

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA -1-
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master
En Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES
Option : Génétique

THÈME

**Etude *in silico* des mutations des gènes impliqués
dans le cancer du sein chez la femme Algérienne**

Présenté par :

M^{elle} CHEBBAH Assia

M^{elle} LOUZRI Maroua

Soutenu le : 28/09/2020 à 11H

Devant le jury :

M ^{me} ZEROUTI K.	MAA	USDB 1	Présidente
M ^r MOHAMED SAID R.	MCA	USDB 1	Examineur
M ^{me} EDDAIKRA A.	MCB	USDB 1	Promotrice
M ^{me} GUESSAIBIA N.	MCA	USDB 1	Co-promotrice

Promotion: 2019 – 2020

Remerciements

Au préalable, nous remercions DIEU, notre guide tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience de poursuivre nos études malgré toutes les difficultés

Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice Madame EDDAIKRA A. Maître de conférences à l'université de Blida de nous avoir proposé ce thème, encadrer, aider, orienter

Nous lui témoignons notre gratitude pour sa patience et surtout sa gentillesse

Toute notre reconnaissance va également à Madame GUESSAIBIA N. Maître de conférences à l'université de Blida qui a bien voulu d'accepter de co-encadrer ce travail

A tous les membres de jury d'avoir accepté d'examine notre travail :

Madame ZEROUTI K. Maitre assistante à l'université de Blida d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider ce jury

Monsieur MOHAMED SAID R. Maître de conférences à l'université de Blida et chef d'option de la spécialité génétique d'avoir bien voulu examiner ce travail et être membre de jury

En fin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à :

Mes chers parents, ma mère Mina et mon père Ismail pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leur soutien, leur patience, leurs conseils, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études.

Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À l'âme de mes grands-parents

À mon cher frère Ahmed Amine pour son aide et son soutien

À mes meilleures amies, mes sœurs : Ilhem, Rayen, Foufou, Yasmine qui ont toujours été là pour moi, pour leur soutien et leurs encouragements

À ma binôme et meilleure amie avec qui j'ai passé les meilleurs moments à l'université : Assia

Maroua

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse,
leur soutien et leurs prières tout au long de mes études*

*A mes chères sœurs Soumia, Nassiba et Sarra pour leurs encouragements
permanents, leur soutien moral, et leur tendresse*

*A mon cher frère Younes, pour ses critiques, sarcasmes et compliments au
même temps*

*A ma meilleure amie Wissem, qui a toujours été à mes côtés, qui sait donner
un soutien sans borne et sans jamais rien exiger en retour*

*A ma binôme et meilleure amie Maroua, my partner in crime, pour son
soutien moral, sa patience, et sa compréhension tout au long de ce projet, et le
plus important pour les années inoubliables à l'université*

*Que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous prouve
une longue vie pleine de joie*

Assia

Résumé

Le cancer du sein est une maladie très fréquente ayant des répercussions graves sur plusieurs volets. Il touche les quatre coins du monde à tous les âges de la puberté à la ménopause.

En Algérie, le cancer du sein est la première cause de mortalité par cancer chez la femme. C'est une maladie complexe qui peut survenir à cause de plusieurs facteurs environnementaux et génétique, l'un de ces facteurs est la prédisposition génétique des gènes BRCA1, BRCA2 et PALB2.

Jusqu'à ces jours plusieurs mutations ont été identifiées aux niveaux de ces gènes chez les femmes algériennes. Il est bien établi que les femmes porteuses d'une mutation pathogène au niveau de l'un de ces gènes ont un risque élevé de développer un cancer du sein à un âge précoce.

Dans le but de contribuer à comprendre l'impact des mutations des gènes impliqués dans le cancer du sein chez la femme algérienne. Nous avons utilisé une méthode d'étude *in silico* en interrogeant les bases de données. Au niveau de ces dernières sont stockées toutes les mutations du cancer du sein à l'échelle mondiale.

Pour ce faire, nous avons utilisé pour la réalisation de notre travail une méthode d'analyse bioinformatique. Cette dernière est une méthode *in silico* en utilisant des bases de données (NCBI, ClinVar, LitVar, VarSome, Ensembl, UCSC, SNPedia, ExPASy).

Cette étude nous a permis de conclure que la plupart des mutations identifiées sont chez des patientes atteintes d'un cancer du sein triple négative à un âge précoce, aussi que certaines mutations identifiées pourront être fondatrice méditerranéenne et maghrébine.

Les mutations trouvées dans les deux gènes BRCA1 et BRCA2 sont le plus souvent localisées dans l'exon 10 et 11 respectivement mais qu'une seule mutation a été trouvée dans le gène PALB2, en 2019.

Pour expliquer le rôle de ces gènes dans le cancer du sein algérien, des études complémentaires sont nécessaires, c'est pour cela, nous trouvons que c'est extrêmement utile de développer une base de données des mutations des gènes impliqués dans le cancer du sein pour la population algérienne et nord-africaine.

Mots Clés : Cancer du sein, prédisposition génétique, BRCA1, BRCA2, PALB2

Abstract

Breast cancer is a very common disease with serious repercussions on several aspects. It affects all corners of the world at all ages from puberty to menopause.

In Algeria, breast cancer is the leading cause of women deaths by cancer. It is a complex disease that can occur due to several environmental and genetic factors, one of which is the genetic predisposition of the BRCA1, BRCA2 and PALB2 genes.

So far, several mutations have been identified in these genes in Algerian women. It is well established that women with a pathogenic mutation in any of these genes have a high risk of developing breast cancer at an early age.

In order to help understanding the impact of these genes mutations involved in breast cancer in Algerian women, we used *in silico* study method by querying databases where all breast cancer mutations found worldwide are stored.

To do so, we used bioinformatic analysis method which is *in silico* method that uses bioinformatic tools (NCBI, ClinVar, LitVar, VarSome, Ensembl, UCSC, SNPedia, ExPASy) .

This study allowed us to conclude that most of the identified mutations were detected in triple negative breast cancer patients at an early age, and some of them could be Mediterranean and Maghreb founder mutations.

Mutations found in the BRCA1 and BRCA2 genes are often localized in exon 10 and 11 respectively, yet only one mutation was found in the PALB2 gene in 2019.

To explain the role of these genes in Algerian breast cancer, additional studies are needed, which is why we find it extremely useful to develop a database for breast cancer mutations of the Algerian and North African population.

Keywords: Breast cancer, Genetic predisposition, BRCA1, BRCA2, PALB2

المخلص

يعتبر سرطان الثدي مرض شائع جداً حيث له تداعيات خطيرة على عدة جوانب فهو يصيب مختلف الأعمار من سن البلوغ إلى سن اليأس في جميع أنحاء العالم.

في الجزائر، سرطان الثدي هو السبب الرئيسي للوفاة بالسرطان لدى النساء، إنه مرض عويص حيث يمكن أن ينتج بسبب عدة عوامل بيئية ووراثية. أحدها هو الاستعداد الوراثي لجينات BRCA1/BRCA2 و PALB2

إلى يومنا هذا تم العثور على العديد من الطفرات على مستوى هذه الجينات لدى النساء الجزائريات. ومن الثابت أن النساء الحاملات لطفرة خبيثة في أحد هذه الجينات هم الأكثر عرضة للإصابة بسرطان الثدي في سن مبكر.

بهدف المساهمة في فهم مدى تأثير الطفرات في الجينات المساهمة في افتعال سرطان الثدي لدى النساء الجزائريات استخدمنا طريقة دراسة في السيليكون التي تتمثل في مراجعة قواعد البيانات حيث يتم تخزين جميع معلومات طفرات سرطان الثدي على مستوى العالم.

استخدمنا من أجل عملنا هذا طريقة تحليل المعلومات الحيوية والتي تعتبر طريقة دراسة في السيليكون حيث تستخدم ادوات المعلوماتية الحيوية.

لقد سمحت لنا هذه الدراسة باستنتاج ان معظم الطفرات وجدت عند النساء المصابات بسرطان الثدي الثلاثي السلبي في سن مبكر. كما ان بعضها قد تكون طفرات ناشئة عند سكان البحر الأبيض المتوسط او سكان المغرب العربي.

معظم الطفرات التي تم العثور عليها في الجينات BRCA1 و BRCA2 و التي تتمركز على مستوى الإكسونات 11/10 على التوالي، و لكن تم العثور على طفرة واحدة فقط في جين PALB2 عام 2019

لشرح دور هذه الجينات في سرطان الثدي عند الجزائريات، نحن بحاجة إلى المزيد من الدراسات، ولهذا نجد أنه من المفيد للغاية تطوير قاعدة بيانات لطفرات الجينات المرتبطة بسرطان الثدي مخصصة بسكان الجزائر وسكان شمال افريقيا.

الكلمات المفتاحية : سرطان الثدي ، الاستعداد الوراثي، BRCA1،BRCA2، PALB2

Sommaire

Introduction.....	1
I. Rappels bibliographiques	
1. Cancer du sein	2
2. Stades de développement d'un cancer.....	2
3. Types du cancer du sein.....	4
3.1. Carcinome in situ.....	4
3.2. Carcinome invasifs.....	4
4. Classification des cancers du sein	5
5. Moyens de dépistage et de prévention	6
6. Epidémiologie	7
7. Facteurs de risques	8
7.1. Âge et sexe	8
7.2. Facteurs hormonaux	8
7.3 Facteurs génétiques	9
7.3.1. Gène BRCA1	10
a. Protéine BRCA1	11
b. Fonctions de la protéine BRCA1	13
7.3.2 Gène BRCA2	15
a. Protéine BRCA2	16
b. Rôle de la protéine BRCA2	17
7.3.3. Gène PALB2	18
a. Protéine PALB2	19
b. Rôle de la protéine PALB2.....	20
7.3.4. Interaction BRCA1-PALB2-BRCA2	21
II. Matériels et méthodes	
1. Matériels.....	22
1.1. Matériel biologique <i>in silico</i>	22
1.2. Matériel non biologique.....	23
2. Méthodes	24
2.1. Outil NCBI.....	24
2.2. Outil ClinVar.....	25
2.3. Outil VarSome.....	26
2.4. Outil LitVar	27
2.5. Outil SnPedia.....	28
2.6. Outil Ensembl.....	28
2.7. Outil ExPASy.....	29
III. Résultats et discussion	
1. Résultats	31
1.1. Résultats de l'outil NCBI	31
1.2. Résultats de l'outil VarSome.....	32
1.3. Résultats de l'outil UCSC.....	34
1.4. Synthèse des mutations.....	35

1.5. Modélisation	37
2. Discussion	39
3. Synthèse de la discussion en anglais.....	44
Conclusion.....	46

Liste des abréviations

AA: Acide Aminé
BACH1: BRCA1-Associated C-terminal Helicase 1
BRCA: Breast Cancer
BRCT: BRCA1 C-Terminal
CCI: Carcinome Canalire Infiltrant
CCIS: Carcinome Canalaire In Situ
Cdk: Cyclin dependent kinase
CHK1: Checkpoint Kinase 1
CLI: Carcinome Lobulaire Infiltrant
CLIS: Carcinome Lobulaire In Situ
DSS1: Deleted in Split Hand/Split Foot Protein 1
ER α : Estrogen Receptor alpha
GADD45: Growth Arrest and DNA Damage
HBOC: Hereditary Breast and Ovarian Cancer
JNK/SAPK: c-Jun N-terminal Kinase/Stress-Activated Protein Kinase
KEAP1: Kelch Like ECH Associated Protein 1
MAGE-D1: Melanoma Antigen Family D1
MRG15: MORF-Related Gene on chromosome 15
NES: Nuclear Export Sequence
NLS: Nuclear Localization Sequence
OB-fold: Oligonucleotide/Oligosaccharide-Binding
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
PABP1: Poly (A)-Binding Protein 1
PALB2: Partner and localizer of BRCA2
RAD51: RAD51 recombinase
RAP80: receptor-associated protein 80
RPA: replication protein A
SNP: single nucleotide polymorphism
SSB: single-strand binding protein
TNBC: triple-negative breast cancer
TNM: Tumor- Node –Metastasis
TopBP1: Topoisomerase (DNA) II Binding Protein 1
TSH: thyroid stimulating hormone

Liste des figures

Figure 1 : Stades de la cancérisation d'un épithélium canalaire mammaire.....	3
Figure 2 : Nombre de cas de tous types de cancer en Algérie en 2018 chez la femme.....	8
Figure 3 : Localisation cytogénétique du gène BRCA1.....	10
Figure 4 : Structure 3D de la protéine BRCA1.....	11
Figure 5 : Domaines BRCT tandem de BRCA1 en structure tridimensionnel.....	12
Figure 6 : Fonctions des exons 11 et13 du gène BRCA1.....	15
Figure 7 : Localisation cytogénétique du gène BRCA2.....	16
Figure 8 : Structure cristalline tridimensionnelle de la protéine BRCA2.....	17
Figure 9 : Localisation cytogénétique du gène PALB2.....	19
Figure 10 : Structure tridimensionnelle de la protéine PALB2.....	20
Figure 11 : Organisation des domaines fonctionnels des protéines BRCA1, PALB2 et BRCA2.....	21
Figure 12 : Méthode de recherche des SNP du cancer du sein chez la femme algérienne.....	24
Figure 13 : Méthode de recherche sur NCBI.....	25
Figure 14 : Méthode de recherche sur ClinVar.....	26
Figure 15 : Méthode de recherche sur VarSome.....	26
Figure 16 : Méthode de recherche sur LitVar.....	27
Figure17 : Méthode de recherche sur SNPedia.....	28
Figure 18 : Méthode de recherche sur Ensembl.....	29
Figure 19 : Résultats de modélisation sur ExpASy.....	30
Figure 20 : L'exon 10 de BRCA1.....	32
Figure 21 : Résultat de la visualisation du positionnement du rs28897672 sur VarSome.....	32
Figure 22 : Résultat de la visualisation de l'exon 10 et 11 du BRCA2.....	33
Figure 23 : Résultat de la visualisation de l'exon 3 de PALB2.....	33
Figure 24 : Résultats de la visualisation des variations SNPs du gène « BRCA1 » du navigateur de génome d'UCSC.....	34
Figure 25 : Résultats de la visualisation des variations SNPs du gène « BRCA2 » du navigateur de génome d'UCSC.....	35
Figure 26 : Modélisation de BRCA1 par SWISS-MODEL.....	37
Figure 27 : Modélisation de BRCA2 par SWISS-MODEL.....	38
Figure 28 : Modélisation de PALB2 par SWISS-MODEL.....	38

Liste des tableaux

	Titre	Page
Tableau I	Classification des stades des cancers du sein en fonction de la classification TNM.	6
Tableau II	Les gènes de prédisposition génétique au cancer du sein chez la femme algérienne	22
Tableau III	Les bases de données bioinformatique	23
Tableau IV	Références Genbank « NCBI » des gènes humains (BRCA1, BRCA2 et PALB2)	31
Tableau V	Mutations des gènes impliqués dans le cancer du sein chez la femme algérienne	36

Introduction

Le cancer du sein féminin exige notre attention permanente puisqu'il s'agit d'un domaine en perpétuelle évolution et représente un axe fort de recherche. Selon les données mondiales, le cancer du sein représente le premier cancer de la femme en termes d'incidence et de mortalité. Il constitue un problème majeur de santé publique avec plus de 1,67 million nouveaux cas enregistrés à l'échelle mondiale en 2012.

En 2017, selon l'OMS, les décès à cause de cancer du sein en Algérie ont atteint 3 115 ou 1,79% du total des décès. Le taux de mortalité est de 17,88 pour 100 000 femmes, ce qui place l'Algérie au 77ème rang mondial.

Le cancer est provoqué par un enchaînement d'événements qui permettent aux cellules normales à proliférer de façon non-régulée.

Plusieurs études ont mis en évidence un certain nombre de facteurs intervenant dans le cancer du sein. Parmi les principaux facteurs étudiés à ce jour, les facteurs hormonaux endogènes et exogènes et les facteurs génétiques et d'autres.

L'objectif de ce travail est d'identifier les différents SNP dans les gènes BRCA1, BRCA2, PLAB2 présents dans la population algérienne en utilisant des bases des données bioinformatiques.

Pour répondre à notre problématique, notre mémoire a été structuré en trois parties :

- Une première partie présentant des généralités sur le cancer du sein et les mutations les plus connues.
- Une seconde partie présentant la méthodologie de notre travail et les outils bioinformatiques utilisés.
- Et enfin la troisième partie présentant l'analyse et la discussion des résultats que nous avons obtenu.

1. Cancer du sein

Le cancer du sein se définit comme une prolifération anarchique et incontrôlée des cellules épithéliales du sein. Qu'il s'agisse des cellules des canaux galactophores « carcinome canalaire » ou de celles des lobules « carcinome lobulaire ». Le carcinome peut être in situ ou infiltrant selon qu'il y est ou non effraction de la membrane basale et possède ou non un potentiel métastatique [21].

