

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة امحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Génétique

Thème :

**Etude du corpuscule de Barr sur frottis cellulaire
de pathologies du sein**

Présenté par :

CHIHA Nadia et SALHI Sarra

Soutenu le **02/07/2016** devant le Jury composé de :

Président :	Mr. BENMOULOU D	Maitre de Conférences	UMBB
Promoteur :	M ^{me} BOUDIAF R.	Professeur	CPMC
Co-promoteur :	M ^r HAMADOUCHE T.	Maitre de Conférences	UMBB
Examineur :	Mme LANCHI.N	Maitre de Conférences	UMBB

Remerciements

Louange à **Dieu** le tout puissant qui nous a donné la santé, le courage et qui nous a guidés vers le savoir.

Merci infiniment à notre promotrice, **Mme Pr BOUDIAF Radia** qui a dirigé ce travail. On tient à vous remercier pour tout ce que vous nous avez apporté. Vous avez su nous faire partager votre expérience et nous avait guidé pour la réalisation de ce travail. Merci d'avoir cru en nous.

Merci à notre co-promoteur, **Mr Dr HAMADOUCHE Tarik**. Nous vous remercions pour votre gentillesse, votre rigueur, votre façon de travailler et surtout pour votre patience dans la correction de ce mémoire. C'est une chance inouïe d'avoir eu l'occasion de travailler sous votre direction. Vous avez tout notre respect et toute notre admiration. Merci d'avoir été présent à tout moment quand on avait besoin de vous.

Grands et respectueux remerciements à **Mme Dr FELILISA Khadidja**, pour vos entretiens, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions, et pour ne nous avoir jamais privées de votre savoir.

Merci aux membres du jury, chacun en son nom, pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury. Merci infiniment d'avoir accepté de juger notre travail.

On tient à remercier **Mr Pr ABD ELLALI**, de nous avoir accueillis au sein de son laboratoire pour effectuer une bonne partie de ce travail.

On n'oublie pas de remercier vivement, les membres de laboratoire de cytologie du CPMC, en particulier Karima pour son aide et son soutien moral

On remercie aussi tous nous camarades de la promotion 2015-2016 et leur souhaitons beaucoup de réussite.

Dédicace

Je dédie tout mon travail aussi modeste soit-il et à la grande valeur qu'il représente aux êtres qui me sont les chers :

Mes parents, mon père **Abd elhafid** et ma mère **Houria**, qui ont toujours été disponible pour moi, qui m'ont tout donné sans rien attendre en retour, qui ont épuisé mes peines, et qui ont fait de ma vie un éternel moment de bonheur, d'amour et d'affection.

A ma chère petite sœur **Manal** et mon petit frère **Souhil**.

A mes oncles : **Karim** et sa femme **Kahina**, **Bouزيد** et sa femme **Fatma**.

A Habet **Hocine** et sa femme **Hakima**.

A ma tante **Taous**.

A tous mes cousins et cousines chacun en son nom, surtout **Rabiaa** pour son soutien moral, sa gentillesse et ses encouragements.

A toutes les familles Salhi, Rabia.

A la mémoire de mes **grands-parents**. Le destin nous ne a pas laissé le temps pour jouir de ce bonheur ensemble et pour exprimer tout mon amour pour vous.

«Puisse dieu tout puissant vous accorder sa clémence, et vos accueillir dans son saint paradis»

A mon promoteur **Dr. Hamadouche Tarik** pour son aide et soutien, pour sa gentillesse, sa patience et ses précieux conseils.

A mes amies : Lamia, Nassima, Silya, Zahra, Amel, Lydia, Fatima Zohra, que j'aime beaucoup.

A mon binôme Nadia et ma chère Sabrina.

A toutes les personnes que n'aurions nommées ici, à tous ceux qui me sont chers. Je leur souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès ...

Sarra

Dédicace

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A tous ceux qui me sont chers :

Mes sœurs et mon frère.

A mes grands-parents.

A tous mes cousins et cousines.

A mon promoteur Dr. Hamadouche Tarik, pour son aide et son soutien, pour ses conseils et sa gentillesse.

A ma flamme d'encouragement qui m'a toujours poussée à bien faire, ma sœur Zahra.

A mon binôme Sarra.

A mes accompagnantes des nuit blanches de révision, de larmes d'échec et de sourires.

Spécialement à mes chères amies, la petite Sabrina et ma sœur Fatima.

A toutes mes amies et copines de chambre (Lamia, Nassima, Syla, Karima, Nawal, Meryem, Safia, Amel, Lydia, Assia) avec qui j'ai partagée des années inoubliables.

Sans oublier mes amies d'enfance.

A mon professeur de français monsieur Mohamdi et toute l'équipe.

Nadia

Liste des matières

Liste des abréviations.....	
Listes des figures et des tableaux.....	
Objectif du travail.....	1

Recherche Bibliographique

I. Introduction générale.....	2
II. Les chromosomes sexuels.....	2
II.1. Chromosome Y.....	3
II.2. Chromosome X.....	3
II.3. Maladies génétiques lié au chromosome X.....	4
II.4. Les maladies dues à la non-disjonction des chromosomes sexuels.....	4
II.4.1. Syndrome de Turner ou monosomie (45, X0).....	5
II.4.2. Syndrome de Klinefelter.....	5
II.4.3. Syndrome de 47,XXX.....	6
III. Corpuscule de Barr.....	6
III.1. Configuration de la chromatine X.....	7
III.2. Identification de la chromatine.....	7
IV. Inactivation du chromosome X.....	9
IV.1. Compensation du dosage génique entre mâles et femelles.....	9
IV.2. Inactivation du chromosome X.....	10
IV.2.1. Inactivation du chromosome X chez la souris.....	10
IV.2.2. Inactivation du chromosome X chez l'humain.....	11
IV.3. Mécanisme d'inactivation du chromosome X.....	12
IV.4. Les modifications épigénétiques liée à l'inactivation du chromosome X.....	13
IV.4.1. Modification des histones.....	13
IV.4.2. Réplication tardive.....	14

IV.4.3- La méthylation.....	15
IV.4.4. Gènes échappent à l'inactivation.....	15
V. Glande mammaire.....	16
V.1. Le sein	16
V.1.1. Anatomie.....	16
V.1.2. Histologie.....	17
V.1.3. Embryologie.....	17
V.1.4. Acinus mammaire.....	17
V.1.5.Fonction du sein.....	18
V.2. Types de pathologies retrouvées au niveau du sein	18
V.2.1-Tumeurs bénignes.....	18
V. 2.2. Tumeurs malignes.....	19
VI. Cancer du sein.....	19
VI.1. Définition du cancer du sein.....	19
VI.2. Facteurs du risque du cancer du sein.....	20
VI.3. Génétique du cancer du sein.....	20
VI.3.1. Gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein.....	20
VI.3.1.1. Gène BRCA1	20
VI. 3.1.2. Gène BRCA2.....	22
VI.3.2. Gènes mineurs de prédisposition au cancer du sein.....	23
VI. 3.2.1. Gène TP53.....	23
VI. 3.2.2. Gène PTEM.....	23
VI.3.2.3- Gène ATM.....	24

Matériel et Méthode

I. Matériel et verrerie.....	25
II. Méthodes.....	25
II.1. Consultation et prélèvement.....	25

II.1.1. Frottis d'écoulement mamelonnaire.....	26
II.1.2. Cytoponction d'une masse tumorale, d'un nodule ou d'un ganglion axillaire.....	26
II.2. Préparation des frottis cellulaires.....	26
II.2.1. Définition.....	26
II.2.2. Méthode d'étalement.....	27
II.3. Coloration de May-Grunwald-Giemsa.....	27
II.3.1. Principe.....	27
II.3.2. Colorants.....	27
II.3.3. Méthode de coloration.....	27
II.3.4. Lecteur des lames au microscope optique et analyse cytologique.....	28

Résultats et discussion

1. Répartition des patientes selon le type de lésion.....	30
2. Répartition des patientes selon l'âge.....	32
3. Corpuscule de Barr et cancer.....	34

Conclusion et perspectives	38
---	-----------

Références bibliographiques.....	39
---	-----------

Annexes.....	40
---------------------	-----------

Liste des abréviations

2n	Espèce diploïde.
10q23.31	Chromosome 10 le brin long, Bande 23, sous bande 31.
11q22.3	Chromosome 11 le brin long, Bande 22, sous bande 3.
13q12.13	Chromosome 13 le brin long, Bande 12, sous bande 13.
17q21	Chromosome 17, le brin long Bande 21.
17p13.1	Chromosome 17 le brin court, Bande 13, sous bande 1.
A	Adénine.
AC	Acétylation.
ADN	Acide désoxyribonucléique.
ARN	Acide ribonucléique.
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated.
BRCA1	Breast cancer type1 susceptibility protein.
BRCA2	Breast cancer type2 susceptibility protein.
BRCA3	Breast cancer type3 susceptibility protein.
CSEH	Cellules souches embryonnaires humaines.
G	Guanine.
G1	Phase Gap1 du cycle cellulaire.
G2	Phase Gap2 du cycle cellulaire.
H3	Histone 3.
H4	Histone 4.
H3K9	Lysine 9 de l'histone H3.
H3K14	Lysine 14 de l'histone H3.
H3K27	Lysine 27 de l'histone H3.
HD	Helical Domain.
Kb	Kilobase.
Kda	Kilodalton.
LINE	Long interspersed nuclear element.
LTR	Long-terminal repeat.
Met	Méthylation.
MSY	Région du chromosome Y spécifique des males.

NLS	Nuclear Localization Signal.
NRY	Région de non recombinaison du chromosome Y.
OB1-3	Oligonucleotides DNA-Bindingfold motifs.
ORF	Open reading frames.
P53	Protéine 53.
PAR	Régions pseudoautosomiques.
Pb	Paire de bases.
PTEN	Phosphatase and TEN sinhomolog.
T	Thymine.
S	Phase de la synthèse du cycle cellulaire.
SRY	Région du chromosome Y déterminant le sexe.
Ub	Ubiquitylation.
Xa	Chromosome X actif.
Xi	Chromosome X inactif.
Xic	Centre d'inactivation du chromosome X.
Xist	X-inactif specific transcript.
XX	Cellule femelle.
XY	Cellule mâle.

Liste des tableaux et des figures

Liste des figures

Figure 1	Morphologie du chromosome X inactif.	Page 09
Figure 2	Les différents types de modifications présentes sur les chromosomes X.	Page 14
Figure 3	Structure histologique normale du sein.	Page 17
Figure 4	Nombre de catégories de lésions selon les tumeurs bénignes de notre série.	Page 31
Figure 5	Nombre de catégories de lésions selon les tumeurs malignes de notre série.	Page 31
Figure 6	Répartition des lésions mammaires bénignes selon l'âge des patientes.	Page 33
Figure 7	Répartition des lésions mammaires malignes selon l'âge des patientes.	Page 34
Figure 8	Morphologie du chromosome X inactif dans les cellules bénignes du sein.	Page 35

Liste des tableaux

Tableau I	Différents facteurs de risque du cancer du sein.	Page 16
Tableau II	Répartition des lésions mammaires bénignes selon le type cytologique de tumeur.	Page 30
Tableau III	Répartition des lésions mammaires malignes selon le type cytologique de tumeur.	Page 31
Tableau IV	Répartition des lésions mammaires bénignes selon l'âge des patientes.	Page 32
Tableau V	Répartition des lésions mammaires malignes selon l'âge des patientes.	Page 33

OBJECTIF DU TRAVAIL

Le chromosome X inactif, connu également sous le nom de corpuscule de Barr, fournit un exemple remarquable d'un point de repère nucléaire épigénétique qui est perturbé dans le cancer.

Plusieurs études ont en effet montré que le corpuscule de Barr disparaissait dans les cellules tumorales et que de nombreux gènes liés au chromosome X, dont certains apparemment échappent à l'inactivation, sont potentiellement impliqués dans le cancer (Moore and Barr, 1957; Sandberg, 1983; Moertel *et al.*, 1993), d'où l'intérêt de les identifier pour élucider leur rôle dans le cancer.

Nous avons donc pris comme point de départ de notre étude ces données, en nous focalisant sur l'observation en microscopie optique de lames de frottis cellulaires des pathologies du sein de patientes admises à l'Unité de Dépistage du Cancer du Sein au niveau du Service de Cytologie du Centre Pierre et Marie Curie (CPMC) d'Alger, avec pour but la vérification de la présence du corpuscule de Barr dans les cellules normales et malignes du sein.

Il s'agit tout d'abord d'une étude rétrospective, après consultation des registres d'archives (années 2006 jusqu'à 2016), des dossiers cliniques des patientes, suivie de la réalisation de 56 lames de frottis cellulaires, sélectionnées et réparties en deux groupes :

- Un premier groupe constitué de 23 lames et correspondant aux frottis cellulaires des lésions bénignes du sein.

