en Afrique du Nord. Cette mutation par décalage de trame est citée deux fois dans la base de données BIC, sans aucune origine ethnique indiquée. Des marqueurs microsatellites présents dans le locus BRCA1 et les entourant ont montré un haplotype commun associé à cette mutation chez tous les porteurs des deux cas algériens [56]. Aucune des mutations fondatrices observées précédemment parmi les populations du Moyen-Orient (iranien) ou juives n'a été trouvée.

La mutation c.1016dupA a déjà été décrite comme l'une des quatre mutations fondatrices provenant de la population orientale de Norvège [75]. Contrairement à d'autres mutations norvégiennes, le c.1016dupA a également été signalé dans d'autres groupes

ethniques. Dans la base de données BIC, la mutation c.1016dupA est la 12ème mutation de frameshift (décalage) la plus courante survenant dans BRCA1. Il a été rapporté qu'il se produit dans des populations à travers l'Europe, y compris en Espagne, en Norvège, aux Pays-Bas, en Autriche et en Italie, ainsi qu'en Amérique latine et en Amérique du Nord; Cependant, les résultats de l'allélotypage ont indiqué une origine indépendante de cette mutation. La mutation c.1016dupA est une duplication d'un A dans une série de sept. Cette région poly-A peut ainsi être un point chaud pour les erreurs de réplication.

Nos patients atteints de BRCA porteurs de la mutation c.5095C> T avaient une histoire familiale de cancer de sein/ovaire. Cette variante a été décrite précédemment dans les familles ayant un cancer du sein familial[76, 77] et est classée comme cliniquement significative dans la base de données BIC( Brest international consortium). La substitution des acides aminés conduit à un défaut de réplication (dans le domaine BRCT) et réduit la stabilité protéolytique de ce domaine qui interagit avec de nombreuses protéines impliquées dans la transcription et la réparation de l'ADN [78]. Les données fonctionnelles et la co-ségrégation suggèrent fortement que la mutation c.5095C> T a un effet délétère et prédispose les porteurs à un cancer de sein /ovaire [78, 79]. La mutation c.5095C> T peut ainsi expliquer certains cas de cancer de sein chez la population marocaine.

### **UVS Unclassified Variants BRCA**

Nous avons identifié dix UV différents de BRCA1. Tous les UV étaient des substitutions de faux-sens et le plus souvent, des classes A-GVGD qui favorisaient la neutralité. Il est probable que la majorité de ces variantes de séquences n'aient aucune pertinence clinique, et les quelques-uns qui peuvent être délétères sont peu susceptibles de modifier les conclusions fondamentales de cette étude. Par exemple, nous avons identifié c.314A> G (p.Lys105Lys) dans des cas sporadiques à début précoce sans antécédents familiaux de cancer de sein /ovaire. Cette variante suggérée par Align-GVGD comme variante de risque candidate a été rapportée dans BIC comme étant sans intérêt clinique principalement basée sur la concurrence en trans avec des mutations délétères et l'absence de ségrégation avec la maladie dans les familles. Le c.314A> G a également été classé comme neutre dans le modèle de rapport de vraisemblance développé par Easton et al.[65, 80]. La preuve in silico pour c.5117G> C est un peu plus forte, mais il n'y a toujours pas de co-ségrégation. La mutation c.5117G> C qui s'est produite à haut niveau conservée (GV = 0) a été définie comme interférant avec la fonction (classe A-GVGD C55), mais a été observée conjointement

avec une mutation délétère dans une famille tunisienne. La cooccurrence de cette variante avec une mutation délétère dans une famille tunisienne suggère cependant qu'elle est neutre.

L'interprétation des UV reste problématique. La prédiction de l'effet des UV dans les études d'analyse fonctionnelle et par logiciel de prédiction peut générer des résultats controversés. L'évaluation des UV faux-sens devrait consister en la combinaison de plusieurs approches basées sur l'analyse de co-ségrégation des UV avec maladie dans une famille, perte d'hétérozygotie dans les tumeurs, détermination de la fréquence des variants dans les contrôles non affectés, prédiction in silico analyse, ou tests fonctionnels [70].