Il résulte de la transformation des cellules qui deviennent anormales et prolifèrent de manière autonome sans contrôle par les mécanismes normaux de régulation de la division et de la mort cellulaire. Ces cellules dérégées finissent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne. Les cellules cancéreuses ont tendance à envahir les tissus voisins et à se détacher de la tumeur. Elles migrent alors par les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques pour aller former une autre tumeur (métastase) [9].

2. Stades de développement d'un cancer du sein

Plusieurs étapes jalonnent la progression tumorale, de la transformation d'une cellule à sa prolifération clonale puis à l'apparition de métastases. Les différents stades de cancérisation en s'appuyant sur l'exemple de la tumorigénèse de l'épithélium canalaire mammaire sont les suivants (fig.1) :

➤ **Hyperplasie canalaire dite simple**

C'est un stade préliminaire de cancérisation. Sous l'influence des divers signaux, les cellules épithéliales normales intracanales de sous-types luminal et basal se prolifèrent de façon anarchique, ce qui va conduire à une augmentation de l'épaisseur de la couche épithéliale. Cette étape n'augmente pas le risque absolu du cancer [21].

➤ **Hyperplasie canalaire dite atypique**

Elle augmente de 4 à 5 fois le risque de cancer du sein. Elle se caractérise par une prolifération des cellules épithéliales de sous-type luminal uniquement [21].

➤ **Carcinome in situ**

La formation d'un cancer proprement dit est observée lors de la différenciation des cellules accompagnées avec une modification génétique. La prolifération de ces cellules reste au niveau local et ne franchit pas la membrane basale [21].

➤ Carcinome invasif

Les cellules cancéreuses envahissent le tissu conjonctif pour donner un cancer invasif. le franchissement de la membrane basale apporte la preuve que les cellules malignes ont acquis des modifications génétiques nécessaire à l'invasion du stroma (perte d'adhérence et de l'inhibition du contact, augmentation de l'angiogénèse) [21].

➤ Métastase

La dernière étape se caractérise par la formation de métastases, les cellules de la tumeur primaire vont migrer par les voies lymphatiques et sanguines et colonisent un nouvel organe pour former une tumeur secondaire [21].

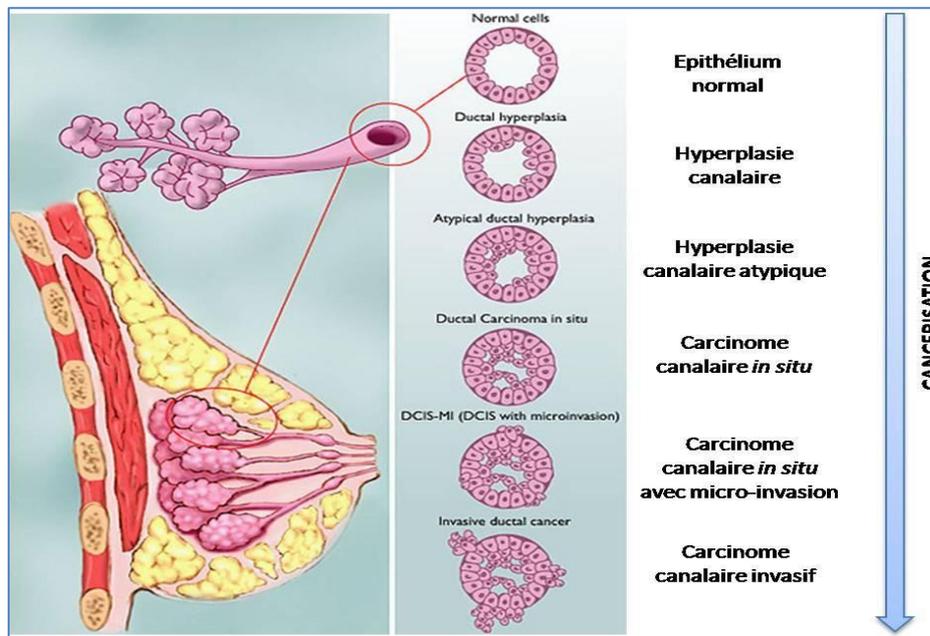


Figure 1 : Stades de la cancérisation d'un épithélium canalaire mammaire
<https://ori-nuxeo.univ-lille1.fr/nuxeo/site/esupversions/ca9c0494-a18a-492f-9e24-cb90c17dcfab>

3. Types de cancer du sein

Les tumeurs de sein peuvent être bénignes, où elles sont bien limitées et encapsulées avec une croissance lente et locale. La tumeur bénigne la plus fréquente est l'adénofibrome.

Comme elles peuvent être malignes, où elles sont mal délimitées et non encapsulées avec une croissance rapide. Ces cellules sont capables à infiltrer et détruire les tissus adjacents. L'adénocarcinome est la tumeur maligne la plus fréquente, issu de la cancérisation de l'épithélium glandulaire à partir soit [1][21] :

- Des cellules des canaux : cancer canalaire.
- Des cellules des lobes : cancer lobulaire.

Les adénocarcinomes peuvent être subdivisés en fonction de leurs caractéristiques d'infiltration des tissus environnants.

3.1. Carcinomes in situ (non infiltrant)

➤ Carcinome canalaire in situ (CCIS)

Les cellules cancéreuses sont observées dans la lumière du canal galactophorique, elles ne se propagent pas à l'extérieur des canaux et le tissu conjonctif n'est pas envahi [1].

➤ Carcinome lobulaire in situ (CLIS)

Les cellules anormales s'accumulent dans les lobules du sein, mais elles ne se propagent pas hors des lobules jusqu'au tissu mammaire voisin. La membrane basale est respectée et le tissu conjonctif n'est pas envahi.

Ces carcinomes in situ peuvent s'évoluer vers une forme infiltrante [1][21].

3.2. Carcinomes invasifs (infiltrant)

➤ Carcinome canalaire infiltrant (CCI)

Il prend naissance dans les canaux mammaires, il traverse leurs parois et envahit le tissu mammaire voisin [1].

➤ **Carcinome Lobulaire infiltrant (CLI)**

Le carcinome lobulaire infiltrant prend naissance dans les lobules du sein, il se propage au tissu mammaire voisin à travers la membrane basale [1].

4. Classification des cancers du sein

Le système de classification TNM (Tumor–Node–Metastasis) de l'UICC (Union International de lutte Contre le Cancer), il a pour but de permettre au médecin d'établir un pronostic et de décider du meilleur traitement pour le malade [13] [21].

- **TNM** : La lettre T correspond à la taille de la tumeur principale et à son degré d'extension, la lettre N représente le degré d'atteinte des ganglions lymphatiques situés à proximité de la tumeur et la lettre M désigne toutes les autres tumeurs induites par la propagation des cellules cancéreuses [21].

Cette classification regroupe :

- L'atteinte locale (T0 à T4), qui dépend du volume tumoral et l'extension à la cage thoracique.
- L'atteinte ganglionnaire (N0 à N3), qui dépend du territoire ganglionnaire s'il est proche ou pas de la tumeur.
- L'atteinte métastatique (M0 à M1), définit l'absence ou la présence de métastase.

Ainsi, on peut définir différents stades (Tableau I) [21].

Tableau I : Classification des stades des cancers du sein en fonction de la classification TNM.

Stade	Tumeur (T)	Ganglion(N)	Métastase (M)	Description
0	Tis (in situ)	N0	M0	Cancer non invasif
I	T1	N1	M1	Tumeur <2 cm, pas de propagation à l'extérieur du sein
II	T0/1	N1	M0	Tumeur de 2 à 5 cm et/ou atteinte ganglionnaire satellite mineur
	T2	N0/1		
	T3	N0		
III	T0/1/2	N2	M0	Atteinte local importante et/ou atteinte ganglionnaire satellite majeure
	T4	N0/1/2		
	Tout T	N3		
IV	Tout T	Tout N	M1	Tumeur avancée localement et métastase à distance

5. Moyens de dépistage et de prévention

Selon l'OMS, le dépistage permet à détecter à un stade précoce asymptomatique une maladie pour le but d'un diagnostic et une thérapeutique précoce afin d'améliorer l'état de santé des individus [15]. En pratique, c'est l'application d'un test pour identifier la présence ou l'absence d'une maladie. Avant de consulter et d'envisager des examens, il est conseillé d'effectuer régulièrement des auto-palpations pour déceler les premiers symptômes.

➤ L'autopalpation

Elle consiste à réaliser des petits cercles sur tout le sein et à examiner les aisselles pour vérifier s'il y a la présence des ganglions, et aussi à examiner le mamelon puisqu'il peut être le siège d'une zone cancéreuse [4].

➤ Mammographie

C'est un examen radiographique qui utilise les rayons X. Son principe consiste à radiographier chaque sein de face et de profil pour visualiser l'intégralité de la glande mammaire.

C'est l'examen de référence pour le dépistage du cancer du sein. Il permet de mettre en évidence des cancers de petite taille à un stade précoce avant l'apparition des symptômes. Parfois, le radiologue peut compléter cet examen par une échographie qui lui permet d'analyser plus finement cette lésion [8][10].

➤ Echographie

Une échographie mammaire peut être réalisée en complément de la mammographie pour préciser la nature d'images radiologiques difficiles à interpréter. Elle peut aussi être proposée à la place de la mammographie aux femmes qui ont les seins trop denses pour être examinés à l'aide de rayons X, notamment quand elles sont jeunes [4].

Même si les femmes effectuent une mammographie tous les deux ans, il est important de rester attentives aux éventuels changements au niveau de leurs seins. En effet, un cancer peut se déclarer avant que la mammographie suivante soit réalisée.

6. Epidémiologie

En Algérie, Le cancer du sein est la première cause de mortalité par cancer chez les femmes, ce qui constitue un vrai problème de santé publique. En 2018, l'Algérie a enregistré 53076 nouveaux cas avec plus de 29 000 morts selon les statistiques de l'OMS.

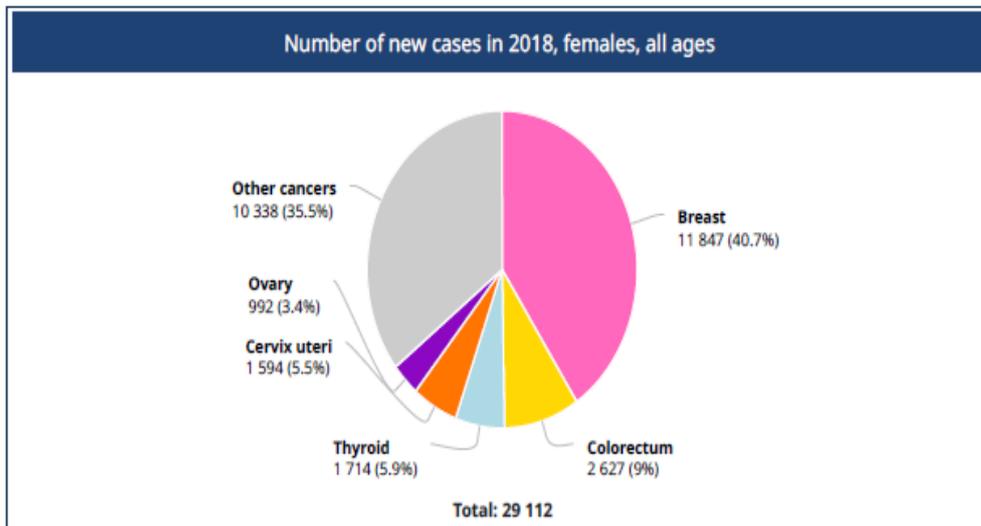


Figure 2 : Nombre de cas de tous types de cancer en Algérie en 2018 chez la femme

<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheets.pdf>

7. Facteurs de risques

Le cancer du sein est probablement d'origine multifactoriel, c'est-à-dire il n'y a pas une seule cause ou un seul déclencheur du cancer du sein mais plusieurs facteurs qui augmentent le risque du cancer du sein (facteurs hormonaux, environnementaux...etc).

7.1. Age et sexe

L'âge est le facteur de risque le plus important du cancer du sein. Dans la population générale, la maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans, l'incidence du cancer du sein augmente dès l'âge de 30 ans jusqu'à la ménopause (50 ans) avec une légère augmentation jusqu'à l'âge de 70 ans. Le cancer du sein peut survenir aussi chez l'homme mais il représente moins de 1% des cancers du sein [11].

7.2. Facteurs hormonaux

Les facteurs de risques hormonaux correspondent aux hormones endogènes et exogènes

- **Hormones endogènes**

Les estrogènes sont parmi les plus importants facteurs de risque du cancer du sein qui est considéré comme un cancer hormono-dépendant [11].

- **Age précoce des premières menstruations et ménopause** : Le risque de cancer du sein est légèrement augmenté chez les femmes ayant été réglées avant l'âge de 12 ans (règle précoce) ou chez celles dont la ménopause est survenue après 55 ans (ménopause tardive) [11].
- **Grossesse et parité** : Généralement, les femmes qui ont mené au moins une grossesse à terme avant l'âge de 30 ans présentent un risque de cancer du sein diminué par rapport aux femmes nullipares [11].
- **Allaitement maternel** : La lactation entraîne la diminution du niveau d'exposition cumulative aux œstrogènes chez la femme, elle réprimerait ainsi l'apparition et le développement des cancers du sein. Les femmes n'ayant pas eu d'enfant ou celles n'ayant pas allaité ont un risque de cancer du sein légèrement supérieur aux autres femmes [11].

- **Hormones exogènes**

Une utilisation à long terme des contraceptifs oraux est associée à une augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes. Aussi les femmes sous TSH présentent un risque augmenté de cancer du sein, ce risque augmente avec la durée d'utilisation [11].

7.3. Facteurs génétiques

Cinq à 10 % des cancers du sein s'inscrivent dans un contexte de prédisposition génétique héréditaire. Cette notion de prédisposition signifie avoir reçu de ses parents une mutation d'un gène étant susceptible d'avoir une relation avec le cancer [22].

Plusieurs gènes de prédisposition associant un degré de risque élevé ou modéré de cancer mammaire étaient caractérisés. Ces gènes altérés peuvent être regroupés en trois grandes catégories :

- **Des gènes de suppression tumorale** : ils se comportent comme des inhibiteurs du cycle cellulaire, leurs mutations aboutissent à une perte de fonction.

- **Des proto-oncogènes** : leur expression est régulée durant le cycle cellulaire sur lequel ils ont une action stimulatrice. Étant mutés, ils peuvent être activés en oncogènes échappant alors aux systèmes de régulation et stimulant la division cellulaire (gain de fonction).

- *Des gènes assurant le maintien de l'intégrité du génome* : ils assurent la réparation des altérations génétiques.

Dans cette partie, on va citer les gènes impliqués dans le cancer du sein chez la femme Algérienne :

7.3.1. Gène BRCA1

Le gène BRCA1 (BRest CAncer 1) est un gène majeur de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Il a été cloné et localisé, chez l'Homme, sur le chromosome 17 en position 17q21.31 en 1994. Il recouvre 81 kilobases (Kb) d'ADN génomique et possède une séquence codante de 5,6 kb. Il se compose de 24 exons, dont 22 sont codants (les exons 1A et 1B ainsi que l'exon 4 de BRCA1 ne sont pas codants) (fig.3). La taille des exons peut varier de 40 paires de bases (pb) pour l'exon 18, à 3425 pb pour l'exon 11. Ce dernier représente à lui seul environ 60% de la séquence codante de BRCA1. Le gène BRCA1 est riche en séquences répétées de type Alu qui représentent 41,5% du gène, tandis que les autres séquences répétées représentent 4,8% du gène [2] [20].

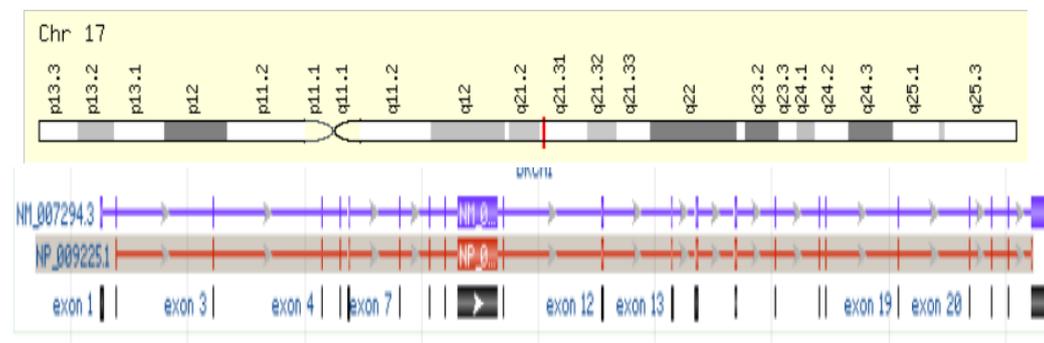


Figure 3 : Localisation cytogénétique du gène BRCA1
<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BRCA1>

La transcription de BRCA1 peut être initiée à partir de deux sites distincts et séparés de 277 pb, ce qui permet d'inclure de façon alternative les exons 1A et 1B. Le transcrit 1A est plus spécifique de la grande mammaire bien que le transcrit 1B est plus spécifique du placenta [2].

a. Protéine BRCA1

La protéine BRCA1 est composée de 1863 acides aminés avec une masse moléculaire de 220 kilo-dalton (kDa). Elle contient deux domaines structuraux : Un domaine RING (de la famille des domaines en doigt de zinc) dans la région N-terminale de la protéine, et un tandem de deux domaines BRCT dans la région C-terminale de BRCA1 (fig.4).

