

Diagnostic du cancer du sein par diffraction de rayons X sur des cheveux : rêve ou réalité ?

En mars 1999, une équipe dirigée par une biophysicienne australienne, V. James, associée à des chercheurs américains et japonais, a publié dans *Nature* [1] une étude faisant état de l'existence d'une corrélation entre le cancer du sein et les figures de diffraction de rayons X produites par les cheveux (expériences menées sur les sources synchrotrons de la *Photon Factory* au Japon et de l'*APS* aux États-Unis). Ce résultat très prometteur permettait d'envisager une nouvelle méthode simple de diagnostic du cancer du sein, voire de détection de certains sujets à haut risque porteurs de la mutation du gène *BRCA1* (*breast cancer 1*) [2].

Quatre mois plus tard, des chercheurs du LURE (Université Paris-Sud), associés à des médecins de Grenoble, ont publié dans *Nature* [3] une étude qui infirme en grande partie ces résultats. L'analyse des diagrammes de diffraction de rayons X des cheveux de dix personnes saines et de dix personnes atteintes de cancer du sein, a conduit à des observations différentes, voire opposées. De plus, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les cheveux de personnes saines et ceux des malades, ce qui a été confirmé en octobre 1999 par différents groupes dans le monde.

L'origine de ce désaccord entre les résultats de la première équipe et ceux des suivantes n'est pas encore totalement élucidée, il semblerait malheureusement que la première équipe ait privilégié l'aspect *scoop* au détriment de l'aspect purement scientifique. La microstructure du cheveu est néanmoins susceptible de refléter certaines situations physiologiques et pathologiques, ce qui pourrait déboucher sur de nouveaux outils simples de diagnostic. Pour

mieux comprendre le principe de ces études, il est nécessaire au préalable de faire quelques rappels sur la diffraction des rayons X et sur la microstructure des cheveux.

Qu'est-ce que la diffraction des rayons X ?

Un matériau irradié par un faisceau de rayons X est le siège de plusieurs phénomènes [4] dont le plus connu est l'absorption, avec comme application la radiographie X. Parmi les autres phénomènes, la diffraction des rayons X permet de remonter à la structure atomique et moléculaire du matériau. Elle consiste en l'apparition de faisceaux secondaires émis dans certaines directions de l'espace, exactement comme un rideau disperse le faisceau lumineux, émis au loin par un réverbère, en de multiples petits faisceaux répartis régulièrement autour de la direction du faisceau principal. La répartition de ces faisceaux dépend des caractéristiques géométriques de la trame du rideau et de son orientation par rapport à l'observateur. Le phénomène est le même pour les rayons X, qui jouent le rôle des rayons lumineux tandis que les atomes du matériau représentent la trame, mais les échelles mises en jeu sont bien plus petites. L'analogie avec le rideau permet également de saisir de manière intuitive que la structure répétitive de l'objet est nécessaire pour créer la diffraction, le cas idéal étant celui du cristal. Dans le cas des matériaux non ordonnés (amorphes), les faisceaux sont déviés de façon continue dans l'espace et l'information qu'ils contiennent est bien plus pauvre. La structure de la majorité des tissus bio-

logiques est intermédiaire entre celles du cristal et de l'amorphe, ils diffractent donc partiellement les rayons X. Cependant, l'information est suffisante dans de nombreux cas, notamment pour le cheveu, pour que l'on puisse remonter aux caractéristiques structurales principales, aux échelles moléculaire et supramoléculaire.

Un schéma de principe de montage de diffraction de rayons X est donné sur la *figure 1*. Les meilleures sources sont les sources de rayonnement synchrotron, grâce à leur très haute brillance et à leur faible divergence. Leur utilisation est indispensable pour le problème qui nous concerne, le flux d'une source classique de laboratoire étant très insuffisant [5].

