



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale / قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

L'influence du polymorphisme Arg72pro du gène p53 dans la survenue du cancer de l'endomètre

Présenté et soutenu par : *DERBAL SOUMIA*

Le : 04/07/2017

LAALA LAMIA

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Dr SEMMEME OUARDA* (maitre de conférence- UFM Constantine 1).

Rapporteur : *Dr SEDRATI KHADIDJA* (maitre de conférence- UFM Constantine 1).

Examineurs : *Dr BOUCHAR-ZIADA HADIA* (maitre de conférence- UFM Constantine 1).

*Année universitaire
2016- 2017*

بسم الله الرحمن الرحيم

قال الله تعالى :

" يرفع الله الذين آمنوا منكم والذين أوتوا العلم درجات "

المجادلة "11"

قال رسول الله صلى الله عليه وسلم

من سلك طريقا يلتمس فيه علما سهل الله له طريقا إلى الجنة

" رواه مسلم "

اللهم إنفعنا بما علمتنا ، وعلمنا ما ينفعنا ، وزدني علماً
اللهم أخرجنا من ظلمات الوهم وأكرمنا بنور الفهم ، وإفتح علينا بمعرفة العلم وحسن أخلاقنا
بالحلم وسهل لنا أبواب فضلك وأنشر علينا من خزائن رحمتك يا أرحم الراحمين .. يا أرحم
الراحمين

اللهم أرزقنا العلم النافع الذي يقربنا منك ويونس وحدتنا في قبورنا يارب

اللهم أغنني بالعلم وزيني بالحلم وأكرمني بالتقوى وجمّلني بالعافية
الله علمنا ما جهلنا ، وذكرنا ما نسينا ، وإفتح علينا من بركات السماء والأرض إنك أنت السميع
العليم

اللهم أغنني بالعلم وزيني بالحلم وأكرمني بالتقوى وجمّلني بالعافي
اللهم إني أعوذ بك من قلب لا يخشع ، ومن دعاء لا يسمع ، ومن نفس لا تشبع ، ومن علم لا
ينفع

اللهم يا من قلت وقولك الحق : (وعلمناه من لدنا علماً) أرزقني من لدنك على ما يقربني إليك

*Nous voudrions d'abord remercier DIEU tout
puissant pour la santé, la force, la sagesse, le courage,
l'esprit de persévérance et d'engagement dont il nous
fait grâce au quotidien*

*A la mémoire de notre camarade MERIEM LEBRIMA,
Puisse dieu le tout puissant l'accueillir dans son vaste
paradis*

Remerciement



Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur, Docteur SEDRATI Khadija, maitre assistante pour le privilège qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ce travail. Sa gentillesse, sa modestie, qui nous a conseillées efficacement tout en nous laissant travailler librement.

Nous remercions également notre professeur Mme SATTI Dallila pour sa disponibilité, son soutien. Ses compétences ont été d'une aide inestimable..

Nous remercions également à Mme SEMAM pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider notre jury et ZIADA Hadia pour avoir accepté d'être l'examinatrice de se modeste travail

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.

Nous remercions également à la secrétaire générale et au responsable de l'archive dans le service de gynécologie ainsi que Mme DADCI Yasmina du laboratoire de biochimie du CHU IBN BADIS de Constantine, pour leur générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges professionnelles.

Enfin, à ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidées et encouragées dans la concrétisation de ce travail.

*A la mémoire de mes chers disparus
Mon père : LAALA MOHAMED (rabiya rhmo).*

Les mots sont faibles pour exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mon frère YASSER et ma sœur AMINA (rabiya rhom)

*Mon grand-père « ABD EL KADER » et
Ma grand-mère « TORKIA » (rabiya rhom).*

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

A ma chère mère : SERSOUB DJAMILA

Affable, honorable, aimable que je ne cesse de remercier pour tout ce qu'elle m'a donné. Que Dieu la récompense pour tous ces bienfaits et me la garde

*Ames frères : NOUREDDINE, KAMEL, MOURAD, ZINOU
sans oublier leurs familles pour leur bonté et leur amour*

*A mes très chers sœurs : HOUDA et son « MOHAMED AMAR », ainsi
qu'à KHAWLA ma complice.*

N'oublier pas LAALA ABADALMADJID et SGHIRI MEHMOUD

*A mes chers amis : HANANE, MERJEM, AHLEM, AMIRA et « DJAD
ABDELHAK ».*

Ma chère binôme « DERBAL SOUMIA » et à toute sa famille.

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

A moi-même.

*Enfin, je n'oublie pas mes camarades de la promotion
2016/2017*

LAALA LAMIA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents

Je ne trouverai jamais de mots pour vous exprimer mon profond attachement, ma très chère mère pour tout son amour et son dévouement, à mon père qui a toujours été là pour moi et qui m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

Mon frère MOHAMED et mes sœurs AMEL et FATIMA qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Ames amis de cœurs : MERJEM, AHLEM, AMIRA, MERJEM que j'aime beaucoup, si vous saviez comme je suis heureuse de vous avoir dans ma vie, de tous ces moments partagés, et surtout pour votre soutien dans mes moments les plus difficiles.

Ma chère binôme « Laala lamia » et à toute sa famille.

À toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

À moi-même.

Enfin, je le dédie à mes camarades de promotion 2016/2017.



SOUMIA DERBAL

Liste des abréviations

| | |
|----------------|---|
| ATM : | AtaxiaTelangiectasiaMutated. |
| ATR : | AtaxiaTelangiectasia and Rad3-related protein |
| BAX : | BCL2-Associated X protein. |
| BBP : | Bleu de Bromo Phénol |
| BCL : | B-CellLeukemia/ Lymphoma |
| BET : | Bromure d’Ethidium |
| Bsh : | Bacillusphaerius |
| CNGOF : | Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français |
| dNTP : | Désoxyribonucléosides triphosphates |
| EDTA : | EthyleneDiamineteTraacetic Acid |
| EIC : | Carcinome Endométrial Intraépithélial |
| EIN : | Néoplasie Endométriale Intraépithéliale |
| FIGO : | The International Federation of Gynecology and Obstetrics |
| ESMO : | Europe'sleadingMedicalOncology Society |
| HAE : | Hyperplasie Adénomateuse Endométriale |
| HAT : | Histone acétyltransférase |
| HER2 : | HumanEpidermalgrowth factor Receptor 2 |
| Hinf1 : | Haemophilus influenzae I |
| HNPCC : | Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer |
| INCA : | Institut National du Cancer |
| IRM : | L'Imagerie par Résonance Magnétique |
| kDa : | Kilo Dalton |

| | |
|----------------|--|
| K-Ras: | kirsten Rat sarcoma |
| LOH : | Loss Of Heterozygosity |
| MDM2 : | Murine Double Minute 2 homologue. |
| MSI : | Instabilité des microsatellites |
| MLH1 : | MutLHomolog 1 |
| MSH2 : | MutSHomolog 2 |
| MSH6 : | MutSHomolog 6 |
| MMR : | MismatchRepair |
| OMS : | Organisation Mondiale de la Santé |
| OR : | Odds Ratio |
| P53 : | Protéine 53 KDa |
| PCR : | Polymerase Chain Reaction |
| PTEN : | Phosphatase and TENsinghomolog |
| Rb : | Rétinoblastome |
| RFLP : | Restriction Fragment LengthPolymorphism |
| SDS : | Sodium Dodécyle Sulfate |
| SNP : | Single NucleotidePolymorphism |
| Taq : | Thermusaquaticus |
| TBE : | Tris-Borate-EDTA |
| TNM : | TumorNodesMetastases |
| TP 53 : | TumorProtein 53 |
| Tigar : | tp53-induced glycolysis and apoptosisregulator |
| UV : | Ultra Violet. |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Les organes génitaux internes de la femme..... | 03 |
| Figure 02 : Structure du gène p53..... | 18 |
| Figure 03 : Structure schématique et Domaines fonctionnels de la protéine p53..... | 18 |
| Figure 04 :Le pourcentage des mutations de P53 par type d'organe..... | 20 |
| Figure 05 :Les différents polymorphismes de gène P53..... | 21 |
| Figure 06 :Le profil électro-phorétique de la PCR du p53..... | 26 |
| Figure 07 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose des fragments issus le clivage du Bsh1236I présentant différents génotypes de p53..... | 29 |
| Figure 08 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins..... | 30 |
| Figure 09 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoin..... | 31 |
| Figure 10 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans les populations malades..... | 32 |
| Figure 11 : Fréquences allélique du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans les populations malades..... | 32 |
| Figure 12 : Fréquences génotypique du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins et la population malades..... | 33 |
| Figure 13 : la répartition des fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins et la population malades..... | 34 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01 : Classification clinique du cancer de l'endomètre de type I et II..... | 13 |
| Tableau 02 : Les composants du milieu réactionnel pour la PCR..... | 24 |
| Tableau 03 : Les composants du Mix de digestion..... | 27 |
| Tableau 04 : Le tableau de contingence..... | 28 |
| Tableau 05 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins..... | 30 |
| Tableau 06 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans les populations malades..... | 31 |
| Tableau 07 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène P 53 dans les populations témoins et les populations malades..... | 33 |
| Tableau 08 : La répartition des Fréquences de polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins et la population malades..... | 35 |

Table des matières

Remerciement et dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie bibliographique

I : Rappel

1. L'utérus3

2. Anatomie de l'endomètre4

3. Physiologie de l'endomètre4

II : Cancer de l'endomètre

1. définition.....5

2.Épidémiologie5

3. le développement d'un cancer de l'endomètre5

 3.1. Naissance du cancer5

 3.2. Diffusion6

4. Etiologie et facteurs de risque du cancer de l'endomètre6

5. Génétique du cancer de l'endomètre.....8

| | |
|--|----|
| 5.1.Aspects de génétique moléculaire associés aux carcinomes endométrioïdes de l'endomètre | 9 |
| 5.2.Altérations génétiques dans les carcinomes non endométrioïdes de l'endomètre. | 11 |
| 6. Classification | 12 |
| 7. Symptômes..... | 13 |
| 8. Pronostic | 13 |
| 9. Diagnostic | 14 |
| 10. Traitement | 15 |
| II : La P53 | |
| 1.Historique | 16 |
| 2. Le gène P53 | 16 |
| 3. La protéine p53 | 17 |
| 4. La régulation de P53 | 18 |
| 5. Les fonctions de P53 | 18 |
| 5.1. L'arrêt du cycle cellulaire | 18 |
| 5.2. L'apoptose | 19 |
| 5.3. Réparation de l'ADN | 19 |
| 6. Mutations et polymorphismes de la p53 | 19 |
| 7. Relation SNP Arg72pro et cancer de l'endomètre | 20 |

Partie pratique

I. Patients et méthodes

| | |
|--------------------|----|
| I. Patients..... | 22 |
| II. Méthodes | 22 |

| | |
|--|----|
| 1. Prélèvement sanguin..... | 22 |
| 2. Extraction d'ADN génomique à partir du sang total..... | 22 |
| 3. Analyse de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait | 23 |
| 4. Génotypage du polymorphisme Arg72pro du gène p53 par PCR-RFLP | 23 |
| 5. Etude statistique | 27 |

II. Résultats et discussion

| | |
|---|-----------|
| I. Résultats..... | 29 |
| 1. Étude moléculaire | 29 |
| 2. Fréquences génotypiques et alléliques..... | 29 |
| 3. Analyse statistique des résultats..... | 35 |
| II. Discussion..... | 36 |
| Conclusion | 37 |
| Références bibliographiques | 38 |

Résumé

Annexes



Le Mercredi 5 Février 2015 El Watan rapporte des chiffres alarmants de statistiques sur le cancer et écrit: « Environ 50.000 nouveaux cas de cancer sont recensés chaque année en Algérie, dont 1.500 enfants, soit une moyenne de 5 nouveaux cas par heure enregistrée chez les adultes, et 4 nouveaux cas par jour chez les enfants ». Il s'agit d'un problème épineux de santé publique.

La cancérogénèse est un processus conduisant à la formation d'une tumeur cancéreuse (**Oliveira et al., 2007**). Ainsi, le cancer est une pathologie de l'ADN qui aura pour conséquence la prolifération rapide et incontrôlée des cellules anormales, liée à une perte de l'équilibre entre les mécanismes de défense de l'organisme et les forces qui provoquent l'anarchie cellulaire. Ces dernières sont multiples et imparfaitement connues : la prédisposition génétique au cancer, radiation et les facteurs environnementaux (**Yarbro et al, 2010**).

Le cancer est considéré comme une maladie génétique liée à l'acquisition progressive de 5 à 10 mutations conductrices dans une seule cellule (**Stratton et al., 2009**). De nombreuses altérations génétiques, affectant principalement des gènes suppresseurs de tumeurs ou des proto-oncogènes, sont retrouvées dans les cancers humains et peuvent conduire à la génération de plus d'une centaine types de tumeurs différentes (**Hanahan et Weinberg, 2011**).

Le cancer de l'endomètre se développe dans le tissu qui tapisse la paroi intérieure du corps de l'utérus, la partie de l'utérus où se déroule la grossesse. La plupart des cancers de l'endomètre sont des adénocarcinomes (cancers qui débutent dans les cellules qui produisent et libèrent du mucus et d'autres fluides). Le cancer de l'endomètre est la néoplasie gynécologique la plus fréquente, représentant environ 6% des cancers chez la femme. Au quatrième rang des cancers féminins, ce cancer touche surtout les femmes entre 50 à 59 ans, dont 20 à 25% sont des femmes pré-ménopausées.

La protéine P53 codée par le gène suppresseur de tumeur de même nom, est hautement régulée, sa fonction majeure est de réguler la transcription de gènes cibles en réponse à différents stress pour induire une réponse adaptée. Les deux réponses principales sont l'arrêt de croissance et l'apoptose (**Zilfou et Lowe, 2009**).



De très nombreux polymorphismes ont été décrits pour le gène *p53* et parmi eux le polymorphisme déterminé au niveau du codon 72 entraîne une substitution d'une Pro en Arg, responsable de la diminution de l'activité de la protéine.

Les objectifs de notre étude sont :

- Maitriser les outils et les techniques de base de biologie moléculaire (PCR et RFLP).
- Etablir la fréquence de polymorphisme Arg72pro du gène *p53* au sein de notre sujet cancéreux et patient supposés sains.
- Rechercher la corrélation entre le polymorphisme du codon 72 du gène *p53* et la survenue de cancer de l'endomètre.

Partie
Bibliographique



1. L'utérus

L'utérus est l'organe de gestation, aplati en forme de poire mesurant environ 7 cm de long en dehors de la grossesse, il est situé dans la partie médiane du pelvis, entre la vessie en avant, le rectum en arrière, est un organe creux destiné à accueillir, à héberger et à nourrir l'ovule fécondé. L'utérus est soutenu dans le bassin par le ligament large, et il est ancré antérieurement et postérieurement par les ligaments ronds de l'utérus et les ligaments utéro-sacrés respectivement (Marieb, 2008).