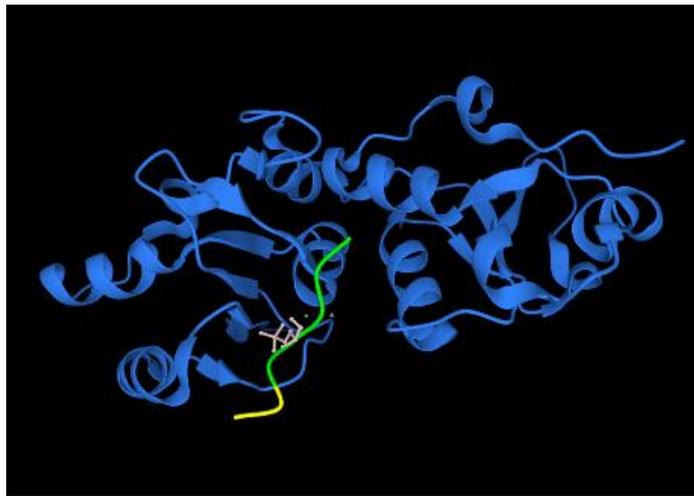


Figure 4 : Structure 3D de la protéine BRCA1
<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/pdbe-kb/proteins/P38398>

- ***Un domaine en doigt de zinc « RING Finger » :***

Il est localisé au niveau des exons 2 à 7 de BRCA1 et permet des interactions protéine-protéine et protéine-ADN. Ce domaine est le site d'hétérodimérisation de BRCA1 avec la protéine BARD1 (BRCA1-Associated RING Domain protein1), qui contient elle aussi un domaine RING. Cette interaction confère à l'hétérodimère BRCA1-BARD1 une activité d'E3-ubiquitine ligase [2] [20].

- ***Un tandem BRCT :***

La région C-terminale de la protéine BRCA1 contient deux séquences fortement conservées appelées chacune « domaine BRCT » (BRCA1 C-terminal) (fig.5). Il est retrouvé dans de nombreuses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN et le cycle cellulaire tel que p53. Au sein du tandem BRCT de la protéine BRCA1, les deux domaines BRCT sont connectés par une charnière de 23 acides aminés. Le premier domaine (BRCT1)

Rappels bibliographiques

correspondant aux acides aminés 1646 à 1736 et le deuxième (BRCT2) aux acides aminés 1760 à 1855. Les tandems BRCT interagissent avec des phosphoprotéines. La séquence consensus minimale liée à un tandem BRCT est constituée de quatre résidus (pS/pT-X-X-X) dans laquelle le résidu en +3 est responsable de l'essentiel de la spécificité de liaison. Le tandem BRCT de BRCA1 reconnaît une phospho-Sérine suivie d'une Phénylalanine en +3 [2] [23].

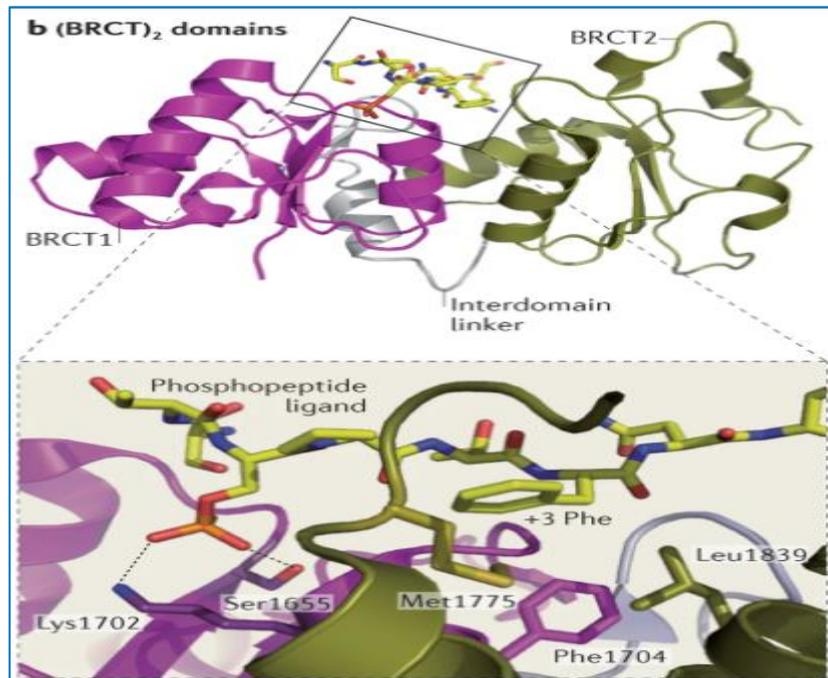


Figure 5 : Domaines BRCT tandem de BRCA1 en structure tridimensionnelle
<https://www.nature.com/articles/nrm3640/figures/4>

- **La région centrale de BRCA1 :**

Elle est également la région désordonnée de la protéine (intrinsically disordered ID). Il a été rapporté qu'elle permet l'interaction de BRCA1 avec plusieurs protéines contribuant à son rôle suppresseur de tumeur (p53, BRCA2 etc.). Cette région contient aussi une partie d'un domaine appelé le « Serine Cluster Domain », présumé riche en sites de phosphorylations pour les kinases ATM et ATR [2].

La protéine BRCA1 est considérée comme une protéine nucléocytoplasmique puisqu'elle contient deux séquences d'export nucléaire NES (Nuclear Export Sequence) dans la région N-terminale de BRCA1 (NES1 : aa 22 à 30, NES2 : aa 81 à 99) et deux signaux de localisation nucléaire NLS (Nuclear Localization Signal) codés par l'exon 11 (NLS1 : aa 503 à 508 et NLS2 : aa 606 à 615) [2].

La protéine BRCA1 possède de nombreuses fonctions qui s'exercent dans le noyau et dans le cytoplasme. La spécificité de ses fonctions dépend des partenaires avec lesquels elle interagit dans les deux compartiments (noyau ou cytoplasme) [2].

b. Fonctions de la protéine BRCA1

On va citer brièvement quelques fonctions de la protéine BRCA1. On peut les classer en deux types :

➤ **Fonctions nucléaires de BRCA1**

▪ **Intégrité du génome**

L'interaction de BRCA1 avec PALB2 et BRCA2 semble requise pour la localisation de ces deux dernières et de RAD51 aux niveaux des sites de cassures d'ADN double-brin. Cette interaction est donc importante pour la réparation de l'ADN par recombinaison homologue (HR).

La protéine BRCA1 participe aussi aux points de contrôle du cycle cellulaire G1/S, intra-S, G2/M. [2]

- * **Point de contrôle G1/S** : il a été montré que BRCA1 est nécessaire à la phosphorylation de p53 par la kinase ATM ou ATR (ATM Related). Une fois phosphorylé, p53 va permettre la transcription d'un autre gène et induire l'arrêt du cycle cellulaire [2].
- * **Point de contrôle intra-S** : le complexe BRCA1-B formé par l'interaction de BRCA1 avec les protéines BACH1 (BRCA1-Associated C-terminal Helicase 1) et TopBP1 (Topoisomerase (DNA) II Binding Protein 1) va participer à l'activation du point de contrôle intra-S [2].
- * **Point de contrôle G2/M** : le complexe BRCA1 – RAP80 active la signalisation du point de contrôle G2/M. BRCA1 qui est recrutée spécifiquement par RAP80 favorise la phosphorylation de Checkpoint kinase 1 (CHK1) après l'activation du point de contrôle G2/M [2].

- **Stabilité du génome**

BRCA1 forme de multiples complexes transcriptionnels qui contribuent à la stabilité du génome. La protéine BRCA1 pourrait utiliser sa liaison à l'ARN pol II pour permettre la transcription de certains gènes, et lorsque cette machinerie transcriptionnelle rencontre de l'ADN endommagé, BRCA1 permet la dégradation/dissociation de la machinerie de transcription en cours et facilite l'accès à la machinerie de la réparation de l'ADN.

BRCA1 est ainsi capable de réguler positivement ou négativement la transcription d'un même gène en fonction des facteurs de transcription avec lesquels elle s'associe [2].

- **Co-activateur ou co-inhibiteur**

BRCA1 co-active la transcription des gènes :

✓ **Exemple de p53** : BRCA1 interagit avec p53 au niveau de l'extrémité N-terminale et C-terminal de BRCA1. Elle stabilise p53 et augmente son activité transcriptionnelle à partir de promoteurs de réponse à p53. En outre, BRCA1 semble moduler la transcription de quelques gènes cibles de p53 en réponse à des lésions de l'ADN [2].

BRCA1 co-inhibe la transcription des gènes :

✓ **Exemple de ER α** : La partie N-terminale de BRCA1 permettrait son interaction avec ER α tandis que son domaine C-terminal serait porteur de l'activité répressive. Ainsi BRCA1 réprime l'expression d'un certain nombre de gènes régulés par ER α , tels que le facteur de croissance endothélial vasculaire, une protéine impliquée dans la croissance tumorale et l'angiogenèse [2].

➤ **Fonctions cytoplasmiques de BRCA1**

Parmi les fonctions cytoplasmiques du BRCA1 :

- **La protéine BRCA1 module l'apoptose**

Il a été montré que BRCA1 peut induire l'apoptose lorsqu'elle est surexprimée via l'activation de GADD45 dont BRCA1 est un cofacteur transcriptionnel. Cela induirait l'apoptose dans les cellules de façon dépendante de l'activation de JNK/SAPK (c-Jun N-terminal Kinase/Stress-Activated Protein Kinase) activée en amont par GADD45 [2] [20].

▪ BRCA1 contrôle la traduction de certains ARNm

Les études ont permis de mettre en évidence l'interaction de BRCA1 via son domaine BRCT avec la protéine de liaison au poly(A) des ARN messagers, PABP1 (Poly(A)-Binding Protein 1) [2].

➤ Fonctions des exons 11 et 13

Les exons BRCA1 11-13 ont plusieurs fonctions et couvrent plus de 65% de la séquence de BRCA1. Les acides aminés codés par les exons BRCA1 11-13 ont des domaines de liaison pour plusieurs protéines dont le rétinoblastome (Rb), Rad 50, Rad51, c-Myc et PALB2 (un échafaudage pour BRCA2). Les exons BRCA1 11-13 contiennent également un signal de localisation nucléaire (NLS) et un domaine de grappe de sérine (SCD) (fig.6).

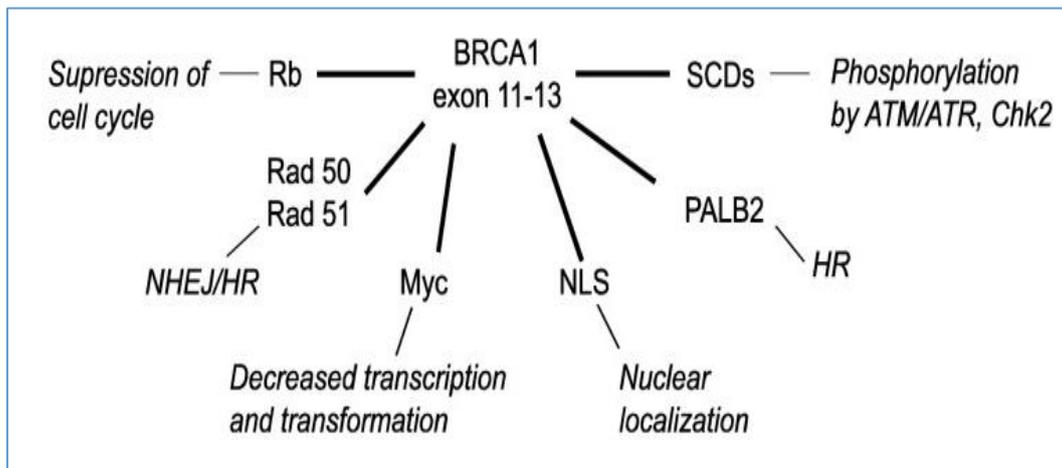


Figure 6 : Fonctions des exons 11 et 13 du gène BRCA1
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3380633/>

7.3.2. Gène BRCA2

Le gène BRCA2 (BREast CAncer 2) est considéré comme un gène majeur de la prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire. Il est localisé sur le chromosome 13 en position 13q12-13. Il s'étend sur 84 kb et est constitué de 27 exons (fig.7) (dont 26 sont codants). Il possède un exon 11 de très grande taille qui représente 48% de la séquence codante pour BRCA2. Il possède une séquence codante de 10.2 kb dont l'exon 11 de 4.9 kb. Chez l'Homme, le transcrit BRCA2 est exprimé préférentiellement dans le thymus et les testicules mais également dans de nombreux tissus tels que le sein et l'ovaire [17].

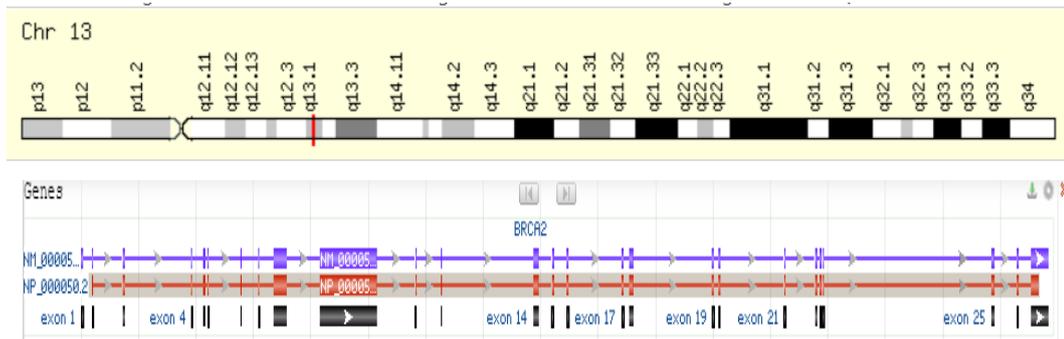


Figure 7 : Localisation cytogénétique du gène BRCA2

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/675>

a. Protéine BRCA2

La protéine BRCA2 est composée de 3418 AA avec une masse moléculaire de 384 kDa, elle possède plusieurs domaines (figure8).

- * Dans la partie N-terminale, elle a un site de liaison à l'ADN simple brin.
- * Dans la partie centrale, elle possède 8 domaines BRC répétés (pour BRCA2-repeats) codés par l'exon 11 qui s'étendent sur 1000 AA et chaque domaine BRC étant composé d'environ 70 AA. La séquence et l'espacement des répétitions BRC sont conservés chez les mammifères. Ces répétitions lient la recombinase RAD51 avec différentes affinités en imitant la structure de la sous-unité RAD51 à son interface de polymérisation [12] [17].
- * Dans la partie carboxy-terminale de la protéine, il existe plusieurs domaines distincts :
 - Un **domaine hélicoïdal** de 190 AA qui a la particularité de se lier au polypeptide DSS1 (Deleted In Split Hand/Split Foot Protein 1) et qui augmenterait la solubilité de la protéine [17].
 - Trois **structures répétées** d'environ 110 AA (OB1, OB2 et OB3) qui présentent une homologie de structure avec les domaines OB-fold (Oligonucleotide / Oligosaccharide-Binding) présents chez la plupart des eucaryotes et procaryotes. Ces domaines OB-fold sont retrouvés dans les protéines de liaison à l'ADN simple brin comme les SSB (ssDNA-binding protein) ou RPA (replication protein A) [12] [17].

- Le *domaine en tour* « *Tower Domain* », en rapport avec sa structure tridimensionnelle en forme de tour, une séquence de 130 AA qui s'étend du domaine OB2, capable de se lier à l'ADN double brin [12] [17].
- En plus des domaines BRC de la partie centrale, un second *site de liaison à la protéine RAD51* est présent en C-terminal. Ce site contient la Sérine3291, qui selon son état de phosphorylation par la Cdk (cyclin dependent kinase), module la liaison de RAD51 à ce dernier [17].
- *Deux signaux de localisation nucléaire NLS* (nuclear localization sequence), NLS1 (aa 3266 à 3270) et NLS2 (aa 3311 à 3316) [17].

