

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad Dahleb Blida 1**



**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

Département de biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER : En SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

**OPTION : GENETIQUE**

Thème :

**Etude génétique BRCA1 et BRCA2 chez une patiente avec antécédents familiaux de cancer de l'ovaire présentant une double localisation néoplasique mammaire et ovarienne.**

**Présenté et soutenu publiquement le : 28 /09/2020**

**Par :**

Mme. KABAZ Selma

Mme. MOUSSAOUI Rofeida

**Membres de jury :**

Pr SAADI Leila	Professeur	USDB	Présidente
Pr SEGHIER Fatma	Professeur	EPH	Promotrice
Dr. MOHAMED SAID Ramdane	MCA	USDB	Co-promoteur
Dr CHELGHOUM Hayet	MCB	USDB	Examinatrice

**Promotion : 2019/2020**

## **Dédicace**

Nous dédions ce modeste travail :

A nos parents qui nous ont soutenus et qui ont fait beaucoup de sacrifices pour nous voir arriver à ce jour. Nous sommes fières d'avoir des parents comme vous.

A Noussaiba et la petite Amina nos sœurs communes.

A nos maris qui ont supporté nos sauts d'humeur.

A nos deux familles et belles familles respectives.

A tous nos amis(es) et toute la promotion 2ème année Master génétique.

Aujourd'hui notre joie est immense d'être arrivées au bout du tunnel qui était si long avec pleins d'embûches et de difficultés. Nous sommes très fières de notre amitié qui nous a beaucoup aidé à surmonter les dures épreuves et achever notre cursus scolaire ensemble depuis le préscolaire.

## **Dédicaces aux patient(e)s et aux familles des patient(e)s**

Permettez-nous à travers ce travail de mémoire de vous remercier.

Sachez que vous n'êtes pas seul dans votre combat contre le cancer.

Partagez votre douleur et votre peine avec vos proches ;

vous trouverez un regain de courage dans leur force et de l'espoir dans leur amour.

Sachez que vous êtes toujours la personne unique et formidable que vous étiez

avant le diagnostic du cancer.

Vous allez «Inchallah» surmonter toutes ces épreuves.



## Remerciements

Ce travail a été effectué au service d'Oncologie Médicale à l'EPH de Sidi Ghiles et au laboratoire CERBA où le test oncogénétique a été réalisé.

Nous remercions Allah, le tout puissant pour sa bonté, pour sa miséricorde et pour sa clémence qui nous a donné l'honneur d'être parmi les êtres qui ont eu la chance de savoir lire et écrire et donne aboutissement à ce modeste mémoire.

Nous tenons à remercier vivement tous ceux qui ont participé à la rédaction de ce document.

Il s'agit plus précisément de :

- Professeur **SEGHIER Fatma** Chef de service d'Oncologie Médicale à l'EPH de Sidi Ghiles, qui nous a proposé le sujet de ce mémoire de PFE et nous a guidé avec ses précieux conseils, suggestions, disponibilité, encouragements et beaucoup d'aide, ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de ce travail.

-Monsieur le chef d'option de génétique et notre co-promoteur **MOHAMED SAID RAMDANE**.

Nos remerciements aux membres de jury :

-Madame la chef de département de biologie et physiologie cellulaire et présidente de jury **SAADI Leila** merci d'avoir accepté de présider ce jury.

- Madame **CHELGHOU** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier vivement :

- Professeur **CAID** Oncologue au CAC de Blida pour son aide qui nous a été précieuse.

- Mme **MENAA Louiza** superviseur des responsables de l'information médical chez BIODIAG représentant exclusif du laboratoire CERBA.

- Dr **BOURAS** Maitre Assistante à l'université ES SENIA Oran d'avoir interprété les résultats de notre recherche.

- Tout le personnel du service d'oncologie de l'EPH de Sidi Ghiles pour leur accueil chaleureux.

Nos remerciements également à nos enseignants

Remerciements les plus sincères à tous les malades, le symbole de la patience, du courage et de persévérance dans la foi. Qu'une guérison définitive vous soit accordée, ne laissant derrière elle aucun mal.

# Sommaire

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Liste des abréviations

## Introduction.....1

## Chapitre I : Synthèse bibliographique.

I. Généralité sur le cancer :.....	2
I.1. Définition :.....	2
I.2. Généralité du cancer : .....	2
➤ Quelques statistiques du cancer en Algérie :(OMS 2018) .....	3
II. Cancer du sein et de l’ovaire prédisposition génétique :.....	5
II.1. Anatomie et histologie de l’ovaire :.....	5
II.2. Anatomie et histologie du sein :.....	7
II.3. Qu’est-ce que le cancer du sein et de l’ovaire ?: .....	9
➤ Cancer du sein : .....	9
➤ Cancer de l’ovaire :.....	9
II.4. Facteurs de risque liés au cancer du sein et de l’ovaire : .....	10
➤ Sein : .....	10
➤ OVAIRE : .....	11
II.5. Prédisposition génétiques aux cancers :.....	12
II.6. BRCA1 et BRCA2 : .....	13
II.6-1.Structure et protéine BRCA1 :.....	14
II.6-2.Structure et protéine BRCA2 :.....	15
II.7. Fonctions de BRCA1 et BRCA2 : .....	16
II.7.1 Régulation de la transcription : .....	17
II.7.2. Détection de signalisation et réparation des dommages de l’ADN : .	18
II.7.3 Autres fonctions de BRCA1 et BRCA2 :.....	18

II.8. Pathologies moléculaires des gènes BRCA1 et BRCA2 : .....	19
II.8.1 Les mutations ponctuelles : .....	20
II.8.2. Les réarrangements génomiques : .....	21
II.9. Syndrome sein-ovaire lié à une mutation des gènes BRCA1 et BRCA2 : .....	21
➤ GÉNÉTIQUE ET CANCER DU SEIN.....	22
➤ SCORE D'EISINGER OU SCORE INSERM.....	22
➤ SUIVI D'UNE PERSONNE PRÉDISPOSÉE À DÉVELOPPER UN CANCER DE L'OVAIRE : .....	23
II.10. Epidémiologie du cancer de l'ovaire et du sein : .....	24
II.10.1 Epidémiologie du cancer de l'ovaire : .....	24
➤ Epidémiologie descriptive.....	24
a) Fréquence.....	24
b) Répartition géographique.....	24
II.10.2 Epidémiologie du cancer du sein : .....	25
III. Le cancer de l'ovaire et du sein sur le plan clinique:.....	25
III.1.Symptomes et signes cliniques: .....	25
➤ Sein : .....	25
➤ Ovaire : .....	26
III.2 Le diagnostic :.....	26
III.2-1.Le cancer du sein : .....	28
➤ Classification TNM : .....	28
III.2-2 Le cancer de l'ovaire :.....	30
➤ Classification TNM : .....	30
III.3 De la mutation au traitement oncologique : .....	31
III.4. L'épissage : .....	32
III.4.1 Transcription et maturation des ARN pré-messagers :.....	332
III.4.2 mécanismes et régulation :.....	33
III.4.3 L'épissage alternatif :.....	34
III.4.4 Epissage alternatif et pathologie :.....	35
III.4.5 Les transcrits alternatifs de <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i> :.....	37

## **Chapitre II: Matériels et Méthodes**

I. Cadre d'étude :.....	38
II. Test : .....	38
II.1. Protocole utilisé :.....	39
II.1.1. Méthode SureSelect (Agilent) :.....	39
II.1.2. Séquençage paired-end :.....	39
II.1.3. RefSeq : .....	40
II.1.4 Méthode alternative :.....	40
a) Méthodes de séquençage de type Sanger.....	40
b) Technique de PCR (qPCR).....	41

## **Chapitre III: Résultat et Discussion**

III.1 Evaluation clinique :.....	43
III.2 Résultat oncogénétique : .....	43
III.3 Commentaire .....	43
III.4 Discussion : .....	44

## **Conclusion**

## **Annexes**

## **Références bibliographiques**

## Liste des figures

Figure 1: nombre de décès par le cancer en Algérie. (OMS 2018) .....	4
Figure 2: Statistiques du cancer en Algérie : (OMS 2018) .....	4
Figure 3 : anatomie de l'appareil reproducteur ( Atlas du coprs humain) .....	5
Figure 4: Représentation schématique de l'organisation interne de l'ovaire ainsi que des follicules stades de leur développement (Amandine A, 2014).....	6
Figure 5: Structure anatomique du sein (Institut National de Cancer).....	7
Figure 6: Division mamelonnaire habituelle en 4 Quadrants (Alfred F, 2010) .....	8
Figure 7: Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique (Pierre K, 2011) .....	8
Figure 8:structure tridimensionnelle du gène BRCA1. (NCBI/ structure BRCA 1).....	15
Figure 9:structure tridimensionnelle du gène BRCA2.( NCBI/structure/BRCA2).....	16
Figure 10: éléments structuraux des protéines BRCA1 et BRCA2.(NCBI/structure/BRCA2)16	
Figure 11:rôles de PARP1 et de BRCA1/2 et mécanisme d'action des inhibiteurs du PARP .	32
Figure 12: Mécanisme et régulation d l'épissage (Agnès Collet, 2013).....	34
Figure 13: Mécanisme de l'épissage alternatif.....	35
Figure 14 : Les exons sont représentés par des rectangles, les introns par un trait vert. La position de la mutation est indiquée par un symbole rouge ; les traits rouges schématisent l'anomalie de la transcription3. ....	36
Figure 15: Flux de préparation globale de l'échantillon cible. (SureSelectQXT Target Enrichment for Illumina Multiplexed Sequencing) .....	39
Figure 16: Arbre généalogique de la patiente sur laquelle a été faite l'étude.....	41
Figure 17: arbre généalogique de la deuxième patiente. (GenoPro 2020) .....	49
Figure 18: arbre généalogique de la troisième patiente. (GenoPro 2020).....	51



## Liste des tableaux

Tableau 1:Facteurs de risque de cancer de l ovaire :.....	11
Tableau 2:Génétique et cancer du sein :.....	22
Tableau 3:Score de l'eisinger ou score INSERM.....	22
Tableau 4:Classification TNM de cancer du sein .....	28
Tableau 5:Classification TNM d cancer de l'ovaire .....	30
Tableau 6 :Mutations délétères identifiées sur BRCA1 :.....	53

## Liste des abréviations

**A.A** : Acide Aminé.

**AD** : Activation Domaine.

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique.

**ARN** : Acide RiboNucléique.

**ARNsn** : RNA Small Nuclear.

**ATM** : Ataxia Telangiectasia Mutated.

**BRCA** : Breast Cancer Associated.

**BRCT** : BREast Cancer C Terminus.

**BioDiaG** : Direction Générale Laboratoire D'analyse De Biologie Médicale D'Alger.

**CAC** : Centre Anti Cancer.

**CAK** : CDK Activating Kinase.

**CHEK2** : Checkpoint Kinase 2.

**CTIP** : Cells Enter Phase And The Recrutement Of BRCA1.

**EDTA** : EthyleneDiamine Tetraacetic Acid.

**EPH** : Etablissement Public Hospitalier.

**ER  $\alpha$**  : Estrogen Receptor  $\alpha$ .

**ESE** : Exonic Splicing Enhancers.

**ESR1** : Estrogen Receptor 1.

**ESS** : Exonic Splicing Silencers.

**ETUDE TNT** : Treating New Targets.

**Her2-neu** : Human Epidermol Growth Factor Receptor 2.

**HR** : Homologous Recombination.

**ISE** : Intronic Splicing Enhancers.

**ISS** : Intronic Splicing Silencers.

**MOTIF RAD** : Radiation Absorbed Dose.

**NHEJ** : Non Homologous End Junction.

**NCBI** : National Center For Biotechnology Information.

**NLS** : Nuclear Localization Signal.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PALB2** : Partner And Localizer of BRCA2.

**PARP** : Poly (ADP\_ribose) Polymerase.

**PCR** : Polymerase Chain Reaction.

**PHASE G** : Grow ou Gap.

**PHASE S** : Synthesis.

**PTEN** : Phosphatase and TENsin homolog.

**qPCR** : PCR quantitative.

**RCP** : Réunion de Concentration Pluridisciplinaire.

**Ref Seq** : NCBI Référence Séquence.

**Sne selec** : Methode de Sélection.

**SNG** : Séquençage de Nouvelle Génération.

**STK11** : Serine Threonine Kinase 11.

**TP 53** : Tumor Protein 53.

**TNM** : Tumor, Nodes, Metastasis.

**ZNF350** : Zinc Finger Protein 350.

## **Résumé :**

Le développement des connaissances en génétique a permis de caractériser deux gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et/ou de l'ovaire : les gènes BRCA1 et BRCA2, dont les mutations délétères confèrent un risque tumoral élevé, qui augmente avec l'âge. Ce travail a pour objectifs de contribuer à identifier les mutations délétères et les variants polymorphes BRCA1/2 dans un échantillon d'une population algérienne.

Une recherche de mutation de ces gènes est réalisée chez une patiente présentant une histoire personnelle de double localisation néoplasique mammaire et ovarienne et une histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire, évocatrice d'une prédisposition génétique, étayée par la construction de l'arbre généalogique sur trois générations. Nous avons ainsi pu recruter 3 familles algériennes provenant de la même wilaya « Tipaza » Algérie.

Un prélèvement sanguin est réalisé sur tube EDTA après consentement éclairé. L'analyse génétique à la recherche des mutations ponctuelles sur BRCA1 et BRCA2 est réalisée par séquençage direct (méthode Sanger).

Nous avons identifié une mutation délétère de BRCA1 dont le variant est : **c.4987-2A> G** ou **IVS15-2A> G** et consiste en une substitution nucléotidique A> G en position -2 de l'intron 15 du gène BRCA1.

La connaissance du statut mutationnel BRCA1/2 permet de prescrire une thérapie ciblée aux patientes mutées (inhibiteurs de PARP).

**Mots clés :** Cancer du sein et/ou ovaire familial, gène suppresseur de tumeur, variant BRCA1, mutation, histoire familiale.

## **Abstract:**

The development of genetic knowledge has helped to characterize two major genes of predisposition to breast and/or ovarian cancers: the BRCA1 and BRCA2 genes, whose deleterious mutations confer a high tumor risk, which increases with age. The aim of this work is to help identify harmful mutations and polymorphic variants BRCA1/2 in a sample of an Algerian population. A mutational research of these genes is carried out in a patient with a personal history of dual neoplastic breast and ovarian and a family history of breast and/or ovarian cancer, suggestive of a genetic predisposition, supported by the construction of the family tree over three generations. We were able to recruit 3 Algerian families from the same wilaya "Tipaza" Algeria.

A blood sample is taken on an EDTA tube after informed consent. Genetic analysis for point mutations on BRCA1 and BRCA2 is carried out by direct sequencing (Sanger method).

We have identified a deleterious BRCA1 mutation with a variant: c.4987-2A-G or IVS15-2A G and consists of a nucleotide substitution A-G in position -2 of the BRCA1 gene intron 15. Knowledge of BRCA1/2 mutational status allows targeted therapy to be prescribed to mutated patients (PARP inhibitors).

**Keywords:** Breast cancer and/or familial ovary, tumor suppressor gene, variant BRCA1, mutation, family history.

## ملخص:

لقد أتاح تطور المعرفة الوراثية إمكانية تشخيص اثنين من جينات الاستعداد الرئيسية لسرطان الثدي و / أو سرطان المبيض: جينات BRCA1 و BRCA2 ، اللتان تؤديان طفراتهما الضارة إلى زيادة خطر الإصابة بالورم ، والتي تزداد مع تقدم العمر. تتمثل أهداف هذا العمل في المساهمة في تحديد الطفرات الضارة ومتغيرات BRCA1 / 2 متعددة الأشكال في السكان الجزائريين.

يتم إجراء البحث عن الطفرات في هذه الجينات لدى مريض لديه تاريخ شخصي لتوطين أورام الثديين والمبيضين وتاريخ عائلي للإصابة بسرطان الثدي و / أو المبيض ، مما يستدعي الاستعداد الوراثي ، مدعومًا ببناء شجرة العائلة على مدى ثلاثة أجيال. وهكذا تمكنا من تجنيد 3 عائلات جزائرية من نفس ولاية "تيزازة" الجزائر.

يتم أخذ عينة الدم على أنبوب EDTA بعد الموافقة المسبقة. يتم إجراء التحليل الجيني للطفرات النقطية على BRCA1 و BRCA2 بالتسلسل المباشر (طريقة Sanger).

لقد حددنا طفرة ضارة في BRCA1 المتغير هو: G <c.4987-2A أو G <IVS15-2A و يتكون من استبدال النكليوتيدات G <A في الموقع -2 من intron 15 من جين BRCA1.

إن معرفة حالة طفرة BRCA1 / 2 تجعل من الممكن وصف العلاج الموجه للمرضى المتحولين (مثبطات PARP).

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الثدي العائلي و / أو سرطان المبيض ، جين مثبط الورم ، متغير BRCA1 ، طفرة ، تاريخ عائلي.

## **Introduction :**

Depuis de nombreuses années, le cancer représente un phénomène tout à fait particulier dans le domaine de la santé car il est parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde (OMS 2015). Le cancer apparaît à partir d'une seule cellule. La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale est un processus passant par plusieurs étapes. Ces modifications proviennent des interactions entre les facteurs génétiques propres au sujet et des agents extérieurs. En 2012, on comptait approximativement 14 millions de nouveaux cas et 8,2 millions de décès liés à la maladie (OMS 2015).

Chez les femmes, les 5 types de cancer les plus couramment diagnostiqués en 2012 étaient le cancer du sein, du côlon et rectum, le col de l'utérus, de thyroïde et de l'ovaire (OMS 2015).

Le cancer de l'ovaire c'est le plus grave des cancers gynécologiques, en particulier parce que la maladie reste longtemps asymptomatique, et que son diagnostic est le plus souvent fait à un stade avancé (Hervé F, 2005).

Parmi les cancers, les plus recensés de nos jours, c'est le cancer du sein qui reste le plus fréquent chez la femme ; Il constitue une pathologie hétérogène et multifactorielle. Il est responsable de 20% des décès par an (Yaichi, 2014).

L'objectif de notre travail était d'identifier parmi les familles à haut risque de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire (forte histoire familiale de cancer), dans le but de rechercher des mutations constitutionnelles délétères de BRCA1 ou BRCA2.

Nous avons recruté un seul cas avec une forte histoire familiale de cancer du sein et de l'ovaire présentant une double localisation néoplasique mammaire et ovarienne avec un score INSERM égale à 5, vu le coût excessivement cher nous n'avons pu réaliser qu'un seul test sur la patiente la plus susceptible à avoir la mutation.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**



## **I. Généralité sur le cancer :**

### **I.1. Définition :**

Cancer est un terme général appliqué à un grand groupe de maladies qui peuvent toucher n'importe quelle partie de l'organisme. L'une de ses caractéristiques est la prolifération rapide de cellules anormales qui peuvent essaimer dans d'autres organes, formant ce qu'on appelle des métastases. (OMS/ cancer2014)

De nombreux cancers peuvent être prévenus en évitant les principaux facteurs de risque, comme le tabagisme ou des produits cancérogènes. Un nombre significatif de cancers peuvent être soignés par la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie surtout s'ils sont détectés suffisamment tôt. (OMS/ cancer2014)

### **I.2. Généralité du cancer :**

Le corps humain est constitué de millions de cellules, dont les formes, les tailles et les fonctions sont très diverses. Les cellules sont les structures de base de tous les tissus présents dans l'organisme.

Dans un tissu sain, de nouvelles cellules sont créées au cours d'un processus de division cellulaire appelé mitose. Lorsque la cellule est trop vieille, elle s'autodétruit et meurt au cours d'un processus appelé apoptose. Un équilibre fragile existe donc entre le nombre de nouvelles cellules créées et le nombre de cellules qui disparaissent chaque jour. Lorsqu'un cancer se développe, cet équilibre s'en trouve rompu et les cellules commencent à se développer de manière anarchique. Ce déséquilibre peut être soit dû à une croissance cellulaire anarchique, soit à la perte de la capacité de la cellule à s'autodétruire, ce qui entraîne la formation d'une masse de cellules appelée tumeur.

