

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
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*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

Etude moléculaire et cytogénétique du cancer ovarien

Présenté par : Benkara Ines
Meguellati Hadjer
Millet Abir

Le 23/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : Ribouh-Arras A. (MRB- Centre de Recherche de Biotechnologie :CRBt)
Co-encadreur : Chaoui-Kherouatou N. (Pr-Université Frères Mentouri, Constantine 1)
Examineur 1 : Rezgoun-Chellat D. (Pr-Université Frères Mentouri, Constantine 1)
Examineur 2 : Bensaksali- Semmam O. (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire 2021 - 2022

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à Dieu tout puissant de nous accorder des connaissances de la science et de nous avoir aidés à réaliser ce travail. Soumission, louanges et remerciements, pour votre clémence et miséricorde.

Tout d'abord nous tenons à remercier profondément Pr **CHAOUI-KHEROUATOU N.**, et Dr **ARRAS -RIBOUH A.** Merci infiniment de nous avoir dirigés et d'avoir été à nos côtés tout au long de notre recherche et stage. Vos encadrements, vos critiques constructives et vos précieux conseils nous ont été précieux. Nous tenons à vous exprimer notre gratitude, pour avoir mené à bien ce modeste travail.

Nos remerciements les plus distingués vont également aux membres du jury Pr **REZGOUN-CHELLAT D.** et Dr **BENSAKASLI -SEMMAM O.** en acceptant de juger ce travail en tant qu'examinatrices. Recevez ici l'expression de notre profond respect.

Au Pr **FILALI T** Chef du service d'oncologie médicale CHU Ibn Badis

Nous vous remercions de nous avoir acceptés dans votre service

Veuillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude.

Nos vifs remerciements vont également à **DR CHIROUF**

Au **Directeur du Centre Nationale de Recherche en Biotechnologie (CRBt)** qui nous a permis d'accéder au centre et de réaliser la partie génétique.

Nous tenons à remercier, Pr **SATTA D.**, responsable de la filière Génétique, Dr **MADACI B.** chef du département de Biologie Animale et tous nos enseignants, spécialement Dr **SEDRATI K.** responsable du Master filière génétique moléculaire, pour votre confiance et patience pendant ces années passées. Qu'il nous soit permis ici, d'exprimer le témoignage de notre reconnaissance et de notre profonde gratitude.

Tout d'abord, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés à terminer ce mémoire et donné la force et l'énergie de le présenter de la meilleure façon.

Je dédie ce travail :

Au plus cher et au plus proche de mon cœur, À qui je porte fièrement son nom, mon cher père **Hacen**. Pour qui ses prières étaient le secret de ma réussite, et sa tendresse était un baume chirurgical.

A Ma chère mère **Hayet**.

A mon lien et mon bonheur dans la vie Mes soeurs **Ibtihal, Amira, Amani**.

A ceux qui me soutiennent dans leurs prières et leurs supplications, mon grand-père et ma grand-mère.

A ceux que la vie nous a donné et qui sont devenus membres de notre famille **Yahya et Souheil**

A celui qui a illuminé mon monde et l'a agrandi de joie et de bonheur, mon neveu **Mohamed Sajed**.

A qui j'ai partagé mes joies et mes rires, mes peines et mes larmes, mes amis : **Achwak Rayene Kaouther Meriem Batoul Norhane Sawsen Yousra**

A tous les membres de ma famille, grands et petits, à mes cousines surtout ma belle "Chiraz".

A tous mes amis et mes partenaires pour ce travail : **Hadjer et Abir**

A tous ceux que mon cœur a sauvés et qui ont été oubliés par ma plume, à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à accomplir ce travail.

Inès

Je dédie ce travail à :

Ma très chère mère **Mme Meguellati-Dendani Ouassila ;**
Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Merci d'avoir été à mes côtés tout au long de mes études du primaire à l'université.

Mon cher père **Mr Megullati Lakhder ;**
Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Tu as été le meilleur soutien pour moi en poursuivant mes études afin que je puisse atteindre ce que je suis aujourd'hui. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Mes chères sœurs et frères ; **Roumaissa, Fatima, Imed, Amel, Seif** et tous les membres de la famille.

Merci pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Que ce travail soit votre fierté.

Mes chers amis et surtout **Maroua et Bitat A. ;**
Vous avez été le meilleur soutien à tout moment. J'ai passé des moments amusants avec vous.

À mes collègue **Abir et Ines.** Merci pour votre patience et encouragements constants envers moi.

Hadjer

Je dédie ce mémoire à :

Ma mère et ma grand-mère :

Ma mère **Leila**, ma grand-mère **Mimi** vous êtes mon idole et la fierté de ma vie j'espère hériter de vous générosité, gentillesse et sagesse. Un grand merci pour votre soutien pendant toute mon éducation. Je vous aime énormément.

Mon père et mon grand-père :

Mon père **Mekhlouf** et mon grand-père **Mohammed**, que Dieu tout puissant vous bénisses. J'aimerais pouvoir partager avec vous mon succès et ma joie. Que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.

Mon frère et mes sœurs :

A **Salah Eddine** ; mon super frère et mon héros, merci d'être mon grand supporteur. Je te souhaite le meilleur dans ta vie. Ma sœur **Samah** mon compagnon de vie, je ne sais pas ce que je ferais sans toi, merci d'être avec moi. Ma sœur **Imene** que Dieu protège tes enfants.

Mes tantes et mes oncles :

Je dédie ce mémoire à toute ma famille et surtout mes tantes **Kenzouzi** et **Khwila**.

Youcef et Yahia :

Vous êtes le miel et la joie de la famille, il vous reste un long chemin à parcourir dans vos études, je vous souhaite beaucoup de succès. Que Dieu vous protège.

Mes amies :

A **Dallele** qui n'est pas une simple cousine c'est une autre sœur pour moi et une fidèle amie. **Rayane**, **Abir** et **Ines** qui ont été toujours présentes pour moi merci pour votre fidélité, de même pour toutes mes autres amies dont je n'ai pas cité les noms.

Rayane Oumeziane :

Qui m'a idée dans mon départ pour faire ce travail de fin d'étude merci beaucoup.

FAFA :

Mon animal domestique le plus sage et le plus beau je t'aime beaucoup.

Mes collègues :

Hdjer et **Inès** et à toute ma promotion de spécialité génétique et surtout notre délégué **Retima Seif**.

Abir

Liste des abréviations

- ADN** : Acide DésoxyriboNucléique.
- ADN sb** : Acide DésoxyriboNucléique simple brin.
- ARN**: Acide RiboNucléique.
- BET**: Bromure d'ETHidium.
- BOV**: *Benign Ovarian Tumor*.
- BRCA1** : Gène du cancer du sein 1 (*BReast CAncer 1 gene*).
- BRCA2** : Gène du cancer du sein 2 (*BReast CAncer 2 gene*).
- BRCT** : *BRCA1 Carboxyl Terminal*.
- CDB** : Cassures Double Brin.
- CDH1** : Gène code pour l'E-cadhérine.
- CHEK2** : *Checkpoint Kinase 2*.
- CHUC** : Centre Hospitalier Universitaire Benbadis de Constantine.
- CIRC/IARC**: *International Agency for Research on Cancer*.
- CRBt**: Centre nationale de Recherche en Biotechnologie.
- DO** : Densité Optique.
- EDTA** : *Acide Ethylène Diamine Tétracétique*.
- FIGO** : Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique.
- FSH**: Hormone Stimulant le Follicule.
- GG-NER**: Global Genome-NER.
- GnRH** : *Gonadotropin Releasing Hormone*.
- GR** : Globules Rouges.
- HAS** : Haute Autorité de Santé.
- HBOC**: *Hereditary Breast and Ovarian Cancer*.
- HNPCC**: *Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer*.
- INCa**: Institut National du Cancer.
- LH** : Hormone Lutéinisante.
- LMP** : *Low Malignant Potential tumor*
- Mg 2+**: *Magnesium ion*.
- MMR** : *DNA MisMatch Repair*.
- MT**: Marqueur de Taille.
- NaCl** : *Sodium Chloride*.

NHEJ : *Non Homologous End Joining*.

P53 : Protéine 53.

PALB2 : *Partner and Localizer of BRCA2*.

PCR : *Polymerase Chain Reaction*.

PMS2 : *Postmeiotic Segregation increased 2*.

PTEN : *Phosphatase and TENsin homolog*.

PvuII : (enzyme de restriction produite par la bactérie *Proteus vulgaris*).

RAD51 : *DNA repair protein*.

REN : Réparation par Excision des Nucléotides.

RH : Recombinaison Homologue.

RING: *Really Interesting New Gene*.

RPA: *Replication Protein A*.

rs2228001 : polymorphisme.

SC : Syndrome de Cowden.

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate.

SLF : Syndrome de Li-Fraumeni.

SNP: *Single-nucleotide polymorphism*.

SPJ: Syndrome de Peutz-Jeghers.

STK11: *Serine Théorine-Kinase11*.

TBE: Tris Borate EDTA.

TC-NER: *Transcription-Coupled-NER*.

TFIIH: *Transcription Factor II Human*.

TGF-B: *Transforming Growth Factor Beta*.

THS : Traitements Hormonaux Substitutifs.

TNM : Tumeur Node Metastase.

TOV: Tumeur Ovarienne Invasive.

TP53 : *Tumor Protein 53*.

UV : Ultra-Violet.

XPC : *Xeroderma Pigmentosum, Complementation group C*.

Liste des figures

	Page
Figure 01 : Appareil génital féminin.....	03
02 : Histologie fonctionnel de l’ovaire.....	05
03 : Différents stades du développement folliculaire dans l’ovaire humain	06
04 : Ovogenèse. A gauche, Schéma de la méiose. A droite,..... corrélation avec le développement du follicule ovarique et l’ovulation	08
05 : Concentrations hormonales de l'axe hypothalamo-hypophysaire..... au cours d'un cycle menstruel chez la femme	09
06 : Coupes histologiques des trois classes tumorales.....	13
07 : Coupes histologiques des quatre principaux types histopathologiques du cancer Epithéliale de l’ovaire	14
08 : Localisation du gène <i>BRCA1</i>	19
09 : Domaines de <i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>	20
10 : Localisation du gène <i>BRCA2</i>	20
11 : Localisation du gène <i>TP53</i>	21
12 : Localisation du gène <i>STK11</i>	22
13 : Voie MAPK/PI3K dans les cancers de la vessie.....	22
14 : <i>PTEN</i> : un acteur cytoplasmique et nucléaire.....	23
15 : Localisation du gène <i>XPC</i>	24
16 : Mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER).....	26
17 : Désignation d’amorces par primers 3 plus.....	30
18 : Répartition des patientes selon l’âge.....	32

19a : Répartition des patientes selon l'état civil.....	33
19b : Répartition es patientes selon la parité.....	33
20 : Répartition des patientes selon la prise du contraceptif.....	34
21 : Répartition des patientes selon la durée de contraception.....	35
22 : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.....	36
23 : Répartition des patientes selon le stade.....	37
24 : a : Chromosome métaphasique d'un noyau d'un lymphocyte..... sanguin éclaté et dispersé. b : Exemple de caryotype d'un lymphocyte sanguin 46, XX	39
25 : Répartition des fréquences génotypiques dans les populations..... cas et témoins	43
26 : Répartition des fréquences alléliques dans les populations cas et témoins	43

Liste des photographies

Photographie 1 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des fragments amplifiés par PCR	40
Photographie 2 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3 %) des fragments..... issus du clivage par <i>PvuII</i> présentant différents génotypes d' <i>XPC</i>	41

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification FIGO et correspondance TNM des tumeurs ovariennes.....	15
Tableau 2 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme.....	42
rs2228001 de l' <i>XPC</i> parmi témoins et patients et association	
au risque du cancer ovarien	

Table des matières

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I. Anatomie et physiologie de l’ovaire

1. Appareil génital féminin	03
2. Ovaires	04
2.1. Anatomie de l’ovaire	04
2.2. Histologie de l’ovaire	04
2.3. Follicules	05
3. Physiologie de l’ovaire	06
3.1. Formation des gamètes (ovogénèse)	06
3.2. Folliculogénèse	07
3.3. Hormones stéroïdiennes ovariennes	08
3.4. Contrôle du fonctionnement ovarien	09