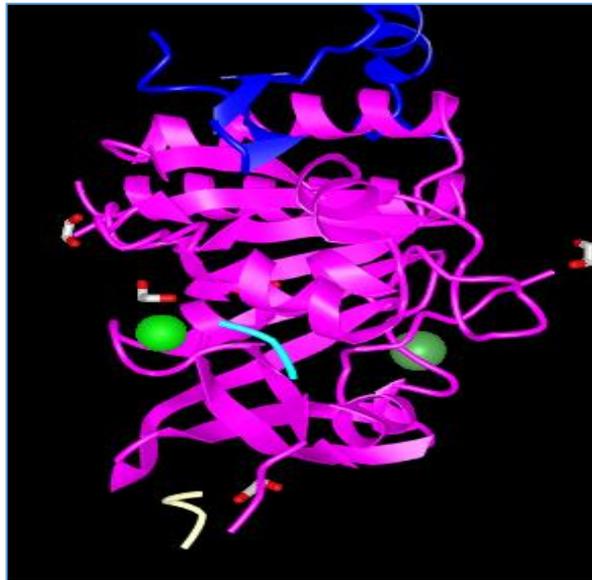


Figure 8 : Structure cristalline tridimensionnelle de la protéine BRCA2
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/full.html?showanno=1&mmdbid=183411>

b. Rôles de la protéine BRCA2

La protéine BRCA2 semble impliquée dans la détection et/ou la réparation des lésions de l'ADN, en particulier dans la recombinaison homologue. Ces rôles la font considérer comme « caretaker » car elle a la charge de contrôler et de maintenir l'intégrité du génome [17].

On va citer brièvement quelques fonctions de la protéine BRCA2 selon les partenaires avec lesquels elle interagit.

Le partenaire privilégié de BRCA2 est la protéine recombinaise RAD51 qui est connue pour intervenir dans la réparation des cassures double brin de l'ADN et dans la recombinaison homologue HR. BRCA2 interagit directement avec RAD51 par l'intermédiaire de ces différents sites de fixation (domaines BRC et domaine C-terminal), et elle assurerait la localisation de RAD51 aux sites de cassure de l'ADN [17].

Un second partenaire de BRCA2 est la protéine DSS1. Plusieurs études ont révélé que la DSS1 module la fonction de BRCA2, elle améliore la stabilité de BRCA2, contrôle sa transition monomère-dimère et module l'interaction BRCA2 – RAD51 [12] [17].

Par sa région N-terminal, BRCA2 interagit ainsi avec PALB2. Cette dernière contrôle la localisation de BRCA2 et maintient sa stabilité au niveau de la chromatine. Elle semble être critique pour les fonctions de BRCA2 corrélées à la réparation de l'ADN, aussi à l'activation du point de contrôle en phase S. Il est important de noter que le complexe BRCA1 – PALB2 – BRCA2 est essentiel pour la réparation de la rupture double brin de l'ADN par recombinaison homologue (HR). Les trois protéines peuvent jouer un rôle significatif à la fois dans l'activation et le maintien du point de contrôle [17] [18].

BRCA2 se lie et stabilise MAGE-D1 (Melanoma Antigen Family D1), un membre de la famille des gènes MAGE. L'expression de BRCA2 et MAGE-D1 supprime de manière synergique la prolifération cellulaire indépendamment de la voie p53 [5] [17].

7.3.3. Gène PALB2

Le gène PALB2 (Partner and Localizer of BRCA2), mis en évidence chez des enfants atteints d'anémie de Fanconi, est également associé à une prédisposition génétique au cancer du sein. Ce gène est localisé sur le chromosome 16 en position 16p12.2. Il comporte 13 exons répartis sur un locus génomique de 38,2 kb [6][14] (fig.9).

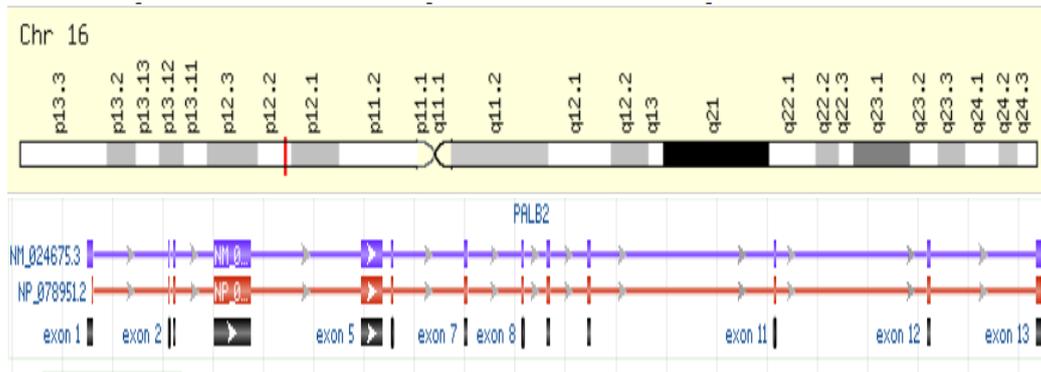


Figure 9 : Localisation cytogénétique du gène PALB2
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/79728>

a. Protéine PALB2

La protéine PALB2 est composée de 1186 AA avec une masse moléculaire de 130 kDa (fig.10). Elle possède au niveau de son extrémité N-terminale un domaine coiled-coil (super-hélice) qui permet son interaction avec BRCA1, ainsi qu'un premier domaine de liaison à l'ADN. C'est au niveau de celui-ci que PALB2 pourra interagir avec les protéines KEAP1 et RAD51. Cette région permet aussi la multimérisation de PALB2.

Au niveau central de la protéine se trouve un motif d'association à la chromatine ou ChAM, un deuxième domaine de liaison à l'ADN et enfin un domaine de liaison à MRG15 (MORF-Related Gene on chromosome 15).

Au niveau de son extrémité C-terminale se situe le domaine WD40, une plateforme essentielle pour la fonction de PALB2 dans la recombinaison homologe puisqu'elle permet son interaction avec les protéines BRCA2 et RAD51 [6].

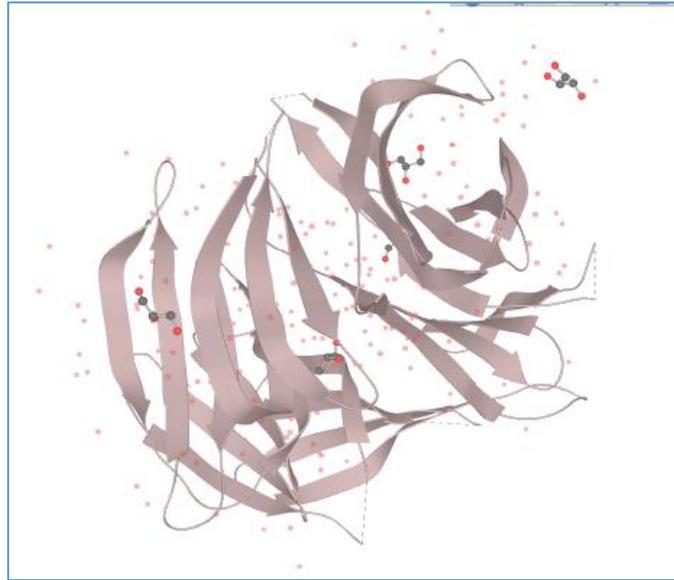


Figure 10 : Structure tridimensionnelle de la protéine PALB2
<https://ebi10.uniprot.org/uniprot/Q86YC2>

b. Rôles de la protéine PALB2

Les fonctions de la protéine PALB2 sont multiples. Elle peut jouer le rôle de :

- **Médiateur de la réparation des cassures double-brin par recombinaison homologue**

Lorsqu'il y a formation d'une cassure double-brin de l'ADN, PALB2 forme un complexe BRCA1-PALB2-BRCA2. En conséquence, BRCA1 est responsable de la localisation du complexe à la cassure double-brin qui permet à PALB2 et BRCA2 de stimuler la formation du filament de RAD51 sur l'ADN simple-brin fraîchement formé, puis l'étape d'invasion de la recombinaison homologue [3][6].

- **Contrôle de l'homéostasie**

PALB2 interagit avec le censeur de stress oxydatif KEAP1 (Kelch Like ECH Associated Protein 1) au niveau de sa région N-terminale. Cette interaction permet à PALB2 de diminuer le stress oxydatif dû à la formation de ROS et de protéger ainsi le génome.

- **Protecteur contre le stress répliatif**

MRG15 reconnaît et lie les marques H3K36me3 situées au niveau des gènes activement et hautement transcrits. Cette liaison permet à MRG15 de recruter PALB2 au niveau de ces gènes afin de les protéger contre le stress répliatif [6].

7.3.4. Interactions BRCA1-PALB2-BRCA2

Les protéines interagissant avec BRCA1, PALB2 ou BRCA2 sont indiquées en dessous des domaines correspondants. Les flèches indiquent les interactions entre BRCA1, PALB2 et BRCA2. Les sites de phosphorylation sont indiqués par les cercles orange [3].

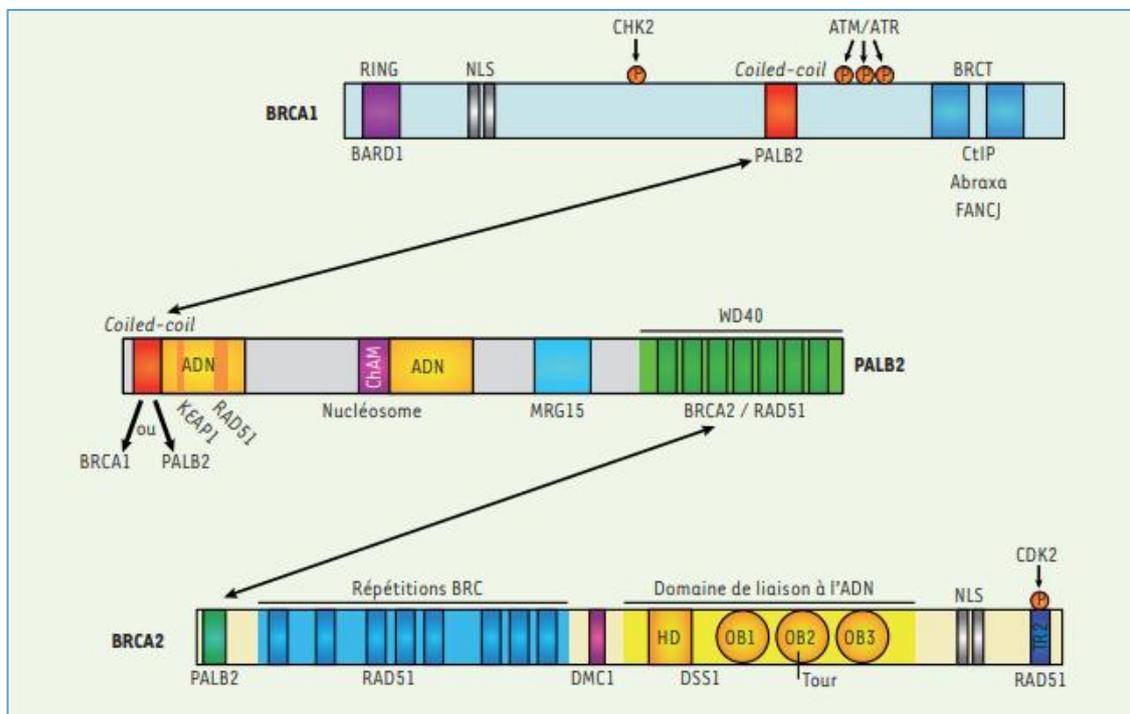


Figure 11 : Organisation des domaines fonctionnels des protéines BRCA1, PALB2 et BRCA2

<https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/pdf/2013/04/medsci2013293p301.pdf>

Ce présent travail est une étude *in silico* réalisée pendant une période de 6 mois, du mois février 2020 au mois d'août 2020.

Rappelons que cette thématique a été proposée par Mme Eddaikra et dont l'objectif principal est l'étude du polymorphisme des mutations chez la femme Algérienne atteinte du cancer du sein. Cette étude a été réalisée en utilisant les bases de données génomiques et les outils bioinformatiques Open Source.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique *in silico*

Les identifiants (numéros d'accessions) et les sources des séquences nucléotidiques transcrites Refseq gene des gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 » impliqués dans le cancer du sein sont représentés dans le tableau ci-dessous (tableau II). Ces séquences sont stockées dans des bases de données à accès libre (Open Source).

Table II : les gènes de prédisposition génétique au cancer du sein chez la femme algérienne

Séquences Refseq gene	Format	Localisation cytogénique	Nombre d'exons	N° d'accession	Type de séquence	Pb	Base de données et URL
BRCA1	FASTA	Chr17 17q21.31	24 exons	NG_005905.2	ADN linéaire	193689	NCBI https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/262359905
BRCA2	FASTA	Chr13 13q13.1	27 exons	NG_012772.3	ADN linéaire	91193	NCBI https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/388428999
PALB2	FASTA	Chr16 16p12.2	13 exons	NG_007406.1	ADN linéaire	45196	NCBI https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/167860127

1.2. Matériel non biologique

Pour la recherche des mutations impliquées dans le cancer du sein chez la femme algérienne, nous avons utilisé des interfaces web, des logiciels, des logiciels qui se basent sur des algorithmes. Ces outils bioinformatiques sont répertoriés dans le tableau III.

Table III : les bases de données bioinformatiques

Bases de données	But d'utilisation	URL
NCBI	Recherche des informations et des séquences	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/
ClinVar	Recherche des rs	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/
LitVar	Recherche des rs	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=
VarSome	Recherche et visualisation des variants	https://varsome.com/
Ensembl	Recherche des variants	https://www.ensembl.org/index.html
UCSC	Visualisation des variants	https://genome.ucsc.edu/
SNPedia	Recherche des variants	https://www.snpedia.com/index.php/SNPedia
ExpASy	Modélisation des protéines	https://www.expasy.org/

2. Méthodes

Le protocole de notre étude est schématisé par l'organigramme présenté par la figure 12 ci-dessous.

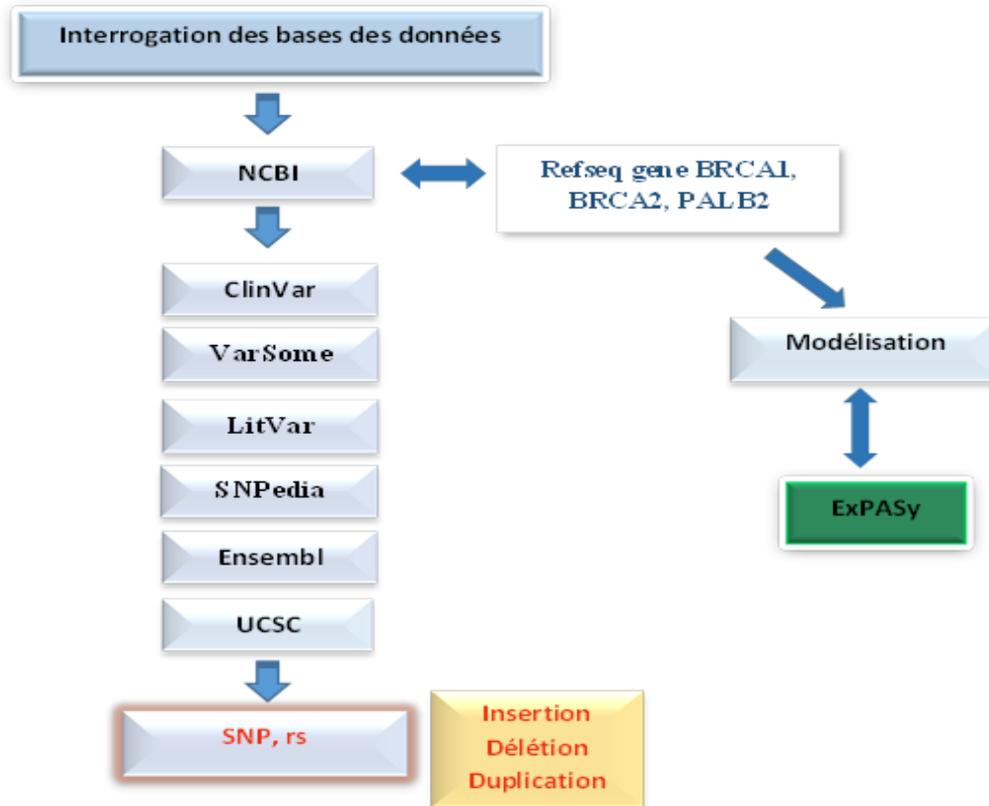


Figure 12 : Méthode de recherche des SNP du cancer du sein chez la femme algérienne

2.1. Outil NCBI

Principe : L'initiation de notre travail a sollicité l'interrogation de la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information). C'est une base de données d'information de littérature biomédicale et de biomolécule. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Méthode : Le lien (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site NCBI. Par la suite, nous introduisons notre mot clé caractérisé par le symbole des gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 » dans l'onglet « recherche ». Nous allons choisir l'onglet « Refseq gene, Homo sapiens ». Une autre page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur le gène d'intérêt (figure 13).