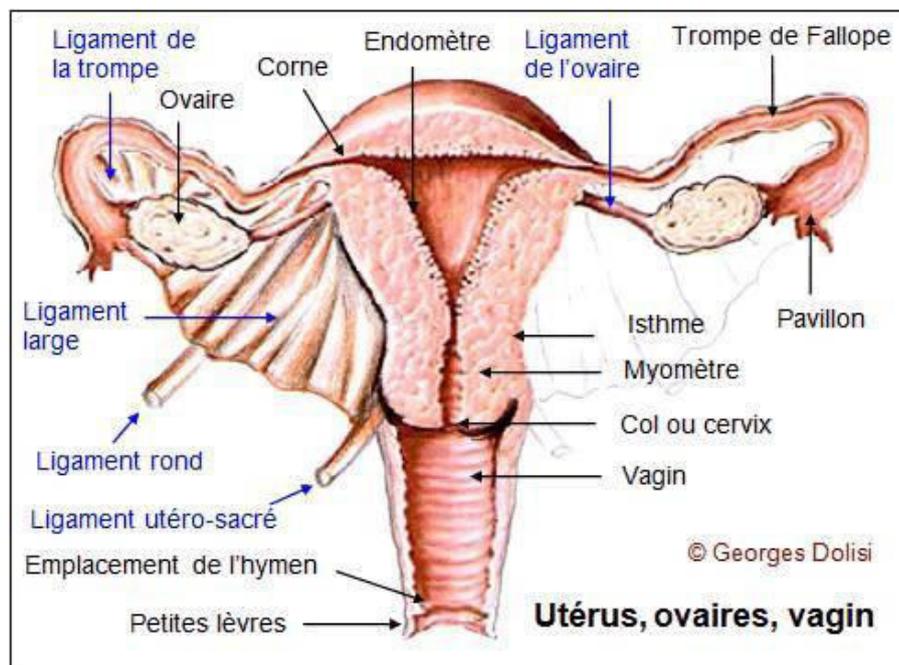


Figure 01 : les organes génitaux internes de la femme (Marieb, 2008).

La partie la plus volumineuse de l'utérus est son corps. La partie arrondie située au-dessus du point d'insertion des trompes est le fundus de l'utérus. La partie la plus étroite qui constitue l'orifice de l'utérus et qui fait saillie dans le vagin, localisé plus bas est le col de l'utérus. Sa muqueuse, l'endomètre, procure un environnement au développement fœtal et sa paroi musculaire épaisse, le myomètre, qui s'accroît énormément durant la grossesse, joue un rôle dans la protection du fœtus et dans son expulsion à l'accouchement. L'utérus est parcouru de vaisseaux sanguins et de vaisseaux lymphatiques (Marieb, 2008).



2. Anatomie de l'endomètre

L'endomètre correspond à la muqueuse interne de l'utérus. Il est constitué d'un épithélium prismatic uni stratifié (cilié ou non selon le stade fonctionnel) avec sa lame basale, des glandes utérines, un tissu conjonctif (stroma) hautement spécialisé riche en cellules contenant les vaisseaux sanguins, notamment les artères spiralées branches des artères utérines, ainsi qu'un système de drainage veineux. On distingue au niveau de l'endomètre deux couches :

- la couche fonctionnelle : siège au niveau des deux tiers supérieurs de la muqueuse, montre une épaisseur variable, elle témoigne de modifications cycliques, et elle est régulièrement éliminée.

- la couche basale: située en profondeur au niveau du tiers inférieur de l'endomètre, elle n'est que peu influencée par le cycle, et elle n'est pas éliminée par desquamation. C'est à partir d'elle que la couche fonctionnelle se reconstruit (**Bayer et Decherney, 1993**).

3. Physiologie de l'endomètre

L'endomètre est l'un des tissus les plus complexes, subissant à l'état physiologique des modifications prolifératives et sécrétoires permanentes sous le contrôle de l'axe hypothalamo-gonadique (**Ballester, 2013**).

Pendant la période de la reproduction, l'endomètre subit des modifications morphologiques et physiologiques caractérisées par une croissance, une différenciation sécrétoire et en l'absence de fécondation, une menstruation et une régénération, ceci impliquent surtout la partie fonctionnelle de l'endomètre, au niveau de la partie basale les modifications morphologiques sont minimales. Ces modifications morphologiques de l'endomètre sont sous le contrôle des œstrogènes et de la progestérone (Ces deux hormones agissent sur le développement de l'endomètre) sécrétés par l'ovaire de manière cyclique, et des facteurs de croissance et des enzymes synthétisés par ces hormones. La première phase (phase proliférative) est sous la domination essentielle des œstrogènes. Ils stimulent le développement des cellules muqueuses et l'endomètre va atteindre environ 5 mm d'épaisseur (10 mm pour les deux faces de la cavité utérine) lors de l'ovulation (**Ballester, 2013**).



1. Définition

Le cancer de l'endomètre (CE) est le cancer gynécologique le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes en Europe, aux USA et au Japon (**Purdie et Green, 2001**). Le CE est une tumeur maligne c'est-à-dire une masse composée de cellules qui ont perdu leur différentes fonctions, leur capacité de se réparer ou de mourir et vont alors se multiplier à l'infini aux dépens du tissu sain et de l'organisme (**Le Digabel, 2014**).

La carcinogenèse est un processus progressif s'accompagnant de modifications génétiques, biochimiques et morphologiques. Le CE fait suite à des lésions d'hyperplasie glandulaire atypique du fait d'une hyperstimulation de l'endomètre par les œstrogènes mais certains types de cancers de l'endomètre, plus rares, sont œstrogène-indépendants et sans hyperplasie précessive (**Kurman et Norris, 1982; Mutter et al., 2000**). Bien que certains mécanismes de carcinogenèse dans les cancers gynécologiques soient mieux compris, en partie grâce à la biologie moléculaire, il est nécessaire de poursuivre ces investigations (**Silverberg, 2000**).

2. Epidémiologie

Environ 320 000 femmes sont diagnostiquées avec un cancer de l'endomètre dans le monde. Il est plus fréquent dans les pays développés (**Galaal et al., 2014**). C'est le sixième cancer le plus fréquent chez les femmes, chaque année 76 000 femmes meurent de ce cancer. La survie relative à 5 ans est de 76% en France. En 2010, le nombre de décès secondaires à ce cancer est estimé à 1900 personnes (**Suh et al., 2012**). Aux USA, ce cancer représente la 8ème cause de mortalité par cancer chez la femme avec 7780 décès en 2009 (**Wright et al., 2009**).

3. Le développement d'un cancer de l'endomètre

3.1. Naissance du cancer

Les cellules cancéreuses sont originaires de la composante glandulaire de la muqueuse utérine. Elles forment une masse polypoïde très friable avec une composante superficielle nécrotique. Ce qui explique la prédominance (90%) des métrorragies comme symptôme révélateur (**Gallon, 2004**).



La plupart des cancers ont pour point de départ la face postérieure de l'utérus. Avec son développement le cancer va s'étendre sur une surface plus importante de l'endomètre, puis vers le segment Inférieur de l'utérus, puis vers le col. L'invasion du myomètre est simultanée (**Gallon, 2004**).

3.2. Diffusion

Lorsqu'un cancer apparaît, les cellules cancéreuses sont d'abord peu nombreuses et limitées à l'épithélium de l'endomètre ; on parle de cancer in situ Avec le temps et si aucun traitement n'est mis en place, les cellules cancéreuses franchissent la limite de l'épithélium. La tumeur s'étend plus profondément dans la paroi de l'utérus, d'abord dans le tissu conjonctif de l'endomètre, puis dans le myomètre, On parle alors de cancer invasif (**Lodish et al., 2000**).

Le cancer peut s'étendre au col de l'utérus ou à la séreuse utérine, puis au-delà de l'utérus et envahir les structures et organes voisins : les trompes de Fallope, les ovaires, le vagin, les paramètres, les ganglions lymphatiques proches (pelviens ou para aortiques), la vessie, l'intestin. Parfois, des cellules cancéreuses se détachent de la tumeur, empruntent les vaisseaux lymphatiques ou sanguins et s'implantent dans d'autres parties du corps plus éloignées comme les ganglions lymphatiques de l'aîne et de l'abdomen ou encore les poumons, le foie, les os ou le cerveau, où elles forment des métastases (**Halperin et al., 2001; Mariani et al., 2002**).

4. Etiologie et facteurs de risque du cancer de l'endomètre

À l'heure actuelle, les causes de l'apparition de la CE ne sont pas claires. Certains facteurs de risque ont été identifiés. Un facteur de risque augmente le risque d'apparition du cancer, mais n'est ni suffisant ni nécessaire pour provoquer le cancer. Il ne constitue pas une cause en soi (**Countries et al., 2007**).

Les principaux facteurs de risque sont multiples : facteurs hormonales, facteurs génétiques, facteurs métaboliques (obésité, hypertension)...



4.1. L'Age

C'est le principal facteur de risque non modifiable et le plus important (**Oldenburg et al., 2013**). L'adénocarcinome de l'endomètre survient, dans 80 % des cas, chez des patientes ménopausées, avec une forte incidence entre 50 et 65 ans .avant 40 ans il ne présente que 5 % (**Trévoux et Collectif, 2009**).

4.2. L'obésité

L'obésité a un faible effet sur la concentration de l'œstradiol mais, c'est une cause de l'augmentation de la fréquence des cycles menstruels irréguliers et anovulatoires résultant de la réduction de la phase lutéale progestéronique (**Punyadeera et al., 2003**).

4.3. Les médicament

Pour les femmes qui possèdent des antécédents personnels de cancer du sein, le risque est également plus élevé si elles ont été traitées par tamoxifène (**Rose, 1996**).

Le tamoxifène est un anti-œstrogène, de sorte qu'une diminution du risque pourrait être attendue mais, le tamoxifène possède aussi un effet stimulant sur l'endomètre, ce qui peut favoriser le développement ou la croissance du cancer de l'endomètre (**Rose, 1996**).

4.4. Le diabète et l'hypertension :

On retrouve trois fois plus de diabète que dans la population générale car le diabète modifie le taux d'œstrogènes et ses effets (**Gallon, 2004**).

L'hypertension pourrait être associée à un risque plus élevé du cancer de l'endomètre, mais les raisons de cette association restent peu claires (**Gallon, 2004**).

4.5. Les facteurs hormonaux

➤ L'œstrogène et la progestérone

La plupart des cancers de l'endomètre ont besoin d'œstrogènes pour se développer. En l'absence d'œstrogènes, ils cessent de croître ou croissent plus lentement. Aussi, les facteurs qui augmentent le risque d'apparition du cancer de l'endomètre sont liés aux œstrogènes.



Les œstrogènes entraînent la prolifération de l'épithélium endométrial alors que la progestérone transforme le tissu en prolifération en tissu sécrétoire, propice à l'implantation (**Punyadeera et al., 2003**). C'est ce processus qui, lorsqu'il est déséquilibré, peut mener à l'hyperplasie du tissu endométrial et conduire au développement du cancer (**Lethaby et al., 2004**).

Des niveaux élevés d'œstrogènes en circulation sanguine chez la femme augmentent les risques de cancer de l'endomètre (**Zeleniuch-Jacquotte et al., 2004**).

Les hormones de remplacement à la ménopause sans progestatif seraient associées à l'adénocarcinome de l'endomètre (**Persson et al., 1989; Muggia et Oliva, 2009**).

➤ **Les androgènes plasmatiques**

Plusieurs études ont montré que le risque de l'adénocarcinome de l'endomètre augmente chez les femmes pré et post ménopausées avec l'augmentation du taux plasmatique des androgènes (**Bonney et al., 1986**).

4.6. La ménarche précoce et la ménopause tardive

La plupart des études ont constaté que la ménarche précoce et la ménopause tardive sont positivement associés au risque de l'adénocarcinome de l'endomètre (**Tortolero-Luna et Mitchell, 1995**). Une association avec des cycles menstruels longs ou irréguliers a aussi été rapportée (**Caanen et al., 2015**).

5. Génétique du cancer de l'endomètre

Le CE est une cause majeure de morbidité et mortalité de la femme dans le monde (**Cramer, 2012**). Il est d'origine génétique (**Shai et al., 2014**).

Il existe deux principaux types de CE qui se différencient sur les plans clinique, histologique et génétique (**Tableau 1**). Selon chacun de ces deux types ont déterminé des altérations génétiques différentes:

- ✚ **Pour le type 1 ou cancer endométrioïde** : quatre anomalies génétiques différentes peuvent survenir : dans le gène *PTEN*, des mutations instabilité des microsatellites par mutations des gènes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *k-RAS* et *β-caténine* (**Oehler et al., 2003**).



- ✚ **Pour le type 2 ou cancer non-endométriode** : des mutation de *TP53* ou de perte d'hétérozygotie (LOH) sur différents chromosomes ainsi qu'une amplification d'*HER2-neu* qui est associée à l'absence de récepteurs aux œstrogènes et pourrait être liée à l'évolution métastatique de la maladie (**Matias-Guiu et al., 2001; Oehler et al., 2003**).

5.1. Aspects de génétique moléculaire associés aux carcinomes endométriodes de l'endomètre

Ce type de cancer est souvent associé au syndrome de lynch et plus encore au système *MSI* et *MMR*

➤ **Instabilité des microsatellites (MSI)**

Les microsatellites caractérisent des séquences d'ADN répétées non codantes, qui se retrouvent disséminées dans l'ADN de tout sujet, qui ont une transmission mendélienne co-dominante, avec un grand polymorphisme, on ne connaît pas leur rôle ni leur origine (**Rech et al., 2014**).

MSI est l'accumulation progressive d'altérations au niveau des microsatellites, au niveau de gènes régulateurs a un rôle promoteur au niveau de la carcinogenèse. MSI est retrouvée dans 17 à 25% des formes sporadiques de CE de type I et très rarement dans les CE de type II et surviendrait précocement dans le processus pathologique (**Catasus et al., 1998; Salvesen et al., 2000**).

Les anomalies des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN (gènes *MMR*) qui codent pour des enzymes responsables de la réparation des anomalies survenant au cours de la réplication de l'ADN. Augmentent le risque de cancer de l'endomètre (**Esteller et al., 1998**).



Les gènes essentiels sont :

- ***MLH-1***

Est un gène comportant 19 exons codant pour une protéine de 756 acides aminés. Ce gène est l'homologue humain de MutL qui est un gène de réparation de l'ADN du système MMR de Escherichia Coli. Il est localisé en 3p21.3 (**Drost et al., 2010**).

- ***MSH-2***

Le gène *MSH2* comporte 16 exons codant pour une protéine de 934 acides aminés. Il est localisé en 2p21 (**Drost et al., 2010**).

- ***MSH-6***

Le gène de *MSH6* comporte 10 exons codant pour une protéine de 1360 acides aminés. Il est localisé en 2p16 (**Hegde et al., 2014**).

Dans le CE, il s'agit le plus souvent d'anomalies conduisant à l'inactivation épigénétique ou à l'extinction de ces gènes et non pas de mutations, comme par exemple l'hyperméthylation des îlots CpG du promoteur de ces gènes (**Esteller et al., 1998**). Les cancers de l'endomètre avec MSI auraient un meilleur pronostic (**Maxwell et al., 2001**).

➤ ***PTEN***

Est un gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 10 qui code pour une protéine à 403 AA. Ce gène ayant une fonction tyrosine kinase et une activité phosphatasique lipidique et protéique (**Mutter et al., 2000**). Cette protéine est impliquée dans l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1/S, de plus, elle intervient sur le mécanisme de l'apoptose (**Wu et al., 2003**). Plus de 80% des adénocarcinomes endométriaux et plus de 55% des lésions précancéreuses de l'endomètre révèlent une perte d'expression de PTEN suggérant la précocité de survenue de cette anomalie dans le processus de carcinogenèse, cette perte d'expression étant par ailleurs le plus souvent liée à une mutation et plus rarement à une perte d'hétérozygotie (LOH) (**Mutter et al., 2000**).

➤ ***K-ras***

Le gène K-ras situé sur le chromosome 12 humain de 21 kDa, est une petite GTPase membranaire fonctionnant comme un interrupteur moléculaire durant la signalisation cellulaire et est impliqué dans la croissance et la différenciation tumorales.



Les mutations de K-ras ont été mises en évidence dans 19 à 46% des cancers endométrioïdes de l'endomètre (Slomovitz et al., 2015; Ellenson, 2016).

