

**Cours biocell n°10**

Prof. Mme Chomienne

Le: 20 décembre 2007 à 8h30

Ronéotypé par: Raphaëlle Billette de V.

# **L'INDUCTION DE LA DIFFERENTIATION CELLULAIRE DANS LES CANCERS THYROIDIENS**

## I.INTRODUCTION

- A) La cellule thyroïdienne
- B) L'iode radioactif et le cancer de la thyroïde
- C) Définition de la cellule maligne

## II. CERTAINES CELLULES THYROIDIENNES NE CAPTENT PLUS L'OIDE

## III.TRAITEMENT DES CANCERS DE LA THYROIDE PAS L'ACIDE RETINOIQUE (AR)

### A) Preuve que l'AR est bien 1 agent différentiant de la cellule thyroïdienne

- 1) Etude quantitative du taux d'ARNm pour la 5'DI et des NIS pour des cellules traitées (ou non) à l'AR
- 2) Quantification de taux de Tg par un dosage isotopique

### B) Quels sont les mécanismes qui permettent l'augmentation de l'expression des gènes codant pour le NIS et la 5'DI en présence d'AR?

- 1) Contrôle de l'expression transcriptionnelle au niveau des gènes
- 2) Quels sont les récepteurs spécifiques de la cellule thyroïdienne?

### C) Etude de l'expression des prot contrôlant l'expression des gènes caractéristiques de la différenciation dans les cellules malignes

### D) Comment faire pour qu'il y ai à nouveau du RAR $\beta$ dans les cellules malignes?

- 1) Vérification par l'expérience
- 2) Vérification par 1 AC anti RAR $\beta$  couplé à un marqueur chimique.

### E) L'AR, un traitement possible du cancer de la thyroïde?

## IV RECHERCHE DE LA RAISON POUR LAQUELLE CERTAINS MALADES NE REPENDENT PAS A L'AR

### A) Les lignées FTC 133 et FTC 238:

### B) Quels sont les mécanismes, dans la cellule 238, empêchant l'AR d'agir?

- 1) Etude de la fonctionnalité du promoteur
- 2) Anomalie du promoteur lui même?
  - a) Expérience du gel retard
  - b) Chip
  - c) Etude de l'accessibilité du promoteur
    - i. Hypothès 1: le promoteur RARE n'est pas hypométhylé (ds les cellules 238)
    - ii. Hypothèse 2: il n'y a pas d'acétylation des histones (dans les cellules 238)

## V.TRAITEMENT DES CANCERS

### A) Mode d'action des traitements

### B) Intérêt de la combinaison d'une thérapie différenciatrice (AR) et transcriptionnelle:

### C)Résultats des traitements dans la Leucémie Aigüe Myéloïde (1980 à 2007):

## V CONCLUSION



Ce qui est écrit en **gras** correspond aux textes des diapos et aux mots clefs  
Ce qui est écrit en fin c'est le looong blabla de la prof!

# I. INTRODUCTION

-Il existe (depuis une 20aine d'années) l'utilisation de la différenciation des cellules comme 1 outils thérapeutique en cancérologie...

## A) La cellule thyroïdienne:

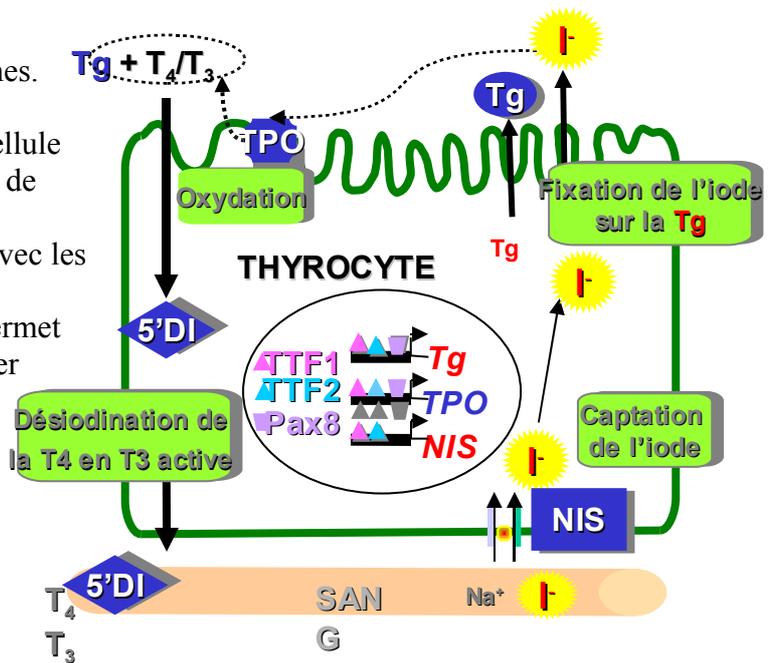
-Dans le noyaux de la cellule thyroïdienne, 3 gènes importants:

- le gène de la Thyroglobuline (Tg)
- de la TPO
- et du NIS (transporteur Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>)

et les prot transcriptionnelles de ces gènes.