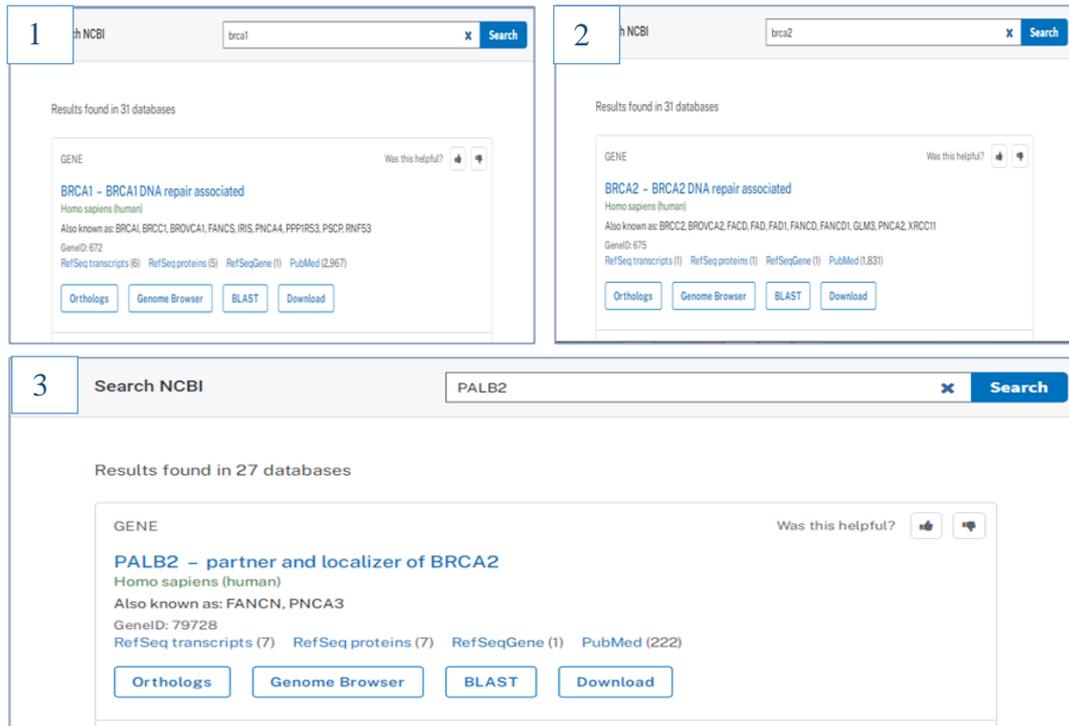


Figure 13 : Méthode de recherche sur NCBI
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

2.2. Outil Clinvar

Principe : ClinVar est une base de données publique d'interprétations des variants, elle regroupe des informations sur la variation génomique et elle permet de connaître le rapport sur les relations entre les variations et les phénotypes humains.
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)

Méthode : Le lien (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site ClinVar. Par la suite, nous introduisons notre mot clé caractérisé par le symbole des gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 » avec la mutation qui lui correspond dans l'onglet "recherche". Une page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur le SNP du gène d'intérêt. Cette base de données nous a permis de détecter le rsID de chaque mutation.

1 ClinVar

as it relates to human health

BRCA1 c.3548A>G

Search ClinVar

Advanced search

About Access Submit Stats FTP Help

Was this helpful?

Follow Print Download

NM_007294.4(BRCA1):c.3548A>G (p.Lys1183Arg)

Cite this record

Interpretation: Benign

Review status: ★★★★ reviewed by expert panel

Submissions: 25 (Most recent: May 3, 2020)

Last evaluated: Aug 10, 2015

Accession: VCV00041818.7

Variation ID: 41818

Description: single nucleotide variant

Variant details

NM_007294.4(BRCA1):c.3548A>G (p.Lys1183Arg)

Conditions

Allele ID: 50257

Variant type: single nucleotide variant

Variant length: 1 bp

Cytogenetic location: 17q21.31

Genomic location: 17:43091983 (GRCh38) GRCh38 UCSC
17:41244000 (GRCh37) GRCh37 UCSC

HGVIS: **2**

Nucleotide	Protein	Molecular consequence
NC_000017.10:g.41244000T>C		
NC_000017.11:g.43091983T>C		
NM_007294.4:c.3548A>G	NP_009225.1:p.Lys1183Arg	missense

... more HGVIS

Protein change: K1183R

Other names: 3667A>G

Canonical SPDI: NC_000017.11:43091982:T:C

Functional consequence: -

Global minor allele frequency (GMAF): 0.35264 (C)

Allele frequency: NHLBI Exome Sequencing Project (ESP) Exome Variant Server 0.29525
Exome Aggregation Consortium (ExAC) 0.34901
Trans-Omics for Precision Medicine (TOPMed) 0.30133
1000 Genomes Project 0.35264
The Genome Aggregation Database (gnomAD), exomes 0.35268
The Genome Aggregation Database (gnomAD), genomes 0.31548

Links: BRCA1-HCI: BRCA1_00010
ClinGen: CA002269
UniProtKB: P38398#VAR_007783
dbSNP: rs116942

Figure 14 : Méthode de recherche sur ClinVar
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>

2.3. Outil VarSome

Principe : C'est un moteur de recherche, un agrégateur et un outil d'analyse d'impact pour la variation génétique humaine et un projet communautaire visant à partager l'expertise mondiale sur les variantes humaines (<https://varsome.com/>).

Méthode : Le lien (<https://varsome.com/>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site VarSome. Par la suite, nous introduisons notre mot clé caractérisé par le symbole des gènes « BRCA1, BRCA2 et PALB2» suivi par la mutation qui lui convient, ou le rsID dans l'onglet « recherche». Une autre page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur la mutation d'intérêt (fig 15).

1 rs80357728

hg19 Search

Editions - About - Community - Blog

chr17-41267793-CA- (BRCA1p.L28Rfs*12)

Link a publication Classify Community contributions Favorites

Chromosome	Position	REF Sequence	ALT Sequence	Variant type	Cytoband	HGVIS	RS ID
chr17	41267793	CA	-	Deletion	17q21.31	BRCA1[NM_007294.4]:c.83_84delTG (p.Leu284ArgfsTer12)	rs80357728 (P:rs80357728)

Gene symbol: BRCA1

This variant has been viewed 18 times on VarSome.

Connect with past and future viewers of this variant.

ACMG Classification - Educational use only Version 8.3a

Terms of use Documentation Options

Verdict: **Pathogenic**

Feedback Cite VarSome

2

Genomic context visualization showing the BRCA1 gene structure and the location of the variant (NM_007294.4: c.83_84delTG) on chromosome 17.

Transcripts: NM_007294.4: c.83_84delTG

Protein regions: NP_009225.1: p.Lys1183Arg

Pathogenicity: Pathogenic

Figure 15 : Méthode de recherche sur VarSome
<https://varsome.com/>

2.4. Outil LitVar

Principe: C'est une base de données qui permet la recherche et la récupération d'informations sur les variants de littérature biomédicale. Les résultats LitVar sont automatiquement extraits (avec des mises à jour régulières) de plus de 30 millions d'articles PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=>).

Méthode :

Le lien (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site LitVar. Par la suite, nous introduisons notre mot clé caractérisé par le symbole des gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 » avec la mutation qui lui convient ou le rsID dans l'onglet "recherche". Une autre page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur la mutation d'intérêt (fig 16).

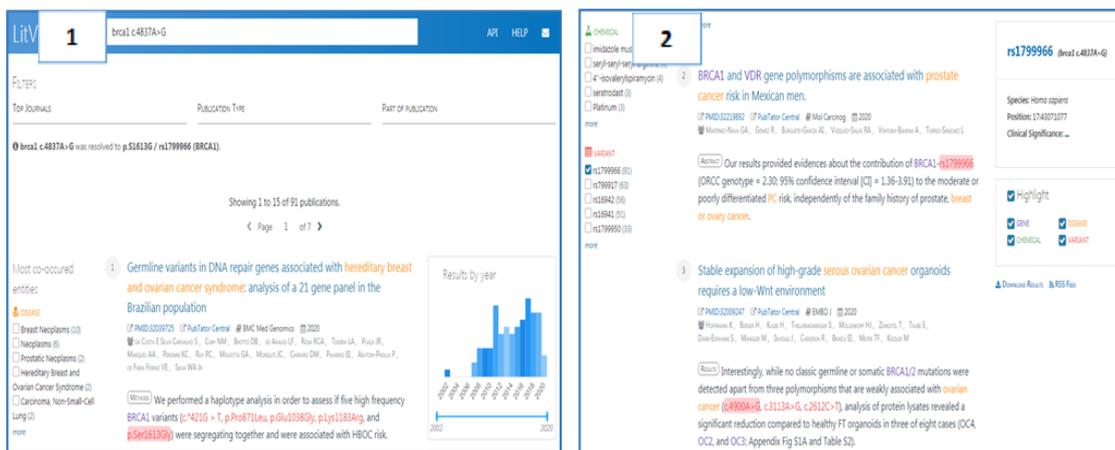


Figure 16 : Méthode de recherche sur LitVar

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/CBBresearch/Lu/Demo/LitVar/#!?query=>

2.5. Outil SNPedia

Principe : SNPedia est un site Web de bioinformatique basé sur wiki qui sert de base de données sur les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) (<https://snpedia.com/>).

Méthode : Le lien (<https://snpedia.com/>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site SNPedia. Par la suite, nous introduisons le rsID dans l'onglet "recherche". Une autre page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur la mutation d'intérêt (fig 17).

The screenshot shows the SNPedia website interface. On the left, a search bar contains 'rs80357871'. Below it, the variant details for rs80357871 are displayed, including its location on chromosome 17 and its association with the BRCA1 gene. A table shows the variant's frequency in ClinVar, with three entries: a common variant (0), and two pathogenic variants (6 each). On the right, a table lists various database references for the variant, such as GRCh38, dbSNP, ClinGen, and others.

Reference	Value
GRCh38	38.1/141
Chromosome	17
Position	43093405
Gene	BRCA1
is a	snp
is mentioned by	
dbSNP	rs80357871
dbSNP (classic)	rs80357871
ClinGen	rs80357871
ebi	rs80357871
HLI	rs80357871
Exac	rs80357871
Gnomad	rs80357871
Varsome	rs80357871
LitVar	rs80357871
Map	rs80357871
PheGenI	rs80357871
Biobank	rs80357871
1000	rs80357871

Figure 17 : Méthode de recherche sur SNPedia <https://www.snpedia.com/>

2.6. Outil Ensembl

Principe: Ensembl est un explorateur de génomes des vertébrés qui soutient la recherche en génomique comparative, l'évolution, les variations des séquences et la régulation transcriptionnelle. Ensembl annote les gènes, calcule plusieurs alignements, prédit la fonction de régulation et regroupe des données sur les maladies (<https://www.ensembl.org/index.html>).

Méthode : Le lien (<https://www.ensembl.org/index.html>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site Ensembl. Par la suite, nous choisissons l'espèce humaine et nous introduisons notre mot clé caractérisé par le symbole des gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 » dans l'onglet "recherche".

Nous obtenons des résultats, nous choisissons celle du génome humain. Une page va s'ouvrir indiquant toutes les informations sur le gène d'intérêt (fig 18).

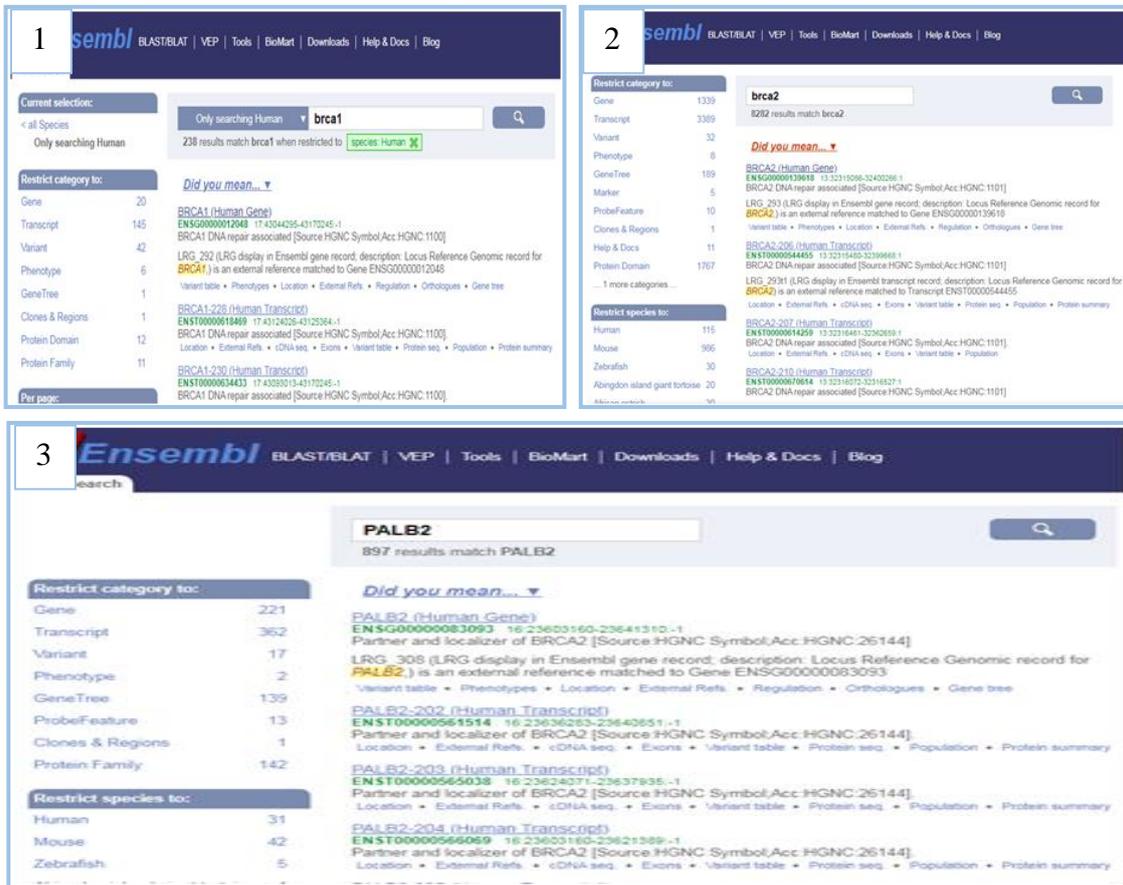


Figure 18 : Méthode de recherche sur Ensembl
<https://www.ensembl.org/index.html>

2.7. Outil ExpASY

Principe : ExpASY c'est la SIB Bioinformatics Resource Portal qui donne accès aux bases de données scientifiques et aux logiciels des différents domaines des sciences de la vie, y compris la protéomique, la génomique, la phylogénie, la biologie des systèmes, la génétique des populations. Parmi ces ressources bioinformatiques : SWISS-MODEL, qui nous permet de faire la modélisation.

Méthode : Le lien (<https://www.expasy.org>) nous permet d'accéder sur la page d'accueil du site ExpASY, par la suite nous cliquons à droite de la page d'accueil sur SWISS-MODEL. Une page va s'ouvrir, nous cliquons sur « Start Modeling ». Une autre page va s'afficher, nous introduisons la séquence fasta ou la séquence d'acides aminés du gène et pour la dernière étape nous cliquons sur « Build Model ».

En quelques minutes nous obtiendrons la protéine en 3D (fig19).

The figure displays two screenshots of the ExPASy and SWISS-MODEL web interfaces. The top-left screenshot (labeled '1') shows the ExPASy Bioinformatics Resource Portal with a search bar and a list of categories. The top-right screenshot (labeled '2') shows the SWISS-MODEL 'Start a New Modelling Project' page, where a target sequence is entered and the 'Build Model' button is highlighted. The bottom screenshot shows the 'Model Results' page for an 'Untitled Project', displaying a 3D ribbon diagram of the protein structure, quality estimates (QMEAN, CP, All Atom, solvation, torsion), and a table of template information.

