الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى
كلية علوم الطبيعة و الحياة
المكتبة
رقم الجرد : 1804

Université de Jijel
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

جامعة جيجل
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes Supérieures en Biologie

Option : Biochimie

Intitulé

Les mutations génétiques comme cibles pour la détection précoce dans le diagnostic de cancer

Présenté devant le jury:
Examinateur : Mme Abdel Fettah Farida
Encadreur : Melle Bensam Moufida

Présenté par :
Boukerroum Amel
Bouhanouna soumia
Bouhnika Ibtissem

Année Universitaire : 2011- 2012

Remerciement

Nous remercions «Allah » qui nous a donné du courage et de la Volonté d'avoir réussi dans notre étude.

*Nous tenons à remercier notre encadreur **Bensam** qui nous a proposé ce sujet de recherche, et qui nous a encadré et surtout pour ses conseils, sa compréhension, sa gentillesse, ses encouragements et sa bibliographie.*

*Nous tenons à remercier Mme **Abdel Fettah Farida** qui fait l'honneur d'examiner et juger ce travail.*

*Nous remercions tous la famille **Bouhanouna, Bouhnika,** et **Boukerroum** et la famille en particulier pères et mères qui nous ont encouragées par tous les moyens, matériels et morales notamment par leur supplication.*

Nous voudrions remercier aussi toute personne qui a contribué de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire, et tous les enseignants de la biologie de l'université de Jijel.

Soumia, Amel, Ibtissem .

Merci à tous

Sommaire

Remerciement.....
Abréviations..... III
Listes de figures..... IV
Introduction..... 1
Chapitre I: mutation et cancer..... 2
1.1. Definition de la mutation 2
1.2. Les types des mutations 2
1.2.1. Mutations ponctuelles..... 2
1.2.1.1. Mutations par substitution 2
1.2.1.1.1. Mutations faux-sens 2
1.2.1.1.2. Mutations non-sens 3
1.2.1.1.4. Mutations neuters 3
1.2.2. Mutations avec changement du cadre de lecture (Mutations Frame shift) 3
1.2.3. Mutations chromosomiques 3
1.2.4. Mutations dynamiques 4
1.2.5. Mutations modulant l'expression du gène 4
1.2.6. Mutations somatiques ou germinates 5
1.3. Mutation et maladie 5
1.4. La relation entre les mutations et le cancer 5
1.5. Notions générales sur le cancer..... 6
1.6. Les principales classes des gènes de cancer 7
1.6.1. Les gènes suppresseurs de tumeures..... 7
1.6.2. Les oncogènes..... 7
1.6.3. Les gènes de réparation de l'ADN 7
1.7. La cancérogénèse 8
1.7.1. *Les* étapes de la Cancérogenèse 8
1.7.1.1. L'initiation 8
1.7.1.2. Promotion 8
1.7.1.3 Progression 8
1.7.1.3.1. Néoangiogenese 9
1.7.1.3.2. Invasion tumorale locale 9
1.7.1.3.3. Etablissement des métastases 9
Chapitre II: Les techniques utilisées dans la détection des mutations 11
2.1. La PCR (Polymérase Chain Réaction)..... 11
2.1.1. Le Principe 11
2.1.2. La méthode 11
2.2. Analyse de la conformation de l'ADN simple brin (SSCP) 13
2.2.1. Le Principe 13
2.2.2. La Méthode 13
2.3. Analyse des hétéroduplexe d'ADN (HA) 14
2.3.1. Le Principe et la méthode 14
2.4. L'électrophorèse en Gradient de Gel Dénaturant (DGGE) 15
2.4.1. Le principe et la méthode 15
2.5. Polymorphisme de Taille des Fragments De Restriction (RFLP) 16

2.5.1. Le principe..... 16
2.5.2. La méthode 17
2.6. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (DHPLC)..... 17
2.6.1. Le Principe et la méthode 17
2.7. Le Test de Troncation des Protéines (PT 17
2.7.1. Le principe 17
2.7.2. La méthode 17
2.8. Le Séquençage..... 18
2.8.1. Historique 18
2.8.2. Le séquençage selon la technique de Maxam et Gilbert 19
2.8.3. Le séquençage selon la technique de Sanger..... 21
Chapitre III: Cancer du sein..... 22
3.1. Définition du cancer du sein..... 22
3.2. Epidémiologie..... 22
3.3. Risque génétique 23
3.3.1. Cancer du sein familial 23
3.3.1.1. Définition 23
3.3.1.2. Caractéristique du cancer du sein familial 23
3.3.2. Cancer du sein héréditaire 23
3.3.2.1. Définition 24
3.3.2.2. Caractéristique du cancer du sein héréditaire 24
3.3.3. Cancer sporadique 24
3.4. Les facteurs de risques 25
3.5. Prédispositions génétiques au cancer du sein 26
3.5.1. Le gène BRCA1 27
3.5.2. Le gène BRCA2 27
3.5.3. Rôles fonctionnels de BRCA1 et BRCA2 28
3.5.4. Mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 28
3.5.5. Tests de diagnostic précoce du cancer de sein 29
3.5.6. La diversité des techniques utilisées dans la détection des mutations dans les gènes de BRCA 30
3.5.7. Prévention et les options de la réduction des risques du Cancer de sein 30
3.5.7.1. Chirurgie prophylactique 30
3.5.7.2. Chémoprevention 31
3.5.7.3. Changements de style de vie 31
Conclusion..... 32
Réferences bibliographiques..... 33
Glossaire.....

Abréviations

A : Adénine.
ADN: Acide Désoxyribonucléique.
AH : Analyse des Hétéroduplexe (Analyse des Hétéroduplexe d'ADN).
ASCO : Société Américaine de l'Oncologie Clinique.
BRCA: Breast Cancer Genes.
BRCA1: Breast Cancer Gene 1.
BRCA2: Breast Cancer Gene 2.
BRCT: BRCA1 Carboxyl-Terminus.
C: Cytosine.
ddNTP: 3'-didésoxynucléotide-5'-triphosphate.
DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (L'Electrophorèse en Gradient de Gel Dénaturant).
DHPLC: Dénaturation High Performance Liquid (Chromatographie Liquide à Haute Performance).
dNTP: désoxynucléotide-5'-triphosphate.
G : Guanine.
HRT : Hormone Replacement Therapy (Thérapie de Remplacement d'Hormone).
Kb : Kilo Base.
NES : Nuclear Export Sequence (Séquence d'Export Nucléaire).
NLS : Nuclear Localization Sequence (Séquence de Localisation Nucléaire).
P53 : Protéine 53.
Pb : Paire de Base.
PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne).
PTT: Protein Troncation Test (Test de Troncation des Protéines).
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de Taille des Fragments De Restriction).
SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Simple Nucléotide Polymorphisme).
SSCP: Single Strand Conformational Polymorphism (Analyse de la Conformation de l'ADN Simple Brin).
T : Thymine.
Tm : Melting Temperature (Température de Fusion).
UV : Ultraviolet.

Liste des figures

Figure		Page
Fig. 1.1.	Mutation chromosomique.....	**04**
Fig. 1.2.	Mutagénèse et cancérogénèse.....	**06**
Fig. 1.3	Les étapes de la cancérogenèse.....	**10**
Fig. 2.1.	Les déférentes étapes de la PCR.....	**12**
Fig. 2.2.	Le principe de SSCP.....	**14**
Fig. 2.3.	Principe d'analyse des hétéroduplexe HA.....	**15**
Fig. 2.4.	Principe générale de DGGE.....	**16**
Fig. 2.5.	Les déférentes étapes de la PTT.....	**18**
Fig. 2.6.	Le séquençage selon Maxam et Gilbert.....	**20**
Fig. 2.7.	Le séquençage selon la technique de Sanger.....	**21**
Fig. 3.1.	Taux d'incidences et de mortalité, de cancer de sein Femelle dans les pays choisi.....	**23**
Fig. 3.2.	Pourcentage des mutations de quelque gène de cancer.....	**24**
Fig. 3.3.	Elément structuraux de protéine BRCA1.....	**27**
Fig. 3.3.	Elément structuraux de protéine BRCA2.....	**28**

Introduction

Introduction

Le génome humain présente un remarquable degré de variations génétiques. Ce phénomène peut être observé pour des caractères comme la taille, la pression artérielle et la couleur de la peau, entrent également dans le cadre de la variation génétique des états pathologique.

La fonction primaire de l'ADN est de stocker l'information pour la synthèse des protéines cellulaires. Un aspect principal du processus d'expression des gènes est que l'ADN elle-même ne change pas normalement. Ceci permet à l'ADN de fonctionner comme unité de mémoire permanente.

La totalité des phénomènes de variation génétique a pour origine, un phénomène connu sous le terme de mutation, qui est définit comme une altération du matériel génétique qui entraine une modification durable de certains caractères du fait de la transmission héréditaire de ce matériel génétique de génération en génération.

Dans le cas de cancer (par exemple le cancer du sein) les mutations souvent touchent les gènes qui règlent la division cellulaire (gènes suppresseurs de tumeur, oncogènes et les gènes de la réparation de l'ADN) de telles mutations confèrent souvent la capacité pour que les cellules se développent de manière incontrôlée menant au développement de tumeur (étapes de cancérogenèse).

La détection précise de ces mutations les plus fréquentes représente une étape essentielle de la biologie moléculaire, en utilisant plusieurs techniques telle la PCR, HA, SSCP, RFLP, PTT et le séquençage. Ces techniques présentent l'avantage de permettre la détection précoce de cancer afin de diminuer la mortalité, voire l'incidence du cancer. Le résultat de ces testes est de séparer les personnes porteurs du cancer, et également de préciser les méthodes de prévention (la chirurgie prophylactique, le chimoprévention, et modification de style de la vie).

L'objectif de ce travail est de montres le rôle des mutations dans le développement de cancer, et de présenter les différentes techniques moléculaire utilisées dans la détection précoce des mutations, dans les gènes de cancer, en prend comme exemple le cancer du sein, le carcinome le plus fréquent chez les femmes et la première cause de décès dans le monde entier, en montrant le rôle des gènes BRCA1et BRCA2 dans le développement de cancer du sein.

Chapitre 01

Mutations et cancer

1.1. Définition de la mutation

La mutation est une altération du matériel génétique d'une cellule ou d'un virus qui entraine une modification durable de certains caractères du fait de la transmission héréditaire de ce matériel génétique de génération en génération. Cette altération du matériel génétique est résulter soit spontanément lors de la division cellulaire, soit sous l'influence d'agents extérieures appelés mutagènes, ce gène ainsi modifié est transmis aux cellules filles [1].

Certaines mutations n'ont aucune conséquence sur la cellule, d'autres sont la première étape d'un long processus de cancérogénèse. Ainsi le cancer est considéré comme une maladie génétique puisqu'il début l'échelon d'un gène à l'intérieure d'une cellule [2].

Tout simplement une mutation est une altération des nucléotides qui constituent un gène. Elle peut prendre la forme du remplacement d'un nucléotide par un autre, ce qui entraine la substitution d'un acide aminé par un autre sur la chaine protéique qui en résulte. Donc tout changement affectant la séquence des nucléotides est une mutation [1].

1.2. Les types des mutations

On peut distinguer plusieurs types des mutations.

1.2.1. Mutation ponctuelles

Les mutations ponctuelles ou microlésion de l'ADN se distinguent selon leurs conséquences sur les protéines. Il s'agit de substitutions, de suppressions ou d'additions de bases. Ces mutations découlent de mécanismes divers. Par exemple, la désamination d'une cytosine méthylée conduit à la formation d'une thymine : C $\longrightarrow$ T sur le brin sens et changement de la base complémentaire sur l'autre brin : G $\longrightarrow$A [3].

1.2.1.1. Mutations par substitution

1.2.1.1.1. Les mutations faux-sens

Cette mutation ponctuelle se traduit par le remplacement d'un nucléotide par un autre Dans certains cas, ce changement entraine une modification de l'acide aminé codé, laquelle peut avoir ou non une répercussion sur la fonction de la protéine produite par le gène, dans le cas d'un gène codant, ou sur l'affinité pour un facteur de transcription, dans le cas d'une zone promotrice de l'ADN. Par exemple, TGT (Cys) $\longrightarrow$TCT (Ser) [4].

- On parle de mutation de **transition** lorsqu'il y a substitution d'une base purique à une autre base purique (A $\longleftrightarrow$G) ou d'une base pyrimidique à une autre pyrimidique (T $\longleftrightarrow$C).
- Une mutation de **transversion** est une mutation causé par le remplacement d'une base purique par une base pyrimidique (ou d'une base pyrimidique par une base purique). Par exemple, (A$\longleftrightarrow$C) [4].

1.2.1.1.2. Les Mutations non-sens

Elles surviennent lorsqu'une modification d'un seul nucléotide altéré le codon et produit un codon stop prématuré, ces mutations produisent des protéines non –fonctionnelles (tronquées) qui sont instables et rapidement dégradées. Par exemple, TAC (Tyr)$\longrightarrow$ TAA (stop) [5]. Si la mutation non-sens est localisée à proximité de l'extrémité N –terminal, il est peu vraisemblable

que l'extrémité C-terminal, la chaine polypeptidique incomplètement synthétisée put tout à fait accomplir partiellement la fonction d'origine [6].

1.2.1.1.3. Les mutations silencieuses

Ce sont des mutations qui ne modifient pas la séquence d'une protéine, nombreux acide aminé sont codés par plusieurs codons. La différence entre les différents codons d'un acide aminé porte sauve sur la troisième position, où U, G, C, ou A peuvent être présent sans que cela altère la spécificité du codon. Une mutation silencieuse n'a aucun impact sur la fonction de la protéine. Par exemple, CCT (Pro) ——→CCC (Pro) [7].

1.2.1.1.4. Les mutations neutres

La substitution d'une paire de base change l'acide aminé spécifie par le codon de l'ADN, mais le nouvel acide aminé possède des propriétés physico-chimiques semblables à celles de l'acide aminé original [6].

1.2.2. Mutations avec changement du cadre de lecture (Mutations Frame shift)

Elles sont dues à l'insertion ou à la délétion d'une ou de plusieurs bases qui entrainent un décalage dans la lecture de triplets [5]. Ces mutations produisent des protéines non fonctionnelles parce qu'elles modifient tous les acides aminés venant après de délétion ou d'insertion [4].

1.2.3. Les mutations chromosomiques

Les mutations germinales augmentent avec l'âge, ont acquis un chromosome supplémentaire cela concerne un grand nombre de nucléotides dans l'ADN de telle sorte que la mutation est observable lorsqu'on fait un caryotype [8] :

- **Duplication :** un segment d'ADN de longueur variable est représenté deux fois dans le chromosome.
- **Translocation :** c'est le transfert d'une partie de chromosome, provenant de la cassure d'un premier chromosome, sur un second chromosome. C'est l'anomalie chromosomique la plus fréquente, notamment dans le cancer [9].
- **Inversion :** c'est l'inversion d'une partie du chromosome. si la partie qui est inversée contient le centromère on parle d'inversion péricentrique.
- **Délétion :** c'est la perte d'un segment de chromosome.
- **Insertion :** des bases surnuméraires sont insérées. les nucléotides insérés viennent en générale d'un autre chromosome. leur étendue est variable [1].