Chapitre II. Cancer ovarien

1. Cancer de l’ovaire	10
2. Epidémiologie	10
3. Facteurs de risque	10
3.1. Facteurs de risque avérés.....	10
3.1.1. Age.....	10
3.1.2. Facteurs génétiques	11
3.1.3. Exposition aux hormones naturelles au cours de la vie.....	11
3.2. Facteurs de risques suspectés.....	11
3.2.1. Obésité.....	11
3.2.2. Manque d’activité physique.....	12
3.2.3. Tabagisme.....	12
3.2.4. Dépression.....	12
4. Types de cancer ovarien.....	12
4.1. Tumeurs épithéliales.....	12
4.2. Tumeurs germinales.....	12
4.3. Tumeurs stromales.....	13
5. Classification du cancer de l’ovaire.....	13
5.1. Classes tumorales.....	13
5.2. Types histopathologiques.....	14
5.3. Grades (G0-G3)	15
5.4. Stades (I-IV)	15
6. Symptômes du cancer de l’ovaire.....	16
7. Diagnostic du cancer de l’ovaire.....	16

8. Traitement du cancer de l’ovaire.....	17
8.1. Chirurgie.....	17
8.2. Chimiothérapie.....	17
8.3. Radiothérapie.....	17

Chapitre III. Génétique du cancer ovarien

1. Prédilection génétique.....	18
1.1. Prédilections majeures.....	18
1.2. Prédilections mineures.....	18
2. Gènes de susceptibilité du cancer ovarien.....	19
2.1. Gènes BRCA	19
2.2. Gènes MMR	21
2.3. Gène TP53.....	21
2.4. Gène STK11.....	22
2.5. Gène PTEN.....	22
2.6. Gènes impliqués dans la réparation des CDB.....	23
2.7. Gène CDH1.....	24
2.8. Gène d’intérêt XPC.....	24

PARTIE PRATIQUE

Patients et méthodes

1. Etude statistique.....	27
2. Etude génétique.....	27
2.1. Analyse cytogénétique.....	27
2.2. Analyse moléculaire.....	28
2.2.1. Extraction de l’ADN génomique.....	28
2.2.2. Contrôle de la qualité d’ADN et estimation de sa concentration.....	29
2.2.3. Génotypage du polymorphisme rs2228001 du gène XPC.....	29
3. Analyse statistique.....	31

Résultats & discussions

1. Caractéristiques générales de la population étudiée.....	32
1.1. Répartition des patientes selon l’âge.....	32
1.2. Répartition des patientes selon l’état civil et la parité	33
1.3. Répartition selon la prise du contraceptif.....	34
1.4. Répartition selon la durée de la prise de la contraception.....	35
1.5. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.....	36
1.6. Répartition des patientes selon le stade.....	36
2. Etude génétique.....	38
2.1. Etude cytogénétique.....	38
2.1.1. Présentation des patientes.....	38
2.1.2. Caryotypes.....	38
2.2. Etude moléculaire	40

2.2.1. Profils RFLP obtenus.....	40
2.2.2. Répartition des fréquences génotypiques et alléliques..... et association au risque du cancer ovarien	42
CONCLUSION	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	47
ANNEXES	
RÉSUMÉS	

Introduction

Les ovaires sont deux gonades de la forme et de la taille d'une amande, faisant partie de l'appareil reproducteur de la femme. Situés de part et d'autre de l'utérus, ils assurent deux fonctions : l'une endocrine suite à la production des hormones sexuelles féminines et l'autre exocrine via la production des gamètes (**Desrumaux, 2022**).

Les tumeurs de l'ovaire se définissent comme tout processus proliférant primitif ou secondaire bénin ou malin, d'aspect kystique, solide ou végétant, dont la croissance n'est pas directement liée à un dysfonctionnement hormonal (**Blanc et al., 1985**).

Actuellement, il est admis que ce type de cancer représente une pathologie peu fréquente mais grave et de mauvais pronostic. Son caractère silencieux est responsable d'un retard diagnostique. A cause de ses symptômes tardifs et atypiques, il est difficile à dépister avant que les métastases se propagent au-delà des ovaires (**Trétarre et al., 2005**).

Bien que le cancer ovarien occupe le huitième rang au niveau mondial par ordre de fréquence chez la femme, son taux de mortalité est extrêmement élevé ce qui en fait la cinquième cause de décès par cancer. En Algérie, il ne représente que 3,4 % de l'ensemble des cancers féminins de notre pays (**Globocan, 2020**).

Plusieurs facteurs semblent impliqués dans la survenue de ce type de cancer. Cependant, le facteur de risque le plus incriminé est d'origine génétique (**Momenimovahed et al., 2019**). En effet, 10 à 15 % des cas surviennent dans un contexte de prédisposition génétique qui sont souvent liés à des mutations des gènes *BRCA1* (BReast Cancer 1) ou *BRCA2* (BReast Cancer 2), ou à des mutations dans les gènes de réparation de l'ADN (MMR : DNA MisMatch Repair genes) (**Billiau, 2014**). Plusieurs mutations chromosomiques ont été retrouvés chez des patientes atteintes de cancers ovariens qui sont probablement responsables de mutations géniques incluant l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (**Li et al., 2019**).

Il est à signaler que ces mutations géniques sont généralement contrecarrées par des systèmes enzymatiques de réparation de l'ADN élaborés par les cellules vivantes, y compris celles de l'être humain. Dans ce contexte nous avons choisi de travailler sur le gène *XPC* impliqué dans la réparation par excision des nucléotides (REN).

Au cours de ce travail nous allons :

- Essayer suite à une étude statistique de déceler les facteurs de risque les plus incriminés dans la carcinogénèse ovarienne,
- Réaliser une étude moléculaire en recherchant une éventuelle association entre le polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* et la survenue du cancer ovarien,
- Rechercher suite à une étude cytogénétique les anomalies chromosomiques les plus fréquentes chez des patientes atteintes de cancer ovarien,
- Confronter les résultats obtenus avec les données de la littérature.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1
Anatomie et
physiologie de l'ovaire

1. Appareil génital féminin

Ensemble des organes de la femme assurant la fonction de reproduction (**Desrumaux, 2022**). C'est à la fois le lieu de production des gamètes femelles, de la fécondation et du développement de l'embryon, puis du fœtus (**Brooker, 2001**).

L'appareil génital de la femme peut être divisé en deux parties (**Figure1**) :

- Les organes génitaux internes regroupent les ovaires (gonades de la femme), utérus et vagin, les trompes utérines ou trompes de Fallope.
- Les organes génitaux externes sont composés du mon pubis, des grandes lèvres, des petites lèvres, de la glande de Bartholin et du clitoris. La zone contenant ces organes s'appelle la vulve (**Marieb et al., 2014**).

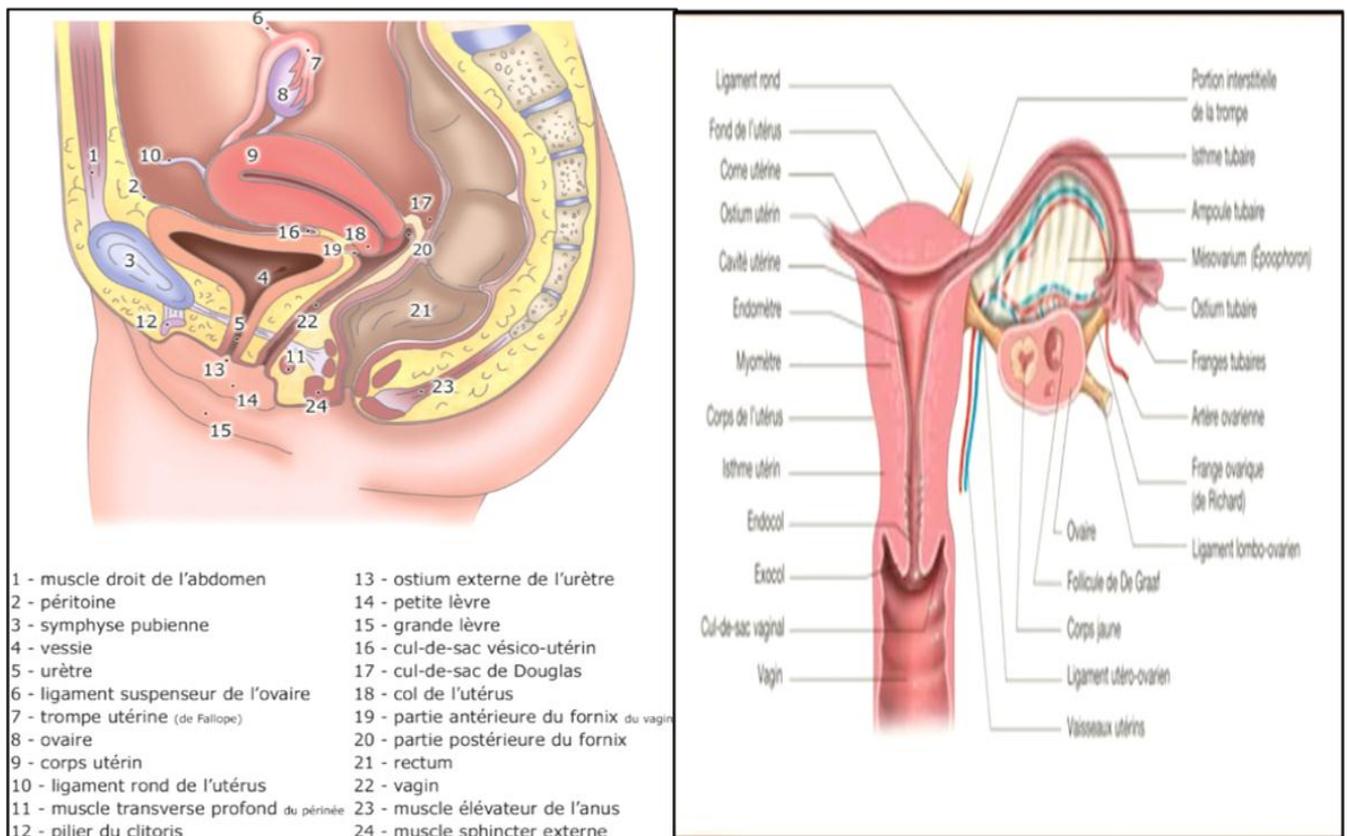


Figure 1 : Appareil génital féminin. A gauche : vue de profil ; A droite : vue de face (**W1**).

2. Ovaires

Les ovaires ou gonades féminines sont deux glandes paires et symétriques, situées dans une fossette peu profonde de chaque côté de la cavité pelvienne, de part et d'autre de l'utérus. Elles assurent une double fonction : exocrine par production d'ovules et endocrine par production d'hormones sexuelles (**Marieb *et al.*, 2014**).

2.1. Anatomie de l'ovaire

Les ovaires sont en forme d'amande, blanc rosée. Ils sont reliés à l'utérus par les ligaments utero-ovariens et au trompes utérines par les ligaments tubo-ovariens.

L'ovaire ovale mesure environ 3,5* 2*1 cm. Sa forme et sa taille changent tout au long de la vie d'une femme : elle est lisse avant la puberté et devient légèrement bosselée pendant la période d'activité génitale en raison des nombreuses cicatrices causées par la rupture du follicule et après la ménopause elle redevient lisse et atrophiée (**Benchimol, 2021**).

2.2. Histologie de l'ovaire

La surface de l'ovaire est recouverte d'un simple épithélium cubique appelé épithélium d'embryon ou épithélium de surface. Sous cet épithélium, le stroma effectue parfois des couches épaisses et insuffisantes, également appelées albidiné. Ce dernier est responsable de la couleur blanche de l'ovaire.

L'ovaire comprend deux parties :

- Une partie interne, zone plus profonde appelée : la médullaire qui contient un tissu conjonctif libre, des vaisseaux sanguins et des filaments nerveux ;
- Une partie externe, zone périphérique appelée : la corticale, elle contient des follicules ovariens, un épithélium germinatif riche en fibroblastes et des myofibroblastes avec une couche mince fibreuse appelée : l'albuginé ovarienne (**Tortora et Derrickson, 2017**) (**Figure 2**).

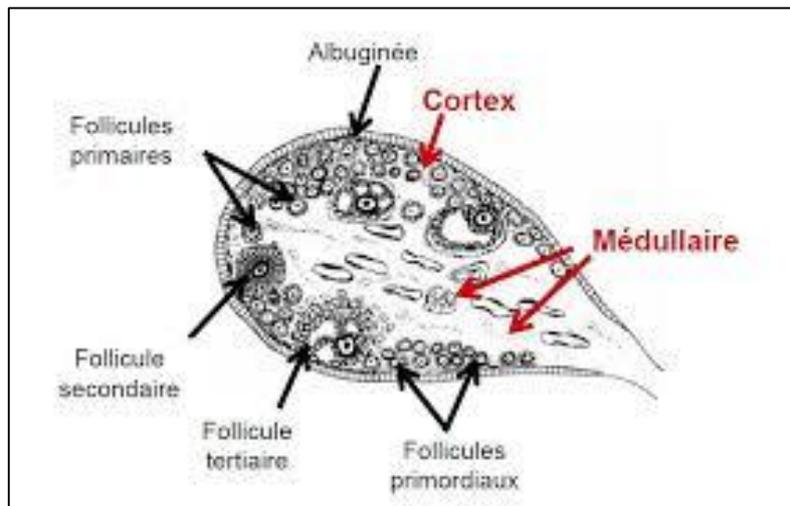


Figure 2 : Histologie fonctionnel de l'ovaire (W2).