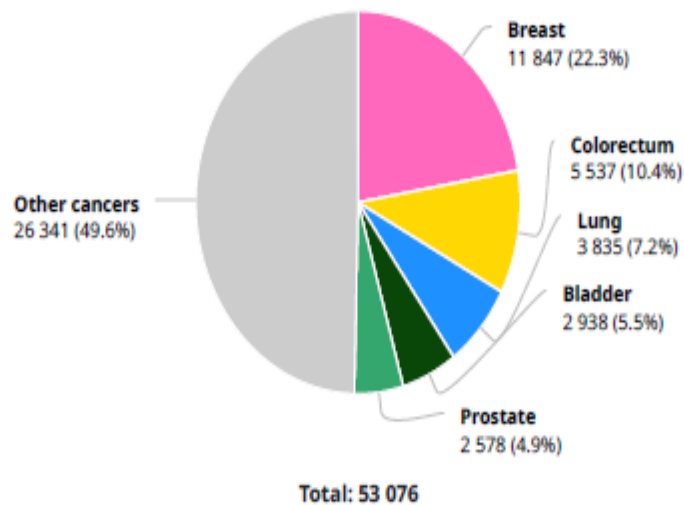
Une tumeur bénigne, c'est-à-dire non cancéreuse est une excroissance de cellules d'apparence normale. Ces cellules restent cantonnées à leur siège d'origine. À l'inverse, les cellules malignes (ou cancéreuses) ont la capacité de migrer (on dit "métastaser") vers d'autres régions du corps par le biais des systèmes circulatoires ou lymphatiques et forment de nouvelles tumeurs dans ces nouvelles zones.

## Synthèse bibliographique

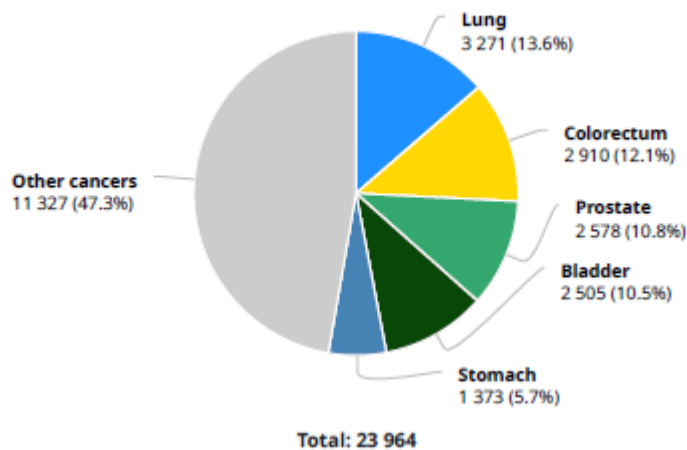
Les cancers portent le nom de l'endroit où ils ont pris naissance. Cette zone est appelée site primaire. Lorsqu'un cancer du poumon se propage vers le cerveau, la tumeur cérébrale est considérée comme une métastase du cancer pulmonaire et non comme un cancer du cerveau. On dit que la tumeur cérébrale est le site secondaire du cancer.(2)

### ➤ Quelques statistiques du cancer en Algérie :(OMS 2018)

Number of new cases in 2018, both sexes, all ages



Number of new cases in 2018, males, all ages



# Synthèse bibliographique

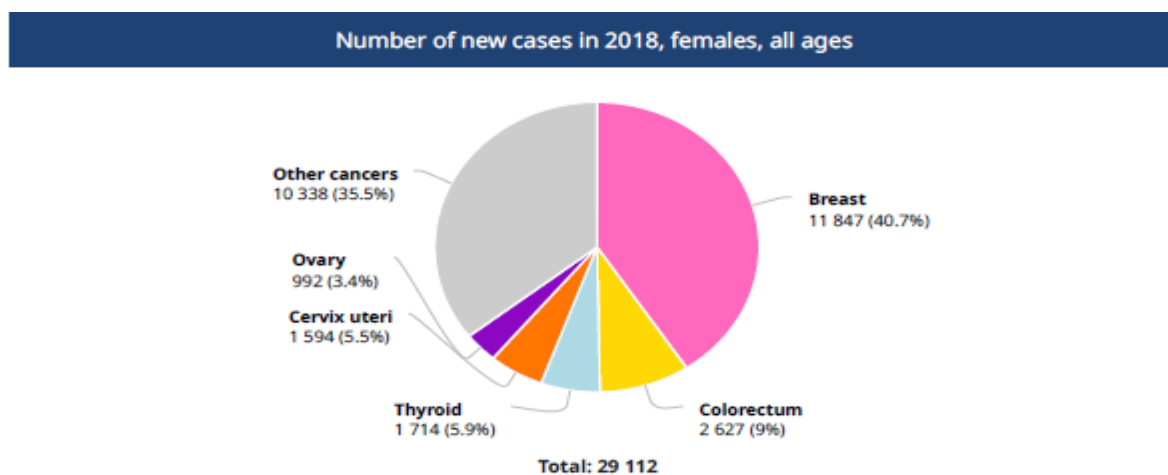


Figure 1: nombre de décès par le cancer en Algérie. (OMS 2018)

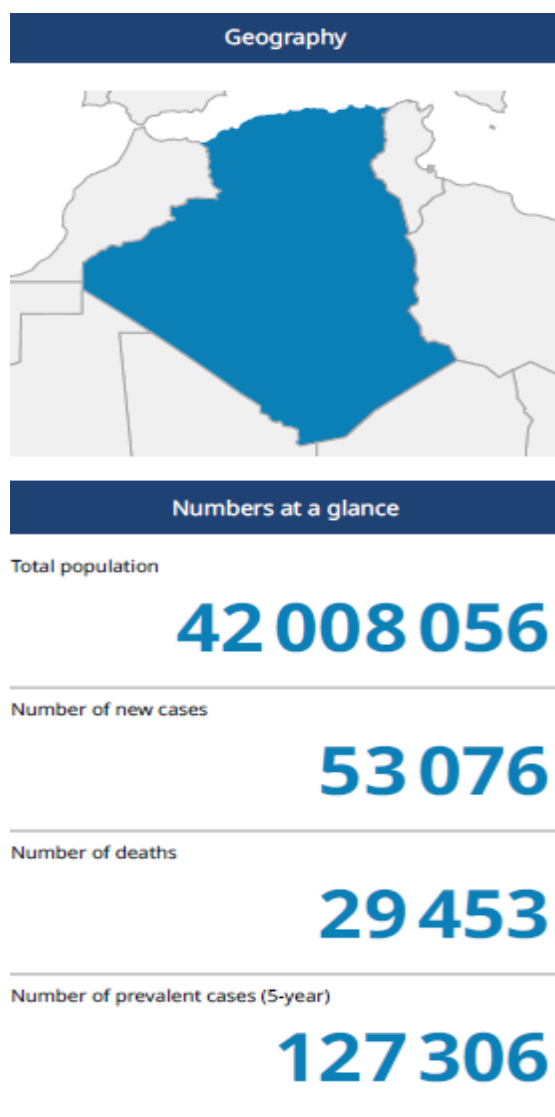


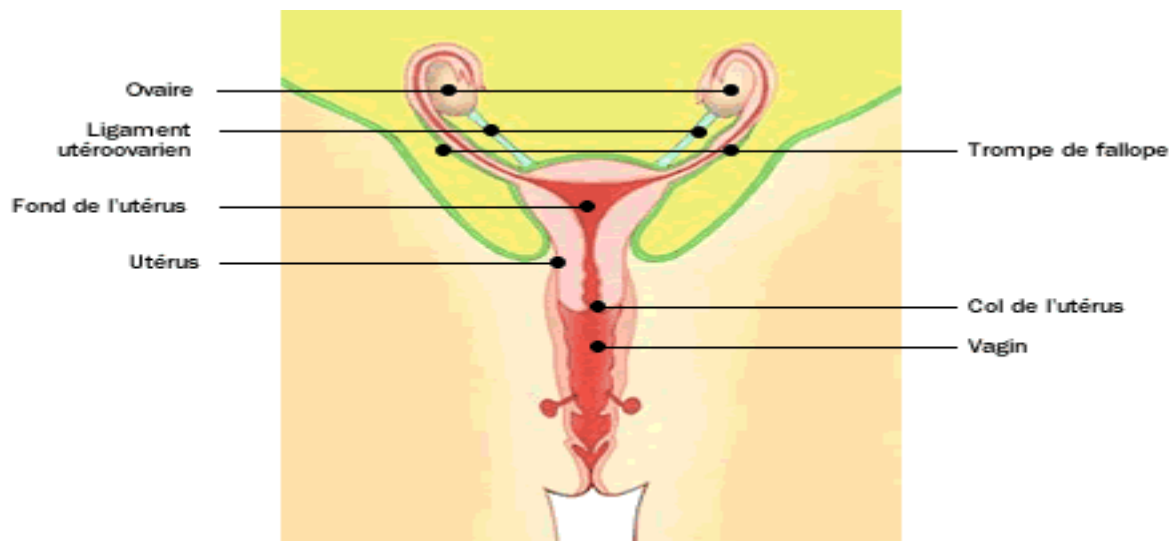
Figure 2: Statistiques du cancer en Algérie : (OMS 2018)

## II. Cancer du sein et de l’ovaire prédisposition génétique :

### II.1. Anatomie et histologie de l’ovaire :

Ce sont deux glandes génitales féminines, où se forment les ovules (cellules destinée à être fécondées) et qui produit des hormones (œstrogènes et progestérone) (**Atlas du corps humain**).

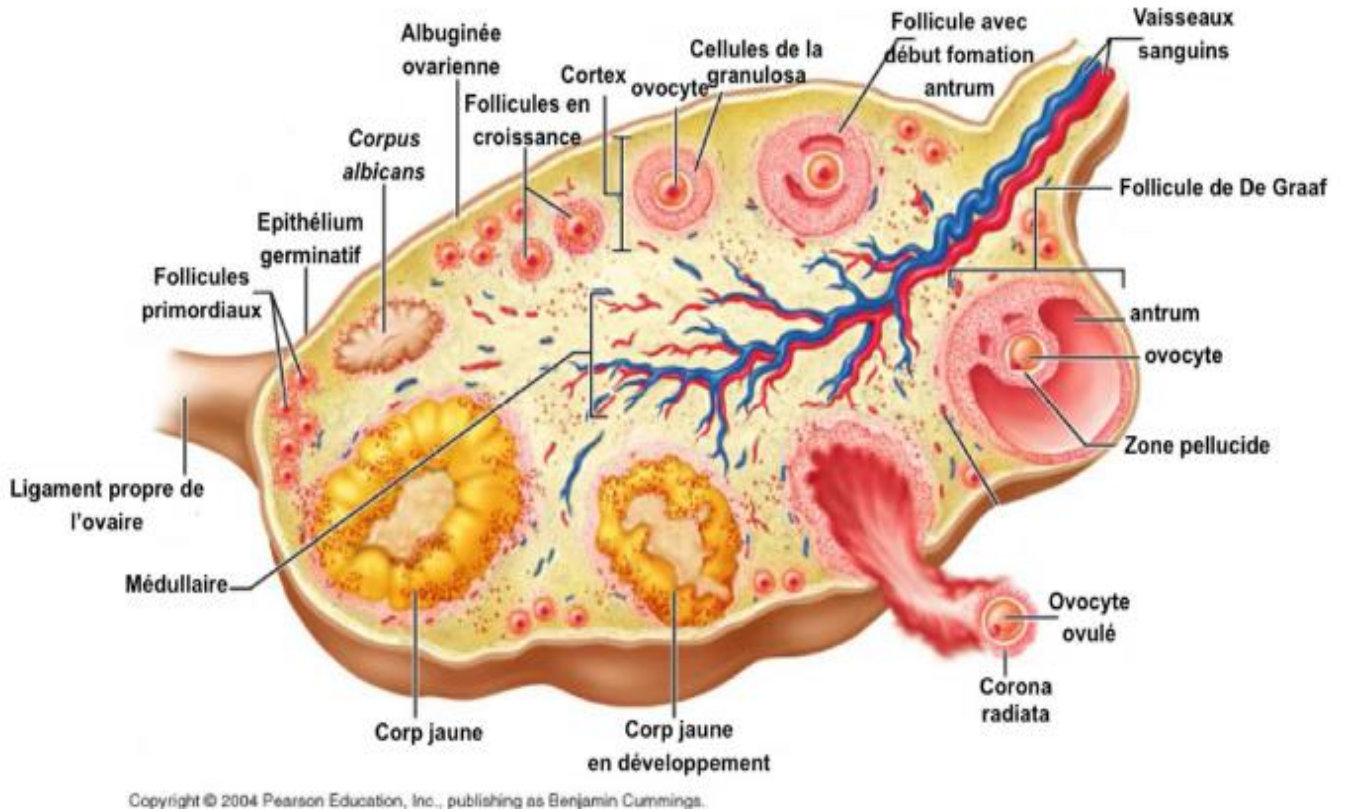
(4)



**Figure 3 : anatomie de l'appareil reproducteur ( Atlas du corps humain)**

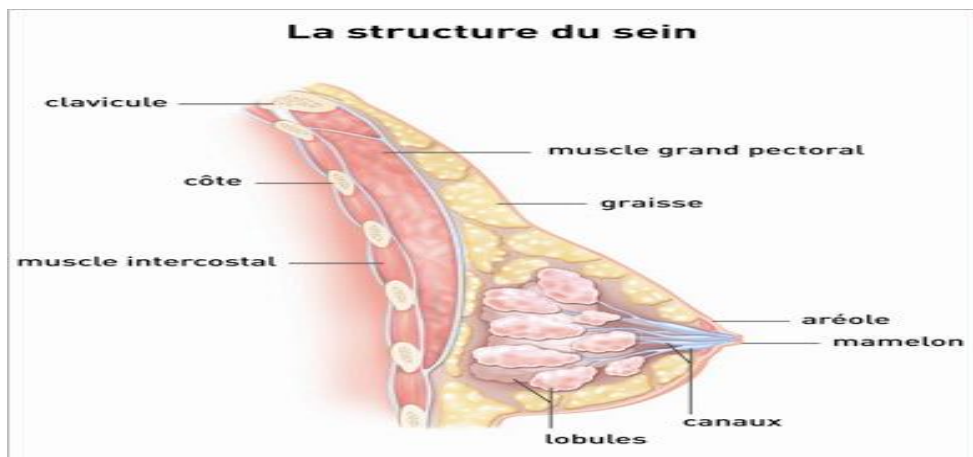
Histologiquement on observe 4 zones distinctes dans l’ovaire :

- ✓ **Épithélium germinatif** qui est un épithélium cubique simple, qui recouvre l’ovaire.
- ✓ **Albuginée ovarienne**, une capsule de tissu conjonctive dense et pauvre en cellules, Située immédiatement sous l’épithélium germinatif et en périphérie du cortex ovarien.
- ✓ **Cortex ovarien**, qui occupe la périphérie de l’ovaire et qui est la zone fonctionnelle de l’ovaire. Il est composé par les follicules aux différents stades du développement, un Stroma conjonctif de soutien et quelques vaisseaux sanguins.
- ✓ **Médullaire**, zone parenchymateuse constituée essentiellement par du tissu conjonctif lâche et un grand réseau de vaisseaux sanguins et lymphatiques situé dans la partie la plus interne de l’ovaire (**Amandine A, 2014**).



**Figure 4: Représentation schématique de l'organisation interne de l'ovaire ainsi que des follicules stades de leur développement (Amandine A, 2014)**

## II.2. Anatomie et histologie du sein :



**Figure 5: Structure anatomique du sein (Institut National de Cancer).**

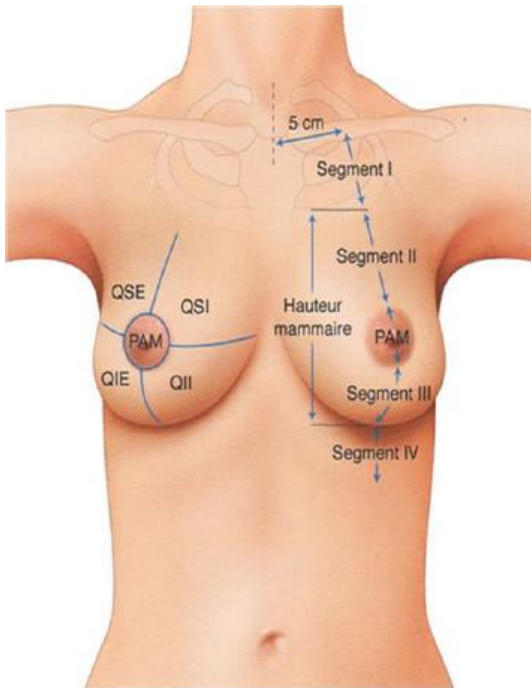
Le sein est divisé en 4 quadrants et une région centrale : (Fig.6)

- ❖ Quadrant supéro-externe (QSE)
- ❖ Quadrant supéro-interne (QSI)
- ❖ Quadrant inféro-externe (QIE)
- ❖ Quadrant inféro-interne (QII) (6)

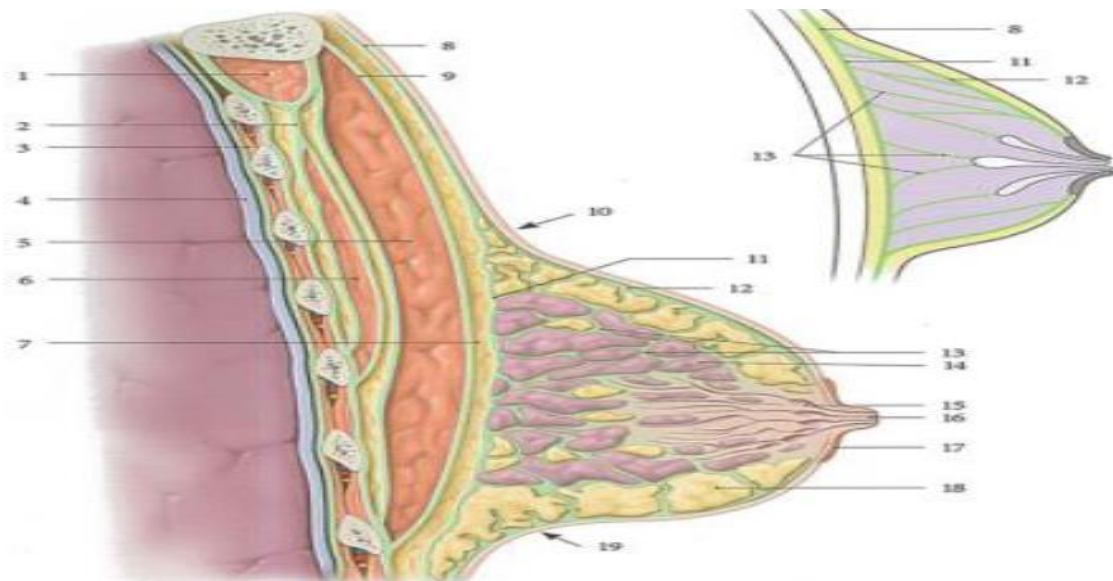
Plaque aréolo-mamelonnaire (PAM)

On le divise aussi en 4 segments : (Fig.6)

- ❖ Segment 1 : représenté par la partie thoracique antérieure allant de la clavicule jusqu'à au sillon sus-mammaire.
- ❖ Segment 2 : s'étendant du sillon sus-mammaire au bord supérieur de la PAM
- ❖ Segment 3 : s'étendant du bord inférieur de la PAM au sillon sous- mammaire.
- ❖ Segment 4 : s'étendant du sillon sous – mammaire au rebord costal. (Alfred F, 2010)



**Figure 6: Division mamelonnaire habituelle en 4 Quadrants (Alfred F, 2010)**



**Figure 7: Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique (Pierre K, 2011)**

1. m. subclavier
2. fascia clavi-pectoral
3. fascia endo-thoracique
4. plèvre pariétale
5. m. grand pectoral
6. m. petit pectoral
7. espace rétromammaire
8. fascia thoracique superficielle
9. fascia pectoral
10. sillon supramammaire
11. fascia rétromammaire
12. fascia pré mammaire
13. ligg. suspenseurs du sein
14. lobule mammaire
15. sinus lactifère
16. Papille
17. Aréole
18. graisse pré mammaire
19. sillon inframmaire.

### **II.3. Qu'est-ce que le cancer du sein et de l'ovaire ?:**

#### ➤ **Cancer du sein :**

La notion de « cancer du sein » relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de prolifération néoplasique de la glande mammaire qui diffère tant du point de vue histologique que du point de vue de leur comportement évolutif.

Le terme de cancer du sein ne désigne que les tumeurs malignes potentiellement agressives ; du sein tandis que le terme de « tumeur du sein » désigne à la fois les tumeurs malignes et les tumeurs bénignes.

La majorité du cancer prennent naissance dans les canaux galactophoriques ; Si la prolifération des cellules cancéreuses reste dans les canaux on parle de « cancer in situ » ou « intra canalaire » en revanche si les cellules sortent de la paroi des canaux, on parle de « cancer infiltrant ».

Comme pour l'ensemble des cancers, en l'absence de traitement les cellules cancéreuses prolifèrent et vont se disséminer tout d'abord dans les vaisseaux lymphatiques de la région sous le bras et au-dessous de la clavicule, puis dans d'autres organes (foie, poumons) les répercussions sont alors plus dramatiques.