➤ *β-caténine*

La *β-caténine* est une molécule multifonctionnelle capable à la fois de contrôler l'adhérence cellulaire et de participer à la transmission du signal relayé par les facteurs de la famille (Montross et al., 2000).

Le gène de la *β-caténine* est situé sur le chromosome 3 (3p21) et code pour une protéine de 88 kDa qui joue un rôle essentiel dans l'organisation du cytosquelette et l'adhésion intercellulaire médiée par l'E-cadhérine. Les mutations de la *β-caténine* sont présentes dans 30 à 40% des cancers endométrioïdes de l'endomètre et conduisent à l'accumulation de *β-caténine* dans le cytoplasme et à sa translocation dans le noyau de la cellule où elle active directement ou indirectement ses gènes cibles (*c-myc*, *cycline D*) (Moreno-Bueno et al., 2002; Schlosshauer et al., 2002).

5.2. Altérations génétiques dans les carcinomes non endométrioïdes de l'endomètre

Deux gènes ont montré un impact potentiel dans le CE : le gène TP53 et le gène HER2-neu

➤ *TP53*

La mutation de TP53 conduit à la synthèse d'une protéine non fonctionnelle qui va s'accumuler agissant comme un inhibiteur dominant négatif de la protéine *p53* sauvage. Dans des cellules exprimant une *p53* mutée, il n'y a ni arrêt cellulaire, ni apoptose. 71 à 85% des tumeurs séreuses papillaires et 75% des carcinomes intra-épithéliaux (EIC) de l'endomètre sur-expriment *p53*, révélant la précocité des anomalies dans le processus de carcinogénèse (Erkanli et al., 2004; Robboy, 2009; Merritt et Cramer, 2010).

➤ *HER2-neu*

HER2 est le nom plus connu du gène *ErbB2*. *HER2* ou *HER2/neu* (human epidermal growth factor receptor 2), c'est-à-dire récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain. Le rôle du *HER2* est de contrôler une protéine située à la surface des cellules qui les aide à croître. Si le gène *HER2* change, cela favorise la croissance d'une tumeur (Moasser, 2007). La surexpression d'*HER2-neu* et l'amplification de ce gène ont été retrouvés dans respectivement 45 et 70% des tumeurs séreuses papillaires de l'endomètre (Halperin et al., 2001; Robboy, 2009).



6. Classification

Il existe deux types de CE qui diffèrent sur les plans clinique, histologique et génétique (Oehler et al., 2003).

Une classification anatomopathologique qui repose sur la description histologique des tumeurs (Annexe 1 et 2). Les médecins utilisent le stade du cancer afin d'évaluer l'extension du cancer et le pronostic de la patiente. Dans le cas du cancer de l'endomètre, le système de stadification de la Fédération internationale de Gynécologie-Obstétrique (FIGO) est généralement utilisé.

Tableau 01 : classification clinique du cancer de l'endomètre de type I et II (Oehler et al., 2003).

| Paramètres | Adénocarcinome Type 1 | Adénocarcinome Type 2 |
|--------------------------|--|--|
| Age | 50-60 ans | 60-70 ans |
| Obésité | Fréquente | Indifférente |
| Stimulation estrogénique | Fréquente | Indifférente |
| Endomètre | Hyperplasie | Atrophie |
| Précurseur | Hyperplasie atypique ou EIN (néoplasie endométriale intraépithéliale) | EIC (carcinome endométrial intraépithélial) |
| Evolution | Lente | Rapide |
| Type | Endométrioïde | Séreux papillaire ou cellules claires |
| Biologie moléculaire | <i>MSI</i> : 17 à 25 % <i>PTEN</i> inactivation : plus de 55% Mutations <i>K-ras</i> : 19 à 46 % Mutations <i>β-caténine</i> : 30 à 40% Mutations <i>TP53</i> : 10 à 20% <i>HER2/neu</i> : NR | <i>MSI</i> : 0 à 5% <i>PTEN</i> inactivation : 10% Mutations <i>K-ras</i> : 0 à 5% Mutations <i>β-caténine</i> : 0 à 3% Mutations <i>TP53</i> : 75 % <i>HER2/neu</i> : 45 à 70% |
| Familial | HNPCC | |
| Extension | Ganglions lymphatiques | Péritoine |
| Métastases ovariennes | Fréquente | Rares |



| | | |
|------------------|-----|---------|
| Pronostic | Bon | Mauvais |
|------------------|-----|---------|

➤ **Grade histologique**

Le grade désigne le degré d'agressivité d'une tumeur. Il est défini par les différences d'aspect et de comportement des cellules de la tumeur par rapport aux cellules normales observés au microscope (Noël et al., 2002).

Le grade s'échelonne de I à III :

- Grade I : tumeur très différenciée.
- Grade II : tumeur moyennement différenciée
- Grade III : tumeur totalement indifférenciée

7. Symptômes

Du fait d'une évolution généralement lente, le CE ne se signale pas par des symptômes très caractéristiques. Le signe le plus fréquent du cancer de l'endomètre est un saignement vaginal. Il s'agit essentiellement (95 à 98 % des cas) de métrorragies post-ménopausiques ou péri-ménopausiques, en général spontanées, indolores et peu abondantes. Il y a d'autres symptômes comme les leucorrhées voire pyrométrie, pesanteurs ou douleurs pelviennes, troubles urinaires, parfois le frottis de dépistage (rare), traduit une extension au col utérin (Scotté et al., 2002).

8. Pronostic

Le pronostic du CE limité au corps utérin dépend principalement de la profondeur de l'invasion myométriale, de la présence d'embolies vasculaires, du grade histologique et du statut ganglionnaire (Boronow et al., 1984 ; Creasman et al., 1987).

Son pronostic reste relativement favorable avec un taux de mortalité par cancer qui reste le plus faible en comparaison à d'autres cancers féminins (Sorosky, 2008).

L'âge est considéré par plusieurs auteurs comme facteur pronostic : dans leur essai randomisé, Creutzberg et al. Ont retrouvé l'âge de 60 ans ou plus comme facteur prédictif indépendant de mortalité par cancer de l'endomètre au stade I (Creutzberg et al., 2015).

9. Diagnostic



Le diagnostic du CE est suspecté devant des métrorragies, après exclusion d'une pathologie du col par un examen gynécologique (**Denschlag et al., 2011**).

Le prélèvement peut être effectué soit par une biopsie de l'endomètre soit par un curetage de la paroi interne du corps et du col utérin, parce que seules l'observation et l'analyse de tissus de l'endomètre, prélevés par ce ci, permet d'établir un diagnostic définitif (**Dimitraki et al., 2011**).

9.1. Examen clinique (INCA ,2009)

Un examen gynécologique est pratiqué afin d'évaluer la localisation et le volume de la tumeur ainsi que pour déterminer si elle s'est étendue à d'autres organes du bassin suivi d'un interrogatoire pour

9.2. Examen radiologique.

Il s'agit notamment d'un examen de l'utérus par échographie (**CNGOF**). Une sonde est introduite dans le vagin afin d'être plus proche de l'utérus et de permettre ainsi un meilleur examen. Cette technique est appelée échographie par voie vaginale. Durant cet examen, l'épaisseur de l'endomètre est mesurée. Si celle-ci dépasse 3 ou 4 mm, un échantillon du tissu de l'endomètre (biopsie) est prélevé. Des examens complémentaires tels qu'une radiographie du thorax, une échographie abdominale et un scanner abdominal peuvent être réalisés afin d'exclure la présence de métastases (**Fishman et al., 2005**).

L'IRM est l'examen de référence pour le cancer de l'endomètre. Cet examen permet la réalisation d'un bilan d'extension locorégionale (pénétration du myomètre, envahissement ganglionnaire, extension cervicale) (**Rieck et al., 2005**). En IRM, la disparition de la zone de jonction est prédictive d'un envahissement du myomètre (**Cabrita et al., 2008**).

9.3. Examens biologiques

Sur le plan biologique, le dosage du CA125 a montré un intérêt dans les formes avancées. Une élévation du CA125 est corrélée à la présence de localisations extra-utérines (**Ginath et al., 2002**).



9.4. Examen anatomopathologique

Il s'agit de l'examen des cellules tumorales en laboratoire, par dissection d'un échantillon de la tumeur.

10. Traitement

Le traitement principal du CE repose sur l'exérèse chirurgicale. L'objectif des techniques préopératoires est de sélectionner au mieux les patientes ayant un bénéfice à un traitement chirurgical incluant une lymphadénectomie pelvienne et lombo-aortique, geste lourd présentant une morbidité importante notamment dans cette population de patientes souvent ménopausées et souvent porteuses d'autres comorbidités (**May et al., 2010**).

D'autres traitements peuvent être utilisés : la curiethérapie, la radiothérapie externe et, plus rarement, la chimiothérapie et l'hormonothérapie. Ces traitements peuvent être utilisés seuls ou être associés entre eux. Ils peuvent avoir pour objectif, selon les cas (**INCA-2013**) :

- de supprimer la tumeur et/ou les métastases.
- de réduire le risque de récurrence.
- de ralentir le développement de la ou des métastases.
- de traiter les symptômes engendrés par la maladie.



II. La P53

1. Historique

La protéine P53 a été découverte pour la première fois en 1979 comme un antigène spécifique de certains sarcomes induits chimiquement dans les souris (**DeLeo, Jay et al. 1979**). Elle a été également trouvée dans les cellules cancéreuses ou transformées par certains virus (**Lane et Crawford 1979; Cesario et Marcus, 2011**). Son expression est augmentée dans le cas de stimulation de la prolifération cellulaire. elle a été considérée comme un proto-oncogène (**Lodish et al., 2000**). Cependant au 1989 la p53 est identifiée comme suppresseur de tumeur suite à l'observation de la perte de son activité dans de nombreuses tumeurs humaines et murines (**Nigro et al., 1989; Hollstein et al., 1991; Hollstein et al., 1994**).

2. Le gène P53

Le gène *p53* code pour un facteur de transcription qui joue un rôle essentiel dans la régulation de cycle cellulaire, il est situé en 17q13 (**Aylon et Oren, 2007; Heron, 2009**).

Ce gène est constitué de 11 exons. La séquence codante commence dans le deuxième exon et se termine dans le dernier exon. Il code pour une protéine nucléaire de poids moléculaire de 53.000 daltons, constitué de 393 AA. C'est une protéine ubiquiste présente dans tous les tissus normaux étudiés à des taux cytoplasmiques faibles (**Aylon et Oren, 2007**).

Le gène *P53* appartient à la famille des gènes suppresseurs de tumeurs (appelée anti-oncogènes). Ces gènes sont, dans les cellules normales, sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire. Ils empêchent ainsi une prolifération excessive. Lorsqu'ils sont absents ou déficients, ils peuvent être à l'origine de certains cancers. Ces gènes agissent selon le mode récessif. En effet l'inactivation des deux allèles est nécessaire pour produire la perte de fonction (**Rivlin et al., 2011**)

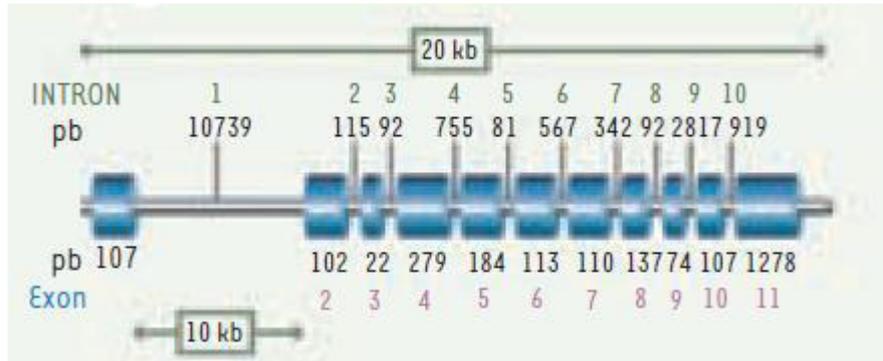


Figure 02 : Structure du gène *p53* (Aylon et Oren, 2007).

3. La protéine p53

La protéine p53 est une phosphoprotéine nucléaire de 393 acides aminés d'une masse moléculaire de 53 kDa, On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules transformées en culture ou dans les tumeurs humaines, et qui induit la transcription de certains gènes lorsqu'elle est sous forme de tétramère (Heron, 2009).

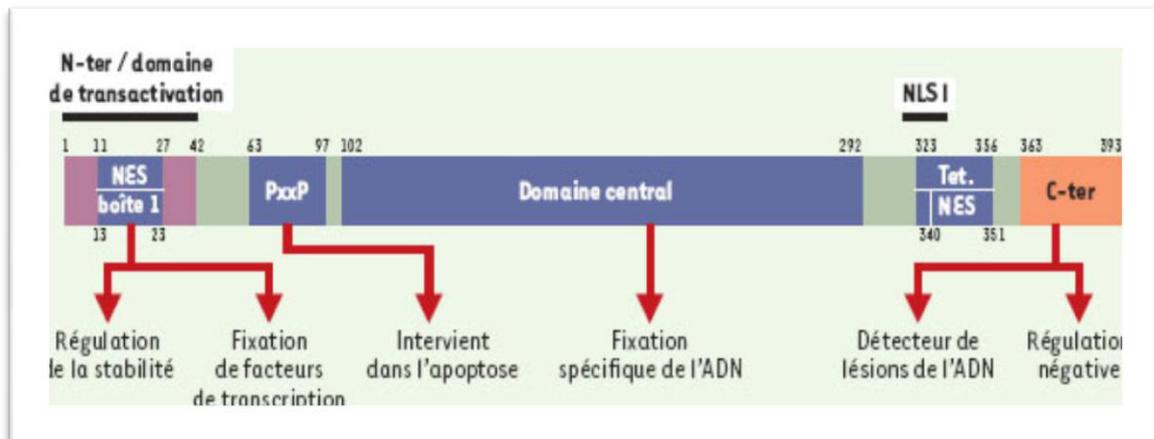


Figure 03 : Structure schématique et domaines fonctionnels de la protéine p53 (Toledo et Wahl, 2006).

Elle est constituée de cinq domaines principaux (Toledo et Wahl, 2006) : Le domaine de transactivation (acides aminés 1-42) en N-terminal,. Le domaine riche en proline (63-97). Le domaine de liaison à l'ADN (102-292). Le domaine de tétramérisation (335-356) et le domaine C-terminal (363-393).



4. La régulation de P53

La protéine p53 peut être régulée à différents niveaux. Ceci est possible grâce à l'action de nombreux régulateurs positifs et négatifs souvent capables d'induire des boucles de rétrocontrôle. Cette régulation se produit à trois niveaux : au niveau de la stabilisation de la protéine, au niveau de son activité et au niveau de sa distribution cellulaire. Le principal régulateur de p53 est le proto oncogène HDM2 (Human Double Minute 2), l'analogue humain de MDM2 (Murin Double Minute 2). L'importance de cette protéine dans la régulation négative de p53 est telle que l'interaction HDM2-p53 est une cible thérapeutique séduisante pour le développement de nouveaux traitements. HDM2 est transcrit par p53, ainsi, p53 induit sa propre inhibition par une boucle de rétrocontrôle négative. La fixation de p53 à HDM2 conduit à son ubiquitination et à sa dégradation par le protéasome. En plus d'induire sa dégradation, HDM2 masque le domaine de transactivation de p53. L'interaction avec HDM2 est indispensable à la dégradation de p53, en empêchant cette interaction, p53 est stabilisé dans la cellule (**Shangary et al., 2008 ; Shangary et Wang, 2008**).

La régulation de P53 se fait de façon quantitative aux niveaux transcriptionnel et traductionnel, mais aussi qualitative car P53 est régulée par des modifications post traductionnelles par phosphorylation, l'acétylation, méthylation et l'ubiquitination (**Dai et Gu, 2010**).