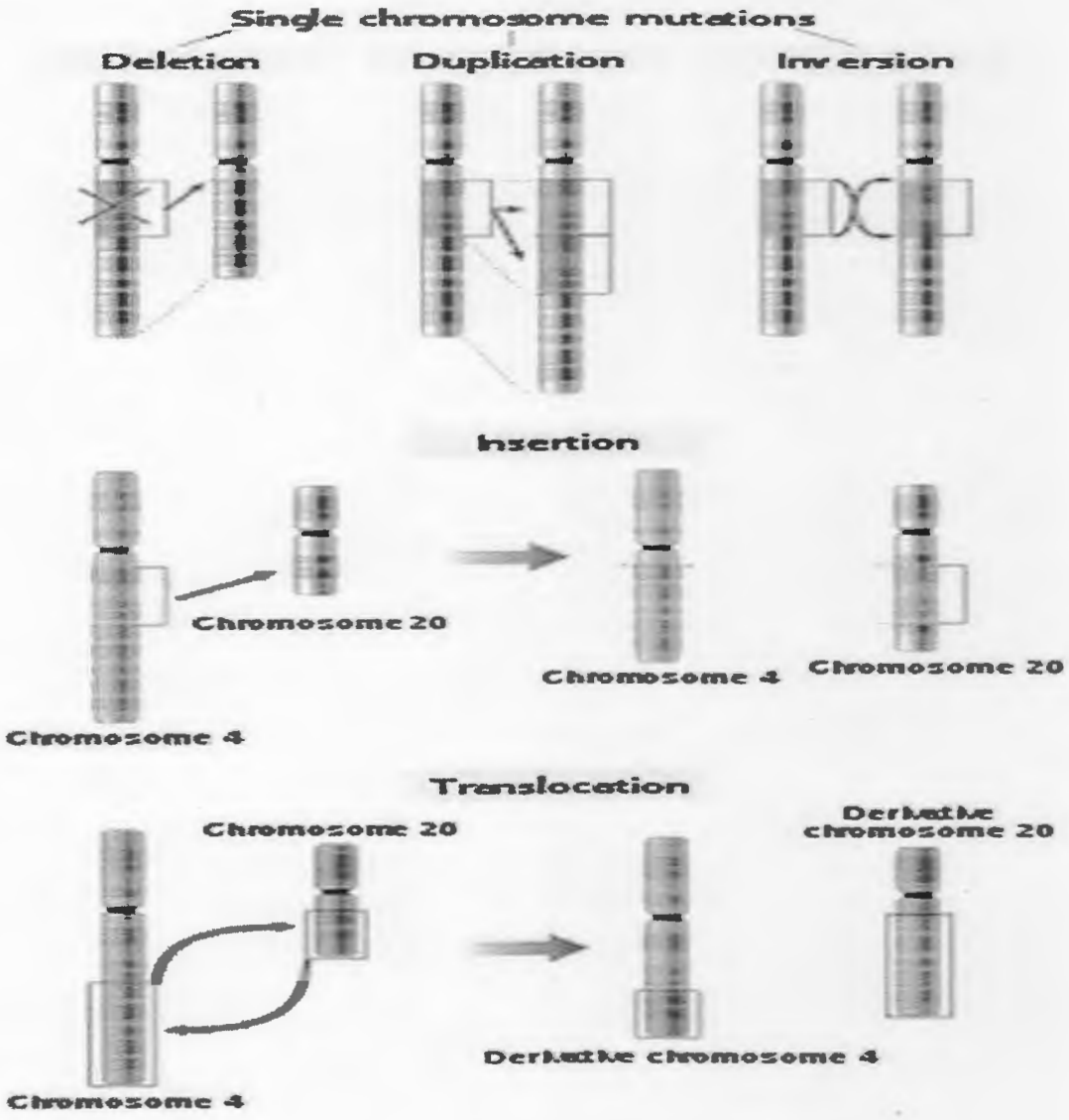

Fig. 1.1. Mutation chromosomique [1].

1.2.4. Mutations dynamiques

Ces mutations évoluent d'une génération à l'autre, elles correspondent à des répétitions importantes de certains triplets au niveau de l'ADN (CAG et GGG). Elles sont rencontrées dans certaines maladies génétiques [7].

1.2.5. Mutations modulant l'expression du gène

Il s'agit des mutations qui touchent les régions régulatrices du gène : promoteur, codon d'initiation, site de polyadénylation. A cause de ces mutations, le gène peut ne plus synthétiser la protéine ou bien il y une synthèse insuffisante [1].

1.2.6. Mutations somatiques ou germinales

- Mutation germinale : c'est une mutation porté sur l'ADN des cellules souches d'un gamète (des spermatozoïdes des ovules).
- Mutation somatique : c'est une mutation qui ne touchent pas les cellules destinée à la reproduction, elles ne seront donc jamais héréditaire. ces dernières peuvent dans certains cas evoluer en cellules tumorales puis en cancer.

Chez les animaux pluricellulaires, les mutations de la lignée germinale peuvent être transmises à la descendance, contrairement aux mutations somatiques [10].

1.3. Mutation et maladie

On de vise traditionnellement les mutations peuvent être somatiques ou germinales. Les mutations somatiques provoquent des pièces rapportées de tissu de mutant dans les individus, qui s'appellent les mosaïques. A moins que la mutation affecte la morphologie ou la pigmentation de la peau, les mutations somatiques vont habituellement non détectées. La taille et la forme d'une pièce rapportée de mutant dépend de l'étape du développement quand la mutation s'est produite. Les mutations germinales sont héréditaires et peuvent être passées et seront présentes en chaque cellule descendance résultante qui devient alors un porteur de la mutation et peuvent alternativement passer la mutation dessus aux générations suivantes [11].

Chez l'homme et autres organismes supérieures mutations d'ADN jouent un rôle significatif dans le développement de la maladie. Spécifiquement, la mutation est la cause fondamentale dans les maladies génétiques telles que l'hémophilie et la fibrose cystique et contribue également au développement du cancer. Les maladies génétiques sont provoquées par les mutations qui sont héritées et sont passées à des parents à la descendance ; elles impliquent habituellement la mutation dans un gène simple. Les mutations liées au développement du cancer se produisent en cellules somatiques. Les cancers se développent souvent en association avec des mutations dans les gènes qui règlent la division cellulaire. De telles mutations confèrent souvent la capacité pour que les cellules se divisent de la manière non contrôlée menant au développement de la tumeur [12].

1.4. La relation entre les mutations et le cancer

La molécule d'ADN est une structure dynamique sujette à de constants changements. Ces variations sont consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques (UV, radiations ionisantes, produits chimiques) qualifiés de génotoxiques. La plupart de ces dommages génétiques sont réparés et sans conséquence. Quelquefois, si le dommage est trop important, les capacités de réparation de la cellule sont dépassées et la cellule peut mourir (par exemple par l'apoptose). Cependant, des agressions répétées sur le génome augmentent la probabilité de survenue de lésions irréversibles (mutations) et peuvent être à l'origine de l'initiation d'un processus cancérogène [13].

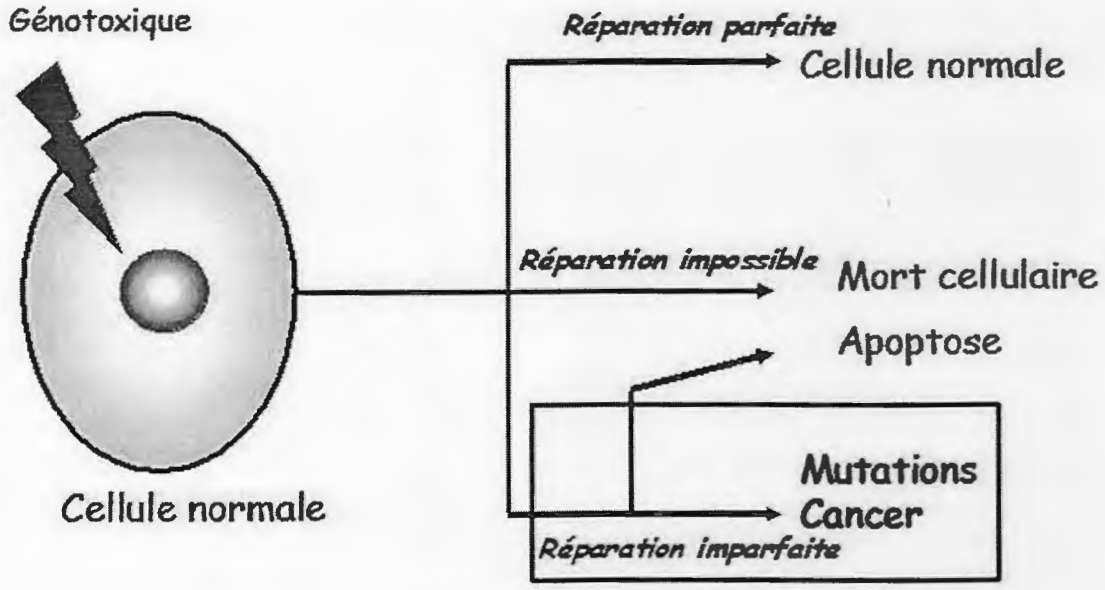

Fig. 1.2. Mutagenèse et cancérogenèse [13].

La transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse requiert plusieurs mutations spécifiques. Certains syndromes d'instabilité génétique sont associés à un accroissement sévère du risque de cancer (exemple du xenoderma pigmentosum associant une hypersensibilité aux UV du fait d'une incapacité de l'ADN à réparer les lésions secondaires au rayonnement solaire et de cancers cutanés multiples) [13].

1.5. Notions générales sur le cancer

Le cancer est une maladie de l'ADN qui résulte de l'accumulation d'événements mutationnels successifs ; des mutations germinales ou acquises altèrent le fonctionnement normal de certains gènes [14]. Les tumeurs malignes ou cancers résultent d'une croissance anormale et anarchique de la cellule normale dans l'organisme. Cette prolifération cellulaire aboutit à la formation d'une masse tumorale ou néoplasie maligne. Celle-ci détruit le tissu normal et envahi les tissus environnants et peut donner des métastases à distance. En absence de traitement, le cancer finit par provoquer la mort du patient [15].

Dans certains pays, le cancer constitue l'une des causes majeures de décès dans la société. La connaissance des mécanismes de survenue du cancer et son dépistage précoce, permettent une meilleure prise en charge du patient, et augmentent ses chances de survie.

Avant l'avènement des outils du génie génétique, les recherches sur les cancers étaient essentiellement axées sur les facteurs étiologiques comme le tabac, les substances chimiques toxiques, les infections virales, les rayonnements solaires ultraviolets et les radiations ionisantes, et il était inconcevable de considérer le cancer comme maladie génétique. Actuellement plusieurs arguments ont permis de mettre en cause les gènes dans l'apparition du cancer comme la présence d'anomalies spécifiques du nombre et de la structure des chromosomes dans les cellules tumorales et, la récurrence du même type d'aberrations chromosomiques dans le même type de tumeur [16].

La majorité des facteurs étiologiques agissent en provoquant une mutation dans l'ADN des cellules qui se transforment en cellules malignes. Enfin certaines familles sont particulièrement prédisposées à certaines formes de cancer. On reconnait actuellement une origine génétique pour la majorité des cancers.

Pour certains cancers les mécanismes moléculaires intimes ont été décryptés. Ces mécanismes ne sont pas identiques pour toutes les tumeurs. Les recherches sur le cancer retrouvent souvent une anomalie d'un ou de plusieurs des « gènes du cancer ›› Il s'agit des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Les deux types de gène ont des effets opposés au cours de la carcinogenèse. Les oncogènes facilitent la transformation maligne tandis que les gènes suppresseurs de tumeur, empêchent le développent de la tumeur [1].

1.6. Les principales classes des gènes de cancer

Les gènes du cancer peuvent être classés en trois catégories principales ceux qui inhibent normalement la prolifération cellulaires (suppresseurs de tumeurs) ceux qui activent la prolifération cellulaires (oncogènes) et ceux qui participent à la réparation de l'ADN.

1.6.1. Les gènes suppresseurs de tumeur

Les gènes suppresseurs de tumeurs ou antioncogène sont des gènes du métabolisme cellulaire, Qui codent pour des protéines qui participent principalement soit au contrôle négatif de cycle cellulaire (consiste à limiter la croissance des tissus). Soit au contrôle positif de l'apoptose, Leur rôle peut aussi consister à assurer de bonnes connections entre cellules. L'adhésion cellulaire étant un facteur majeur du maintien de l'homéostasie, on admet que sa perturbation favorise considérablement la survenue des cancers.

Un autre rôle est celui de la réparation de lésions de l'ADN. Une déficience dans cette fonction n'a pas d'effet oncogène direct, mais permet l'accumulation de mutations dont certaines à caractère oncogène. Maintenant que les principales causes de prédispositions génétiques au cancer sont identifiées, il est clair que ce sont presque exclusivement les mutations de gènes suppresseurs de tumeurs qui sont en cause. Dans un cancer développé chez un sujet prédisposé génétiquement, les deux allèles du gène en cause sont altérés. L'une des altérations est héritée, l'autre est acquise. Ainsi, le trait de prédisposition apparaît comme dominant, mais pour qu'un cancer se développe chez l'individu prédisposé, il faut que le second allèle du gène en cause soit touché dans une cellule. L'expression cellulaire de la mutation est donc récessive [17].

1.6.2. Les oncogènes

Un oncogène est en général un gène du métabolisme cellulaire normal, appelé protooncogène, dont la fonction a été fortement activée (régulation positif de la prolifération cellulaire), ou modifiée par mutation ou réarrangement. Sa mutation est d'expression dominante, et donc il suffit qu'un seul des deux allèles du gène soit touché pour que le caractère oncogène se manifeste [18].

1.6.3. Les gènes de réparation de l'ADN

Il existe dans les cellules des systèmes permettant de repérer les altérations génétique soit induite par les carcinogènes, soit survenant lors de la réplication normale de l'ADN. Lorsque ces systèmes sont défectueux. Il en résulte une accumulation de mutation pouvant toucher l'ensemble des génomes et notamment des gènes intervenant dans le contrôle de la prolifération cellulaires [18].

1.7. La cancérogénèse

La cancérogénèse est un processus souvent long, liée à l'action répétée de facteurs extérieurs et individuelle qui s'accumulent en perturbant l'homéostasie cellulaire et conduisant en plusieurs étapes à l'apparition des cellules cancéreuses et leur développement.

Les premières étapes concernent la cancérogénèse à savoir action directe de la carcinogènes sur l'homéostasie cellulaire, ceci recouvre les stades de l'initiation et de la promotion tumorale. Les étapes suivantes ; à savoir l'évolution du processus tumoral vis-à-vis de l'organisme ; cela recouvre le stade de progression, durant ce stade s'établisse une prolifération cellulaire incontrôlée. Une neoangiogenese tumorale et une invasion locale avec dissémination hématogène et lymphatique [19].

1.7.1. Les étapes de la cancérogenèse

1.7.1.1. L'initiation

Les mécanismes moléculaires mis en jeu lors de l'étape de cancérogenèse font appel à de susceptibilité individuelle et d'interaction entre génome et environnement. Ils aboutissent à des gains ou pertes de fonction cellulaire qui bouleversent l'homéostasie cellulaire, ceci par l'activation ou dérépression d'un oncogène (mutation d'un allèle ou activation d'un allèle silencieux) ou par une perte de fonction d'un gène suppresseur (ce par mutation des deux allèles). Ces modifications et mutations génomiques étant associées ou non à des réarrangements chromosomiques se traduisent à terme par l'initiation ou la transformation cellulaire.

La transformation cellulaire comporte deux éléments majeurs, l'immortalisation et la perte d'homéostasie.

L'homéostasie est le résultat d'un équilibre entre les gènes inducteurs apoptotiques et Les gènes antiapoptotiquees qui sont des gènes qui physiologiquement permettent à la cellule de traverses des périodes de crise ou de stresse, l'immortalisation cellulaire peut être due à la perte du programme apoptotique ou à son non induction.

La perte de l'homéostasie conduit à la prolifération cellulaires qui peut être liée à la dérégulation du programme apoptotique et à la stimulation de la devisions cellulaire par des molécules spécifique : facteurs de croissance, récepteurs de facteurs de croissances, molécules permettant la transmission spécifique du signale mitotique intracellulaire et l'activation des gènes moléculaires. Les molécules de stimulation mutée ou dysrégulées sont de la classe des suppresseurs [19].

1.7.1.2. Promotion

L'étape de promotion est caractérisée par une amplification de la perte de l'homéostasie associée à une instabilité génomique qui se traduit par une perte de facteurs de protection (gènes suppresseurs) et augmentation des facteurs favorisant la progression [19].

1.7.1.3. Progression

Cela recouvre les étapes concernant l'évolution du processus tumorale avec le développement tumoral local qui peut être décrit en deux phases : une phase in situ puis une phase d'invasion ou s'enclenche l'ensemble des phénomènes (néoangiogenese et invasion tumorale) qui feront toute la gravité des processus tumoraux avec l'établissement possible des métastases [19].

1.7.1.3.1. Néoangiogenese

La néoangiogenese stromale est un phénomène capital pour permettre la croissance tumorale au-delà d'un sphéroïde de 2mm.
Le développement de cette néoangiogenese se fait à partir des capillaires préexistant par déstabilisation de ceux-ci sous stimulation par des facteurs de croissance angiogénique ces facteurs angiogéniques sont secrétés par les cellules tumorales mises en hypoxie du fait de leur croissance rapide autonome, les protéases et l'héparine secrétées par les cellules tumorales et stromales participent à la dégradation des glycoaminoglycanes constituant des membranes basales (dont la propriété est de stocker certains facteurs de croissances). La dégradation des glycoaminoglycanes par des héparines spécifiques, permet la libération et l'activation des facteurs de croissance angiogénique. Ce phénomène a été montré récemment comme affectant le système lymphatique (la néolymphoangiogénèse) [19].