-3 prot nécessaires à la fonction de la cellule thyroïdienne et faisant parti des critères de différenciation de cette cellule:

- la Tg qui entre dans la cellule avec les les hormones thyroïennes,
- la prot 5' déiodase (5'DI) qui permet (en présence d'iode) de désiodiser les hormones thyroïdiennes et les faire passer dans le sang,
- la prot NIS.



## B) L'iode radioactif et le cancer de la thyroïde:

-Quand on a 1 cancer de la thyroïde, on part du principe que la cellule thyroïdienne capte l'iode. Donc on traite le cancer de la thyroïde avec de l'iode radioactif.

Les cellules thyroïdiennes malignes vont capter l'iode radioactif, et c'est cette radioactivité qui va tuer la cellule!

➔ L'outil thérapeutique du cancer thyroïdien est l'iode radioactif.

-Ceci est vrai:

- .pour les cellules de la glande thyroïdienne pouvant rester après la chirurgie,
- .mais aussi pour les métastases des cancers thyroïdiens (partout dans le corps mais essentiellement au niveau des os).

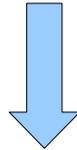
### C) Définition de la cellule maligne:

#### Altération des voies de contrôle:

**Blocage de la différenciation** (le plus souvent) cellule avec les caractéristiques d'une cellule immature (noyau bcp plus gros...)

**Augmentation de la prolifération**

**Augmentation de la survie cellulaire**



**Agents différenciants** (= outil thérapeutique, pas encore généralisable à tous les types de tumeurs)

**Reprise de la différenciation**

**Arrêt de la prolifération**

**Mort cellulaire**

## II. CERTAINES CELLULES THYROÏDIENNES NE CAPTENT PLUS L'IODE

-Dans certains cancers de la thyroïde, les cellules thyroïdiennes ne peuvent plus capter l'iode...

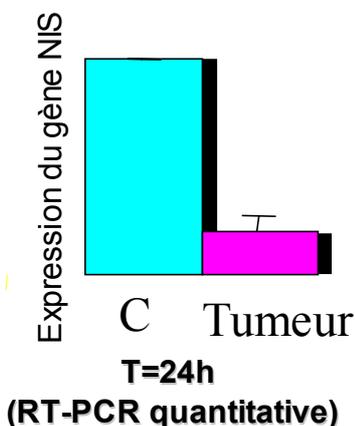
-Or, c'est l'outil indispensable pour traiter ce cancer!! (car les cellules malignes (comme les cellules normales) de la thyroïde captent l'iode)

-On s'est aperçu que ces cellules ne captant plus l'iode, n'avaient pas de transporteur  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  (càd la prot NIS)...En effet, si il n'y a pas de transporteur de l'iode, l'iode ne rentre pas dans la cellule!

-Donc, problèmes:

- .on ne peut pas voir les métastases,
- .on ne peut pas traiter le malade.

-Expérience prouvant l'absence de NIS:



-On fait une mesure (PCR) du taux d'ARNm du gène NIS des cellules thyroïdiennes ne captant pas l'iode, et on le compare avec le celui présent dans les cellules thyroïdiennes normales.

-Au bout de 24h, on voit bien que, dans le cancer de la thyroïde, on a une expression très faible du gène NIS...

### III. TRAITEMENT DES CANCERS DE LA THYROÏDE PAR L'ACIDE RETINOÏQUE (AR)

-L'acide rétinoïque (AR) est un métabolite actif de la vitamine A.

-L'AR est un **agent différenciant**: il débloque les cellules thyroïdiennes malignes, il leur permet de se différencier pour capter à nouveau l'iode.