### **Variantes de séquence dans le gène BRCA1 en Afrique du Nord**

La prévalence et le spectre des mutations du gène BRCA1 dans les familles nord-africaines de ayant une histoire familiale de cancer de sein et/ ou de l'ovaire, n'ont pas encore fait l'objet d'études approfondies. En Algérie, Uhrhammer et al [68] ont mené une étude sur des cas sporadiques âgés de moins de 38 ans et des cas familiaux. Le séquençage de l'ADN a révélé cinq mutations délétères parmi 51 cas sporadiques précoces et quatre mutations parmi 11 familles. Deux variantes non conservatrices du sens faux, c.425C> A et c.4072G> A, et une variante intronique, c.5467-10C> A, ont été observées dans trois cas sporadiques, bien que leur signification clinique soit inconnue. Cherbal et al [73] ont décrit l'analyse du gène BRCA1 chez 86 individus de 70 familles d'une cohorte algérienne ayant des antécédents personnels et familiaux évocateurs d'une prédisposition génétique au cancer du sein. Tous les échantillons pour lesquels aucune mutation pathogène n'a été trouvée ont été analysés par MLPA pour les grandes délétions ou duplications. Trois mutations pathogènes distinctes c.83\_84delTG, c.181T> G, c.798\_799delTT et deux grands réarrangements ont été détectés ainsi que 17 UV et polymorphismes.

Deux études récentes ont porté sur des mutations du gène BRCA chez des patientes atteintes de cancer de sein. QUINZE cas familial ont révélé huit mutations de BRCA1 incluant c.211dupA, c.4041delAG, c.2551delG, c.798\_799delTT, c.3331\_3334delCAAG, c.212 + 2insG and c.5266dupC [25,31) . De plus, 13 UV distincts ont également été identifiés. La mutation c.798\_799delTT était la mutation la plus fréquemment observée en Afrique du Nord. Il s'est produit dans dix cas familiaux non apparentés. Les mutations restantes sont survenues à basse fréquence et certaines ont déjà été décrites dans d'autres populations. Ainsi, l'analyse de mutation cumulative a montré que le spectre de mutation BRCA1 est assez large en Afrique du Nord (tableau 3).

Dans l'ensemble, ces données préliminaires suggèrent que le spectre des mutations de BRCA1 en Afrique du Nord pourrait être important et large, comme on pourrait s'y attendre pour des populations variées et hétérogènes. Nos résultats concluent que les antécédents familiaux constituent un critère de sélection important pour l'identification des porteurs de la mutation BRCA1. Au Maroc, il s'agit d'une apparition précoce du cancer du sein, alors qu'il s'agit principalement d'une maladie post-ménopausique dans la population occidentale. Nos résultats sont en accord avec des études antérieures qui indiquent que la fréquence des mutations de BRCA1 chez les patientes ayant un cancer du sein diminue à fur et à mesure que l'âge d'apparition du cancer augmente. Cela s'explique entièrement par la structure par âge de la population. Les femmes dans la soixantaine sont beaucoup moins nombreuses que dans les populations occidentales.

De plus, les carcinomes associés au gène BRCA1 auraient des caractéristiques typiques en ce sens qu'ils sont plus fréquemment du type invasif canalaire, peu différenciée, et sont ER / PR négatifs. Conformément à ces données, toutes ces caractéristiques étaient également beaucoup plus fréquentes dans notre population étudiée.

	MAROC	ALGERIE	TUNISIE	FRANCE
FAMILIALE	31%	36%	37%	10%
MUTATION PRECOCE	1%	9%		
MUTATION DELETEEREE BRCA 1	c.798_799delTT	c.798_799delTT	c.798_799delTT	c.798_799delTT
c.1016dupA	c.1016dupA			c.1016dupA