1.7.1.3.2. Invasion tumorale locale

L'invasion tumorale locale met en jeu une coopération entre tumeur et microenvironnement. Les cellules tumorales sécrètent sous stimulations autocrines et paracrines de multiples protéases. L'environnement tumoral ou stroma interagit avec le processus tumoral non seulement par le développement de la neoangiogenese mais également par le déclenchement inapproprié, par le stroma, des mécanismes physiologiques de réparation tissulaire. Cette réaction stromale est caractérisée par l'activation et la synthèse de multiples protéases. Cet ensemble d'activité enzymatiques protéasiques (tumorale et stromale) permet la dissolution des matrices extra-cellulaires et de la trame stromale, et la migration des cellules tumorales non seulement à travers le stroma mais également dans les néocapillaires et lymphatiques péritumoraux [19].

1.7.1.3.3. Etablissement des métastases

L'établissement des métastases débute par la migration des cellules tumorales et leur pénétration dans la lumière des néocapillaires. Une fois dans la circulation, la majorité des cellules tumorales migrantes meurt suite à de multiples stress : frottement et pression mécanique, toxicité de la concentration en oxygène, agression par les acteurs de la défense immunitaire. Il est à noter que les cellules cancéreuses circulantes sont accompagnées de plaquettes et de polynucléaires, ce qui entraîne des réactions inflammatoires et d'éventuelles hypoplaquettoses sévères. Cependant, certaines cellules tumorales circulantes peuvent survivre à cet ensemble de stress, s'immobiliser dans des sites spécifiques et entreprendre la colonisation tissulaire après extravasation. L'arrêt des cellules cancéreuses circulantes fait appel à une reconnaissance spécifique entre cellules tumorales et certaines structures de surface des cellules endothéliales, via des molécules d'adhésion [19].

مكتبة الكلية

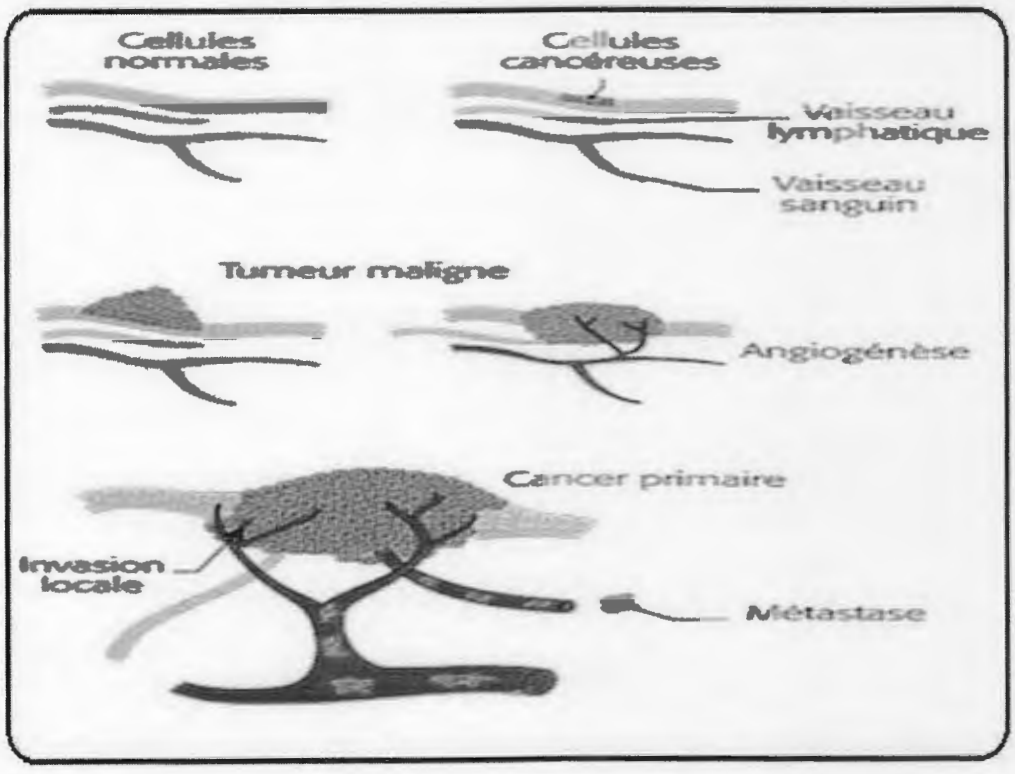

Fig. 1.3. Les étapes de la cancérogénèse [20].

Chapitre 02

Les techniques utilisées pour la détection des mutations

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

La détection des mutations dans l'ADN représente une étape essentielle de la biologie moléculaire, pour la recherche fondamentale comme pour les applications médicales [18].

Les techniques de biologie moléculaire présentent l'avantage de permettre l'étude du génome. Elles s'appuient sur quatre outils de base : des enzymes (polymérases, enzymes de restriction), l'hybridation moléculaire, l'électrophorèse et le séquençage. Les propriétés de ces techniques, dépendant aussi du matériel biologique étudié, elles présentent aussi diverses limites qu'il convient de connaître au mieux pour adapter cet outil à l'objectif recherché [21].

2.1. La PCR (Polymérase Chain Réaction)

La PCR est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985, par KARRY MULLIS (reçus le prix Nobel de chimie 1993). C'est une technique d'amplification génétique. En deux mots, c'est une réaction enzymatique qui permet de sélectionner puis d'amplifier en une très grande quantité un fragment d'ADN particulier, présent en très faible quantité au départ, parmi des millions d'autres fragments [7].

2.1.1. Le Principe

Le principe de la PCR est d'utiliser de façon répétitive l'activité d'une ADN polymérase pour copier la séquence d'ADN à amplifier, sous forme de brin complémentaire d'ADN servant de matrice [22].

2.1.2. La méthode

La PCR est une technique automatisée. En effet, elle se fait dans un thermocycleur. L'appareil contient un bloc chauffant où l'on insère les tubes contenant notre mélange pour la réaction de PCR et où la température peut varier très rapidement et très précisément de 0°C à 100°C. Le thermocycleur est alors programmé pour effectuer les différents cycles de la PCR. Ainsi, chaque cycle est composé d'une succession de paliers de température prédéterminée, et d'une durée bien définie. Ces deux paramètres, température et temps, dépendent de la taille de la séquence à amplifier de la taille et de la composition en désoxyribonucléotides des amorces. Chaque cycle est donc constitué de trois périodes différentes :

A. La dénaturation

La température dans le tube est réglée à 95°C. A ce moment-là, l'ADN se dénature. En effet, l'ADN perd sa structure caractéristique en double hélice, les liaisons hydrogène reliant les bases de chaque brin d'ADN étant instables à cette température. L'ADN double-brin est dénaturé en ADN simple brin [24].

B. L'hybridation

Ensuite la température est descendue à la température dite d'hybridation. Cette dernière est généralement comprise entre 50°C et 60°C et elle est fonction de la composition en désoxyribonucléotides (dATP, dTTP, dGTP, et dCTP) des amorces. Les amorces reconnaissent et se fixent à leurs séquences complémentaires en reformant des liaisons hydrogène. On dit que les amorces s'hybrident au brin d'ADN [25].

C. L'élongation

La température est réglée à 72°C, température idéale pour l'activité de la Taq polymérase. C'est une enzyme très spéciale, puisqu'elle est dite thermorésistante. En effet, sa température optimale d'action est de 72°C et elle est capable de résister à des températures allant jusqu'à 100°C. L'ADN polymérase (Taq polymérase) allonge les amorces en incorporant les dNTP complémentaires de la séquence de la matrice à la quelle est hybridée. La synthèse se fait dans le sens 5'⟶ 3'. A la fin du 1^{er}cycle, 2 copies de la séquence d'ADN sont obtenues. Un nouveau cycle commence par l'étape de dénaturation, suivie successivement des étapes d'hybridation et d'extension. A chaque cycle, correspond le doublement du nombre de copies de la séquence cible (amplification exponentielle). En général, 25 à 40 cycles sont effectués, générant en 1h 30 à 4h un nombre considérable de copies [26].

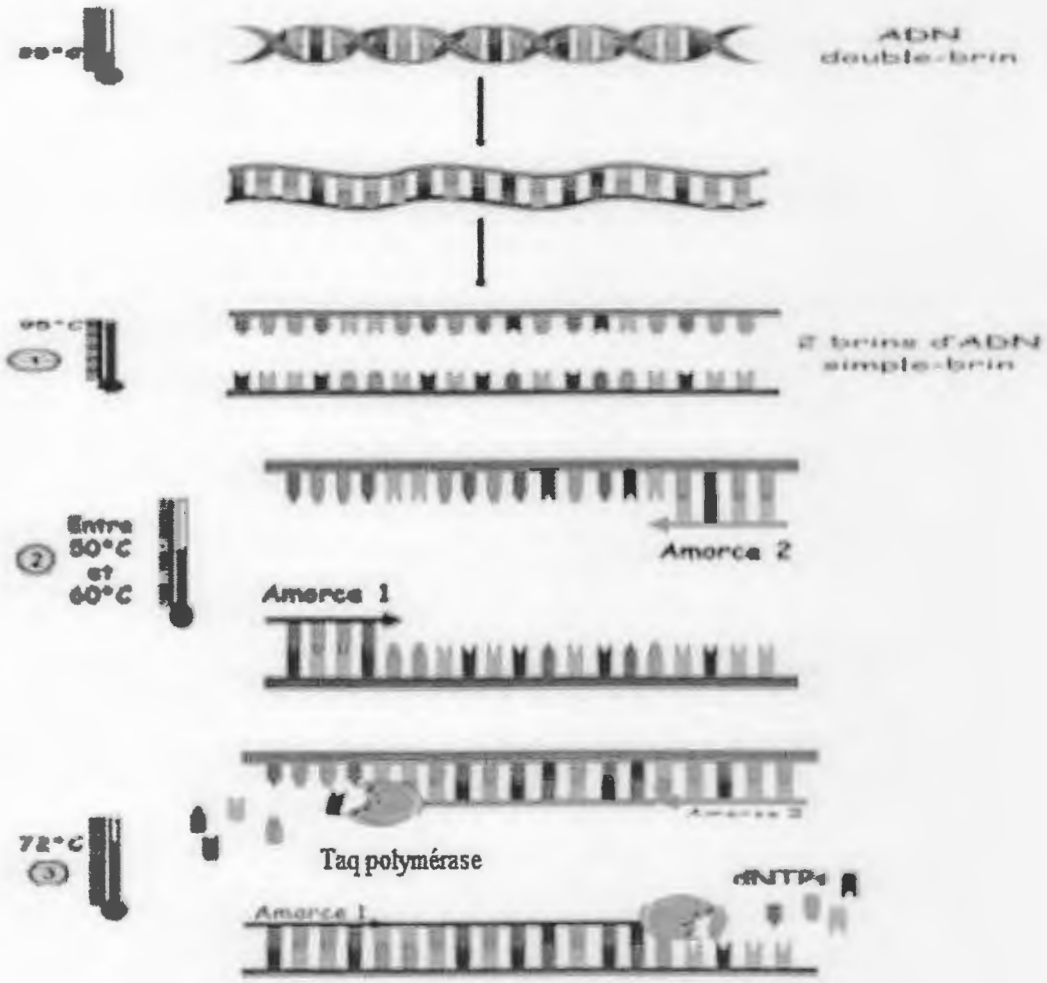

Fig. 2.1. les différentes étapes de la PCR [22].

2.2. Analyse de la conformation de l'ADN simple brin (SSCP)

2.2.1. Principe

Cette technique consiste à déposer en gel de polyacrylamide des fragments d'ADN préalablement dénaturés ; les deux molécules simples brin produites par la dénaturation de l'ADN bicaténaire adopte chacun en se renaturant en une structure secondaire qui est dépendante de leur séquence nucléotidiques. La SSCP est une méthode d'électrophorèse dont le but est de détecter d'éventuelles variations de séquence nucléotidique entre différentes individus [27].

2.2.2. Méthode

Après l'amplification par PCR de l'ADN de sujet atteintes et seins. Les produits de chaque réaction sont dénaturés ; refroidis rapidement et soumis à une électrophorèse. Après la dénaturation ; chaque molécule d'ADN simple brin adopte une conformation tridimensionnelle qui est fonction de sa séquence primaire en nucléotides. La conformation est le résultat d'appariements au sein de la chaine ainsi que de la formation d'autres liaisons. En raison de la complémentarité des bases ; les deux simples brins d'une molécule d'ADN doubles brins ont des séquences différentes ; et chacun manifeste une conformation tridimensionnelle différente.

La différente conformation migre à différente vitesses dans un gel pondant une électrophorèse. Il est ainsi possible de visualiser deux bandes par une coloration spécifique de l'ADN. Si deux molécules d'ADN d'origine différent, mais correspondant au même segment de gène, différent par une seule paire de nucléotide il est fort possible que les conformations des deux simples brins d'une même origine soit alors différentes de celles des deux brins de l'autre origine. En d'autre terme, chacun des quatre brins migrera durant l'électrophorèse à sa propre vitesse. Si l'on procédé à des comparaisons en plaçant coté à coté l'ADN des sujets atteints et sains, il sera facile de détecter des différences de migration entre les molécules d'ADN simple brin.

La technique SSCP permet la localisation d'une substitution de nucléotide dans une région spécifique ou dans un exon d'un gène, la nature de la mutation n'est pas élucidée par cette technique c'est le séquençage de l'ADN qui permet de l'obtenir. La technique SSCP détecte environ 90% de mutations ponctuelles dans des produits de PCR de taille égale ou inférieure à 200 pb [6].

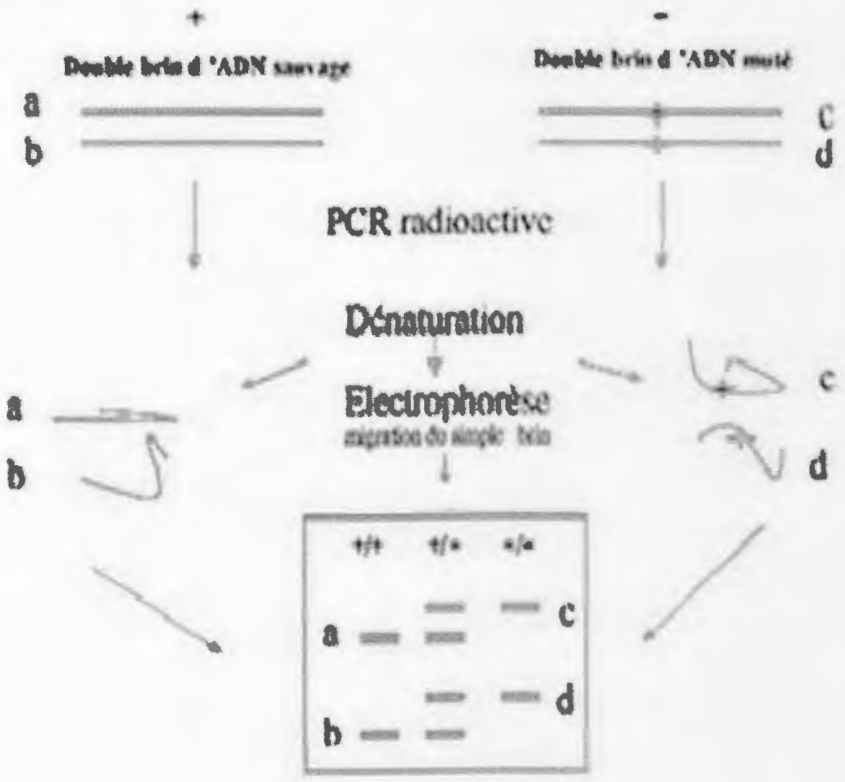

Fig. 2.2. Le principe de SSCP [6].

2.3. Analyse des hétéroduplexe d'ADN (HA)

2.3.1. Principe et la méthode

L'analyse de l'hétéroduplexe (HA) est une méthode simple généralement utilisée dans la détection des mutations. La technique est basée sur des différences de conformation de l'ADN bicaténaire provoquée par la formation des molécules de hétéroduplexe [28]. Un hétéroduplexe d'ADN est une molécule d'ADN double brin portant un mésappariement sur une ou quelques paires de nucléotides (un homoduplexe est une molécule d'ADN dépourvue de mésappariements). En principe, un seul mésappariement sur 300 Pb suffit à modifier la mobilité électrophorétique par rapport aux homoduplexe d'ADN, un mésappariement entraine une bulle qui déforme la molécule d'ADN, ce qui retard sa migration dans le gel. L'analyse des hétéroduplexe permet de détecter plus de 95 % des mésappariements ponctuels dans des fragments d'ADN de taille égale ou inférieure à 300 pb [6].