5. Les fonctions de P53

La fonction clé de la protéine p53 est de protéger les cellules et les empêcher de devenir cancéreuses (**Laptenko et Prives, 2006**).

La p 53 est impliquée dans de nombreux processus comme :

5.1. L'arrêt du cycle cellulaire

La protéine P53 peut induire un arrêt dans la progression du cycle cellulaire, soit en G1, soit en G2/M). L'arrêt du cycle en G1 empêche l'ADN endommagé d'être répliqué et l'arrêt en G2 permet la suspension du cycle avant la ségrégation des chromosomes (**Teyssier et al., 1999**).



5.2. L'apoptose

La p53 agit comme un régulateur du processus apoptotique qui peut moduler les points clés de contrôle dans les deux voies extrinsèques et intrinsèques. Le lien le plus incitatif entre p53 et apoptose médiée par transactivation provient de sa capacité à contrôler la transcription des membres pro apoptotiques de la famille Bcl-2, dont les promoteurs de ces gènes peuvent se lier à la p53, leur effet net est d'augmenter le taux de protéines pro-apoptotiques des familles Bcl 2, qui favorisant ainsi la libération de protéines apoptogènes des mitochondries, l'activation de caspase donc l'activation de l'apoptose (Fridman et Lowe, 2003). La protéine p53 peut inhiber la transcription de gènes anti-apoptotiques comme Bcl-2 ou induire des gènes pro-apoptotiques comme Bax (Miyashita et al., 1994).

5.3.Réparation de l'ADN

La protéine p53 à la capacité de reconnaître certains types de lésions d'ADN et donc représente l'un des mécanismes par lesquels cette protéine module la réponse cellulaire aux dommages causés par l'ADN (Subramanian et Griffith, 2005).

6. Mutations et polymorphismes de la p53

Le gène P53 est muté dans 50% des cancers sporadiques dans la moitié des cas sa fonction est inhibée par des antagonistes oncogènes tels que MDM2 (Murine double minute 2 homologue).

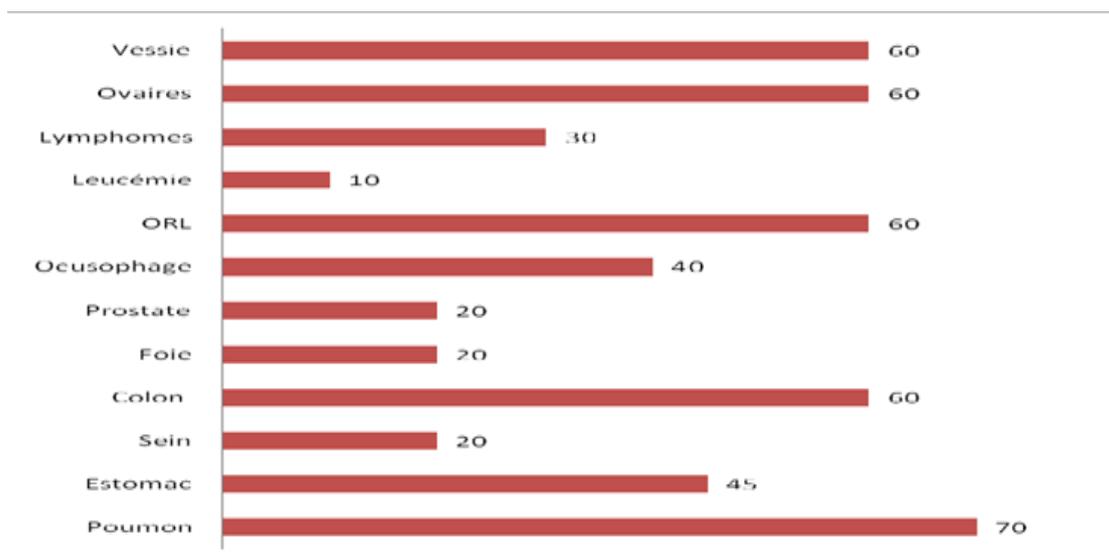


Figure 04 : Le pourcentage des mutations de P53 par type d'organe. (Soussi et al., 2000)



Le polymorphisme est une variation de la séquence d'ADN qui se produit dans une population avec une fréquence de 1% ou plus est appelée polymorphisme (**Brookes, 1999**). L'incidence plus élevée dans la population suggère qu'un polymorphisme est naturel, avec un effet neutre ou bénéfique. Les polymorphismes peuvent également être d'un ou plusieurs changements de nucléotides, tout comme les mutations (**Aerts et al., 2002 ; Henry et Gouyon, 2008**).

De nombreux Singal nucleotid polymorphisms (SNPs) sont présents au niveau du locus P53, ils peuvent augmenter le risque de cancer et affecter la réponse à des schémas thérapeutiques

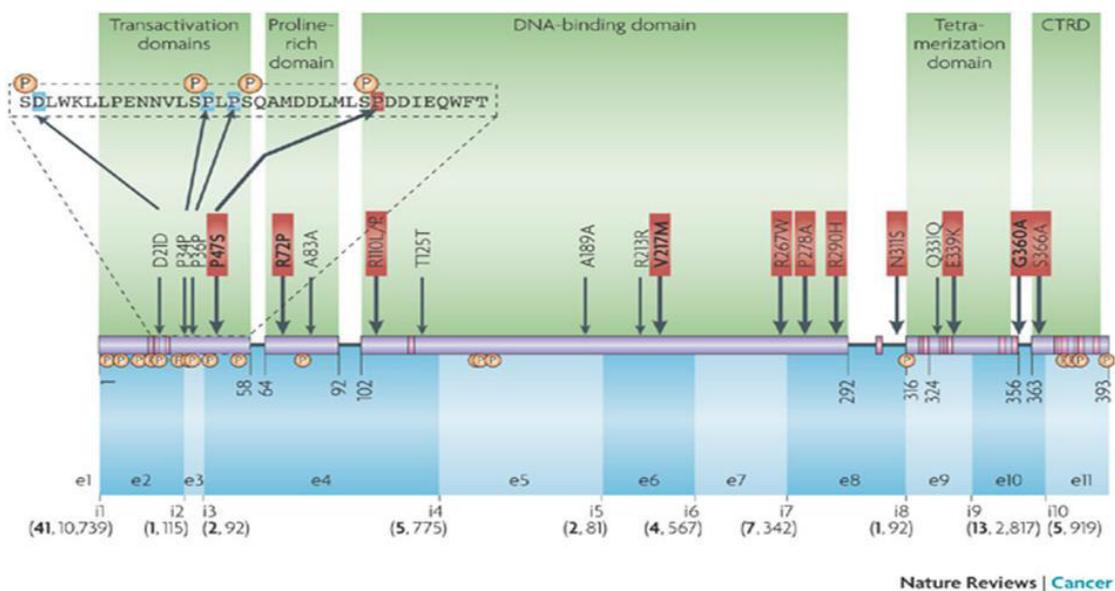


Figure 05: Les différents polymorphismes de gène P53 (**Whibley et al., 2009**)

7. Relation SNP Arg72pro et cancer de l'endomètre

La protéine p 53 est une protéine suppressive de tumeur dont le gène est altéré dans 50% des cancers humains où elle est l'agent le plus important de la protection de la cellule contre la cancérisation. L'inactivation de p53 peut à la cancérisation, si p53 est muté, la cellule devient bien plus à risque de transformation maligne (**Soussi et Wiman, 2007**).

De très nombreux polymorphismes ont été décrits pour le gène *p53* et parmi eux le polymorphisme qui se définit au niveau du codon 72 responsable de la diminution de l'activité de la protéine, c'est le polymorphisme le plus étudiés dans le gène P53 (**Soussi, 2010**). Le polymorphisme du codon 72 est un polymorphisme à un seul nucléotide dans



l'exon 4, est une substitution d'une cytosine en Guanine conduisant à une variation de Proline (CCC) en Arginine (CGC) au niveau du codon 72 Noté Arg 72 Pro. Donc chaque individu porte l'un des génotypes pouvant être hétérozygote (Arg / Pro) ou homozygote pour Arg / Arg ou Pro / Pro. Ces trois variantes de p53 semblent être différents à la fois de manière biochimique et biologique (**Tominaga et al., 2010**).

Le polymorphisme Arg72Pro influence la fonction de la p53. Il est situé dans un domaine riche en proline de la protéine, ce qui est essentiel pour sa capacité à lier l'ADN à induire l'apoptose, ainsi il pourrait accroître le risque de la carcinogénèse. (**Li et al., 2010**).

Partie pratique



I. Patients

Ce travail est réalisé au niveau du service de gynécologie du centre Hospitalo-universitaire IBN BADIS de Constantine (CHUC). Nous avons étudié 2 populations :

Une population qui comporte 53 femmes supposées saines

Une population de 25 patientes qui atteintes du cancer de l'endomètre.

Nous avons réalisé une étude sur les dossiers des malades traitées au niveau du service de gynécologie du CHUC de la période 2011-2016 et avons également effectué des prélèvements sanguins sur les patientes présentés de ce service.

II. Méthodes

1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement de sang a été effectué et le sang a été recueilli dans un tube contenant l'EDTA comme anticoagulant.

2. Extraction d'ADN génomique à partir du sang total

Les leucocytes sanguins représentent la source d'ADN la plus facilement exploitable. Plusieurs techniques d'extraction d'ADN relativement simples, permettent d'obtenir un ADN de pureté élevée et de quantité importante, celle employée dans notre laboratoire est une méthode utilisant un solvant inorganique, le NaCl et se fait en trois étapes ; la préparation des leucocytes, l'extraction de l'ADN proprement dit et enfin la solubilisation.

2.1. Principe

L'extraction de l'ADN est une technique permettant d'isoler l'ADN de cellules ou de tissus selon les étapes suivantes :

- Lyse des cellules
- Elimination des protéines
- Précipitation à l'alcool

2.2. Procédure(voire l'annexe 03)



3. Analyse de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait

La contamination de l'ADN est déterminée systématiquement par un dosage spectrophotométrique à 260 nm par les protéines et l'éthanol restants. Une mesure de la densité optique (DO) ou de l'absorbance de l'ADN à 260 nm et à 280 nm est effectuée, car les protéines absorbent à 280 nm, le phénol à 270 nm et les bases puriques et pyrimidiques fortement dans l'ultraviolet à 260 nm.

4. Génotypage du polymorphisme Arg72pro du gène p53 par PCR-RFLP

Le génotypage du polymorphisme Arg72pro du gène *p53* consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène concerné, en utilisant l'enzyme de restriction *Bsh1236I* (*Bacillusphaerius*). La détermination du génotype a été effectuée en plusieurs étapes successives :

- La PCR
- Contrôle du produit de PCR sur gel d'agarose à 2 %
- La digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction *HinI*
- La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel d'agarose à 3 %
- visualisation des produits de digestion par trans-illumination sous UV.

4.1. La PCR

4.1.1. Principe de la PCR

La PCR est une méthode de biologie moléculaire d'amplification exponentielle génique *in vitro*, qui permet de dupliquer en grand nombre une séquence cible d'un ADN donné par l'utilisation d'une ADN polymérase thermostable, d'amorces et des quatre désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP).

Une série de réactions appelées cycles de température (n = le nombre de cycles), Chaque cycle représente une succession de trois réactions : une dénaturation des brins d'ADN, une hybridation des amorces et une élongation afin d'obtenir une quantité suffisante de la séquence d'ADN désirée.

Les concentrations finales des réactifs nécessaires pour notre étude étaient les suivantes :



Tableau 02: les composants du milieu réactionnel pour la PCR.

| Réactifs | Volumes nécessaires pour un échantillon (µl) |
|--------------------------|--|
| Eau distillée | 16.7 |
| Tampon (10X) | 2.5 |
| MgCl ₂ (25mM) | 1.5 |
| dNTP (5mM) | 2 |
| Amorce S (10 PM) | 0.5 |
| Amorce R (10 PM) | 0.5 |
| Taq polymérase (5U/µl) | 0.3 |

Nous avons pris 24 µl de ce mélange avec 1µl d'ADN pour chaque échantillon.

Les tubes de PCR préparés sont posés dans le thermocycleur programmé au préalable et les conditions d'amplification étaient comme suit :

- Une dénaturation initiale à 94°C pendant 6 minutes
- 35 cycles de PCR : chaque cycle comprend 3 étapes : une dénaturation à 94°C pendant 30 scd, une hybridation à 58°C pendant 30 scd et une élongation à 72°C pendant 30 secondes.
- Une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes

4.1.2. Contrôle des produits PCR

Cette étape est réalisée grâce à une électrophorèse sur un gel d'agarose 2 %.

❖ Préparation du gel d'agarose:

1. Mélanger tampon TBE et agarose à raison de 2 g d'agarose pour 100 mL de tampon.
2. Faire fondre l'agarose à micro-ondes en surveillant pour éviter les projections (Agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange).
3. Laisser refroidir jusqu'à ce qu'il devienne possible de saisir le flacon à main nue.



4. additionné de 10 μ l de l'intercalant Bromure d'éthidium (BET). Ce dernier se fixe entre les bases nucléiques, rendant l'ADN fluorescent sous UV pour visualiser les bandes résultantes.
5. Placer les joints fournis avec la cuve pour fermer le support de gel et positionner le peigne à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support (régler le niveau pour que le support de gel soit horizontal).
6. Couler lentement le gel sur 3 à 5 mm d'épaisseur en veillant à ce qu'il entoure bien les dents du peigne.
7. Laisser refroidir, enlever le peigne et les joints. Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.

❖ Migration

1. Mélanger le colorant de charge BBP 2 μ l et 10 μ l du produit de PCR de sur un morceau de parafilm et prélever le mélange avec une micropipette réglée sur le volume approprié en changeant de cône à chaque prélèvement.
2. Remplir les puits en faisant attention de ne pas déchirer le fond du gel avec la pointe de la pipette.
3. Placer le support avec le gel chargé dans la cuve d'électrophorèse en positionnant les puits du côté de la cathode (pôle noir).
4. Remplir la cuve de tampon TBE (réutilisable plusieurs fois) en versant délicatement et très lentement lorsque le gel commence à être recouvert pour éviter les fuites d'ADN vers le tampon.
5. Fermer la cuve, brancher les fils et mettre sous tension.
6. Laisser migrer jusqu'à ce que le colorant de charge arrive à proximité du bord du gel (le système est soumis à une migration sous un courant de 60 à 100 volts pour une période d'environ 30 min).
7. Couper l'alimentation, débrancher les connections et récupérer le gel dans son support.

❖ Révélation des bandes d'ADN

1. le gel est déposé sous des rayons UV pour pouvoir visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille.
2. Photographier le gel avec un appareil numérique

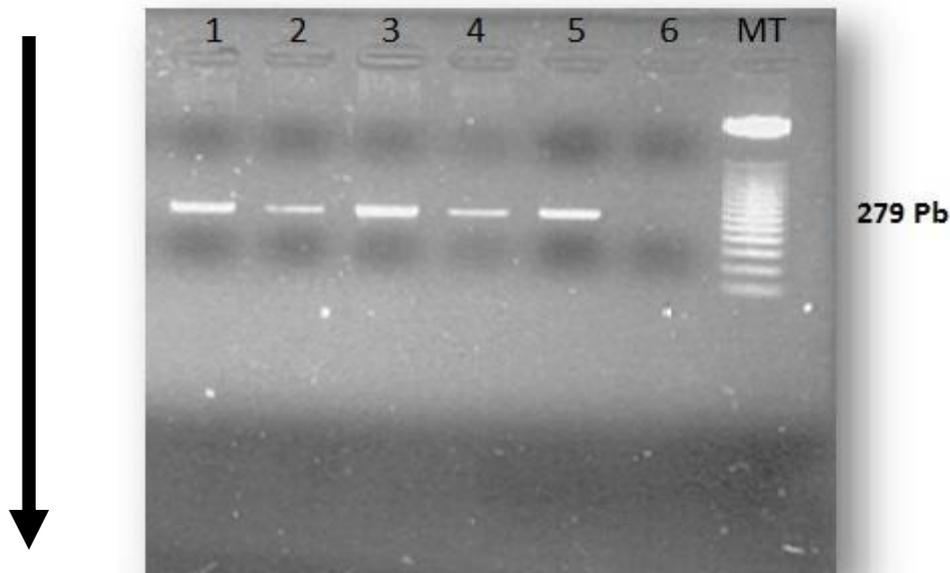
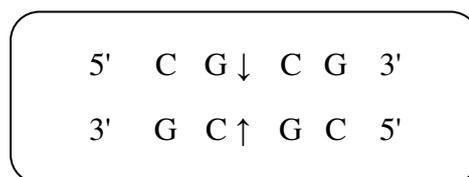


Figure 06: Le profil électro-phorétique de la PCR du p53.