- Un deuxième groupe constitué de 33 lames et regroupant les frottis cellulaires des lésions mammaires malignes.

L'objectif de ce travail était donc de vérifier la présence ou l'absence du corpuscule de Barr dans les frottis cellulaires des lésions précancéreuses et cancéreuses du sein, tout en esquissant des analyses comparatives et corrélatives.

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

Dans les cellules somatiques féminines, il existe deux chromosomes X, dont seul un est actif, l'autre étant inactivé par l'action d'un ARN non-codant (*Xist*). Une dérégulation de l'inactivation du chromosome X peut entraîner l'apparition de cancers. En effet, la cellule constitue un environnement très équilibré qui supporte mal les variations au niveau de la quantité de ses constituants, qui peuvent être à l'origine de graves conséquences.

Le chromosome X inactif (Xi), qui forme alors sur la membrane nucléaire une masse dense appelée corpuscule de Barr, est un excellent exemple de perturbation épigénétique en cas de cancer. Cependant, le statut épigénétique de X inactif dans le cancer du sein et les effets de la disparition du corps de Barr sur la compensation de dose des gènes portés par le chromosome X restent peu compris.

Des études semblent révéler une instabilité épigénétique majeure du chromosome X inactif, accompagnée d'une architecture nucléaire très anormale et de perturbation globales de l'hétérochromatine, dans le cancer du sein. De plus, cette instabilité épigénétique du X inactif pourrait mener à une perturbation du dosage des facteurs régulateurs X, contribuant de fait à la tumorigénèse et /ou la progression de la maladie.

II. Chromosomes sexuels X et Y

Chez l'être humain, le nombre de chromosomes dans une cellule diploïde ($2n$) est de 46, dont 22 paires d'autosomes et une paire hétéromorphe formée par les chromosomes X et Y qui caractérisent l'un ou l'autre sexe, ce qui leur a d'ailleurs valu la dénomination de chromosomes sexuels. Alors que les femmes possèdent deux chromosomes X, les hommes ne possèdent qu'un chromosome X, le second étant le chromosome Y.

Les deux chromosomes X et Y ne sont pas homologues, présentant une grande différence en termes de taille, de position du centromère et de contenu génétique [Klug *et al.*, 1997].

II.1. Chromosome Y

Contrairement au chromosome X, le chromosome Y a une petite taille (70 Mb) avec peu de gènes (quelques dizaines), dont la plupart sont impliqués dans la spermatogenèse [Karmous, 2010].

Le chromosome Y ne sert pas uniquement à déterminer le sexe mâle chez les mammifères, mais influence aussi d'une manière importante le fonctionnement de l'organisme. Des analyses récentes ont en effet montré que de nombreux gènes et régions ayant une fonction génétique potentielle existent sur le chromosome Y, certaines de ces régions présentant des homologues sur le chromosome X. C'est le cas des régions localisées à ses deux extrémités qui peuvent s'apparier avec leurs homologues sur le chromosome X et permettre ainsi des événements de recombinaison durant la méiose. Ces régions sont appelées "régions pseudoautosomiques" (PAR) [Klug *et al.*, 1997].

En dehors de ces régions, environ 95% du chromosome Y ne s'apparie pas et ne recombine pas avec le chromosome X, raison pour laquelle cette région a d'abord été appelée région de *non recombinaison du chromosome Y* (NRY). Plus récemment, des chercheurs l'ont nommée "région du chromosome Y spécifique des mâles" (MSY). La région MSY est partagée équitablement en régions euchromatiques, qui regroupent les gènes fonctionnels, et régions hétérochromatiques, dépourvues de gènes. Un gène crucial pour la différenciation sexuelle male, appelé "région du chromosome Y déterminant le sexe" (SRY), est localisé dans l'euchromatine adjacente au petit bras du chromosome Y [Klug *et al.*, 1997].

Chez l'être humain, l'absence du chromosome Y aboutit presque toujours à une différenciation sexuelle femelle [Klug *et al.*, 1997].

II.2. Chromosome X

Le chromosome X a une grande taille (155 Mb), porte de nombreux gènes (1.098 gènes, soit 7,1 gènes par Mb) et, comme le chromosome Y, possède une région pseudo-autosomique (PAR) située aux extrémités de ses bras, ce qui permet chez l'homme des recombinaisons entre les deux chromosomes X et Y. Les gènes situés en dehors de ces régions pseudo-

autosomiques ne sont présents que sur le chromosome X et sont donc, pour leur majorité, présents en un seul exemplaire dans le génome masculin [Klug *et al.*, 1997].

Le chromosome X peut être à l'origine de différentes maladies génétiques affectant uniquement les femmes, les hommes ou les deux [Klug *et al.*, 1997; Ray, 2012].

II.3. Maladies génétiques liées au chromosome X

2 types de maladies génétiques peuvent être liés au chromosome X :

- Maladies dominantes liées à l'X : Ce sont des maladies qui apparaissent aussi bien chez l'homme que chez la femme. Pour certains phénotypes rares, les femmes semblent pourtant deux fois plus atteintes que les hommes, alors que pour d'autres elles ont une expression atténuée du phénotype. Exemples : Rachitisme vitamino-résistant hypophosphatémique, dysplasie ectodermique anhydrotique, syndrome de Rett (affection létale, où les embryons mâles sont non viables et les femelles atteintes sont stériles) [Bonneau, 2011].

- Maladies récessives liées à l'X : Ce sont les plus fréquentes des maladies liées aux chromosomes sexuels. Elles sont beaucoup plus fréquentes chez l'homme que chez la femme car celle-ci est protégée par la présence d'un deuxième X sain. Les femmes porteuses peuvent toutefois être occasionnellement atteintes, consécutivement à l'inactivation au hasard de l'un de leurs chromosomes X. Elle se manifeste donc presque exclusivement chez le sexe hétérogamétique. Exemples : Myopathies de Duchenne et de Becker, hémophilies A et B, daltonisme [Bonneau, 2011].

II.4. Maladies dues à la non-disjonction des chromosomes sexuels

Lorsque l'on considère le gain ou la perte de chromosomes, il est utile d'examiner comment de telles aberrations peuvent être générées pour aboutir à un nombre de chromosome sexuels anormal chez l'homme. Malgré un mécanisme qui inactive tous les chromosomes X sauf un par cellule dans les cellules somatiques, le gain (47, XXY) ou la perte (45, X) d'un chromosome sexuel chez un organisme diploïde altère le phénotype sauvage, entraînant respectivement le syndrome de Klinefelter ou le syndrome de Turner. Les femmes peuvent aussi être porteuses de chromosomes X supplémentaires (par exemple, 47,

XXX, 48, XXXX), et les hommes peuvent avoir un chromosome Y additionnel (47, XYY). De telles variations chromosomiques sont issues d'erreurs aléatoires produites au cours de la production des gamètes. La non-disjonction correspond à un échec du mécanisme de disjonction et de déplacement vers les pôles opposés des chromosomes ou chromatides durant la division cellulaire, entraînant une grande variété d'aneuploïdies autosomiques chez l'homme comme chez d'autres organismes [Klug *et al.*, 1997].

II.4.1. Syndrome de Turner ou monosomie X (45, X0)

Le syndrome de Turner, a été décrit pour la première fois par Turner en 1938 chez des filles, en constituant l'une des anomalies les plus fréquentes. Les parties génitales externes et les conduits génitaux internes des individus affectés par le syndrome de Turner sont femelles, mais il présente des ovaires rudimentaires, ainsi que d'autres caractéristiques anormales, comme une petite taille (généralement inférieure à 1,50 m), des lambeaux de peau à la base du cou et une poitrine peu développée. Leur intelligence est souvent normale. Les individus atteints de syndrome de Turner sont souvent monosomiques et ne sont dotés que de 45 chromosomes, dont un unique chromosome X : ils sont désignés 45, X. Ce syndrome résulte d'une non-disjonction chromosomique, correspondant à une ségrégation anormale du chromosome X à la méiose. Le syndrome de Turner est observé chez environ 1/2.000 filles à la naissance, étant donné que la grande majorité des fœtus 45, X meurent *in utero* et avortent spontanément [Klug *et al.*, 1997].

II.4.2. Syndrome de Klinefelter (47, XXY)

Le syndrome de Klinefelter est défini comme une anomalie chromosomique caractérisée par la présence d'au moins deux chromosomes X chez un sujet de phénotype masculin, dont les gonades bien qu'anormales, sont des testicules [Hazard *et al.*, 2003]. Les individus atteints de ce syndrome sont en général de grande taille et possèdent des bras et des jambes assez longs, ainsi que des pieds et des mains de grande taille. Bien qu'ils présentent un développement sexuel mâle, le développement sexuel femelle n'est pas entièrement inhibé chez ces individus. Un léger accroissement de la poitrine est fréquent, de même qu'un arrondissement de la taille. Ce développement sexuelle ambigu, appelé intersexualité, peut entraîner une vie sociale anormale. Ces individus possèdent souvent une intelligence inférieure à la moyenne. Les individus atteints de ce syndrome ont plus d'un chromosome X. Il

présente généralement deux chromosomes X et un chromosome Y (XXY), en plus des 44 autosomes. Les individus de ce caryotype sont désignés 47, XXY. La fréquence de ce syndrome est d'environ 2/1.000 naissances mâles [Klug *et al.*, 1997; Lebouc et Robaczynski, 2011].

II.4.3. Syndrome 47, XXX

La présence de trois chromosomes X s'ajoutant au nombre normal d'autosomes (47, XXX) induit une différenciation femelle. Ce syndrome, qui affecte 1/2.000 fille à la naissance, a une expression extrêmement variable. Les femelles 47, XXX sont souvent parfaitement normales, mais, dans certains cas, elles présentent des caractères sexuels peu développés, sont stériles et peuvent être affectées par un retard mental. Dans de rare cas, des caryotypes 48, XXXX et 49, XXXXX ont été observés. Les syndromes associés à ces caryotypes sont semblables mais plus prononcés que ceux associés aux caryotypes 47, XXX. Ainsi, dans de nombreux cas, la présence d'un chromosome X supplémentaire perturbe l'équilibre génétique indispensable à un développement féminin normal [Klug *et al.*, 1997].

III. Corpuscule de Barr

Le corpuscule de Barr est un composant du noyau des cellules, présent chez les femelles de mammifères. Il a été découvert en 1948 par le Docteur Murray Barr et est également appelé corps chromatinien de Barr ou chromatine sexuelle. Il est constitué d'hétérochromatine sexuelle appliquée contre la face interne de l'enveloppe nucléaire de la plupart des cellules somatiques chez les femelles de mammifères. Il correspond à l'un des deux chromosomes X inactivé, indifféremment d'origine maternelle ou paternelle. Cette inactivation (ou lyonisation) se déroule dans les stades précoces de l'embryogénèse (blastocyste) et le chromosome X inactivé est maintenu dans cet état au cours de la division cellulaire : une cellule inactivant le chromosome X paternel se divisera et donnera 2 cellules dans lesquelles le chromosome X paternel sera inactivé. Ainsi, toute la descendance d'une cellule portera le même chromosome X inactivé. On parle alors de mosaïcisme [Khabir, 2014].

III.1. Configuration de la chromatine X

La chromatine X ou corpuscule de Barr mesure environ 0.7 sur 1.2 μm et a une forme triangulaire ou plan convexe, avec la base sur la bordure nucléaire interne. Elle présente habituellement un aspect plein, mais une observation minutieuse peut révéler une structure bipartite faite de deux masses hémisphériques étroitement fixées l'une à l'autre. En utilisant une technique de microscopie avec éclairage oblique sur fond noir en lumière polarisée, on observe une structure formant des anneaux doubles, avec un coté ouvert. Bien que la nature de cette structure n'ait pas été décrite de façon détaillée, il a été suggéré qu'il s'agit d'un chromosome plissé [Takahashi, 1983].

L'hypothèse qu'un chromosome X est, chez la femme, métaboliquement inactif et visible en période inter-mitotique est maintenant universellement admise. Ohno *et al.* (1956) ont confirmé que le corpuscule de Barr était bien un chromosome X et ont remarqué que l'un des deux chromosomes X chez la femme et le chromosome X unique de l'homme se comportaient fonctionnellement comme des autosomes (euchromatiques), tandis que le deuxième chromosome X de la femme était très condensé et constituait la chromatine X [Takahashi, 1983].

De manière générale, le nombre de chromatines X est inférieur de un au nombre des chromosomes X contenus dans la cellule.