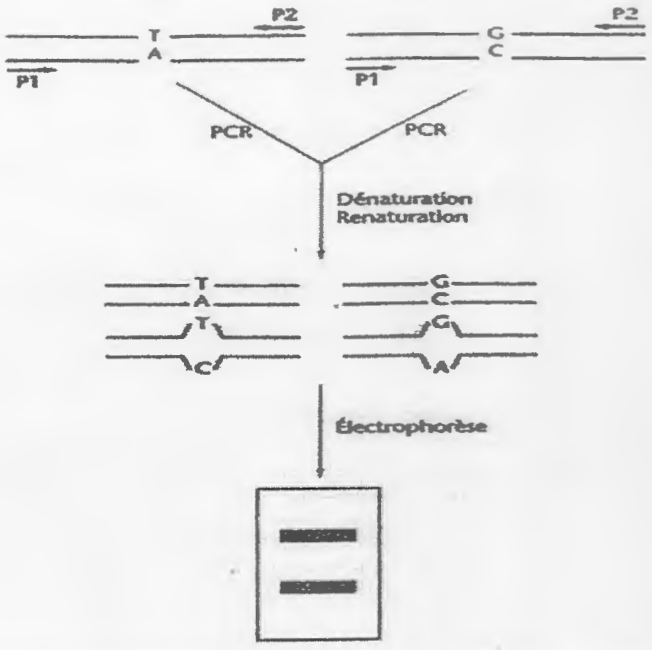

Fig. 2.3. Principe d'analyse des hétéroduplexe (HA) [6].

A : T d'une part, G : C d'autre part : sont amplifiés par la PCR à l'aide des mêmes amorces P1 et P2. Les produits de PCR sont mélangés, dénaturés puis renaturés. Il se forme des molécules d'ADN homoduplexe et hétéroduplexe. L'électrophorèse en gel sépare les molécules d'ADN hétéroduplexe (rectangle du haut) des homoduplexe (rectangle du bas) [6].

2.4. L'électrophorèse en gradient de gel dénaturant (DGGE)

2.4.1. Principe et la méthode

La température de fusion d'un ADN est fonction de sa séquence. Une mutation ponctuelle, qui modifie la séquence, entraine donc une modification de la température de fusion. Cette modification peut être mise en évidence par l'électrophorèse dans un gel de polyacrylamide dans lequel est établi un gradient d'agents dénaturants (urée et formamide). Le gel doit être thermostaté à une température qui est en général proche de 60^0C. Suivant la nature de la mutation par rapport à un ADN normal, la séparation des brins du ADN muté se produira pour une concentration soit plus faible, soit plus forte de l'agent dénaturant. Or la dénaturation, qu'elle soit partielle ou totale, provoque un ralentissement considérable de la molécule en électrophorèse. Il en résulte une différence de migration des bandes correspondant respectivement aux ADN normal et muté. La meilleure résolution est obtenue lorsque la séparation des brins n'est pas totale, la molécule ayant alors une structure en Y, ou en V ralentissant très fortement la migration. Il est rarement possible d'obtenir spontanément ces structures en Y ou en V. On les provoque artificiellement en ajoutant un clamp à l'une des extrémités du fragment que l'on analyse. Dans la technique originelle le clamp était constitué d'une séquence d'une quarantaine de G et C, donc très stable, appelée GC clamp [29].

Cette méthode est très sensible. Elle permet, en principe, de détecter très rapidement la quasi-totalité des variations de séquence. Elle ne nécessite pas d'isotopes radioactifs. Cependant

elle présente l'inconvénient de réclamer, pour chaque séquence explorée, une mise au point qui peut être longue. Son prix de revient est relativement élevé, du fait de la nécessité d'utiliser un oligonucléotide avec un GC clamp [29].

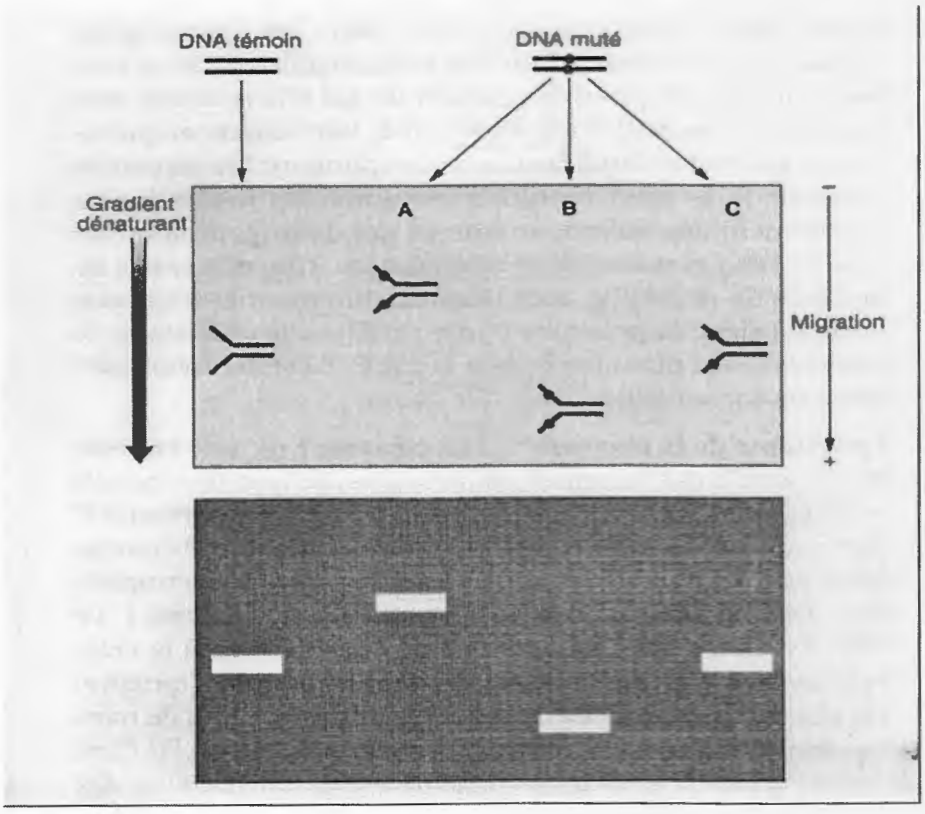

Fig. 2.4. Principe générale de la DGGE [29].

Une mutation peut entrainer l'une des trois conséquences suivantes :

- Elle perturbe un domaine de fusion en abaissant la Tm (cas A).
- Elle perturbe un domaine de fusion en augmentant la Tm (cas B).
- Elle ne perturbe pas sensiblement la Tm (cas C). Dans ce dernier cas on peut sensibiliser la méthode par l'incorporation d'une pince GC (GC clamp) [29].

2.5. Polymorphisme de taille des fragments de restriction (RFLP)

2.5.1. Principe

L'une des premières approches utilisées pour la détection de la variation génétique au niveau de l'ADN, s'est appuyée sur l'existence d'enzymes bactériennes connues sous le nom d'endonucléase de restriction ou enzymes de restriction. Ces enzymes sont produites par différente espèces de bactéries afin de (restreindre). La pénétration d'ADN étranger dans la bactérie par coupure ou clivage de l'ADN au niveau de séquences porte le nom de sites de reconnaissance [18].

2.5.2. Méthode

La RFLP est employé pour la détection de SNP (*single nucléotide polymorphisme*) et de VNTR (*minisatellaite variable tandom repeat*) dans l'ADN génomique. Dans le passé, l'ADN a été digéré par des endonucléases de restriction, électrophorèse et a sondé pour des séquences spécifiques par southern blot. Récemment, une technique relative s'appliquant RFLP à l'ADN amplifiée par PCR (PCR-RFLP) est une méthode généralement utilisée pour la détection des mutations de point en raison de sa simplicité. Quelques mutations peuvent produire ou enlever un site de RFLP. Il est donc facile d'identifier leur présence par l'amplification de PCR de la séquence d'intérêt contenant la mutation dont la présence ou l'absence doit être examinée. Après amplification le produit de PCR est soumis à l'action d'une enzyme d'endonucléase. La visualisation sur le gel indique la présence ou l'absence de la mutation [30].

2.6. La chromatographie liquide à haute performance (DHPLC)

2.6.1. Principe et la méthode

DHPLC est la chromatographie liquide adaptée pour l'identification de polymorphisme de SNP type. En 1993, Huber et autres ont été développés la DHPLC comme une méthode à l'haute résolution de chromatographie pour la séparation des fragments de l'ADN double brin. En 1995, Oefner et Underhill ont démontré la détection de mutation en utilisant DHPLC [31]. Il est rapidement apparu clairement que DHPLC a une meilleure sensibilité pour détecter les substitutions simples de nucléotide dans les hétéroduplexes que des méthodes telles que SSCP, HA, et DGGE. Après dénaturation et renaturation des produits de PCR de l'ADN de sauvage-type et de mutant, la variation de séquence crée une population de mélange des homoduplexes et des hétéroduplexes. L'échantillon élué dans une colonne hydrophobe, les hétéroduplexes s'élus de la colonne plus tôt que les homoduplexes en raison de leur température de fusion réduite [32]. Les avantages de DHPLC incluent un système automatisé de chromatographie avec la durée de l'analyse rapide relativement, aucun besoin de marquage radioactif, et la très bonne sensibilité et spécificité [33].

2.7. Le test de troncation des protéines (PTT)

2.7.1. Principe

Le test de troncation des protéines s'avère particulièrement précieux pour la détection spécifique des mutations non-sens ou qui décalent le cadre de lecture de l'ARNm et provoquent une terminaison de traduction prématurée [34].

2.7.2. Méthode

Une mutation qui transforme un codon avec sens en codon stop conduit à une protéine tronquée après la traduction. La technique PTT (*Protein Truncation Test*) est basée sur cette donnée. Le segment d'ADN où l'on souhaite rechercher une mutation non-sens est amplifié par la PCR. Un promoteur pour une ARN polymérase est ajouté à l'extrémité 5' d'un des deux oligonucléotides. Une transcription est ensuite réalisée à partir du produit d'amplification en utilisant l'ARN polymérase dont le promoteur a été ajouté au segment d'ADN au cours de la PCR. L'ARN ainsi produit est traduit en utilisant un système de traduction in vitro. La taille du polypeptide ainsi traduit est analysée par électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE). Toute mutation non-sens conduit à un polypeptide plus court, donc à une band migrant plus rapidement en électrophorèse.

La technique est lourde mais sensible. Elle n'a d'intérêt que dans les maladies où les mutations non-sens sont très largement prédominantes, comme dans certain cancer héréditaire [29].

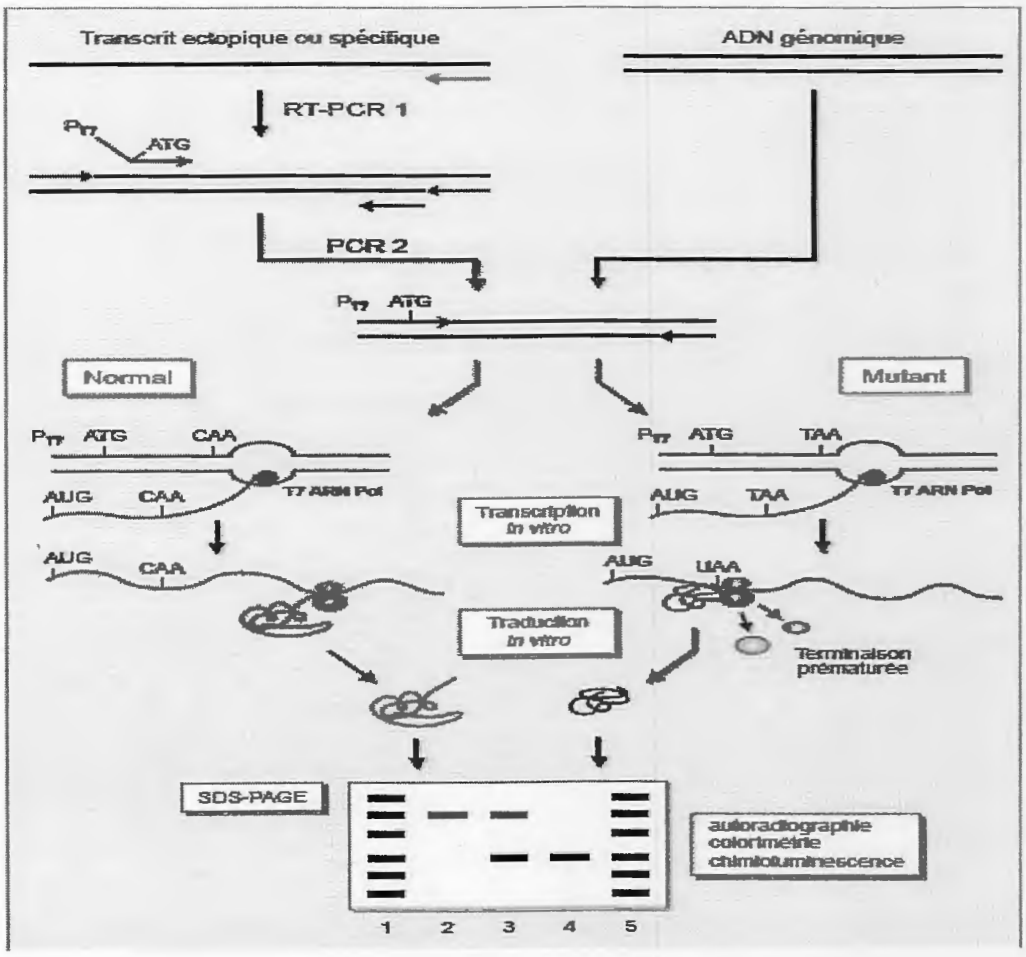

Fig. 2.5. Les différentes étapes du test de troncation protéique [35].

2.8. Le séquençage

2.8.1. Historique

Le séquençage de l'ADN a été inventé dans la deuxième moitié des années 1970. Il a devenu un des outils les plus importants et largement les plus répandus dans le laboratoire de la biologie moléculaire [36]. Deux méthodes ont été développées indépendamment,d'une par l'équipe de Walter Gilbert, (Maxam and Gilbert 1977) aux Etats-Unis, et d'autre par Frederick Sanger (Sanger, Nicklen et al. 1977) en Grande-Bretagne. Ces deux méthodes sont fondées sur des principes diamétralement opposés : l'approche de Sanger est une méthode par synthèse enzymatique sélective, tandis que celle de Maxam et Gilbert est une méthode par dégradation chimique sélective [7].

2.8.2. Le séquençage selon la technique de Maxam et Gilbert

Cette méthode dépend de l'extrémité marquée des fragments d'ADN et des réactions chimiques spécifiques de la dégradation. Les extrémités des deux brins d'ADN à séquencer sont marquées par un traceur radioactif (P^{32}). Cette réaction se fait en général au moyen d'ATP radioactif, l'isolement du fragment d'ADN à séquencer est séparé au moyen d'une électrophorèse sur un gel de polyacrylamide. Le fragment d'ADN est découpé du gel et récupéré par diffusion, Les deux brins de chaque fragment d'ADN sont séparés par dénaturation thermique, puis purifiés par une nouvelle électrophorèse. Les ADN simple-brin obtenues sont soumis à des réactions chimiques spécifiques des différents types de bases. Par exemple une pour les G (alkylation par le diméthyle sulfate), une pour G et les A (dépurination), une pour les C et une pour les C et les T (hydrolyse alkaline), Après ces réactions, l'ADN est clivé au niveau de la modification par réaction avec une base, la pipéridine.

Pour chaque fragment, les produits des différentes réactions sont séparés par l'électrophorèse, suivie de l'autoradiographie qui permet l'identification des bandes représentant les fragments marqués [37].