**Tableau 3 :Mutations délétères de BRCA1 en Afrique du Nord**

<b>Variante génétique</b>	<b>conséquence</b>	<b>âge au DC</b>	<b>familial ou sporadique</b>	<b>BC or OC</b>
<b>Algerian population</b>				
c.46_74del29	p.Asn16fs	29	sporadique	BC
c.46_74del29	p.Asn16fs	37+44	familial	BC
c.83_84delTG	p.Arg28fs	26	sporadique	BC
c.83_84delTG	p.Leu28Argfsx1	47	familial	BC
c.181T>G	p.Cys61Gly	36	familial	BC
c.181T>G	p.Cys61Gly	44	familial	BC
c.202+1G>A	Splice donor	38	familial	BC
_	exon 5	42	_	BC
c.798_799delTT	p.Val266fs	43	familial	BC
c.798_799delTT	p.Val266fs	32	familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	33	familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	30	familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	n.i	familial	BC
c.1817delC	p.Pro606fs	37	sporadique	BC
c.2745dupT	p.Ser915fs	36	sporadique	BC
c.3715delT	p.Ser1239fs	36	Sporadique	BC
<b>Tunisian population</b>				
c.211dupA	p.Arg71LysfsX80	54	Familial	BOC
c.211dupA	p.Arg71LysfsX80	47	Familial	BC
c.212+2insG	IVS5+2insG	n.i	Familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	38	Familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	38	Familial	BC
c.798_799delTT	p.Ser267LysfsX19	43	Familial	BC
c.2551delG	p.Glu851Asnfs41	45	Familial	BC
c.3331_3334delCAAG	3450delCAAG	n.i	Familial	BC
c.4041delAG	p.Gly1348AsnfsX6	65	Familial	BOC
c.5266dupC	p.Asp1757LysfsX70	50	Familial	BOC
c.5266dupC	p.Asp1757LysfsX70	n.i	Familial	BC

FS: frameshift, NS: non-sens, MS: missense, n.i: aucune information

### **Difficultés rencontrées**

Notre étude avait plusieurs contraintes; la principale est que nous n'avons pas été en mesure d'étudier le rôle du gène BRCA2. En effet, des mutations survenant dans le gène BRCA2 pourraient être la cause d'un certain nombre de cas de cancer de sein dans notre population que nous espérons étudier à l'avenir

## CONCLUSION

Dans l'ensemble, ces données préliminaires suggèrent que le spectre des mutations de BRCA en Afrique du Nord pourrait être important et intéressant pour la compréhension, ainsi que pour des mesures préventives ultérieures, à travers un dépistage précoce chez les populations à risque, voire un conseil génétique.

Il est concevable que le relâchement des processus de contrôle de l'intégrité du génome, dû aux mutations de *BRCA1* ou *BRCA2*, soit délétère pour des cellules de la glande mammaire et / ou ovarien.

Les mutations germinales des gènes *BRCA1* et *BRCA2* rendent compte d'un nombre important des syndromes familiaux de cancers du sein et de l'ovaire.

Un ensemble de données récemment acquises sur la biologie des gènes *BRCA1* et *BRCA2* convergent pour suggérer que le statut de prédisposition au cancer du sein liée aux mutations de ces deux gènes est une maladie de la réponse aux lésions génotoxiques.

L'existence d'une interaction fonctionnelle entre les mutations *BRCA1*, *BRCA2* et d'autres facteurs de risques endommageraient l'ADN. Ainsi, la prédisposition au cancer, liée aux mutations de *BRCA1* ou *BRCA2*, pourrait refléter l'instabilité génétique et le risque élevé d'inactivation de gènes qui jouent un rôle critique dans le contrôle du cycle cellulaire.

## **RESUME**

## **Contribution des mutations germinales des gènes BRCA1 dans la survenue du cancer du sein chez les femmes marocaines**

Mots-clés: Cancer du sein, mutations BRCA, variantes non classées

### **Introduction :**

Les variations mondiales de la distribution des mutations du gène BRCA sont actuellement bien connues. Elles sont fortement incriminées dans la survenue du cancer du sein à caractère familial ou à caractère précoce.

### **Matériel et méthodes**

Notre étude concerne 121 cas de cancer du sein colligés au service de GOB de l'HMIMV de Rabat, entre décembre 2010-juin 2012. Les critères de sélections sont :

- âge au diagnostic <45 ans pour les cas sporadiques
- deux parents ou plus au premier degré avec cancer du sein et / ou cancer de l'ovaire, pour les cas familiaux.

L'étude a été réalisée à travers un questionnaire rassemblant toutes les informations cliniques et paracliniques ainsi qu'un consentement clair approuvé par les patients

L'ADN génomique a été extrait des lymphocytes du sang périphérique. L'analyse des mutations a été réalisée par séquençage direct de l'ADN après amplification par PCR

### **Résultats**

Nous avons obtenu 31,6% (6/19) des cas familiaux et 1% (1/102) des cas sporadiques précoces (<45 ans) étaient associés à des mutations du gène BRCA1. Les mutations délétères comprenaient deux mutations de décalage de trame (frameshift) (c.798\_799delTT, c.1016dupA), une mutation faux-sens (c.5095C> T) et une mutation non-sens (c.4942A> T). Par ailleurs, dix variantes non classifiées ont été détectées dans l'analyse des mutations BRCA1, dont aucune n'était contributive dans la carcinogenèse.