Le cancer du sein est la cause la plus fréquente de décès par cancer chez les femmes et le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes dans 140 sur les 184 pays couverts par GLOBAL CANCER OBSERVATORY dans le monde. Il représente maintenant un cancer sur quatre chez les femmes. L'incidence du cancer du sein a augmenté au cours des 20 dernières années. Cette maladie est le premier cancer chez la femme en Algérie en matière d'incidence. (Espié M, 2010)

#### ➤ **Cancer de l'ovaire :**

Les tumeurs de l'ovaire sont des processus prolifératifs développés au dépend du tissu ovarien, primitifs ou secondaires, bénins ou malins, d'aspect kystique, solide ou mixte, dont la croissance n'est pas directement liée à un dysfonctionnement hormonal. (Querleu D, 1993)

Les tumeurs de l'ovaire soulèvent plusieurs problèmes sur le plan diagnostique, vu la situation anatomique profonde de l'ovaire, l'absence d'une symptomatologie propre expliquant son inaccessibilité au dépistage et au diagnostic précoce. Les difficultés d'interprétation anatomopathologique dues à la multitude des variétés histologiques (tumeur du revêtement épithélial, tumeur du mésenchyme et des cordons sexuels, tumeur des cellules gonadiques), ainsi que l'existence des tumeurs à malignité limitée.



## Synthèse bibliographique

---

Ces tumeurs sont fréquentes et surviennent à tout âge. La répartition des différentes formes de tumeurs ovariennes est très dépendante de l'âge. De même, la proportion de tumeurs malignes augmente avec l'âge : 40% des tumeurs ovariennes sont malignes après la ménopause, moins de 10% avant 40 ans. **(Querleu D, 1993)**

Le cancer de l'ovaire représente plus de 225 000 nouveaux cas diagnostiqués dans le monde chaque année. Les taux d'incidence sont plus élevés dans les Etats-Unis et l'Europe du Nord et plus faible en Afrique et en Asie. Il représente la principale cause de décès par cancer gynécologique. **(Gentry-Maharaj A et al, 2012)**

### **II.4. Facteurs de risque liés au cancer du sein et de l'ovaire :**

#### ➤ **Sein :**

Le cancer du sein est une maladie multifactorielle. Cela signifie que plusieurs facteurs influents sur le risque de sa survenue. On parle de facteurs de risque.

- Age.
- sexe (plus de 99% des cancers du sein touchent les femmes).
- Antécédents personnels.
- Antécédents familiaux.
- Prédisposition génétiques.
- Tabac, Alcool et surpoids.
- Certains traitements hormonaux de la ménopause.
- Peu ou pas d'activité physique.

On connaît aujourd'hui un certain nombre de facteurs de risque du cancer du sein même s'il existe encore des incertitudes quant à l'implication et au poids de plusieurs de ces facteurs. **(INC)**

Une personne qui possède un ou plusieurs facteurs de risque peut ne jamais développer de cancer. Inversement, il est possible qu'une personne n'ayant aucun facteur de risque soit atteinte de ce cancer. **(INC)**

On distingue :

- **Les facteurs de risque lié à l'âge.** En effet, près de 80% des cancers du sein se développent après 50 ans.

## Synthèse bibliographique

- **Les facteurs de risque liés à nos modes de vie** tels que la consommation d'alcool et de tabac, un surpoids ou encore pas ou peu d'activité physique peuvent favoriser l'apparition d'un cancer du sein.
- **Les facteurs de risque liés à certains antécédents médicaux personnels et familiaux. (INC)**

### ➤ **OVAIRE :**

Les facteurs de risque sont habituellement classés du plus important au moins important. Mais dans la plupart des cas, il est impossible de les classer avec une certitude absolue. (Travail personnel)

**Tableau 1:facteurs de risque de cancer de l ovaire :**

Facteurs de risque connus :	Facteurs de risque possibles :
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Antécédents familiaux de cancer de l'ovaire.</li><li>✓ Mutations des gènes BRCA.</li><li>✓ Syndrome de Lynch.</li><li>✓ Aucune grossesse ni aucun accouchement (nulliparité).</li><li>✓ Antécédents familiaux de certains cancers.</li><li>✓ Antécédents personnels de cancer du sein.</li><li>✓ Grande taille à l'âge adulte.</li><li>✓ Hormonothérapie substitutive.</li><li>✓ Tabagisme.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Obésité.</li><li>✓ Applications de poudre de talc sur les organes génitaux.</li></ul>

### **II.5. Prédisposition génétiques aux cancers :**

En une période de près de 25 ans, plus de 70 gènes de prédisposition aux Cancers ont été identifiés. Ils correspondent dans leur majorité aux situations de prédisposition les plus simples à mettre en évidence, la partie émergée d'un iceberg que représenterait l'ensemble des prédispositions aux cancers.

Il s'agit de prédispositions transmises selon un modèle mendélien, dominant ou récessif, et associées à un risque tumoral souvent élevé. En effet, il s'agit soit :

- de prédispositions transmises selon le mode dominant et associées à un risque tumoral élevé et conduisant alors souvent à une concentration familiale de cancers ;
- de syndromes dont les manifestations désignent la prédisposition. Les archétypes de ces maladies en sont les hamartomatoses et les maladies cassantes des chromosomes.

Les gènes de ces deux groupes de prédisposition ont été Identifiés dans la majorité des cas par des études de liaison génétique puis clonage positionnel, ou parfois par des approches gènes candidats. L'un des grands succès des approches de liaison est l'identification des gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, BRCA1 et BRCA2. Les études d'épidémiologie génétique ont examiné la répartition des cancers du sein et les âges au diagnostic dans les familles de femmes atteintes de cancer du sein. Ces études ont retenu un modèle dominant avec des valeurs de fréquence génique et de pénétrance. ( **Claus EB et al, 1991**)

D'autres syndromes rares de prédisposition font augmenter le risque de cancer du sein, il s'agit de la mutation de gènes, impliqués dans la réparation de l'ADN ou l'arrêt de la Multiplication des cellules en cas de lésion au niveau de l'ADN. Il peut s'agir des gènes Suivants :

- **P53.** La mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Li Fraumeni, qui fait, par ailleurs, également augmenter le risque de développer un cancer du sang, du cerveau et le risque de sarcome.
- **CHEK2.**

## Synthèse bibliographique

---

- **ATM.** La mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes d'ataxie télangiectasies.
- **PTEN.** La mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Cowden, ou maladie de Cowden qui prédisposent également aux cancers colorectaux et de la thyroïde.
- **STK11,** aussi appelé **PJS** ou **LKB1.** La mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Peutz-Jeghers. La présence de cette maladie fait également augmenter le risque de cancers colorectaux, de l'ovaire et du testicule. **(INC,2017)**

### **II.6. BRCA1 et BRCA2 :**

Narod et al en 1995, ont estimé la pénétrance du gène BRCA1 sur 82 familles pour lesquelles des mutations sur le gène BRCA1 ont été identifiées. Le risque de développer un cancer du sein chez un porteur de mutation a été estimé à 49% à 50 ans et à 71% à 70 ans et le risque de développer un cancer de l'ovaire à 23% à 50 ans et à 63% à 70 ans.

Ford et al en 1998, ont également estimé la pénétrance du gène BRCA2 chez 32 familles pour lesquelles des mutations sur le gène BRCA2 ont été identifiées. Le risque de développer un cancer du sein chez le porteur de la mutation BRCA2 est de 28% à 50 ans et de 84% à 70 ans, et le risque de développer un cancer de l'ovaire est de 29% à 50 ans et de 88% à 70 ans. Le risque cumulé de cancer du sein chez l'homme porteur de mutation BRCA2 a été estimé à 6% à 70ans. **(Habak Nawel, 2019)**

### **Les autres gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire**

**PALB2 :** anti-oncogène de découverte (2014), son rôle est tout aussi important à connaître que les gènes BRCA1 et BRCA2 d'après certains auteurs. Leur étude a révélé que les femmes présentant des mutations du gène PALB2 ont 35 % de risque d'avoir un cancer du sein avant l'âge de 70 ans.

L'implication d'autres gènes a aussi été décrite comme certains oncogènes (Myc, ErbB2, c-ErbB-1 ou Ras) ou anti-oncogènes (p53, RB).

## Synthèse bibliographique

---

Seule une petite partie des cancers du sein, 5 à 10%, sont héréditaires, c'est-à-dire attribuable à une mutation génétique (qu'elle soit identifiée ou non).

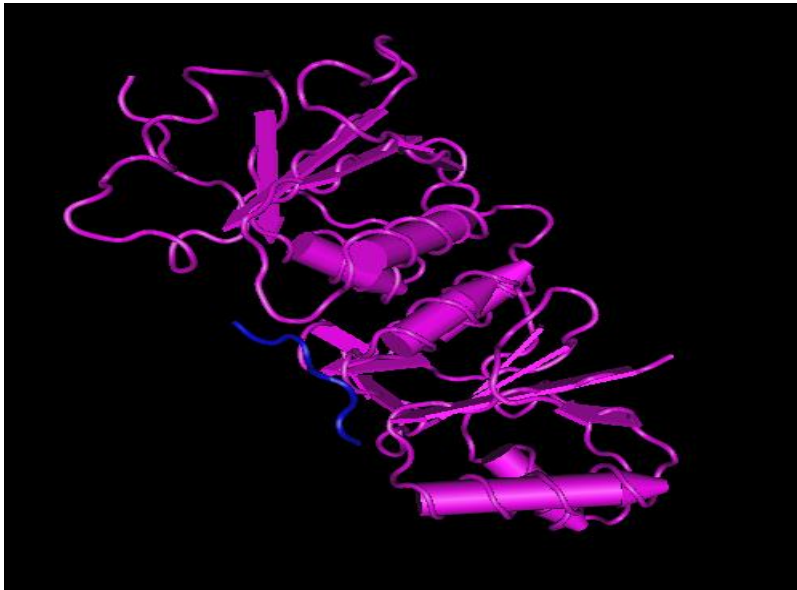
La recherche a permis d'identifier un certain nombre de mutations génétiques favorisant la survenue de cancers du sein. Le plus souvent, celles-ci portent sur des gènes appelés BRCA1 (pour BREast Cancer 1 : gène 1 du cancer du sein) et le BRCA2 (pour BREast Cancer 2 : gène 2 du cancer du sein). Être porteur d'une mutation sur l'un de ces gènes ne se traduit pas systématiquement par l'apparition d'un cancer, mais augmente le risque d'en développer un. C'est ce que l'on appelle une prédisposition génétique.

Lorsqu'une mutation est suspectée ou découverte, une consultation chez un spécialiste d'oncologie génétique est alors proposée à la patiente.

Pendant cette consultation, le médecin évalue le risque génétique et propose éventuellement une recherche de mutation. Dans le cas de l'identification d'une mutation génétique ou lorsque l'histoire familiale évoque un syndrome de prédisposition, même sans identification de mutation, une prise en charge spécifique (surveillance, examen d'imagerie, etc.) est alors proposée à ces femmes. (**ALLIOUA Fakia et al, 2014**)

### **II.6-1. Structure et protéine BRCA1 :**

Le premier motif identifié et bien caractérisé dans la protéine BRCA1 a été le domaine en doigt de zinc « ring » près de l'extrémité N-terminale (a.a. 24 à 64) caractérisé par un motif conservé de cystéines et histidines permettant des interactions protéine-protéine et protéine-ADN (Figure 10). Le second motif, trouvé en analysant la séquence protéique primaire de BRCA1, est une région de deux séquences répétées fortement conservées en C-terminal, appelée le domaine BRCT (a.a. 1648 à 1736 et 1756 à 1863, Figure 10), qui est aussi retrouvé dans de nombreuses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN et le cycle cellulaire tel que p53. La révélation de la structure tridimensionnelle de ces deux régions importantes de BRCA1 a permis d'établir de nouvelles bases pour comprendre au niveau moléculaire les mutations associées au cancer dans ces régions. De plus, deux signaux de localisation nucléaire (NLS : BRCA1 a.a. 501 à 507 et 607 à 614) et un signal d'exportation nucléaire (NES : BRCA1 a.a. 81 à 99) sont essentiels à la localisation nucléaire de BRCA1142-144. Enfin, BRCA1 est composée de deux domaines d'activation de la transcription adjacents (trans-activation 1 et 2 ou AD1 et AD2) en C-terminal de la protéine (a.a. 1293 à 1550 et 1550 à 1863 respectivement) : le premier est doté d'une structure en super hélice et le deuxième comporte le domaine BRCT. (**Jessika F, 2005**)



**Figure 8:structure tridimensionnelle du gène BRCA1. (NCBI/ structure BRCA 1)**

### **II.6-2.Structure et protéine BRCA2 :**

Du côté de BRCA2, l'exon 11 traduit huit motifs BRC répétés conservés entre espèces (Figure 8). Ces motifs interagissent avec la recombinase RAD51, essentielle au mécanisme de recombinaison homologue de l'ADN. La quatrième répétition BRC de BRCA2 (BRC4), homologue avec RecA, a été cristallisée ce qui a permis d'élucider cette interaction. De plus, la structure tertiaire de la région en C-terminale de Brca2 de souris (a.a. 2378 à 3114) a été déterminée en complexe avec la protéine humaine DSS1 ainsi qu'un fragment d'ADN simple brin. Ces deux structures tridimensionnelles élucidées de BRCA2 permettent une meilleure compréhension de l'interaction directe de BRCA2 avec RAD51 et l'ADN simple brin, fournissant une base importante pour mieux comprendre les variants de séquence dans ces régions de BRCA2. Par ailleurs, deux signaux (NLS) situés dans la région C-terminale de la protéine BRCA2, les acides aminés 3266 à 3270 et 3311 à 3316, sont essentiels à sa localisation nucléaire. Enfin, une séquence peptidique conservée, codée par le troisième exon de BRCA2, aurait la capacité d'activer la transcription. . (NCBI/ structure BRCA1)

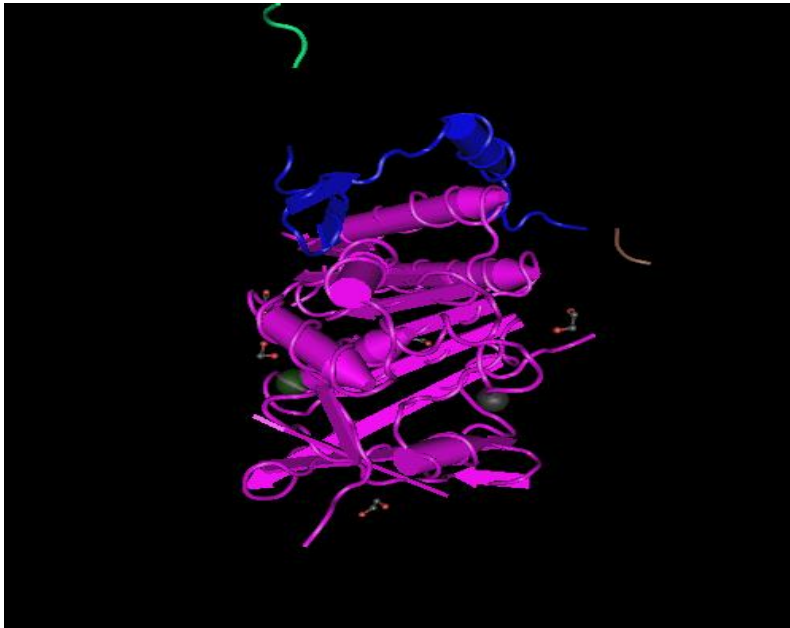


Figure 9: structure tridimensionnelle du gène BRCA2.( NCBI/structure/BRCA2)

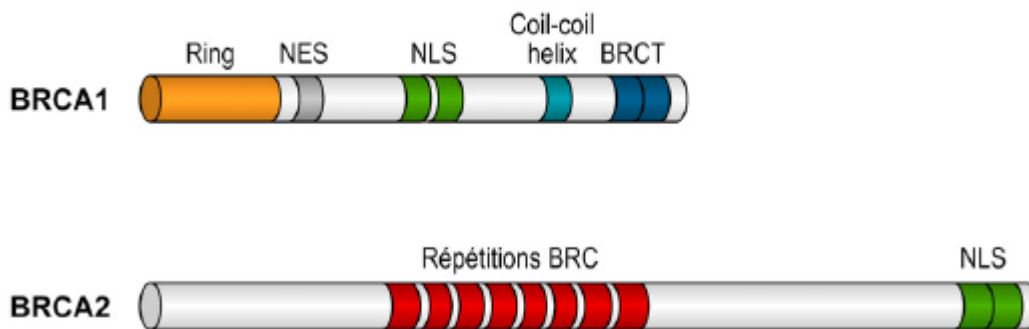


Figure 10: éléments structuraux des protéines BRCA1 et BRCA2.(NCBI/structure/BRCA2)

Ces deux protéines structurellement différentes sont localisées au noyau dans les cellules normales et sont principalement exprimées dans différents tissus pendant les phases de réplication (phase S) et de réparation de l'ADN (phase G2) lors du cycle cellulaire, en réponse à différents. NES (Nuclear Exportation Signal) , NLS ( Nuclear localisation signal ). (NCBI/Structure/BRCA2)

## II.7. Fonctions de BRCA1 et BRCA2 :

BRCA1 et BRCA2 sont exprimés de façon ubiquitaire chez l'être humain. Cette expression corrèle de près avec les degrés de prolifération cellulaire et varie au cours du cycle cellulaire

## Synthèse bibliographique

---

avec des niveaux maximum à la transition G1/S. BRCA1 et BRCA2 sont des protéines dites « caretakers » dont l'inactivation crée un état permissif dans lequel la cellule accumule des défauts cellulaires qui amènent une instabilité chromosomique. Elles sont impliquées dans des fonctions essentielles telles que la régulation de la transcription, la détection et la réparation des brins de l'ADN, le contrôle du cycle cellulaire et le remodelage de la chromatine. (InfoCancer, 2019)

### **II.7.1 Régulation de la transcription :**

Concernant BRCA1, il entre en jeu dans la machinerie transcriptionnelle de base en interagissant avec le complexe de l'ARN polymérase II par l'intermédiaire de l'ARN hélicase A. Il peut réguler l'activité de l'holoenzyme ARN polymérase II en modifiant l'état de phosphorylation de son domaine C-terminal par la kinase CAK. De plus, BRCA1 associée à BARD1 (BRCA1-associated RING domain 1) pourrait utiliser son activité ubiquitine ligase pour bloquer l'initiation de la synthèse de l'ARNm en ubiquitinant le complexe de pré-initiation transcriptionnel.

Il a également été démontré que BRCA1 pourrait agir comme co-régulateur sélectif de la transcription de gènes spécifiques. Plusieurs facteurs de transcription (à la fois co-répresseurs et co-activateurs) interagissent avec BRCA1 dont p53, ESR1, CtIP et ZNF350. En s'associant à p53, BRCA1 le stabilise et stimule son activité transcriptionnelle. Ceci induit un sous-groupe de gènes régulés par p53, et il semblerait que l'association de BRCA1 à p53 redirige l'activité de celle-ci des voies apoptotiques vers la réparation de l'ADN et l'arrêt du cycle cellulaire.

BRCA1 a aussi été associée à une répression de la signalisation par ER- $\alpha$ , probablement à travers la liaison compétitive de co-facteurs (p300/CBP, cycline D1, BRD7). Cette répression cause l'inhibition de la croissance cellulaire induite par l'œstrogène. Par contre, le rôle de BRCA2 demeure obscur. Des études ont proposé que les acides aminés 23 à 105 pourraient activer la transcription via leurs interactions avec des protéines coactivatrices (P/CAF et GRIP1). (Agnès Collet, 2013)



### **II.7.2. Détection de signalisation et réparation des dommages de l'ADN :**

Les cellules déficientes en BRCA1 et BRCA2 sont inefficaces à la réparation des dommages causés à l'ADN. En fonction du type cellulaire et du moment du cycle, la cellule dispose de différentes voies de réparation de l'ADN : - La réparation par recombinaison homologue (homologous recombination, HR) - La réparation par la jonction des extrémités non-homologues (non-homologous end joining, NHEJ) La réparation homologue nécessite une chromatide sœur intacte comme modèle. Elle est considérée comme la voie la plus fiable (elle entre donc en jeu aux phases cellulaires S et G2). Les fonctions de BRCA1 dans la réparation de l'ADN consistent surtout dans un rôle de médiateur entre les protéines de détection des bris et les protéines de réparation. En plus d'être impliqué dans la voie de recombinaison homologue, certaines études suggèrent aussi une implication de BRCA1 dans la réparation de type NHEJ. L'évidence de la participation de BRCA1 dans plusieurs aspects de la réponse aux cassures de l'ADN se reflète par ses interactions protéiques et sa présence dans plusieurs complexes différents.