جامعة جيجل
مكتبة الكلية
كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

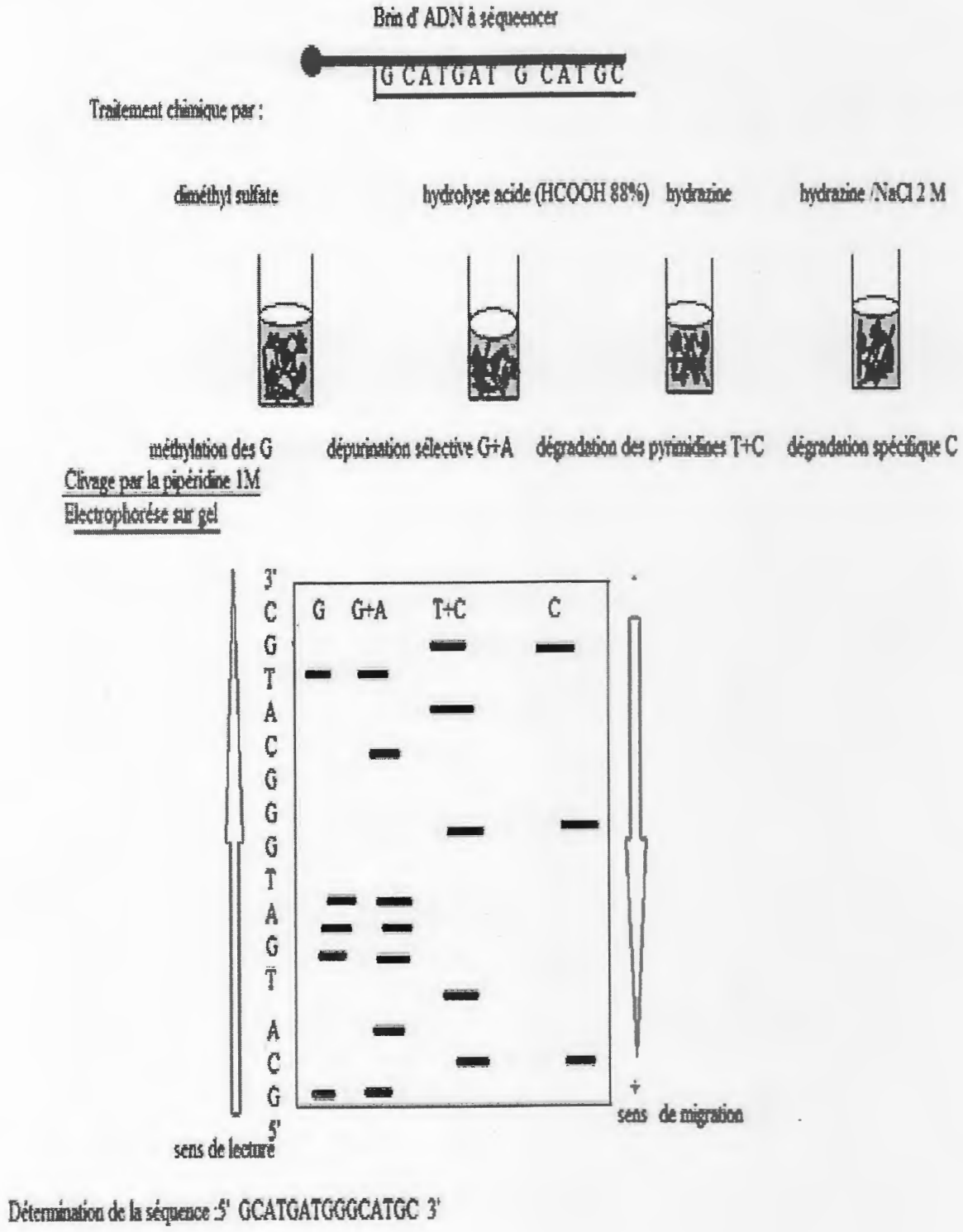

Fig. 2.6. Le séquençage selon Maxam et Gilbert [38].

2.8.3. Le séquençage selon la technique de Sanger

Cette technique est basée sur l'ADN à simple brin et la synthèse d'ADN en présence de didésoxynucléotides qui sont dépourvus de groupement 3' hydroxyle.

Les triphosphates correspondants peuvent être incorporés dans une chaine en cours d'élongation mais ils bloquent la synthèse parce qu'ils empêchent la liaison du nucléoside triphosphate suivant. À la différence de la méthode de Mexan et de Gilbert, cette technique est simple et n'exige pas les produits chimiques et la radio fortement toxiques ADN marquée. Ce qui distingue cette méthode est l'utilisation de l'ADN polymérase, didésoxyribosenucléosides triphosphate (ddATP, ddTTP, ddCTP, ddGTP), manquant du groupe de l'hydroxyle en l'extrémité 3'.

D'abord, le double brin d'ADN sont dénaturés rendu simple brin puis misent en présence de l'ADN polymérase, l'amorce, et quatre désoxynucléotides (dATP, dACP, dGTP, dTTP). Ce mélange est séparé dans quatre tubes de réaction puis on ajoute une petite quantité de didésoxyribosenucléosides triphosphate dans chaque tube.
La synthèse du brin d'ADN complémentaire est initiée au niveau de l'amorce. L'intégration d'un didésoxynucléotide dans le brin synthétisé entraîne l'arrêt de l'élongation.

Chaque mélange est analysé simultanément sur un gel d'électrophorèse, les bandes sont révélées par autoradiographie et la séquence est lue directement sur le gel [37].

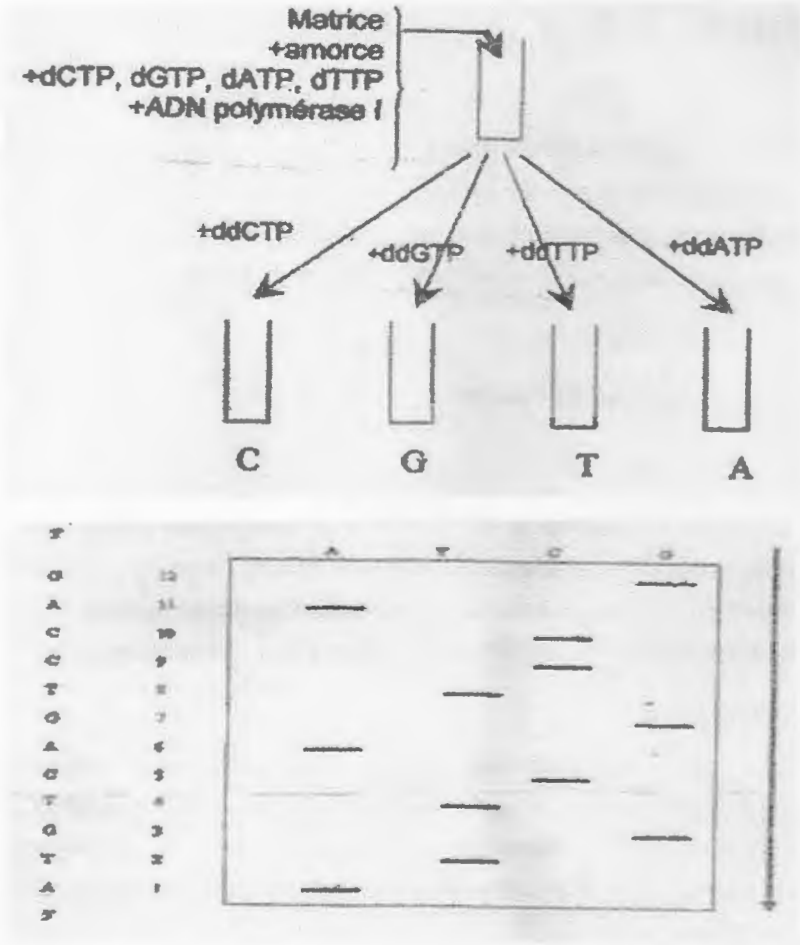

Fig. 2.7. Le séquençage selon la technique de Sanger [38].

Chapitre 03

Cancer du sein

3.1. Définition du cancer du sein

Le cancer du sein est une tumeur maligne de la glande mammaire. Autrement dit, c'est un cancer qui naît dans les unités cellulaires dont la fonction est de sécréter le lait, les unités ducto-lobulaires du sein, essentiellement chez la femme [Synthèse personnelle].

3.2. Epidémiologie

Le cancer de sein est le cancer le plus commun chez les femmes dans les pays développés et en voie de développement. Un sur dix de nouveaux cancers diagnostiqué dans le monde entier chaque année est un cancer du sein femelle. C'est également la cause la plus commune de la mort du cancer chez les femmes.

Dans le monde entier Plus de 1.1 million de cas sont diagnostiquées et plus de 410.000 patients meurent en raison de ses effets [39].

Aux Etats-Unis, le cancer de sein reste le cancer le plus généralement diagnostiqué chez les femmes après le cancer de la peau, et la deuxième cause commune de la mort de cancer, après le cancer de poumon [40]. Un sur huit femmes soit diagnostiqué avec le cancer de sein dans sa vie [41]. On l'a estimé que 192.370 nouvelles cas de cancer de sein invahissant ont été diagnostiquées chez les femmes aux États-Unis pendant 2009, avec les approximativement 40.170 décès de la maladie. En outre, on s'attend à ce qu'environ 1.910 cas de cancer de sein se produisent chez les hommes et 440 hommes ont été morts en 2009 [42].

Au Algérie, dans la dernière décade de XX^0 siècle, le cancer du sein est devenu le premier cancer en Algérie qui cause la mortalité chez les Algériennes. Environ 35000 nouveaux cas/année et 20000 décès dus au cancer /année [43]. Et Selon l'Incidence Nationale Standardisée, les nouveaux cas de cancer de sein sont 6000 en 2002, 8000 en 2007 et 9000 en 2008. Et Selon le CPMC (Alger) 20 cas en 1976, 600 cas en 2006, fois 30 en 30 ans [44].

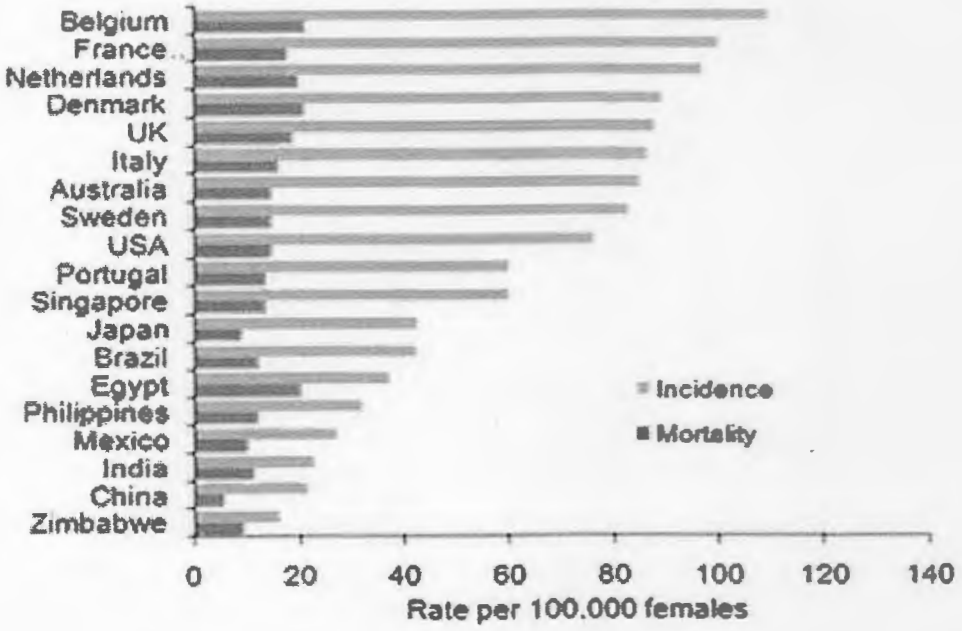

Fig. 3.1. Taux d'incidence et de mortalité, de cancer de sein femelle dans les pays shoisis (evaluation 2008) [45].

3.3. Risque génétique

Le risque génétique est de trois ordres : familial, héréditaire et sporadique.

3.3.1. Cancer du sein familial

3.3.1.1. Définition

Le cancer du sein familial est défini comme étant une agrégation (plusieurs cas) de cancer du sein (au moins deux patientes du premier degré atteintes) dans la même famille, mais sans transmission systématique [46].

3.3.1.2. Caractéristique du cancer du sein familial

- Il est dû à la transmission de certains facteurs de risque : hypofécondité, obésité, tendance à avoir une mastopathie bénigne [47].
- Risque multiplié par 2 ou 3 pour une femme atteinte au premier degré [48].
- Risque multiplié par 15 si la mère et une sœur sont touchées [49].
- La transmission n'obéit pas aux lois de l'hérédité (loi de Mendel) [47].

3.3.2. Cancer du sein héréditaire

3.3.2.1. Définition

Un cancer héréditaire est défini par la présence de trois personnes liées au premier degré et atteintes par un cancer du sein ou d'ovaire, sur une ou plusieurs générations [48].

3.3.2.2. Caractéristique du cancer du sein héréditaire

- Représente 5 à 10 % des cas [49].
- Transmission suivant les lois de l'hérédité, d'un gène anormal, dit « muté » ou gène de prédisposition [47].
- Les cancers héréditaires ont pour origine la mutation d'un oncogène ou d'un antioncogène.
- Enfin, pour que cette mutation atteigne la descendance, il faut qu'elle ait lieu sur les tissus germinaux [50].

Deux gènes de prédisposition (mutés) ont été identifiés :

- BRCA-1, responsable de 50% des cancers du sein génétique [49]. les femmes qui héritent d'un allèle muté de ce gène d'un de leurs parents ont une probabilité approximative de 60 à80 % de développer un cancer du sein [51].
- BRCA-2 responsable de 30% des cas [52].

3.3.3. Cancer sporadique

Dans plus de 93 % des cas, le cancer est lié à des mutations uniquement somatiques présentes au niveau d'un tissu donné, non transmissibles [50].

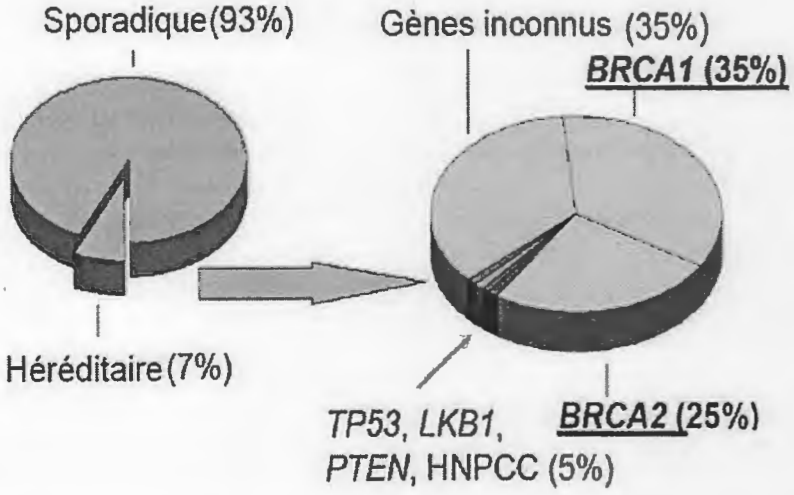

Fig. 3.2. Pourcentage des mutations de quelque gène de cancer [50].

3.4. Les facteurs de risques

Tous les éléments pouvant augmenter le risque de développement d'une maladie sont appelés des facteurs de risques. L'incidence du cancer de sein change sensiblement selon la présence de certains facteurs bien établis, les deux importants sont le genre et l'âge.

- **Le sexe**

99% des cancers du sein se développent chez la femme [49].

- **L'âge**

L'âge est le facteur de risque le plus important vis-à-vis du cancer du sein. La maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans. Le risque augmente entre 50 et 75 ans (près des deux tiers des cancers du sein) [53].

- **Les antécédents familiaux de cancer du sein**

Le risque est d'autant plus important qu'il a touché une parente au premier degré (mère, sœur, fille), en particulier avant l'âge de cinquante ans. Les risques au second degré (grand-mère, tante, cousine...) doivent bien entendu également être pris en considération. Il faut cependant rappeler que 70% des femmes atteintes d'un cancer du sein n'ont pas d'antécédents familiaux [54].

- **Risques génétiques de cancer du sein**

5 à 10% des cancers sont liés à une anomalie chromosomique (gênes BRCA 1 et BRCA 2). Chez les patientes porteuses de cette mutation génétique le risque est très important [55].

- **Radiations ionisantes**

L'exposition du tissu mammaire aux radiations ionisantes, avant l'âge de 40 ans est susceptible de provoquer un cancer du sein dans les années ultérieures (Endommagent l'ADN et ses constituants) [56].

- **L'âge des premières règles et l'âge de la ménopause**

Il est généralement admis qu'avoir une femme ses premières règles avant l'âge de douze ans [57]. Ou sa ménopause après l'âge de cinquante-cinq ans constitue également un risque de cancer du sein (Production prolongée des hormones ovariennes [58].

- **L'alcool**

La consommation d'alcool (provoque une augmentation du niveau des hormones dans le sérum et une production accrue de facteurs de croissance IGF (insulin-likegrowth factor). Les IGF agissent comme des mitogènes, inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes. (Une production accrue d'IGF augmente le risque de cancer du sein 7%, surtout avant la ménopause) [59].

- **Le tabac**

Une analyse constituée d'un ensemble de 53 études dans le monde est trouvée que la fumer a un effet mineur sur le risque de développement le cancer du sein. [60].

- **Le traitement hormonal substitutif (THS)**

Le THS de la ménopause est prescrit pour pallier la diminution du niveau des hormones ovariennes circulantes. Il peut augmenter le risque de cancer du sein. Cependant celui-ci sera influencé par le type d'hormones prises, leur quantité, leur durée ainsi que leur mode d'administration ... le risque est augmenté de 26% à 35 % [61].