### **Discussions**

La mutation c.798\_799delTT a également été observée dans les familles algériennes et tunisiennes et par conséquent a été définie comme étant la première mutation fondatrice non juive décrite en Afrique du Nord. La plupart des variantes non classées ont été placées dans des classes Align-GVGD suggérant la neutralité.

### **Conclusion**

Ces résultats reflètent l'hétérogénéité génétique de la population marocaine et sont pertinents pour le conseil génétique et la gestion clinique.

## **SUMMARY**

## **Contribution of germline mutations of BRCA1 genes in the occurrence of breast cancer in Moroccan women**

**Keywords:** Breast cancer, BRCA mutations, unclassified variants

### **Introduction**

Global variations in the distribution of BRCA gene mutations are currently well known. They are strongly implicated in the occurrence of familial or early breast cancer.

### **Material and methods**

Our study concerns 121 breast cancer cases collected at the GOB service of HMIMV Rabat, between December 2010-June 2012. The selection criteria are:

- Age at diagnosis <45 years for sporadic cases
- Two or more parents in the first degree with breast cancer and / or ovarian cancer, for family cases.

The study was conducted through a questionnaire gathering all the clinical and paraclinical information as well as clear consent approved by the patients.

Genomic DNA was extracted from peripheral blood lymphocytes. The mutation analysis was performed by direct DNA sequencing after PCR amplification.

### **Results**

We obtained 31.6% (6/19) of the familial cases and 1% (1/102) of the early sporadic cases (<45 years) were associated with mutations of the BRCA1 gene. The deleterious mutations included two frameshift mutations (c.798\_799delTT, c.1016dupA), a missense mutation (c.5095C> T) and a nonsense mutation (c.4942A> T). In addition, ten unclassified variants were detected in the analysis of BRCA1 mutations, none of which were contributive in carcinogenesis.

### **Discussion**

The c.798\_799delTT mutation was also observed in Algerian and Tunisian families and was therefore defined as the first non-Jewish founding mutation described in North Africa. Most unclassified variants have been placed in Align-GVGD classes suggesting neutrality.

### **Conclusion**

These results reflect the genetic heterogeneity of the Moroccan population and are relevant for genetic counseling and clinical management.

# ملخص

## سأهمة الطفرات السرطانية في جينات BRCA 1 في حدوث سرطان الثدي لدى النساء المغربيات

الكلمات الرئيسية: سرطان الثدي ، طفرات BRCA طفرات غير المصنفة.

### مقدمة:

التغيرات العالمية في توزيع الطفرات الجينية BRCA معروفة في الوقت الحاضر. هم متورطون بشدة في حدوث سرطان الثدي العائلي أو في وقت مبكر.

### المواد والطرق :

تتناول دراستنا 121 حالة سرطان الثدي التي تم جمعها في مصلحة التوليد بالمستشفى العسكري محمد الخامس الرباط

، بين ديسمبر 2010 ويونيو 2012. معايير الاختيار هي:

- العمر عند التشخيص >45 سنة للحالات المتفرقة

- اثنان أو أكثر من الوالدين في الدرجة الأولى مع سرطان الثدي و / أو سرطان المبيض ، لحالات الأسرة.

وقد أجريت الدراسة من خلال استبيان يجمع كل المعلومات السريرية والسريية بالإضافة إلى موافقة واضحة معتمدة من قبل المرضى.

تم استخراج الحمض النووي الجينوم من الخلايا الليمفاوية الدم المحيطة. تم تنفيذ تحليل الطفرات عن طريق تسلسل الحمض النووي المباشر بعد تضخيم PCR.

### النتائج :

حصلنا على 31.6 ٪ (19/6) من الحالات العائلية و 1 ٪ (102/1) من الحالات المتفرقة في وقت مبكر (>45 سنة) ارتبطت طفرات من الجين BRCA1. تضمنت الطفرات الخبيثة طفرين بظرف فرعي (c.798\_799delTT، c.1016dupA) ، طفرة خطيرة (c.5095C> T) وطفرة غير منطوية (c.4942A> T). بالإضافة إلى ذلك ، تم الكشف عن عشرة أنواع غير مصنفة في تحليل طفرات BRCA 1، ولم يكن أي منها مساهما في التسرطن.