Template	Seq Identity	Coverage	Description
4y2g_1.A	100.00%		Breast Cancer type 1 susceptibility protein Structure of BRCA1 BRCT domains in complex with Abraxas single phosphorylated peptide

Figure 19 : Résultats de modélisation sur ExPASy
<https://www.expasy.org/>

1. Résultats

Les résultats que nous avons obtenu se présentent comme suit :

1.1. Résultats de l'outil NCBI

L'interrogation de la base de données « NCBI » nous a permis d'obtenir les informations associées aux gènes humains « BRCA1, BRCA2, PALB2 » (tableau IV). Les résultats de la recherche montrent que ces gènes humains « BRCA1, BRCA2, PALB2 » sont caractérisés par un profil polymorphique caractérisé par un très grand nombre de SNPs. Ces derniers incluent des SNP codants incluant les SNPs synonymes et non synonymes. Cependant, le reste des SNPs forment la partie non codante.

Tableau(IV) : Références Genbank « NCBI » des gènes humains BRCA1, BRCA2 et PALB2

	NCBI		
	BRCA1	BRCA2	PALB2
Nature	Nucléotide	Nucléotide	Nucléotide
Organisme	<i>Homo sapiens</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Homo sapiens</i>
Locus	NG_005905	NG_012772	NG_007406
bp	193689 bp	91193 bp	45196 bp
ARNm	Linéaire	Linéaire	Linéaire
Accession	NG_005905.2	NG_012772.3	NG_007406.1
Localisation cytogénétique	17q21.31	13q13.1	16p12.2
Synonymes	IRIS; PSCP; BRCAI; BRCC1; FANCS; PNCA4; RNF53; BROVCA1; PPP1R53	FAD; FACD; FAD1; GLM3; BRCC2; FANCD; PNCA2; FANCD1; XRCC11; BROVCA2	FANCN; PNCA3
Nom	BRCA1 DNA repair associated	BRCA2 DNA repair associated	partner and localizer of BRCA2
Nbr d'exons	24	27	13
Nbr de SNP	26248	28492	11850

1.2. Résultats de l'outil VarSome

La base de données « VarSome » nous a permis d'obtenir les informations sur les RS associés aux gènes « BRCA1, BRCA2, PALB2 ». Les SNPs en rouge représentent les SNPs de classe pathogénique, en vert de classe bénigne et les points en noir sont des SNPs de signification incertaine.

Nos résultats suggèrent que :

- Les SNPs recherchés sont de classe pathogénique ou avec une signification incertaine.
- L'exon 10 du gène **BRCA1** est caractérisé par un très grand nombre de SNP (fig.19).
- Le **rs28897672** et **rs80357728** sont positionnés respectivement dans l'exon 4 et l'exon 3 dans une partie qui code pour le domaine de doigt de zinc de la protéine (Fig.20).

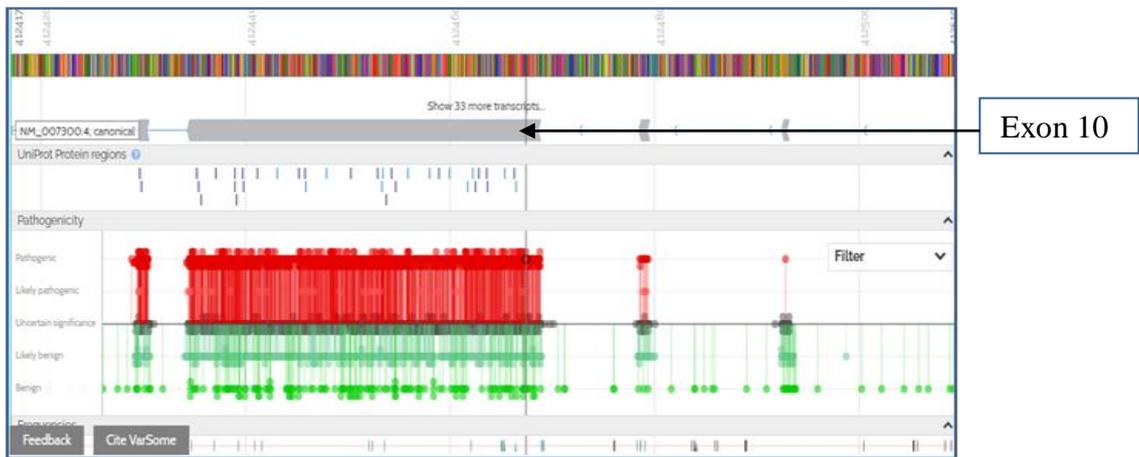


Figure 20 : L'exon 10 de BRCA1

<https://varsome.com/gene/brca1>



Figure 21 : Résultat de la visualisation du positionnement du rs28897672 sur VarSome

<https://varsome.com/variant/hg19/rs28897672>

Résultats et discussion

- L'exon 11 du gène BRCA2 est l'exon le plus long, caractérisé par un très grand nombre de SNP (fig.21)



Figure 22: Résultat de la visualisation de l'exon 10 et 11 du BRCA2
<https://varsome.com/gene/brca2>

- Nos résultats ont montré un seul SNP du gène PALB2 dans la population algérienne, qui a été identifié dans l'exon 3 en 2019. Ce dernier est localisé dans la partie du gène qui code pour le domaine coiled-coil, qui permet l'interaction avec BRCA1, RAD51 et permet aussi l'oligomérisation de PALB2.



Figure 23 : Résultat de la visualisation de l'exon 3 de PALB2
<https://varsome.com/gene/palb2>

1.3. Résultats de l'outil UCSC

Le navigateur UCSC nous a permis de visualiser les SNPs communs (fig.23 et 24). Ces deux figures montrent une piste des « rs » représentée par les numéros d'accessions des SNPs communs et des SNPs associées à des études cliniques.

La piste des rs montre aussi que les SNPs codants non synonymes (rouge) et les SNPs codants synonymes (vert) et les SNPs des régions ironiques (noir) sont distribués sur toute la longueur des gènes « BRCA1, BRCA2 »

Les résultats qu'on a obtenu pour les gènes « BRCA1, BRCA2 » sont affichés en rouge, ce sont des SNPs codants non synonymes.

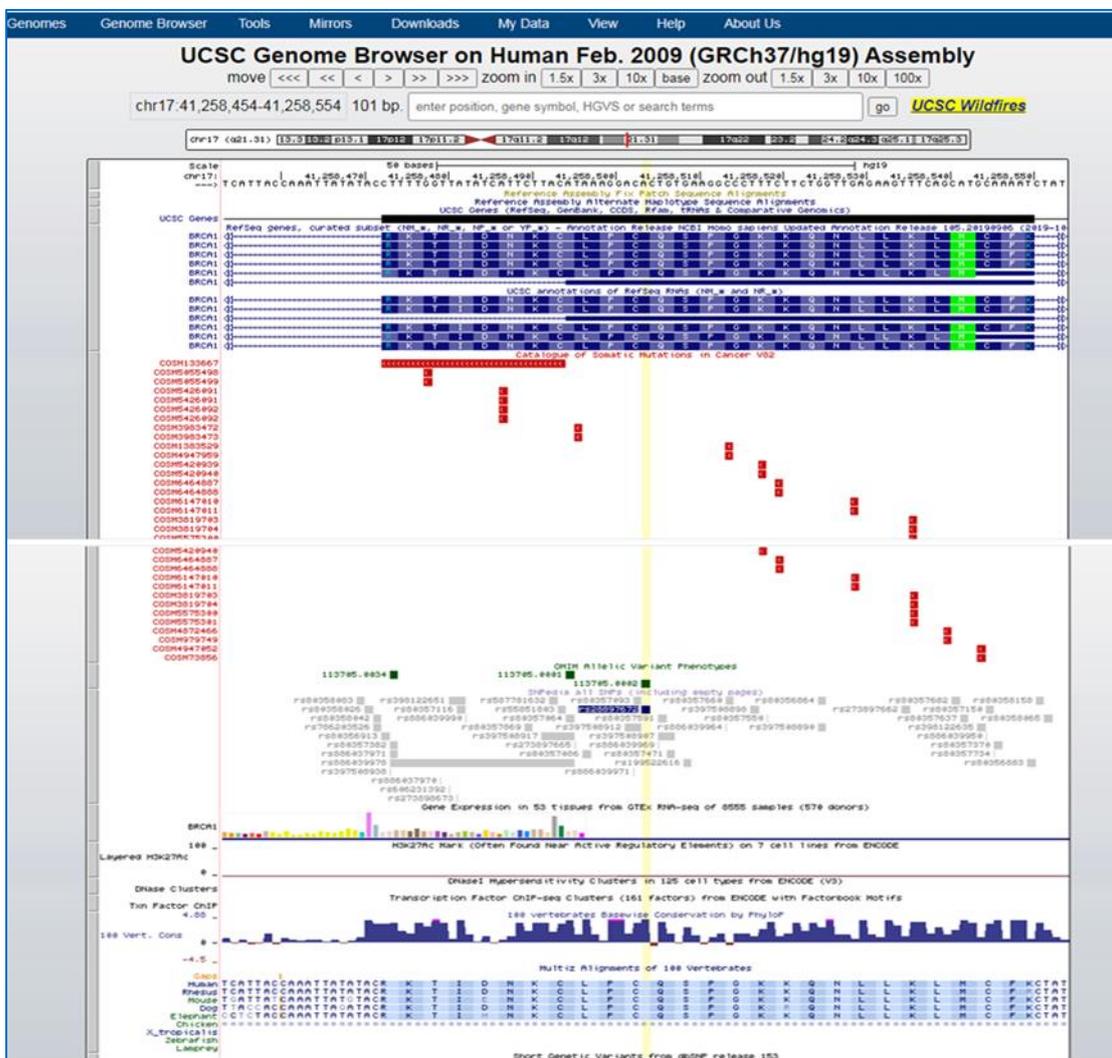


Figure 24 : Résultats de la visualisation des variations SNPs du gène « BRCA1 » du navigateur de génome d'UCSC

https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg19&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr17:3A41258454%2D41258554&hgid=893042555_YpBRUQyuivGCKqPaYYFXUQpICKjC

Résultats et discussion

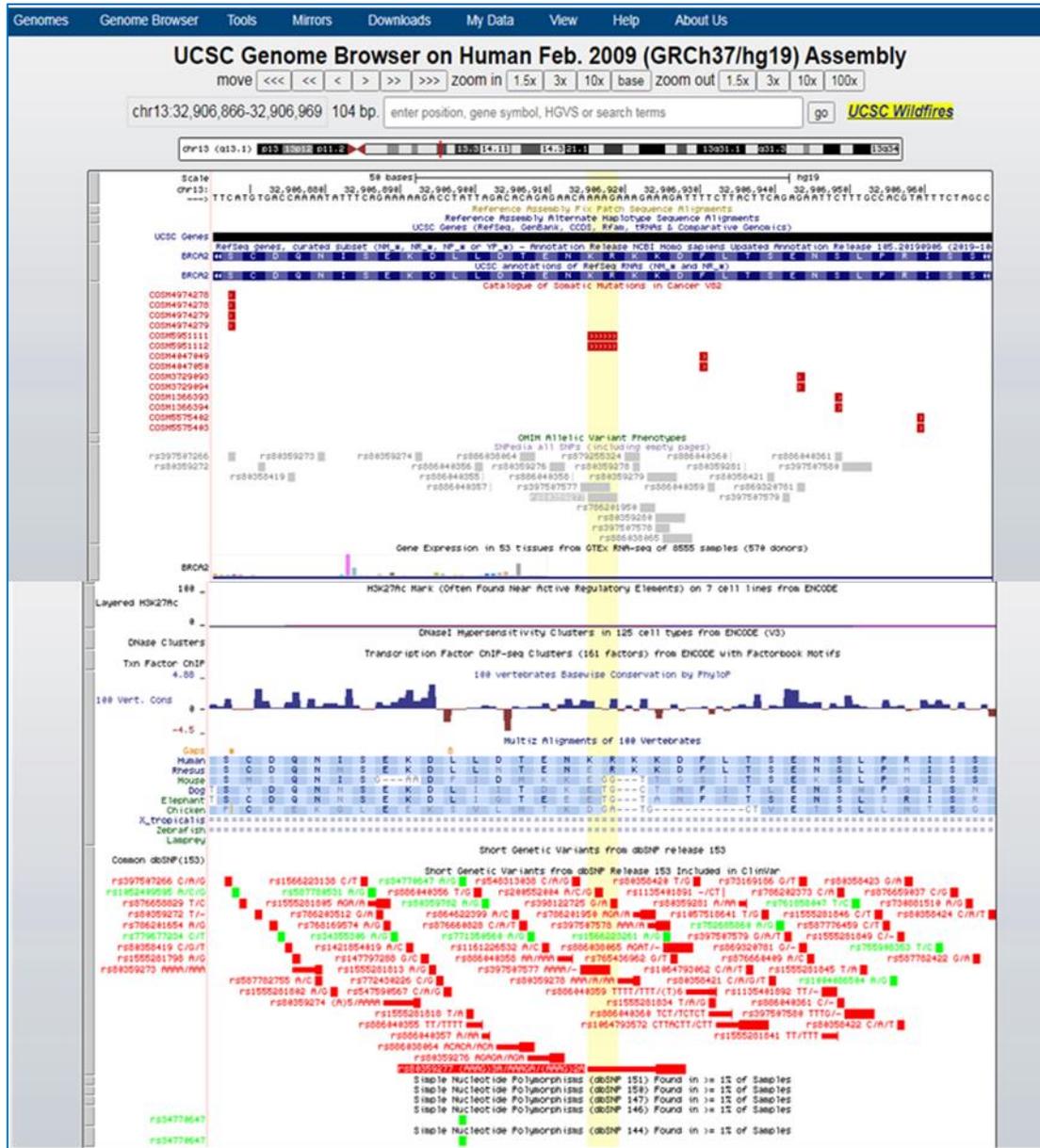


Figure 25 : Résultats de la visualisation des variations SNPs du gène « BRCA2 » du navigateur de génome d'UCSC

https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg19&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr13%3A32906866%2D32906969&hgside=893042555_YpBRUQyuivGCKqPaYFXUQpICKjC

1.4. Synthèse des mutations

Les outils bioinformatiques que nous avons utilisé nous ont permis de rassembler nos résultats dans le tableau ci-après :

Résultats et discussion

Tableau V : Mutations des gènes impliqués dans le cancer du sein chez la femme algérienne

Gène	Exon	Mutation	Position	Modification d'acide aminé	Type de mutation	RS	Verdict
BRCA1 17q21.31	4	c.181T>G	41258504	p.Cys61Gly	SNV	rs28897672	Pathogénique
	10	c.2125_2126insA	41245423	p.Phe709TyrfsTer3	Insertion	rs80357871	Pathogénique
	10	c.4066C>A	43091465	p.Gln1356Lys	SNV	/	Probablement pathogénique
	15	c.4676-?_4986 +? del/p.?	/	/	Délétion de l'exon 15	/	Pathogénique
	20	c.5332G>A	43051063	p.Asp1778Asn	SNV	rs863224767	Pathogénique
	10	c.798_799delTT	412469	p.Ser267LysfsTer19	Délétion	rs80357724	Pathogénique
	3	c.83_84delTG	41267793	p.Leu28ArgfsTer12	Délétion	rs80357728	Pathogénique
BRCA2 13q13.1	10	c.1099G>A	/	p.Asp367Asn	SNV	/	/
	10	c.1310_1313delAGA	32906916	p.Lys437IlefsTer22	Délétion	rs80359277	Pathogénique
	10	c.1813dupA	32907421	p.Ile605Asnfs	Duplication	rs80359306	Pathogénique
	11	c.2636C>A	32911128	p.Ser879Tyr	SNV	/	Probablement pathogénique
	11	c.2657A>g		p.Asn886Ser	/	rs80358526	Probablement pathogénique
	11	c.3868T>A	32912360	p.Cys1290Ser	SNV	/	Probablement pathogénique
	11	c.5428G>T	32913920	p.Val1810Phe	SNV	/	Signification incertaine
	11	c.5722_5723delCT	32914210	p.Leu1908ArgfsTer2	Délétion	rs80359530	Pathogénique
	11	c.6346C>G	/	p.His2116Asp	SNV	/	/
	14	c.7235_7236insG	32929226	p.Lys2413Ter	Insertion	rs483353118	Pathogénique
	16	c.7654dupA	32931911	p.Ile2552Asnfs	Insertion	rs879255463	Pathogénique
	19	c.8485C>T	32944692	p.Gln2829Ter	SNV	rs80359099	Pathogénique
22	c.8940delA	32953633	p.Glu2981LysfsTer7	Délétion	rs80359732	Pathogénique	

Résultats et discussion

	24	c.9256G>A	32954282	p.Gly3086Arg	SNV	rs80359192	Probablement pathogénique
	25	c.9364G>A	32968933	p. Ala3122Thr	SNV	rs587782313	Probablement pathogénique
PALB2 16p12.2	3	c.142A>T	23649240	p.Ile48Phe	SNV	/	Signification incertaine

1.5. Modélisation

Les résultats de la modélisation des protéines des trois gènes sont représentés par les figures ci-après.