III.2. Identification de la chromatine

Chaque noyau des cellules humaines compte approximativement 6 milliards de paires de bases d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui constituent les 23 paires de chromosomes [Nye *et al.*, 2005]. L'ADN est donc fortement compacté et ordonné pour qu'il soit à la fois contenu dans un volume réduit, tout en demeurant fonctionnel. Cet ADN compacté à l'intérieur du noyau s'appelle la chromatine. On distingue alors deux types de chromatines en fonction de son état de compaction : (i) l'euchromatine, qui représente la portion du génome riche en gènes, souvent transcriptionnellement active et qui est répliquée précocement au cours de la phase S du cycle cellulaire ; et (ii) l'hétérochromatine, qui correspond à une structure condensée qui est pauvre en gènes exprimés et qui est à son tour divisée en deux catégories : l'hétérochromatine constitutive, dont les exemples types sont l'hétérochromatine

péricentrique et télomérique, et qui maintient sa structure compacte au cours de la mitose et est indépendante du type cellulaire ; et l'hétérochromatine facultative, qui est une structure plus dynamique et qui est mise en place à différents moments du développement pour réprimer certains groupes de gènes dans des lignages spécifiques [Koop *et al.*, 2003; Fan *et al.*, 2005].

En pratique, après préparation des frottis (buccaux, vaginaux, ...), plusieurs méthodes de coloration de lames peuvent être employées (comme la coloration de Guard ou la coloration à la thionine) et lorsqu'on compte la chromatine X, celle-ci ne doit lue comme positive que si elle est située en bordure du noyau, sans espace libre, et si elle mesure environ 1 µm, ayant également une coloration basophile identique à celle de la membrane nucléaire. Si l'on a affaire à des frottis avec cellules atypiques ou malignes, il faut éliminer les noyaux pycnotiques et dégénératifs avec une condensation notable de chromatine en bordure du noyau.

L'observation et le comptage des corpuscules de Barr ont un intérêt fondamental dans le diagnostic des maladies dues à des anomalies de nombre du chromosome X (**Figure 1**), puisqu'ils permettent d'établir des données importantes :

- Pas de corpuscule de Barr : Il s'agit soit d'une cellule mâle XY ou d'un syndrome de Turner XO.
- Présence d'un seul corpuscule de Barr : Il s'agit soit d'une femme ou d'un syndrome de Klinefelter.
- Présence de deux corpuscules de Barr : Il s'agit d'un syndrome triplo X [Chadwick et Willard, 2001].

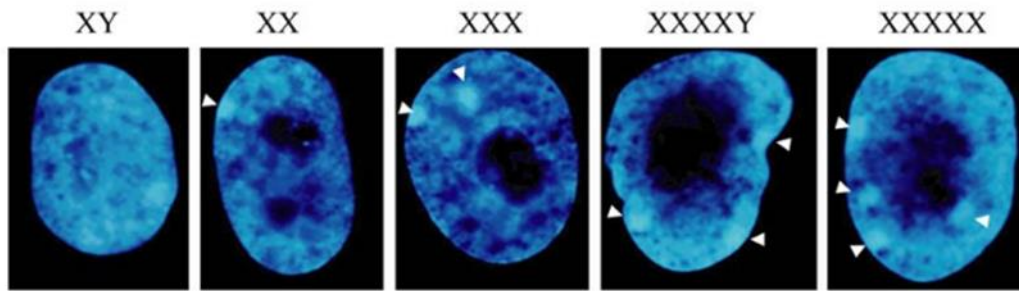


Figure 1. Morphologie du chromosome X inactif. Plusieurs lignées de fibroblastes primaires ont été marquées au DAPI (46 XY, 46 XX, 47 XXX, 49 XXXXY, et 49 XXXXX) et analysées par microscopie électronique. Les chromosomes inactifs apparaissent sous une forme dense et compacte au voisinage de la membrane nucléaire et sont indiqués par des flèches blanches. Le nombre de chromosomes X inactivés répond à la loi "n-1", dans laquelle n est égal au nombre de chromosomes X présents dans la cellule. [Chadwick et Willard, 2001].

IV. Inactivation du chromosome X

IV.1. Compensation du dosage génique entre mâles et femelles

Pour les cellules des mammifères femelles, $X + X = X$. Ce fait pourrait paraître surprenant, mais sur les deux chromosomes X que renferment ces cellules, un seul est actif, l'autre étant réduit au silence.

Deux X pour les femelles, mais un seul pour les mâles génère ainsi une balance inégale. Bien que les mâles possèdent un chromosome Y, celui-ci ne porte que très peu de gènes, qui sont essentiellement impliqués dans un même phénomène, la différenciation des voies sexuelles mâles, alors que le chromosome X en contient environ 1.500, qui interviennent dans des processus très divers. Si les deux chromosomes X des cellules femelles s'exprimaient, il y aurait donc deux fois plus de produits géniques (ARN et protéines) dans les cellules femelles que dans les cellules mâles, avec de graves conséquences.

En effet, la cellule constitue un environnement très équilibré, qui supporte mal les variations au niveau de la quantité de ses constituants. Preuve en est, par exemple, l'effet d'un chromosome surnuméraire (trisomie) où lorsque surnombre n'est pas létal, est à l'origine de nombreuses malformations.

Chez les mammifères, ce déséquilibre est donc compensé dès le tout début du développement de l'embryon femelle par l'inactivation d'un des deux chromosomes X, le choix de l'X se faisant au hasard dans chaque cellule, avec une chance sur deux que ce soit l'X paternel ou l'X maternel qui soit inactivé. Autrement dit, la plus grande partie des gènes portés par ce chromosome est éteinte. Quant à ceux qui sont exprimés, environ une centaine, ils possèdent pour la plupart un homologue sur le chromosome Y. Leurs produits sont donc présents en quantité égale chez les mâles et les femelles. L'inactivation du chromosome X représente ainsi le seul exemple connu d'extinction génique à l'échelle de presque tout un chromosome [Augui *et al.*, 2005].

IV.2. Inactivation du chromosome X

Bien qu'on sache que l'inactivation du chromosome X a lieu au cours du développement embryonnaire, des questions restent pourtant à élucider : le moment précis où cela se produit et lequel des deux chromosomes X sera choisi. Alors que le mécanisme de cette inactivation est assez bien compris chez la souris, il semble plus complexe chez l'homme [Peltier, 2010].

IV.2.1. Inactivation du chromosome X chez les souris

L'inactivation du chromosome X chez la souris se fait en deux étapes :

- Inactivation par empreinte parentale ; L'inactivation soumise à empreinte parentale tend toujours à éteindre le chromosome X d'origine paternelle et ceci dans les étapes les plus précoces du développement. Cette inactivation perdure alors dans les tissus extra-embryonnaires, tout au moins chez la souris [Xue *et al.*, 2002; Dindot *et al.*, 2004].

- Inactivation aléatoire : Plus tardivement au cours du développement, un autre processus (consécutif à la réactivation du chromosome paternel éteint précédemment) établit

une inactivation aléatoire d'un des deux chromosomes X, ceci indépendamment de l'origine sexuelle du chromosome X inactivé. Ces événements tardifs ont lieu dans les cellules pluripotentes de la masse interne de cellules. Cette inactivation est stable, car elle est transmissible aux cellules filles et l'identité du chromosome inactif est figée.

Cette succession d'extinctions et d'activations transcriptionnelles des chromosomes X au cours du développement embryonnaire s'accompagne en fait d'une expression différentielle de l'ARN Xist qui joue un rôle clé, aussi bien dans l'inactivation du chromosome X soumise à l'empreinte parentale, que dans l'inactivation aléatoire [Dindot *et al.*, 2004].

IV.2.2. Inactivation du chromosome X chez l'homme et apport des cellules souches embryonnaires

Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEH) sont issues de blastocystes des embryons de 6 à 7 jours et composés d'une centaine de cellules [Peltier, 2010]. Elles constituent un outil plus accessible que les embryons humains pour étudier les stades précoces du développement humain et offrent notamment une esquisse sur les étapes initiales de l'inactivation du chromosome X. Les premières études sur les CSEH ont révélé que, si le processus d'inactivation peut débuter dans ces cellules, il reste instable dans la majeure partie des cellules, un des deux chromosomes X étant inactivé, mais se réactivant fréquemment en culture [Shen *et al.*, 2008].

L'inactivation semble donc incomplète et pas totalement verrouillée. Ce phénomène d'instabilité n'est toutefois pas retrouvé chez la souris et les CSEH constituent ainsi un modèle unique pour appréhender la complexité de la mise en place de l'inactivation du chromosome X chez l'homme.

Des études antérieures avaient pourtant auparavant montré trois états possibles des cellules en fonction de leurs différenciations : des cellules dont l'inactivation du X était permanente, des cellules dont l'inactivation avait lieu seulement après la différenciation cellulaire, et des cellules qui n'inactivent jamais leur chromosome X même après différenciation [Peltier, 2010].

IV.3. Mécanisme d'inactivation du chromosome X

L'inactivation est initiée dans une région appelée centre d'inactivation du chromosome X "Xic" [Lynn *et al.*, 2002], l'expression génétique de cette région n'étant détectée que sur le chromosome X inactivé. La corrélation constante entre l'expression de Xic et le chromosome inactivé suggère que cette région est un élément génétique important du processus d'inactivation.

Le Xic situé dans le brin long du chromosome, en Xq13, a une longueur d'environ 1 Mb [Karmous, 2010], contenant plusieurs unités régulatrices potentielles et quatre gènes. L'un d'eux, codant le transcrite spécifique du chromosome X inactivé (*Xist*), est maintenant reconnu comme un locus critique du Xic.

Plusieurs observations intéressantes ont été faites concernant les ARN transcrits à partir de ce locus, les travaux les plus importants ayant été réalisés en étudiant le gène *Xist* de la souris. Tout d'abord, l'ARN produit est d'assez grande taille et ne présente pas de région appelée cadre de lecture ouvert (ORF) et comprenant l'information nécessaire à la traduction de l'ARN en protéine. Ainsi, cet ARN n'est pas traduit mais assure plutôt un rôle structural dans le noyau, probablement dans le mécanisme d'inactivation du chromosome X. Ces résultats suggèrent donc que l'ARN produit par le gène *Xist* s'étend et recouvre le chromosome X qui porte le gène qui la produit, créant ainsi une sorte de cage moléculaire qui le piège [Klug *et al.*, 1997].

Ce processus de recouvrement pourrait alors agir comme un signal déclenchant d'autres phénomènes, comme la méthylation. Le locus *Xist* situé sur le chromosome actif est en effet entièrement méthylé alors que sur le chromosome inactif, il n'est pas méthylé. Inversement, de nombreux gènes situés sur le chromosome X inactif sont méthylés, alors que leurs homologues dans le chromosome actif ne le sont pas. La méthylation touche aussi les histones, comme la méthylation d'un résidu lysine de l'histone H3. Aussitôt que l'ARN *Xist* s'attache à l'X qui va être inactivé, une autre modification survient également au niveau de l'histone H4 qui se retrouve acétylée. Ces modifications des histones assurent sur le long terme l'inactivation du chromosome X et aboutissent à la formation de l'hétérochromatine connue sous le nom de corpuscule de Barr [Lynn *et al.*, 2002].

Par ailleurs, *Xist* est initialement faiblement transcrit sur tous les chromosomes X. Toutefois, lorsque le processus d'inactivation commence, la transcription se poursuit et est augmentée uniquement sur le chromosome qui sera inactivé [Klug *et al.*, 1997].

IV.4. Modifications épigénétiques liées à l'inactivation du chromosome X

Les modifications épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN et la désacétylation des protéines histones, sont indispensables au phénomène d'inactivation et assurent sa stabilité. Elles constituent en effet une suite d'événements complexes dont le rôle est d'assurer la stabilité de la répression des gènes du chromosome X inactif (**Figure 2**) [Heard et Distèche, 2006].

IV.4.1. Modifications des histones

Les histones sont le siège de nombreuses modifications covalentes. En effet, du fait de leur accessibilité, les queues N-terminales des histones sont la cible de plusieurs enzymes de modifications. Ainsi, les résidus sérine et thréonine peuvent être modifiés par phosphorylation, les lysines par acétylation, ... Ces modifications, qui concernent principalement les histones H3 et H4, ont été, entre autres, associées, soit à l'activation, soit à la répression transcriptionnelle [Strah et Allis, 2000; Jenwein et Allis, 2001]. L'acétylation de plusieurs lysines des histones H3 (H3K9 et K14), l'hyper-acétylation de l'histone H4, ainsi que la méthylation de H3K4, sont par exemple plus particulièrement observées dans les régions d'euchromatine active [Bernstein *et al.*, 2005]. En revanche, la répression génique et les états hétérochromatiniens sont généralement accompagnés de l'apposition de méthylations au niveau des lysines 9 et 27 de H3 (H3K9 et H3K27), ainsi que de la lysine 20 de H4 [Sims *et al.*, 2003].