4.1.3. La digestion des produits PCR

La digestion des produits de PCR a été réalisée par l'ajout de 1 µl de l'enzyme de restriction «*Bsh1236I*» à chaque tube contenant le produit de PCR. Le tout est incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C.

L'enzyme de restriction *Bsh1236I* «*Bacillusphaerius* » elle reconnaît la séquence palindromique 5'...CG /CG ...3' et clive nucléotides à droite de celle-ci



Site de restriction de l'enzyme *Bsh1236I*

Pour la digestion des produits PCR nous préparons une quantité d'un mix pour digestion selon le nombre des amplifias à être digérés. Ce mix contient :

L'enzyme de restriction *Bsh1236I* : capable de reconnaître spécifiquement et uniquement une courte séquence de l'ADN de 4 à 10 paires de bases, et de cliver les deux brins du duplex d'ADN au site reconnu



Le tout est incubé pendant une nuit dans une étuve à 37°C.

Tableau 03: les composants du Mix de digestion

| Réactifs | Volumes nécessaires pour un échantillon (µl) |
|----------------------------|--|
| Mélange réactionnel de PCR | 10 |
| Nucléase free | 18 |
| Tampon 10X | 2 |
| <i>Bsh1236I</i> | 1-2 |

Après digestion on ouvre les tubes d'ADN et on augmente la T° de l'étuve jusqu'à 72°C pendant une heure dans le but d'augmenter la concentration du produit de la digestion.

4.1.4. L'électrophorèse des produits de la digestion

Les fragments d'ADN digérés par l'enzyme de restriction sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 3%. Elle se fait exactement dans les mêmes conditions et de la même façon que l'électrophorèse effectuée pour le contrôle des produits de la PCR mais pendant 1h. Lors de la visualisation du gel aux UV on observe deux bandes distinguables pour chaque puits et cela est dû à la digestion qui a induit l'apparition des petits fragments et des grands fragments donc lors de la migration les fragments les plus petits migrent plus rapidement que les fragments qui ont une grande taille.

5. Etude statistique

Cette étude vise, d'avoir l'influence du polymorphisme Arg72pro de l'exon 4 du gène p53 dans la survenue du cancer de l'endomètre.

Les calculs statistiques des échantillons recrutés ont été traités par Excel par le logiciel Epi info version 6.0.

5.1. Calcul de l'Odds Ratio

Pour calculer l'Odds ratio (rapport de cote), nous avons établi un tableau de contingence croisé 2x2.



Tableau 04 : le tableau de contingence.

| | Patients | Contrôle | Total |
|------------|----------|----------|---------|
| Exposé | A | C | A+C |
| Non Exposé | B | D | A+D |
| Total | A+B | C+D | A+B+C+D |

Afin de mesurer l'association entre le polymorphisme et la survenue du cancer de l'endomètre, l'odds ratio est calculé comme suit :

$$OR = a*d / b*c$$

Si :

OR = 1 : pas d'association entre l'exposition et la maladie.

0 < OR < 1 : association négative.

OR > 1 : association positive.

5.2. Choix de la « p value »

Le calcul de la p-value est suivi l'odds ratio. La p-value est l'outil le plus important pour interpréter la sortie d'un test, est un test de signification permet de vérifier au préalable les résultats d'une recherche. La procédure généralement employée consiste à comparer la valeur p à un seuil critique défini (5%).

Résultat
et
Discussion

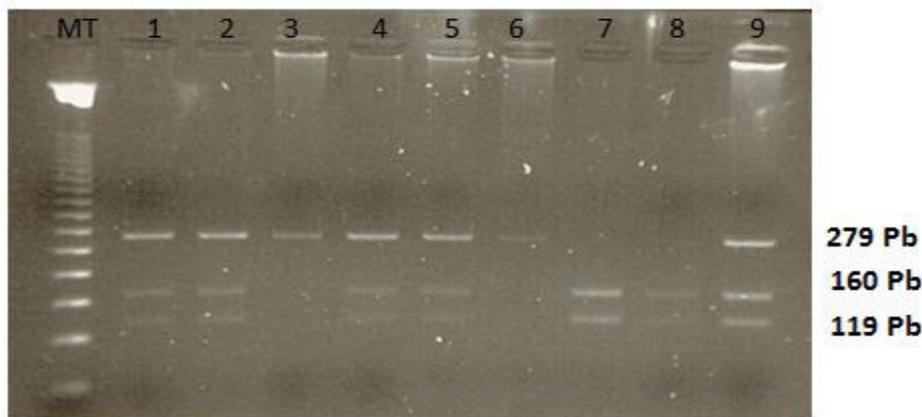


1. Étude moléculaire

Notre analyse moléculaire vise à rechercher une éventuelle association entre le polymorphisme Arg72pro du gène *p53* dans la survenue du cancer de l'endomètre en comparaison avec l'analyse réalisé sur les témoins, au total notre étude comporte 25 patients et 53 témoins.

Ce polymorphisme du codon 72 du *P53* est un polymorphisme à un seul nucléotide dans l'exon 4, qui entraîne un changement de résidus d'arginine (CGC) en de proline (CCC) dans la population normale. La digestion enzymatique de l'amplification du polymorphisme Arg72pro de l'exon 4 du gène *p53* par *Bsh1236I* a donné des fragments 279pb, 160pb et 119pb. Les différents génotypes observés sont :

- ❖ Homozygote sauvage (CC) => Une seule bande de 279 pb.
- ❖ Homozygote muté (GG) => Deux bandes de 160 et 119 pb.
- ❖ Hétérozygote (CG) => trois bandes de 279,160 et 119 pb.



Photographie 07 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose des fragments issus par le clivage du *Bsh1236I* présentant différents génotypes de *p53*.

On observe dans le profil électrophorétiques : les échantillons n°3 et 6 correspondent au type homozygote CC, les échantillons n°7 et 8 correspondent au type homozygote GG, les échantillons n°1, 2, 4, 5,9 appartenant type hétérozygote CG.

2. Fréquences génotypiques et alléliques

Les fréquences génotypiques et alléliques des différentes formes ont été calculées.

- ✓ les fréquences des deux allèles C et G.



- ✓ les fréquences génotypiques des homozygotes (CC), des hétérozygotes (CG) et des homozygotes (GG).

2.1. Chez les témoins

Tableau 05 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins.

| Génotypes | Témoins | |
|-----------|---------|-------|
| | N =53 | (%) |
| CC | 14 | 26.41 |
| CG | 18 | 33.96 |
| GG | 21 | 39.62 |
| Allèle C | 46 | 43.39 |
| Allèle G | 60 | 56.60 |

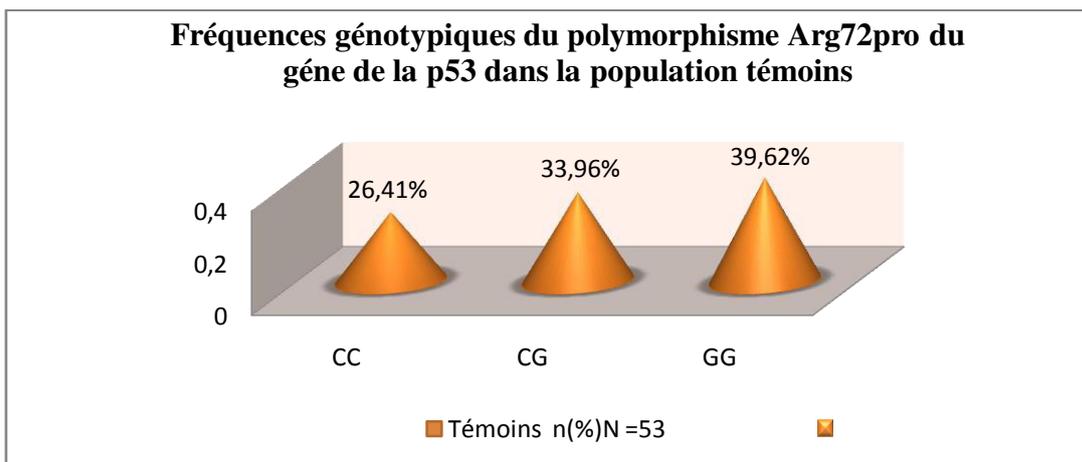


Figure 08 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53

Dans la population témoins, nous avons noté une prédominance de la fréquence génotypique muté (GG) avec un taux de 39.62%, par contre les homozygotes sauvages (CC) représente un taux de 26.41%, les hétérozygotes (CG) représente un taux de 33,96%.

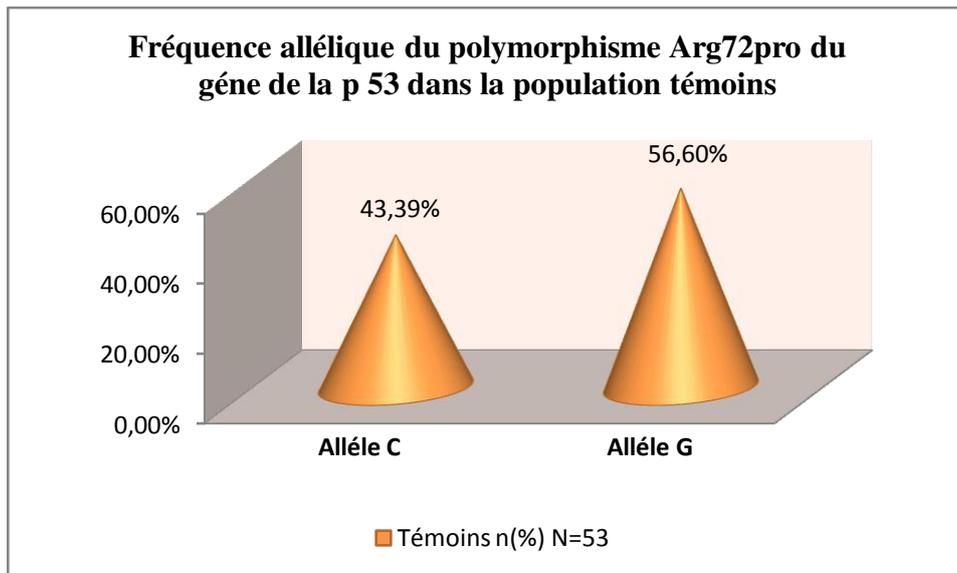


Figure 09 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro

La fréquence de l'allèle G par un taux de 56.60 % est plus importante par rapport à l'allèle C avec un taux de 43.39 %.

2.2. Chez les patientes

Tableau 06 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme Arg72Pro

| Génotypes | Malades | |
|-----------------|---------|-----|
| | N =25 | (%) |
| CC | 1 | 4 |
| CG | 24 | 96 |
| GG | 0 | 0 |
| Allèle C | 26 | 52 |
| Allèle G | 24 | 48 |

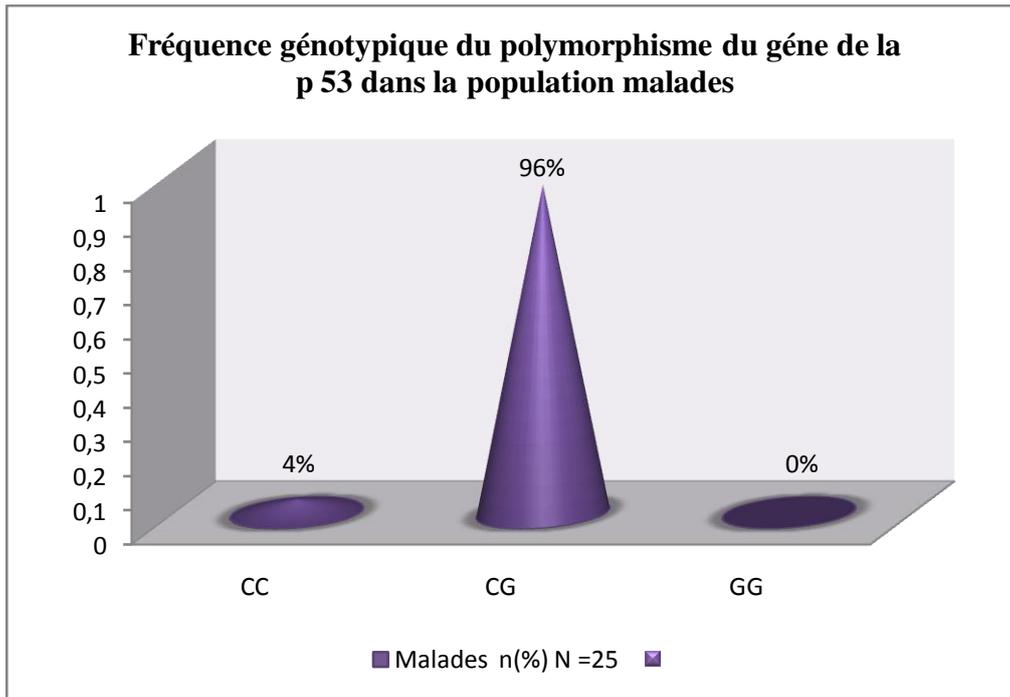


Figure 10 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro

Dans notre cohorte de patientes, les hétérozygotes (CG) représentent le pourcentage le plus élevé avec 96%, les homozygotes sauvages (CC) représentent le pourcentage 4% qui est considérablement faible par rapport à les hétérozygotes. Alors que la fréquence génotypique mutée (GG) est nulle.

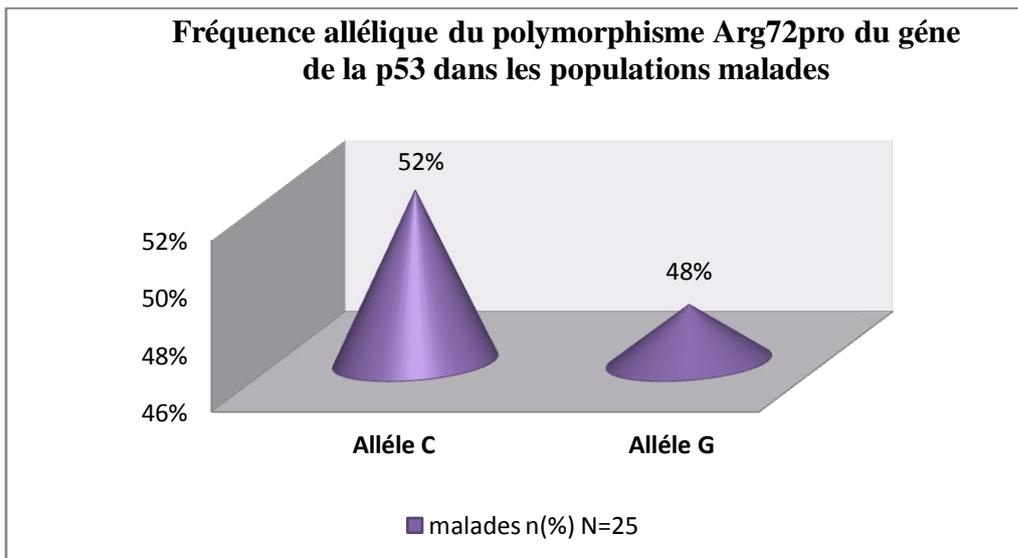


Figure 11 : Fréquences allélique du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans les populations malades.