2.3. Follicules

Le follicule est une cavité de l'ovaire dans laquelle se développe un ovule. Il est pourvu de deux enveloppes, les thèques interne et externe. La thèque interne sécrète des hormones, surtout des hormones femelles telles que les œstrogènes, mais aussi des hormones mâles comme la testostérone. Plusieurs millions de follicules ovariens sont présents dès la naissance, mais seul 300 ou 400 d'entre eux parviendront à maturité. Dès la puberté, au début de chaque cycle menstruel, un seul follicule grossit à la surface de l'ovaire tandis que les autres dégènèrent.

La structure des follicules ovariens varie en fonction de leur stade de maturation :

1. **Follicule primordial (35µm)** : une seule couche de cellule somatique aplatie entoure l'ovocyte (bloqué en prophase I).
2. **Follicule primaire (45-50µm)** : une seule couche de cellules cubiques autour de l'ovocyte (ovocyte I bloqué en prophase I jusqu'à puberté).
3. **Follicule secondaire (50-180 µm)** : les cellules se multiplient autour de l'ovocyte (deux ou plusieurs couches de cellules granuleuses) formant la granulosa.
4. **Follicule tertiaire ou follicule antral (200µm à 10-12mm)** : la multiplication cellulaire est progressive. Des espaces remplis de liquide s'accumulent entre les cellules granuleuses formant une cavité unique (l'antrum). Début de formation du Cumulus oophorus / Corona radiata.
5. **Follicule mature ou De Graaf (20 mm)** : le follicule atteint ses dimensions maximales par augmentation du liquide folliculaire (augmentation de l'antrum). Ce sont les follicules matures prêts à l'ovulation par éclatement (Ramé et Therond, 2018) (Figure 3).

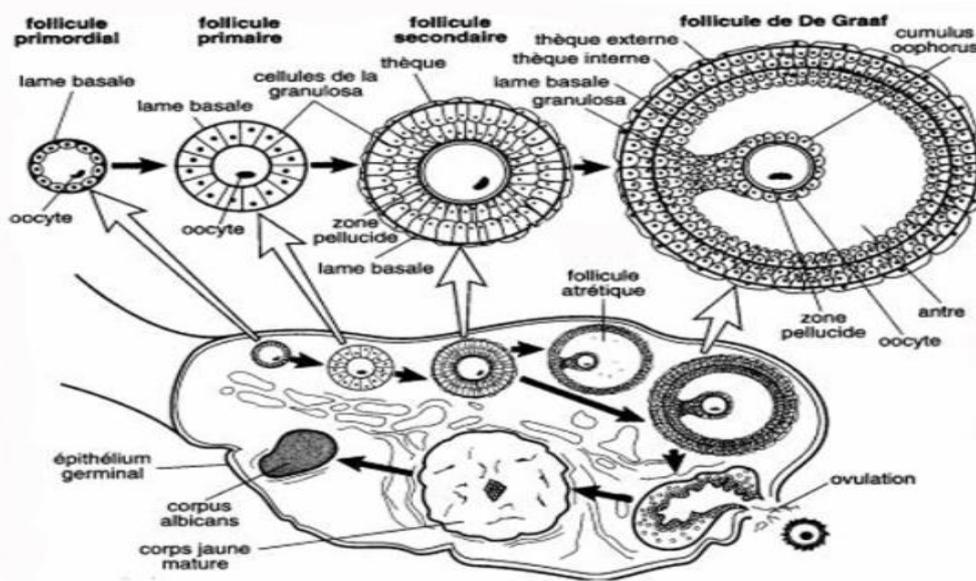


Figure 3 : Différents stades du développement folliculaire dans l’ovaire humain (Guénard, 1996).

3. Physiologie de l’ovaire

L’ovaire assure une double fonction : **une fonction exocrine (ovogénèse)** par laquelle il assure la maturation, la croissance du follicule et l’émission cyclique de l’ovocyte ; et **une fonction endocrine** par laquelle il produit les hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone). Ces hormones sont nécessaires à la survenue des caractères sexuels secondaires et à la régulation du cycle menstruel (Ferrieu-garcia, 2017).

3.1. Formation des gamètes (ovogénèse)

Le processus d’ovogénèse s’échelonne sur plusieurs années tout d’abord, durant la période fœtale, la multiplication et la croissance des ovogonies aboutissant aux **ovocytes I** bloqués au début de la prophase (première division méiotique), qui se trouve dans les follicules ovariens (les follicules primordiaux). Le nombre de ces follicules diminue progressivement jusqu’à la puberté ou un petit nombre d’ovocytes I sont activés chaque mois, un seul poursuivra la méiose I donnant 2 cellules haploïdes de volume très inégal. La plus petite est appelée globule polaire I et, la plus grosse qui contient tout le cytoplasme est appelée **ovocyte II**. Ce dernier subit la méiose II et s’arrête en métaphase II, c’est lui qui est expulsé au moment de l’ovulation. En cas de fécondation, l’ovocyte II termine la méiose II en donnant un gros **ovule** et un minuscule globule polaire (Calas *et al.*, 2016).

3.2. Folliculogénèse

La folliculogénèse est définie par le développement et la maturation du follicule. Elle débute pendant la vie intra utérine avec la formation du pool de follicules primordiaux, constituant la réserve ovarienne, dans lequel les follicules vont être recrutés et menés à maturation de façon continue depuis la puberté jusqu'à l'épuisement du stock

Les follicules subissent une phase de croissance qui est strictement parallèle à la croissance ovocytaire, tant au point de vue de la durée que de la cinétique (**Figure 4**).

La folliculogénèse est caractérisée par 3 grandes étapes :

- **Quiescence** : étape de « dormance » des follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne jusqu'au moment où à partir de la puberté ils sont recrutés en vague pour débiter leur croissance.
- **Croissance basale** : évolution des follicules du stade primordial jusqu'au stade antral régulée par des facteurs autocrines et paracrines produits par l'ovaire.
- **Croissance terminale** : cette dernière phase est dépendante des gonadotrophines secrétées par l'antéhypophyse (FSH et la LH) qui mène à l'ovulation. Dans cette étape il y a le **recrutement** des follicules antraux gonado-dépendants susceptibles d'ovuler (l'ensemble des follicules recrutés est désigné par le terme cohorte), **la sélection** du follicule qui poursuivra sa croissance et **sa dominance** qui le mènera à l'ovulation. Pendant la dominance il y a croissance et maturation du follicule dominant, et régression par atresie des autres follicules de la cohorte (**Tacdjani et al., 2012**).

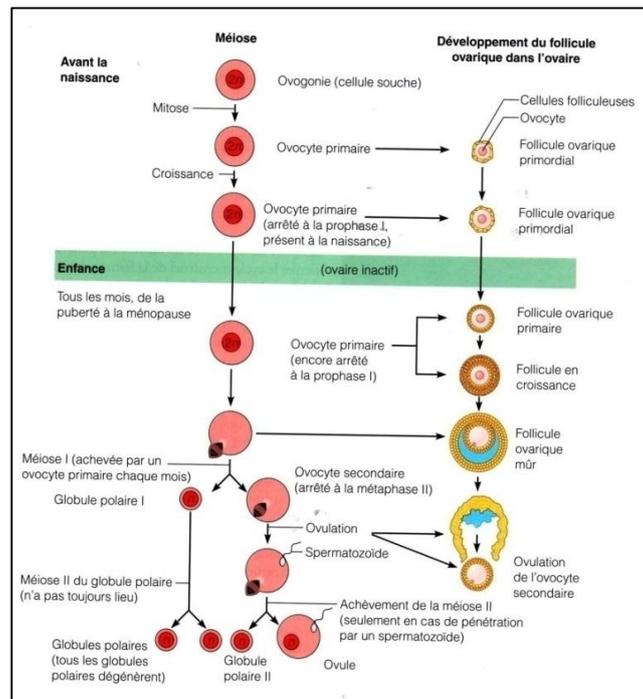


Figure 4 : Ovogenèse. A gauche, Schéma de la méiose. A droite, corrélation avec le développement du follicule ovarique et l'ovulation (Marieb *et al.*, 2014).

3.3. Hormones stéroïdiennes ovariennes

L'ovaire assure la sécrétion de trois types d'hormones sexuelles :

- **Œstrogènes** : sont des hormones produites principalement par les ovaires ; elles sont au nombre de trois : l'œstrone (E1), l'œstradiol (E2) et l'œstriol (E3). Ces hormones jouent un rôle important dans l'ovogénèse, la maturation des follicules, le développement des caractères secondaires de la femme et sont indispensables à la reproduction (Fang *et al.*, 2001 ; Heath *et al.*, 2008).
- **Progestérone** : est une hormone stéroïde qui est principalement sécrétée au deuxième stade du cycle ovarien après l'ovulation, par le corps jaune. Le rôle principal de cette hormone est de favoriser la nidation de l'ovule fécondé et la gestation (Brooker, 2001).
- **Androgènes** : Sont des hormones stéroïdiennes, qui stimulent le développement et le maintien des caractères mâle ; Ces hormones sont aussi produites chez la femme par les ovaires et les glandes surrénales. Le plus important des androgènes est l'androsténodione qui est un intermédiaire métabolique dans la biosynthèse des œstrogènes (Engelmann, 1983).

3.4. Contrôle du fonctionnement ovarien

Les gonades sécrètent des hormones sexuelles qui agissent à distance sur les organes cibles en se liant à des récepteurs spécifiques. Ainsi, ils régulent leur sécrétion en régulant l'action du complexe hypothalamo-hypophysaire (rétrocontrôle) et l'activité d'autres organes cibles. Chez les femmes, les fluctuations des niveaux d'hormones ovariennes alternent entre rétroaction négative et positive dans le complexe hypothalamo-hypophysaire. En effet, de faibles niveaux d'œstrogènes et de progestérone sécrétés pendant les phases folliculaires et lutéales fournissent une rétroaction négative sur le complexe hypothalamo-hypophysaire. D'autre part, au cours du cycle, des niveaux élevés d'œstrogènes donnent une rétroaction positive au complexe hypothalamo-hypophysaire, et ses sécrétions sont amplifiées (pic de LH), provoquant l'ovulation des follicules matures (Blin, 2013) (Figure 5).

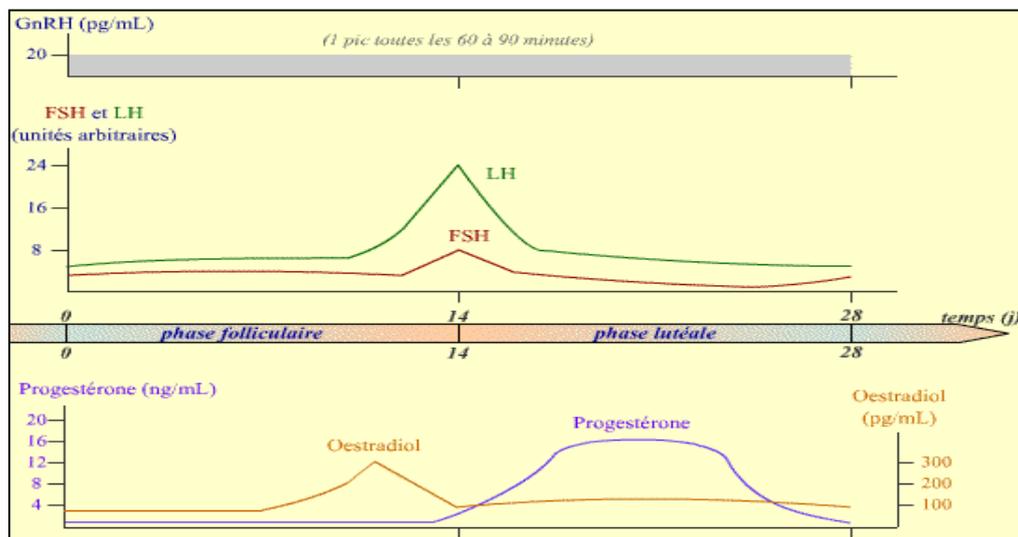


Figure 5 : Concentrations hormonales de l'axe hypothalamo-hypophysaire au cours d'un cycle menstruel chez la femme (en absence de fécondation) (Furelaud et Calvino, 2009).