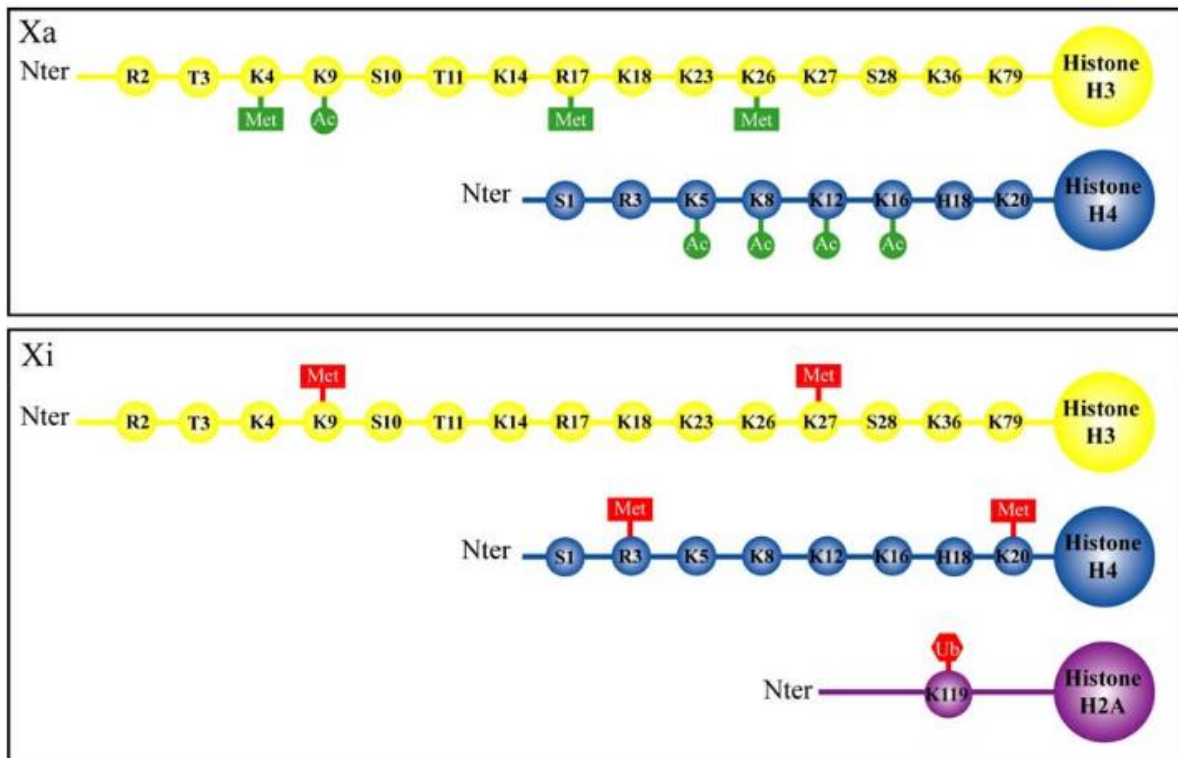


Figure 2. Différents types de modifications présentes sur les chromosomes X. L'identité et la position des résidus modifiés sont indiquées par le code à 1 lettre des acides aminés suivi du chiffre de référence à partir de l'extrémité N-terminale. Les modifications sont indiquées de la façon suivante : AC pour acétylation, Met pour méthylation et Ub pour ubiquitinylation. Les résidus lysine et arginine peuvent être méthylés, les lysines peuvent être acétylées et ubiquitinylées, et les sérines et acides glutamiques peuvent être phosphorylés. Les modifications associées à la répression génique sont indiquées en rouge et celles associées à la chromatine active sont en vert. Xa : X actif, Xi : X inactif [Heard et Disteché, 2006].

IV.4.2. Réplication tardive

Dans les cellules somatiques de mammifères, tandis que le chromosome X actif (Xa) est répliqué en début de phase S, le X inactif (Xi) l'est à la fin. Cette propriété est en outre bien conservée chez les mammifères [Evans *et al.*, 1965]. Il a été montré qu'une fois l'inactivation mise en place, la délétion conditionnelle de *Xist* sur le Xi n'a plus d'effet sur la réplication tardive de ce dernier, illustrant le fait qu'une fois passée l'initiation de l'inactivation, la réplication asynchrone est maintenue au même titre que les autres

caractéristiques du Xi, et ceci indépendamment du gène *Xist*. Néanmoins, la réplication du Xi se fait par contre plus tôt que celle du Xa dans les tissus extra-embryonnaires, ce qui va à l'encontre de ce qui est observé dans les tissus embryonnaires [Heard *et al.*, 2001].

IV.4.3. Méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN joue également un rôle fondamental dans la répression transcriptionnelle et est particulièrement essentielle pour l'inactivation du chromosome X, la répression des rétro-transposons et le développement embryonnaire.

En effet, la méthylation du Xi intervient tardivement et semble être importante pour le maintien de l'état inactif. Chez la souris, la majorité des promoteurs du Xi sont hyperméthylés, comparativement à ceux du Xa. Ceux des gènes échappant à l'inactivation ne sont aussi pas méthylés. Chez l'homme, la relation entre méthylation de l'ADN et inactivation des gènes est plus compliquée. De plus, des expériences de restriction sensibles à la méthylation suggèrent que le Xi humain est hypométhylé par rapport au Xa, ce qui pose clairement un problème dans la conception actuelle des mécanismes impliqués. Cela suggère donc que la méthylation de l'ADN n'aurait pas le même impact sur la régulation de l'expression génique chez la souris et chez l'homme [Bestor, 2000].

IV.4.4. Gènes échappant à l'inactivation

Tous les gènes du Xi ne sont pas inactivés. En effet, chez la souris, au moins 7 d'entre eux échappent à l'inactivation. Chez l'homme, il avait été initialement suggéré que 15% des gènes restaient actifs, mais cette proportion serait plutôt de l'ordre de seulement 5% [Yen *et al.*, 2007]. Cette "non-inactivation", conservée chez les euthériens, conduit ainsi à une expression bi-allélique des gènes et témoigne d'une résistance à la propagation de l'inactivation au niveau de certains loci, ce qui fait que certains gènes échappent totalement à l'inactivation. Chez l'homme, les gènes non soumis à l'inactivation sont en effet regroupés en régions échappant à l'hétérochromatinisation. Dans ces régions, la densité des séquences répétées de type LTR est notamment plus faible [Carrel et Willard, 2005].

Il a également pu être montré que les motifs (GATA)_n sont enrichis de manière spécifique au niveau des gènes échappant à l'inactivation, suggérant que l'appauvrissement en

régions LTR et l'enrichissement en motifs (GATA)n pourraient conférer au matériel génétique une résistance localisée à la propagation de l'extinction transcriptionnelle [McNeil *et al.*, 2006].

V. Glande mammaire

Le sein est soumis à d'importantes modifications tout le long de la vie de la femme et tout particulièrement au moment de la gestation, de la lactation et de l'involution. Ces étapes physiologiques s'accompagnent de trois mécanismes cellulaires très importants qui sont la prolifération, la différenciation et la mort cellulaire. La dérégulation de ces mécanismes est à l'origine des cellules cancéreuses.

V.1. Sein

V.1.1. Anatomie

Du point de vue de son organisation générale (**Figure 3**), le sein est constitué d'une série de plans que l'on peut décrire de la surface vers la profondeur [Zajdela *et al.*, 1995; Netter, 2007] :

- Le tégument mammaire : Le sein est recouvert d'une peau fine. Dans sa plus grande partie, cette peau est lisse, pâle et présente une différenciation particulière : l'aréole, au milieu de laquelle se dresse le mamelon. La région aréolaire renferme un muscle lisse comportant des fibres radiales et des fibres circulaires.

- Le tissu cellulaire sous-cutané : C'est un tissu conjonctif riche en ilots adipeux et qui se prolonge en arrière au niveau de l'espace rétro-mammaire.

- La glande mammaire : Elle est solidement fixée au tégument par des ligaments.

V.1.2. Histologie

La glande mammaire est une glande exocrine, plurilobée et lobulée, acineuse et de type agminé. En effet, chaque lobe glandulaire possède son propre canal galactophore excréteur qui débouche isolément au niveau du mamelon [Zajdela *et al.*, 1995].

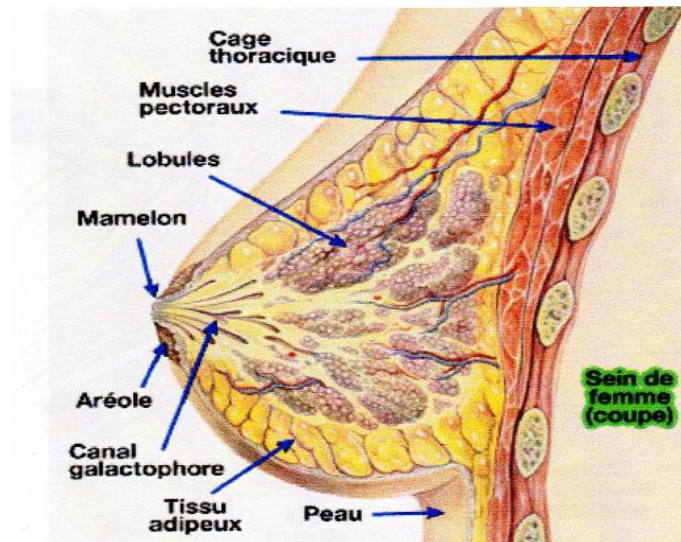


Figure 3. Structure histologique normale du sein [Girod et Czyba, 1970].

V.1.3. Embryologie

La glande mammaire est d'origine épiblastique, provenant d'un épaissement linéaire, pair et symétrique, allant du creux axillaire à la région inguinale de la crête mammaire. Celle-ci présente des nodosités au nombre de cinq à sept de chaque côté. Dans l'espèce humaine, seules les deux ébauches thoraciques se développent, tandis que les autres disparaissent [Zajdela *et al.*, 1995].

V.1.4. Acinus mammaire

L'acinus mammaire est constitué par : les cellules glandulaires, qui sont des cellules cubiques ou cylindriques à cytoplasme basophile dans lequel on observe des inclusions de forme et de nature variées ; et les cellules méo-épithéliales, qui forment une assise discontinue de cellules allongés, isolées ou groupées en amas, et jouant un rôle dans la physiologie de la lactation [Girod et Czyba, 1970].

V.1.5. Fonction du sein

La fonction principale du sein est de produire, d'emmagasiner et de sécréter du lait pour alimenter un bébé. Le lait est produit dans des lobules répartis à travers le sein lorsqu'ils sont stimulés par certaines hormones du corps de la femme après qu'elle ait accouché. Des canaux transportent le lait jusqu'au mamelon et le lait est excrété par le mamelon pour nourrir le bébé lors de l'allaitement [Société Canadienne du Cancer, 2016].

V.2. Types de pathologies retrouvées au niveau du sein

V.2.1. Tumeurs bénignes [Dupont *et al.*, 1993]

On en distingue :

- Les kystes : qu'on regroupe sous le terme de maladies fibrokystiques.
- Les fibroadénomes : qui sont des nodules arrondis ou ovalaires, cliniquement bien circonscrits, et généralement de croissance lente. En règle générale, ils surviennent chez la femme âgée de 20 à 35 ans, et représentent environ 25% des tumeurs mammaires bénignes de la femme avant 30 ans.
- Les tumeurs phyllode : qui sont des tumeurs rares. De taille variable, souvent volumineuse, elles surviennent le plus souvent chez la jeune fille. Elles sont constituées, comme les fibroadénomes, par un double contingent conjonctif et épithélial, mais s'en distinguent par une architecture foliée et surtout par l'hypercellularité et les remaniements du stroma.
- Les écoulements mamelonnaires : qui sont le plus souvent bilatéraux et multiorificiels, correspondant à des ectasies canalaire ou des galactophorites (inflammations des canaux galactophores). Les écoulements uniorificiels unilatéraux sanglants sont toujours à vérifier chirurgicalement, puisque 1/100 se dirigent vers des adénocarcinomes *in situ*.

V.2.2. Tumeurs malignes du sein

Elles sont représentées essentiellement par les carcinomes, qui sont des tumeurs malignes mammaires les plus fréquentes (98%), représentant la première cause de mortalité par cancer chez la femme [Zajdela *et al.*, 1995].

VI. Cancer du sein

Le cancer représente aujourd'hui un problème de santé publique majeur dans le monde, un décès sur 8 étant dû à un cancer. Il constitue la deuxième cause de décès après les maladies cardiovasculaires dans les pays développés et la troisième après les maladies infectieuses, parasitaires et cardiovasculaires dans les pays en voie de développement. Le cancer du sein est, quant à lui, le type de néoplasme le plus fréquent et la première cause de mortalité chez la femme. Au cours de l'année 2008, par exemple, environ 1,4 million de cas de cancers du sein ont ainsi été répertoriés chez la femme dans le monde : près de 450.000 d'entre elles ont malheureusement succombées à cette maladie durant cette même année [Bièche, 2003; American Cancer Society, 2011].

VI.1. Définition du cancer du sein

Le cancer est une tumeur liée à la prolifération à la fois anarchique et à l'extension locale, régionale et générale de la tumeur, conduisant à la mort de l'individu en l'absence de traitement. Le cancer du sein est ainsi une prolifération anormale des cellules dans la glande mammaire, constituant le plus souvent un carcinome né de l'épithélium des glandes proprement dites ou de leurs canaux [Bièche et Lidereau, 1997; Bonadona, 2009].