- **BRCA1**

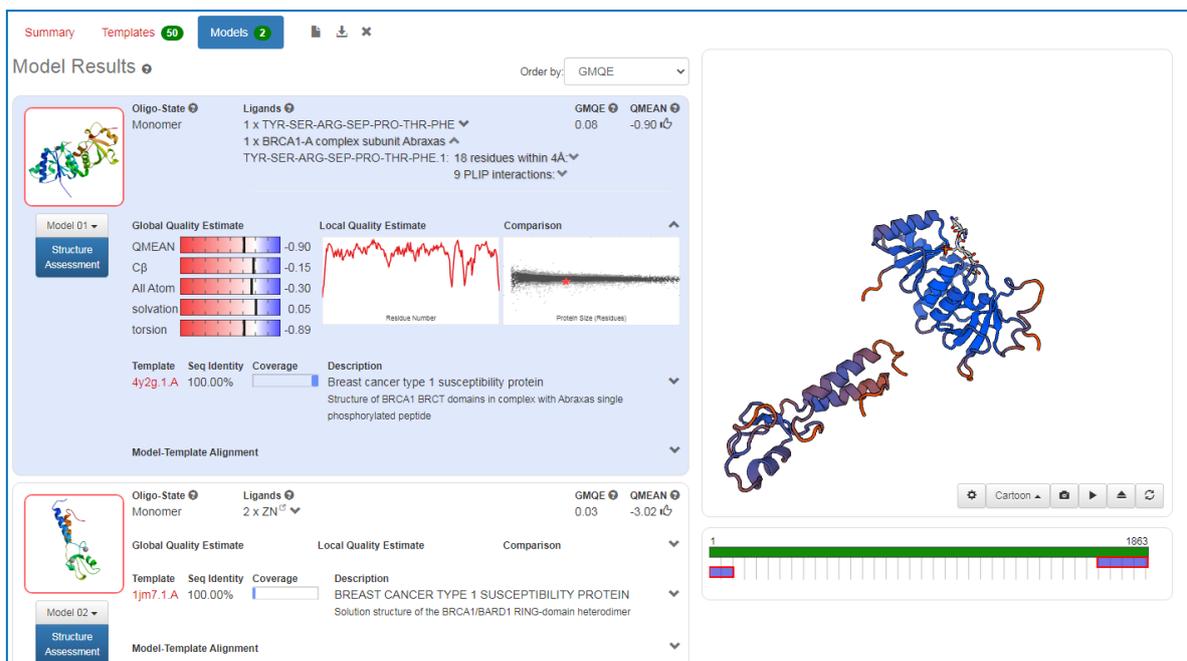


Figure 26: Modélisation de BRCA1 par SWISS-MODEL
<https://swissmodel.expasy.org/interactive/YYvzK8/models/>

- **BRCA2**

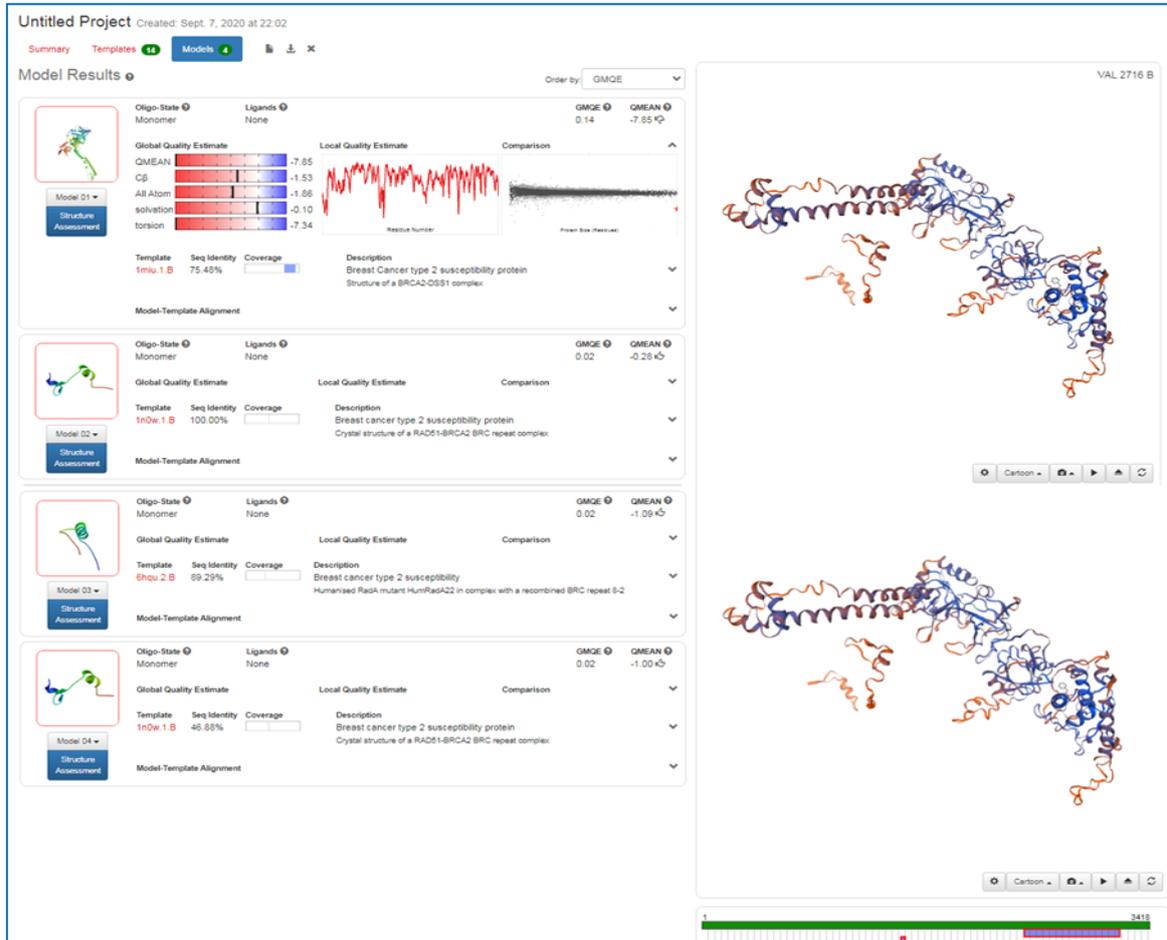


Figure 27 : Modélisation de BRCA2 par SWISS-MODEL
<https://swissmodel.expasy.org/interactive/UYCrLx/models/>

- **PALB2**

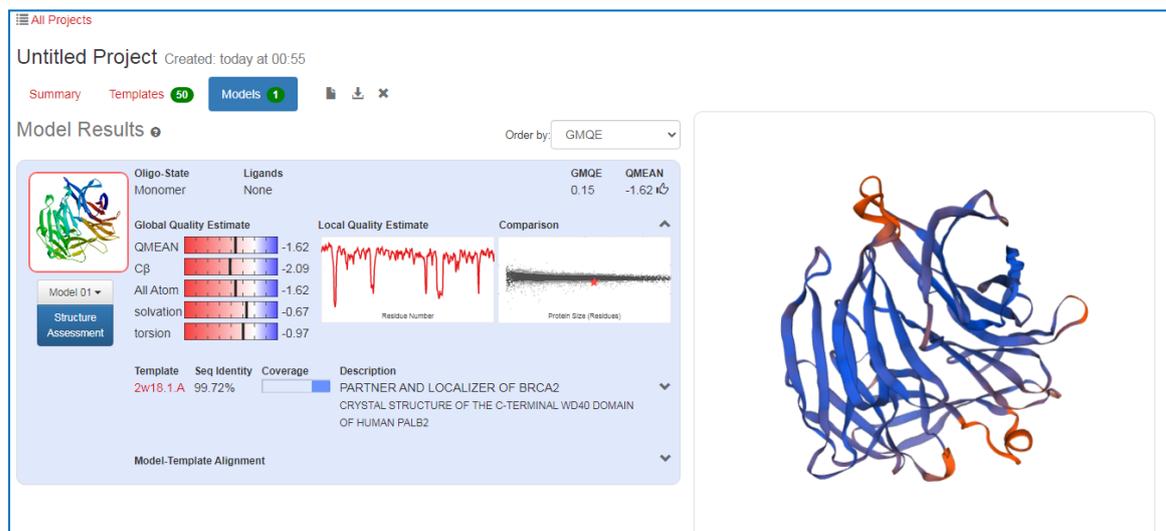


Figure 28 : Modélisation de PALB2 par SWISS-MODEL
<https://swissmodel.expasy.org/interactive/KSaFHu/models/>

2. Discussion

Le cancer du sein est actuellement la première cause de mortalité par cancer chez la femme algérienne. Des études ont été faites par des chercheurs en Algérie et des articles ont été publiés concernant les mutations impliquées dans le cancer du sein chez la femme algérienne.

Les résultats que nous avons obtenu à partir de l'analyse bioinformatique *in silico* ont été comparés aux mutations des gènes BRCA1, BRCA2 et PALB2 qui ont été trouvées en Algérie chez des femmes ayant un cancer du sein.

Nos résultats ont montré que l'exon 10 du gène **BRCA1**, est le plus touché. En effet c'est l'exon qui porte le plus de mutations.

L'étude de Cherbal *et coll.* en 2016 et l'étude de Gaceb *et coll.* en 2017, ont rapporté l'existence de la mutation c.2125_2126insA (p.Phe709TyrfsTer3) avec un identifiant rs80357871, située dans l'exon 10. Elle a été détectée chez des patientes TNBC (Triple Negative Breast Cancer) ayant des antécédents familiaux de cancer du sein et de cancer de la prostate en Algérie. Elle a été identifiée aussi chez d'autres femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein (3 membres au premier degré).

Selon Chami *et coll.* en 2018, il s'agit d'une mutation germinale induisant un décalage de cadre de lecture, elle code donc un codon stop illégitime ce qui conduit à la production d'une protéine tronquée prématurée.

Cette mutation est située proche d'un résidu modifié de phosphosérine qui va être phosphorylé par les kinases lors de la signalisation cellulaire (VarSome).

Selon Cherbal *et coll.* en 2012, la mutation c.4066C>A (p.Gln1356Lys), est localisée dans l'exon 10. C'est un variant non-classifié (UV) possiblement dommageable (VarSome). Cette mutation faux-sens a été identifiée chez une patiente atteinte d'un cancer du sein à début précoce.

La mutation c.798_799delTT (p.Ser267LysfsTer19) est localisée dans l'exon 10 avec un identifiant rs80357724, et elle est pathogénique (VarSome). Cherbal *et coll.* en 2016 ont identifié cette mutation dans plusieurs familles non-apparentées de Tunisie, du Maroc, d'Italie et d'Algérie. De plus, Cherbal *et coll.* ont identifié en Algérie cette mutation pour la première fois en 2010 chez deux familles non apparentées et aussi chez une jeune patiente TNBC avec des antécédents familiaux de cancer du sein en 2016.

C'est une mutation germinale avec un décalage du cadre de lecture conduisant à la production d'une protéine tronquée prématurée.

Cherbal *et coll.* ont rapporté dans leurs publications en 2016 et 2017 que du fait que les pays méditerranéens partagent une histoire commune et une histoire des flux migratoires, la mutation BRCA1 c.798_799delTT pourrait être une mutation fondatrice méditerranéenne.

Cette mutation a été localisée dans l'exon 11 par Cherbal *et coll.* dans ces publications en 2010, 2016, 2018 et elle a été corrigée ensuite dans son article en 2019 dans l'exon 10.

Une autre mutation a été identifiée, c.181T>G (p.Cys61Gly). Cette mutation est localisée au niveau de l'exon 4 avec l'identifiant rs28897672 (VarSome). C'est une mutation faux-sens pathogénique qui prend place dans les résidus cystéine conservés à 100% du domaine BRCA1 C3HC4 RING (zinc finger domain). Cherbal *et coll.* ont identifié cette variation polymorphique pour la première fois en 2010 chez deux patientes apparentées. Aussi, cette même mutation a été identifiée par la même équipe en 2016 chez deux jeunes patientes atteintes d'un cancer du sein ; une patiente avec un cancer du sein bilatéral ayant des antécédents familiaux de cancer du sein et une patiente de TNBC (diagnostiquée à l'âge de 36 ans).

Cette mutation a été localisée dans l'exon 5 par l'étude de Cherbal *et coll.* en 2010 et 2017. Elle a été corrigée par la suite dans son article en 2019 dans l'exon 4.

Mehemmai *et coll.* en 2019 ont rapporté l'existence de la mutation c.4676-?_4986+? del/p.? , qui a été déjà trouvée chez deux familles allemandes atteintes d'un cancer du sein héréditaire. Cette mutation est pathogénique qui se traduit par la délétion de l'exon 15. Elle a été identifiée chez une patiente HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer) diagnostiquée avec un cancer du sein à 27 ans et un cancer de l'ovaire à 50 ans, et chez une patiente TNBC diagnostiquée avec un cancer du sein à 41 ans.

Nous notons que cet exon code pour deux résidus de phosphosérine (VarSome).

Le variant c.5332G>A (p.Asp1778Asn), est pathogénique rare localisé dans l'exon 20 avec un identifiant rs863224767 (VarSome). Il a été trouvé en Algérie pour la première fois en co-occurrence en trans avec la mutation délétère BRCA1 c.798_799delTT (p.Ser267LysfsX19) chez une jeune patiente atteinte d'un cancer du sein. L'équipe de Cherbal *et coll.* en 2012 a suggéré que ce variant pourrait être classé comme neutre car la co-hérédité en phase trans de deux mutations pathogéniques dans BRCA1 ou BRCA2 induit une létalité embryonnaire ou est associée à des syndromes sévères comme l'anémie de Fanconi.

Nous notons que ce variant est localisé dans une région qui code pour le domaine BRCT2 de la protéine BRCA1 (VarSome).

La mutation c.83_84delTG (p.Leu28ArgfsTer12) est pathogénique, elle est localisée dans l'exon 3 avec un identifiant rs80357728 (VarSome). Cette mutation induit un décalage du cadre de lecture dans le gène BRCA1 conduisant à la production d'une protéine tronquée prématurée. Elle a été trouvée par l'équipe de Cherbalet *coll.* en 2010, chez une famille de Kabylie, une région située dans les montagnes du nord de l'Algérie. Cette même mutation a été aussi détectée par la même équipe en 2016 chez des patientes TNBC et chez d'autres avec un cancer ovarien bilatéral. Ces patientes avaient des antécédents familiaux de cancer du sein et / ou de l'ovaire.

Concernant le gène **BRCA2**, nous avons constaté que l'exon 11 est le plus touché et qui porte le plus de mutations. Cet exon est localisé dans une région qui code pour le domaine BRC-repeats de la protéine.

Selon Cherbal *et coll.* en 2012, la mutation c.1099G>A (p.Asp367Asn) est localisée dans l'exon 10 (VarSome). C'est un variant non-classifié de type faux-sens. De plus, une autre mutation a été identifiée par cette équipe, c'est la mutation c.2636C>A (p.Ser879Tyr) qui est localisée dans l'exon 11 et qui est probablement pathogénique.

Une autre mutation c.2657A>G (p.Asn886Ser) localisée dans l'exon 11, est probablement pathogénique de type faux-sens avec un identifiant rs80358526. Elle a été identifiée par Cherbal *et coll.* en 2012. Cette équipe a aussi identifié les mutations c.3868T>A (p.Cys1290Ser), c.5428G>T (p.Leu1908ArgfsTer2) et c.6346C>G (p.His2116Asp), localisées dans l'exon 11, et qui sont probablement pathogéniques. Ce sont des variants non-classifiés de type faux-sens. Il faut souligner que ces mutations sont localisées dans la partie qui code pour le domaine BRC- repeats de la protéine BRCA2, qui permet la réparation de l'ADN par recombinaison homologue en interaction avec RAD51.

Toujours la même équipe de Cherbal *et coll.* en 2012, rapporte que la mutation c.9256G>A (p.Gly3086Arg), localisée dans l'exon 24 est probablement pathogénique. C'est un variant de type faux-sens avec un identifiant rs80359192. Elle est localisée dans la partie qui code pour le domaine de liaison à l'ADN et le domaine de réparation de l'ADN par recombinaison homologue de la protéine BRCA2. Il a été rapporté aussi que ces variants c.1099G>A (p.Asp367Asn), c.2636C>A (p.Ser879Tyr), c.2657A>G (p.Asn886Ser), c.3868T>A (p.Cys1290Ser), c.5428G>T (p.Val1810Phe), c.6346C>G (p.His2116Asp),

Résultats et discussion

c.9256G>A (p. Gly3086Arg) ont été identifiés chez des patientes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein / de l'ovaire et chaque variant a été trouvé dans une famille.