#### A) Preuves que l'AR est bien un agent différenciant de la cellule thyroïdienne:

-On prend les prot 5'DI, le NIS, et la Tg

- 1) Etude quantitative du taux d'ARNm pour la 5'DI et de NIS pour des cellules traitées (ou non) à l'AR:

.en présence de l'agent différenciant, il y a augmentation:

- de 25% de l'ARNm de la 5'DI et
- de 10% de l'ARNm de NIS.

.donc augmentation de l'expression des **gènes spécifiques de la différenciation de la cellule thyroïdienne** en présence de l'AR...

- 2) Quantification du taux de Tg par un dosage isotopique:

.On utilise un anti-corps anti-Tg,

.On dose la quantité de Tg sécrétée par la cellule thyroïdienne traitée à l'AR,

.Au cours du traitement, on voit la Tg qui augmente.

➡ On a 3 paramètres, qui, en présence d'AR dans la cellule thyroïdienne maligne, augmentent au cours du tps: **l'AR permet la différenciation des cellules thyroïdiennes en augmentant ces paramètres...**

#### B) Quels sont les mécanismes qui permettent l'augmentation de l'expression des gènes codant pour le NIS et la 5'DI en présence d'AR?

- 1) Contrôle de l'expression transcriptionnelle au niveau des gènes:

-Se fait par: .les prot transcriptionnels

.et l'accessibilité du promoteur par l'intermédiaire de:

- a) la **déméthylation des bases nucléotidiques,**
- b) l'**acétylation des histones.**

-L'AR agit par l'intermédiaire de prot transcriptionnelles: les récepteurs de L'AR

-ils reconnaissent les **séquences RARE** (retinoïque-acid response élément) **dans le promoteur des gènes NIS et 5'DI.**

➡ Donc contrôle direct de l'expression des gènes NIS et 5'DI par l'AR au travers des récepteurs nucléaires!

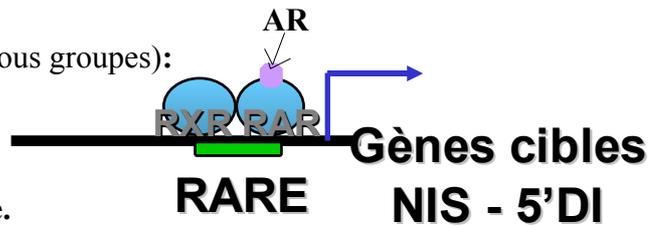
-6 groupes de récepteurs de l'AR (dividés en 2 sous groupes):

.3 RXR:  $\alpha$   $\beta$   $\gamma$

.3 RAR:  $\alpha$   $\beta$   $\gamma$

qui s'assemblent en hétérodimères

(RXR-RAR) en fonction de la cellule et du gène.



-RXR-RAR se fixe sur la séquence nucléotidique RARE.

-Pour que cela soit actif, il faut que l'AR se fixe sur l'un des deux récepteurs de l'hétérodimère.

## 2) Quels récepteurs sont spécifiques de la cellule thyroïdienne?

-On sait déjà que ce sont les récepteurs RXR et RAR, puisqu'ils se fixent sur RARE.

-Mais quel sous groupe de récepteur est exprimé?

-On fait la recherche sur des cellules thyroïdiennes normales

.par PCR

.ou par des techniques d'immuno-histochimie ou d'immuno-blot

-L'étude de l'expression des différents récepteurs dans la cellule thyroïdienne normale donne:

Thyroïde normale	RAR $\alpha$	RAR $\beta$	RAR $\gamma$	RXR $\alpha$	RXR $\beta$	RXR $\gamma$
	++	+++	++	+	+	0

-On se doute du rôle prépondérant de RAR  $\beta$  dans les cellules thyroïdiennes.

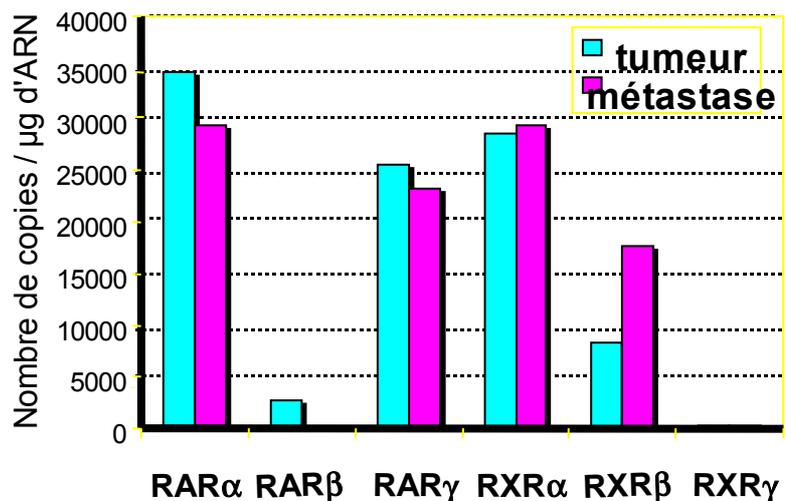
-Avec la possibilité d'hétérodimères RXR $\alpha$ -RAR $\beta$  et RXR $\beta$ -RAR $\beta$  contrôlant l'expression des gènes NIS et 5'DI.