On distinguera les tumeurs dites bénignes, non cancéreuses, à l'inverse des tumeurs dites malignes ou cancéreuses, qui ont la capacité de migrer (métastatiques) vers d'autres régions du corps par le système circulaire ou lymphatique, formant alors de nouvelles tumeurs dans ces nouvelles zones [Nkondjock et Ghadirian, 2005; Bonadona, 2009].

VI.2. Facteurs de risque du cancer du sein

De nombreux facteurs de risque induisant le cancer du sein ont été individualisés, pouvant interagir de concert (facteurs hormonaux, environnementaux et nutritionnels) et être à l'origine de la cancérogenèse. En parallèle, il existe plusieurs facteurs protecteurs qui diminuent ce risque de cancer du sein [Nkondjock et Ghadirian, 2005] (**Tableau I**).

VI.3. Génétique du cancer du sein

Le cancer du sein héréditaire est caractérisé par un degré d'hétérogénéité clinique et génétique élevés, ce qui veut dire que des gènes différents sont associés au même phénotype (*BRCA1* dans 50%, *BRCA2* dans 30%, *TP53* dans 1%, *PTEN* dans 1%, *BRCA3* dans 18% des cas). Deux gènes majeurs avec une forte pénétrance sont toutefois principalement impliqués : *BRCA1* et *BRCA2* (identifiés respectivement en 1994 et 1995), ainsi que des gènes mineurs de prédisposition au cancer du sein, dont les gènes *TP53*, *PTEN* et *ATM*, qui sont notamment impliqués dans des formes de cancer du sein héréditaires rares [Bertwistle et Ashworth, 1999; Bièche, 2003].

VI.3.1. Gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein

VI.3.1.1. Gène *BRCA1*

Le gène *BRCA1* est cytogénétiquement localisé en 17q21 et est constitué de 24 exons (dont 22 sont codants) répartis sur 81 kb d'ADN. La caractéristique principale du gène *BRCA1* est la présence d'un grand exon central, l'exon 11, qui représente à lui seul 60% de la séquence codante de cette entité, ce qui suggère déjà qu'il pourrait être le siège de nombreuses mutations du fait même de cette énorme taille. Les introns quant à eux représentent 91% de la séquence du gène, comportant de nombreuses séquences répétées dont 42% sont de type *Alu*. Exprimé durant la phase S du cycle cellulaire, le gène *BRCA1* code pour une phosphoprotéine nucléaire [Miki *et al.*, 1994].

Tableau I. Différents facteurs de risque du cancer du sein [Nkondjock et Ghadirian, 2005].

	Augmentation du risque	Diminution du risque	Principaux mécanismes biologiques
Facteurs hormonaux	<ul style="list-style-type: none"> • Age précoce des premières règles (avant 12 ans) • Contraceptifs oraux • Traitements hormonaux substitutifs • Ménopause tardive (après 55 ans) • Age tardif de la première grossesse 		<ul style="list-style-type: none"> • Exposition précoce et prolongée au milieu hormonal • Augmentation de l'exposition aux œstrogènes • Production prolongée des hormones ovariennes
		<ul style="list-style-type: none"> • Allaitement (pendant au moins 25 ans), grossesse 	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction du nombre de cycles ovulatoires (réduction de la production d'œstrogène)
Facteurs génétiques	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie bénigne du sein • Histoire familiale de cancer du sein 		<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de l'hyperplasie des cellules épithéliales
Facteurs nutritionnels et mode de vie	<ul style="list-style-type: none"> • Cigarette • Alcool • Obésité 		<ul style="list-style-type: none"> • Production de substances carcinogènes
		<ul style="list-style-type: none"> • Activité physique régulière • Alimentation 	<ul style="list-style-type: none"> • Réduction de la production d'œstrogènes, diminution d'œstrogènes circulants et maintien de l'équilibre énergétique
Irradiation et agents physiques ou chimiques	<ul style="list-style-type: none"> • Radiations ionisantes 		<ul style="list-style-type: none"> • Dommages de l'ADN

La protéine BRCA1 est un polypeptide de 1.863 acides aminés, a un poids moléculaire de 220 kDa et présente plusieurs domaines [UMD-BRCA1 Mutation Database, 2016] :

- Domaine en doigt de zinc, (RING Finger), à l'extrémité N-terminale, riche en cystéines et pouvant interagir avec l'ADN, soit de façon directe, soit indirectement en intervenant dans les interactions protéine-protéine.

- Deux domaines NLS (Nuclear Localization Signal), de signalisation nucléaire.

- Domaine C-terminal important dans la régulation du gène *TP53* qui joue un rôle critique dans la suppression des tumeurs.

- Domaine d'export nucléaire (Nuclear Export Signal) qui faciliterait l'export de la protéine du noyau vers le cytoplasme.

VI.3.1.2. Gène *BRCA2*

Le gène *BRCA2* est localisé sur le chromosome 13, en 13q12.13, et est constitué de 27 exons (dont 26 sont codants) répartis sur 84 kb d'ADN. Deux exons centraux de grande taille (exon 10, de 1.116 pb, et 11, de 4.932 pb) représentent 59% de sa séquence codante, suggérant de fait une fréquence élevée d'altérations moléculaires y siégeant. Les introns représentent 86% de la séquence génomique, avec 47% d'éléments répétés, principalement des éléments de type *Alu* (20%), LINE et MER (27%). Le transcrit principal de *BRCA2* code pour une phosphoprotéine de 3.418 acides aminés [Wooster *et al.*, 1995].

La protéine BRCA2 est un polypeptide de 3.418 acides aminés, a un poids moléculaire de 384 kDa et contient quatre domaines ou régions majeures [UMD-BRCA2 Mutation Database, 2016] :

- 8 éléments répétés, constituant des motifs BRC, traduits à partir de l'exon 11 et interagissant avec la recombinaise RAD51 essentielle au mécanisme de recombinaison homologue de l'ADN.

- Trois motifs OB1-3 (Oligonucleotides DNA-Binding fold motifs).

- Motif tour-hélice, soulignant l'interaction de la protéine avec l'ADN.

- Domaine hélicoïdal (HD, "Helical Domain").

- 2 sites impliqués dans la localisation nucléaire de la protéine NLS ("Nuclear Localization Signal") à l'extrémité C-terminale.

VI.3.2. Gènes mineurs de prédisposition au cancer du sein

Certains cas de cancer du sein familiaux ne sont pas liés aux gènes *BRCA1* ou *BRCA2*, faisant alors intervenir des gènes de faible pénétrance avec absence d'agrégation familiale. Ces gènes sont beaucoup plus rarement impliqués dans la prédisposition au cancer du sein, d'où leur dénomination de gènes mineurs de prédisposition [Bièche, 2003].

VI.3.2.1. Gène *TP53*

Le gène *TP53*, gène suppresseur de tumeur, est situé sur le chromosome 17, en 17p13.1, couvre une région génomique de 19 kb et est constitué de 11 exons (dont 10 sont codants). Il code pour une protéine à localisation nucléaire, TP53, qui est une phosphoprotéine constituée de 393 acides aminés et d'un poids moléculaire de 53 kDa. La protéine TP53 est composée de 3 domaines fonctionnels : une région N-terminale, qui lui confère une activité de facteur de transcription (domaine de transactivation), une partie centrale, comprenant un domaine de liaison spécifique à l'ADN, et une partie C-terminale, englobant un domaine de tétramérisation et des signaux de localisation nucléaire. La protéine TP53 est donc considérée comme un facteur de transcription, bloquant le cycle cellulaire entre les phases G1 et S, et entraînant la mort cellulaire par apoptose en ciblant plusieurs gènes (*p21WAF1*, *mdm2*, *Bax*, *GADD45*, ...) [Cho *et al.*, 1994; Arrowsmith, 1999].

VI.3.2.2. Gène *PTEN*

Le gène *PTEN* (Phosphatase and TENsin-homolog) est localisée sur le chromosome 10, en 10q23.31, couvre une région génomique de 105 kb et est constitué de 9 exons. Il code pour la protéine phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase, qui a 403 acides aminés et un poids moléculaire de 47 kDa. La protéine PTEN contient un domaine tensine-like, ainsi qu'un domaine catalytique similaire à celui des protéines tyrosine-phosphatases qui ont une spécificité duale. En régulant négativement les niveaux intracellulaires de phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate dans les cellules, cette protéine agit comme un suppresseur de tumeur à travers l'inhibition de la voie de signalisation AKT/PKB [Simpson et Parsons, 2001]. Peu de mutations constitutionnelles du gène PTEN ont été identifiées dans des cancers du sein isolés, indiquant une très faible contribution de ce gène à la prédisposition au cancer du sein [Lalloo et Evans, 1999].

VI.3.2.3. Gène *ATM*

Le gène *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutated) est localisé sur le chromosome 11, en 11q22.3, couvre une région génomique de 146 kb et est constitué de 64 exons (dont 62 sont codants). Il code pour une protéine sérine-kinase de 3.056 acides aminés et de poids moléculaire 351 kDa. *ATM* serait une protéine clé dans les voies de signalisation nécessaires pour la réponse cellulaire aux dommages causés à l'ADN et pour la stabilité du génome. L'état hétérozygote pour une mutation dans le gène *ATM* prédisposerait en outre au cancer du sein précoce et tardif, avec un risque relatif d'environ 4 [Lavin *et al.*, 2004].

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel et verrerie

Le matériel et la verrerie utilisés sont relativement simples, disponibles dans n'importe quel laboratoire d'histo- et cytopathologie, et se composent de :

- Lames de verre.
- Seringues.
- Aiguilles stériles de 6/10^e de diamètre et de 25 mm de longueur.
- Bacs pour la coloration.
- Microscope optique.
- Centrifugeuse.

II. Méthodes

II.1. Consultation et prélèvements

Les malades sont reçus, munis d'une fiche de renseignements, dont un modèle est porté en annexe, sur laquelle sont mentionnés : le nom, le prénom, l'âge, le sexe, l'âge des premières règles et de la première grossesse, le nombre de grossesses, l'utilisation de contraceptifs, les antécédents familiaux de cancer ou de toute autre pathologies, et l'aspect clinique de la lésion avec une échographie ou une mammographie, dont les types de lésions sont classées selon cinq degrés : ACR1, ACR2, ACR3, ACR4 ou ACR5 (les trois premiers sont des lésions bénignes, le quatrième est suspect, et le dernière est maligne mais reste toujours à confirmer par des analyses cytologiques).

Les patientes sont confortablement installées en position allongée et l'utilisation d'une aiguille très fine rend l'examen peu douloureux. Le médecin qui pratique l'examen contrôle immédiatement la qualité du prélèvement. Il détermine le nombre de ponctions nécessaires pendant que l'infirmière comprime le point de ponction pour éviter tout saignement. La durée de l'examen est d'environ 10 minutes. Les techniques de prélèvement varient en fonction des motifs de consultation.

II.1.1. Frottis d'écoulement mamelonnaire

Le principe consiste, par pression du sein, à provoquer un écoulement mamelonnaire. Le liquide obtenu est immédiatement étalé sur des lames de verre.

II.1.2. Cytoponction d'une masse tumorale, d'un nodule ou d'un ganglion axillaire

La cytoponction effectuée permet l'analyse de cellules par ponction sous échographie d'un nodule liquide (analyse du liquide de ponction) ou solide. Après désinfection cutanée, sous échographie, la lésion à ponctionner est immobilisée entre l'index et le majeur, et, à l'aide d'une aiguille fine, sont effectués des mouvements de va-et-vient dans le tissu tumoral. Les prélèvements sont effectués sans anesthésie locale pour ne pas nuire à la qualité de l'analyse.

Le matériel contenu dans l'aiguille est ensuite refoulé par une seringue sur une lame, puis étalé.

Une deuxième ponction est pratiquée de la même façon dans une autre direction de la tumeur.

Pour ce qui concerne les liquides issus des formations kystiques, ceux-ci sont recueillis dans un flacon et centrifugés avant d'être étalés.

II.2. Préparation des frottis cellulaires

II.2.1. Définition

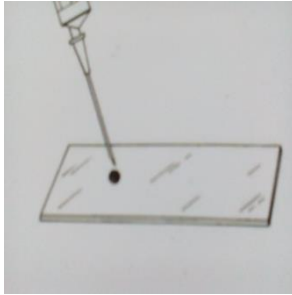
Un frottis cellulaire est l'étalement, sur une lame de verre, d'un liquide ou de cellules prélevées, pour permettre leur examen au microscope après coloration appropriée.

Le prélèvement étalé sur les lames est séché à l'air libre puis coloré au May-Grünwald-Giemsa (MGG).