Chapitre 2
Cancer ovarien

1. Cancer de l’ovaire

Le cancer ovarien est le cancer gynécologique le plus mortel. C’est une tumeur qui peut être bénigne, maligne, ou sous forme de kystes, qui atteint soit un ou les deux ovaires (**Binelli et al., 1997**).

Les cellules cancéreuses ovariennes ont une prépondérance à se répandre au niveau du péritoine et des différents organes dans la cavité péritonéale (**Feki et al., 2009**). Elles peuvent également infiltrer les tissus plus profonds et être la source de métastases.

Les tumeurs de l’ovaire se développent souvent à partir de cellules épithéliales (le type histologique le plus fréquemment rencontré est le carcinome séreux de haut grade) à la surface de l’ovaire.

2. Epidémiologie

En 2020, a été enregistré environ 21 750 nouveaux cas de cancer de l'ovaire, ce qui représente 1,2 % de tous les cas de cancers. Le nombre de décès associés est estimé à 13 940. Le taux de survie à 5 ans devrait être de 48,6 %. Environ 58% des cancers de l'ovaire sont diagnostiqués au stade métastatique, où la survie à 5 ans tombant à 30,2 % au lieu de 92,6% en cas de détection précoce de la propagation locale. 90% des cancers de l'ovaire sont épithéliaux, le sous-type séreux étant le plus courant (**Siegel et al., 2020**).

En Algérie, près de 1042 Algériennes sont atteintes de ce type de cancer chaque année ce qui ne représente que 3,4% de l’ensemble des cancers féminins de notre pays, avec un nombre de décès de 685 cas par an (**Globocan, 2020**).

3. Facteurs de risque

Ce sont des facteurs qui augmentent le risque d’une pathologie mais qui ne sont ni suffisants, ni nécessaires pour la provoquer.

3.1. Facteurs de risque avérés

3.1.1. Âge

L’âge est un facteur de risque important du cancer ovarien. Le cancer de l'ovaire touche préférentiellement les femmes de 50 ans et plus, sauf pour les cas de cancers héréditaires qui touchent les jeunes femmes.

Lorsqu'une femme vieillit, des mutations de l'ADN peuvent s'accumuler dans le tissu ovarien, ce qui augmente le risque de développer un cancer ovarien. La fréquence maximale de survenue de ce type de cancer se situe entre 60 et 70 ans (**Gauthier et al., 2012**).

3.1.2. Facteurs génétiques

Les femmes ayant des antécédents familiaux de cancer de l'ovaire apparaissent plus à risque de développer elles aussi ce type de tumeur. Il y a une prédisposition héréditaire au cancer de l'ovaire transmise sur un mode autosomique dominant et en relation avec les gènes *BRCA1* et *BRCA2* qui jouent un rôle important dans la réparation de l'ADN. L'antécédent personnel de cancer du sein est également un facteur de risque (**Has, 2010**).

La présence d'une anomalie génétique héréditaire telle qu'une mutation des gènes *BRCA1* ou 2, ou rarement d'un des gènes du syndrome de Lynch, constitue le principal facteur de risque de développer un cancer de l'ovaire. Elle est responsable de 15 à 20 % des cancers de l'ovaire de haut grade (**Zhang et al., 2011; Alsop et al., 2012**).

3.1.3. Exposition aux hormones naturelles au cours de la vie

La durée d'exposition aux hormones naturelles est déterminée par la période entre les menarches et la ménopause. En prolongeant cette durée et en augmentant le nombre d'ovulations au cours de la vie, la puberté précoce et la ménopause tardive sont des facteurs de risque. A l'inverse, la grossesse (même si elle n'est pas menée à terme) et plus encore la multiparité, l'allaitement, la prise de contraceptifs oraux sont protecteurs (**Schüler, 2013**).

Le traitement hormonal de la ménopause a un effet sur les ovaires ; en 2012 le *CIRC* a classé le traitement ostrogénique de la ménopause comme cancérigène avéré pour l'ovaire (**CIRC / IARC, 2012**).

3.2. Facteurs de risques suspectés

3.2.1. Obésité

Le *CIRC* estime que pour chaque augmentation d'IMC de 5 unités, le risque du cancer ovarien est d'environ 1,1 fois plus élevé (**CIRC, 2016**). Ce risque est principalement associé à certaines tumeurs épithéliales (séreuses de bas grade, endométriales et à cellules claires) (**Dixon, 2016**). Aussi, l'obésité réduit le risque de survie au cancer de l'ovaire et augmente le risque de décès causé par la maladie (**Bandera et al., 2017**).

3.2.2. Manque d'activité physique

Les études qui se sont intéressées à l'influence de l'activité physique sur le risque du cancer ovarien ont montré un effet protecteur de l'activité physique, mais ces données sont encore insuffisantes pour prouver avec certitude une causalité (**Hanna, 2004 ; Cannioto, 2016**).

3.2.3. Tabagisme

Les études récentes montrent que les femmes qui fument sont environ 1,5 fois plus susceptible de développer une tumeur mucineuse que les femmes non fumeuses (**CGESOC, 2012 ; Santucci, 2019**).

Le tabagisme augmentait jusqu'à 25 % le risque de décès chez les femmes qui fument, atteintes d'un cancer de l'ovaire par rapport à celles qui ne fument pas (**Kim et al., 2017**).

3.2.4. Dépression

Les données de l'étude de santé de l'infirmière indiquent que les femmes présentant une dépression persistante pourrait présenter un risque d'atteinte du cancer ovarien plus élevé par rapport aux femmes qui ne présentent pas de symptômes dépressifs (**Huang et al., 2016**).

4. Types de cancer ovarien

Les tumeurs de l'ovaire sont subdivisées en trois grandes catégories histologiques : épithéliale, germinale, et stromale ou de cordon sexuels.

4.1. Tumeurs épithéliales

Elles dérivent de l'os et représentent environ 65% de toutes les tumeurs de l'ovaire et près de 90% des tumeurs malignes.

Le cancer épithélial de l'ovaire est généralement diagnostiqué à un stade avancé (**Cortez et al., 2018**).

4.2. Tumeurs germinales

Les tumeurs de l'ovaire qui dérivent plutôt des cellules germinales comptent pour environ 25% de toutes les tumeurs de l'ovaire et pour 3-7% des tumeurs malignes. Ces tumeurs sont généralement peu fréquentes et bénignes chez la femme adulte, bien qu'elles représentent plus de la moitié des tumeurs ovariennes malignes se développant chez les fillettes et les adolescentes (**Cortez et al., 2018**).

4.3. Tumeurs stromales

Dites également tumeurs du cordon sexuels comptent pour environ 10% de toutes les tumeurs de l'ovaire et pour 3-7% des tumeurs malignes de l'ovaire. Elles peuvent être associées à une production hormonale. Les tumeurs des cellules de la granulosa sont les plus potentiellement malignes et représentent 70% des tumeurs malignes stromales ou des cordons sexuels (**Chen et al., 2003**).

5. Classification du cancer de l'ovaire

Selon la Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO), il y a 4 critères : la classe tumorale, le type histopathologique, le grade et le stade.

5.1. Classes tumorales

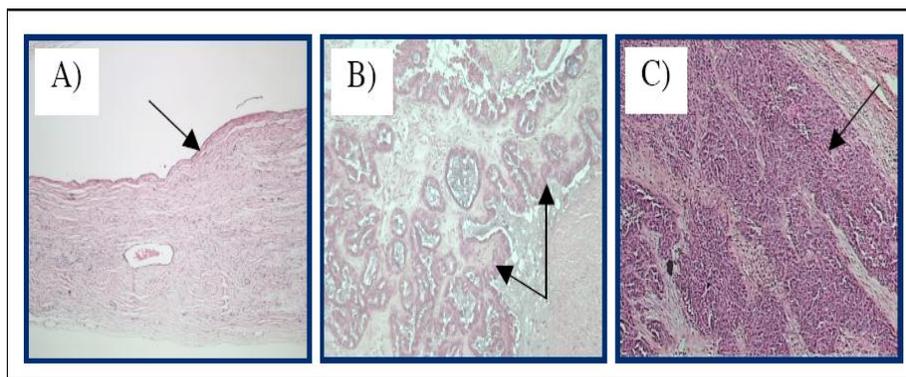


Figure 6 : Coupes histologiques des trois classes tumorales (**Normandin, 2008**).

A) Tumeur bénigne ; B) Tumeur à faible potentiel de malignité ; C) Tumeur invasive.

A- Tumeurs bénigne ovarienne (BOV) : Ces tumeurs sont plutôt inoffensives et sont généralement retrouvées sous la forme de masses kystiques (**Boyle et al., 2008**).

B- Tumeurs borderline ou à faible potentiel de malignité (LMP) : elles ne sont ni bénignes, ni malignes, mais entre les deux, elles sont bilatérales dans 26-50% des cas, ce qui est plus élevé que les tumeurs bénignes, mais moins que les invasives (**Ouellet et al., 2005**).

C- Tumeurs invasives (TOV) : ces tumeurs présentent une prolifération épithéliale avec stratification. Elles sont plus agressives, pouvant s'étendre au-delà des ovaires et former des métastases à distance. La caractéristique propre aux tumeurs invasives est la présence d'invasion stromale destructive (**Chen et al., 2003**).

5.2. Types histopathologiques

Les types de tumeurs ovariennes sont décrites au-dessus (§ section 4).

Selon l'OMS, il existe une variété de sous-types histologiques tumoraux déterminés selon le tissu auquel les tumeurs s'apparentent le plus. Plus spécifiquement, pour le cancer épithélial de l'ovaire, les sous-types sont : séreux, endométrioïde, mucineux, à cellules claires, à cellules transitionnelles (ou de Brenner), mixtes, et indifférenciées.

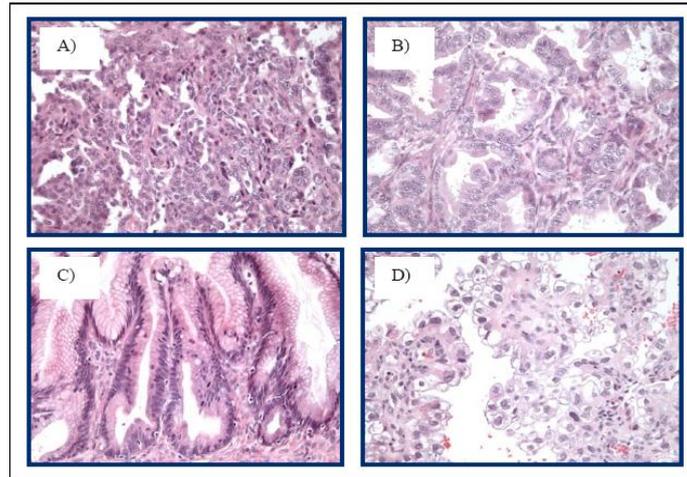


Figure 7 : Coupes histologiques des quatre principaux types histopathologiques du cancer épithélial de l'ovaire (Normandin, 2008).

A) Séreux ; B) Mucineux ; C) Endométrioïde ; D) Cellules claires.

- A- Séreux :** Ce type histopathologique est le plus fréquent et est retrouvé dans environ 55% des tumeurs épithéliales. Elles sont bénignes et donc sous forme de kystes dans environ 65% des cas.
- B- Mucineux :** Ces cellules sont caractérisées par une abondante quantité de mucus (mucine) intracytoplasmique. Les tumeurs mucineuses comptent pour approximativement 10% des cancers de l'ovaire (Harrison *et al.*, 2008).
- C- Endométrioïde :** Elles sont formées de cellules ayant l'aspect de celles qui recouvrent la paroi de l'utérus (l'endomètre plus précisément). Elles représentent environ 10% des tumeurs de l'ovaire.
- D- Cellules claires :** Elles représentent environ 5% des tumeurs ovariennes. Les tumeurs bénignes et borderlines à cellules claires sont assez rares, la majorité des tumeurs de ce type histopathologique étant malignes (Chen *et al.*, 2003).

5.3. Grades (G0-G3)

La classification en grade veut dire une classification selon le degré de différenciation des cellules tumorales.

G1 : (tumeur bien différenciée).

G2 : (tumeur modérément différenciée).

G3 : (tumeur pauvrement différenciée).

G0 : aussi appelé GB correspond aux tumeurs borderline (**Colombo et al., 2006**).