En calculant les fréquences alléliques, nous avons noté que la fréquence de l'allèle G avec un taux de 48 % est l'allèle C avec un taux de 52 % sont relativement proches.

2.3. La comparaison entre témoins et patientes

Nous donnèrent les proportions suivantes :

Tableau 07 : Fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans les populations témoins et les populations malades

| Génotypes | Témoins | | Malades | |
|-----------|---------|-------|---------|-----|
| | N =53 | (%) | N =25 | (%) |
| CC | 14 | 26.41 | 1 | 4 |
| CG | 18 | 33.96 | 24 | 96 |
| GG | 21 | 39.62 | 0 | 0 |
| Allèle C | 46 | 43.39 | 26 | 52 |
| Allèle G | 60 | 56.60 | 24 | 48 |

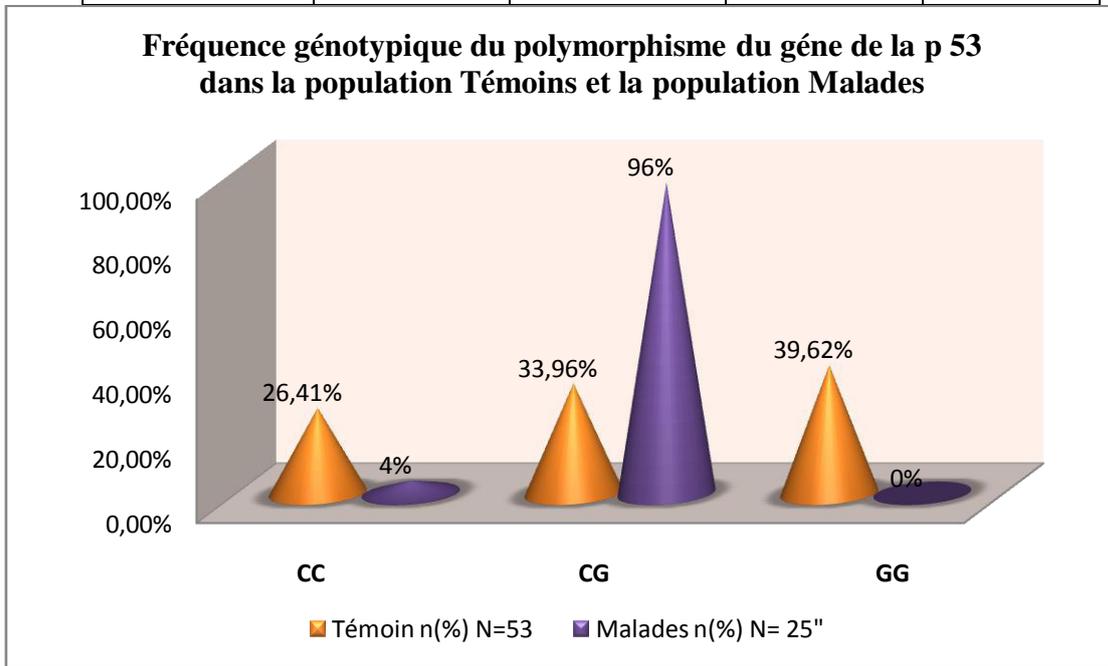


Figure 12: Fréquences génotypique du polymorphisme Arg72Pro

La comparaison entre les fréquences génotypiques des deux groupes témoins et patientes, montre qu'il y a une différence pour les hétérozygotes CG ,33.96% pour la



population témoins et 96 % pour l'autre population. Les fréquences génotypiques CC représentent 26.41% pour les populations témoins et 4% pour les patientes. Le génotype GG est représenté avec un pourcentage 39.36 % chez les témoins cependant il est nulle pour les patientes.

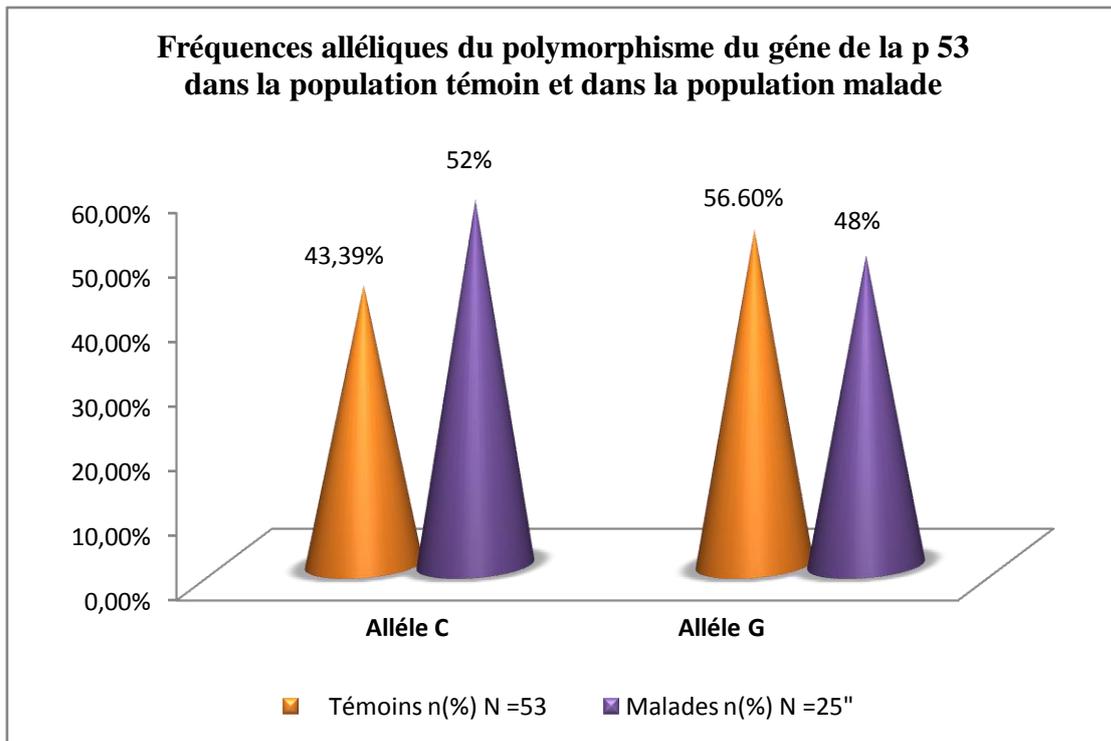


Figure 13 : Fréquences alléliques du polymorphisme Arg72Pro

Nous avons observé que la distribution de la fréquence de l'allèle C de la population malades elle a un taux 52% plus important que la population témoins (43.39%), par contre la fréquence de l'allèle G est l'inverse dans la population témoins (56.60%) supérieurs à celle des patientes (48%).



3. Analyse statistique des résultats

Nous avons effectué une analyse comparative des résultats obtenus dans notre échantillon de patiente versus population témoin afin d'établir une éventuelle relation de cause à effet entre le polymorphisme étudié et le cancer de l'endomètre.

Tableau 08 : La répartition des fréquences génotypiques du polymorphisme Arg72Pro du gène de la p53 dans la population témoins et la population malades.

| Génotype | Témoins | | Malades | | OR | P value |
|----------|----------|-------|---------|-----|-------|---------------|
| | N =53 | (%) | N =25 | (%) | | |
| CC | 14 | 26.41 | 1 | 4 | ----- | ----- |
| CG | 18 | 33.96 | 24 | 96 | 18,67 | 0,0007 |
| GG | 21 | 39.62 | 0 | 0 | ----- | ----- |
| Allèle C | 46 | 43.39 | 26 | 52 | ----- | ----- |
| Allèle G | 60 56.60 | 56.60 | 24 | 48 | 0,71 | 0,31 |

La comparaison des génotypes CC et CG avec l'OR=18.67, P= 0.0007 à partir du calcul des Odds ratio et des P value, permet de conclure que le génotype CG constitue un facteur de risque pour le CE donc il y a une association entre le génotype CG du polymorphisme Arg72pro du gène de la p53 et la survenue de CE.

Par contre, les résultats observés lors de la comparaison du génotype sauvage CC avec le génotype muté GG montrent une relation non significative.



85 polymorphismes ont été décrits et de nombreux présentent des variations de fréquence au niveau géographique et démographique (**Fu et al., 2017**). A ce jour un seul polymorphisme du gène p53 a été associé au cancer de l'endomètre : c'est une variation de proline en arginine au niveau du codon 72 (appelée p53-72Pro ou p53-72Arg, respectivement) localisé sur l'exon 4. Ce SNP est dû à un changement dans la séquence d'ADN codant pour le domaine riche en proline de p53 (CCC ou CCG) (**Oliveira et al., 2007**)

Le cancer de l'endomètre regroupe deux formes variées sur le plan histologique : carcinomes de type I (**endométriode**) et de type II (**non-endométriode**) (**Felix et al., 2010**), dans notre étude nous avons pris un échantillon de patientes comportant les deux types or il a été montré que le gène P53 est impliqué pour les tumeurs de type II (**Merritt et Cramer, 2010**). Ceci peut expliquer la non significativité de la corrélation des génotypes CC et GG avec la survenue du cancer. On peut conclure que le polymorphisme Arg72pro du gène p53 n'est pas associé à la survenue du cancer de l'endomètre.

Il y a eu peu d'études qui ont établie l'impact de polymorphisme Arg 72pro de la p53 sur le risque de la survenue du cancer du l'endomètre. Niwa et al (2004), cependant, n'ont trouvé aucune association de ce genre. En revanche, l'allèle Pro a conféré un risque accru chez les femmes coréennes (**Niwa et al., 2004**).

Jiang et al, n'ont observé aucun élément de preuve du rôle du polymorphisme TP53 Arg72Pro dans le cancer de l'endomètre. L'association importante signalée entre ce polymorphisme et le risque de cancer de l'endomètre peut être due à des erreurs méthodologiques telles que le biais de sélection, la petite taille de l'échantillon, l'erreur de type I et la stratification de la population (**Jiang et al., 2011**).

D'autres résultats suggèrent que l'arginine homozygote au codon 72 de p53 peut représenter un facteur de risque pour affecter la différenciation du cancer de l'endomètre (**Agorastos et al., 2004 ; Ueda et al., 2009**).

Dans notre cas, pour valider l'association entre ce polymorphisme et le cancer de l'endomètre, un plus grand nombre de participants sont nécessaires.

Conclusion



Le cancer de l'endomètre est le sixième cancer le plus fréquent. C'est le cancer gynécologique le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes.

Dans ce travail nous avons cherché le potentiel effet du polymorphisme Arg72Pro du gène P53 sur la survenue du cancer de l'endomètre.

Dans notre étude, nous avons trouvé une différence dans la distribution de fréquence génotypique entre les femmes témoins et les patientes atteintes du cancer de l'endomètre, les résultats de notre étude ont montré que le génotype CG peut être considéré comme un risque probable de la survenue du cancer de l'endomètre, alors que la comparaison entre la fréquence de l'allèle G muté et l'allèle sauvage C montré qu'il n'y a pas association de polymorphisme Arg72Pro et la survenue de cancer de l'endomètre.

Ces résultats ne peuvent pas être confirmatifs, l'effectif de notre population est faible donc il est essentiel d'élargir l'échantillonnage des patients en plus il sera utile de prendre en considération d'autres paramètres cliniques et génétiques et d'inclure d'autres gènes de susceptibilité.

Référence bibliographique

Aerts, J., Wetzels, Y., Cohen, N., et Aerssens, J. (2002).Data mining of public SNP databases for the selection of intragenic SNPs. *Hum. Mutat.* 20, 162–173.

Agorastos, T., Masouridou, S., Lambropoulos, A.F., Chrisafi, S., Miliaras, D., Pantazis, K., Constantinides, T.C., Kotsis, A., et Bontis, I. (2004).P53 codon 72 polymorphism and correlation with ovarian and endometrial cancer in Greek women. *Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP* 13, 277–280..

Aylon, Y., et Oren, M.(2007). Living with p53, dying of p53. *Cell* 130, 597–600.

Ballester, M.(2013). Profils d'expressions protéiques dans la physiologie et la physiopathologie du tissu endométrial.

Bayer, S.R., et DeCherney, A.H.(1993). Clinical manifestations et treatment of dysfunctional uterine bleeding. *JAMA* 269, 1823–1828.

Birinyi, L., Daragó, P., Török, P., Csiszár, P., Major, T., Borsos, A., et Bacskó, G. (2004). Predictive value of hysteroscopic examination in intrauterine abnormalities. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 115, 75–79.

Bokhman, J.V.(1983). Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 15, 10–17.

Bonney, R.C., Scanlon, M.J., Jones, D.L., Reed, M.J., Anderson, M.C., et James, V.H.(1986). The relationship between oestradiol metabolism and adrenal steroids in the endometrium of postmenopausal women with and without endometrial cancer. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 22, 953–961.

Boronow, R.C., Morrow, C.P., Creasman, W.T., Disaia, P.J., Silverberg, S.G., Miller, A., and Blessing, J.A.(1984). Surgical staging in endometrial cancer: clinical-pathologic findings of a prospective study. *Obstet. Gynecol.* 63, 825–832.

Brookes, A.J.(1999). The essence of SNPs. *Gene* 234, 177–186.

Caanen, M.R., Soleman, R.S., Kuijper, E.A.M., Kreukels, B.P.C., De Roo, C., Tilleman, K., De Sutter, P., van Trotsenburg, M.A.A., Broekmans, F.J., et Lambalk,

C.B. (2015). Antimüllerian hormone levels decrease in female-to-male transsexuals using testosterone as cross-sex therapy. *Fertil. Steril.* 103, 1340–1345.

Cabrita, S., Rodrigues, H., Abreu, R., Martins, M., Teixeira, L., Marques, C., Mota, F., et de Oliveira, C.F. (2008). Magnetic resonance imaging in the preoperative staging of endometrial carcinoma. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 29, 135–137.

Cesario, A., et Marcus, F. (2011). *Cancer Systems Biology, Bioinformatics and Medicine: Research and Clinical Applications* (Springer Science & Business Media).

Catasús, L., Matias-Guiu, X., Machin, P., Muñoz, J., et Prat, J.(1998). BAX somatic frameshift mutations in endometrioid adenocarcinomas of the endometrium: evidence for a tumor progression role in endometrial carcinomas with microsatellite instability. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 78, 1439–1444.

Countries, I. of M. (US) C. on C.C. in L.M.-I., Sloan, F.A., et Gelband, H.(2007). *Cancer Causes and Risk Factors and the Elements of Cancer Control* (National Academies Press (US)).

Cramer, D.W. (2012). The Epidemiology of Endometrial and Ovarian Cancer. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 26, 1–12.

Creasman, W.T., Morrow, C.P., Bundy, B.N., Homesley, H.D., Graham, J.E., et Heller, P.B. (1987). Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer. A Gynecologic Oncology Group Study. *Cancer* 60, 2035–2041.

Creutzberg, C.L., van Stiphout, R.G.P.M., Nout, R.A., Lutgens, L.C.H.W., Jürgenliemk-Schulz, I.M., Jobsen, J.J., Smit, V.T.H.B.M., et Lambin, P. (2015). Nomograms for prediction of outcome with or without adjuvant radiation therapy for patients with endometrial cancer: a pooled analysis of PORTEC-1 and PORTEC-2 trials. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 91, 530–539.

Dai, C., et Gu, W. (2010). p53 post-translational modification: deregulated in tumorigenesis. *Trends Mol. Med.* 16, 528–536.