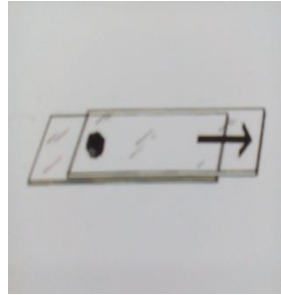
La lecture des lames colorées se fait au microscope optique au grossissement x10, puis x25, x40 et x100.

II.2.2. Méthode d'étalement

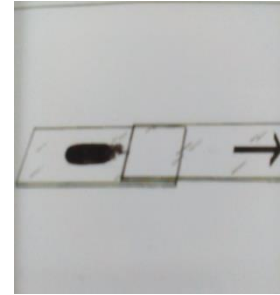
1. Le matériel cellulaire est déposé sur l'extrémité d'une lame porte-objet.
2. Le matériel est légèrement aplati sous une autre lame porte-objet, puis avancé délicatement sous celle-ci vers l'extrémité opposée.
3. Le frottis achevé est homogène.



1



2



3

II.3. Coloration de May-Grunwald-Giemsa (MGG)

II.3.1. Principe

Avant coloration des lames, le frottis cellulaire doit être fixé et séché à l'air. La coloration de May-Grunwald-Giemsa repose alors sur l'action complémentaire de deux colorants neutres et sur l'affinité des éléments cellulaires pour des colorants acides (acidophiles) ou basiques (basophile).

II.3.2. Colorants

- **Colorant May-Grunwald** : Il contient : un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, le bleu de méthylène sous forme d'éosinate de bleu de méthylène.
- **Colorant Giemsa** : Il contient : un colorant acide, l'éosine, et un colorant basique, les azurs de méthylène sous forme d'éosinate d'azur de méthylène.

II.3.3. Méthode de coloration

1. Coloration au May-Grunwald :

- Placer les lames du frottis horizontalement dans un bac de coloration.
- Verser sur les lames le colorant May-Grunwald, jusqu'à ce que les lames soient entièrement recouvertes.
- Laisser agir 7 minutes.
- Rejeter le colorant puis rincer à l'eau du robinet.

2. Coloration au Giemsa :

- Dans une éprouvette graduée, préparer la dilution : 18 de colorant Giemsa et ajouter de l'eau du robinet jusqu'à 85. Dès que les lames sont prêtes, verser le contenu de l'éprouvette dans le bac de coloration jusqu'à ce que les lames soit entièrement recouvertes du colorant.
- Laisser agir 20 minutes (coloration lente).
- Rincer à l'eau du robinet.

3. Séchage :

- Laisser sécher les lames à l'air pendant quelques minutes, en position inclinée après avoir essuyé la face inférieure de la lame avec du papier filtre.
- Une fois les lames prêtes, s'ensuit l'examen microscopique du frottis cellulaire (aux grossissements x10, x25, x40 et x100).

II.3.4. Lecture des lames au microscope optique et analyse cytologique

L'analyse au microscope des prélèvements cytologiques mammaires à l'aiguille fine contribuent au diagnostic de la lésion, chacun des grossissements apportant des informations spécifiques mais complémentaires :

- Le grossissement x10 permet d'examiner le frottis dans son ensemble pour déterminer la quantité des cellules et leur mode de distribution.
- Le grossissement x 25 permet d'étudier plus en détail :
 - La taille, la forme et l'épaisseur des amas cellulaires
 - La distribution des cellules à l'intérieur des amas.

- La répartition de la chromatine nucléaire.
- La présence ou l'absence de nucléoles.
- La présence ou l'absence de nécrose.

Ce grossissement permet dans la majorité des cas d'établir un diagnostic.

- Le grossissement x40 est parfois utile pour une meilleure appréciation de la chromatine des cellules. Des grossissements supérieurs ne sont pas souhaitables, car différents composants des cellules, même normaux, sont amplifiés et rendent parfois le diagnostic plus difficile, voire erroné.
- Le grossissement x100 a permis, dans notre étude, de visualiser le corpuscule de Barr dans les pathologies bénignes mammaires.

RESULTATS ET DISCUSSION

Durant notre travail de fin d'étude, nous avons eu à analyser 56 cas de tumeurs mammaires, qui ont été observés de 2006 à 2016.

Les données histopathologiques nous ont permis de répartir ces tumeurs selon leur type cytologique et l'âge de la patiente au moment de la consultation :

1. Répartition des patientes selon le type de lésion

Sur les 56 cas observés, nous avons pu noter que 23 correspondaient à des tumeurs bénignes (soit environ 41%), tandis que 33 patientes avaient des tumeurs malignes (soit approximativement 59%), soulignant malheureusement une fréquence plus élevée de ce dernier type de tumeurs (**Tableaux II et III, Figures 4 et 5**).

Les tumeurs bénignes se répartissaient elles-mêmes en 3 catégories : 16 cas (soit 28%) d'adénofibromes, 6 cas (soit 11%) d'adénomyxomes, et 1 seul cas (soit 2%) de kystes, montrant de fait une occurrence plus élevée de la première catégorie de tumeurs bénignes (**Tableau II et Figure 4**).

Les tumeurs malignes, plus nombreuses, se répartissaient quant à elles, en 2 catégories distinctes, représentées par : 26 cas (soit 47%) d'adénocarcinomes, 7 cas (soit 12%) d'adénopathies, et individualisant ainsi un nombre plus élevé d'adénofibromes (**Tableau III et Figure 5**).

Tableau II. Répartition des lésions mammaires bénignes selon le type cytologique de tumeur.

Lésions	Nombre de cas	Pourcentage
Adénofibromes	16	28%
Adénomyxomes	6	11%
Kystes	1	2%
Total	23	41%

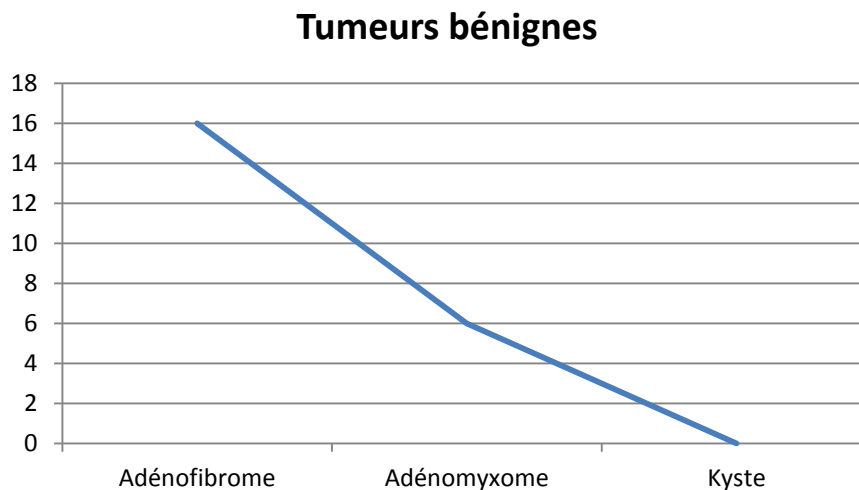


Figure 4. Nombre de catégories de lésions selon les tumeurs bénignes de notre série.

Tableau III. Répartition des lésions mammaires malignes selon le type cytologique de tumeur.

Lésions	Nombre de cas	Pourcentage
Adénocarcinomes	26	47%
Adénopathies	7	12%
Total	33	59%

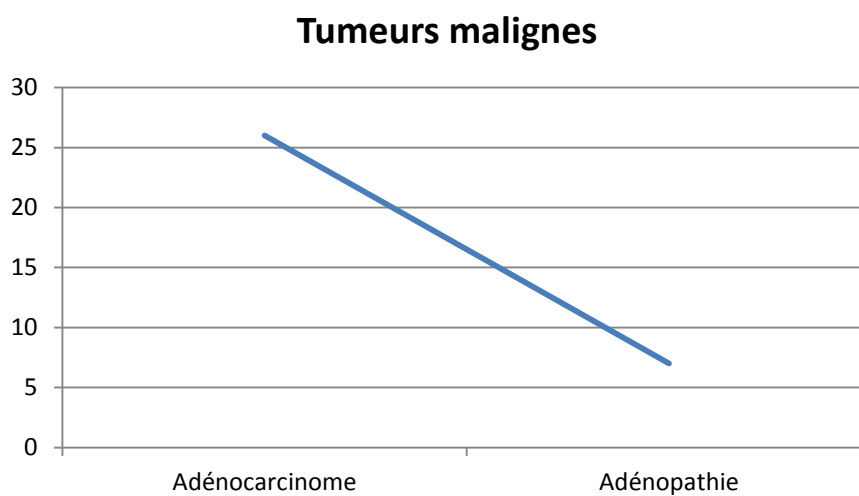


Figure 5. Nombre de catégories de lésions selon les tumeurs malignes de notre série.

2. Répartition des patientes selon l'âge

Sur les 56 cas observés, nous avons pu répartir les lésions mammaires, bénignes ou malignes, selon l'âge des patientes au moment de la consultation (**Tableaux IV et V, Figures 6 et 7**).

Pour ce qui concerne les tumeurs mammaires bénignes, les tranches d'âge qui étaient les plus concernées dans notre série de patientes étaient celles de [20-30] ans et [30-40] ans, avec respectivement 9 cas (soit 39%) et 7 cas (soit 31%), soit un âge relativement jeune (**Tableau IV et Figure 6**).

La raison la plus probable de l'apparition de ces pathologies à ces âges semblerait être une activité hormonale intense qui caractérise cette période de vie des femmes et qui influencerait ainsi, de manière directe ou indirecte, sur l'apparition de telles lésions, les adénofibromes apparaissant les plus souvent rencontrés.

Tableau IV. Répartition des lésions mammaires bénignes selon l'âge des patientes (ADF, adénofibrome, ADM, adénomyxome).

Age	Nombre de cas	Type de lésion	Pourcentage
<20 ans	3 cas	2 cas : ADF 1 cas : ADM	13%
[20-30] ans	9 cas	6 cas : ADF 3 cas : ADM	39%
[30-40] ans	7 cas	5 cas : ADF 2 cas : ADM	31%
[40-50] ans	3 cas	3 cas : ADF	13%
[50-60] ans	1 cas	1 cas : Kyste	4%
Total	23	16 cas : ADF 6 cas : ADM 1 cas : Kyste	100%

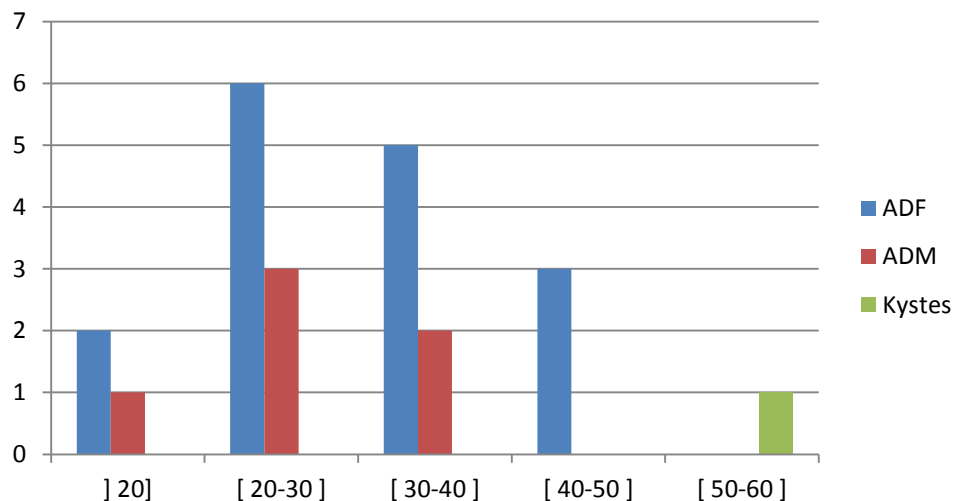


Figure 6. Répartition des lésions mammaires bénignes selon l'âge des patientes (ADF, adénofibrome, ADM, adénomyxome).

Quant aux tumeurs mammaires malignes, les tranches d'âge qui étaient les plus concernées dans notre série de patientes étaient celles de [40-50] ans, avec 14 cas (soit 43%), soit un âge plus tardif (**Tableau V** et **Figure 7**). L'adénocarcinome était en outre est le type de pathologies mammaires le plus fréquente identifié, quoique son étiologie restait obscure.

Tableau V. Répartition des lésions mammaires malignes selon l'âge des patientes (ADK, adénocarcinome, ADP, adénopathie).