Selon les travaux de Cherbal *et coll.* en 2010, la mutation c.1310_1313delAAGA (p.Lys437IlefsTer22), localisée dans l'exon 10 avec l'identifiant rs80359277, est pathogénique. Cette mutation induit un décalage du cadre de lecture. Elle a été trouvée chez deux patientes non apparentées.

Selon Mehemmai *et coll.* en 2019, la mutation c.1813dupA (p.Ile605Asnfs), localisée dans l'exon 10 avec l'identifiant rs80359306 est pathogénique. Cette mutation induit un décalage du cadre de lecture, elle a été détectée pour la première fois en Algérie chez une jeune patiente TNBC diagnostiquée à l'âge de 33 ans, avec des antécédents familiaux de cancer du sein chez l'homme.

Selon Cherbal *et coll.* en 2017, la mutation c.5722_5723delCT (p.Leu1908ArgfsTer2), localisée dans l'exon 11 avec l'identifiant rs80359530 est pathogénique. Elle a été trouvée chez deux patientes non apparentées.

Selon Cherbal *et coll.* en 2013, la mutation c.7235_7236insG (p.Lys2413Ter) localisée dans l'exon 14 avec l'identifiant rs483353118 est pathogénique. Cette mutation a été trouvée chez des familles algériennes et marocaines, elle pourrait être une mutation fondatrice de la population maghrébine.

Selon Mehemmai *et coll.* en 2019, la mutation c.7654dupA (p.Ile2552Asnfs), localisée dans l'exon 16 avec un identifiant rs879255463 est pathogénique. Cette mutation induit un décalage du cadre de lecture, elle a été identifiée chez une jeune patiente TNBC diagnostiquée à l'âge de 30 ans. Aussi, la même équipe suggère que la mutation c.8485C>T (p.Gln2829Ter) localisée dans l'exon 19 avec l'identifiant rs80359099 est pathogénique. C'est une mutation non-sens, qui a été détectée pour la première fois dans la population algérienne chez une jeune femme TNBC atteinte d'un cancer du sein bilatéral (stade 3) diagnostiquée à l'âge de 40 ans.

Les mêmes travaux de Mehemmai *et coll.* en 2019 ont montré que la mutation c.8940delA (p.Glu2981LysfsTer7) localisée dans l'exon 22 avec l'identifiant rs80359732 est pathogénique. C'est une mutation rare qui induit un décalage du cadre de lecture, elle a été rapportée une fois dans la base de données BRCA Share et la base de données ClinVar, chez une patiente ayant des antécédents familiaux de cancer du sein / ovarien.

Selon l'équipe de Chami *et coll.* en 2018, la mutation c.9364G>A (p. Ala3122Thr) localisée dans l'exon 25 avec l'identifiant rs587782313 est probablement pathogénique. C'est

Résultats et discussion

une mutation faux-sens située dans la partie qui code pour le domaine OB-fold de la protéine BRCA2.

Concernant le gène **PALB2**, une seule mutation a été détectée. Il s'agit de la mutation c.142A> T (p.Ile48Phe) qui est localisé dans l'exon 3 à une signification incertaine. Selon les travaux de Mehemmai *et coll.* en 2019, cette mutation est située dans la partie qui code pour le domaine de liaison à l'ADN, le domaine d'interaction avec BRCA1 et RAD51 et le domaine nécessaire pour l'oligomérisation et la concentration focale sur les sites de dommages à l'ADN de la protéine PLAB2. Cette mutation a été identifiée chez une patiente atteinte d'un cancer du sein et de l'ovaire à un âge précoce.

3. Synthèse de la discussion en anglais

Breast cancer is currently the leading cause of women deaths by cancer in Algeria. Several studies that have been done concerning genetic predisposition for breast cancer in Algeria shown that mutations of BRCA1, BRCA2 and PALB2 genes stand behind it. In our study, we compared the results obtained from bioinformatic analysis to breast cancer causing gene mutations found in Algeria.

Starting with the BRCA1 gene, our research showed that exon 10 of this gene is the most affected. Indeed, it is the exon that carries the most mutations.

The mutation c.2125_2126insA of exon 10, was reported in a study done by Cherbal *et al.* (2016) and by Gaceb *et al.* (2018). It was detected in TNBC patients with a family history of both breast and prostate cancer. According to Chami *et al.* (2018), it's a frameshift germline mutation that leads to a premature truncated protein. This mutation is located near a modified phosphoserine residue that is phosphorylated by kinases during cell signaling (VarSome).

The unclassified variant c.4066C>A in exon 10, is likely pathogenic (VarSome). According to Cherbal *et al.* (2012), it's a missense mutation of exon 11 that was identified in an early-onset breast cancer patient.

the mutation c.798_799delTT of exon 10 is a pathogenic mutation (VarSome). It was identified in Algeria for the first time by Cherbal *et al.* (2010) in two unrelated families. Later in 2016, Cherbal *et al.* identified the same mutation in a young TNBC patient with family history of breast cancer. This frameshift germline mutation has been identified in several unrelated families from Tunisia, Morocco, Italy and Algeria. Which means that it could be a Mediterranean founder mutation as Mediterranean countries share a common history and amigration flow history.

The c.181T> G mutation of exon 4 is a pathogenic mutation that occurs in the highly conserved cysteine residues of BRCA1 protein zinc finger domain. Cherbal *et al.* (2010) first identified this variant in two related patients, then later in 2016 in two young women with breast cancer, one had bilateral breast cancer with a family history of breast cancer and the other was a TNBC patient diagnosed at the age of 36.

Mehemmai *et al.* (2019) identified the pathogenic mutation c.4676-?_4986+? del/p.?, which is a deletion of exon 15 that encodes for two residues of phosphoserine (VarSome), in a HBOC patient diagnosed with breast and ovarian cancer at the age of 27 and 50 respectively, and in a TNBC patient diagnosed at the age of 41. It was also reported that this mutation has been found in two German families with hereditary breast cancer.

The c.5332G> A is a rare pathogenic variant located in exon 21, in a region that encodes for the BRCA1 protein BRCT domain (VarSome). It was found in Algeria by Cherbal *et al.* (2012) for the first time in co-occurrence in trans phase with the deleterious mutation c.798_799delTT in a young breast cancer patient with a strong breast cancer history. They suggested that it could be classified as neutral because co-inheritance in trans phase of two pathogenic mutations in BRCA1 or BRCA2 induces embryonic lethality or are associated with severe syndromes like Fanconi anemia.

The pathogenic mutation c.83_84delTG of exon 3 (VarSome), is a germline frameshift mutation that leads to premature truncated protein. It has been found by Cherbal *et al.* (2010) in a family from Kabylia. It was also detected by Cherbal *et al.* (2016) in patients with TNBC and in others with bilateral ovarian cancer that had a history of hereditary breast and/or ovarian cancer.

Coming to the BRCA2 gene, we found that exon 11 is most affected and carries the most of mutations. This exon is located in a region which encodes the BRC-repeats domain of the BRCA2 protein.

In a study done by Cherbal *et al.* (2012), 7 missense UVs that are likely pathogenic were detected: c.1099G>A in exon 10, c.2636C>A, c.3868T>A, c.2657A>G, c.5428G>T and c.6346C>G all in exon 11 and c.9256G>A located in exon 24. These UVs were identified in patients with family history of breast /ovarien cancer, and each variant was found in one family. The mutations c.3868T>A, c.5428G>T, c.6346C>G are located in the DNA repair recombination protein domain, while c.9256G>A is located in the DNA binding domain and the DNA recombination repair protein domain.

According to Cherbal *et al.* (2010), the pathogenic mutation c.1310_1313delAAGA of exon 10, is a frameshift mutation that was identified in two unrelated families.

Another pathogenic mutation, c.5722_5723delICT of exon 11 was identified in two unrelated families by Cherbal *et al.* (2017)

The pathogenic mutation c.7235_7236insG of exon 14 was detected in Algerian and Moroccan families. Cherbal *et al.* (2013) suggested that it could be the first BRCA2 founder mutation reported in Maghreb population.

The missense mutation c.9364G>A of exon 25 is a pathogenic variant reported by Chami *et al.* (2018) that is located in BRCA2 OB-fold domain.

In 2019, Mehemmai *et al.* detected several pathogenic mutations of BRCA2, three frameshift mutations: c.1813dupA of exon 10 reported for the 1st time in Algeria in a young TNBC patient diagnosed at age of 33 with a family history of male breast cancer, c.7654dupA of exon 16 in two TNBC patients diagnosed at age of 30, and c.8940delA of exon 22 that had been reported once in the BRCA Share database and the ClinVar database in two patients with a family history breast/ ovarien cancer. Besides a nonsense mutation c.8485C>T of exon 19 that was also detected for the 1st time in Algeria in a young TNBC patient that was diagnosed with bilateral breast cancer at age of 40.

Only one mutation of PALB2 gene, c.142A> T of exon 3 with uncertain significance. This mutation is located in the Coiled-coil domain that is necessary for interaction with BRCA1 and PALB2, also in the interaction domain with RAD51 and its focal concentration at DNA damaged sites (VarSome).

Conclusion

Le cancer du sein est une maladie complexe influencée par l'effet de plusieurs facteurs génétiques et environnementaux. C'est pour cela beaucoup de femmes se demandent pourquoi elles ont eu un cancer du sein sans qu'une réponse claire ne puisse leur être donnée. Pour un nombre limité d'entre elles, surtout celles très jeunes, avec une histoire familiale du cancer du sein / ovarien, il peut exister un facteur génétique puissant, une mutation pathogène d'un gène de susceptibilité au cancer du sein BRCA1, BRCA2 ou PALB2. A partir des résultats de l'analyse *in silico* bioinformatique nous pouvons conclure que :

En Algérie, des mutations germinales des gènes BRCA1, BRCA2 et PALB2 ont été identifiées chez des jeunes femmes algériennes, avec une histoire familiale du cancer du sein. Il y'en a Parmi eux qui pourrait être fondatrices méditerranéennes ou maghrébines.

Pour La mutation c.798_799delTT de BRCA1 située dans l'exon 10, elle a été détectée dans la Tunisie, le Maroc, l'Italie et l'Algérie. Donc elle pourrait être une mutation fondatrice méditerranéenne puisque ces pays partagent une histoire migratoire commune.

La mutation c.7235_7236insG située dans l'exon 14 a été détectée chez des familles algériennes et marocaines, elle pourrait être une mutation fondatrice dans la population maghrébine.

À ce jour, le variant pathogénique c.181T>G, est l'une des mutations fondatrices les plus fréquentes identifiées dans la population d'Europe centrale. Elle a été déjà rapportée aussi chez deux familles algériennes et marocaines.

La délétion de l'exon 15 de BRCA1 (c.4676-?_4986+? del/p.?) et la mutation c.1813dupA de BRCA2 située dans l'exon 10 sont des mutations fondatrices en Allemagne.

Pour la plupart des mutations qui ont été trouvées en Algérie, sont localisées dans l'exon 10 et 11 de BRCA1 et BRCA2, respectivement.

Les mutations mentionnées dans ce travail sont localisées dans des régions qui codent pour des domaines importants de ces protéines. Par conséquence, elles vont conduire à la production des protéines tronquées non-fonctionnelles.

Conclusion

Le cancer du sein continu de faire des victimes, il reste une maladie grave qui est en progression jour par jour malgré les progrès thérapeutiques. En outre, l'attention portée aux mutations BRCA1 et BRCA2 et PALB2 les plus récurrentes de notre population permet que le diagnostic et le traitement des patientes atteintes de cancer du sein et le suivi de leur famille s'améliorent.

En cas de suspicion de cancer du sein d'origine génétique, et dans le cas où l'analyse de l'ADN d'une personne de la famille qu'elle a déjà développée un cancer du sein révèle une mutation dans un gène de susceptibilité au cancer du sein (BRCA1, BRCA2 ou désormais PALB2), d'autres membres de sa famille pourront être testés à leur tour pour rechercher la même mutation.

Références Bibliographiques

- [1] Benattia I, Bouazza N. CANCER MAMMAIRE ET LA MUTATION BRCA1. 2017.
- [2] Berthel E. Recherche des ARNm dont la traduction est régulée par la protéine BRCA1 : vers l'identification de nouveaux outils thérapeutiques des tumeurs du sein déficientes en Elise Berthel To cite this version : HAL Id : tel-01775171 Ecole Doctorale Spécialité de 2018.
- [3] Buisson R, Masson JY. Fonction des suppresseurs de tumeur PALB2 et BRCA2 dans la réparation des cassures doublebrin de l'ADN. *Medecine/Sciences* 2013;29:301–7. <https://doi.org/10.1051/medsci/2013293017>.
- [4] Cancer du sein - Quels examens ? - Fiches santé et conseils médicaux n.d. <https://sante.lefigaro.fr/sante/maladie/cancer-sein/quels-examens>.
- [5] Du Q, Zhang Y, Tian XX, Li Y, Fang WG. Mage-D1 inhibits proliferation, migration and invasion of human breast cancer cells. *Oncol Rep* 2009;22:659–65. https://doi.org/10.3892/or_00000486.
- [6] Ducy M. Caractérisation fonctionnelle de variations génétiques dans PALB2 , un gène de susceptibilité au cancer du sein Caractérisation fonctionnelle de variations génétiques dans PALB2 , un gène de susceptibilité au cancer du sein 2019.
- [7] Globocan Observatory 2019 WI, (IARC) IA for R on C, (WHO) WHO. Breast Cancer. Source: Globocan 2018. *World Heal Organ Int Agency Res Cancer* 2019;876:2018–9.
- [8] Haute Autorité de Santé - Mammographie par tomosynthèse : des questions à traiter avant une éventuelle intégration dans le dépistage organisé du cancer du sein n.d. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3121421/fr/mammographie-par-tomosynthese-des-questions-a-traiter-avant-une-eventuelle-integration-dans-le-depistage-organise-du-cancer-du-sein.
- [9] INCa. Les traitements des cancers du sein, collection Guide patients. *Cancer Info, INCA* 2013;27:15–7.
- [10] La mammographie dans le dépistage du cancer du sein n.d. <http://www.chirurgie-gynecologie.fr/page-radiologie/mammographie.html>.
- [11] LE CORGNE A. RÔLE DU PHARMACIEN D'OFFICINE DANS LA PRISE EN CHARGE DU CANCER DU SEIN APRES CHIRURGIE MAMMAIRE. 2016.
- [12] Le HP, Ma X, Vaquero J, Brinkmeyer M, Guo F, Heyer WD, et al. DSS1 and ssDNA regulate oligomerization of BRCA2. *Nucleic Acids Res* 2020;48:7818–33. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa555>.
- [13] MERAIR N. ASSOCIATION TRASTUZUMAB - VINOURELBINE EN PREMIERE LIGNE METASTATIQUE DANS LE CANCER DU SEIN SUREXPRIMANT HER2/NEU. 2016.
- [14] Muller E. Les défis du séquençage à haut-débit dans l'exploration des prédispositions génétiques aux cancers du sein et/ou de l'ovaire THÈSE Pour obtenir le diplôme de doctorat Spécialité Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie-Génétique du Cancer-Préparée au sein de l'Université de Rouen. Normandie Université; 2017.
- [15] OMS | Cancer du sein: prévention et lutte contre la maladie. WHO 2014.
- [16] Qu'est-ce qu'un cancer ? 2018. <https://www.frm.org/recherches-cancers/cancer-cellules>.
- [17] ROUAULT GROS A. ETUDE GENOMIQUE DES CANCERS DU SEIN FAMILIAUX LIES A UNE MUTATION CONSTITUTIONNELLE DU GENE BRCA2. 2013.

Références Bibliographiques

- [18] Simhadri S, Vincelli G, Huo Y, Misenko S, Foo TK, Ahlskog J, et al. PALB2 connects BRCA1 and BRCA2 in the G2/M checkpoint response. *Oncogene* 2019;38:1585–96. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0535-2>.
- [19] Soler-Michel P, Lasset C. Dépistage du cancer du sein. *Mal. du sein*, 2011, p. YP-. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-2-294-70543-4.00003-9>.
- [20] Takaoka M, Miki Y. BRCA1 gene: function and deficiency. *Int J Clin Oncol* 2018;23:36–44. <https://doi.org/10.1007/s10147-017-1182-2>.
- [21] Verbeke S. Etude des voies de signalisation du récepteur p75NTR impliquées dans la croissance des cellules de cancer du sein. 2010.
- [22] Viassolo V, Ayme A, Chappuis PO. Breast cancer: Genetic risk. *Imag La Femme* 2016;26:95–104. <https://doi.org/10.1016/j.femme.2016.04.009>.
- [23] Wu Q, Jubb H, Blundell TL. Phosphopeptide interactions with BRCA1 BRCT domains: More than just a motif. *Prog Biophys Mol Biol* 2015;117:143–8. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2015.02.003>.