Structure du cheveu et diffraction des rayons X

Le cortex du cheveu [6, 7], est majoritairement constitué par une protéine fibreuse, la kératine (*figure 2*). Les molécules de kératine, longues de 45 nm environ, sont formées de deux chaînes repliées majoritairement en hélices α , elles-mêmes enroulées l'une autour de l'autre en super-hélice, exactement comme dans un cordage. Ces molécules s'assemblent par deux pour former une protofibrille. A l'échelle supérieure, les protofibrilles s'assemblent de manière relativement complexe pour former des objets cylindriques longs, appelés microfibrilles, dont la section (diamètre 8 nm) comprend sept ou huit protofibrilles. Les microfibrilles sont assemblées parallèlement les unes aux autres en faisceaux (macrofibrilles) et sont séparées par une matrice constituée de protéines

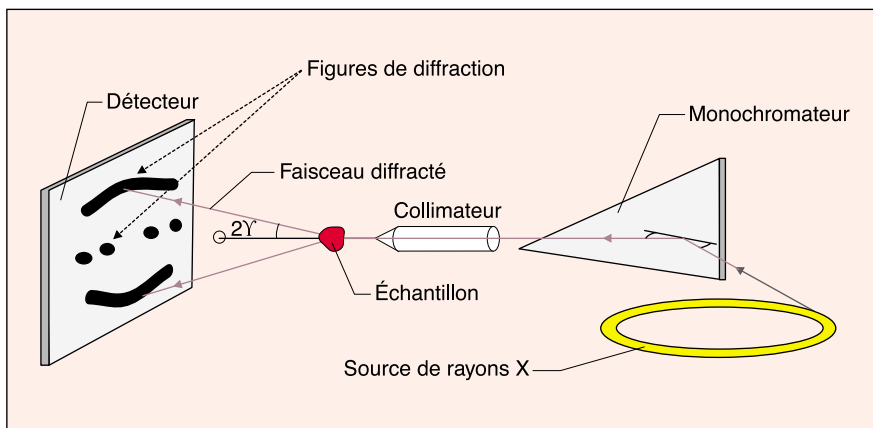


Figure 1. Montage de diffraction de rayons X à partir d'une source de rayonnement synchrotron. Un montage typique de diffraction de rayons X comporte les éléments suivants : une source de rayons X, les plus performantes étant les sources synchrotron qui délivrent des faisceaux moins divergents et surtout des milliers, voire des millions de fois plus intenses que les tubes classiques de rayons X ; un monochromateur permettant de sélectionner une longueur d'onde ; un collimateur pour limiter la taille du faisceau ; un porte échantillon ; un détecteur (plaque photosensible ou caméra CCD pour la détection dans deux dimensions, ou compteur pour la détection selon une ligne). Les échelles ne sont bien sûr pas respectées puisque le diamètre des synchrotrons varie entre 20 et 300 mètres alors que la distance échantillon-détecteur est de l'ordre de quelques dizaines de centimètres.