Age	Nombre de cas	Type de lésion	Pourcentage
[20-30] ans	3 cas	ADK	9%
[30-40] ans	7 cas	5 cas : ADK 2 cas : ADP	21%
[40-50] ans	14 cas	11 cas : ADK 3 cas : ADP	43%
[50-60] ans	8 cas	6 cas : ADK 2 cas : ADP	24%
[60-70] ans	1 cas	ADK	3%
Total	33 cas	26 ADK 7 ADP	100%

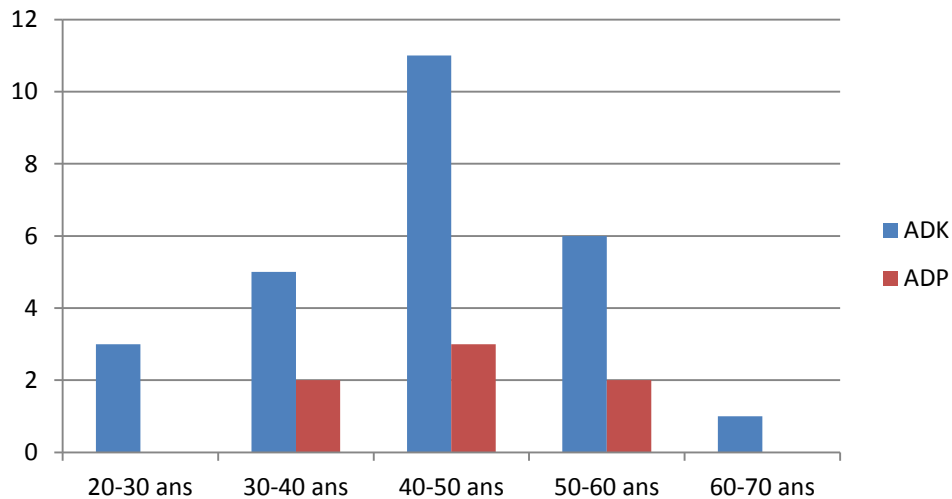


Figure 7. Répartition des lésions mammaires malignes selon l'âge des patientes (ADK, adénocarcinome, ADP, adénopathie).

3. Corpuscule de Barr et cancer

L'étude que nous avons réalisée et qui a porté sur l'observation des noyaux de cellules de 56 lames obtenues à partir de frottis cellulaires a permis de caractériser 23 cas (soit 41%) avec une cytologie bénigne vis-à-vis du cancer du sein, alors que 33 cas (soit 59%) individualisaient une cytologie maligne.

La mise en évidence de corpuscules de Barr normale a pu être effective pour 18 lames sur les 23 analysées concernant les cytologies bénignes, représentant ainsi un pourcentage de l'ordre de 78%, tandis que les 5 autres lames (soit approximativement 22%) ne permettaient pas d'observer ce type d'organisation structurale/fonctionnelle (**Figure 8**).

De manière surprenante, dans le cas des cytologies malignes, nous n'avons pu caractériser aucun organisation de type corpuscule de Barr pour l'ensemble des 33 lames de frottis cellulaires examinées.

Les résultats que nous avons obtenus montrent de manière extrêmement significative une différence frappante entre les deux groupes (tumeurs bénignes et tumeurs malignes) pour ce qui concerne la présence du corpuscule de Barr.

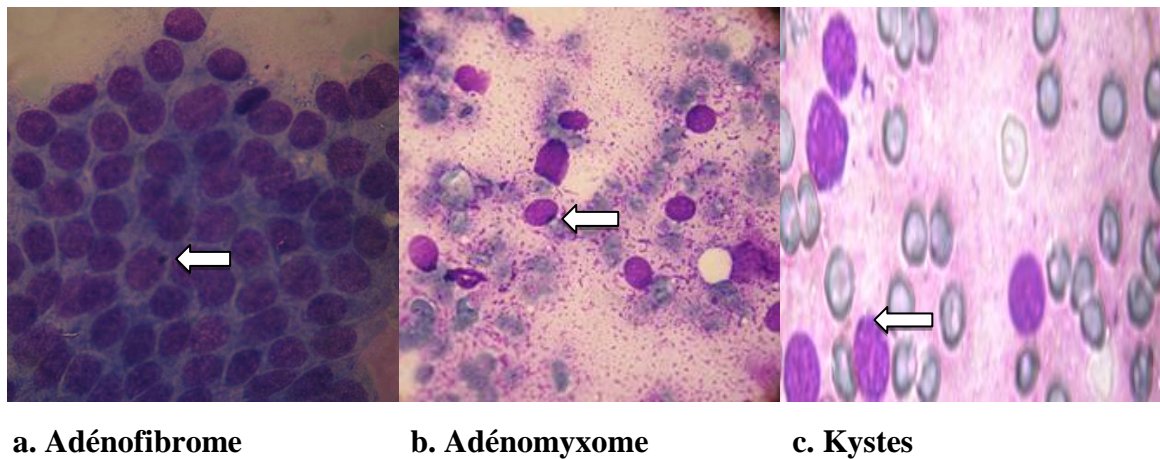


Figure 8. Morphologie du chromosome X inactif dans les cellules bénignes du sein, mise en évidence après coloration MGG et analysée par microscope optique. Les chromosomes inactifs apparaissent sous une forme dense et compacte au voisinage de la membrane nucléaire et sont indiqués par des flèches blanches.

Ce sont ainsi la majorité des tumeurs bénignes (près de 80%) qui montraient cette condensation particulière de l'un des deux chromosomes X qu'est le corpuscule de Barr, certes en dessous de ce que l'on se serait attendu à trouver si les cellules étaient tout à fait normales et où le phénomène de lyonisation concerne toutes les cellules féminines, mais différenciant de manière extrêmement caractéristique les tumeurs malignes où le corpuscule de Barr était absent dans les cellules cancéreuses du sein.

Bien que la taille de notre série de patientes soit réduite, on pourrait être amenées à croire que l'absence du corpuscule de Barr serait un marqueur cytogénétique important dans le processus tumoral dans les pathologies du sein, constituant un indicateur de la malignité de la tumeur chez la femme.

En effet, l'absence caractéristique du corpuscule de Barr pour les tumeurs mammaires malignes pencherait en faveur d'un type malin de tumeur du sein, tandis que la présence du corpuscule de Barr pourrait d'emblée écarter cette situation et suggérer que la tumeur est bénigne.

Ces observations méritent toutefois d'être approfondies, notamment en étudiant un nombre plus conséquent de patientes, mais également en réalisant un nombre plus important de frottis cellulaires par patiente.

Le corpuscule de Barr observé dans les cellules d'un individu de sexe féminin n'est autre que l'un des deux chromosomes X (paternel ou maternel) inactivé au stade précoce de l'embryogenèse (hypothèse soulevée par Mary Lyon dès 1961), inactivation qui reste d'ailleurs stable dans la descendance d'une cellule donnée.

L'absence du corpuscule de Barr peut alors traduire trois phénomènes distincts :

(i) Une réactivation du chromosome X. Une réactivation de gènes liés au chromosome X a en effet été déjà décrite dans le contexte de la cancérogenèse, notamment la réactivation de gènes liés au chromosome X dans une lignée de cellules de cancer de l'ovaire, un cancer que l'on retrouve d'ailleurs fréquemment associé au cancer du sein (Kawakami *et al.*, 2004), de même que dans les tumeurs mammaires, l'hypométhylation et l'expression anormale de gènes liés au chromosome X a pu être démontrée le chromosome X inactif (Richardson *et al.*, 2006).

(ii) Une perte du chromosome X. La perte du chromosome X en entier, et probablement le chromosome X inactif, a été décrite dans plusieurs cas cancers, soulignant alors que l'absence du corpuscule de Barr était due à la perte du chromosome X inactif. Les tumeurs mammaires liées à des altérations moléculaires affectant le gène suppresseur de tumeur BRCA1 indiquent d'ailleurs que l'absence du corpuscule de Barr était généralement due à une perte génétique du chromosome X inactif (Sirchia *et al.*, 2005), alors que les caractéristiques de croissance et de division même des cellules tumorales apportent une complexité additive à ce phénomène inobservable de corpuscule de Barr puisque le nombre élevé de cellules en mitose fait que la probabilité de rencontrer le corpuscule de Barr diminue et qu'il n'est visible qu'en interphase.

(iii) Une instabilité génétique, celle-ci ayant été clairement démontré comme une cause de la perte de corpuscule de Barr (Liu et Ganesant, 2002).

Il nous appartient donc d'explorer plus loin l'ensemble de ces possibilités, que ce soit sur un plan purement technique et opératoire, en élargissant le nombre de patientes étudiées, le nombre de lames analysées par patiente et la reproductibilité de ces observations, tout autant que sur un plan génétique et épigénétique, en testant l'expression de gènes localisés sur le chromosome X (notamment des comparaisons d'expression génique cellule normale/cellule cancéreuse pour les deux catégories de tumeurs, bénignes et malignes), en réalisant des approches de cytogénétique moléculaire (telle la FISH, Fluorescent *In Situ* Hybridization) pour mettre en évidence d'éventuelles aberrations chromosomiques (délétions ou autres) fréquemment rencontrées quel que soit le type de cancer, ou l'analyse de l'instabilité génétique couramment rencontrée dans les cancers, que ce soit en culture cellulaire ou au sein même de la tumeur des patientes.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a porté sur l'inactivation du chromosome X chez la femme, un processus à partir duquel un des deux chromosomes X est inactivé.

Le corpuscule de Barr est la signature cytologique de cette inactivation, et c'est alors le chromosome X inactif qui adopte cette conformation.

Il revêt un grand intérêt pour le diagnostic des anomalies du nombre du chromosome X, car il peut être facilement visualisé dans le noyau des cellules grâce à des méthodes de coloration telle que celle de May-Grunwald-Giemsa (MGG).

Des études ont particulièrement montré que le corpuscule de Barr disparaissait dans les cas de cancer, notamment celle de Moore et Barr (1957), qui ont observé la disparition du corpuscule de Barr dans le cancer du sein.

Il est donc nécessaire de comprendre toutes les particularités du mécanisme d'inactivation du chromosome X, et tous les facteurs qui le stimulent et l'inhibent, ce mécanisme pouvant alors être utilisé à des fins thérapeutiques telles que :

- l'inactivation de gènes ou de tout un autosome surnuméraire, notamment pour révolutionner le traitement des trisomies comme la trisomie 21.

- l'inactivation de gènes mutés de prédisposition au cancer, tels que *BRCA1* ou *BRCA2* dans le cancer du sein.

- l'inactivation du gène muté chez les sujets hétérozygotes pour les maladies dominantes où l'expression du chromosome qui porte l'allèle normal pourra alors atténuer la pathologie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- American Cancer Society (2011) Global cancer facts and figures. 2nd Edition. Atlanta, USA
- Arrowsmith, C.H. (1999) Structure and function in the p53 family. *Cell Death Differ.* **6**: 1169-1173.
- Augui, S., Heard, E., Klingler, C. (2005) Le chromosome X maître de silence. *La Recherche* **385**: 34.
- Bernstein, E., Allis, C.D. (2005) RNA meets chromatin. *Genes Dev.* **19**: 1635-1655.
- Bertwistle, D., Ashworth, A. (1999) The pathology of familial breast cancer. How do the functions of BRCA1 and BRCA2 relate to breast tumour pathology? *Breast Cancer Res.* **1**: 41-47.
- Bestor, T.H. (2000) The DNA methyltransferases of mammals. *Hum. Mol. Genet.* **9**: 2395-2402.
- Bièche, I. (2003) Biologie moléculaire des cancers. *Immuno-analyse Biol.* **19**: 13.
- Bièche, I., Lidereau, R. (1997) Génétique somatique du cancer du sein. *Bull. Cancer* **84**: 83-96.
- Bonneau, D. (2011) Hérité monogénique. Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. Université Médicale Virtuelle Francophone. Angers.
- Carrel, L., Willard, H.F. (2005) X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature* **434**: 400-404.
- Chadwick, B.P., Willard, H.F. (2001) Histone H2A variants and the inactive X chromosome: identification of a second macroH2A variant. *Hum. Mol. Genet.* **10**: 1101-1113.
- Cho, Y., Gorina, S., Jeffrey, P.D., Pavletich, N.P. (1994) Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex : Understanding tumorigenic mutations. *Science* **265**: 346-355.
- Dindot, S.V., Farin, P.W., Farin, C.E., Romano, J., Walker, S., Long, C., Piedrahita, J.A. (2004) Epigenetic and genomic imprinting analysis in nuclear transfer derived *Bos gaurus/Bos taurus* hybrid fetuses. *Biol. Reprod.* **71**: 470-478.
- Dupont, W.D., Parl FF, Hartmann WH, Brinton, L.A., Winfield, A.C., Worrell, J.A., Schuyler, P.A., Plummer, W.D. (1993) Breast cancer risk associated with proliferative disease and atypical hyperplasia. *Cancer* **71**: 1258-1265.
- Evans, H.J., Ford, C.E., Lyon, M.F., Gray, J. (1965) DNA replication and genetic expression in female mice with morphologically distinguishable X chromosomes. *Nature* **206**: 900-903.
- Fan, Y., Nikitina, T., Zhao, J., Fleury, T.J., Bhattacharyya, R., Bouhassira, E.E., Stein, A., Woodcock, C.L., Skoultschi, A.I. (2005) Histone H1 depletion in mammals alters global chromatin structure but causes specific changes in gene regulation. *Cell* **123**: 1199-1212.
- Gird, C., Czyba J.C. (1970) Cours sur la biologie de la reproduction. Edition SIMEP, Villeurbanne, France.
- Heard, E., Disteché, C.M. (2006) Dosage compensation in mammals : Fine-tuning the expression of the X chromosome. *Genes Dev.* **20**: 1848-1867.
- Heard, E., Rougeulle, C., Arnaud, D., Avner, P., Allis, C.D., Spector, D.L. (2001) Methylation of histone H3 at Lys-9 is an early mark on the X chromosome during X inactivation. *Cell* **107**: 727-738.
- Jenuwein, T., Allis, C.D. (2001) Translating the histone code. *Science* **293**: 1074-1080.