### مناقشات

كما لوحظ تحول c.798\_799delTT في العائلات الجزائرية والتونسية ، وبالتالي تم تعريفه بأنه أول طفرة مؤسسية غير يهودية تم وصفها في شمال إفريقيا. تم وضع معظم المتغيرات غير المصنفة في فئات GVG-D-Align مما يوحي بالحياد.

### استنتاج :

تعكس هذه النتائج عدم التجانس الوراثي للسكان المغاربة وهي ذات صلة بالاستشارة الجينية والإدارة السريرية.

## **REFERENCES**

1. El Saghir, N.S., et al., *Trends in epidemiology and management of breast cancer in developing Arab countries: a literature and registry analysis*. Int J Surg, 2007. **5**(4): p. 225-33.
2. Hance, K.W., et al., *Trends in inflammatory breast carcinoma incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results program at the National Cancer Institute*. J Natl Cancer Inst, 2005. **97**(13): p. 966-75.
3. Boyle, P., *Breast cancer control: signs of progress, but more work required*. Breast, 2005. **14**(6): p. 429-38.
4. Wiencke, J.K., *Impact of race/ethnicity on molecular pathways in human cancer*. Nat Rev Cancer, 2004. **4**(1): p. 79-84.
5. Bertucci, F., et al., *Gene expression profiling of primary breast carcinomas using arrays of candidate genes*. Hum Mol Genet, 2000. **9**(20): p. 2981-91.
6. Sorlie, T., et al., *Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003. **100**(14): p. 8418-23.
7. Perou, C.M., et al., *Molecular portraits of human breast tumours*. Nature, 2000. **406**(6797): p. 747-52.
8. Parkin, D.M., et al., *Global cancer statistics, 2002*. CA Cancer J Clin, 2005. **55**(2): p. 74-108.
9. Ferlay, J., et al., *Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008*. Int J Cancer, 2010. **127**(12): p. 2893-917.
10. Cardiff, R.D. and S.R. Wellings, *The comparative pathology of human and mouse mammary glands*. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 1999. **4**(1): p. 105-22.
11. Vahteristo, P., et al., *A probability model for predicting BRCA1 and BRCA2 mutations in breast and breast-ovarian cancer families*. Br J Cancer, 2001. **84**(5): p. 704-8.
12. Villadsen, R., et al., *Evidence for a stem cell hierarchy in the adult human breast*. J Cell Biol, 2007. **177**(1): p. 87-101.

13. McKian, K.P., et al., *Novel breast tissue feature strongly associated with risk of breast cancer*. J Clin Oncol, 2009. **27**(35): p. 5893-8.
14. Joshi, P.A. and R. Khokha, *The mammary stem cell conundrum: is it unipotent or multipotent?* Breast Cancer Res, 2012. **14**(2): p. 305.
15. Lakhani, S.R., et al., *Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving BRCA1 and BRCA2 mutations*. J Natl Cancer Inst, 1998. **90**(15): p. 1138-45.
16. Elston, C.W. and I.O. Ellis, *Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up*. Histopathology, 1991. **19**(5): p. 403-10.
17. Chavez-MacGregor, M., et al., *Incorporating Tumor Characteristics to the American Joint Committee on Cancer Breast Cancer Staging System*. Oncologist, 2017. **22**(11): p. 1292-1300.
18. Asif, H.M., et al., *HER-2 Positive Breast Cancer - a Mini-Review*. Asian Pac J Cancer Prev, 2016. **17**(4): p. 1609-15.
19. Buyse, M., et al., *Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer*. J Natl Cancer Inst, 2006. **98**(17): p. 1183-92.
20. Khaled, H., et al., *The St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017: Egyptian view*. Breast Cancer Res Treat, 2018.
21. Lakhani, R., E., I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., and van de Vijver, M.J., *Classification of Tumours of the Breast*. 2012.
22. Sun, Y.S., et al., *Risk Factors and Preventions of Breast Cancer*. Int J Biol Sci, 2017. **13**(11): p. 1387-1397.
23. Colditz, G.A. and B. Rosner, *Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study*. Am J Epidemiol, 2000. **152**(10): p. 950-64.