DeLeo, A.B., Jay, G., Appella, E., Dubois, G.C., Law, L.W., et Old, L.J. (1979). Detection of a transformation-related antigen in chemically induced sarcomas and other transformed cells of the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76, 2420–2424.

Denschlag, D., Ulrich, U., et Emons, G.(2011). The Diagnosis and Treatment of Endometrial Cancer. *Dtsch. Ärztebl. Int.* 108, 571–577.

Dimitraki, M., Tsikouras, P., Bouchlariotou, S., Dafopoulos, A., Liberis, V., Maroulis, G., et Teichmann, A.T.(2011). Clinical evaluation of women with PMB. Is it always necessary an endometrial biopsy to be performed? A review of the literature. *Arch. Gynecol. Obstet.* 283, 261–266.

Dr Le Digabel, J.-F.(2014). Cancer de l'endomètre.

Drost, M., Zonneveld, J. e B.M., van Dijk, L., Morreau, H., Tops, C.M., Vasen, H.F.A., Wijnen, J.T., et de Wind, N.(2010). A cell-free assay for the functional analysis of variants of the mismatch repair protein MLH1. *Hum. Mutat.* 31, 247–253.

Ellenson, L.H.(2016). *Molecular Genetics of Endometrial Carcinoma* (Springer).

Erkanli, S., Eren, F., Pekin, S., et Bagis, T. (2004). BCL-2 and P53 expression in endometrial carcinoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res. CR* 23, 97–103.

Esteller, M., Levine, R., Baylin, S.B., Ellenson, L.H., et Herman, J.G.(1998). MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene* 17, 2413–2417.

Felix, A.S., Weissfeld, J.L., Stone, R.A., Bowser, R., Chivukula, M., Edwards, R.P., et Linkov, F. (2010). Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. *Cancer Causes Control CCC* 21, 1851–1856.

Ferron, M., Praz, F., et Pocard, M.(2005). [The genetics of colorectal cancer]. *Ann. Chir.* 130, 602–607.

Fishman, D.A., Cohen, L., Blank, S.V., Shulman, L., Singh, D., Bozorgi, K., Tamura, R., Timor-Tritsch, I., et Schwartz, P.E.(2005). The role of ultrasound evaluation in the detection of early-stage epithelial ovarian cancer. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192, 1214-1221; discussion 1221-1222.

Fridman, J.S., et Lowe, S.W. (2003). Control of apoptosis by p53. *Oncogene* 22, 9030–9040.

Fu, W., Zhuo, Z.-J., Jia, W., Zhu, J., Zhu, S.-B., Lin, Z.-F., Wang, F.-H., Xia, H., He, J., et Liu, G.-C.(2017). Association between TP53 gene Arg72Pro polymorphism and Wilms' tumor risk in a Chinese population. *OncoTargets Ther.* *10*, 1149–1154.

Galaal, K., Al Moundhri, M., Bryant, A., Lopes, A.D., et Lawrie, T.A.(2014). Adjuvant chemotherapy for advanced endometrial cancer. In *The Cochrane Library*, (John Wiley & Sons, Ltd), p.

Gallon, F.(2004).Cytologie péritonéale dans les cancers de l'endomètre. Etat des connaissances et des pratiques. Revue de 477 dossiers du Centre Alexis Vautrin de--,1996 à 2000. - Proposition d'un protocole thérapeutique prospectif. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1.

Garritano, S., Gemignani, F., Voegelé, C., Nguyen-Dumont, T., Le Calvez-Kelm, F., De Silva, D., Lesueur, F., Landi, S., et Tavtigian, S.V. (2009).Determining the effectiveness of High Resolution Melting analysis for SNP genotyping and mutation scanning at the TP53 locus. *BMC Genet.* *10*, 5.

Ginath, S., Menczer, J., Fintsi, Y., Ben-Shem, E., Glezerman, M., et Avinoach, I.(2002). Tissue and serum CA125 expression in endometrial cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* *12*, 372–375.

Halperin, R., Zehavi, S., Habler, L., Hadas, E., Bukovsky, I., et Schneider, D.(2001). Comparative immunohistochemical study of endometrioid and serous papillary carcinoma of endometrium. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* *22*, 122–126.

Hanahan, D., et Weinberg, R.A.(2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* *144*, 646–674.

Hegde, M., Ferber, M., Mao, R., Samowitz, W., Ganguly, A., et Committee, a W.G. of the A.C. of M.G. et G. (ACMG) L.Q.A. (2014). ACMG technical standards and guidelines for genetic testing for inherited colorectal cancer (Lynch syndrome, familial adenomatous polyposis, and MYH-associated polyposis). *Genet. Med.* *16*, 101–116.

Henry, J.-P., et Gouyon, P.-H.(2008). Précis de génétique des populations - Cours, exercices et problèmes résolus (Dunod).

Heron, J.(2009). Professeur J.F. HERON Faculté de Médecine de Caen - France Cancérologie générale. 08.

Hollstein, M., Sidransky, D., Vogelstein, B., et Harris, C.C. (1991). p53 mutations in human cancers. *Science* 253, 49–53.

Hollstein, M., Marion, M.J., Lehman, T., Welsh, J., Harris, C.C., Martel-Planche, G., Kusters, I., et Montesano, R. (1994). p53 mutations at A:T base pairs in angiosarcomas of vinyl chloride-exposed factory workers. *Carcinogenesis* 15, 1–3.

Jasperson, K.W., Tuohy, T.M., Neklason, D.W., et Burt, R.W. (2010). Hereditary and Familial Colon Cancer. *Gastroenterology* 138, 2044–2058.

Jiang, D.-K., Yao, L., Ren, W.-H., Wang, W.-Z., Peng, B., et Yu, L.(2011). TP53 Arg72Pro polymorphism and endometrial cancer risk: a meta-analysis. *Med. Oncol. Northwood Lond. Engl.* 28, 1129–1135.

Kohlmann, W., et Gruber, S.B.(1993). Lynch Syndrome. In *GeneReviews(®)*, R.A. Pagon, M.P. Adam, H.H. Ardinger, S.E. Wallace, A. Amemiya, L.J. Bean, T.D. Bird, N. Ledbetter, H.C. Mefford, R.J. Smith, et al., eds. (Seattle (WA): University of Washington, Seattle), p.

Kurman, R.J., et Norris, H.J.(1982). Evaluation of criteria for distinguishing atypical endometrial hyperplasia from well-differentiated carcinoma. *Cancer* 49, 2547–2559.

Lane, D.P., et Crawford, L.V. (1979). T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature* 278, 261–263.

Laptenko, O., et Prives, C. (2006). Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell Death Differ.* 13, 951–961.

Lethaby, A., Suckling, J., Barlow, D., Farquhar, C.M., Jepson, R.G., et Roberts, H.(2004). Hormone replacement therapy in postmenopausal women: endometrial hyperplasia and irregular bleeding. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD000402.

Li, F., Sturgis, E.M., Chen, X., Zafereo, M.E., Wei, Q., et Li, G. (2010). Association of p53 codon 72 polymorphism with risk of second primary malignancy in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 116, 2350–2359.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., et Darnell, J.(2000). Tumor Cells and the Onset of Cancer.

Mariani, A., Webb, M.J., Keeney, G.L., Aletti, G., et Podratz, K.C. (2002). Predictors of lymphatic failure in endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 84, 437–442.

Marieb, E.N.(2008). Biologie humaine 8e édition : Principes d'anatomie et de physiologie + MonLab (Paris: PEARSON EDUCATION).

Matias-Guiu, X., Catusus, L., Bussaglia, E., Lagarda, H., Garcia, A., Pons, C., Muñoz, J., Argüelles, R., Machin, P., et Prat, J.(2001).Molecular pathology of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Hum. Pathol.* 32, 569–577.

Maxwell, G.L., Risinger, J.I., Alvarez, A.A., Barrett, J.C., et Berchuck, A.(2001). Favorable survival associated with microsatellite instability in endometrioid endometrial cancers. *Obstet. Gynecol.* 97, 417–422.

May, K., Bryant, A., Dickinson, H.O., Kehoe, S., et Morrison, J.(2010). Lymphadenectomy for the management of endometrial cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD007585.

Merritt, M.A., et Cramer, D.W.(2010).Molecular Pathogenesis of Endometrial and Ovarian Cancer. *Cancer Biomark. Sect. Dis. Markers* 9.

Miyashita, T., Harigai, M., Hanada, M., et Reed, J.C.(1994). Identification of a p53-dependent negative response element in the bcl-2 gene. *Cancer Res.* 54, 3131–3135.

Moasser, M.M.(2007). The oncogene HER2; Its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene* 26, 6469–6487.

Montross, W.T., Ji, H., et McCrea, P.D. (2000). A beta-catenin/engrailed chimera selectively suppresses Wnt signaling. *J. Cell Sci.* 113 (Pt 10), 1759–1770.

Moreno-Bueno, G., Hardisson, D., Sánchez, C., Sarrió, D., Cassia, R., García-Rostán, G., Prat, J., Guo, M., Herman, J.G., Matías-Guiu, X., et al.(2002). Abnormalities of the APC/beta-catenin pathway in endometrial cancer. *Oncogene* 21, 7981–7990.

Mosner, J., Mummenbrauer, T., Bauer, C., Sczakiel, G., Grosse, F., et Deppert, W. (1995). Negative feedback regulation of wild-type p53 biosynthesis. *EMBO J.* 14, 4442–4449.

Muggia, F., et Oliva, E.(2009). Uterine Cancer: Screening, Diagnosis, and Treatment (Springer Science & Business Media).

Mutter, G.L., Lin, M.C., Fitzgerald, J.T., Kum, J.B., Baak, J.P., Lees, J.A., Weng, L.P., et Eng, C.(2000). Altered PTEN expression as a diagnostic marker for the earliest endometrial precancers. *J. Natl. Cancer Inst.* 92, 924–930.

Nigro, J.M., Baker, S.J., Preisinger, A.C., Jessup, J.M., Hostetter, R., Cleary, K., Bigner, S.H., Davidson, N., Baylin, S., et Devilee, P.(1989). Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 342, 705–708.

Niwa, Y., Hamajima, N., Atsuta, Y., Yamamoto, K., Tamakoshi, A., Saito, T., Hirose, K., Nakanishi, T., Nawa, A., Kuzuya, K., et al.(2004). Genetic polymorphisms of p73 G4C14-to-A4T14 at exon 2 and p53 Arg72Pro and the risk of cervical cancer in Japanese. *Cancer Lett.* 205, 55–60.

Noël, G., Genestie, C., Votadoro, A., et Lefranc, J., et al.(2002). Cancers de l'endomètre. In *Cancérologie*, pp. 143–151.

Oehler, M.K., Brand, A., et Wain, G.V.(2003). Molecular genetics and endometrial cancer. *J. Br. Menopause Soc.* 9, 27–31.

Oldenburg, C.S., Boll, D., Nicolaije, K.A.H., Vos, M.C., Pijnenborg, J.M.A., Coebergh, J.-W., Beijer, S., van de Poll-Franse, L.V., et Ezendam, N.P.M.(2013). The relationship of body mass index with quality of life among endometrial cancer survivors: a study from the population-based PROFILES registry. *Gynecol. Oncol.* 129, 216–221.

Oliveira, V.S. de, Ferreira, M. de A., Guim, A., Modesto, E.C., Arnaud, B.L., et Silva, F.M. da(2007). Substituição total do milho e parcial do feno do capim-tifton por palma forrageira em dietas para vacas em lactação. Produção, composição do leite e custos com alimentação. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 928–935.

Persson, I., Adami, H.O., Bergkvist, L., Lindgren, A., Pettersson, B., Hoover, R., et Schairer, C. (1989). Risk of endometrial cancer after treatment with oestrogens alone or in conjunction with progestogens: results of a prospective study. *BMJ* 298, 147–151.

Prat, J.(2004). Prognostic parameters of endometrial carcinoma. *Hum. Pathol.* 35, 649–662.

Punyadeera, C., Verbost, P., et Groothuis, P. (2003). Oestrogen and progestin responses in human endometrium. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 84, 393–410.

Purdie, D.M., et Green, A.C. (2001). Epidemiology of endometrial cancer. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 15, 341–354.

Reich, N.C., et Levine, A.J. (1984). Growth regulation of a cellular tumour antigen, p53, in nontransformed cells. *Nature* 308, 199–201.

Rieck, G.C., Bulman, J., Whitaker, R., et Leeson, S.C.(2005). A retrospective review of magnetic resonance imaging in assessing the extent of myometrial infiltration for patients with endometrial carcinoma. *J. Obstet. Gynaecol. J. Inst. Obstet. Gynaecol.* 25, 765–768.

Rivlin, N., Brosh, R., Oren, M., et Rotter, V.(2011). Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene. *Genes Cancer* 2, 466–474.

Robboy, S.J. (2009). Robboy's Pathology of the Female Reproductive Tract (Elsevier Health Sciences).

Rose, P.G.(1996). Endometrial carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 335, 640–649.

Salvesen, H.B., MacDonald, N., Ryan, A., Iversen, O.E., Jacobs, I.J., Akslen, L.A., et Das, S.(2000). Methylation of hMLH1 in a population-based series of endometrial carcinomas. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 6, 3607–3613.

Schlosshauer, P.W., Ellenson, L.H., et Soslow, R.A. (2002). Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 15, 1032–1037.

Scotté, florian, Colonna, pierre, et Andrien, jean-marie (2002). *Cancerologie (paris).*

Shai, A., Segev, Y., et Narod, S.A.(2014). Genetics of endometrial cancer. *Fam. Cancer* 13, 499–505.

Shangary, S., et Wang, S.(2008). Targeting the MDM2-p53 interaction for cancer therapy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res. 14*, 5318–5324.

Shangary, S., Qin, D., McEachern, D., Liu, M., Miller, R.S., Qiu, S., Nikolovska-Coleska, Z., Ding, K., Wang, G., Chen, J., et al. (2008). Temporal activation of p53 by a specific MDM2 inhibitor is selectively toxic to tumors and leads to complete tumor growth inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105*, 3933–3938.

Silverberg, S.G. (2000). Problems in the differential diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc 13*, 309–327.

Slomovitz, B.M., Jiang, Y., Yates, M.S., Soliman, P.T., Johnston, T., Nowakowski, M., Levenback, C., Zhang, Q., Ring, K., Munsell, M.F., et al.(2015). Phase II Study of Everolimus and Letrozole in Patients With Recurrent Endometrial Carcinoma. *J. Clin. Oncol. 33*, 930–936.

Sorosky, J.I.(2008). Endometrial cancer. *Obstet. Gynecol. 111*, 436–447.

Soussi, T.(2010). The history of p53. *EMBO Rep. 11*, 822–826.

Soussi, T., et Wiman, K.G. (2007). Shaping genetic alterations in human cancer: the p53 mutation paradigm. *Cancer Cell 12*, 303–312.

Stoffel, E., Mukherjee, B., Raymond, V.M., Tayob, N., Kastrinos, F., Sparr, J., Wang, F., Bandipalliam, P., Syngal, S., et Gruber, S.B.(2009). Calculation of risk of colorectal and endometrial cancer among patients with Lynch syndrome. *Gastroenterology 137*, 1621–1627.

Stratton, M.R., Campbell, P.J., et Futreal, P.A.(2009). The cancer genome. *Nature 458*, 719–724.

Subramanian, D., et Griffith, J.D.(2005). Modulation of p53 Binding to Holliday Junctions and 3-Cytosine Bulges by Phosphorylation Events †. *Biochemistry (Mosc.) 44*, 2536–2544.

Suh, D.H., Kang, S., Lim, M.C., Lee, T.S., Park, J.-Y., Kim, T.-J., Kim, J.H., Lee, K.-B., Park, D.C., Chung, H.H., et al.(2012). Management of the elderly patient with

gynecologic cancer: report of the 2011 workshop in geriatric gynecologic oncology. *Int. J. Gynecol. Cancer Off. J. Int. Gynecol. Cancer Soc.* 22, 161–169.