- Jorde, L.B., Carey, J.C., Bamshad, M.J., White, R.L. (2002) Génétique médicale. Ed. Elsevier/Masson, Paris, France.
- Kawakami, T., Zhang, C., Taniguchi, T., Kim, C.J., Okada, Y., Sugihara, H., Hattori, T., Reeve, A.E., Ogawa, O., Okamoto, K. (2004) Characterization of loss-of-inactive X in Klinefelter syndrome and female-derived cancer cells. *Oncogene* **23**: 6163-6169.
- Khabir, L. (2014) Corpuscule de Barr, un marqueur du sexe féminin. <http://www.santetn.com/component/k2/item/2609-corporcule-de-barr-un-marqueur-du-sexe-f%C3%A9minin>
- Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A. (1997) Concepts of genetics. 8th edition. Pearson Education Inc., Prentice Hall, USA.
- Koop, R., Di Croce, L., Beato, M. (2003) Histone H1 enhances synergistic activation of the MMTV promoter in chromatin. *EMBO J.* **22**: 588-599.
- Laloo, F., Gareth, D., Evans, R. (1999) The pathology of familial breast cancer. Clinical and genetic counselling implications of breast cancer pathology. *Breast Cancer Res.* **1**: 48-51.
- Lavin, M.F., Scott, S., Gueven, N., Kozlov, S., Peng, C., Chen, P. (2004) Functional consequences of sequence alterations in the *ATM* gene. *DNA Repair* **3**: 1197-1205.
- Lebouc, I., Robaczynski, L. (2011) Le syndrome de Klinefelter chez l'enfant : Analyse du langage oral et de la communication. Mémoire de Certificat de Capacité d'Orthophonie. Faculté de Médecine de Lille 2, Lille, France
- Liu, Y., Ganesant, T.S. (2002) Tumour suppressor genes in sporadic epithelial ovarian cancer. *Reproduction* **123**: 341-353.
- Takahashi, M. (1983) Atlas en couleur de cytologie du cancer. Edition Vigot, Paris, France.
- McNeil, J.A., Smith, K.P., Hall, L.L., Lawrence, J.B. (2006) Word frequency analysis reveals enrichment of dinucleotide repeats on the human X chromosome and [GATA]_n in the X escape region. *Genome Res.* **16**: 47.
- Miki, Y., Swensen, J., Shattuck-Eidens, D., Futreal, P.A., Harshman, K., Tavtigian, S., Liu, Q., Cochran, C., Bennett, L.M., Ding, W. (1994) A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* **266**: 66-71.
- Moertel, C.A., Dahl, R.J., Stalboerger, P.G., Kimmel, D.W., Scheithauer, B.W., Jenkins, R.B. (1993) Gliosis specimens contain clonal cytogenetic abnormalities. *Cancer Genet. Cytogenet.* **67**: 21-27.
- Moore, K.L., Barr, M.L. (1957) The sex chromatin in human malignant tissues. *Br. J. Cancer* **11**: 384-390.
- Netter, F. (2007) Atlas d'anatomie humaine. 4ème édition. Edition Elsevier/Masson, Lissy-les-moulineaux, France.
- Nkondjock, A., Ghadirian, P. (2005) Facteurs de risque du cancer du sein. *Méd. Sci. Paris* **21**: 175-180.
- Nye, A., Rajendran, R., Belmont, A. (2005) Chromosomes and chromatin, Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Oberstrass, F.C., Auweter, S.D., Erat, M., Hargous, Y., Henning, A., Wenter, P., Reymond, L., Amir-Ahmady, B., Pitsch, S., Black, D.L., Allain, F.H. (2005) Structure of PTB bound to RNA: specific binding and implications for splicing regulation. *Science* **309**: 2054-2057.

- Peltier, C. (2010) L'inactivation du chromosome X, un problème pour les cellules souches. *Futura-Sciences*. <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/actu/d/medecine-inactivationchromosome-x-probleme-cellules-souches-24254/>
- Ray, M.C. (2012). Les différentes maladies génétiques. *Futura-Sciences*. Source : <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dossiers/d/medecinechromosome-x-differentes-maladies-genetiques-1625/>
- Richardson, A.L., Wang, Z.C., De Nicolo, A., Lu, X., Brown, M., Miron, A., Liao, X., Iglehart, J.D., Livingston, D.M., Ganesan, S. (2006) X chromosomal abnormalities in basal-like human breast cancer. *Cancer Cell* **9**: 121-132.
- Sandberg, A.A. (1983) Chromosomes in human neoplasia. *Curr. Probl. Cancer* **8**: 1-52.
- Shen, Y., Matsuno, Y., Fouse, S.D., Rao, N., Root, S., Xu, R., Pellegrini, M., Riggs, A.D., Fan, G. (2008) X-inactivation in female human embryonic stem cells is in a nonrandom pattern and prone to epigenetic alterations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**: 4709-4714.
- Silva, S.S., Rowntree, R.K., Mekhoubad, S., Lee, J.T. (2008) X-chromosome inactivation and epigenetic fluidity in human embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**: 4820-4825.
- Simpson, L., Parsons, R. (2001) PTEN : life as a tumor suppressor. *Exp. Cell Res.* **264**: 29-41.
- Sims, R.J., Nishioka, K., Reinberg, D. (2003) Histone lysine methylation : A signature for chromatin function. *Trends Genet.* **19**: 629-39.
- Sirchia, S.M., Ramoscelli, L., Grati, F.R., Barbera, F., Coradini, D., Rossella, F., Porta, G., Lesma, E., Ruggeri, A., Radice, P., Simoni, G., Miozzo, M. (2005) Loss of the inactive X chromosome and replication of the active X in BRCA1-defective and wild-type breast cancer cells. *Cancer Res.* **65**: 2139-2146.
- Société Canadienne du Cancer (2016). Anatomie et physiologie du sein. <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/anatomy-and-physiology/?region=on>
- Strahl, B.D., Allis, C.D. (2000) The language of covalent histone modifications. *Nature* **403**: 41-45.
- UMD-BRCA1 Mutation Database (2016) <http://www.umd.be/BRCA1>.
- UMD-BRCA2 Mutation Database (2016) <http://www.umd.be/BRCA2>.
- Wooster, R., Bignell, G., Lancaster, J., Swift, S., Seal, S., Mangion, J., Collins, N., Gregory, S., Gumbs, C., Micklem, G. (1995) Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*. *Nature* **378**: 789-792.
- Xue, F., Tian, X.C., Du, F., Kubota, C., Taneja, M., Dinnyes, A., Dai, Y., Levine, H., Pereira, L.V., Yang, X. (2002) Aberrant patterns of X chromosome inactivation in bovine clones. *Nat. Genet.* **31**: 216-220.
- Yen, Z.C., Meyer, I.M., Karalic, S., Brown, C.J. (2007) A cross-species comparison of X-chromosome inactivation in Eutheria. *Genomics* **90**: 453-463.
- Zajdela, A., Vielh, P., Di Boniti, L. (1995) Manuel et Atlas de Cytologie Mammaire. Priccin Nuova Libaria SPA, Padoue, Italie.

Annexes



Figure 01 : microscope optique.



Figure 02 : Becs pour la coloration.



Figure 03 : Batterie de coloration.



Figure 04: colorant May- Grunwald.



Figure 05: colorant, Giemsa.



Figure 06 : Chronomètre.



Figure 07 : Centrifugeuse.



Figure 08 : tube à essai.

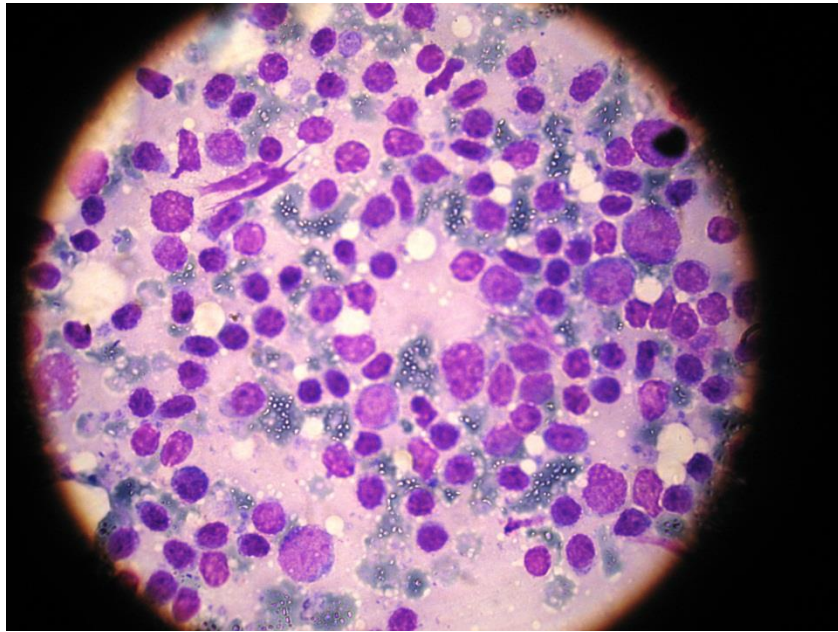


Figure 09 : Des cellules cancéreuses sous microscope.

N°	
Nom :	Age :
Prénoms :	Service :

Figure 10 : Fiche de renseignement.

Résumé

Le corpuscule de Barr est un composant de noyau correspondant à l'un des deux chromosomes X inactif chez les femelles des mammifères. Le corps de Barr fournit un exemple remarquable de perturbation épigénétique en cas de cancer. Dans notre travail, nous avons analysé la présence ou l'absence du corpuscule de Barr sur une série de 56 lames obtenues à partir de frottis cellulaires de pathologies du sein, au niveau du CPMC d'Alger. 33 des patientes présentaient des tumeurs malignes, alors que 23 avaient des tumeurs bénignes du sein. Après examen microscopique, nous avons pu observer l'absence de corpuscule de Barr pour toutes les 33 lames issues de frottis malins, tandis que pour les frottis bénins, 18 lames sur 23 présentaient des cellules avec un corpuscule de Barr, soulignant une signature particulière de l'inactivation du chromosome X selon la nature du cancer du sein.

Mots-clés : Corpuscule de Barr, chromosome X inactif, frottis cellulaires, pathologies du sein, tumeurs malignes et bénignes.

Abstract

The Barr body is a nucleus component corresponding to one of the two inactive X chromosomes in female mammals. The body of Barr provides a remarkable example of epigenetic disruption in cancer. In our work, we have analyzed for the presence or absence of the Barr body on a series of 56 slides obtained from cell smears of breast pathologies, at the CPMC of Algiers. 33 patients had malignant tumors, while 23 had benign tumors of the breast. After microscopic examination, we observed the absence of the Barr body for all the 33 slides from malignant smears, whereas for benign smear 18 of 23 slides showed cells with the Barr body, highlighting a particular signature of inactivation of the X chromosome depending on the nature of the breast cancer.

Keywords: Barr body, inactive X chromosome, cell smears, breast pathologies, malignant and benign tumors.

ملخص

الجسيم بار هو أحد مكونات النواة الموافق لأحد من الـ ص بغي يين X الخاملة في اناث الـ ذ دي يات الجسم بار يوفر مثالا بارزا في التعطيل الجيني في حالة السرطان. في عملنا هذا ، قمنا بتحليل وجود أو عدم وجود الجسم بار في سلسلة من 56 شريحة تم الحصول عليها من مسحات خلوية من أمراض الثدي، على مستوى الـ CPMC في الجزائر العاصمة. 33 مريضا حاملين للأورام الخبيثة، في حين 23 منهم كانت أوراما حميدة للثدي . بعد الفحص المجهرى، لاحظنا عدم وجود الجسم بار في جميع الشرائح الـ 33 من المسحة الخبيثة، في حين أن الشرائح الحميدة أظهرت 18 من 23 خلايا مع الجسم بار، مما سلط الضوء على تثبيط الصبغي X تبعاً لنوع سرطان الثدي.

كلمات البحث : الجسيم بار ، الصبغي X غير نشط ، مسحات خلوية ، أمراض الثدي ، الأورام الخبيثة و الحميدة.