24. Marchbanks, P.A., et al., *Oral contraceptives and the risk of breast cancer*. N Engl J Med, 2002. **346**(26): p. 2025-32.
25. Marsden, J., *Hormonal contraception and breast cancer, what more do we need to know?* Post Reprod Health, 2017. **23**(3): p. 116-127.
26. Beral, V., *Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study*. Lancet, 2003. **362**(9382): p. 419-27.
27. Travis, R.C., et al., *Night Shift Work and Breast Cancer Incidence: Three Prospective Studies and Meta-analysis of Published Studies*. J Natl Cancer Inst, 2016. **108**(12).
28. Ursin, G., et al., *A meta-analysis of body mass index and risk of premenopausal breast cancer*. Epidemiology, 1995. **6**(2): p. 137-41.
29. Kabat, G.C., et al., *Meat intake and meat preparation in relation to risk of postmenopausal breast cancer in the NIH-AARP diet and health study*. Int J Cancer, 2009. **124**(10): p. 2430-5.
30. Alexander, D.D., et al., *A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer*. Nutr Res Rev, 2010. **23**(2): p. 349-65.
31. Boffetta, P., et al., *Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)*. J Natl Cancer Inst, 2010. **102**(8): p. 529-37.
32. Zhang, S.M., et al., *Plasma folate, vitamin B6, vitamin B12, homocysteine, and risk of breast cancer*. J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(5): p. 373-80.
33. Adlercreutz, H., *Phyto-oestrogens and cancer*. Lancet Oncol, 2002. **3**(6): p. 364-73.
34. Rojas, K. and A. Stuckey, *Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors*. Clin Obstet Gynecol, 2016. **59**(4): p. 651-672.
35. Varghese, J.S. and D.F. Easton, *Genome-wide association studies in common cancers--what have we learnt?* Curr Opin Genet Dev, 2010. **20**(3): p. 201-9.
36. Falcon, S., et al., *Imaging Management of Breast Density, a Controversial Risk Factor for Breast Cancer*. Cancer Control, 2017. **24**(2): p. 125-136.

37. Santen, R.J., *Inhibition of aromatase: insights from recent studies*. Steroids, 2003. **68**(7-8): p. 559-67.
38. Baillet, F., et al., *The use of a specific hypofractionated radiation therapy regimen versus classical fractionation in the treatment of breast cancer: a randomized study of 230 patients*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1990. **19**(5): p. 1131-3.
39. Petrucelli, N., M.B. Daly, and G.L. Feldman, *Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2*. Genet Med, 2010. **12**(5): p. 245-59.
40. Miki, Y., et al., *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1*. Science, 1994. **266**(5182): p. 66-71.
41. Gao, B., et al., *RASSF1A polymorphism A133S is associated with early onset breast cancer in BRCA1/2 mutation carriers*. Cancer Res, 2008. **68**(1): p. 22-5.
42. Chahboune, S., *LA CLASSIFICATION MOLÉCULAIRE DU CANCER DU SEIN*. 2009.
43. Bièche, I., *Biologie moléculaire des cancers*. . Immuno-analyse & Biologie spécialisée 2004. **19**: p. 13–22.
44. Tirkkonen, M., et al., *Molecular cytogenetics of primary breast cancer by CGH*. Genes Chromosomes Cancer, 1998. **21**(3): p. 177-84.
45. Wang, S.C. and M.C. Hung, *HER2 overexpression and cancer targeting*. Semin Oncol, 2001. **28**(5 Suppl 16): p. 115-24.
46. Lacave.R, L.C.J., Robert .J., Cancerologie Fondamentale. , 2005: p. 197.
47. Reis-Filho, J.S., et al., *Cyclin D1 protein overexpression and CCND1 amplification in breast carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridisation analysis*. Mod Pathol, 2006. **19**(7): p. 999-1009.
48. Wooster, R., et al., *Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13*. Science, 1994. **265**(5181): p. 2088-90.

49. Monteiro, A.N., *BRCA1: the enigma of tissue-specific tumor development*. Trends Genet, 2003. **19**(6): p. 312-5.
50. Prives, C. and P.A. Hall, *The p53 pathway*. J Pathol, 1999. **187**(1): p. 112-26.
51. Tavassoéli.F, D.P., *Tumors of the breast and femal genital organs*. Pathology and genetics., 2003.
52. Tommiska, J., et al., *ATM variants and cancer risk in breast cancer patients from Southern Finland*. BMC Cancer, 2006. **6**: p. 209.
53. DeRisi, J., et al., *Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer*. Nat Genet, 1996. **14**(4): p. 457-60.
54. Sherlock, G., et al., *The Stanford Microarray Database*. Nucleic Acids Res, 2001. **29**(1): p. 152-5.
55. Golub, T.R., et al., *Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring*. Science, 1999. **286**(5439): p. 531-7.
56. Easton, D.F., et al., *Breast cancer risks for BRCA1/2 carriers*. Science, 2004. **306**(5705): p. 2187-91; author reply 2187-91.
57. Easton, D.F., et al., *Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk*. N Engl J Med, 2015. **372**(23): p. 2243-57.
58. Bonaiti, B., et al., *[A new scoring system for the diagnosis of BRCA1/2 associated breast-ovarian cancer predisposition]*. Bull Cancer, 2011. **98**(7): p. 779-95.
59. Tazi, M., *Registre des Cancers de Rabat. Incidence des Cancers à Rabat.*, 2005-2007.
60. Brose, M.S., et al., *Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program*. J Natl Cancer Inst, 2002. **94**(18): p. 1365-72.
61. Antoniou, A., et al., *Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies*. Am J Hum Genet, 2003. **72**(5): p. 1117-30.