## C) Etude de l'expression des prot contrôlant l'expression des gènes caractéristiques de la différenciation dans les cellules malignes:

-Dans tumeur et métastases, à peu près autant de RAR $\alpha$  que dans une cellule normale.

-Par contre, peu de RAR $\beta$  dans la tumeur, et carrément pas dans la métastase!

➡ Le RAR $\beta$  est le récepteur le plus important dans la différenciation de la cellule thyroïdienne.



Thyroïde normale: ++    +++    ++    +    +    0

On explique (en parti) le blocage de la différenciation de la cellule thyroïdienne maligne par l'absence de RAR $\beta$ ...

## D) Comment faire pour qu'il y ait a nouveau du RAR $\beta$ dans la cellule maligne?

-Dans la cellule cancéreuse, il n'y a pas/peu de RAR $\beta$ , mais il y a bcp de RAR $\alpha$  ou de RAR $\gamma$ , donc pour transcrire le RAR $\beta$  on va utiliser les RAR  $\alpha$  et  $\gamma$  se trouvant dans la cellule, qui vont, avec leur partenaire RXR et en présence d'AR induire la synthèse du RAR $\beta$ .

### 1) Vérification par l'expérience:

- .on traite les cellules thyroïdiennes malignes (qui n'ont pas de RAR $\beta$ ) avec de l'AR,
- .l'AR se fixe sur les autres récepteurs de la cellule (RAR $\alpha$  et RAR $\gamma$ ),
- .et il y a synthèse de RAR $\beta$ !

### 2) Vérification par un anti-corps anti-RAR $\beta$ couplé à un marqueur chimique:

- .les cellules traitées par l'AR deviennent bcp plus rouges (donc anti-corps a trouvé du RAR $\beta$ ) que celles non traitées...

## E) L'AR, un traitement possible du cancer de la thyroïde?

### **-Traitement conventionnel des cancers de la thyroïde:**

- .thyroïdectomie totale +
- .radiothérapie à l'iode 131 radioactif (pour s'assurer qu'on a tout enlevé et pour traiter les métastases pouvant exister)

### **-Puis surveillance des patients car:**

- .risque de rechute *oecuménique* (faible car on a enlevé la thyroïde)
- .**pour détecter des métastases et à nouveau traiter le malade** (à l'iode 131) **si il y en a.**

**-Mais chez 15% des patients atteints de cancer thyroïdien, les cellules ne peuvent plus capter l'iode (voir II) ➡ jusqu'à présent, on était dans une IMPASSE THERAPEUTIQUE...**

-Donc hypothèse: on pourrait «soigner» ces malades en les traitant par de l'AR (pask il permet la synth du RAR $\beta$ , qui active la synth de NIS, qui fait rentrer l'iode dans la cellule...ça va? t'as l'air paumé, là!)

### Rôle potentiel de l'AR dans le traitement des patients ne captant pas l'iode:

#### **-Re-différenciation par l'AR**



#### **-Induction de la fixation de l'iode**



#### **-Reprise du traitement par l'iode 131**

Ca a été testé et ça a marché...

...Mais problème: tous les malades n'ont pas répondu; seulement **40% des patients pouvaient à nouveau capter l'iode radioactif...**

Pourquoi 60% des malades ne répondent pas?