Teyssier, F., Bay, J.O., Dionet, C., et Verrelle, P. (1999). [Cell cycle regulation after exposure to ionizing radiation]. *Bull. Cancer (Paris)* 86, 345–357.

Toledo, F., et Wahl, G.M.(2006).Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. *Nat. Rev. Cancer* 6, 909–923.

Tominaga, T., Iwahashi, M., Takifuji, K., Hotta, T., Yokoyama, S., Matsuda, K., Higashiguchi, T., Oku, Y., Nasu, T., et Yamaue, H.(2010). Combination of p53 codon 72 polymorphism and inactive p53 mutation predicts chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer. *Int. J. Cancer* 126, 1691–1701.

Tortolero-Luna, G., et Mitchell, M.F.(1995). The epidemiology of ovarian cancer. *J. Cell. Biochem. Suppl.* 23, 200–207.

Trévoux, R., et Collectif. (2009). *L'endomètre présent et avenir* (Montrouge: John Libbey Eurotext).

Ueda, M., Yamamoto, M., Nunobiki, O., Toji, E., Sato, N., Izuma, S., Okamoto, Y., Torii, K., et Noda, S. (2009). Murine double-minute 2 homolog single nucleotide polymorphism 309 and the risk of gynecologic cancer. *Hum. Cell* 22, 49–54.

Wright, A., Hawkins, C.H., Anggård, E.E., et Harper, D.R. (2009). A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin. Otolaryngol. Off. J. ENT-UK Off. J. Neth. Soc. Oto-Rhino-Laryngol. Cervico-Facial Surg.* 34, 349–357.

Wu, H., Goel, V., et Haluska, F.G.(2003). PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 22, 3113–3122.

Yarbro, C.H., Wujcik, D., et Gobel, B.H.(2010). *Cancer Nursing: Principles and Practice* (Jones & Bartlett Publishers).

Zeleniuch-Jacquotte, A., Shore, R.E., Koenig, K.L., Akhmedkhanov, A., Afanasyeva, Y., Kato, I., Kim, M.Y., Rinaldi, S., Kaaks, R., et Toniolo, P.(2004). Postmenopausal levels of oestrogen, androgen, and SHBG and breast cancer: long-term results of a prospective study. *Br. J. Cancer* 90, 153–159.

Zilfou, J.T., et Lowe, S.W.(2009). Tumor Suppressive Functions of p53. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. *1*.

Résumé

L'objectif de notre travail c'est d'établir la fréquence de polymorphisme Arg72pro du gène p53 dans notre échantillon de patientes et témoins et d'évaluer la corrélation entre ce polymorphisme et la survenue de cancer de l'endomètre.

Dans les cancers de l'endomètre, l'expression de p53 est significativement différente selon le type histologique. P53 est un gène suppresseur de tumeur surexprimée précocement dans carcinogenèse endométriale de type II non endométrioïdes. Le polymorphisme que nous avons étudié est responsable de la diminution de l'activité de la protéine.

Dans notre étude de type cas/témoins a été menée sur des patientes atteintes du cancer de l'endomètre et des femmes saines, sans antécédents de cancer.

L'identification de l'association entre le polymorphisme Arg72pro du gène p53 et la survenue du cancer de l'endomètre après une analyse moléculaire, en utilisant la technique de PCR/RFLP.

Les résultats de notre travail montrent que la comparaison des fréquences génotypique CC et CG avec l'OR=18.67 et =0.0007 montre qu'il existe une association entre le génotype CG du polymorphisme Arg72pro du gène p53 et le risque de CE. Le génotype constitue un facteur de risque de la survenue de cancer de l'endomètre,

Par contre la comparaison de l'allèle sauvage C avec l'allèle muté G avec un OR= 0.71, P=0.31 conclue que l'allèle muté G n'est pas lié à un risque de CE.

En finle faible nombre de patients de notre échantillon reste insuffisant pour confirmer cette absence d'association, les travaux doivent se poursuivre, une étude plus large est nécessaire pour vérifier nos résultat, aussi, explorer d'autre paramètre pour qu'on puisse élucider l'influence de polymorphisme Arg72pro du gène p53 et la survenue du cancer de l'endomètre.

Mots clés : cancer de l'endomètre, polymorphisme Arg72pro, p53

ملخص

الهدف من عملنا هو معرفة تعدد أشكال Arg72pro من البروتين p53 في عينة من المرضى والشهود وتقييم العلاقة بين هذا التعدد وحدوث سرطان بطانة الرحم.

في سرطان بطانة الرحم، التعبير البروتين p53 مختلفة إلى حد كبير وفقا لنوع النسيجي. P53 هو جين ورم القامع يظهر في وقت مبكر من سرطان بطانة الرحم نوع II. تعدد الأشكال الذي نحن بصدد دراسته هو المسؤول عن انخفاض النشاط من البروتين.

في نوع دراستنا حالة / السيطرة الذي أجري على مرضى سرطان بطانة الرحم والنساء ليس لهم تاريخ من الإصابة بالسرطان.

تحديد العلاقة بين تعدد أشكال Arg72pro للجين p53 وبداية السرطان وحدوث سرطان بطانة الرحم بعد التحليل الجزيئي، وذلك باستخدام تقنية PCR / RFLP.

نتائج عملنا تدل على أن مقارنة التردد الوراثي CC و CG مع $OR = 18.67 = 0.0007$. يظهر أن هناك علاقة بين النمط الجيني CG من تعدد الأشكال الجيني الوراثي ل Arg72pro للجين p53 من مخاطر EC. النمط الجيني هو أحد عوامل حدوث سرطان بطانة

وعلى سبيل المقارنة بين أليل السليم C مع أليل المصاب G مع $OR = 0.71$ ، $P = 0.31$ نجد أن أليل المصاب G غير مرتبط بخطر الإصابة بسرطان بطانة الرحم.

في الأخير انخفاض عدد المرضى في عينتنا ليست كافية لتأكيد هذا النقص في هذه العلاقة، ويجب أن يستمر العمل. هناك حاجة إلى دراسة أكبر للتحقق من النتائج التي توصلنا إليها، أيضا، اكتشاف مقياس آخر حتى نستطيع إلقاء الضوء على تعدد الأشكال Arg72pro للجين p53 وحدوث سرطان بطانة الرحم.

كلمات المفتاحية: سرطان بطانة الرحم , تعدد الأشكال Arg72pro , p53

Summary

The objective of our work is to establish the frequency of Arg72pro polymorphism of the p53 gene in our sample of patients and controls and to evaluate the correlation between this polymorphism and the occurrence of endometrial cancer.

In endometrial cancers, p53 expression is significantly different from histological type. P53 is an overexpressed tumor suppressor genes in endometrial carcinogenesis type II non endometrioids. The polymorphism we have is responsible for decreased protein activity.

In our case-control study was conducted on patients with endometrial cancer and healthy women with no history of cancer.

Identification of the association between the polymorphism Arg72pro of the p53 gene and the occurrence of endometrial cancer after molecular analysis, using the PCR / RFLP technique.

The results of our work show that the comparison of genotypic frequencies CC and CG with OR = 18.67 and $P = 0.0007$ shows that there is an association between the genotype CG of the Arg72pro polymorphism of the p53 gene and the risk of CE. The genotype constitutes a Risk factor for the occurrence of endometrial cancer,

On the other hand, the comparison of the wild-type C allele with the mutated allele G with an OR = 0.71, $P = 0.31$ concludes that the mutated allele G is not linked to a CE risk.

In the end, the small number of patients in our sample remains insufficient to confirm this lack of association, work must continue, a wider study is needed to verify our results, also, explore other parameter so that we can elucidate the Influence of Arg72pro polymorphism of the p53 gene and the occurrence of endometrial cancer.

Key words: endometrial cancer, Arg72pro polymorphism, p53

Annexe 01 : Classification TNM(Scotté et al., 2002)

Tis : in situ.

T1 : limité au corps utérin.

T1a : Tumeur limitée à l'endomètre (la muqueuse).

T1b : Invasion s'étendant à moins de la moitié du myomètre.

T1c : Invasion dépassant la moitié du myomètre en épaisseur.

T2 : extension au col.

T2a : atteinte muqueuse (glandes endo-cervicale).

T2b : envahissement limité au stroma cericale.

T3 : extension extra-utérine/ limitée au petit bassin (séreuse, annexes, vagin).

T3a : séreuse utérine, annexes, cytologie péritonéale positive.

T3b : vagin.

T3c : pelvis, ganglions para-aortiques.

T4a : extension à la muqueuse vésicale et/ou rectale.

T4b : métastases à distance.

N0 : pas d'adénopathie.

N1 : adénopathie.

M0 : pas de métastases.

M1 : métastases.

Annexe 02 : Classification FIGO

Critères de la classification de l'International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) (Scotté et al., 2002).

| Stade | Définition |
|-------------|--|
| Stade I | La tumeur se trouve dans l'utérus mais ne s'est pas propagée à l'extérieur de celui-ci. Le stade I est subdivisé en stades IA et IB selon l'épaisseur de la tumeur dans l'utérus |
| Stade IA | La tumeur est limitée à l'endomètre ou a envahi moins de 50 % de l'épaisseur du muscle de l'utérus |
| Stade IB | La tumeur a envahi plus de 50 % de l'épaisseur du muscle de l'utérus. |
| Stade II | La tumeur se trouve dans l'utérus et s'est propagée au col de l'utérus. Depuis 2009, le stade II du cancer de l'endomètre n'est plus subdivisé en stades IIA et IIB. |
| Stade III | La tumeur s'est propagée au-delà de l'utérus et du col de l'utérus, à un ou plusieurs autres organes génitaux de la femme (vagin, ovaire, trompe de Fallope ou tissus autour de l'utérus) ou aux ganglions lymphatiques dans cette région. Le stade III est subdivisé en stades IIIA, IIIB, IIIC1 et IIIC2, selon les organes que la tumeur a atteints |
| Stade IIIA | La tumeur a envahi la membrane externe de l'utérus, appelée la séreuse, ou une voire les deux trompes de Fallope ou un voire les deux ovaires |
| Stade IIIB | La tumeur a envahi le vagin ou le paramètre, c'est-à-dire le tissu entourant le col de l'utérus. |
| Stade IIIC1 | Des cellules tumorales sont présentes dans les ganglions lymphatiques pelviens. |
| Stade IIIC2 | Des cellules tumorales sont présentes dans les ganglions lymphatiques para-aortiques. |
| Stade IV | La tumeur s'est propagée à la vessie, aux intestins ou à d'autres organes (métastase). Le stade IV est subdivisé en stades IVA et IVB. |
| Stade IVA | La tumeur a envahi la vessie ou la muqueuse intestinale. |
| Stade IVB | Des cellules tumorales sont présentes dans les ganglions lymphatiques de l'aine ou de l'abdomen ou dans des organes distants tels que le foie ou les poumons. |

Annexe 03 : Extraction au NaCl

Les prélèvements sont recuprés sur un tube EDTA (prés de 10 ml de sang)

Préparation des leucocytes

1. dans un tube Falcon de 50 ml .mettre le sang et compéter à25ml avec du TE 20 : 5
laisser 10min dans la glace
2. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm)
3. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide
4. Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une pastelle stérile.
5. Compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 et laisser 10 min dans la glace.
6. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
7. Aspirer le surnageant avec une trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes
(si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20° dans le frigo)

Extraction de l'ADN

1. Transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml
2. Ajouter 3ml de tampon de lyse (NaCl 400 Mm. EDTA 2mM Tris 10Mm Ph 8.2) en dilacérant le culot avec une passette stérile
3. Ajouter 200 µl de SDS à10%
4. Ajouter 100 µl de protéinase K à10 mg /ml
5. Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit
6. Le lendemain .refroidir dans la glace
7. Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter vigoureusement à la main
8. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines)
9. Centrifuger 15 min à 2500 rpm
10. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml .ajouter 2 fois *son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme*
11. Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote ne se forme pas
12. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 2fois dans l'éthanol à 70%
13. Mettre la pelote dans un tube nunc

Soubattions : réaliserpar l'eau distillée

Annexe 04 : La séquence de la P53 EXON 4 279 bp Arg72Pro

gtgggaagcgaaaattccatgggactgactttctgctctgtctttcagacttctgaaaacaacgttctggtaaggacaagg
gttgggctggggacctggagggctggggacctggagggctggggggctggggggctgaggacctggcctctgactgc
tctttcaccatctacag**TCCCCCTTGCCGTCCCAAGCAATGGATGATTTGATGCT**
GTCCCCGGACGATATTGAACAATGGTTCACTGAAGACCCAGGTCCAG
ATGAAGCTCCCAGAATGCCAGAGGCTGCTCCCCCGTGGCCCCTGCA
CCAGCAGCTCCTACACCGGCGGCCCTGCACCAGCCCCCTCCTGGCC
CCTGTCATCTTCTGTCCCTTCCAGAAAACCTACCAGGGCAGCTACGG
TTCCGTCTGGGCTTCTTGCATTCTGGGACACCAAGTCTGTGACTTGC
ACGgtcagttgccctgaggggctggcttccatgagacttcaatgcctggccgtatccccctgcattcttttgtttggaact
tgggattcctctcaccctttggcttctgtcagtgttt

Présenté par : DERBAL Soumia
LAALA Lamia

Année universitaire : 2016/2017

L'influence du polymorphisme Arg72pro du gène p53 dans la survenue du cancer de l'endomètre

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique Moléculaire

Résumé : L'objectif de notre travail c'est d'établir la fréquence de polymorphisme Arg72pro du gène p53 dans notre échantillon de patientes et témoins et d'évaluer la corrélation entre ce polymorphisme et la survenue de cancer de l'endomètre.

Dans les cancers de l'endomètre, l'expression de p53 est significativement différenteselon le type histologique. P53 est un gènesuppresseur de tumeur surexpriméepécocement dans carcinogènese endométriale de type II non endométrioïdes. Le polymorphisme que nous avons étudié est responsable de la diminution de l'activité de la protéine.

Dans notre étude de type cas/témoins a été menée sur des patientes atteintes du cancer de l'endomètre et des femmes saines, sans antécédents de cancer.

L'identification de l'association entre le polymorphisme Arg72pro du gène p53 et la survenue du cancer de l'endomètreaprès une analyse moléculaire, en utilisant la technique de PCR/RFLP.

Les résultats de notre travail montrent que la comparaison des fréquences génotypique CC et CG avec l'OR=18.67 et =0.0007 montre qu'il existe une association entre le génotype CG du polymorphisme Arg72pro du gène p53et le risque de CE. Le génotype constitue un facteur de risque de la survenue de cancer de l'endomètre,

Par contre la comparaison de l'allèle sauvage C avec l'allèle muté G avec un OR= 0.71, P=0.31 conclue que l'allèle muté G n'est pas lié à un risque de CE.

En finle faible nombre de patients de notre échantillon reste insuffisant pour confirmer cette absence d'association, les travaux doivent se poursuivre, une étude plus large est nécessaire pour vérifier nos résultat, aussi, explorerd'autre paramètre pour qu'on puisse élucider l'influence de polymorphisme Arg72pro du gène p53 et la survenue du cancer de l'endomètre.

Mots clés : cancer de l'endomètre, le polymorphisme Arg72pro, gène p53

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie moléculaire de la faculté des sciences et de la nature et de la vie (UFMC1)

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Mme SEMMEM Ouarda (MFM-UFM Constantine).*

Rapporteur : *Mme SEDRATI Khadidja (MFM- UFM Constantine).*

Examineur : *Mme ZIADA Hadia (MFM-UFM Contantines).*

Date de soutenance : **04/07/2017**