BRCA2 est quant à elle surtout impliquée au niveau de la voie de réparation HR et la voie NHEJ semble intacte chez les cellules déficientes en BRCA2. BRCA2 est notamment étroitement impliqué dans la réparation de l'ADN par le biais de son interaction avec la recombinase RAD51 et de sa régulation. BRCA2 serait nécessaire à la localisation et au fonctionnement adéquat de RAD51 au niveau des foyers de dommages de l'ADN. BRCA2 interagit avec RAD51 via ses motifs répétés BRCs qui pourraient lui permettre de séquestrer RAD51 en dehors des périodes de réparation. Par contre, une fois la voie de réparation HR enclenchée, il serait responsable de la relocalisation de RAD51 au niveau de la chromatine. Cette interaction serait ensuite stabilisée par une seconde interaction des multimères de RAD51 avec l'extrémité C-terminale de BRCA2. RAD51 permet l'invasion de la seconde molécule d'ADN à la recherche de la séquence homologue qui servira de modèle à la réparation. (Agnès Collet, 2013)

### **II.7.3 Autres fonctions de BRCA1 et BRCA2 :**

En plus de ces activités, BRCA1 et BRCA2 possèdent d'autres fonctions cellulaires généralement moins bien connues. (Agnès Collet, 2013)

### BRCA1 et le remodelage de la chromatine :

L'activité de régulation transcriptionnelle de BRCA1 semble s'effectuer à la fois par le biais de co-activateurs et co-répresseurs, mais aussi par le recrutement de protéines impliquées dans le remodelage de la chromatine. (Agnès Collet, 2013)

### BRCA1, BRCA2 et la régulation du cycle cellulaire :

L'activité de BRCA1 dans la régulation de plusieurs points de restriction du cycle cellulaire est effectuée en partie par le contrôle transcriptionnels de gènes clés (exemple : GADD45A) et par son association à des protéines de régulation. L'implication de BRCA2 dans ces mécanismes de régulation du cycle cellulaire est moins claire. (Agnès Collet, 2013)

### Activité ubiquitine ligase de BRCA1 :

BRCA1 s'associe de manière constitutive à BARD1 ce qui est indispensable à l'activité ubiquitine ligase de BRCA1. L'hétérodimère BRCA1-BARD1 participerait à plusieurs complexes cellulaires qui pourraient « ubiquitiner » différents substrats comme RNA pol II, Era, CtIP et TFIIE. (Agnès Collet, 2013)

## **II.8. Pathologies moléculaires des gènes BRCA1 et BRCA2 :**

Les gènes possèdent une structure spécifique nécessaire à leur expression adéquate. Leurs séquences nucléotidiques peuvent être la cible de différentes modifications soit bénignes, soit délétères ou encore de conséquences indéterminées dans l'état actuel de nos connaissances (cf. III. B. 5.).

Dans le cas des gènes BRCA1 et BRCA2, il s'agit de gènes suppresseurs de tumeurs dont les mutations sont de type « perte de fonction ». Dans le développement du cancer du sein (et/ou de l'ovaire) lié à BRCA1 ou BRCA2, le 1er allèle est inactivé par mutation constitutionnelle et le 2ème allèle est généralement délété au niveau de la tumeur.

L'étude constitutionnelle des gènes BRCA1 et BRCA2 chez des patients à haut risque de prédisposition génétique a permis de mettre en évidence un très grand nombre de mutations différentes affectant ces gènes. En France, la base de données développée par Rosette Lidereau (Institut Curie, Paris) et Christophe Bérout (INSERM UMR-S910 Marseille) regroupe aujourd'hui près de 4000 mutations différentes (1675 pour BRCA1 et 2196 pour BRCA2). Il a été rapporté quelques mutations récurrentes sur ces gènes liés à des effets fondateurs (par

## Synthèse bibliographique

---

exemple, la mutation c.3481\_3491del11 de BRCA1 décrites dans de nombreuses familles originaires de l'est de la France) mais la grande majorité d'entre elles sont des mutations dites « privées ».

On reconnaît généralement deux types d'altération de séquence : les mutations ponctuelles (substitutions nucléotidiques et délétions ou insertions de quelques nucléotides) et les réarrangements génomiques (translocations, inversions, délétions ou duplications d'un exon au gène entier, voir plus). (Agnès Collet, 2013)

### **II.8.1 Les mutations ponctuelles :**

Leur effet dépend de leur position, celles-ci pouvant survenir au niveau :

#### **- Des séquences régulatrices en amont du gène ou dans la région promotrice.**

Ceci peut entraîner une modification quantitative de l'expression du gène (par altération de séquences consensus transcriptionnelles). (Agnès Collet, 2013)

#### **- Des régions codantes.**

o **Les substitutions** peuvent affecter le codon d'initiation de la traduction, entraîner la substitution d'un acide aminé par un autre au niveau de la protéine (variation faux-sens), changer un nucléotide sans pour autant amener à un changement d'acide aminé (variation neutre), amener à la création d'un codon stop prématuré (mutation non-sens).

o **Les insertions ou délétions** de petite taille peuvent décaler le cadre de lecture (frameshift). Lorsque le nombre de nucléotides insérés ou délétés n'est pas un multiple de 3, le cadre de lecture de l'acide ribo-nucléique messenger (ARNm) est alors décalé et ceci aboutit le plus souvent à l'apparition d'un codon stop prématuré entraînant la synthèse d'une protéine tronquée ou l'absence de protéine. (Agnès Collet, 2013)

Elles peuvent aussi ne pas décaler le cadre de lecture (inframe) quand le nombre de nucléotides insérés ou délétés est un multiple de 3. Dans ce cas la traduction de l'ARNm altéré aboutit à une protéine présentant un ou plusieurs acides aminés ajoutés ou supprimés.

#### **- Des introns :**

Les mutations introniques peuvent perturber l'épissage par altération des séquences consensus régulatrices (voir plus loin, paragraphe IV). (Agnès Collet, 2013)

### - Des régions en aval du gène :

Celles-ci peuvent perturber l'arrêt de la transcription ou la stabilité de l'ARNm.

### **II.8.2. Les réarrangements génomiques :**

De façon similaire, les grands réarrangements intéressant les régions promotrices peuvent altérer l'expression d'un gène (par exemple en emportant les séquences consensus).

De façon plus large, en fonction de leur taille et de leur position, ils aboutissent à une protéine tronquée ou à l'absence de protéine. (**Agnès Collet, 2013**)

### **II.9. Syndrome sein-ovaire lié à une mutation des gènes BRCA1 et BRCA2 :**

Chez approximativement une personne sur 500, l'un des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* est altéré et à l'origine, chez les femmes, d'une prédisposition génétique majeure aux cancers du sein et de l'ovaire. (**InfoCancer, 2019**)

Le risque de cancer du sein, cumulé au cours de la vie, est important ; il s'agit souvent de cancers de survenue précoce chez l'adulte jeune.

- En cas de mutation de *BRCA1*, à l'âge de 70 ans, les risques cumulés de cancer du sein et de l'ovaire sont respectivement, de l'ordre de 65-80 % et de 40 %
- En cas de mutation portant sur le gène *BRCA2*, les risques cumulés sont moindre, 45-60 % pour le sein et 10-40 % pour l'ovaire.
- Le risque de cancer de l'ovaire en cas de mutation *BRCA2* varie en fonction de la localisation de la mutation sur le gène : il est majeur dans la région centrogénique (OCCR pour *ovarian cancer cluster region*). (**InfoCancer, 2019**)

#### ✓ Quelle(s) mutation(s) ?

Des études ont montré que la plupart de ces cancers sont dus à des mutations héréditaires de certains gènes.

Dans 10 à 30 % des cas, le gène en cause est le *BRCA1* porté par le chromosome 17q12-21, cloné en 1995. (**InfoCancer, 2019**)

## Synthèse bibliographique

Dans 20 à 40 % des cas, il s'agit du gène BRCA2, cloné en 1994 porté par le chromosome 13q12-13.

### ✓ Les tumeurs sont des carcinomes canaux infiltrants :

Elles sont de grade élevé (85 % de grade III), avec un important infiltrat lymphocytaire et des foyers de nécrose.

Plus de 80 % des tumeurs ayant pour origine des mutations de BRCA1 sont de phénotype triple-négatif (n'exprimant ni récepteurs des œstrogènes ni récepteur de la progestérone et ne présentant pas d'amplification du récepteur Her2-neu (human epidermal growth factor receptor 2). (InfoCancer, 2019)

### ➤ GÉNÉTIQUE ET CANCER DU SEIN

Tableau 2: génétique et cancer du sein :

Loi du Risque	Loi du coté
<ul style="list-style-type: none"><li>• Mère cancer du sein risque double</li><li>• Sœur cancer du sein risque triple</li><li>• Mère + sœur cancer du sein risque x 15</li></ul>	La tumeur du même côté que leur mère ou leur sœur

(InfoCancer, 2019)

### ➤ SCORE D'EISINGER OU SCORE INSERM

Tableau 3: score de l'eisinger ou score INSERM

Situation	Score
Mutation BRCA identifiée dans la famille.	5
Cancer du sein chez une femme < 30 ans.	4

## Synthèse bibliographique

Cancer du sein chez une femme 30-40 ans.	3
Cancer du sein chez une femme 40-50 ans.	2
Cancer du sein chez une femme 50-70 ans.	1
Cancer du sein chez un homme.	4
Cancer ovarien.	3

Indication à une consultation d'oncogénétique : score > 5 : formelle ; 3-4 : indication possible ; < 2 : intérêt faible. (InfoCancer, 2019)

### ➤ **SUIVI D'UNE PERSONNE PRÉDISPOSÉE À DÉVELOPPER UN CANCER DE L'OVAIRE :**

De 5 à 10 % des cancers épithéliaux de l'ovaire sont associés à une anomalie génétique définie. Dans l'immense majorité des cas il s'agit d'une mutation des gènes BRCA1 et/ou BCRA2. Cette mutation est associée à une augmentation importante de développer un cancer de l'ovaire. (InfoCancer, 2019)

- **LES RECOMMANDATIONS ACTUELLES**

Il sera institué à partir de 35 ans et comprend :

- Un examen gynécologique bi-annuel.
- Une échographie endo-vaginale annuelle.

#### **La prévention :**

Elle est recommandée chez les personnes porteuses de la mutation, ayant le nombre d'enfants souhaité et chez qui existe des arguments cliniques et génétiques évoquant la possibilité d'un syndrome sein-ovaire.

En règle générale, une annexectomie (ablation des ovaires) est à envisager 10 ans plus tôt que l'âge de début du cancer chez l'un des membres de la famille ayant la mutation.

#### **Les autres aspects**

Ils seront discutés en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP). Il s'agit des recommandations sur l'opportunité

D'un traitement hormonal substitutif (THS)

## Synthèse bibliographique

---

D'une FIV avec stimulation ovarienne pour stérilité pour laquelle il n'existe pas de contre-indication, en attendant le résultat de la recherche de mutations BRCA. Si la mutation est retrouvée, une ovariectomie sera proposée lorsque le nombre de grossesses attendues est atteint ou après 40 ans. (InfoCancer, 2019)

### **II.10. Epidémiologie du cancer de l'ovaire et du sein :**

#### **II.10.1 Epidémiologie du cancer de l'ovaire :**

##### ➤ **Epidémiologie descriptive :**

##### **a) fréquence:**

Le cancer de l'ovaire représente 4,4 % des cancers gynécologiques et est responsable de plus de 5 % des décès par cancer chez la femme (Cornoua C, 2015). Il est au 5ème rang des cancers incidents chez la femme après les tumeurs du sein, du colon, du col et du corps de l'utérus, avec une incidence moyenne de 10/100 000, c'est la troisième cause de mortalité par cancer génital féminin (Chabni N, 2013). En 2012, 4615 nouveaux cas ont été diagnostiqués en France Il s'agit d'un cancer de mauvais pronostic avec 3140 décès enregistrés sur cette même période. La survie à 5 ans qui est de 80% aux stades I–II passe à 27% aux stades III–I ; 80 et 95% des patientes en stades III–IV, respectivement, rechutant à 5 ans (Laure D, 2014). La majorité des cancers de l'ovaire sont épithéliaux (65%). Les tumeurs non épithéliales sont moins fréquentes. Une évaluation épidémiologique globale place le pic de fréquence entre 60 et 70 ans mais la possibilité d'atteintes plus précoces est connue de longue date, notamment en cas d'agrégation familiale de cancers de l'ovaire et / ou de cancers du sein chez des patientes avec des liens de parenté à premier ou au deuxième degré. Synthèse Bibliographique 12 Les tumeurs Borderline, ou tumeurs ovariennes à la limite de la malignité, touchent la femme jeune et représentent 10 à 20% des tumeurs épithéliales malignes de l'ovaire (Ateilah H, 2008).

##### **b) Répartition géographique:**

Sa fréquence varie en fonction de la géographie et selon l'origine ethnique. (Chabni N, 2013) Les taux sont relativement importants en Amérique du nord, ainsi qu'en Europe du nord et en Océanie, il est rarement observé au Japon mais les japonaises émigrées en Amérique du nord

## Synthèse bibliographique

---

est identique à celle des américaines, chez les patientes américaines de race blanche l'incidence de ce cancer à 14.2 pour 100000 et passe 9.3 pour 100000 pour patientes de race noir. En France l'incidence est environ 13 cas pour 100000. Les taux sont intermédiaires en Amérique centrale et du sud, et bas en Asie et Afrique. En Algérie environ 2000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année (Chabni N, 2013 et Ateilah H, 2008)

### **II.10.2 Epidémiologie du cancer du sein :**

Chez la femme, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent, avec environ 54 000 nouveaux cas estimés en 2015 en France métropolitaine, soit 31% des nouveaux cas de cancers diagnostiqués annuellement chez les femmes. L'âge médian au diagnostic de cancer du sein se situe entre 50 et 64 ans, et 80 % de ces cancers sont diagnostiqués après l'âge de 50 ans. On estime aujourd'hui qu'environ une femme sur 9 développera un cancer du sein au cours de sa vie. Le nombre annuel de cas de cancer du sein chez la femme en France a constamment augmenté ces 20 dernières années, passant de 30 000 cas en 1990 à 53 000 cas en 2011. Sur cette même période, l'incidence des cas de cancer du sein chez la femme en France a augmenté, passant de 75,3 cas pour 100 000 femmes en 1990 à 97,8 cas pour 100 000 femmes en 2005. Cette incidence a tendance à diminuer depuis, avec une incidence estimée à 88 cas pour 100 000 femmes en 2012.

Avec environ 11 900 décès estimés en 2015, le cancer du sein est au premier rang (18,2%) des décès par cancer dans la population féminine. La mortalité, est restée relativement stable jusqu'aux alentours de 1995 malgré une forte augmentation de l'incidence durant cette période, puis a diminué significativement ensuite, passant de 20,2 décès pour 100 000 femmes en 1990 à 15,7 décès pour 100 000 femmes en 2012. (Binder-Foucard et al, 2012)

## **III. Le cancer de l'ovaire et du sein sur le plan clinique:**

### **III.1.Symptomes et signes cliniques:**

On appelle symptômes d'une maladie, toute manifestation anormale provoquée par cette maladie.

#### ➤ **Sein :**

- ✓ Une boule dans un sein.



## Synthèse bibliographique

---

- ✓ Des ganglions durs au niveau de l'aisselle (sous le bras).
- ✓ Des modifications de la peau du sein et du mamelon.
- ✓ Un changement de la taille et la forme du sein.
- ✓ Une douleur osseuse.
- ✓ Des nausées, une perte d'appétit, une perte de poids et une jaunisse
- ✓ un essoufflement, une toux et une accumulation de liquide autour des poumons (épanchement pleural).
- ✓ des maux de tête, une vision double et une faiblesse musculaire.

(<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Symptomes>).

### ➤ **Ovaire :**

Les tumeurs ovariennes sont souvent latentes, de découverte fortuite lors d'une échographie, d'un examen radiologique, voire d'une cœlioscopie ou d'une laparotomie ou d'un examen gynécologique systématique, elles peuvent cependant parfois être responsables de signes fonctionnels tels que :

- ✓ Gêne ou pesanteur pelvienne.
- ✓ Troubles du cycle : dysménorrhées, spanioménorrhée voire aménorrhée, plus rarement métrorragies.
- ✓ Signes de compression vésicale ou rectale,
- ✓ Elles sont parfois révélées par une complication douloureuse telle qu'une torsion ou une rupture,
- ✓ Elles sont parfois révélées par une carcinose péritonéale diffuse avec ascite pour les tumeurs néoplasiques.( **Item153, 2011**)

### **III.2 Le diagnostic :**

#### ✓ **Diagnostic d'un cancer du sein**

Lorsqu'une personne présente des symptômes ou qu'une anomalie est décelée lors d'un examen de dépistage, un certain nombre d'examen doivent être réalisés afin d'établir un diagnostic. Toute suspicion diagnostic de cancer justifie un avis spécialisé sans délai.

- Consultation avec un médecin.

## Synthèse bibliographique

---

- Echographie mammaire.
- Biopsie percutanée.
- Biopsie échoguidée.
- Biopsie chirurgicale.
- Examen anatomopathologiques.
- Mammographie.
- IRM (Imagerie par Résonance Magnétique).
- Biopsie cytologique.
- Ponction cytologique.
- Repérage mammaire.

### ✓ **Diagnostic d'un cancer de l'ovaire**

Le diagnostic est le processus qui vise à déterminer la cause d'un problème de santé. Le processus diagnostique du cancer de l'ovaire débute habituellement par une visite à votre médecin qui va vous inscrire des examens à faire.

- Échographie.
- Dosages de marqueurs tumoraux.

## Synthèse bibliographique

---

- Formule sanguine complète (FSC).
- Imagerie par résonance magnétique (IRM).
- Laparoscopie.
- Biopsie.
- Paracentèse.
- Radiographie pulmonaire.
- Coloscopie.
- Tomographie par émission de positrons (TEP).