**-Dans la cellule cancéreuse: pas de RAR $\beta$ .**

**Donc pas d'expression des gènes cibles NIS et 5'DI, et pas de captation d'iode...** (même si on met de l'acide rétinoïque, puisqu'elle ne peut pas se fixer sur RAR $\beta$  qui est absent)

**.Si la cellule cancéreuse est sensible à l'AR, alors il y aura induction de RAR $\beta$  puis de NIS et 5'DI.**

**.Si la cellule cancéreuse est résistante à l'AR, il n'y aura pas d'induction de RAR $\beta$  ni de NIS et 5'DI...**

**Quelles sont les causes du défaut d'expression de RAR $\beta$  dans les cellules de métastases FTC 238 traitées à l'AR?**

**Hypothèses: -Anomalies de RAR ou RXR endogène?**

**-Anomalies du promoteur du gène RAR $\beta$ ? (muté, non accessible...)**

**-Anomalies de synthèse ou de durée de vie .du messenger?**

**.de la prot RAR $\beta$ ?**

**1) Etude de la fonctionnalité du promoteur:**

-On part d'un **promoteur synthétique**, qui permet d'obtenir un gène rapporteur (qui code pour quelque chose qu'on peut mesurer),

- Ici le gène rapporteur code pour la protéine **luciférase**, qui émet de la lumière quand elle est synthétisée (on va donc quantifier la lumière),

-Dans la région promotrice du gène de la luciférase, on insère la séquence nucléotidique RARE: **la région codante du gène de la luciférase est sous le contrôle du promoteur RARE.**

➡ On étudie donc la fonction de la séquence RARE dans la cellule thyroïdienne.

-On transfecte le plasmide (contenant le gène rapporteur) dans la cellule thyroïdienne résistante.

-On traite la cellule avec de l'AR, et on regarde si il y a synthèse de luciférase

-Au bout de 16h, dans nos cellules résistantes, ça marche, la luciférase est produite!

➡ A priori, ce n'sont pas les prot transcriptionnelles (RXR et RAR) et les coactivateurs qui sont malades, car quand on met un promoteur synthétique RARE dans la cellule thyroïdienne, tout marche...

Dans la cellule maligne résistante, la transactivation se fait correctement.

**2) Anomalie du promoteur lui même?**

-Promoteur non accessible (=méthylé ou déacétylé) aux prot transcriptionnelles?

-Promoteur muté (donc les prot transcriptionnelles ne peuvent plus s'y attacher)?

**a. Expérience du gel retard:**

-Permet de confirmer que les prot transcriptionnelles vont se fixer sur la séquence régulatrice de l'ADN:

-On synthétise la séquence régulatrice RARE, et on la rend radioactive.

-On extrait toutes les prot se trouvant au niveau du noyau des cellules 238.

-On incube les **prot extraites et la séquence nucléotidique marquée, et on fait une électrophorèse**, donc plus les prot sont lourdes, plus elles mettrons du tps à migrer et plus

elles seront en retard par rapport aux autres (d'où le terme de gel retard!).

**-Si liaison prot-ADN, ça sera plus lourd que des prot, ou de l'ADN libre, donc on aura le retard de migration.**

-Là où on voit de la radioactivité sur le gel d'électrophorèse correspond:

.soit au RARE libre (léger, migre +)

.soit au complexe prot-RARE (plus lourd, migre moins),

puisque c'est l'ADN (=RARE) qui est radioactif!

-Sur le gel on voit 2 endroits avec de la radioactivité (dsl n'arrive pas à intégrer la photo de l'électrophorèse, et ça m'ennerve!) donc on a bien .1) du RARE libre

. 2) du RARE sur lequel s'est fixé des prot (plus lourd) ce qui correspond forcément à un complexe transcriptionnel.

-Pour savoir exactement quelles prot se sont fixées à RARE, on utilise des **anti-corps spécifiques** de ces prot.

-Ici on utilise 1 anti-corps anti RAR ou RXR (si l'AC se fixe sur le complexe, ça va être encore plus lourd, donc encore plus retardé, donc à la fin on a plein de taches de radioactivité!)

Le gel retard permet de mettre en évidence les prot fixées sur une séquence nucléotidique

➡ Dans les cellules thyroïdiennes résistantes à l'AR, on a bien des prot transcriptionnelles RXR et RAR pouvant se fixer sur le RARE (il n'est donc pas muté).

Donc c'est probablement le promoteur du gène  $RAR\beta$  qui est anormal (pas d'accès au RARE), dans la cellule résistante.

### *b. Chip:*

-Plus sophistiqué que le gel retard, on n'est plus obligé de passer par la radioactivité et l'électrophorèse.

-Fonctionne par immuno-précipitation du complexe reconnu par un anti-corps anti RAR.

### *c. Etude de l'accessibilité au promoteur:*

-Plusieurs mécanismes de répression du promoteur:

.déacétylation des histones

.méthylation de la séquence nucléotidique au niveau de la région promotrice.