- **Contraceptifs oraux**

Le risque de cancer du sein est augmenté d'environ 25 % chez les femmes utilisant couramment les contraceptifs oraux. En revanche, l'utilisation de ces médicaments, tard dans la vie reproductive, entraîne une augmentation relative du risque de cancer du sein au moment où le risque naturel devient appréciable [62].

- **Grossesse et allaitement**

Ne pas avoir eu d'enfant augmente modérément le risque et dans une moindre mesure avoir eu son premier bébé après 30 ans ou ne pas avoir allaité. Par contre avoir allaité constitue une petite protection contre le cancer du sein. (Présent un risque enduit 33%) [63].

- **Activité physique**

L'activité physique modérée (30 à 60 minutes au moins 4 fois par semaine) diminue le risque de cancer du sein d'environ 35 %, en particulier chez les femmes ménopausées [64].

- **Graisse**

Aucune étude épidémiologique n'a jusqu'à présent mis en évidence de lien direct entre les graisses alimentaires et le cancer du sein. Il ressort cependant de quelques études prospectives que la consommation de graisse saturée et animale surtout celle contenue dans la viande rouge en pré ménopause augmenterait le risque de cancer du sein [65].

3.5. Prédispositions génétiques au cancer du sein

Environ 5% des cancers du sein sont ainsi considérés comme directement liés à l'héritage des mutations présentes dans les gènes BRCA1 ou BRCA2. Il s'agit des gènes codant pour des protéines dont le rôle est d'assurer l'intégrité du génome en réparant l'ADN endommagé.
Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont des gènes de prédisposition héréditaire au cancer du sein. Des mutations dans ces deux gènes se transmettent selon le mode autosomique dominant pouvant toucher différents exons ou les régions de jonction intron- exon et seraient de se fait responsable d'approximativement 45% du cancer de sein héréditaire. Majoritairement responsables des formes familiales où sont également observés des cas de cancer de sein chez l'homme, elles sont par contre moins impliquées dans les familles présentant uniquement des cas de cancer de sein

chez la femme. Ceci suggère l'implication d'autres gènes de susceptibilité pour expliquer la concentration de cancer de sein familiaux non associé à des mutations dans BRCA1 et BRCA2 [66].

3.5.1. Le gène BRCA1

Le gène BRCA1 *(Breast Cancer- Associated Gene 1)* a été mis en évidence sur le bras long du chromosome 17, au locus 17q21 par Miki *et al.* (1994) comme étant un gène de prédisposition. Il possède 22 exons, recouvrant 81 Kb de l'DNA, codant une protéine multifonctionnelle contenant 1863 acides aminés [67].

Le gène BRCA1 possède une quantité importante de séquences répétitives. Alu dans ses introns (41,5%), ces séquences sont connues pour favoriser les événements de recombinaison.

Le premier motif identifié et bien caractérisé dans la protéine BRCA1 a été le domaine en doigt de zinc « ring finger » près de l'extrémité N-terminale (AA 24 à 64) [68] caractérisé par un motif conservé de cystéines et histidines permettant des interactions protéine-protéine et protéine-ADN.

Le second motif, trouvé en analysant la séquence protéique primaire de BRCA1, est une région de deux séquences répétées fortement conservées en C -terminal, appelée le domaine BRCT ; qui est aussi retrouvé dans de nombreuses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN et le cycle cellulaire tel que p53 [69].

La révélation de la structure tridimensionnelle de ces deux régions importantes de BRCA1 a permis d'établir de nouvelles bases pour comprendre au niveau moléculaire les mutations associées au cancer dans ces régions [70]. De plus, deux signaux de localisation nucléaire (NLS : AA. 501à 507 et 607 à 614) et un signal d'exportation nucléaire (NES : AA. 81 à 99) sont essentiels à la localisation nucléaire de BRCA1 [71].

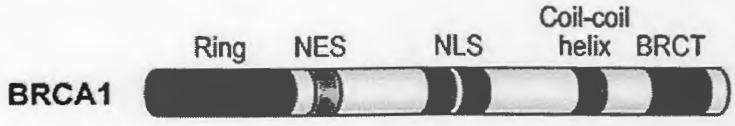

Fig. 3.3. Elément structuraux des protéines BRCA1 [72].

NES : Nuclear Exportation Signal,
NLS: Nuclear localisation signal.
BRCT : BRCA1 C-terminal

3.5.2. Le gène BRCA2

Le gène BRCA2 *(Breast Cancer- Associated Gene 2)* a été mis en évidence sur le bras long du chromosome 13, au locus 13q12-13 [73], comme étant le second gène de prédisposition au cancer du sein. Ce gène comporte 27 exons dont 26 codants, d'une longueur de 10 257 Pb, étendue sur 84 kb d'ADN génomique.

BRCA2 possède des exons 10 et 11 de grandes tailles, avec 1116 Pb et 4932 Pb respectivement, représentant 59% de la partie codante et 48% juste pour l'exon 11.

L'exon 11 traduit huit motifs BRC répétés conservés entre espèces [74]. Ces motifs interagissent avec RAD51, essentielle au mécanisme de recombinaison homologue de l'ADN [75]. Par ailleurs, deux signaux (NLS) situés dans la région C-terminale de la protéine BRCA2, les acides aminés 3266 à 3270 et 3311 à 3316 de localisation nucléaire, sont essentiels à sa

localisation nucléaire [76]. Enfin, une séquence peptidique conservée, codée par le troisième exon de BRCA2, aurait la capacité d'activer la transcription [77].

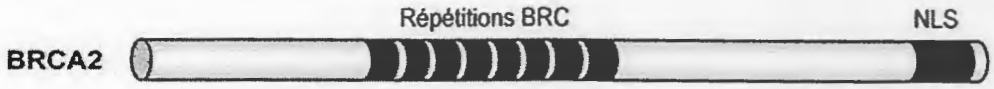

Fig. 3.4. Éléments structuraux des protéines BRCA1 [72].

NLS: Nuclear localisation signal [72].

3.5.3. Rôles fonctionnels de BRCA1 et BRCA2

BRCA1 et BRCA2 sont des suppresseurs de tumeurs agissant en maintenant la stabilité génomique, leurs protéines qui sont structurellement différentes présentent dans de nombreux tissus incluant les seins et les ovaires où leur localisation est essentiellement nucléaire, et leur expression est maximale pendant la phase S du cycle cellulaire [78].

Ces deux protéines jouent un rôle dans la réparation de l'ADN, dans la régulation de la transcription et dans le remodelage de la chromatine [79]. De plus, de nombreuses protéines retrouvées dans des complexes avec BRCA1 et BRCA2 sont impliquées dans différents cancers et maladies souvent associés à une instabilité génomique tout comme BRCA1 et BRCA2. En effet, les protéines BRCA1 et BRCA2 sont essentielles dans les mécanismes de contrôle de la recombinaison homologue (HR) ainsi que dans la réparation des cassures doublent brin de l'ADN.

L'absence des activités de la protéine BRCA1 ou BRCA2 causerait une instabilité génomique par l'augmentation de la fréquence de l'altération chromosomique telle que les bris double brins, l'aneuploïdie, l'amplification du centrosome, les réarrangements chromosomiques, les mutations, la duplication de chromosomes et la délétion de chromosomes (perte d'hétérozygocité) [80]. Ces bris peuvent altérer éventuellement des gènes impliqués dans le maintien de la structure chromosomique, la division et la viabilité cellulaire [79].

3.5.4. Mutations des gènes BRCA1 et BRCA2

La majorité des mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 conduisent à une protéine tronquée ayant perdu sa fonction biologique : mutations stop, délétions ou insertions de quelques nucléotides rompant le cadre de lecture, anomalies d'épissage, ou enfin réarrangements de grande taille. Des mutations faux-sens, substituant un acide aminé à un autre, et des variations introniques affectant potentiellement l'épissage des gènes sont régulièrement rapportées. Hormis les mutations siégeant dans des domaines fonctionnels très particuliers (cystéines du domaine Ring de BRCA1, domaines BRCT de BRCA1) qui sont plus souvent délétères, la conséquence de ces faux-sens sur la fonction de la protéine reste inconnue en l'absence, à l'heure actuelle, de test fonctionnel *in vitro* ou d'arguments épidémiologiques suffisants.

En 2005, près de 1000 mutations délétères différentes des gènes BRCA1 et BRCA2 ont été enregistrées dans la base de données internationales du l'Institute National de Santé, et près de 600 dans la base de données françaises [81]. Cependant, certaines populations dont le nombre d'ancêtres communs est faible par isolement ou par culture montrent une faible diversité de mutations (effet fondateur). Il en est ainsi en Islande, ou dans la population ashkénaze qui

concentre 3 mutations particulières : (185delAG et 5382insC dans BRCA1 et 6174delT dans BRCA2) [82].

3.5.5. Tests de diagnostic précoce du cancer de sein

L'objectif d'utilisation des tests de détection précoce est de détecter les cancers à un stade de curabilité en vue de diminuer la mortalité liée au cancer et en utilisant des moyens de diagnostic susceptibles d'être proposés à un grand nombre de personnes et un traitement moins agressif.

À l'heure actuelle, l'analyse génétique, du prélèvement sanguin à la communication finale des résultats, peut s'échelonner sur une période de 4 à 6 semaines, selon la nature et le nombre de gènes étudiés. Il est possible de réduire la durée de cette période d'analyse de laboratoire si on peut déterminer le gène (parmi tous les gènes candidats) le plus susceptible d'être muté d'après l'histoire familiale de la personne en question. Par exemple, une famille qui compte plusieurs cas de cancers de l'ovaire et du sein mais aucun cas de cancer du sein chez l'homme est probablement porteuse d'une mutation de BRCA1, plutôt que d'une mutation de BRCA2. Par contre, si la famille comporte plusieurs cas de cancer tant chez l'homme que chez la femme, le BRCA2 est probablement le gène en cause.

Des études montrent que certaines mutations particulières se produisent chez les femmes porteuses de BRCA1 et de BRCA2 d'origine juive ashkénaze, et l'analyse peut donc être axée précisément sur ces régions des gènes où les mutations surviennent. Toutefois, il n'y a aucune assurance que l'examen peut détecter une mutation particulière du gène BRCA1 ou du gène BRCA2, même dans une famille comportant un nombre significatif de cas de cancer du sein.

L'analyse de l'ADN ou les épreuves de biologie moléculaire portent directement sur le génotype de la personne [83].

En général, un résultat d'essai génétique définitif peut avoir la signification médicale et psychologique considérable. Un essai négatif dans une famille avec une mutation délétère connue peut fournir le soulagement émotif significatif concernant le risque personnel de cancer et le risque à la progéniture et peut avoir comme conséquence l'action d'éviter des interventions médicales ou chirurgicales inutiles. Un essai positif peut mener à une surveillance et à une considération plus tôt ou plus fréquentes des options d'empêchement et peut influencer la gestion de la maladie [84].

La Société Américaine de L'oncologie Clinique (ASCO) recommande que la consultation et le test génétiques soient offerts quand :
1) l'individu a des dispositifs personnels ou d'antécédents familiaux suggestifs d'un état génétique de susceptibilité de cancer.
2) le test génétique peut être suffisamment interprété.
3) les résultats de tests faciliteront le diagnostic ou influenceront la direction médicale ou chirurgicale des patients où des membres de la famille au risque héréditaire de cancer. ASCO recommande que le test génétique seulement soit fait dans l'arrangement de pré et post-test conseillant, qui devraient inclure la discussion des risques et les avantages possibles de la détection précoce de cancer et les modalités préventives [84].

3.5.6. La diversité des techniques utilisées dans la détection des mutations dans les gènes de BRCA

Le séquençage direct automatisé est considéré comme la technique de détection de mutation la plus sensible et la plus spécifique qui soit disponible. À l'heure actuelle, le séquençage complet de longs transcrits, telle les mutations de BRCA1, exige une forte concentration de main d'œuvre, il est coûteux et difficilement applicable à grande échelle.

Les bioanalyses de retard sur gel, notamment le polymorphisme de conformation des ADN simples brins (SSCP) peuvent réduire le nombre de prélèvements nécessaires pour le séquençage, Des épreuves telles que le test de protéine tronquée (PTT) est également disponibles, mais limitées à la seule détection de mutations particulières [34].

Le PTT est une procédure beaucoup plus rapide et moins coûteuse que le séquençage d'un gène tout entier. Toutefois, en ce qui concerne le BRCA1 et le BRCA2, cette méthode ne permet la détection que d'environ 70 à 90 % des mutations, de sorte que même à la suite d'un résultat négatif une personne peut présenter un risque élevé de cancer du sein héréditaire. Lorsque des mutations sont décelées, ce test ne donne pas réponse à tout étant donné que les mutations de BRCA1 et de BRCA2 ne seraient responsables que de 80 à 85 % des cas de cancer du sein héréditaires, les 15 à 20 % d'autres cas étant attribuables à un gène ou à une combinaison de gènes qui n'ont pas encore été repérés. Par contre, les mutations détectées par le PTT auront une incidence clinique immédiate [34].

Tandis que les substitutions d'acides aminés décelées par d'autres méthodes telles le SSCP et le séquençage direct peuvent ne pas être en relation causale avec l'évolution de la maladie. En outre, lorsqu'il s'agit du dépistage de proposants particuliers, le PTT comporte un avantage par rapport au SSCP. L'inconvénient du PTT par rapport au SSCP est la possibilité que les mutations de troncature diminuent la stabilité de l'ARNm et par le fait même la capacité de détection de l'allèle muté dérivé de l'ARNm [34].

3.5.7. Prévention et les options de la réduction des risques du Cancer de sein

Les options courantes de réduction de mesure préventive ou de risque incluent la chirurgie prophylactique, l'ablation des ovaires, le chimoprévention avec tamoxifen, et modification de style de vie.

3.5.7.1. Chirurgie prophylactique

L'évidence suggère que la mastoctomie prophylactique fournisse la plupart de réduction de risque de cancer de sein, diminuant le risque de cancer de sein d'une femme de plus grand que 90% [85]. L'ablation des ovaires prophylactique pour des femmes dans leur âge de 30 peut réduire le risque de cancer de sein près de 60%. l'ablation des ovaires est en particulier une bonne option pour les femmes qui sont au risque accru en raison de prédisposition héréditaire (BRCA1 ou BRCA2) et qui font face au risque de sein et de cancer ovarien respectivement [86]. L'ablation des ovaires prophylactique seule réduit également le développement de cancer de sein de 60% si elle est exécutée dans les 30 années des patients, et 50% si elle est exécutée dans leur âge de 40 [87].

3.5.7.2. Chimoprévention

Tamoxifen est actuellement employé pour le traitement précoce de cancer de sein avancé avec ER+ (récepteur d'œstrogène positif) dans les femmes prés et post ménopause [88] et (Food and Drug Administration FAD) approuvé ce médicament de chimoprévention pour des femmes avec un risque de cancer de sein de 5 ans. Tamoxifen est actuellement le seul agent approuvé montré pour diminuer l'incidence de quelques types de cancer de sein avec une réduction relative moyenne de risque de 49% de la période de 4 à 5 ans. Ont conclu que le tamoxifen réduit le risque de cancer de sein d'environ 38%, sans affecter de manière significative la survie globale [89].

Selon Burke W *et al.* La valeur de la thérapie chémopreventive avec tamoxifen ou le raloxifene chez les femmes qui portent des mutations génétiques dans les seins et les ovaires est actuellement incertaine, et il y a un besoin d'examiner ces agents prometteurs dans les sous-populations génétiquement définies. Le CGSC *(The Cancer Genetics Studies Consortium)* suggére la mammographie annuel ou semi-annuel de sein, commençant à l'âge 25 à 35 ans, pour les femmes qui ont les mutations BRCA1 et BRCA2 [90].

3.5.7.3. Changements de style de vie

Le changement de style de vie l'exercice accru, consommation diminue de la graisse l'alcool et animale, et l'arrêt de thérapie hormonale sont pensés pour avoir une réduction de risque modéré [91]. Quelques études ont démontré que les modifications de style de la vie, particulièrement l'entretien du poids optimal après ménopause et la limitation de la prise de graisse animale, peuvent diminuer le risque de cancer de sein de 30 à 45% [92]. Les femmes qui ont un risque élevé de développer le cancer devraient éviter l'exposition prolongée de HRT, les femmes qui boivent excessivement devraient prendre les vitamines B, qui ont montré d'avoir un effet protecteur contre les effets nocifs d'alcool [93].