### **III.2-1.Le cancer du sein :**

#### **➤ Classification TNM :**

Tableau 4:classification TNM de cancer du sein (Anne V, 2017)

Catégorie	Critères
Tx	Tumeur primaire non évaluable
T0	Pas de tumeur primaire
Tis (CCIS)	Carcinome in situ de type <b>canalaire</b>
Tis (Paget)	Maladie de Paget sans lésion carcinomateuse in situ ou infiltrante sous jacente
T1 ≤ 20mm	
T1mi	≤ 1mm
T1a	> 1mm et ≤ 5mm
T1b	> 5mm et ≤ 10mm
T1c	> 10mm et ≤ 20mm
T2	> 20mm et ≤ 50mm
T3	> 50mm

## Synthèse bibliographique

---

<b>T4 qq soit la taille Extension paroi thoracique ou peau (ulcération ou nodules cutanés)</b>	
<b>T4a</b>	<b>Extension à la paroi thoracique à l'exclusion de l'atteinte isolée du muscle pectoral</b>
<b>T4b</b>	<b>Ulcération ou œdème ou peau d'orange ou nodule pariétal macroscopique ipsilatéral séparé de la tumeur principale sans signe inflammatoire</b>
<b>T4c</b>	<b>T4a + T4b</b>
<b>T4d</b>	<b>Carcinome inflammatoire (œdème / érythème <math>\geq</math> 1/3 du sein)</b>

## III.2-2 Le cancer de l’ovaire :

### ➤ Classification TNM :

**Tableau 5:classification TNM d cancer de l'ovaire**

<b>CLASSIFICATION FIGO (FÉDÉRATION INTERNATIONALE DE GYNÉCOLOGIE OBSTÉTRIQUE) 2014<sup>8</sup> ET CORRESPONDANCES AVEC LA CLASSIFICATION TNM/AJCC DU CANCER DE L'OVAIRE, DE LA TROMPE OU PÉRITONÉAL PRIMITIF, 2017 (8<sup>E</sup> ÉDITION)</b>		
<b>STADES FIGO</b>	<b>TNM</b>	<b>DESCRIPTION</b>
<b>Stade I</b>	<b>T1</b>	■ <b>Tumeur limitée aux ovaires (un ou les 2) ou à 1 ou 2 trompes de Fallope</b>
Stade IA	T1a	■ Tumeur limitée à un seul ovaire ; capsule intacte, sans tumeur à la surface de l'ovaire ou de la trompe ; pas de cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal
Stade IB	T1b	■ Tumeur limitée aux 2 ovaires ou aux 2 trompes de Fallope ; capsules intactes, sans tumeur à la surface des ovaires ou des trompes ; pas de cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal
Stade IC	T1c	■ Tumeur limitée à 1 ou 2 ovaires ou trompes de Fallope avec au moins l'un des éléments suivants :
Stade IC1	T1c1	■ Rupture chirurgicale
Stade IC2	T1c2	■ Rupture capsulaire préopératoire ou tumeur à la surface de l'ovaire ou de la trompe
Stade IC3	T1c3	■ Cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal
<b>Stade II</b>	<b>T2</b>	■ <b>Tumeur concernant un ou 2 ovaires ou trompes de Fallope avec extension pelvienne ou cancer péritonéal primitif</b>
Stade IIA	T2a	■ Extension et/ou greffe utérine et/ou tubaire et/ou ovarienne
Stade IIB	T2b	■ Extension à d'autres organes pelviens, incluant le côlon sigmoïde et le rectum
<b>Stade III<sup>a</sup></b>	<b>T3 et/ou N1</b>	■ <b>Tumeur concernant un ou 2 ovaires ou trompes de Fallope ou cancer péritonéal primitif avec diffusion cytologiquement ou histologiquement confirmée au péritoine en dehors du pelvis et/ou adénopathies métastatiques rétropéritonéales</b>
Stade IIIA1	N1	■ Adénopathies métastatiques rétropéritonéales uniquement
Stade IIIA1i	N1a	■ Adénopathies métastatiques ≤ 10 mm dans leur plus grande dimension
Stade IIIA1ii	N1b	■ Adénopathies métastatiques > 10 mm dans leur plus grande dimension
Stade IIIA2	T3a N0/N1	■ Envahissement péritonéal extrapelvien (au-dessus du pelvis) microscopique avec ou sans adénopathies rétropéritonéales, incluant l'envahissement des intestins
Stade IIIB	T3b N0/N1	■ Métastases péritonéales macroscopiques au-delà du pelvis ≤ 2 cm dans leur plus grande dimension, incluant l'envahissement des intestins en dehors du pelvis avec ou sans adénopathies rétropéritonéales
Stade IIIC	T3c N0/N1	■ Métastases péritonéales au-delà du pelvis > 2 cm dans leur plus grande dimension et/ou adénopathies métastatiques rétropéritonéales (incluant l'extension de la tumeur à la capsule du foie et de la rate sans envahissement parenchymateux d'autres organes)
<b>Stade IV</b>	<b>M1</b>	■ <b>Métastases à distance (autres que les métastases péritonéales)</b>
Stade IVA	M1a	■ Epanchement pleural avec cytologie positive
Stade IVB	M1b <sup>b</sup>	■ Métastases parenchymateuses et métastases aux organes extra-abdominaux (incluant les adénopathies inguinales et les adénopathies en dehors de la cavité abdominale)

a Métastase à la capsule du foie : T3 / stade III ; b Métastase au parenchyme du foie : M1 / stade IV

Extrait du livre : **CANCERS DE L’OVAIRE, 2016 page :18**

### **III.3 De la mutation au traitement oncologique :**

#### **Nouvelle génération de thérapies, les inhibiteurs du PARP :**

Parmi les poly-ADP-ribose-polymérasés (PARP), PARP1 est la mieux connue. Lors d'une cassure simple brin de l'ADN, PARP1 se fixe à ce dernier et permet la formation d'un complexe conduisant à une réparation hautement fidèle (figure 12). Si PARP1 n'est pas fonctionnelle, la cellule passe par une cassure double brin pour effectuer la réparation par une voie alternative impliquant notamment BRCA1 et 2, la recombinaison homologue (RH).

Les études précliniques ont montré que lors d'une mutation de BRCA1/2, les cellules tumorales étaient particulièrement dépendantes de PARP1. L'inhibition de cette dernière pouvait conduire à la mort cellulaire (figure 12). Tutt et coll.2010 ont montré chez 54 patientes métastatiques porteuses d'une mutation germinale de BRCA1/2 un taux de réponses de 41 % et une survie sans progression médiane de 5,7 mois lors d'un traitement par OLAPARIB, l'inhibiteur du PARP le plus avancé dans son développement. **(Tutt A et al, 2010)**

Une étude de phase III randomisée (OlympiAD) a terminé ses inclusions en 2016. Elle compare l'olaparib à une chimiothérapie « standard » au choix de l'oncologue, chez les patientes porteuses d'une mutation germinale de BRCA1/2 et atteintes d'un cancer mammaire métastatique. Les résultats devraient être disponibles. Une nouvelle étape importante a été franchie avec l'initiation d'une étude de phase III randomisée et contrôlée contre placebo, appelée OLYMPIA. Elle évalue le bénéfice de l'olaparib dans la prévention de la récurrence chez les patientes porteuses d'une mutation et à haut risque de rechute après un cancer du sein non métastatique. S'agissant de situations cliniques peu fréquentes, les inclusions sont concentrées sur trois centres en Suisse, soit le Service d'oncologie du CHUV, l'Inselspital de Berne et l'Hôpital universitaire de Zurich. Les patientes potentiellement candidates peuvent être adressées à ces centres. Si le statut génétique de la patiente n'est pas encore connu, le test peut être organisé sur place et pris en charge par l'étude.

#### **Mutations BRCA et sensibilité à la chimiothérapie :**

En cas de déficit de BRCA1/2, les cellules tumorales sont plus sensibles aux agents s'attaquant à l'ADN, comme les dérivés de platine qui créent des liaisons intra- et inter-brins ou les anthracyclines qui endommagent également l'ADN. Des études de petite taille avaient déjà démontré le bénéfice des platines chez les patientes porteuses de mutation BRCA1/2. Cela a

## Synthèse bibliographique

été confirmé par l'étude TNT, de phase III, qui a comparé le carboplatine à une chimiothérapie par taxane, traitement habituel de première ligne. Cet essai a montré que les patientes avec mutation avaient un taux de réponses et une survie sans progression significativement plus élevés avec le dérivé de platine. (Tutt A et al, 2014)

PARP: poly-ADP-ribose-polymérase.

\* Recombinaison homologue; \*\* perte d'hétérozygotie dans les cellules cancéreuses.

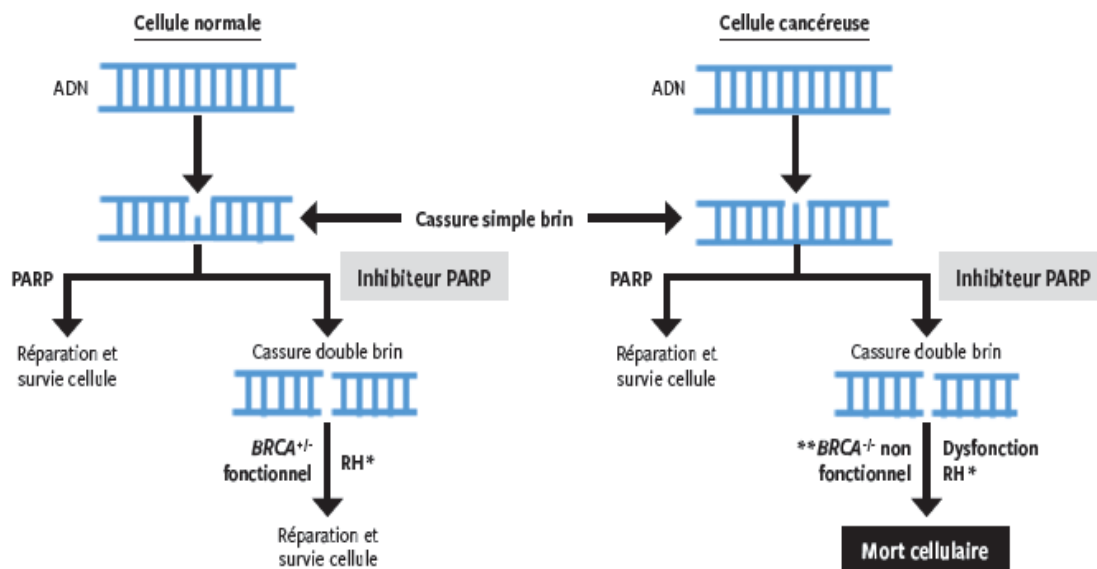


Figure 11: rôles de PARP1 et de BRCA1/2 et mécanisme d'action des inhibiteurs du PARP

### III.4. L'épissage :

#### III.4.1 Transcription et maturation des ARN pré-messagers :

La transcription est l'étape nucléaire au cours de laquelle sont synthétisés les différents types d'ARN à partir de l'ADN. La liaison de facteurs de transcription au niveau de certaines régions promotrices du génome (boîte TATA) permet le recrutement de la machinerie d'initiation incluant les polymérases (polymérase II) permettant la synthèse des brins d'ARN. L'élongation de l'ARN se poursuit jusqu'à ce que la machinerie transcriptionnelle rencontre un site de terminaison (site de polyadénylation). Les ARN ainsi obtenus sont nommés « ARN pré-messagers » (ou pré-ARNm). Ce pré-ARNm est une copie de l'ADN génomique contenant l'information nécessaire à la synthèse de la protéine que code le gène. Il devra subir des étapes de maturation afin d'obtenir ses « ARN messagers » aptes à être exportés vers le cytoplasme : ajout d'une coiffe en 5', épissage des introns, clivage à l'extrémité 3', ajout d'une queue de polyadénosines (queue poly [A]). (Agnès Collet, 2013)

### **III.4.2 mécanismes et régulation :**

L'épissage permet l'excision des séquences non-codantes (introns) contenues dans l'ARN pré-messager et la jonction des séquences codantes (exons) qui persisteront dans l'ARN messager. Il concerne au moins 95 % des transcrits et se déroule en 2 étapes successives de transestérification. Trois déterminants de séquence sont requis : les sites d'épissage en 5' (site donneur) et 3' (site accepteur) situés aux jonctions « exon-intron », respectivement en 5' et 3' de l'intron, et le site de branchement en amont du site 3' accepteur.

La réaction d'épissage a lieu au sein du spliceosome. C'est un complexe multiprotéique constitué de plus de 150 polypeptides et de cinq ribonucléoprotéines (small nuclear ribonucleoproteins), elles-mêmes constituées d'une molécule d'ARN (ARN<sup>sn</sup>) complexée à 43 plusieurs protéines.

Il a pour fonction de reconnaître les sites d'épissage puis d'effectuer les étapes couplées d'élimination des introns et re-ligation des exons. Un autre répertoire de séquences en cis joue également un rôle déterminant lors de l'épissage, il s'agit des séquences « exonic splicing enhancers » (ESE), « exonic splicing silencers » (ESS), « intronic splicing enhancers » (ISE) et « intronic splicing silencers » (ISS). Ces séquences auxiliaires présentent toutes des caractéristiques communes : elles sont courtes (moins de 10 nucléotides), variables en terme de séquence, individuellement faibles et souvent présentes en plusieurs copies. ESE et ESS sont des séquences exoniques qui favorisent (ESE) ou répriment (ESS) l'épissage de l'exon qui les contient et ce par interaction avec des facteurs de transcription spécifiques<sup>36,37</sup>. Les séquences introniques homologues peuvent se situer en amont, en aval ou de chaque côté de l'exon qu'elles régulent (Figure 13). Qu'elles soient exoniques ou introniques, toutes ces séquences présentent des partenaires et des modes de fonctionnement assez proches. La régulation de l'épissage résulte d'une compétition entre les phénomènes activateurs et inhibiteurs dont une partie des mécanismes reste encore à préciser. La complexité de cette modulation prend tout son sens quand on aborde la notion d'épissage alternatif. **(Agnès Collet, 2013)**



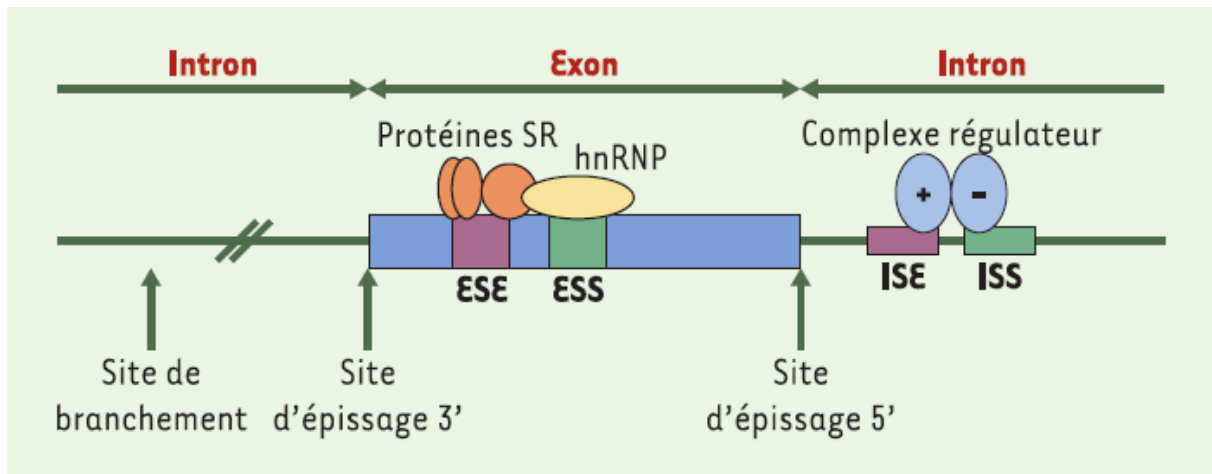


Figure 12: Mécanisme et régulation d l'épissage (Agnès Collet, 2013).

### III.4.3 L'épissage alternatif :

L'épissage alternatif régule l'expression des gènes au niveau de la maturation de l'ARN et permet à un seul gène de coder deux ou plusieurs protéines apparentées.(figure 14)

L'expression de nombreux gènes est modulée par la sélection de sites d'épissage alternatifs.

En contre partie de son rôle créateur de diversité protéique physiologique, l'épissage alternatif est aussi une occasion de produire des transcrits aberrants aux conséquences pathologiques très variées. La variation au niveau de l'ARNm peut prendre différentes formes :

- Des exons peuvent être retenus ou sautés.
- Les introns peuvent être excisés ou conservés.
- Les positions des sites 5' et 3' d'épissage peuvent être déplacées pour produire des

exons plus courts ou plus longs.

Des modifications du site d'initiation de la transcription et/ou du site de polyadénylation peuvent aussi contribuer à la diversité des ARNm transcrits à partir d'un seul gène.

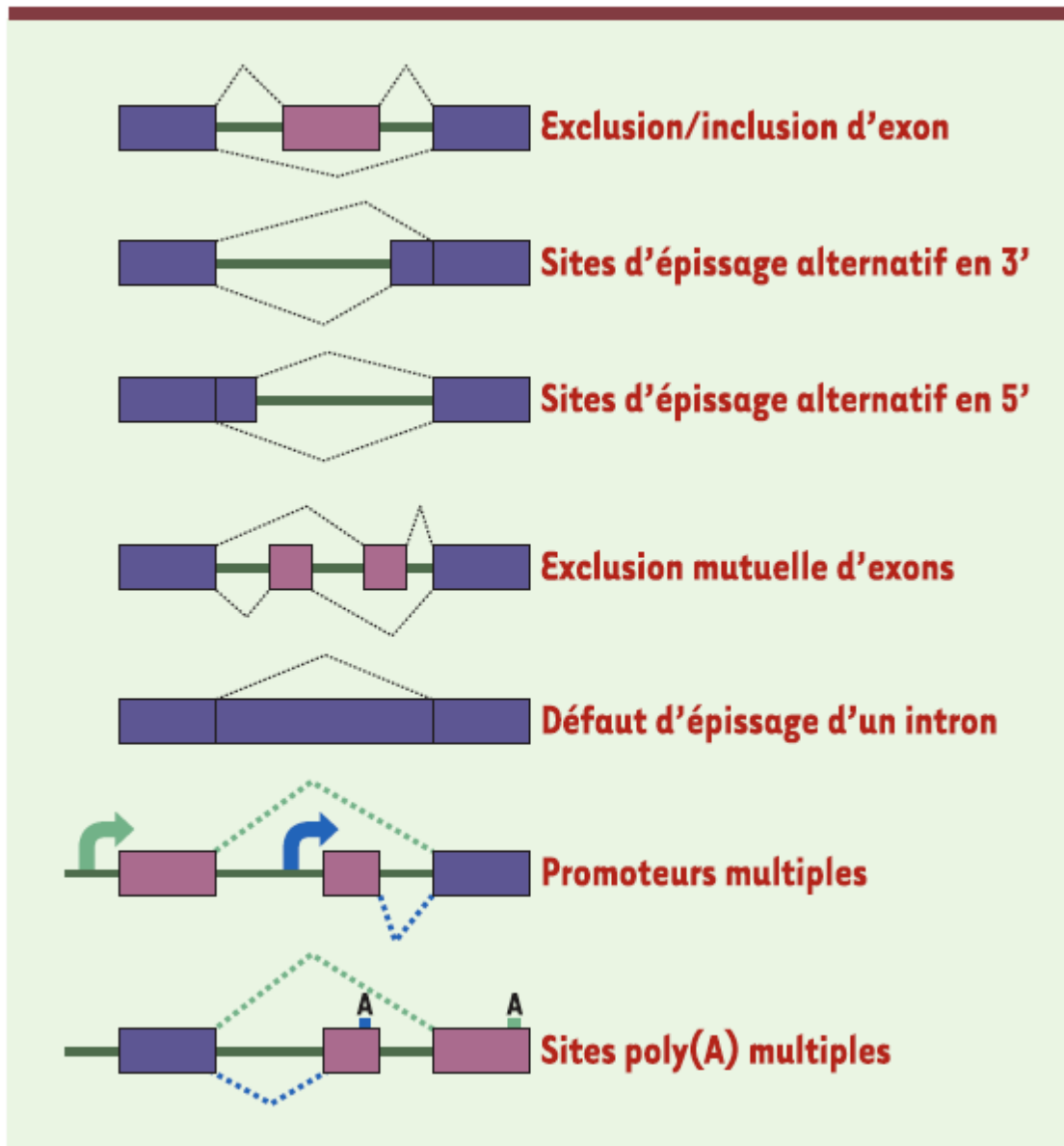


Figure 13: Mécanisme de l'épissage alternatif.

### III.4.4 Epissage alternatif et pathologie :

Les altérations des sites génomiques consensus et leurs conséquences sur l'épissage sont désormais bien connues. Grandes délétions, insertions ou délétions d'une ou plusieurs bases et modifications nucléotidiques sont à même d'altérer la fonction de ces sites avec des conséquences diverses (Figure15)

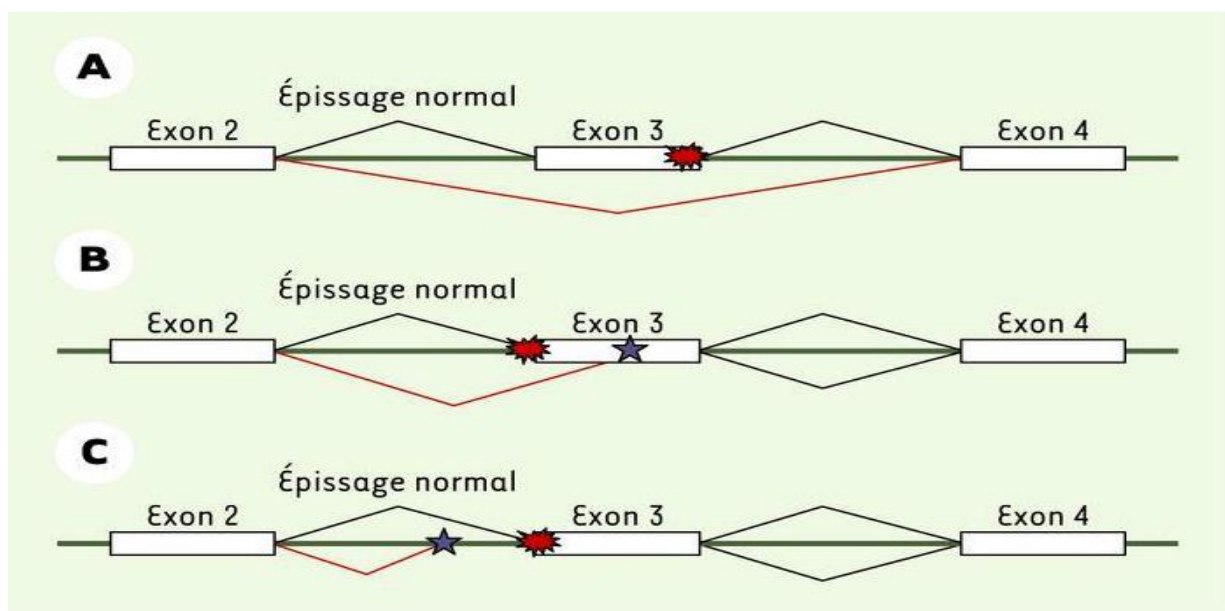
- Abolition du site d'épissage physiologique avec saut de l'exon concerné (A)

## Synthèse bibliographique

- Abolition du site d'épissage physiologique avec révélation d'un site cryptique qui prend le relais du site sauvage. En fonction de la localisation du site cryptique il s'en suit une délétion exonique (B) ou une rétention intronique (C).

Ces mécanismes peuvent survenir de manière isolée ou s'ajouter l'un à l'autre.