**-Car le promoteur est accessible quand: .les histones sont acétylés**

**.le promoteur est hypométhylé.**

#### i. Hypothèse 1: le promoteur RARE n'est pas hypométhylé (dans cellules 238):

-On fait un test, et on voit que pour les cellules 133 (sensibles à l'AR) comme pour les cellules 238 (non sensibles à l'AR), **le promoteur RARE est non méthylé.**

➡ La raison pour laquelle on n'a pas de  $RAR\beta$  dans les cellules résistantes, n'est pas due à une répression du promoteur par une hyperméthylation.

ii. Hypothèse 2: il n'y a pas d'acétylation des histones (dans les cellules 238):

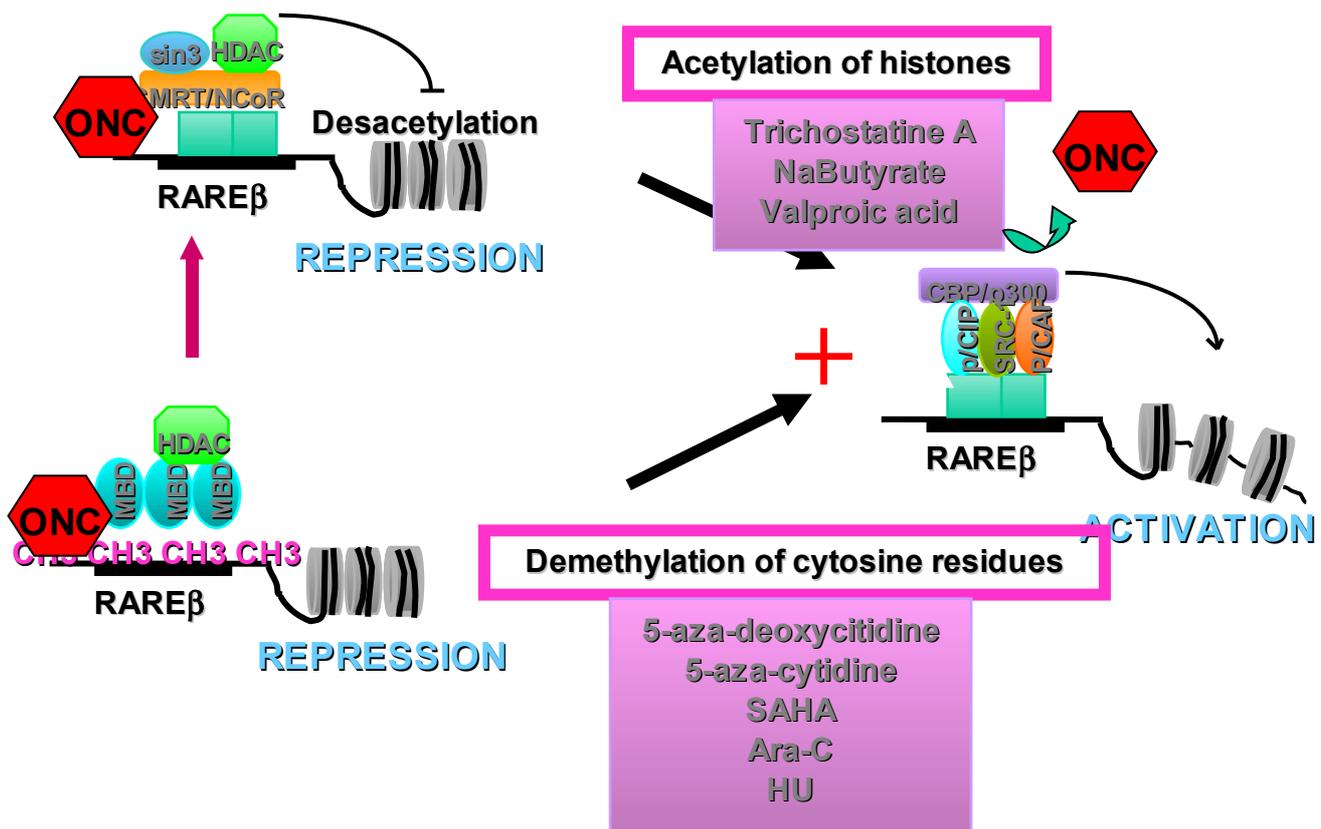
- On utilise la technique d'immuno-précipitation de la chromatine (Chip):
  - .on sait que les  $\frac{3}{4}$  des histones acétylés sont les histones H3 et H4.
  - .on prend des anti-corps reconnaissant spécifiquement les histones acétylés H3 et H4,  
**.puis on amplifie, par des amorces spécifiques, la région sur laquelle on veut voir l'acétylation des histones H3 et H4.**
- Dans la cellule 133 .avec de l'AR, les anti-corps reconnaissent la forme acétylée de H3 et de H4,  
**il y a un recrutement normal des histones acétylées sur RARE.**
  - .sans AR, les anti-corps ne se fixent pas, pas d'histone H3 et H4 acétylées.
- Dans la cellule 238, rien ne se passe, que ce soit avec ou sans AR.