5.4. Stades (I-IV)

Les deux systèmes FIGO et TNM sont utilisés pour évaluer le stade tumoral. Cette classification permet d'adapter la conduite du traitement ainsi que les modalités chirurgicales. Il s'agit d'une stadification anatomopathologique établie selon l'extension tumorale (T), l'envahissement ganglionnaire loco-régional (N) et les localisations métastatiques (M) (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Classification FIGO et correspondance TNM des tumeurs ovariennes (**FIGO Guidelines, 2014**).

Stades FIGO	Classification TNM	Ovaire
I	T1	Tumeur limitée aux ovaires
IA	T1a	Tumeur limitée à un seul ovaire avec capsule intacte
IB	T1b	Tumeur des deux ovaires, capsule intacte
IC	T1c	Rupture capsulaire ou tumeur à la surface ovarienne ou cellules malignes dans le liquide d'ascite ou lavage péritonéal
II	T2	Tumeur ovarienne étendue au pelvis
IIA	T2a	Extension à l'utérus et/ou aux trompes
IIB	T2b	Extension aux autres organes pelviens
IIC	T2c	Extension pelvienne avec cellules malignes dans le liquide d'ascite ou de lavage péritonéal

III	T3 et /ou N1	Métastases péritonéales au-delà du pelvis et/ou Adénopathies métastatiques régionales
IIIA	T3a	Métastases péritonéales microscopiques
IIIB	T3b	Métastases péritonéales macroscopiques < 2cm
IIIC	T3c et/ou N1	Métastases péritonéales > 2cm et/ou adénopathies métastatiques régionales
IV	M1	Métastases à distance (autres que les métastases Péritonéales)

6. Symptômes du cancer de l'ovaire

Un cancer de l'ovaire provoque peu de symptômes, ces derniers ne se manifestent souvent qu'à un stade avancé. Néanmoins, il peut être suspecté devant plusieurs signes dont :

- la détection d'une masse ovarienne lors du suivi gynécologique ou d'un examen d'imagerie.
- l'apparition de douleurs abdominales ou pelviennes (dans la zone du petit bassin).
- une augmentation anormale du volume de l'abdomen liée à une ascite.
- des saignements ou des pertes vaginales anormales (rarement).
- des troubles du transit.
- des envies très fréquentes ou pressantes d'uriner.
- l'apparition de problèmes de circulation dans un membre inférieur se manifestant par un œdème (gonflement).
- l'apparition d'une douleur thoracique.
- un essoufflement prolongé.
- une dégradation inexplicée de l'état général se manifestant notamment par une perte de poids et d'appétit, une diminution de la prise alimentaire et de la fatigue (**INCa, 2018**).

7. Diagnostic du cancer de l'ovaire

- **Dépistage** : l'unique outil de dépistage actuel est l'examen gynécologique chez les femmes consultant leur médecin de façon périodique, bien que les tumeurs peuvent aussi passer inaperçues.

- **Diagnostic** : la plupart des cancers de l'ovaire précoces sont diagnostiqués après une exploration chirurgicale de l'abdomen réalisée en réponse à des symptômes ou des échographies indiquant une maladie ovarienne. Le diagnostic repose principalement sur l'examen clinique du

pelvis, l'échographie et le dosage sérique du CA 125 (*Cancer Antigen 125*). De nos jours, le marqueur HE4 (*Human Epididymis protein 4*) est couplé à la CA125 dans le diagnostic de ce type de cancer (**Kim et al., 2017**).

8. Traitement du cancer de l'ovaire

La chirurgie est le traitement de première intention du cancer de l'ovaire. Lorsque la maladie est très avancée, la chirurgie est généralement suivie par la chimiothérapie.

Le traitement est adapté à chaque patiente en fonction de son âge, de ses antécédents médicaux et chirurgicaux, de son état de santé global et des caractéristiques du cancer (**Tewari et al., 2015**).

8.1. Chirurgie

La chirurgie est proposée systématiquement pour les tumeurs de stade I, II ou III, sauf si l'état général du patient ne le permette pas. En dehors des tumeurs de stade I, les thérapies complémentaires doivent être associées à la chirurgie. Enfin, pour les tumeurs de stade IV, le bénéfice de la chirurgie est discuté en fonction de la taille et de la localisation de la tumeur et des métastases (**Tewari et al., 2015**).

8.2. Chimiothérapie

La chimiothérapie adjuvante standard pour le cancer de l'ovaire est une combinaison d'agents de la catégorie des taxanes, tel que le paclitaxel ou le docetaxel, ainsi que d'agents de la catégorie des platines tels que le carboplatine ou le cisplatine. Les taxanes ont un effet stabilisateur sur les microtubules cellulaires. Cela empêche leur réorganisation et bloque ainsi le déroulement de la mitose, ce qui conduit à la mort cellulaire.

Les platines sont des agents alkylants de l'ADN. Ils empêchent les brins d'ADN de se séparer, ce qui prévient la réplication de l'ADN et donc la division cellulaire. Les patientes qui ne sont pas éligibles à une première chirurgie de cytoréduction devraient également recevoir ce traitement de chimiothérapie pour essayer de diminuer le volume tumoral avant de pouvoir tenter une intervention chirurgicale (**Benedet, 2000 ; McGuire et Markman, 2013**).

8.3. Radiothérapie

La radiothérapie est rarement utilisée pour traiter le cancer de l'ovaire, car ce cancer affecte généralement de nombreux organes et de nombreux tissus dans la région atteinte (**Brown et al., 2012**).

Chapitre 3
Génétique du cancer
ovarien

1. Prédisposition génétique

Les prédispositions génétiques peuvent influencer sur le développement du cancer de l'ovaire (**Risch et al., 2001**). Il est estimé qu'environ 10-15% des cas de cancer ovarien surviennent dans un contexte héréditaire. Une femme ayant un membre de sa parenté de premier degré (mère, sœur, fille) atteint d'un cancer de l'ovaire présente un risque trois fois plus élevé de développer ce type de cancer (**Billiau, 2014**).

L'association de plusieurs cancers dans la famille, tels que le cancer du sein, de l'utérus, de l'ovaire ou du côlon, pourrait aussi entraîner un risque accru de développer un cancer de l'ovaire (**Metcalf, 2004**).

Il existe deux formes de prédisposition génétique pour le développement d'un cancer ovarien :

1.1. Prédispositions majeures

Les anomalies des gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été identifiées comme étant responsables de 65 à 85 % d'histoires familiales de cancers ovariens. En effet, il a été rapporté que les familles avec cancer ovarien proprement dit, ou sein/ovaire encore dénommé HBOC (*Hereditary Breast and Ovarian Cancer*) sont atteints de mutations germinales des gènes *BRCA* (**Hodgson et Turashvili, 2020**).

La transmission de cette prédisposition majeure se fait selon un modèle mendélien autosomique dominant et le risque de transmission d'un individu porteur à sa descendance est de 50 % (**Noguès, 2015**).

Le deuxième cas de prédisposition majeure est le syndrome HNPCC (*Hereditary Non Polyposis Colon Cancer*) encore dénommé syndrome de Lynch qui est responsable de 10 à 15 % du nombre total de cas de cancer de l'ovaire héréditaire. Lynch se produit suite à des mutations héréditaires dans l'un des quatre gènes de réparation des mésappariements (*MHL1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*), dont la transmission se fait également selon un modèle mendélien autosomique dominant (**Momenimovahed et al., 2019**).

1.2. Prédispositions mineures

Syndrome de Li-Fraumeni (SLF) et *TP53*, syndrome de Cowden (SC) et *PTEN*, syndrome de Peutz-Jeghers (SPJ) et *STK11*, formes héréditaires de cancer gastrique à cellules isolées et *CDHI*. Ils sont tous de transmission autosomique dominante due à des mutations rares dans

de nombreux gènes impliqués dans les voies de réparation des cassures double brin par recombinaison homologue (RH), dans le contrôle du cycle cellulaire, ou encore dans les oncogènes et les gènes suppresseurs (Cazier et Tomlinson, 2009 ; Noguès, 2015).

2. Gènes de susceptibilité du cancer ovarien

2.1. Gènes BRCA

Les gènes *BRCA* sont des gènes suppresseurs de tumeurs, qui jouent un rôle important dans le processus de réparation des cassures double brin (CDB) (Gorodetska *et al.*, 2019).

Gène BRCA1

Situé sur le bras long du chromosome 17 (17q21.31). Sa séquence composée de 5592 nucléotides comporte 24 exons et code une protéine de 1863 acides aminés (207,7 kDa) (Spurdle *et al.*, 2012 ; W3) (Figure 8). Ce gène est fortement exprimé dans la phase G1 et en phase G0. Il régule la voie de réparation de la jonction d'extrémités non homologues (NHEJ : *Non Homologous End Joining*) qui est l'une des principales voies de réparation de l'ADN lorsque les extrémités d'ADN cassées sont directement ligaturées sans avoir besoin d'une matrice homologue (Gorodetska *et al.*, 2019).

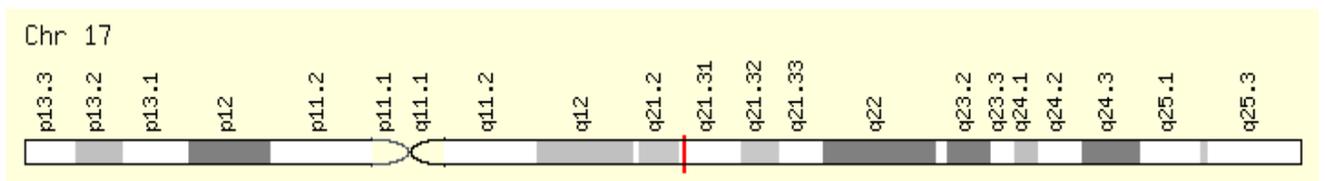


Figure 8 : Localisation du gène BRCA1(W3).

La protéine BRCA1 possède une extrémité N-terminale qui présente un domaine RING (*Really Interesting New Gene*) responsable de son activité d'E3-ubiquitine ligase et son interaction avec la protéine BARD1 (*BRCA1 Associated RING Domain protein 1*). Dans la région centrale, se trouve un domaine "coiled-coil". Ce type de domaine est connu pour permettre les interactions entre protéines permettant notamment à BRCA1 de s'associer à PALB2 (*Partner and Localizer of BRCA2*). L'extrémité C-terminale présente, un domaine BRCT (*BRCA1 Carboxyl Terminal*) qui est impliqué dans l'interaction avec des protéines phosphorylées en réponse aux dommages à l'ADN (Brodie et Henderson, 2012) (Figure 9).

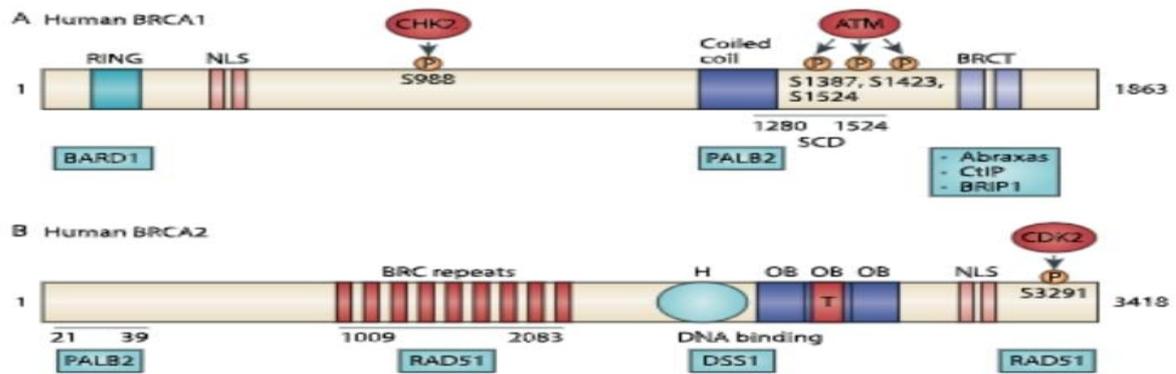


Figure 9 : Domaines de BRCA1 et BRCA2 (Roy *et al.*, 2012).

Gène BRCA2

A été localisé sur le chromosome 13 (13q13.1), code pour une grande protéine de 3418 acides aminés, il contient 27 exons, et couvre environ 84,2 kb d'ADN génomique (Gorodetska *et al.*, 2019 ;W4) (Figure 10). Ce gène est exprimé pendant la phase S/G2 pour protéger l'intégrité des télomères via le chargement de RAD51 sur les télomères. *BRCA2* joue aussi un rôle protecteur dans le maintien de la stabilité génomique lors d'un stress de réplication, favorise la recombinaison homologue par le déplacement de RPA (*Replication Protein A*) ainsi que le recrutement de la recombinaison RAD51 sur les sites de dommages à l'ADN. *BRCA2* se lie directement à RAD51 via ses répétitions BRC et donc facilite le chargement de RAD51 sur l'ADNsb et la recherche de matrice d'ADN homologue (Gorodetska *et al.*, 2019).