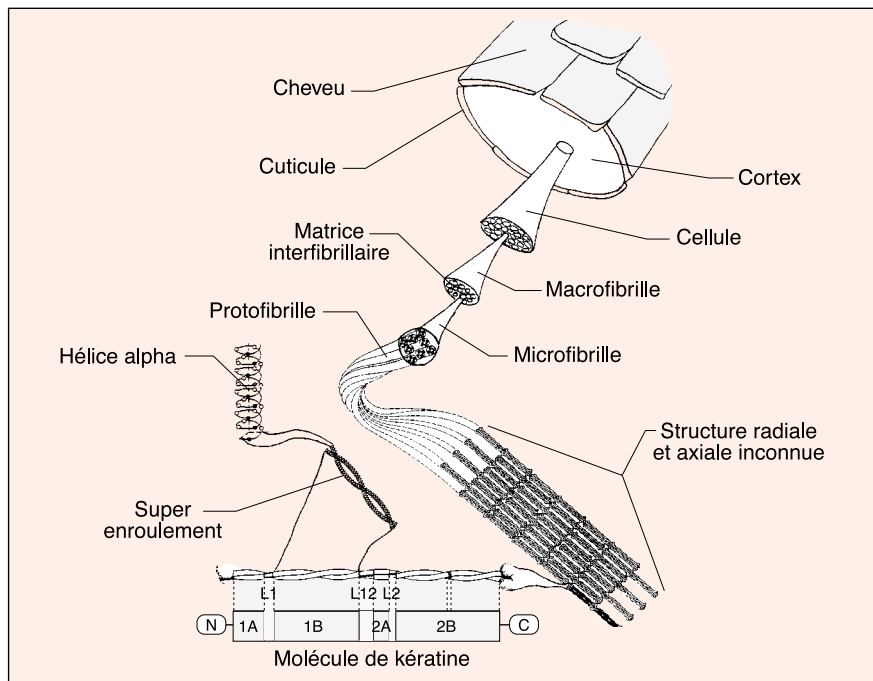


Figure 2. Structure du cortex du cheveu. Les molécules de kératine (45 nm environ) sont formées de deux chaînes repliées majoritairement en hélices α , elles-mêmes enroulées l'une autour de l'autre en super-hélice, exactement comme dans un cordage. Ces molécules s'assemblent par deux pour former une protofibrille. À l'échelle supérieure, les protofibrilles s'assemblent pour former des objets cylindriques longs, appelés microfibrilles, dont la section (diamètre 8 nm) comprend sept ou huit protofibrilles. Les microfibrilles sont assemblées parallèlement les unes aux autres en faisceaux, les macrofibrilles. Finalement, plusieurs macrofibrilles forment une cellule, et plusieurs cellules, le cheveu (environ 80 μm de diamètre).

encore plus riches en soufre. Finalement, plusieurs macrofibrilles forment une cellule, et plusieurs cellules, le cheveu (environ 80 μm de diamètre). C'est dans les années 1950 que Pauling introduisit, à partir des diagrammes de diffraction de rayons X sur le cheveu, le concept de repliement secondaire des protéines en hélices α et ouvrit ainsi la voie à la biologie moléculaire structurale. Depuis, de nombreuses équipes se sont efforcées de compléter et d'étendre son modèle structural à l'échelle des protofibrilles et des microfibrilles, en analysant avec soin les nombreuses figures de diffraction provenant du haut niveau d'organisation, presque cristallin, de la kératine. Il subsiste encore des zones d'ombre dans ce modèle, surtout pour les protofibrilles et les microfibrilles, mais les progrès récents accomplis dans ce domaine, grâce en grande partie aux sources de rayonnement synchrotron, ont permis d'établir une correspondance assez étroite entre les principaux signaux de diffraction et les paramètres caractéristiques des différentes échelles. Il est même possible de suivre et de comprendre les mécanismes, à l'échelle microscopique, des modifications structurales induites par divers paramètres physiques ou chimiques.

Cancer du sein et diffraction par le cheveu

La polémique sur la possible corrélation entre les signaux de diffraction par le cheveu et le cancer du sein n'a pas porté sur les signaux provenant de la kératine mais sur un anneau qui a été attribué, il y a près de quarante ans, à des granules lipidiques répartis au sein du cortex [8]. Ces granules consisteraient en un empilement régulier de feuillets lipidiques d'une épaisseur de 4,5 nm. Il ne s'agit pas des membranes cellulaires car leur faible épaisseur conduirait à un anneau angulairement plus large, mais bien de granules, presque des cristallites, car l'organisation à l'intérieur des feuillets est également de type cristallin. Ni leur rôle ni leur origine ne sont bien connus, notons cependant qu'on les retrouve dans

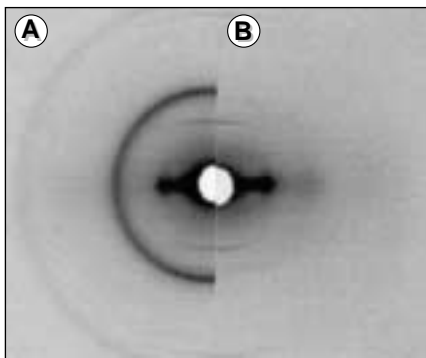


Figure 3. **Diagrammes de diffraction de cheveux prélevés sur un sujet sain et sur un sujet atteint de cancer du sein.** On observe très nettement chez le sujet sain (A) la présence des anneaux de diffraction dus aux granules lipidiques, alors qu'ils sont absents chez le sujet malade. (B) Il s'agit en fait de deux cas extrêmes, la comparaison n'étant pas toujours aussi claire : ces anneaux, bien visibles, mais plus ou moins nettement, chez pratiquement tous les sujets sains, sont aussi observés chez les sujets malades, leur intensité étant souvent plus faible. Les autres signaux, qui proviennent de la kératine, sont identiques chez le sujet sain et chez le malade. (D'après [3].)

tous les tissus kératiniques, le plus souvent proche de la surface en contact avec l'extérieur, ce qui suggère qu'ils pourraient jouer un rôle de barrière ou de protection.