Les modifications nucléotidiques peuvent aussi ne pas toucher ces séquences consensus mais néanmoins altérer l'épissage en créant un site cryptique plus fort qui sera préférentiellement utilisé par rapport au site sauvage. (Agnès Collet, 2013)



**Figure 14** : Les exons sont représentés par des rectangles, les introns par un trait vert. La position de la mutation est indiquée par un symbole rouge ; les traits rouges schématisent l'anomalie de la transcription.

**A.** Altération du site donneur de l'exon 3, saut de l'exon 3.

**B.** Abolition du site accepteur de l'exon 3, avec révélation d'un site cryptique exonique (étoile bleue) : délétion exonique partielle.

**C.** Abolition du site accepteur de l'exon 3, avec révélation d'un site cryptique intronique (étoile bleue) : rétention intronique.

### **III.4.5 Les transcrits alternatifs de *BRCA1* et *BRCA2* :**

De nombreux transcrits alternatifs ont été découverts dans différents tissus pour ces deux gènes mais leurs régulations et leurs rôles exacts restent cependant peu connus<sup>47</sup>. Il est très probable que bon nombre d'entre eux ne soient pas fonctionnels au niveau physiologique (car décrits à partir de tissus tumoraux altérés) mais quelques variants prédominants semblent quand même ressortir pour ces deux gènes. Etant données les difficultés méthodologiques à trier pertinemment toutes ces données, nous avons retenus pour notre étude les principaux variants sélectionnés par le « groupe épissage » (données non publiées, ne concernant pas l'exon 11 d'étude délicate) (**Agnès Collet, 2013**)

#### **1. Principaux transcrits alternatifs observés pour *BRCA1***

- Δ exon 5
- Δ 22pb de l'exon 5
- Δ 3 premiers nucléotides de l'exon 8
- Δ exon 9-10
- Δ 3 premiers nucléotides de l'exon 13
- Δ 3 premiers nucléotides de l'exon 14

Il semblerait tout de même d'après d'autres études qu'il existe d'autres transcrits à prendre en compte, mais ceux-ci restent à préciser.

#### **2. Principaux transcrits alternatifs observés pour *BRCA2***

- Δ exon 3
- Δ exon 6-7
- Δ exon 12
- Δ exon 17-18

# **Matériels et Méthodes**

## **Chapitre II : Matériels et méthodes :**

### **I. Cadre d'étude :**

Dans cette étude nous allons présenter une étude d'oncogénétique (prédisposition génétique au cancer) sur une patiente présentant une double localisation sein ovaire avec antécédents familiaux de la Wilaya de Tipaza suivie à l'EPH de Sidi Ghilas. L'étude a été faite avec le laboratoire CERBA d'Alger en liaison directe avec SELAFA CERBA de France, où nous avons réalisé un prélèvement sanguin et nous avons choisi le panel cancer du sein et de l'ovaire (24 gènes) à fin de rechercher une mutation dans l'un des gènes (BRCA1 ou BRCA2).

### **II. Test :**

Analyse ciblée des régions codantes et des jonctions intron/exon des gènes BRCA1 et BRCA2. Système d'enrichissement par la méthode « **SureSelect** » (Agilent) suivie d'une réaction de **séquençage paired-end** (2x 150bp) sur une plateforme MiSeqDx ou NextSeq500 (Illumina). Les données issues de ce séquençage sont analysées à l'aide d'un pipeline informatique local. La profondeur moyenne et le seuil de qualité de la séquence obtenue sont déterminés pour les exons codants ainsi que les sites d'épissage des gènes **RefSeq** codants pour des protéines. Taux de couverture > 99% et profondeur minimale 30X. Les variants rapportés (pathogènes ou probablement pathogènes) dans le compte-rendu ont été confirmés par une **méthode alternative** (séquençage type **Sanger** pour les SNV, **qPCR** et/ou **digital PCR** et/ou MLPA pour les CNV). La détection de variants en mosaïque n'est pas garantie. Les variants introniques profonds ou des régions régulatrices ne sont pas explorés.

## II.1. Protocole utilisé :

### II.1.1. Méthode SureSelect (Agilent) :

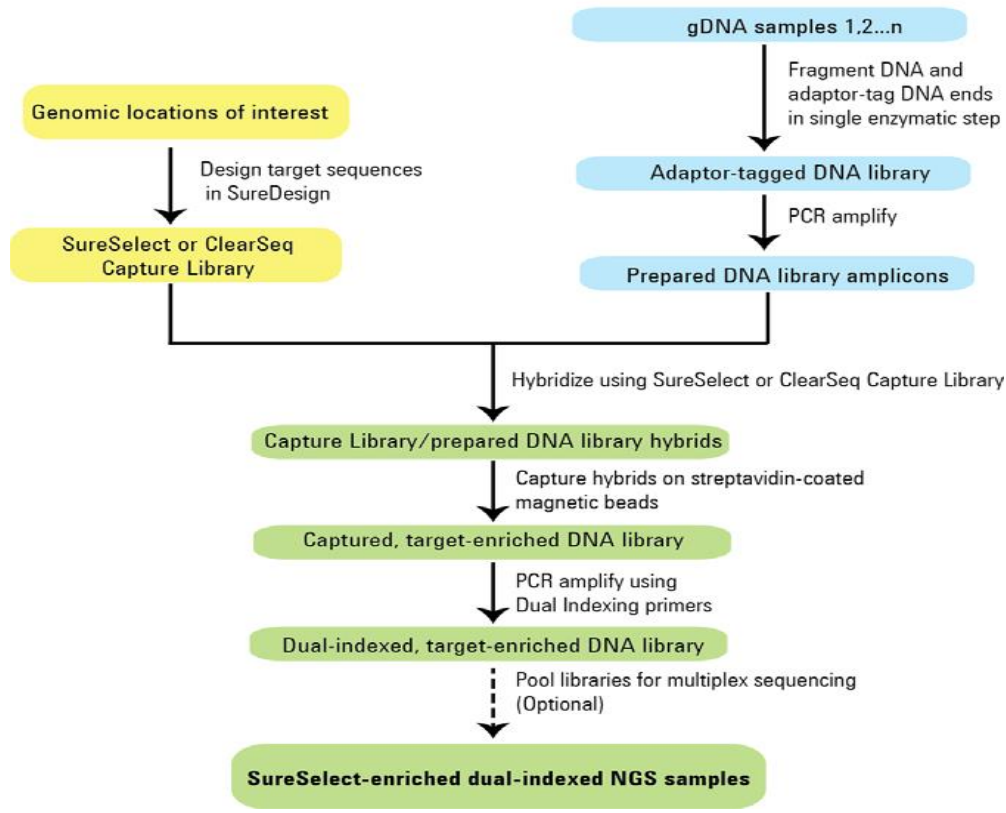


Figure 15: Flux de préparation globale de l'échantillon cible. (SureSelectQXT Target Enrichment for Illumina Multiplexed Sequencing)

### II.1.2. Séquençage paired-end :

Le séquençage par paires permet aux utilisateurs de séquencer les deux extrémités d'un fragment et de générer des données de séquence alignables de haute qualité. Le séquençage par paires facilite la détection des réarrangements génomiques et des éléments de séquence répétitifs, ainsi que des fusions de gènes et de nouveaux transcrits.

En plus de produire deux fois le nombre de lectures pour le même temps et les mêmes efforts dans la préparation de la bibliothèque, les séquences alignées sous forme de paires de lecture permettent un alignement de lecture plus précis et la capacité de détecter les variantes d'insertion-suppression (indel), ce qui n'est pas possible avec une lecture unique. Tous les systèmes de séquençage de

nouvelle génération (NGS) Illumina peuvent effectuer un séquençage par paires. (Nakazato T,2013)

### **II.1.3. RefSeq :**

RefSeq collection est une base de données accessible librement de l'état naturel de l'ADN, l'ARN et des séquences de protéines. C'est une ressource unique car elle fournit une grande base de données de séquences multi-espèces, organisée, représentant des enregistrements séparés mais explicitement liés des génomes aux transcriptions et aux produits de traduction, le cas échéant. Contrairement à la redondance de séquence trouvée dans les référentiels de séquences publics, la collection RefSeq vise à fournir, pour chaque espèce incluse, un ensemble complet d'enregistrements d'acides nucléiques et de protéines non redondants, largement réticulés et richement annotés. Il est toutefois reconnu que la couverture et la finition des données de séquences publiques varient d'un organisme à l'autre, de sorte que des enregistrements génomiques intermédiaires sont fournis dans certaines circonstances. (Kim Pruitt et al,2012)

### **II.1.4 Méthode alternative :**

#### **a) La méthode de séquençage de type Sanger :**

Le séquençage de nouvelle génération (SNG) désigne les différents systèmes qui permettent le séquençage de plusieurs gènes simultanément. Cette technologie est caractérisée par un rendement de lecture très élevé en comparaison de la méthode classique, soit le séquençage de Sanger.

Concernant la présente demande, le système MiSeqMC d'IlluminaMC sera utilisé pour détecter des mutations germinales présentes dans le promoteur ainsi que dans les séquences codantes et adjacentes aux sites d'épissage des gènes BRCA1 (BReast CAncer gene 1) et BRCA2 (BReast CAncer gene 2).

Les régions codantes des gènes BRCA1 et BRCA2 sont couvertes à 100 %. Les mutations couvertes par cette analyse sont les mutations faux-sens et non-sens, les délétions, les insertions de même que les mutations de sites d'épissage. Ce test permet également de détecter les variations du nombre de copies.



## Matériels et Méthodes

---

Le SNG est réalisé en trois étapes principales, soit la préparation de l'ADN génomique et de la librairie d'ADN fragmenté, le séquençage et l'analyse des variants. En bref, un enrichissement des régions d'intérêt de l'ADN fragmenté est d'abord réalisé par capture d'hybrides à l'aide de la trousse d'enrichissement d'ADN SeqCap EzMC de NimbleGen (Roche). Les oligonucléotides de la trousse sont choisis et synthétisés selon les spécifications du demandeur. Le système MiSeqMC d'IlluminaMC permet ensuite le séquençage des fragments d'ADN au cours de la synthèse cyclique d'un brin complémentaire à la matrice en utilisant des nucléotides fluorescents. Contrairement au séquençage classique, le SNG réalise des millions de réactions simultanément.

Les séquences obtenues sont ensuite assemblées et alignées à une séquence de référence. L'analyse bioinformatique est effectuée à l'aide des programmes NextGENeMC et Geneticist AssistantMC (SoftGenetics). La signification clinique des variants est déterminée à l'aide des bases de données suivantes : Leiden Open Variation Database (LOVD), Universal Mutation Database (UMD) et Breast Cancer Information Core Database. Les logiciels Polyphen2 et SIFT sont utilisés pour prédire l'effet des substitutions d'acide aminé sur la structure et la fonction des protéines BRCA1 et BRCA2.

### **b) Technique de PCR (qPCR):**

La PCR quantitative (qPCR), dont l'ancienne appellation « PCR en temps réel » tend à être abandonnée à cause de la confusion induite par la terminologie anglaise RT-PCR (reverse transcription PCR ou real-time PCR). La qPCR est un outil puissant pour l'analyse en biologie moléculaire et en biotechnologies. Elle utilise les acides nucléiques (ADN ou ARNm principalement) pour caractériser l'activité d'un système vivant. Elle permet également de quantifier les protéines dans divers échantillons. Son utilisation dans le cadre de la recherche et plus particulièrement en biologie et en clinique est sans cesse croissante.

Ceci s'explique en grande partie par la facilité qu'offre cette technique pour produire des résultats a priori pertinents. Cette pertinence perçue est liée à la grande sensibilité de la technique qui permet la détection de variations mineures des séquences d'acides nucléiques (ADN, cDNA, ARN), et également à sa spécificité qui permet de discriminer quantitativement des cibles moléculaires. Actuellement, la PCR digitale en gouttelettes (ddPCR) se développe et

## Matériels et Méthodes

---

se démocratise, offrant un pouvoir discriminant et une sensibilité accrue [3]. Du fait de ces caractéristiques techniques toujours améliorées, des différences infimes au niveau des nucléotides peuvent être mises en évidence. La question de la pertinence biologique de ces résultats est donc d'une importance croissante à mesure que la sensibilité progresse. (**Dooms M, 2014**)

# **Résultats et Discussion**

### **CHAPITRE III : Résultats et discussion :**

#### **III.1 Evaluation clinique :**

Les patientes prises dans cette étude dont l'âge est entre 50 et 60 ans présentaient une histoire personnelle ou familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire ce qui augmente la susceptibilité d'avoir une mutation des gènes BRCA1 et BRCA2.

Nous avons constaté que deux d'entre avaient leurs histoires familiales du côté paternel.

Nous avons choisi une patiente présentant une double localisation sein/ovaire pour faire le test oncogénétique.

Nos trois patientes proviennent de la même région « wilaya de Tipaza ».

#### **III.2 Résultat oncogénétique :**

Après l'analyse de biologie moléculaire en vue de la recherche des mutations au niveau des gènes BRCA1 et BRCA2, nous avons trouvé la présence à l'état hétérozygote du variant c.4987-2 A>G, p. ? (NM\_007294.3) du gène BRCA1 avec absence de variant pathogène ou probablement pathogène dans le gène BRCA2.

#### **III.3 Commentaire :**

Par les stratégies actuelles d'analyse, il a été mis en évidence un variant affectant un site d'épissage du gène BRCA1 qui peut donc être considéré comme délétère. La présence de ce variant pathogène augmente le risque tumoral chez cette patiente. Ce résultat doit être confirmé à partir d'un deuxième prélèvement indépendant.

### **III.4 : Discussion :**

La prédisposition génétique au(x) cancers(s) correspond à une augmentation du risque de cancers ou d'un cancer donné d'une personne mesuré par rapport au risque moyen de la population générale ou plus précisément par rapport aux personnes non porteuses d'un marqueur génétique donné. Il s'agit de la mesure d'un risque relatif.

La transformation d'une cellule normale en cellule maligne est liée à l'accumulation d'altération chromosomiques et géniques, conduisant progressivement la cellule à acquérir un état dédifférencié et des capacités de prolifération locale et métastatique.

Ces altérations, ou mutations, sont acquises spontanément du fait d'erreurs de réplication de l'ADN lors de la division cellulaire ou sont induite par des agents mutagènes. Ces mutations acquises sont des mutations somatiques. On oppose ces mutations aux mutations constitutionnelles ou germinales. Présentes dès la conception et dans l'ensemble des cellules de l'organisme.

La présentation clinique de la maladie tumorale est d'un apport essentiel pour dépister une prédisposition génétique sous-jacente. Le premier argument qui conduit à évoquer une prédisposition génétique au cancer c'est l'existence de plusieurs histoires familiales.

L'histoire familiale de notre patiente testée est présentée dans l'arbre généalogique ci-dessous :

### **Une nouvelle mutation sur le gène BRCA1 :**

Mutation : hétérozygote variant c.4987-2A> G. (NM\_007294.3).

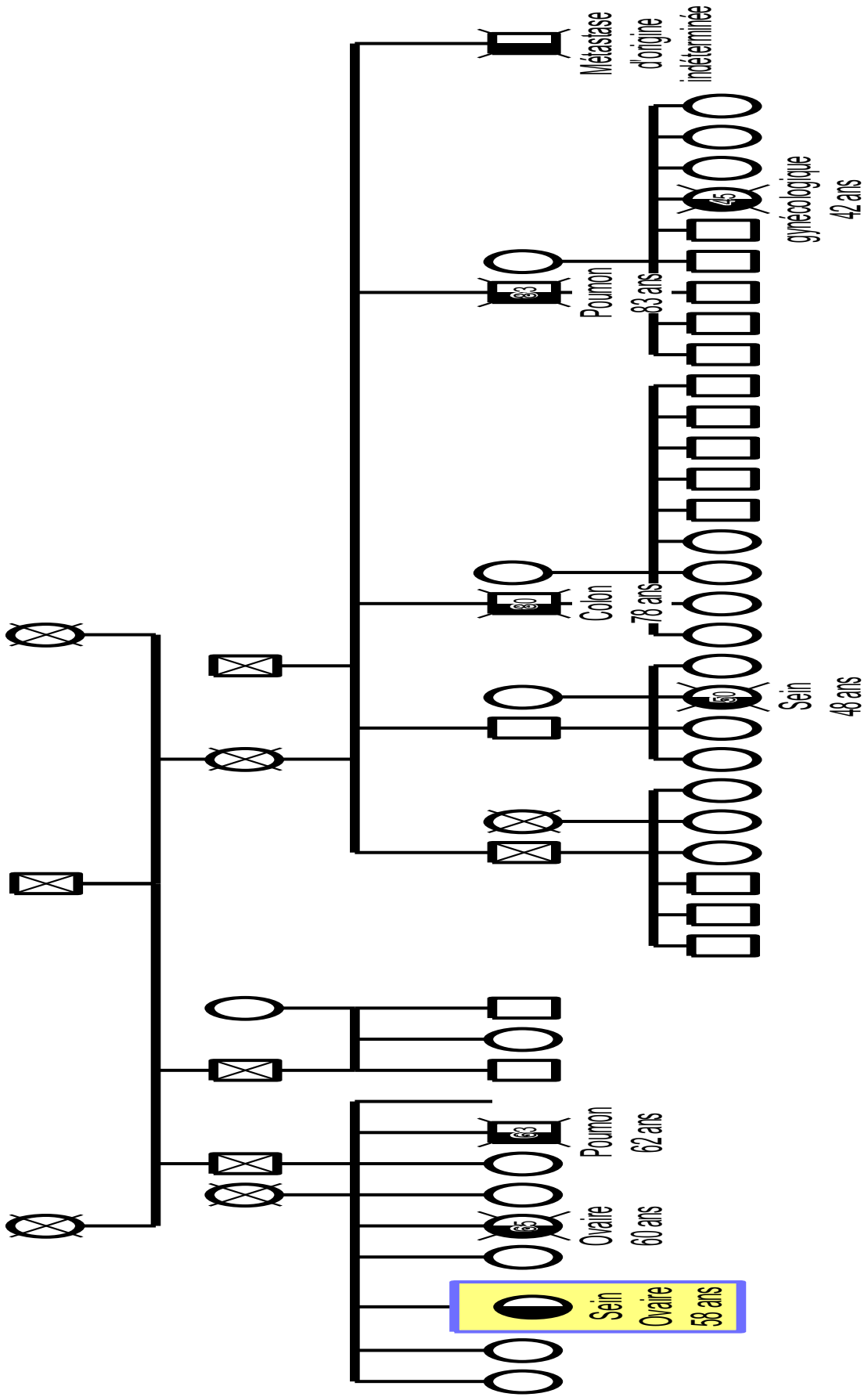
Non encore décrite dans la littérature, cette mutation a été trouvée chez le cas étudié originaire et demeurent a Damous (wilaya de Tipaza) , retrouvée sur l'exon 15 du gène BRCA1, d'une signification clinique incertaine à l'état hétérozygote , le diagnostic du syndrome héréditaire de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire est possible et il est recommandé de tester d'autres membre de la famille afin d'évaluer la corrélation de variant génétique avec ce phénotype .

La confirmation de la mutation peut être réalisée suite à la recherche de cette même mutation par le prélèvement tissulaire tumoral ovarien.

D'après la recherche réalisée par Pr : CAID, deux autres nouvelles mutations ont été identifiées sur deux patientes algériennes de la Wilaya de BLIDA :

**Variant hétérozygote ⇒ C.4477G>T (P.Val 1493 Leu) NM\_007294.3**

**Variant heterozygote ⇒ C.3842A>G (P.Gin 1281 Arg)**



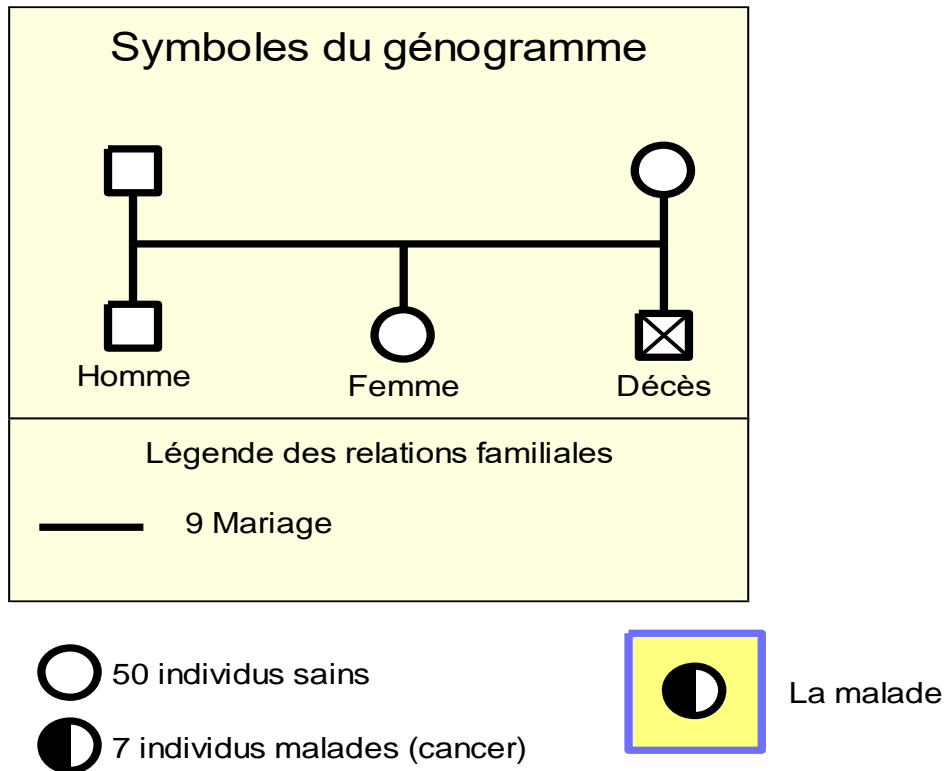


Figure 16: Arbre généalogique de la patiente sur laquelle a été faite l'étude.