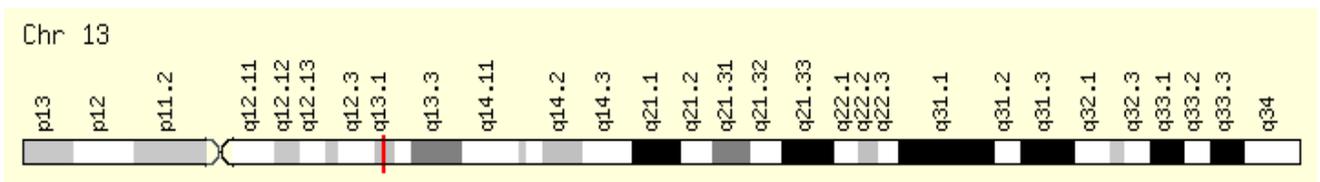


Figure 10 : Localisation du gène *BRCA2* (W4).

La protéine *BRCA2* comprend l'extrémité N-terminale permettant l'interaction avec *PALB2* (*Partner and localizer of BRCA2*). La région centrale comprend 8 motifs BRC répétés (BRC repeats) qui interagissent avec six à huit molécules *RAD51*. Enfin l'extrémité C-

terminale présente un site de phosphorylation par CDK qui se lie à RAD51 (Orr et Savage, 2015) (Figure 9).

2.2. Gènes MMR (DNA Mismatch Repair)

Les gènes MMR, tels que l'homologue *mutL1* (*MLH1*), l'homologue *MutS2* (*MSH2*), l'homologue *MutS6* (*MSH6*) et le *PMS2* (*Postmeiotic segregation increased 2*), expriment les protéines MMR, qui sont des hydrolases d'acides nucléiques hydrolysant les bases mal appariées générées lors du processus de la réplication de l'ADN. Cependant, les mutations germinales des gènes *MMR* provoquent des déficiences en protéines MMR entraînant une instabilité du génome et provoqueraient de ce fait un risque accru de cancer chez les porteurs de ces mutations, représenté essentiellement par le syndrome de Lynch (Zhang et Chen, 2021).

2.3. Gène *TP53*

Des mutations germinales de ce gène ont été mises en évidence chez des patients du SLF et sont comptés pour 3% de l'ensemble des cancers familiaux ovariens (Toss *et al.*, 2015). Le gène *TP53* est localisé au locus 17p13.1, d'une taille de 25,7 kb incluant 11 exons. *TP53* code pour une phosphoprotéine nucléaire de 393 acides aminés et d'un poids moléculaire de 53 kDa, d'où il tient son nom. De nombreuses études ont montré que P53 joue un rôle crucial dans la réponse aux dommages à l'ADN, en participant aux mécanismes d'apoptose et d'arrêt du cycle cellulaire. Suite à des dommages à l'ADN, P53 est rapidement stabilisée et s'accumule dans la cellule (Cole *et al.*, 2016,W5).

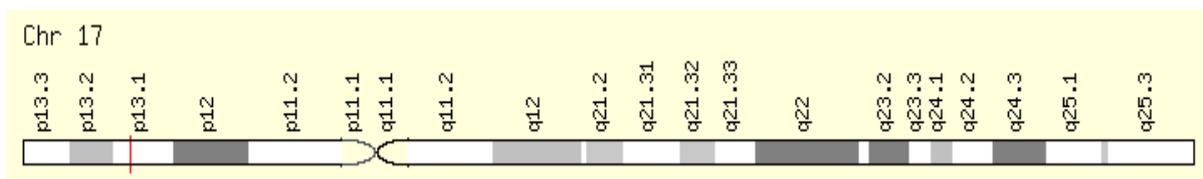


Figure 11 : Localisation du gène *TP53* (W5).

2.4. Gène *STK11*

Nommé serine thréonine-kinase 11. Il représente le gène qui a été corrélé au SPJ. Ce gène est localisé sur le chromosome 19p13.3 et code pour une protéine de 48,86 kDa impliquée dans la régulation du cycle cellulaire et l'apoptose (Apostolou et Fostira, 2013 ; W6).

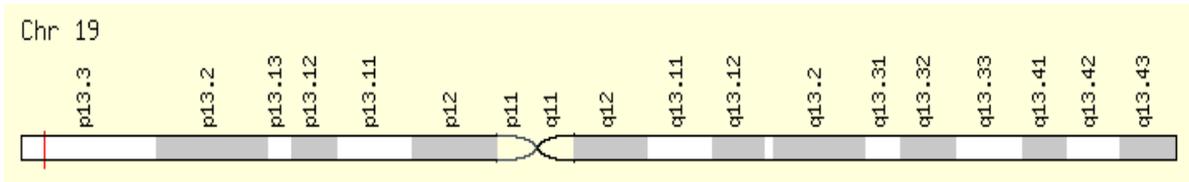


Figure 12 : Localisation du gène *STK11* (W6).

2.5. Gène *PTEN*

Phosphatase and TENsin homolog (PTEN) est un gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 10 (10q23), et code pour une phosphatase antagoniste de *PI3K*. Il est impliqué dans la régulation du cycle cellulaire, la préservation de la stabilité génomique et donc dans le contrôle négatif des processus tumoraux d'où sa fonction oncosuppressive (Figure 13).

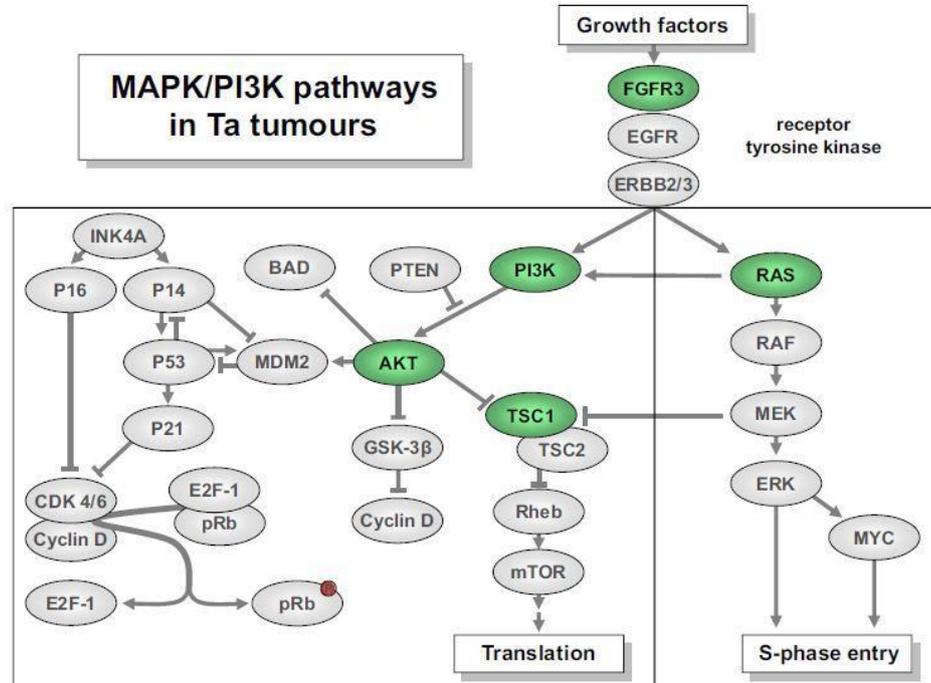


Figure 13 : Voie MAPK/PI3K (Thérier *et al.*, 2007).

La *PTEN* ralentit et atténue la voie de signalisation *PI3K/AKT* en hydrolysant le phosphate situé en position 3 du phosphatidylinositol (3, 4, 5)-triphosphate *PIP3* (**Figure 14**). Le phosphatidyl inositol bi-phosphate (*PIP2*) ainsi formé ne peut plus activer la voie *AKT* (**Thérier et al., 2007**).

La mutation du gène *PTEN* est responsable de plusieurs pathologies héréditaires notamment le SC qui est caractérisé par un risque élevé de développer des tumeurs malignes et des cancers tels que le cancer du poumon, de la thyroïde, de la vessie et des ovaires (**Shi et al., 2020**).

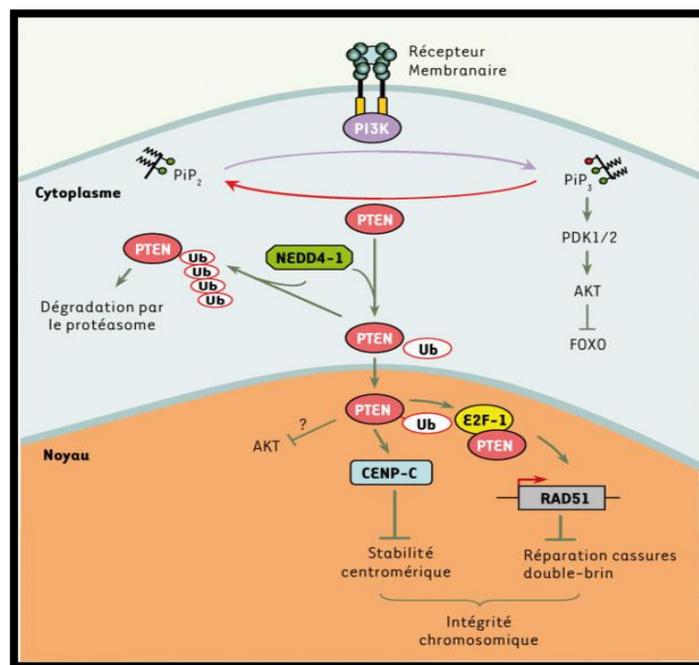


Figure 14 : *PTEN* : un acteur cytoplasmique et nucléaire (**Thérier et al., 2007**).

2.6. Gènes impliqués dans la réparation des CDB

Les CDB dans l'ADN se produisent naturellement dans le génome pendant la réplication et sont réalisés également par des agents exogènes endommageant l'ADN. La réparation des CDB est essentielle à la viabilité cellulaire et à la croissance normale. Les CDB peuvent être réparés par plusieurs voies, notamment la recombinaison homologue par réunion d'extrémités homologues et la jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) (**Liping et al., 2015**).

Les gènes de réparation des CDB sont impliqués dans 10 à 15 % des cas familiaux de cancers ovariens. Il s'agit des gènes codant des protéines qui interagissent et coopèrent avec les protéines BRCA.

Donc plusieurs gènes sont impliqués dans la maintenance de la stabilité de l'ADN dont parmi lesquels :

- le gène *CHEK2* (*CHE*ckpoint Kinase 2) a été identifié et localisé sur la région chromosomique 22q12.1. C'est un gène suppresseur de tumeur qui code une kinase, activée en réponse aux dommages de l'ADN.
- le gène *PALB2* est localisé sur le chromosome 16p12.2.
- Le gène *RAD51* localisé en position 15q15.1. La protéine BRCA2 transporte la protéine RAD51 au niveau des CDB ; Cette dernière recouvre des extrémité 3' simple brin de part et d'autres de la CDB ; processus requis pour la recombinaison et la réparation de l'ADN (Toss *et al.*, 2015 ; Momenimovahed *et al.*, 2019).

2.7. Gène *CDH1*

Le gène *CDH1*, situé au niveau du locus 16 q22.1, code pour une protéine appelée cadhérine épithéliale ou la E-cadhérine. Cette protéine a plusieurs rôles très importants, notamment l'adhésion cellulaire, la transmission des signaux chimiques à l'intérieur des cellules, le contrôle de la maturation cellulaire et la régulation de certains gènes. La E-cadhérine va agir également comme un antioncogène en empêchant les cellules de croître et de se multiplier d'une façon anarchique.

Des mutations de ce gène entraineraient la production d'une protéine non fonctionnelle. Cette perte de fonction aboutira à une croissance cellulaire rapide et des métastases (Shi *et al.*, 2020).

2.8. Gène d'intérêt *XPC* (*Xeroderma Pigmentosum groupe C*)

Le gène *XPC* est situé sur le chromosome 3 en position 3p25.1 D'une taille de 33 kb, il se compose de 16 exons et 15 introns (Khan, 2002 ; W7) (Figure 15).