**Dans les cellules 238, il n'y a pas d'accessibilité au promoteur du gène RAR $\beta$ , car il y a une fixation anormale des histones H3 et H4 acétylées.**

## V. TRAITEMENTS DES CANCERS.

### A) Mode d'action des traitements:

- En thérapeutique anti-cancéreuse, on a des traitements:
  - .permettant d'acétyler les histones
  - .et d'autres permettant de déméthylater les régions promotrices des gènes.
- En effet, dans bcp de cancers, il y a, en plus de l'oncogène .des gènes hyperméthylés  
.ou des histones déacétylées.
- L'AR, quand il implique la différenciation d'une cellule cancéreuse, il:
  - .lève la répression de la déacétylation des histones,
  - .dérégule en déméthylant la région promotrice,
  - .ET il permet en plus de faire partir l'oncogène.
- Dans les cas où ça ne marche pas, on traite les malades avec des traitements permettant d'augmenter l'action différenciatrice de l'AR:
  1. ceux permettant l'acétylation des histones:
    - .Trichostatine A
    - .Sodium-Butyrate
    - .Acide Valproïque
  2. ceux permettant la déméthylation:
    - .5-aza-cytidine
    - .Ara-cytine (Ara-C)
    - .Hydroxyurée (HU)



**B) Intérêt de la combinaison d'une thérapie différenciatrice (AR) et transcriptionnelle:**

-Quand on traite les cellules résistantes 238 avec l'AR, on a peu de synthèse de RAR $\beta$  et de NIS.

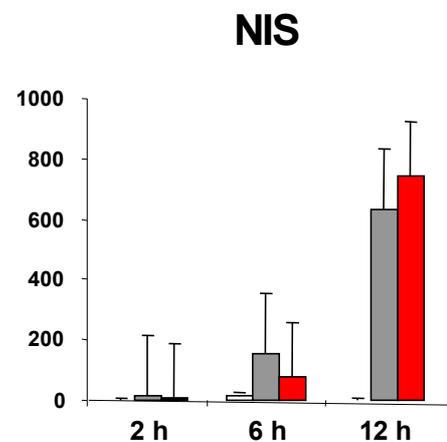
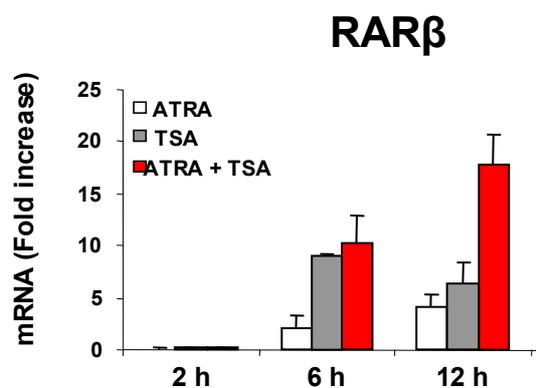
-Quand on traite avec la TSA seule (Trichostatine A), qui acétyle les histones, les résultats sont plus probant que pour l'AR seul.

-Quand on met AR+TSA, la synthèse de RAR $\beta$  est correcte, et il y a synthèse de NIS.

-NB: Comme c'est le RAR $\beta$  qui induit la synthèse du NIS, il faut déjà qu'on ait du RAR $\beta$  pour pouvoir ensuite synthétiser le NIS.

-On traite les 60% de malades non sensibles à l'AR seul, avec la TSA associée à l'AR...ça leur permet de pouvoir capter l'iode radioactif (et donc de pouvoir répondre au traitement.)

-On n'a pas encore les résultats de cette méthode, MAIS on les a pour le traitement des leucémies aigües myéloïdes (AML)...