Cette patiente présente une forte histoire familiale, nous remarquons plusieurs cas de cancer :

- La sœur décédée d'un cancer de l'ovaire à l'âge de 65 ans.
- Le frère décédé d'un cancer du poumon à l'âge de 63 ans.
- trois cousins issus d'une tante demi sœur avec le père de la malade présentant le premier un cancer du côlon à 78 ans décédé à l'âge de 80 ans et le second un cancer du poumon à 83 ans décédé à la même année et le troisième décédé avec une métastase d'origine indéterminée.
- Deux arrières cousines, une présentant un cancer gynécologique indéterminé à 43 ans décédée à l'âge de 45 ans et une autre présentant un cancer du sein à l'âge de 47 ans décédée à l'âge de 50 ans.

## Discussion

---

Nous rappelons que nous avons trouvé dans les résultats de l'analyse un variant c.4987-2A>G, p. ? (NM\_007294.3). Ce variant pathogène est noté BRCA1 **c.4987-2A>G** ou **IVS15-2A>G** et consiste en une substitution nucléotidique A>G en position -2 de l'intron 15 du gène BRCA1.

Le variant détruit un site accepteur d'épissage canonique et il est prédit qu'il provoquera un épissage de gène anormal, conduisant soit à un message anormal qui est sujet à une

désintégration d'ARNm médiée par un non-sens, soit à un produit protéique anormal. BRCA1 c.4987-2A>G, précédemment signalé comme c.5106-2A>G, a été rapporté en association avec un cancer héréditaire du sein et de l'ovaire (Meyer 2003, Thomassen 2012).

La variante a été prédite par Thomassen et al. (2012) être pathogène sur la base des informations de fréquence, de l'analyse multifactorielle et des résultats d'épissage indiquant le saut d'exon et la troncature des protéines.

Sur la base des preuves actuelles, nous considérons que BRCA1 c.4987-2A>G est pathogène.

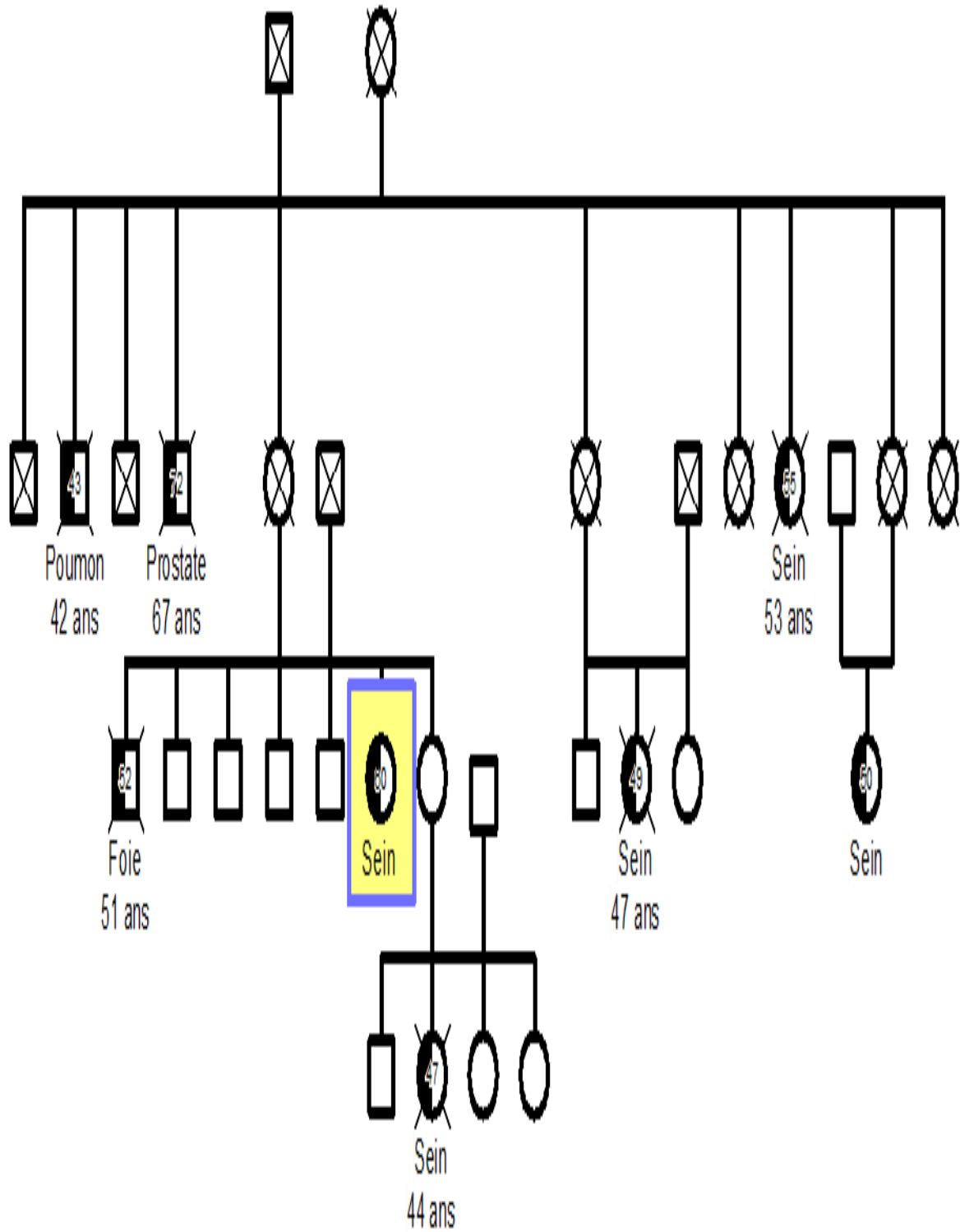
Pour les deux autres patientes non testées nous avons réalisé leurs arbres généalogiques présentés ci-dessous :

**Patiente 2 : âgée de 60 ans présentant une néoplasie mammaire :**



# Discussion

---



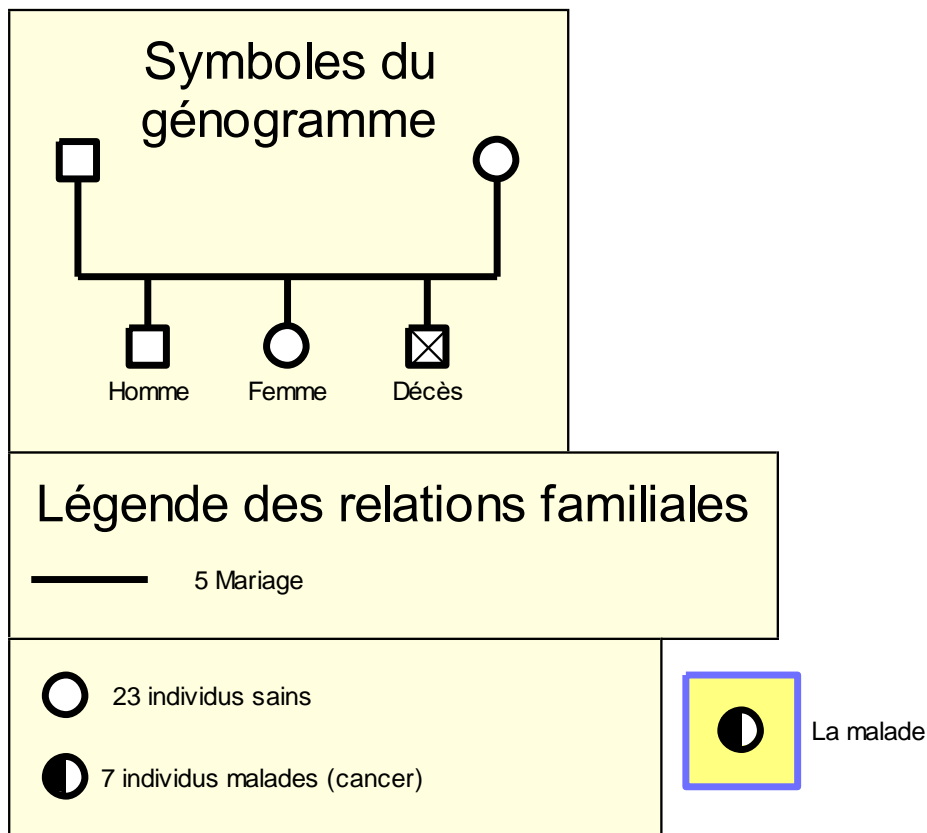


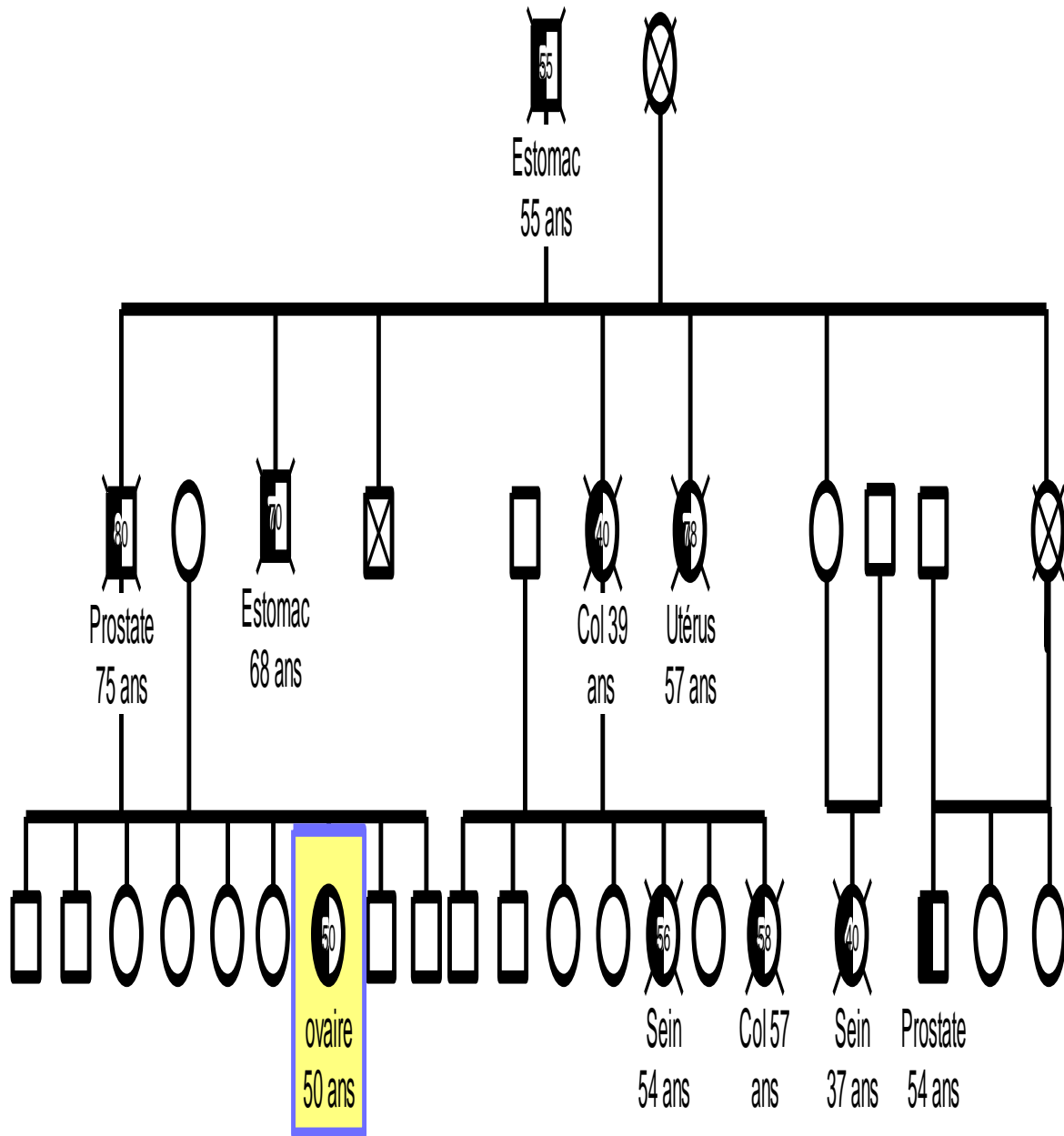
Figure 16: arbre généalogique de la deuxième patiente. (GenoPro 2020)

L'histoire familiale de cette patiente :

- Deux oncles coté maternelle, l'un présentant un cancer du poumon à l'âge de 42 ans décédé à l'âge de 43 ans, l'autre présentant un cancer de prostate à l'âge de 67 ans décédé à l'âge de 72 ans.
- Une tante du coté maternelle présentant une néoplasie mammaire à l'âge de 53 ans décédée à l'âge de 55 ans.
- Le frère présentant un cancer du foie à l'âge de 51 ans décédé à l'âge de 52 ans.
- Deux cousines présentant une néoplasie mammaire la première à l'âge de 47 ans décédée à l'âge de 49 ans et la deuxième à l'âge de 50 ans toujours en vie.
- La nièce de la malade (la fille de sa sœur) présentant une néoplasie mammaire à l'âge de 44 ans décédée à l'âge de 47 ans.

## Discussion

**Patiente 3 âgée de 50 ans présentant une néoplasie ovarienne :**



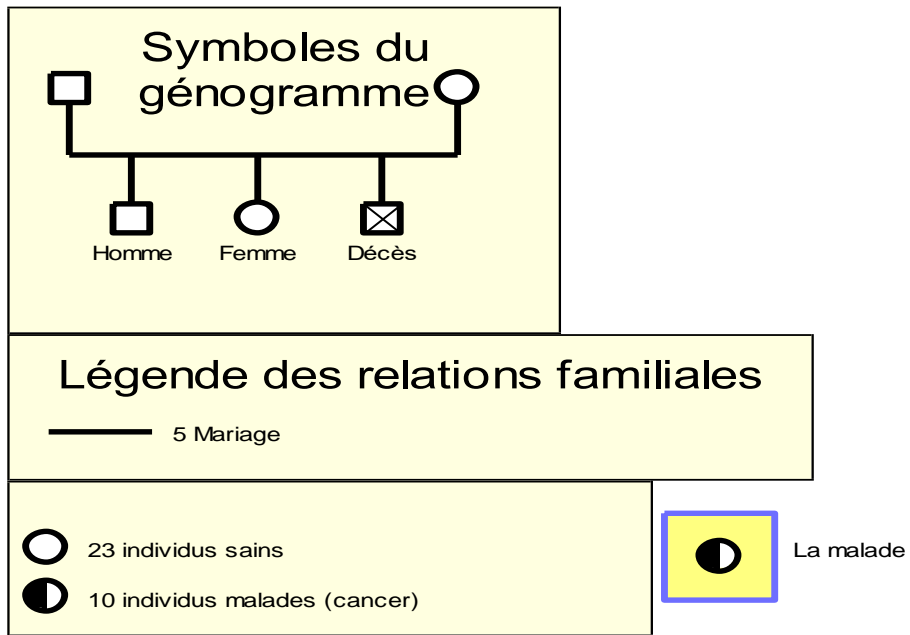


Figure 17: arbre généalogique de la troisième patiente. (GenoPro 2020)

## Discussion

---

L'histoire familiale de cette patiente :

- Le grand-père paternel présentant un cancer de l'estomac à l'âge de 55 ans décédé à la même année.
- Deux oncles paternels le premier présentant un cancer de l'estomac à 68 ans décédé à l'âge 70 ans et le deuxième présentant un cancer de prostate à l'âge de 75 ans décédé à l'âge de 80 ans.
- Deux tantes paternelles la première présentant un cancer du col à l'âge de 39 ans décédée à l'âge de 40 ans et la deuxième un cancer de l'utérus à l'âge de 57 ans décédée à l'âge de 78 ans.
- Deux cousines sœurs fille de la tante présentant un cancer du col la première présentant un cancer du sein à l'âge de 54 ans décédée à l'âge de 56 ans et la deuxième un cancer du col à l'âge de 57 ans décédée à l'âge de 58 ans.
- Une cousine paternelle présentant un cancer du sein à l'âge de 37 ans décédée à l'âge de 40 ans.
- Un cousin paternel présentant un cancer de prostate à l'âge de 54 ans toujours en vie

## Discussion

Tableau 6 : Mutations délétères identifiées sur BRCA1 :

N°	Numéro Cas <i>index</i>	Gène BRCA1	Mutation délétère	Phénotype clinique
1	25 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer Sein + Ovaire
2	48 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
3	92 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
4	241 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
5	66 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
6	202 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
7	139 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
8	33 BC	Exon 11	p.Ser267LysfsX19 ; c.798_799delTT	Cancer sein isolé
9	135 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer sein isolé
10	137 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer ovaire isolé
11	138 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer sein isolé
12	34 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer sein isolé
13	35 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer sein isolé
14	120 BC	Exon 2	p.Arg7CysfsX24;c.19_47del (29 nucléotides)	Cancer sein isolé
15	50 BC	Exon 3	p.Leu28ArgfsX12; c.83_84delTG	Cancer sein isolé
16	45 BC	Exon 3	p.Leu28ArgfsX12; c.83_84delTG	Cancer sein isolé
17	7 BC	Exon 3	p.Leu28ArgfsX12; c.83_84delTG	Cancer sein isolé
18	237 BC	Exon 3	p.Leu28ArgfsX12; c.83_84delTG	Cancer sein isolé
19	152 BC	Exon 3	p.Leu28ArgfsX12; c.83_84delTG	Cancer sein isolé
20	117 BC	Exon 11	p.Phe1003X;c.3008_3009delTT	Cancer sein isolé
21	118 BC	Exon 11	p.Phe1003X;c.3008_3009delTT	Cancer sein isolé
22	32 BC	Exon 11	p.Ser267X;c.800C>G	Cancer sein isolé
23	9 BC	Exon 5	p.Cys47Tyr;c.140G>A	Cancer Sein+ Ovaire
24	21 BC	Exon 5	p.Arg71Gly;c.211A>G	Cancer sein isolé
25	46 BC	Exons 5-6	IVS5+3A>G;c.212+3A>G	Cancer sein isolé
26	58 BC	Exon 11	p.Asn916X;c.2745dup	Cancer sein isolé
27	91ST2 BC	Exon 2	p.Glu4ArgfsX21;c.11_14delGATC	Cancer ovaire isolé

**(HABAK ,Nawel,2019)**

# Conclusion

## Conclusion

---

### **Conclusion :**

Dans notre étude prospective et transversale réalisée dans le service d'Oncologie Médicale de l'EPH de Sidi Ghiles wilaya de Tipaza.

Nous avons identifié une mutation délétère de BRCA1 dont le variant est : **c.4987-2A> G** ou **IVS15-2A> G** et consiste en une substitution nucléotidique A> G en position -2 de l'intron 15 du gène BRCA1 qui est une nouvelle mutation jamais décrite dans la littérature en Algérie.

L'objectif était d'identifier parmi les familles à haut risque de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire (forte histoire familiale de cancer), dans le but de rechercher des mutations constitutionnelles délétères de BRCA1 ou BRCA2 afin de leur fournir une thérapeutique et une surveillance adaptées.

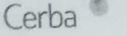
Proposer à leurs apparentées le test génétique pour un dépistage précoce et une éventuelle prise en charge personnalisée.

La connaissance du statut mutationnel BRCA1/2 permet de prescrire une thérapie ciblée aux patientes mutées (inhibiteurs de PARP).