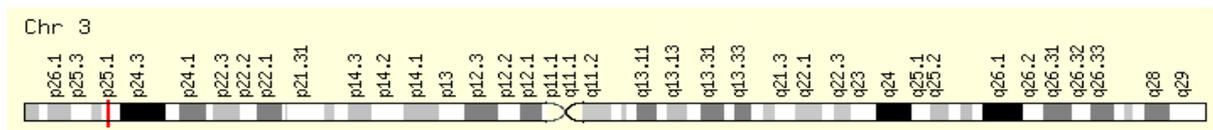


Figure 15 : Localisation du gène *XPC* (W7).

Ce gène code pour une protéine d'un poids moléculaire de 105 kDa et composée de 940 acides aminés (**W7**). Cette protéine forme un hétérodimère avec la protéine hHR23B impliquée dans la reconnaissance du dommage à l'ADN par le système de réparation par excision des nucléotides (NER) (**Lainé et al., 2006**).

Le NER fait intervenir chez l'homme un très grand nombre de protéines incluant les protéines XP (groupes A à G), dont la déficience chez l'homme provoque la maladie récessive rare appelée *xeroderma pigmentosum*, qui se caractérise par une hypersensibilité aux rayons ultraviolets de la lumière solaire et une prédisposition à développer un cancer de la peau. Le NER comprend deux voies : le **GG-NER** (Global *Genome-NER*), qui répare les lésions de l'ADN indépendamment de leur localisation dans le génome, et le **TC-NER** (*Transcription-Coupled-NER*) qui est induit par la présence de lésions au niveau des régions transcrites de l'ADN (**Figure 16**). Seules les étapes de reconnaissance de la lésion varient entre ces deux voies. Dans le GG-NER, c'est le complexe **XPC-hHR23B** qui reconnaît la distorsion de l'ADN associée à la lésion, alors que, dans le TC-NER, le mécanisme est induit par l'arrêt de la progression de l'ARN polymérase II au niveau de la lésion sur le brin transcrit et fait intervenir deux facteurs spécifiques, CSA et CSB (*Cockayne Syndrome A* et B). Dans les deux cas, le maintien de l'ouverture de la double hélice d'ADN est assuré par les deux hélicases XPD et XPB faisant partie de la dizaine de facteurs du complexe TFIIH. Cela rend la lésion accessible aux autres facteurs du NER et permet le recrutement du complexe XPA-RPA et de l'endonucléase XPG. XPA reconnaît et vérifie la présence de la lésion, RPA (constitué d'un trimère) se lie à l'ADN simple brin non endommagé et XPG incise le brin endommagé en 3' de la lésion. Dans un deuxième temps, l'endonucléase XPF, en association avec le facteur ERCC1, réalise la coupure de l'ADN endommagé en 5' de la lésion et libère un fragment de 24 à 32 bases. L'ADN polymérase et l'ADN ligase sont alors recrutées pour effectuer une nouvelle synthèse de brin et restaurer la continuité de l'ADN (**Sugasawa et al., 1998 ; Friedberg, 2003 ; Griffiths et al., 2010**).

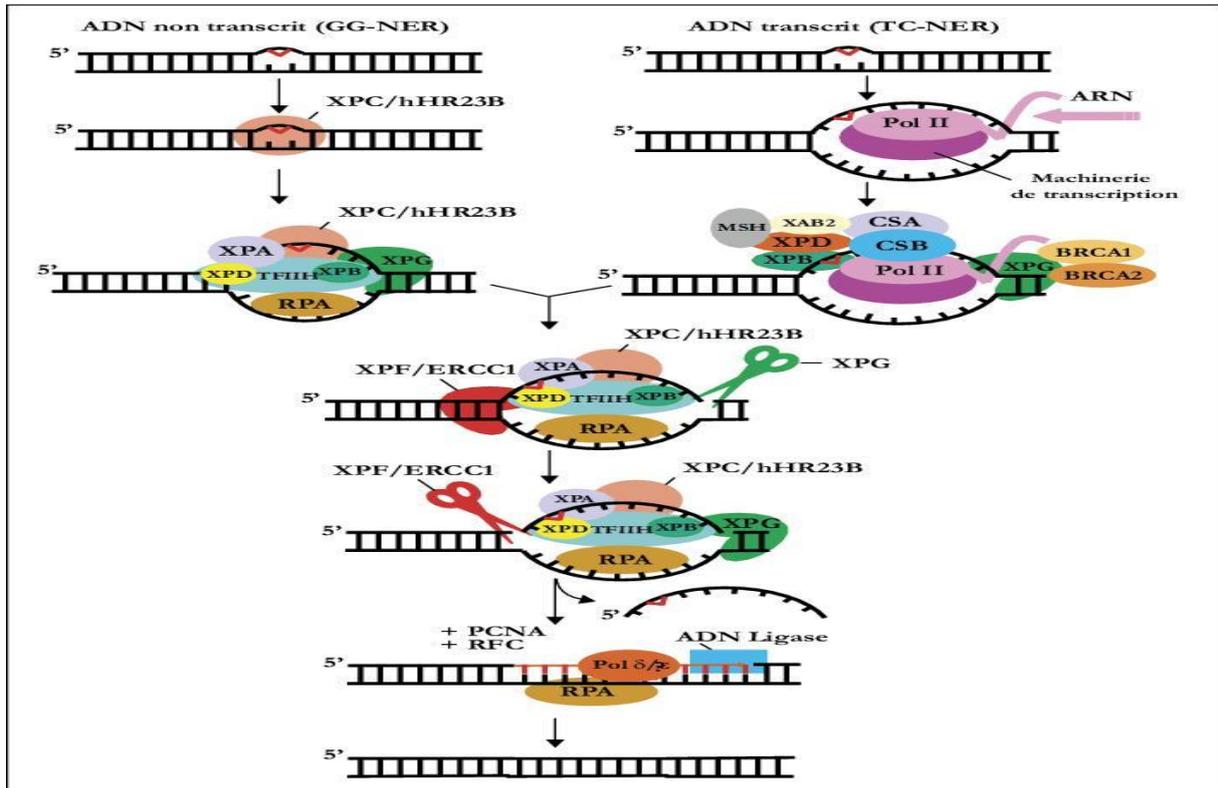


Figure 16 : Mécanisme de réparation par excision de nucléotides (NER). Il existe deux voies du NER selon que la lésion se trouve dans l'ADN non transcrit (GG-NER) ou l'ADN transcrit (TC-NER) (Friedberg, 2003).

Plus d'une centaine de polymorphismes ont été identifiés pour le gène *XPC* (Raju *et al.*, 2012). Les polymorphismes les plus communs sont : de type DIP (*deletion/insertion polymorphism*) qui concerne une répétition d'un dinucléotide AT (PAT) (Khan *et al.*, 2002) et ceux de type SNPs qui sont situés dans la région codante du gène et qui sont non synonymes, il s'agit du polymorphisme (*XPC* A33512C, rs2228001) Lys939Gln (transversion A/C) dans l'exon 15 et du polymorphisme (*XPC* C21151T, rs2228000) Ala499Val (une transition C/T) dans l'exon 8 (Hu *et al.*, 2005; Khan *et al.*, 2002). Les variantes de séquences du gène *XPC* peuvent modifier la capacité du NER et moduler le risque de cancer (Raju *et al.*, 2012).

Patientes et méthodes

Deux études ont été entreprises : l'une **statistique** réalisée suite au recueil d'informations détaillées des patientes atteintes d'un cancer ovarien, recrutées au niveau du service d'oncologie médicale du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC). L'autre **Génétique** établie au sein du Centre Nationale de Recherche en Biotechnologie (CRBt).

1. Etude statistique

L'étude entreprise est transversale ; elle a porté sur 60 femmes, toutes originaires de l'Est Algérien, âgées de 15 à 82 ans.

Un questionnaire détaillé a été établi et complété pour toutes les patientes suite à une étude exhaustive des dossiers médicaux, ainsi que des informations obtenus directement des patientes, qui étaient soit hospitalisées pour réaliser une chimiothérapie au niveau du service d'oncologie (CHUC), ou venaient pour contrôles mensuels (**Annexe 1**).

L'objectif de cette étude est d'établir la répartition des patientes selon les paramètres étudiés (l'âge, l'état civil et la parité, le type et la durée de la contraception, les antécédents familiaux et le stade tumoral), à fin de déceler lequel de ces facteurs est impliqué dans la carcinogénèse ovarienne.

2. Etude génétique

L'étude génétique a été réalisée sur des patientes atteintes du cancer ovarien de différents types et stades, recrutées au sein du service d'oncologie (CHUC).

Deux investigations ont été réalisées ; l'une cytogénétique basée sur l'établissement et l'analyse des différents caryotypes que présentaient ces patientes. L'autre moléculaire conçue pour l'étude du variant Lys939Gln du gène *XPC*.

Un consentement éclairé a été signé par toutes les patientes et les témoins ayant participées dans cette étude, après lecture et explication nous autorisant à utiliser leurs prélèvements biologiques (**Annexe 2**).

2.1. Analyse cytogénétique

Réalisée sur un échantillon de 9 patientes, sur lesquelles un prélèvement sanguin en quantité de 2,5 ml, a été recueilli sur voie veineuse périphérique dans des tubes stériles héparinés (héparine de lithium). Le sang prélevé a été conservé à 4 °C pour une durée maximale de 4 jours avant l'établissement du caryotype.

Principe

Après la mise en culture des cellules et l'obtention des chromosomes facilement repérables au microscope, une technique de marquage est réalisée (bandes R et/ou bandes G). Cette technique donne aux chromosomes leur apparence caractéristique de bandes sombres et claires. Ce marquage facilitera l'analyse des chromosomes et servira à les appairer selon leur taille ainsi que la position du centromère. Elle servira également à comparer la succession des bandes foncées et claires afin de déterminer s'il y a présence d'une anomalie structurale (**Annexe 3**).

2.2. Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire est de type cas-témoins, elle a porté sur un échantillon de 55 sujets (patientes et témoins). Des prélèvements sanguins préconisés pour l'extraction de l'ADN génomique ont été recueillis dans des conditions stériles par ponction veineuse dans des tubes vacutainer EDTA (*Acide Ethylène Diamine Tétracétique*), en quantité de 5 à 10 ml.

Groupe des patientes : Ce groupe est composé de **25** femmes diagnostiquées porteuses de tumeurs ovariennes de différents types et stades de sévérité. Tous les cas présentaient un compte rendu anatomopathologique confirmant le diagnostic avec précision du stade de la tumeur. Seuls ont été exclus de l'étude les sujets ayant subis une transfusion sanguine ou une chimiothérapie.

Groupe des témoins : Les **30** témoins inclus dans cette étude sont des sujets présumés sains, recrutées de façon aléatoire, avec exclusion de tout sujet présentant un antécédent familial d'un type de cancer. Ces témoins ont été appariés selon l'âge et l'origine avec les patientes.

2.2.1. Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique a été extrait à partir du sang total frais en utilisant la méthode d'extraction au NaCl « *salting out* » (**Miller et al., 1988**).

Principe

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique des globules rouges ; ils seront ensuite traités en premier lieu par l'SDS (*Sodium Dodécyl Sulfate*) qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire et inhibe l'action des nucléases. L'ADN des leucocytes ainsi libéré est ensuite traité

par la protéinase K qui le débarrasse de toutes les protéines qui lui sont associées. Ces dernières sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl hautement concentré. Suite à l'ajout de l'éthanol pur, l'ADN est précipité sous forme de filaments blanchâtres formant une pelote appelée méduse. Enfin, après séchage à température ambiante l'ADN pur est solubilisé en phase aqueuse (eau stérile bidistillée) (**Annexe 4**).

2.2.2. Contrôle de la qualité d'ADN et estimation de sa concentration

Pour éviter tout doute et réserve dans l'interprétation des résultats, il convient dès le départ de s'assurer de la pureté des différents extraits d'ADN en mesurant l'absorbance pour chaque échantillon à une longueur d'onde de 260nm et aussi de 280nm, à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop (Thermo Scientific, France). En effet les acides nucléiques absorbent aussi bien à 260nm qu'à 280nm mais ont un spectre d'absorption maximum en UV à 260nm, alors que les protéines qui représentent les témoins de contamination absorbent à 280nm (longueur d'onde d'absorption des protéines).

Avoir un ADN pur signifie que le rapport (R) des densités optiques (DO): $R = DO_{260nm} / DO_{280nm}$ soit compris entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$) :

Un rapport $< 1,6$ témoigne une contamination par les protéines

Un rapport > 2 indique une contamination par les ARN.

Par ailleurs, la DO est aussi déterminée à 270 nm et le rapport DO_{260nm} / DO_{270nm} est calculé pour s'assurer que la solution contient peu ou pas d'alcool résiduel. Pour cela, le rapport doit être inférieur à 1 ($R < 1$).