62. Liede, A. and S.A. Narod, *Hereditary breast and ovarian cancer in Asia: genetic epidemiology of BRCA1 and BRCA2*. Hum Mutat, 2002. **20**(6): p. 413-24.
63. Carroll, J.C., et al., *Hereditary breast and ovarian cancers*. Can Fam Physician, 2008. **54**(12): p. 1691-2.
64. Tazzite, A., et al., *BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Moroccan breast/ovarian cancer families: novel mutations and unclassified variants*. Gynecol Oncol, 2012. **125**(3): p. 687-92.
65. Easton, D.F., et al., *Genetic linkage analysis in familial breast and ovarian cancer: results from 214 families. The Breast Cancer Linkage Consortium*. Am J Hum Genet, 1993. **52**(4): p. 678-701.
66. Syrjakoski, K., et al., *Population-based study of BRCA1 and BRCA2 mutations in 1035 unselected Finnish breast cancer patients*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(18): p. 1529-31.
67. Struewing, J.P., et al., *The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals*. Nat Genet, 1995. **11**(2): p. 198-200.
68. Uhrhammer, N., et al., *BRCA1 mutations in Algerian breast cancer patients: high frequency in young, sporadic cases*. Int J Med Sci, 2008. **5**(4): p. 197-202.
69. Troudi, W., et al., *Contribution of the BRCA1 and BRCA2 mutations to breast cancer in Tunisia*. J Hum Genet, 2007. **52**(11): p. 915-20.
70. King, M.C., J.H. Marks, and J.B. Mandell, *Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2*. Science, 2003. **302**(5645): p. 643-6.
71. Goelen, G., et al., *High frequency of BRCA1/2 germline mutations in 42 Belgian families with a small number of symptomatic subjects*. J Med Genet, 1999. **36**(4): p. 304-8.
72. Laraqui, A., et al., *Mutation screening of the BRCA1 gene in early onset and familial breast/ovarian cancer in Moroccan population*. Int J Med Sci, 2013. **10**(1): p. 60-7.

73. Cherbal, F., et al., *BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast/ovarian cancer families*. Dis Markers, 2010. **28**(6): p. 377-84.
74. Mahfoudh, W., et al., *Hereditary breast cancer in Middle Eastern and North African (MENA) populations: identification of novel, recurrent and founder BRCA1 mutations in the Tunisian population*. Mol Biol Rep, 2012. **39**(2): p. 1037-46.
75. Moller, P., et al., *Genetic epidemiology of BRCA1 mutations in Norway*. Eur J Cancer, 2001. **37**(18): p. 2428-34.
76. Vallon-Christersson, J., et al., *Functional analysis of BRCA1 C-terminal missense mutations identified in breast and ovarian cancer families*. Hum Mol Genet, 2001. **10**(4): p. 353-60.
77. Williams, R.S. and J.N. Glover, *Structural consequences of a cancer-causing BRCA1-BRCT missense mutation*. J Biol Chem, 2003. **278**(4): p. 2630-5.
78. Williams, R.S., et al., *Detection of protein folding defects caused by BRCA1-BRCT truncation and missense mutations*. J Biol Chem, 2003. **278**(52): p. 53007-16.
79. Carvalho, M.A., et al., *Determination of cancer risk associated with germ line BRCA1 missense variants by functional analysis*. Cancer Res, 2007. **67**(4): p. 1494-501.
80. Easton, D.F., et al., *A systematic genetic assessment of 1,433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA1 and BRCA2 breast cancer-predisposition genes*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(5): p. 873-83.