Selon l'étude de V. James, cet anneau serait présent chez l'ensemble des sujets atteints d'un cancer du sein, mais serait en revanche inexistant chez les sujets sains [1]. En outre, cette différence structurale serait observée chez les personnes non malades mais présentant une mutation du gène *BRCA1*, donc ayant un risque accru de développer un cancer du sein. D'après cette étude, le signal des lipides à 4,5 nm pourrait donc servir de signature pour diagnostiquer le cancer du sein. Nos conclusions sont très différentes : le signal des lipides à 4,5 nm a été observé chez 100 % des personnes saines et de plus il n'était présent que chez 80 % des malades

atteintes de cancer du sein (figure 3) [3]. Il est vrai que l'échantillonnage pour les deux études n'excédait pas quelques dizaines de personnes, ce qui est insuffisant pour aboutir à des conclusions médicales significatives. En revanche, on peut conclure avec certitude que les observations de la première étude n'ont pas été reproduites, même si notre étude n'a été réalisée que sur des poils scalpiens alors que dans la première des poils pubiens et scalpiens ont été analysés. Une étude plus approfondie sera donc nécessaire pour établir de façon univoque et sans ambiguïté l'existence ou non d'une corrélation entre le cancer du sein et la modification éventuelle de la structure du cheveu. Une possible corrélation avec l'existence de la mutation du gène *BRCA1* nous permettrait d'isoler une population présentant un risque important de développer un cancer du sein. L'analyse capillaire microstructurale serait alors un outil orientant cette population vers un suivi médical plus adapté au risque. Cette étude devra être accompagnée d'une étude de la microstructure du cheveu d'une population témoin afin de bien différencier les changements induits par des pathologies de ceux provenant de la variabilité naturelle.

Conclusions

Pour l'instant, l'espoir de développement rapide d'une technique légère de diagnostic du cancer du sein à partir du cheveu, et surtout de prédiction des sujets à risque, s'est envolé. Néanmoins, la polémique médiatique déclenchée par les deux articles publiés dans *Nature* a eu le mérite de mettre en avant les potentialités de la technique de diffraction des rayons X pour l'analyse de la microstructure du cheveu et de ses possibles corrélations avec des pathologies. Il est probable que les efforts de recherche sur ce problème, impulsés par la polémique, permettront d'établir certaines corrélations et déboucheront sur de nouvelles techniques de diagnostic ou de suivi des traitements pour différentes pathologies. Les retombées dans les domaines pharmaceutique et cosmétique sont également prometteuses.

1. James V, Kearsley J, Irving T, Amemiya Y, Cookson D, Amenitsch H. Using hair to screen for breast cancer *Nature* 1999; 398: 33-4.

2. Feunteun J. La prédisposition héréditaire au cancer du sein liée à *BRCA1* et *BRCA2* : une maladie de la réponse aux lésions génotoxiques? *Med Sci* 1999; 15: 38-44.

3. Briki F, Busson B, Salicru B, Estève F, Doucet J. Breast-cancer diagnosis using hair. *Nature* 1999; 400: 226.

4. Guinier A. « Les rayons X », Collection Que-sais-je?, PUF, 1984.

5. Nenner I, Doucet J, Dexpert H. 1996 « Rayonnement Synchrotron et Applications », Techniques de l'Ingénieur, Traité Analyse et Caractérisation, 2700.

6. Fraser RDB, MacRae TP, Rogers GE. « Keratins », Charles Thomas Publishers, 1972.

7. Paus R, Cotsarelis G. The biology of hair follicles. *N Engl J Med* 1999; 341: 491-7.

8. Fraser RDB, Macrae TP, Rogers GE, Filshie BK. Lipids in Keratinized Tissues. *J Mol Biol* 1963; 7: 90-1.

Fatma Briki
Bertrand Busson
Jean Doucet

LURE, bâtiment 209D, Centre universitaire Paris-Sud, BP 34, 91898 Orsay Cedex, France.

Bruno Salicru

Clinique du Mail, 43-45, avenue Marie-Reynoard, 38100 Grenoble, France.

François Estève

Unité IRM, CHU Grenoble, JERSRM, Université Joseph-Fourier, BP27, 38043, Grenoble.

Françoise Sarrot-Reynaud

Service de Médecine Interne, CHU Michallon, Grenoble, France.