Conclusion

Conclusion

Les mutations sont habituellement considérées par leurs conséquences pathologiques. Les maladies génétiques sont dues à une ou plusieurs anomalies dans l'ADN, qui altèrent son bon fonctionnement.

La détection de mutations dans l'ADN représente une étape essentielle de la biologie moléculaire, pour la recherche fondamentale comme pour les applications médicales. Cette détection dépond à des techniques différentes.

Les maladies génétique comme le cancer est un problème de santé publique. Le cancer de sein est le cancer le plus fréquemment observé chez les femmes dans le monde, son incidence augmente régulièrement, il atteint souvent les femmes d'une cinquantaine d'année et est la cause de nombreux décès chaque année avec une mortalité prématurée importante.

Le but de la détection précoce des cancers du sein est de réduire la morbidité et la mortalité des patients par une reconnaissance précoce voire à la phase préclinique en vue de mettre en œuvre la prévention et le traitement le plus efficace et le plus précocement possible.

Références bibliographiques

[1] **Abdelali M. (2006).** *Les mutations In : génétique Humaine.* Office des Publications Universitaires. PP: 67-191.

[2] **Rossignol J. (2004).** *Génétique gènes et génomes.* Dunod, France. PP: 232- 234.

[3] **Beaumont S. (2006).** *Instabilité et évolution de l'ADN In : Biologie Moléculaire PCEM1.* Dunond. Parise. PP : 131-132.

[4] **Ronald W et DUDEK. (2002).** *Biologie cellulaire et moléculaire.* 1re édition. Lippincott williams et Wilkins. PP: 1-70.

[5] **Brooker RJ. (2009).** *Genetics analysis and principles.* 3rd ed. Mcgran-hill companies, Inc. New-York. PP: 680-690.

[6] **Jack J et Pasternak. (2003).** *La biologie moléculaire du gène In : génétique moléculaire humaine : une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires.* 1re ed Amiricane. Boeck. 77: 106-215.

[7] **Etienne J. (1999).** *Biochimie génétique Biologie Moléculaire.* 5e édition. MASSON. Paris. PP : 207-368.

[8] **Peterlongo P. (2006).** *contexte biologique In : filtrage de séquences d'ADN pour la recherche de longues répétitions multiples.* Université de Marne- la –Vallée. PP : 20-32.

[9] **Suzanne D, Tatyana A and Olufunmilayo I. (2008).** *Cancer of the breast In: Cancer principles and practices of oncology* (Vincent T, Theodore S and Steven A). 8th ed. Lippincott Williams and wilkings. Philadelphia, PA, USA. 2: 1595-1650.

[10] **Jean et Henrye P. (2008).** *Précis de génétique des populations.* 5e èdition. Dunod. France. PP: 186-188.

[11] **Maroni G. (2001).** *Molecular and genetic analysis of human taits.* Blackwell science. Inc. PP: 150-174.

[12] **Hickey GI, Fletcher HL and Winter P. (2007).** *Genomes In: Genetics.* 3rd ed. Taylor and Francis group. New York. PP: 75-134.

[13] **Lamarcoval G. (2008).** Mutagenèse et cancérogénèse. Sens Public. PP: 3 - 4.

[14] **Eisinger F, Sobol H, Serin D and Whorton J. (2002).** Hereditary breast cancer. *Lancet.* 351:13-66.

[15] **Hesketh R. (2000).** *The oncogene and tumour suppressor gene.* Second edition. Academic Press. PP: 3 -4.

[16] **Durrer A, Glancet A, Laanz S et Stantche A. (2009).** *Les traitements médicamenteux des cancers : une information de la ligue contre le cancer.* 4e édition. Ligue Suisse contre le cancer. PP: 6 – 7.

[17] **Bounacer A, Wicker R, Caillou B, Cailleux AF, Sarasin A, Schlumberger M and Suarez HG. (1997).** High prevalence of activating ret protooncogene Rearrangements *In*: thyroid tumors from patients who had received external radiation. Oncogene. 15: 1263-1273.

[18] **Jord LB, Carey JC, Bamshad MJ et White RL. (2004).** *Génetique medical.* Edition Française. Elsevier SAS. Paris. PP: 33-269.

[19] **Botta P, Martin JF et PELISSIER. (2005).** Cancer : épidémiologie, cancérogenèse, Développement tumoral, classification Faculté de Médecine de Marseille. PP 12-19.

[20] **Fidler IJ. (2000).** Angiogenesis and cancer metastasis. Cancer J. Sci. Am, 6 Suppl. 2. PP: 134-141.

[21] **Boulouis HJ, Haddad N et Maillard R. (2001).** Technique d'étude moléculaire des isolats : principes et fiabilité. Alfort. 39: 21-29.

[22] **Bartlett J et Stirling D. (2003).** Ashort history of the polymerase chain reaction. PCR protocols. 226: 3-6.

[23] **Khanz, Poetterk and Park DJ. (2008).** Enhanced solid phase PCR: mechanisms to increase priming by solid support primers. *Analytical biochemistry.* 375: 391-393.

[24] **Gil AL. (2007).** *PCR* based methods for fish and fishery products authentication. *Trends science & Technology.* 18: 558-566.

[25] **Sommer S, Groszbach R and Boltema K. (2006).** PCR amplification of specificalleles is a general method for rapidly detecting Known single –base changes. *Biotechniques.*12: 82 - 87.

[26] **Pavlov A, Kozyavkin S and Slesarev A. (2004).** Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications. *Trends in biotechnology.* 22: 253-260.

[27] **Duforg C. (1998).** Application des techniques moléculaires de PCR-RFLP et de PCR-RFLP-SSCP dans l'étude de la différentiation génétique de deux huitre creuse : Grassostrea gigas et Grassostrea angulata. PP : 1-7.

[28] **White M, Carvalho M, Derse D and Obrien S. (2003).** Genomics .12: 301-306.

[29] **Kaplan JC et Delpech M. (2007).** *Analyse du génome et de ses modifications In : Biologie Moléculaire et Médecine.* 3e édition. Flammarion SA. PP : 699-713.

[30] **Serre JL. (2006).** *Techniques and tools in molecular biology used in genetic diagnoses In: diagnostic techniques in genetics.* John Wiley and Sons Ltd. PP: 1-58.

[31] **Huber CG, Oefner PJ, Preuss E and Bonn GK. (1993).** High-resolution liquid chromatography of DNA fragments on non-porous poly (styrene divinylbenzene) particles. *Nucleic Acids Res.* 21: 1061–1066.

[32] **Wagner T, Stoppa-Lyonnet D, Fleischmann E, Muhr D, Pagès S, Sandberg T, Caux V, Moeslinger R, Langbauer G, Borg A and Oefner P. (1999).** Denaturing high-performance liquid chromatography detects reliably BRCA1 and BRCA2 mutations. *Genomics*. 62: 369–376.

[33] **O'Donovan MC, Oefner PJ, Roberts SC, Austin J, Hoogendoorn B, Guy C, Speight G, Upadhyaya M, Sommer SS and McGuffin P. (1998).** Blind analysis of denaturing highperformance liquid chromatography as a tool for mutation detection. *Genomics*. 52: 44–49.

[34] **Hogrevorst FB. (1995).** Rapid detection of BRCA1 mutations by the protein truncation test. *Nat Genet*. 10: 208-212.

[35] **Negura L, Carasevici E, Huma AM et Artenie V. (2006).** Méthologie actuelle de la biologie moléculaire pour la détection des mutations. TOM VII.

[36] **Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C, Goldstein S, YOUNGLAI EV, Futcher AB, Greider CW and Harley CB. (1992).** Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *P Natl Acad Sci USA*. 89: 114–118.

[37] **Anthony J, Griffiths F, Jeffrey H, Miller, David T, Suzuk, Richard C, Lewontin, William M et Gélbert. Paris. (1997).** *La technologie de l'ADN recombinant In : introduction à l'analyse génétique*. 6e édition. De Boek Université S-A. PP : 444 - 446.

[38] **El Fahime M and Ennaji MM. (2007).** Évolution des techniques de séquençage. *Les technologies de laboratoire*.

[39] **Ferlay J, Bray F, Pisani P and Parkin DM. (2004).** GLOBOCAN 2002. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC Cancer Base No. 5 Version 2.0. IARC Press, Lyon.

[40] **United States Cancer Statistics Working Group. (2009).** United States cancer statistics: 1999-2005 incidence and mortality web-based report. Atlanta, Ga: Department of Health and Human Services, centers of disease control and prevention; Washington, dc: National Cancer Institute.

[41] **American Cancer Society. (2006).** Breast cancer facts and figures (2005-2006). Atlanta, Georgia. http://www.cancer.org/Research/CancerFactsFigures/breast-cancer-facts-figures-2005-2006.

[42] **American Cancer Society. (2010).** Breast cancer facts and figures (2009-2010). Atlanta,Georgia.http://www.cancer.org/Research/CancerFactsFigures/BreastCancerFactsFigures/breast-cancer-facts-figures-2009-2010.

[43] **Pr Mokhtar HC. (2010).** Registre du Cancer de Sétif Algérie, enregistrement du cancer en Algérie, Contexte et évolution. Journées Francophones de Lutte Contre le Cancer pour les pays en voie développement. *Montpellier*. PP : 1-3.

[44] **Barkat A CHU. (2009).** Epidémiologie du Cancer du Sein en Algérie. 7éme congrès SAERM. Constantine PP : 1-4.

[45] **The CHEK2 Breast Cancer Case Control Consortium. (2008).** CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies. *Am J Hum Genet.* 74: 1175-1182.

[46] **Cairard B. Mathelin C, Schaffer P et Brettes JP. (1998).** *Cancer du sein : épidémiologie, Facteurs de risque, dépistage In : La revue du praticien.* Paris. PP : 21-27.

[47] **Pujol H, Ganier S H et Levin MF. (2003).** Le cancer du sein. Brochure : Ligne nationale contre le cancer. PP : 2-4.

[48] **Cabarrot E. (1998).** *Tumeurs du sein In: Cancérologie clinique* (Schveitzer DN. Cabarrot E, Cuimbard R, Mayol E. 2éme édition. Masson. Paris. PP : 213-236.

[49] **Epsie M, Tournant B, Cuvier C et Cottu PH. (2001).** Epidémiologie des lésions malignes du sein. Encycl. Méd Chir (Edition Scientifique et médicales. Elsevier SAS. Paris. Gynécologie. 840-A-15 ,10P.

[50] **Dr Bonadona V. (2009).** Génétique tique et Cancer. Unité Clinique d'Oncologie Génétique. Centre Léon Bérard. PP : 1-14.

[51] **Lippman ME. (2002).** *Cancers du sein In : Principe de médecine interne* (HARISON et COLL).Traduction Française de la 15éme édition. Edition Flammarion Médecine – Science. Paris. PP : 571-578.

[52] **Eisinger F et Sobol H. (1999).** Risque héréditaires des cancers du sein et de l'ovaire .Identification et stratégie de prise en charge. Encycl. méd. Chir (Elsevier, Paris). Gynécologie. 860-A-15, 8P.

[53] **Kelsey JL et Bernstein L. (1996).** Epidemiology and prevention of breast cancer. *Annu Rev Publ Health.* 17: 47-67.

[54] **Wooster R et Weber BL. (2003).** Breast and ovarian cancer, N Engl J Med. 348:2339-2347.

[55] **John EM, Miron A and Gong G. (2007).** Prevalence of pathogenic BRCA1 mutation carriers in 5 US racial/ethnic groups JAMA. 298: 2869-2876.

[56] **Little MP, Muirhead CR, Haylock RG and Thomas JM. (1999).** Relative risks of radiation-associated cancer: comparison of second cancer in therapeutically irradiated populations with the Japanese atomic bomb survivors. *Radiat Environ Biophys.* 38: 267-283.

[57] **Key TJ, Verkasalo PK and Banks E. (2001).** Epidemiolo of breast cancer. Lancet Oncol. 2: 133-140.

[58] **Harvie M, Hooper L and Howell AH. (2003).** Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obes Rev* 4: 157-173.

[59] **Kerryn W et al. (2008).** Effect of Prediagnostic Alcohol Consumption on Survival after Breast Cancer in Young Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 17: 1988–1996.

[60] **Collaborative group on hormonal factors in breast cancer. (2002).** Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet.* 360: 187-195.

[61] **Writing group for the Women's Health Initiative investigators. (2002).** Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. JAMA. 288: 321-333.

[62] **Jernström H, Loman N and Oskar T. (2005).** Johannsson Impact of teenage oral contraceptive use in a population-based series of earlyonset breast cancer cases who have undergone BRCA mutation testing. *Eur J Cancer.* 41: 2312-2320.

[63] **Freund L, Mirabel K, Annane and Mathelin C. (2005).** Allaitement maternel et cancer du sein. Breastfeeding and cancer. *Gynécol Obstét Fert.* 33: 739-744.

[64] **Wenten M, Gilliland FD, Baumgartner KS, Amet JM and Samet JM. (2002).** Associations of weight, weight change, and body mass with breast cancer risk in Hispanic and non Hispanic white woman. *Ann Epidemiol.* 12: 435-404.

[65] **Cho E SD, Hunter DJ, Chen WY, Stampfer MJ and Colditz GA. (2003).** Premenopausal fat intake and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 95: 1079-1080.

[66] **Claus EB, Schildkraut JM, Thompson WD and Risch NJ. (1996).** The genetic attributable risk of breast and ovarian cancer. 77: 2318-2324.

[67] **Tavtigian SV, Thomas A, Frank TS and Skolnick MH. (1998).** The BRCA1 gene and its protein product: characterization, therapeutic and diagnostic implications. Advances in Oncology.14: 3-13.

[68] **Miki Y, et al. (1994).** A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 266: 66-71.

[69] **Koonin EV, Altschul SF et Bork P. (1996).** BRCA1 protein products. Functional motifs. *Nat Genet.* 13: 266- 288.

[70] **Antoniou A C, et al. (2001).** Evidence for further breast cancer susceptibility genes in addition to BRCA1 and BRCA2 in a population-based study. *Genet Epidemiology.* 21: 1-18.

[71] **Rodriguez JA et Henderson BR. (2000).** Identification of a functional nuclear export sequence in BRCA1. *J BiolChem.* 27: 38589-38596.

[72] **Kerr P et Ashworth A. (2001).** New complexities for BRCA1 and BRCA2. Curr Biol 11, R668-76.

[73] **Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, Collins N, Gregory S, Gumbs C, Micklem G et al. (1995).** Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature.* 378: 78.

[74] **Bork P, Blomberg N and Nilges M. (1996).** Internal repeats in the BRCA2 protein

sequence. *Nat Genet.* 13: 3-22.

[75] **Wong A K, Pero R, Ormond P A, Tavtigian SVand Bartel PL. (1997).** RAD51 interacts with the evolutionarily conserved BRC motifs in the human breast cancer susceptibility gene BRCA2. *J Biol Chem.* 272: 31941- 31944.

[76] **Gonzalez R, et al. (1999).** Detection of loss of heterozygosity at RAD51, RAD52, RAD54 and BRCA1 and BRCA2 loci in breast cancer: pathological correlations. *Br J Cancer.* 81: 503-509.

[77] **Milner J, Ponder B, Davies LH, Seltmann M and Kouzarides T. (1997).** Transcriptional activation functions in BRCA2. *Nature.* 386: 772-773.

[78] **Venkitaraman AR. (2002).**Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2.*Cell.* 108: 171-182.

[79] **Pellegrinil et al. (2002).** Insights into DNA recombination from the structure of a RAD51-BRCA2 complex. *Nature.* 420: 287-293.

[80] **Deng C X et Scott F. (2000).** Role of the tumor suppressor gene Brca1 in genetic stability and mammary gland tumor formation. *Oncogene.* 19: 1059-1064.

[81] **Lidereau R, Eisinger F, Champeme MH et coll. (2000).** Major improvement in the efficacy of BRCA1 mutation screening using morphoclinical features of breast cancer. *Cancer Res.* 5: 1206-1210.

[82] **King MC, Marks JH and Mandell JB. (2003).** Breast and ovarian risks due to the inherited mutations in BRCA1 and BRCA2. *Science.* 302: 643-646.

[83] **Mazoyer S, Dunning AM, Serova O, et al. (1996).** A polymorphic stop codon in BRCA2. *Nature Genetics.* 14: 253-254.

[84] **Calzone KA, Stopfer J and Blackwood A. (1997).** Establishing a cancer risk evaluation program. *Cancer Pract.* 5: 228–233.

[85] **Rebbeck TR, Friebel T, Lynch HT, Neuhausen SL, Veer L, Garber JE, Evans GR, Narod SA, Isaacs C, Matloff E, Daly MB, Olopade OI and Weber BL. (2004).** Bilateral mastectomy reduces breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Clin Oncol.* 22: 1055-1062.