# **Annexes**

# Annexes



**FEUILLE DE DEMANDE D'EXAMEN D'ONCOGENETIQUE**  
**(PREDISPOSITION HEREDITAIRE AUX CANCERS)**

DOCUMENT RECTO-VERSO

Service de la Relation Client :  
Tél : 01 34 40 20 20  
Fax : 01 34 40 21 29

[SRC@lab-cerba.com](mailto:SRC@lab-cerba.com)  
[www.lab-cerba.com](http://www.lab-cerba.com)


**IMPORTANT : CHECK LIST AVANT ENVOI**

Prescription médicale

Attestation et consentement dûment signés par la patiente ET le prescripteur (VERSO)

Joindre impérativement arbre généalogique et renseignements cliniques

PATIENT	PRESCRIPTEUR
<p>NOM _____</p> <p>PRENOM _____</p> <p>Nom de naissance _____</p> <p>Adresse..... _____</p> <p>Date de naissance :  _ / _ / _ _ </p> <p>Origine géographique : _____</p> <p><input type="checkbox"/> Europe    <input type="checkbox"/> Afrique du Nord    <input type="checkbox"/> Afrique sub-saharienne</p> <p><input type="checkbox"/> Réunion    <input type="checkbox"/> Antilles, Guyane    <input type="checkbox"/> Asie</p>	<p>Cachet obligatoire</p>     <p>Signature :</p> <p>Adresse e-mail :</p>
<p><b>INDICATION</b></p> <p><input type="checkbox"/> <b>EXAMEN INITIAL CHEZ UN CAS INDEX</b></p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 1<sup>er</sup> prélèvement (Code OPL : OSTAR)</p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 2<sup>ème</sup> prélèvement (pour confirmation) (code OPL : OMUT)</p> <p>Joindre impérativement une copie des résultats des tests réalisés sur la tumeur. Si aucun test réalisé cocher <input type="checkbox"/></p> <p><input type="checkbox"/> <b>EXAMEN CIBLE CHEZ UN APPARENTE</b> (joindre impérativement le compte-rendu du cas index)</p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 1<sup>er</sup> prélèvement (code OPL : OMUT)</p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 2<sup>ème</sup> prélèvement (pour confirmation) (code OPL : OMUT)</p>	<p><b>TEST DEMANDE</b></p> <p><input type="checkbox"/> Analyse d'exome complet (RIHN : N352)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel cancer du sein et de l'ovaire (24 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel cancer du sein et de l'ovaire restreint pour évaluation thérapeutique (4 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel digestif (14 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel pancréas (16 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel rein (14 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel peau (13 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Panel neuro et endocrine (11 gènes) (RIHN : N351)</p> <p><input type="checkbox"/> Rétinoblastome : gène <i>RB1</i> (RIHN : N350)</p> <p><input type="checkbox"/> Gène(s) demandé(s)* : _____</p> <p style="margin-left: 20px;">*à choisir parmi la liste des gènes des panels ci-dessous.</p> <p><input type="checkbox"/> Examen ciblé (RIHN : N353)</p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="radio"/> Mutation(s) : _____</p> <p style="margin-left: 20px;"><input type="radio"/> Gène(s) : _____</p>
<p><b>PRELEVEMENT SANGUIN 2x5ml sang total EDTA (acheminement au laboratoire à température ambiante sous 7 jours maximum)</b></p> <p>Date de prélèvement :  _ / _ / _ _     Cachet du laboratoire préleveur :</p> <p>Heure de prélèvement :  _  h  _ </p> <p>N° Client : C  _ _ _ _ / _ </p> <p><input type="checkbox"/> Patient hors critères familiaux d'éligibilité au test</p>	
<p><b>DESCRIPTION DES PANELS</b></p> <p><input type="checkbox"/> Panel cancer du sein et de l'ovaire (24 gènes) : <i>BRCA1, BRCA2, PALB2, CDH1, PTEN, TP53, RAD51C, RAD51D, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, (ATM, BRIP1, CHEK2, STK11, MRE11A, NBN, RAD50, BARD1, BLM, XRCC, MUTYH)</i></p> <p>Panel cancer du sein et de l'ovaire restreint pour évaluation thérapeutique (4 gènes) <i>BRCA1, BRCA2, TP53, RAD51C</i></p> <p><input type="checkbox"/> Panel digestif (14 gènes) : <i>MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, APC, MUTYH, MLH3, NTHL1, POLD1, POLE, SMAD4, BMPR1A, PTEN, CDH1, STK11.</i></p> <p><input type="checkbox"/> Panel pancréas (16 gènes) : <i>ATM, BRCA1, BRCA2, CDKN2A, MLH1, MSH2, MSH6, PALB2 (APC, STK11, TP53, VHL, MEN1, CDK4, EPCAM, PMS2)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Panel Rein (14 gènes) : <i>FLCN, BAP1, FH, MITF, SDHB, SDHC, VHL, (WT1, TSC1, TSC2, PTEN, SDHAF2, SDHD, TMEM127)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Panel Peau (13 gènes) : <i>CDK4, CDKN2A, MC1R, MITF, BAP1 (ACD, TERF2IP, NF1, PTCH1, PTCH2, POT1, SUFU, FLCN)</i></p> <p><input type="checkbox"/> Panel Neuro et endocrine (11 gènes) : <i>NF1, NF2, SDHAF2, SDHC, SDHD, SMAD4, TSC1, TSC2, RET, MEN1, TMEM127</i></p> <p><input type="checkbox"/> Rétinoblastome: gène <i>RB1</i></p>	

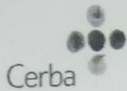


Scanned with CamScanner 07/03/2019

1/2

**Annexe 1 : feuille de demande d'examen d'oncogénétique (prédisposition héréditaire aux cancers).**

# Annexes



**FEUILLE DE DEMANDE D'EXAMEN D'ONCOGENETIQUE**  
(PREDISPOSITION HEREDITAIRE AUX CANCERS)

DOCUMENT RECTO-VERSO

Service de la Relation Client :  
Tél : 01 34 40 20 20  
Fax : 01 34 40 21 29

SPC@lab-cerba.com  
www.lab-cerba.com

---

**ATTESTATION DE CONSULTATION DU MEDECIN PRESCRIPTEUR OU DU CONSEILLER EN GENETIQUE**

Je certifie avoir informé le (ou la) patient(e) sus nommé(e) ainsi que ses parents (représentants légaux) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la diagnostiquer, les possibilités de prévention et de traitement, le stockage de son prélèvement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient(e) ET de sa tutelle dans les conditions prévues par le code de la santé publique (articles R1131-4 et 5)

<p style="text-align: center;"><b>IDENTITÉ du PATIENT</b></p> <p>Nom : Prénom : Date de Naissance :</p>	<p style="text-align: center;"><b>IDENTITÉ du REPRÉSENTANT LÉGAL</b> Nom, Prénom, Date de Naissance</p> <p>Si le patient est mineur ou majeur sous tutelle Lien avec le patient :</p>	<p style="text-align: center;"><b>PRESCRIPTEUR</b></p> <p>Nom : Prénom :</p>
Signature	Signature	Signature

---

**ATTESTATION D'INFORMATION ET CONSENTEMENT POUR LA RÉALISATION DU TEST**

Je soussigné(e), atteste avoir reçu du :

- médecin généticien : Dr/Pr.....
- conseiller en génétique sous la responsabilité du Dr/Pr.....

les informations concernant l'examen des caractéristiques génétiques qui m'est proposé, qui sera réalisé à partir :

- du (des) prélèvements biologiques pratiqués sur moi-même
- du (des) prélèvements biologiques pratiqués sur mon enfant ou sur la personne majeure placée sous tutelle

et consens à l'examen génétique dans le cadre de :

J'ai été informé(e) :


- De mon droit à faire à tout moment la demande que cette étude soit interrompue, que les résultats ne me soient pas communiqués, ou que les échantillons stockés soient détruits
- Que l'interprétation complète de ces résultats repose, dans certaines situations, sur la définition de la parenté biologique, qui peut être analysée à partir de ces prélèvements.
- de ma responsabilité concernant mon devoir d'information familiale, si une anomalie génétique grave dont les conséquences sont susceptibles de mesures de préventions, y compris de conseil génétique, ou de soins était mise en évidence.

Le résultat de cet examen me sera rendu et expliqué par le médecin prescripteur (ou par délégation au conseiller en génétique) en l'état actuel des connaissances dans le cadre d'une consultation de génétique.

J'autorise la conservation d'un échantillon biologique issu de mon prélèvement et son utilisation ultérieure pour poursuivre les investigations dans le cadre de la même démarche diagnostique, en fonction de l'évolution des connaissances.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
La technique utilisée peut éventuellement révéler des informations génétiques sans lien avec la pathologie concernée, mais pouvant avoir un impact sur ma santé ou celle d'apparentés. Je souhaite être informé(e) de ces résultats.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
J'autorise la transmission d'un échantillon ainsi que des données médicales nécessaires, dont d'éventuelles photographies, à un autre laboratoire pour compléter cette étude génétique.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
J'autorise l'enregistrement et la conservation des données médicales utiles à la gestion de la démarche diagnostique dans des bases de données informatiques.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Dans le cadre de la démarche diagnostique, une partie de mon prélèvement peut ne pas être utilisée. J'autorise sa conservation et son utilisation pour des études d'assurance de la qualité interne au laboratoire.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
J'autorise l'utilisation anonymisée des données médicales et/ou d'une partie des prélèvements dans le cadre de projets de recherche sans bénéfice direct.	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non

J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais au médecin généticien ou conseiller en génétique qui m'a prescrit cette analyse et j'en ai eu des réponses complètes et adéquates.

Fait à .....le.....



Scanned with  
PDFCOPRED\_Fr\_07/03/2019

2/2

**Annexe 2: feuille du consentement pour la réalisation du test.**

# Annexes

**Cerba**

**Biologiste Responsable : Sylvie Cado**  
**Biologistes Médicaux**

H. Balacani	A. Ganon	J.D. Poveda
L. Verdume	S. Haim-Boukobza	S. Samaan
J.M. Costa	P. Kleinfinger	S. Schmit
M.M. Coude	I. Lacroix	S. Trombert
Y. Pepino	L. Lohmann	D. Trost (Biologiste Généticien)
S. Dafasque	S. Mehlal Sedkaoui	M. Valduga
F. Flach		

**Médecins Anatomopathologistes**

C. Bergeron (Responsable)	M. Grossin
M. Bonnière	K. Hadid
S. Chanel	Y. Elouaret
Y. Elouaret	L. Miranda
A. Gaulier	

G /w 993-101 /s 993-101

**Docteur F SEGHIER**  
**CHU SIDI LAKHDAR BOUCHMAA**  
**WILAYA DE TIPAZA**

99999 SIDI GHILESS

Ne(e) le 30.12.1960      Sexe : F  
Dossier n° : 20T0449552

Transmis par	BIODIAG
Prescrit par	Dr SEGHIER F
Vos références	14119
Enregistré le	05.06.2020      Edité le      06.08.2020
Ex envoyé(s) au(x)	Laboratoire

Exemplaire médecin

**• ETUDE DE LA PREDISPOSITION HEREDITAIRE A UN CANCER**

Prélèvement : 02.06.2020 Sang EDTA

**Indication :**  
Examen initial chez un cas index (1er prélèvement) : Suspicion de prédisposition héréditaire à un cancer du sein et/ou de l'ovaire

**Gènes étudiés**      BRCA1, BRCA2

**Résultat :**  
Présence à l'état hétérozygote du variant c.4987-2A>G, p.? (NM\_007294.3) du gène BRCA1 (absence de variants pathogènes ou probablement pathogènes dans les autres gènes étudiés)

**Commentaire :**  
Par les stratégies actuelles d'analyse, il a été mis en évidence un variant affectant un site d'épissage du gène BRCA1 qui peut donc être considéré comme délétère. La présence de ce variant pathogène augmente le risque tumoral chez ce patient. Ce résultat doit être confirmé à partir d'un 2ème prélèvement indépendant.

Test : analyse ciblée des régions codantes et des jonctions intron/exon des gènes ci-dessus. Système d'enrichissement par la méthode "SureSelect" (Agilent) suivie d'une réaction de séquençage paired-end (2x150bp) sur une plateforme MiSeqDx ou NextSeq500 (Illumina). Les données issues de ce séquençage sont analysées à l'aide d'un pipeline informatique local. La profondeur moyenne et le seuil de qualité de la séquence obtenue sont déterminés pour les exons codants ainsi que les sites d'épissage des gènes RefSeq codants pour des protéines. Taux de couverture >99% et profondeur minimale 30X. Les variants rapportés (pathogènes ou probablement pathogènes) dans le compte-rendu ont été confirmés par une méthode alternative (séquençage type Sanger pour les SNV, qPCR et/ou digital PCR et/ou MLPA pour les CNV). La détection de variants en mosaïque n'est pas garantie. Les variants introniques profonds ou des régions régulatrices ne sont pas explorés.

Conformément à la législation en vigueur, loi n°2011-814 du 7 juillet 2011, 2 exemplaires du résultat vous sont adressés afin d'en remettre 1 à votre patiente.

Dr Mylène Valduga (01 34 40 20 20)



Compte rendu complet

1/1

Conformément aux textes en vigueur, votre échantillon biologique pourra être éliminé, utilisé et/ou transféré à des fins scientifiques ou de contrôles qualité, hors génétique humaine, de manière anonyme et respectant le secret médical sauf opposition formelle auprès de notre Service de la Relation Client.

CELLARA CERBA - 7111 rue de l'Equerre - Parc d'activités "Les Béthunes" - 95310 Saint Quentin La Motte - France - ENREGISTREMENT N°95.9 - Tel : 01 34 40 20 20 - FAX : 01 34 40 21 24

Annexe 3 : Résultat de l'étude de prédisposition génétique au cancer.

# **Références bibliographiques**

### **Références bibliographiques :**

Amandine, A., 2014. Etude du profil protéomique de follicules ovariens de souris à 3 différents stades de développement in vitro. Thèse de doctorat de Biologie de la Reproduction, Université Pierre et Marie Curie, Paris.

Agnès Collet, 2013. L'utilisation d'une plateforme de séquençage à haut débit dans l'étude des BRCA1 et BRCA2. Université de LORRAINE.

ALLIOUA Fakia, DELLAL Khaldia, Pr. Oudai, Cancer du Sein, Mémoire de fin d'études, CHU Khelil Amrane, Béjaia, Faculté de Médecine de Béjaia, 2014, p64, 131 pages.

Alfred Fitoussi, Chirurgie du Cancer du Sein, Traitement Conservateur, oncoplastie et reconstruction, Elsevier Masson, Paris, Techniques Chirurgicales Gynécologie, 2010, p4, 293 pages.

Ateilah, H., 2008. Les tumeurs épithéliales de l'ovaire Aspects anatomopathologiques. These, Faculté de médecine et de pharmacie de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.

Anne Vincent-Salomon (2017), 8<sup>ème</sup> classification pTNM des cancers du sein & Expérience Endopredict de l'Institut Curie, Institut Curie, pages : 9-10.

Binder-Foucard F, Bossard N, Delafosse P, Belot A, Woronoff A-S, Remontet L, French network of cancer registries (Francim). 2014. Cancer incidence and mortality in France over the 1980-2012 period: solid tumors. Rev Dépidémiologie Santé Publique 62:95–108.

Caid N, 2018. Caractéristiques cliniques, histologiques et moléculaires du cancer du sein chez la femme jeune, page119.

## Références bibliographique

---

Cornoua, C, Philippeb,A., Le Bouedecb, G., Dauplatc, M., Dauplatb, J., Pomelb, C.,2015. Étude anatomo clinique des cancers de l’ovaire chez les patientes aux antécédents d’hystérectomie pour pathologie bénigne.

Claus EB, Risch N, Thompson WD. Genetic analysis of breast cancer in the cancer and steroid hormone study. *Am J Hum Genet* 1991;48:232–42

Chabni, N., 2013. profil épidémiologique et la prédisposition génétique des cancers ovariens à Tlemcen.

Dooms M, Chango A, Abdel-Nour A. La PCR quantitative (qPCR) et le guide de bonnes pratiques MIQE : adaptation et pertinence dans le contexte de la biologie clinique. *Ann Biol Clin* 2014

Gouadfel Kahina et Badis Kheireddine, contribution à l’évaluation des nouveaux facteurs pronostique du cancer du sein et étude rétrospective sur une durée de 3 années, mémoire de master en science biologique, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. 2012-2013.

Gentry-Maharaj A, Menon U Maharaj A, Menon U Maharaj A, Menon U. Screening for ovarian cancer in the general population. *Best Pract & Res Clin Obstet and Gynecol* 2012;8:1-14.)

Hervé, F., Charles, Ch, Jean-Luc, P. 2005. Livre, traité de gynécologie p 371-383.

Habak Nawel, 02 mars 2019. Etude des gènes BRCA1 et BRCA2 dans les suspicions de cancers familiaux du sein et/ou de l’ovaire dans une population algérienne. Université d’Alger.

Jessika F, Analyses génomique et transcriptionnelle des gènes de susceptibilité aux cancers du sein et de l’ovaire BRCA1 et BRCA2 chez les canadiennes française, mémoire fin d’études, Faculté de médecine, Université de Laval, Québec, 2005.

## Références bibliographique

---

Kim Pruitt et al, 2012 Chapitre 18 La base de données des séquences de référence (RefSeq), Le manuel NCBI

Laure, D., Anne, K., Jean-Emmanuel, K., Florence, J., Béatrice, W., 2014. Attentes des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire. Résultats de l'enquête européenne EXPRESSION III chez les patientes françaises du groupe GINECO (Groupe d'investigateurs nationaux pour l'étude des cancers ovariens et du sein)

Nakazato T, Ohta T, Bono H. Exploration fonctionnelle basée sur la conception expérimentale et caractérisation des données de séquençage à haut débit dans l'archive de lecture de séquence. PLoS One. 2013; 8 (10): e77910.

Pierre Kamina, Anatomie Clinique, 3ème édition, Tom 3 (Thorax et Abdomen), 2ème tirage, Edition Maloine, Paris, 2011,342 pages

Querleu D, Tumeurs de l'ovaire : classification et histopathologie. EMC Gynécologie 1993,680-A-10.6p

Sylvie Desjardine, Analyse de gènes candidats au cancer du sein impliqués dans les interactions avec BRCA1 et BRCA2, Thèse de doctorat en Physiologie-Endocrinologie, L'université Laval, Québec, Canada. 2010.

Tutt A, Ellis P, Kilburn L, et al. TNT : A randomized phase III trial of carboplatin (C) compared with docetaxel (D) for patients with metastatic or recurrent locally advanced triple negative or BRCA1/2 breast cancer (CRUK/07/012). 37th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio, TX, December 9-13, 2014 (abstr S3-01).

Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer : A proof-of-concept trial. Lancet 2010;376: 235-44.



## Références bibliographique

---

Yaichi Abderrazzak, étude de quelques paramètres biochimiques chez les femmes atteintes de cancer du sein dans la région de Bechar, Mémoire de master en biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2013-2014.

### **Livre :**

Extrait du livre : CANCERS DE L'OVAIRE / Du diagnostic au suivi, Juillet 2016/ page : 18

### **Sites :**

Organisation mondiale de la santé/ thèmes de santé/Cancer(2014). Extrait de :  
<https://www.who.int/topics/cancer/fr/>

Institut national du cancer/ Les cancers /cancer du sein /Facteurs de risque. Extrait de :  
<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Facteurs-de-risque>

Institut nationale du cancer, [www.c-cancer.fr](http://www.c-cancer.fr), 2017

Organisation mondiale de la santé/global cancer observatory/  
<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheets.pdf>

<https://www.doctissimo.fr/html/sante/atlas/fiches-corps-humain/appareil-reproducteur-feminin.htm>

NCBI/ Structure/BRCA1. Extrait de : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/pdb/4Y18>.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/pdb/1N0W>

<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Anatomie-du-sein>

## Références bibliographique

---

Centre hospitalier universitaire vaudois/Cancer/Généralité. Extrait de :  
<https://www.chuv.ch/fr/chuv-home/patients-et-familles/specialites-medicales/atlas-medical-thematique/maladies-generales/cancer-generalites>

Institut national du cancer. Extrait de : <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Symptomes>.

Item153 : tumeur de l’ovaire, collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF) ,2010/2011.Extrait de : <http://campus.cerimes.fr/gynecologie-et-obstetrique/enseignement/item153/site/html/cours.pdf>

OMS, Organisation mondiale de la Santé, 2015.le cancer. <https://www.who.int/cancer/fr/>

InfoCancer/info pratique/ONCOGÉNÉTIQUE/ LE CAS DES CANCERS DU SEIN ET DE L’OVAIRE

<HTTPS://WWW.ARCAGY.ORG/INFOCANCER/INFOS-PRATIQUES/ONCOGENETIQUE/LE-CAS-DES-CANCERS-DU-SEIN-OU-DE-L-OVAIRE.HTML> / (21 FEVRIER 2019).

<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Diagnostic>.

<https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/ovarian/diagnosis/?region=on>.