### **C) Résultats des traitements dans la Leucémie Aigüe Myéloïde (1980 à 2007):**

<b>DNMTi (LD Ara-C, 5 AZA, 5 AZA-D) (= inhibiteurs des DNA méthyl-transférase)</b>	<b>HDACi (NaBU, VPA) (= inhibiteurs des histone-déacétylase)</b>	<b>AR (ATRA) (=induction de la transcription de gènes de la différenciation)</b>	<b>Taux de patients entrant en rémission complète</b>
+	-	-	15-30%
+	-	+	25%
+	+	-	30%
+	+	+	50-60%

-Si on traite les patients seulement avec les DNMTi (donc déméthylation des gènes), seulement 15 à 30% des patients entrent en rémission complète.

-Si on utilise l'AR et les DNMTi, pas tellement mieux: 25% de rémission complète.

-Si on fait DNMTi + HDACi, c'est tjs pas terrible (30%)

-Qd on combine les 3, on obtient 50 à 60% de rémission complète.

## **VI.CONCLUSION:**

Plus on comprend comment la cellule contrôle les différents événements que sont: .la prolifération .la différenciation et .la survie, plus on arrive à faire des diagnostics, mais aussi à bien traiter les malades.
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Aux cellules thyroïdiennes  
qui apparaissent 256 fois  
(si,si, ai compté!) dans ma  
ronéo...

## **DEDICACE:**

(avec un «c», bordel!!)



- Julien:** mon amoureux...qui a prouvé l'ardeur de sa flamme en se levant aux aurores, pour m'accompagner en cours!! merci!!  
.espère que cette année, au ski, la douche n'donnera pas sur les chiottes!!! J'plaisante, pask sinon Tim va plus vouloir être dans notre appart!!  
.tm!
- τιμοθη:** Timothée, pour les sourds et malentendants (han, ça m'a pris la tête les lettres grecques à intégrer, ça m'prenait 3h à chaque fois!)  
.Ma rivale n°1, qui trouve qu'1 nuit avec Julien, c + sexy qu'une nuit avec Servane!!  
J'confirme (même si n'ai jms tenté de nuit glamour avec toi, Serv!) mais ça m'inquiète!  
.«On ne prendra le cas où seulement l'un des 2 parents du père du malade et de sa soeur est hétérozygote» merci, c'était très clair!! ;)
- Servane:** JF (avec seins, arrêtez les gars!) recherche JH possédant Mini pour PCR...et + si affinité!!  
.Pro de l'épilation, de la dépilation (et autres techniques méconnues dans nos contrées), qu'elles soient orientales, thaïlandaises ou berlinoises...et surtout, SURTOUT, la SEULE FILLE qui arrive à en parler pdt des heures aux garçons!!!
- Maïkeul:** futur ministre de la santé (par piston, biensûr!;) ) mais pour l'instant gros militant...au mauvais parti!! lol!!  
.PS: Sais-tu qui sera sa prochaine après Carla??
- Beurey:** Meilleur chirurgien porçain de France et de Navars,  
.Capable de se péter les 2 jambes et les 2 boules (de Noël, rassurez-vous mesdames!) en 1 tps record!
- Eugénie:** portée disparue...  
.espère que les RG te retrouveront vite, pask si ta raclette-party tombe en plein mois d'juin, elle perdra un peu d'son charme!!!  
.les nombres pairs, meeeeerdeu! c'est niveau CP!!...et c la seule chose que t'aies à faire, chef ronéo de peu de foi(e)!! :)
- J-j:** que personne ne connais (enfin, j'crois) et qui n'sait pas lire, mais avec qui ai découvert plein de choses et passé de bons mmt!
- Maurice:** qui prend les cours mieux que personne...j'te dois une fière bretelle (seuls les + cultivés comprendront....rooooooh, La Cité d'la Peur! (si, c d'la culture Monsieur!))!!
- Clémence et Angèle:** DSL, ne viens jms à vos soirées, mais comme ai 12 grands parents (c la dûre loi des familles recomposées) fête Noël pdt 1 semaine entière!!

Biz à mes groupes de stage de sémio et infirmier (éh, Beurey, t'es cité 2 fois, c trop la classe!)

Biz à Driss, Maxine, Fehd, Alex, les D1, à...mince n'ai plus de place, sinon t'aurai bien mis...

Pi une pensée à la pauvre prof de bio d'terminale, qui prend trop cher!!

Raphaëlle