[86] **Schrag D, Kuntz K, Garber I and Weeks I. (2000).** Expectancy gains from cancer prevention strategies for women with breast cancer and BRCA1 and BRCA2 mutations. *JAMA.* 283: 617-624.

[87] **Ozanne E, Adduci K and Esserman L. (2003).** Feasibility study of a computerized decision aid for breast cancer prevention. Paper Presented at San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antoniou, TX.

[88] **Jordan VC (1993).** A current view of tamoxifen for the treatment and prevention of breast cancer. *Br J Pharmacol.* 110: 507–517.

[89] **Curick I, Powles T and Veronesi U. (2003).** Overview of the main outcomes in breast cancer prevention trials. *Lancet.* 361: 296-300.

[90] **Burke W, Daly M, Garber J, Botkin J, Kahn MJ, Lynch P, McTiernan A, Offit K, Perlman J, Petersen G, Thomson E and Verrocchio C. (1998).** Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. II. BRCA1 and BRCA2. Cancer Genetics Studies Consortium. *JAMA.* 277: 997-1003.

[91] **Chlebowski RT, Hendrix XL and Langer RD. (2003).** Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women. *JAMA.* 289: 3243-3253.

[92] **Cho E, Spiegelman D and Hunter DJ. (2003).** Premenopausal fat intake and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 95: 1079-1085.

[93] **Zhang S, Hunter DJ and Hankinson SE. (1999).** A Prospective study of folate intake and the risk of breast cancer. *JAMA.* 281: 1632-1637.

Glossaire

Glossaire

ADN (Acide désoxyribonucléique) : support biochimique del'information génétique, en forme de double hélice composée d'une colonne vertébrale de sucre phosphate et de quatre bases azotées (A, C, G et T).

ADN polymérase : enzyme permettant de catalyser la formation d'une liaison phosphodiester entre l'extrémité 3' d'une chaine polynucléotidique constituant une amorce. les ADN polymérases assurent la synthèse ou réplication de l'ADN in vivo ou in vitro dans les réactions de PCR.

Allèle : est un fragment d'ADN.

Aneuploïdie : désigne l'état d'une cellule ou d'un individu comportant un lot de chromosomes se caractérisant par la présence ou la perte d'un ou de plusieurs chromosomes entiers par rapport au lot normal de chromosomes de l'organisme.

Antioncogène : gène suppresseur de tumeur.

Apoptose: mort cellulaire programmé, intervenant pendant le développement de l'embryon et permettant la différenciation des organes définitifs à partir des structures embryonnaires.

Appariement (de bases) : formation de liaisons hydrogène entre des paires de bases complémentaires : A avec T ou U et G avec C.

Bicaténaire : acide nucléique formé de deux chaines, les polynucléotides y sont associés par deux, et reliés par des liaisons hydrogène entre les bases complémentaires des deux chaines.

Cancer (ou tumeur maligne) : prolifération incontrôlée de cellules anormales.

Carcinogenèse = cancérogénèse : processus de développement d'un cancer.

Caryotype: carte chromosomique.

Chirurgie partie de l'art médicale qui consiste à faire avec la main ou à l'aide d'instruments certaines opérations sur le corps de l'homme.

Curage axillaire : acte qui consiste à enlever une partie ou l'ensemble des ganglions situés sous les aisselles (ganglions axillaires), le curage axillaire diminue ou ralentit la circulation de la lymphe au niveau de la région du sein opéré et du bras.

Délétion : mutation caractérisée par l'absence d'une séquence de l'ADN, entrainant la perte d'éléments d'information. La délétion peut ne concerner qu'un seul nucléotide ou s'étendre à un grand fragment de chromosome.

Dénaturation : perte de l'architecture organisée d'une macromolécule. Dans le cas de l'ADN, la dénaturation est réversible, elle est provoquée par la rupture des liaisonshydrogène, ce qui entraine la séparation des deux brins de la molécule.

Dépistage : recherche actif dans une population de signe de maladie latente, généralement à l'aide des méthodes simples et non couteuses.

Désoxyribonucléase : enzyme capable d'hydrolyser des liaisons phosohodiester dans une molécule d'ADN. Nucléase.

Diagnostic précoce : consiste à diagnostiquer des signes précurseurs et symptômes du cancer afin de faciliter le diagnostic avant que le mal ne soit à un stade avancé, ce qui permet un traitement plus léger et plus efficace.

Dommages à l'ADN: modifications qui bloquent la réplication et/ou laTranscription.

Endonucléase : enzyme capable d'hydrolyser une liaison phosphodiester à l'intérieur d'un polynucléotide .les endonucléases de restriction reconnaissent une séquence spécifique de l'ADN double brin .elles catalysent une coupure dans chaque brin, à l'intérieur du site de reconnaissance.

Épidémiologie : l'étude de la fréquence des maladies dans les populations, et des variations de cette fréquence en fonction de divers facteurs environnement, mode de vie, ou facteurs génétiques.

Epissage : opération d'excision des introns et de ligation des exons de l'ARN primaire d'un gène eucaryote.

Exon : dans un gène mosaïque, partie de l'information qui sera conservée dans l'ARN messager fonctionnel.

Exonucléase : enzyme, nucléase, capable d'hydrolyser une liaison phosphodiester à l'extrémité 5' ou 3'd'un acide nucléique.

Facteur de risque : élément qui peut favoriser le développement d'un cancer ou une récidive.

Fusion (melting) : terme parfois utilisé pour la dénaturation de l'ADN. Le point de fusion (TM) représente la température de demi dénaturation pour une séquence ADN donnée, elle dépend notamment du rapport entre les paires de bases G-C (unies par trois liaisons hydrogène) et les paires A-T, mois stable.

Gène de régulation : gène dont le produit module l'expression d'un autre gène par sa fixation sélective sur un site de régulation du gène, ou par interaction avec le produit de gène.

Gène mosaïque : gène formé de séquences codantes (exons) séparées par des séquences non codantes (introns).après transcription, l'ARN messager mature, fonctionnel, sera formé uniquement d'exons, les introns seront éliminés.

Génomes : ensembles de l'ADN d'un organisme.

Génotype : ensemble de l'information génétique d'un virus, d'une cellule, d'un organisme. Le génotype constitue le patrimoine génétique, héréditaire de tout individu. Il correspond à l'ensemble des gènes portés par l'ADN d'une cellule vivant.

Hémophilie : est une maladie génétique liée au chromosome X, elle consiste en un dysfonctionnement dans l'un des facteurs de coagulation. L'atteinte du gène du facteur VIII correspond à l'hémophilie A ; l'atteinte du gène du facteur IX à l'hémophilie B.

Hétéroduplex : molécule d'acide nucléique formée par l'appariement de deux brins d'origine différent.

Homéostasie : équilibre entre prolifération et mort cellulaire.

Homoduplex : molécule polynucléotidique réalisée par la réassociation de deux brins d'acide nucléique de même origine.

Hybridation moléculaire : formation de polynucléotides double brin par appariement des bases entre deux séquences d'origines différentes mais présentant suffisamment d'homologie.

Incidence : nombre des nouveaux d'une maladie ou de personnel tombés malade pendant une période de temps donnés dans une population déterminent.

Kb (kilobase) : unité de mesure représentant 1000 nucléotides pour un acide nucléique simple brin.

Locus : position précise d'un gène sur un chromosome donné. Les différentes formes du gène, c'est-à-dire les allèles, sont toujours trouvées dans cette même position. La précision de la localisation dépend de la méthode de cartographie utilisée.

Maligne : se dit d'une maladie présente un caractère grave et insidieux ou d'une tumeur susceptible de se généraliser et de provoquer la mort de malade.

Mammographie : est un examen radiologique permettant le dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du sein et le diagnostic des symptômes se rapportant aux pathologies de la glande mammaire.

Mastectomie : opération chirurgicale qui consiste à enlever un sein dans sa totalité pour traiter un cancer du sein .on parle dans ce cas de mastectomie totale .s'il s'agit d'enlever seulement la tumeur ou une partie du sein, on parle de tumorectomie ou de quadrantectomie.

Mastopathie : Terme générique caractérisant l'ensemble des modifications de la glande mammaire (le sein). De façon générale le mot mastopathie est employé pour désigner les proliférations bénignes ou malignes du sein. La mastose quant à elle est une affection bénigne ne s'accompagnant pas d'inflammation du sein. C'est une maladie nom cancéreuse telle que mastose Kystique.

Ménopause : arrêt de la fonction ovarienne se produisent vers la cinquantaine, et après lequel il n'y a plus ni ovulation, ni fécondation, ni menstruation.

Mésappariement : défaut d'appariement entre deux bases au sein d'une molécule d'acide nucléique bicaténaire. Ceci se produit lorsque tout autre couple que A et T ou C et G se trouvé formé.

Métastase : foyer de cellules cancéreuses, en rapport avec un cancer primitif mais développé à distance de ce dernier et sans continuité avec lui.

Mutation : modification d'une séquence d'ADN.

Neoangiogenese : un processus décrivant la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir des vaisseaux sanguins préexistants.

Néoplasie : augmentation de la prolifération et diminution de la mort cellulaire.

Néoplasme, néoplasie ou tumeur : groupes de cellules caractérisées par une prolifération non régulée (il peut être bénin ou malin).

Nucléotide : union d'une base azotée avec un sucre etun phosphate (désoxyribose 5' Phosphate).

Œstrogène : physiologie, hormone secrétée par l'ovaire, assurant la fonction, le maintien et fonctionnement des organes génitaux et des seins, chez la femme.

Oncogène : gène qui peut conférer aux cellules un état de prolifération intense, entrainant le déclenchement d'un cancer.

Pb (paire de bases) : unité de mesure de l'ADN en paire de bases.

Phase S : période de l'interphase du cycle cellulaire durant laquelle se produit la duplication de l'ADN.

Phénotype : correspond à l'ensemble des caractères somatique apparents : caractéristique physiques, biochimiques et physiologiques d'un individu, telles qu'elles sont déterminées par son génotype. Le phénotype est influencé par l'environnement dans lequel évolue l'individu.

Polymorphisme : changement dans le génome (séquence) qui est sans conséquence sur l'individu. Permet de distinguer les individus les uns des autres.

Prédisposition une prédisposition génétique est la configuration génétique d'un organisme qui le rend vulnérable à un problème de santé, l'environnement et les relations de l'organisme avec celui-ci ayant également une influence plus ou moins importante sur l'apparition ou non du problème.

Progestérone : hormonestéroïde secrétée par le corps jaune pendant la période post ovulaire du cycle, par le corps jaune gravidique au cours de la grossesse puis par le placenta jusqu' au demain de l'accouchement.

Rayons X : rayons invisibles plus ou moins arrêtés selon les différents composants du corps qu'ils traversent .les rayons qui peuvent traverser sont détectés et dessinent des images de l'intérieur du corps .les rayons X sont également appelés photons X.

Récepteur hormonal : molécule qui reconnait et capte les hormones dans le sang. Certaines cellules cancéreuses possèdent des récepteurs hormonaux .une recherche des récepteurs hormonaux est réalisée sur un fragment de tissu de la tumeur.

Récessif : allèle dont l'expression est masquée dans une cellule hétérozygote, autrement dit, un gène récessif ne s'exprime que si l'individu est homozygote pour ce gène.

Récidive : réapparition d'une maladie, plus au moins longtemps après sa guérison, en particulier par suite d'une nouvelle infection.

Recombinaison génétique : c'est la formation de nouvelles combinaisons de gènes. La réparation aléatoire des chromosomes homologues dans les cellules filles au coure de la première division de la méiose est une recombinaison (interchromosomique). Le crossing-over provoque une recombinaison (intrachromosomique). Il est possible de réaliser une recombinaison in vitro, comme la ligation de molécules d'ADN de deux origines différentes.

Renaturation : s'applique le plus souvent à la molécule d'ADN. La séparation des deux brins constitue une dénaturation réversible. La renaturation est le rétablissement spontané des laissons hydrogènes entre les bases complémentaires des deux brins.

Réparation de l'ADN : reconstitution d'une molécule d'ADN intacte lorsque celle-ci a subi une lésion ou une erreur de réplication. Les causes de lésion sont multiples (radiations, agents chimiques…), les mécanismes enzymatiques de réparation sont également très divers.

Restriction : mécanisme par lequel une bactérie restreint la capacité de reproduction d'un bactériophage en fragmentant sa molécule d'ADN. La restriction fait appel à des nucléases spécifiques, appelées endonucléases de restriction ou enzymes de restriction, qui reconnaissent des sites précis sur la molécule d'ADN.

Ségrégation : séparation des chromosomes homologues avec leur équipement allélique respectifs, recombinaisés ou non, au cours de la méiose.

Sélection : augmentation de la fréquence d'un génotype donné dans une population, en raison de son adaptation à son environnement.

Séquençage : détermination de la séquence d'un polymère biologique (ADN, ARN ou protéine).

Suppresseur de tumeur gène dont le produit contribue à contrôler la croissance et la prolifération cellulaire ; des mutations des gènes suppresseurs de tumeurs peuvent conduire à un cancer.

Test génétique : est une analyse moléculaire des gènes dont l'altération esttransmissible de génération en génération et à l'origine de cancer. Chaque famille ason anomalie « propre » (sauf dans certaines populations connues) et qui oblige àétudier l'intégralité des gènes pour chaque famille.

Transition : mutation ponctuelle par remplacement d'une base (purique ou pyrimidique) par une autre de même nature (purine remplacée par une purine ou pyrimidine par une pyrimidine).

Translocation : remaniement chromosomique par déplacement d'un fragment d'un premier chromosome vers un autre chromosome. La modification peut être si discrète, non visible sur le caryotype, détectée seulement par la les méthodes de biologie moléculaire.

Tumeur : production pathologique, non inflammatoire, de tissu de nouvelle formation.

UV : radiations faisant partie du spectre de la lumière, absorbées par les acides nucléiques, avec un maximum d'absorption pour la longueur d'onde de 260nm, susceptible de provoquer des lésions dans l'ADN. Les UV sont des agents mutagénèse.

Zygote : cellule œuf, résultant de la réunion de deux gamètes haploïdes. C'est la première cellule diploïde d'un individu, elle contient tout le matériel génétique nécessaire au développement d'un être vivant.

Réaliser par :	Thème :	Date de soutenance :
Bouhnika Ibtissem Boukerroum Amel Bouhanouna soumia	**Les mutations génétiques comme cibles pour la détection précoce dans le diagnostique de cancer**	Le : 28/06/2012

Résumé

Les mutations peuvent avoir des importantes conséquences phénotypiques ; certaines d'entre elles peuvent avoir des conséquences graves comme le cancer ou des maladies génétiques. Plusieurs techniques de biologie moléculaire sont utilisées pour identifier les différents types de mutations, et surtout dans les gènes susceptibles de cancer. Ceci permet une détection précoce des cancers, ce qui facilite de mettre en évidence le traitement le plus efficace et le plus précocement possible.

Les mutations germinales dans les gènes BRCA1 et BRCA2 sont trouvées chez approximativement 50% des malades avec le cancer de sein héréditaire. Ces mutations ont une influence importante sur la prédisposition et le développement de cancer de sein familial.

Mots clés

Mutation, cancer du sein, BRCA1, BRCA2.

Abstract

The mutations can have significant phenotypical consequences; some of them can have serious consequences like the cancer or the genetic diseases. Several techniques of molecular biology are used to identify the various types of mutations, and especially in cancer susceptibility genes. This allows an early detection of cancers, which facilitates to highlight the most effective treatment and the earlier possible.

Germline mutations in BRCA1 and in BRCA2 are found in approximately 50% of patients with inherited breast cancer. These mutations have an important influence on the predisposition and the development of familial breast cancer.

Key words

Mutations, Breast cancer, BRAC1, BRAC2.

ملخص

يمكن للطفرات الوراثية أن تعطي نتائج ظاهرية هامة ; بعض هذه الطفرات يمكن أن تؤدي إلى نتائج خطيرة كالسرطان أو الأمراض الجينية. تستعمل العديد من تقنيات البيولوجيا الجزيئية للكشف عن مختلف أنواع الطفرات، وخاصة في الجينات المسببة للسرطان مما يسمح بالكشف المبكر عن السرطان والدي يسهل وضع العلاج المبكر الممكن والأكثر فعالية.

الطفرات الجرثومية في الجيناتBRCA1وBRCA2 توجد عند حوالي 50% من مرضى سرطان الثدي الوراثي. هذه الطفرات لديها تأ ثيرمهم على الإستعداد الوراثي و على تطور سرطان الثدي العائلي.

الكلمات المفتاحية

الطفرات ، سرطان الثدي، BRCA1، BRCA2 .

Encadré par : Melle Bensam M