Les ADN purs sont conservés à $+ 4^{\circ}C$ jusqu'à utilisation (ou congelés à $- 20^{\circ}C$ dans le but de les conservés pour une longue durée).

2.2.3. Génotypage du polymorphisme rs2228001 du gène XPC

L'identification du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* au sein des deux groupes d'étude (cas et témoins) a été réalisée en trois étapes successives : l'amplification du fragment d'intérêt du gène *XPC* par PCR (Polymerase Chain Reaction) et contrôle de PCR sur gel d'agarose, digestion enzymatique du produit PCR et migration électrophorétique sur un gel d'agarose.

Amplification du fragment d'intérêt du gène XPC par PCR

Un fragment de 218 pb couvrant la région d'intérêt de l'exon 16 du gène *XPC* a été amplifié par réaction de polymérisation en chaîne PCR. Une paire d'amorces sens et antisens a été conçue par le biais du logiciel Primer3plus afin de réaliser cette amplification (**Figure 17**) :

Pair 1:

Left Primer 1:

Sequence:

Start: 64 Length: 20 bp Tm: 59.9 °C GC: 55.0 % ANY: 4.0 SELF: 2.0

Right Primer 1:

Sequence:

Start: 281 Length: 19 bp Tm: 61.0 °C GC: 63.2 % ANY: 4.0 SELF: 0.0

Product Size: 218 bp Pair Any: 3.0 Pair End: 1.0

1	AGTGAGGCAG	CAGCTCCCCA	CACAGATGCA	GGAGGTGGAC	TCTCTTCTGA
51	TGAAGAGGAG	GGGACCAGCT	CTCAGCAGA	AGCGGCCAGG	ATACTGGCTG
101	CCTCCTGGCC	TCAAAACCGA	GAAGATGAAG	AAAAGCAGAA	GCTGAAGGGT
151	GGGCCCAAGA	AGACCAAAAG	GGAAAAGAAA	GCAGCAGCTT	CCCACCTGTT
201	CCCATTTGAG	CAGCTGTGAG	CTGAGCGCCC	ACTAGAGGGG	CACCCACCAG
251	TTGCTGCTGC	CCCACTACAG	GCCCCACACC	TGCCCTGGGC	ATGCCACAGC
301	CCTGGTGGTG	GGGGCTTCTC	TGCTGAGAAG	GCAAACTGAG	GCAGCATGCA

Select all Primers

Figure 17 : Désignation d'amorces par primers 3 plus.

Les amorces utilisées ont été comme suit :

L'Oligo F (Forward primer) : 5'-ACCAGCTCTCAAGCAGAAGC-3'

L'Oligo R (Reverse primer) : 5'- AGGTGTGGGGCCTGTAGTG -3'

Un total de 55 échantillons d'ADN a été amplifié. Pour chaque échantillon, la PCR a été réalisée dans un mélange réactionnel d'un volume final de 20 µl (**Annexe 5**).

35 cycles ont été réalisés dans un thermocycleur (Biorad). Chaque cycle repose sur trois étapes indispensables : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation avec les conditions décrites dans l'**Annexe 5**.

Contrôle PCR

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés est effectué par une électrophorèse sur gel d'agarose à 2 %. Ce dernier est préparé par mélange de 2 g d'agarose avec 100 ml de TBE1X (Tampon Tris-Borate-EDTA) et 4 µl de GelStain. Dans chaque puits du gel, ont été déposés : 5 µl de produit d'amplification + 1 µl de Bleu/Orange 6x *loading Dye* de promega, ce dernier permet de suivre le front de migration. On dépose également 5 µl d'un marqueur de taille (*DNA leader* 100-1500 pb de promega). La cuve d'électrophorèse est ensuite soumise à un champ

électrique de 100V/mA pendant 20 min. Après la migration électrophorétique, le gel est soumis aux rayons UV permettant ainsi la visualisation des fragments amplifiés.

Digestion enzymatique des produit PCR

Les amplicons de 218 pb ont été digérés par l'enzyme de restriction *PvuII* (enzyme de restriction produite par la bactérie *Proteus vulgaris*) (**Annexe 6**), et sont ensuite incubés dans une étuve à 37 °C pendant 1 heure. Cette enzyme reconnaît et clive la séquence :



La présence de l'allèle muté C, génère deux fragments de 150pb et 68pb, tandis que la présence de l'allèle sauvage A abolit la coupure de *PvuII* donnant un seul fragment de 218pb.

La migration des produits de digestion est réalisée sur gel d'agarose à 3% dont sa préparation est réalisée par mélange de 3 g d'agarose avec 100 ml de TBE1X (*Tampon Tris-Borate-EDTA*) et 4 µl de GelStain. On dépose dans chaque puits du gel 5µl du produit digéré et 1 µl de Bleu/Orange *6x loading Dye* de promega à fin de suivre le profil de digestion.

3. Analyse statistique

Les résultats statistiques de la distribution du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* ainsi que tous les paramètres considérés ont été traités par le logiciel R V3.3.3. La comparaison de tous les paramètres étudiés a été réalisée par le test khi-deux (χ^2) par le calcul de l'Odds Ratio (OR) avec un seuil de signification maximum de 5 % et un intervalle de confiance calculé à 95.

Résultats et discussion

1. Caractéristiques générales de la population étudiée

1.1. Répartition des patientes selon l'âge

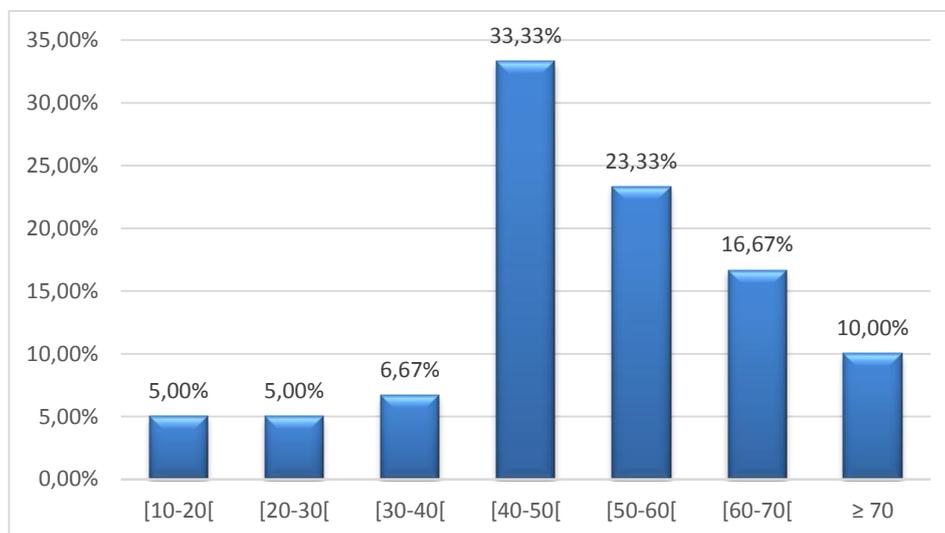


Figure 18 : Répartition des patientes selon l'âge.

L'âge de la population étudiée varie de 10 à 82 ans (**Figure18**). On observe que le cancer ovarien augmente proportionnellement avec l'âge pour atteindre sa fréquence maximale entre 40 à 50 ans, avec un pourcentage de 33,33% des cas. De même, on constate que ce type de cancer demeure élevé chez les tranches d'âge 50 à 60 ans et 60 à 70 ans avec des pourcentages de 23,33% et 16,67% respectivement, ce qui coïnciderait avec la période de la ménopause ou la pré-ménopause.

Dans ce contexte deux hypothèses sont émises : suite à l'effet hormonal, une ménopause précoce favoriserait la survenue d'un cancer ovarien, du fait de l'augmentation des taux de FSH et LH observée au cours de la ménopause (**Schildkraut et al., 2001**). Par ailleurs, **Chene et al. (2011)**, suggèrent qu'une ménopause tardive peut être un facteur de risque à la carcinogénèse ovarienne ; en effet, il a été démontré qu'une forte relation existait entre le nombre d'ovulation et le risque de développer un cancer ovarien, étant donné que chaque cycle ovarien fait subir à l'ovaire une lésion qu'il devra cicatrifier (**Fathalla, 1971 ; Engbang et al., 2015a**).

Comme le montre **la Figure 18**, les tumeurs ovariennes peuvent se rencontrer à un âge plus précoce ; Dans notre série quatre patientes ont été diagnostiquées à un âge très précoce : deux cas âgés de 15 ans (stade I et stade IV) et deux autres cas de 20 ans (stade IV). Il a été rapporté que la survenue des tumeurs ovariennes demeure très rare en phase pré-pubertaire et pubertaire

(Crouet *et al.*, 1985). Cependant, Engbang *et al.* avaient constaté en 2015 que les femmes atteintes d'une maladie héréditaires sont plus susceptibles de développer un cancer ovarien 10 ans plus tôt l'âge moyen du diagnostic et que les femmes atteintes de la maladie de Lynch II ont un risque de 6,7 % de développer une maladie ovarienne.

1.2. Répartition des patientes selon l'état civil et la parité

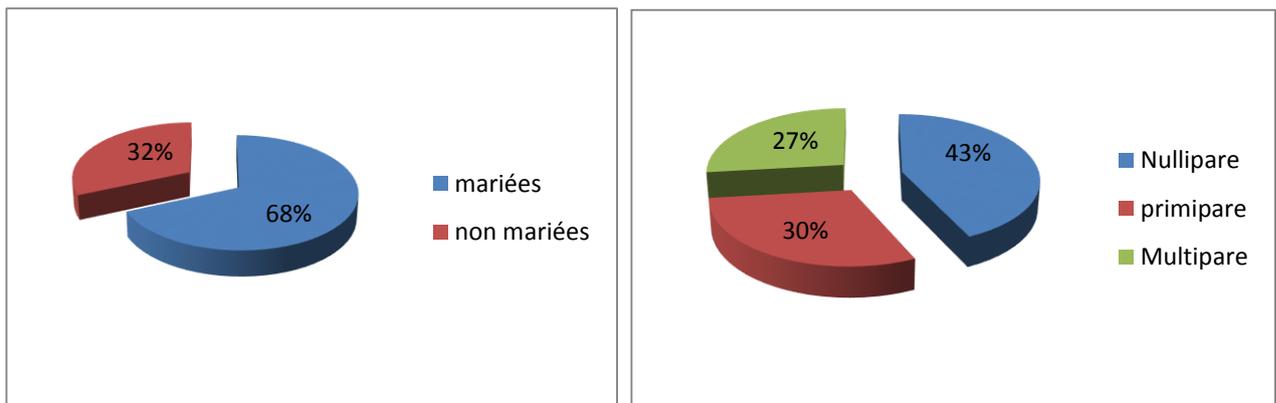


Figure 19a : Répartition des patientes selon l'état civil. **Figure 19b :** Répartition des patientes selon la parité.

Selon les **Figures 19a** et **19b**, 32% des patientes ne sont pas mariées. En contrepartie 68 % des femmes de notre population d'étude sont mariées avec une majorité qui s'avère être nullipare (~43 %). De même, nous avons constaté que 30% des femmes fécondes sont primipares, et nous avons noté que (~ 50%) des multipares présentent un nombre réduit de grossesses (2 grossesses dans la moyenne).

Nos résultats, démontrent que le risque de développer un cancer de l'ovaire diminue avec chaque grossesse, ce qui est conforme avec les données de la littérature ; en effet, le risque relatif de cancer ovarien chez une femme ayant eu un enfant par rapport à une nullipare est de 0,4 – 0,6 avec un bénéfice s'accroissant à chaque naissance (Modan, 2001 ; McGuire, 2004). Ce bénéfice est notamment retrouvé lorsque la dernière grossesse a lieu tardivement dans la vie génitale, période où le parenchyme ovarien présente souvent des lésions précancéreuses qui pourraient régresser à l'arrêt des ovulations (Adami *et al.*, 1994 ; Kim *et al.*, 2017). Le risque de développer un cancer ovarien est alors plus grand pour les femmes n'ayant pas eu de grossesses (Momenimovahed *et al.*, 2019).

D'autre part, selon le recueil d'informations lors du questionnaire nous avons noté que seulement la moitié de nos patientes fécondes ont allaité leurs enfants ; en effet, plusieurs études ont démontré que l'allaitement inhibe la sécrétion des gonadotrophines entraînant l'interruption de l'ovulation chez les femmes allaitantes ce qui réduit le risque de développer un cancer ovarien (La Vecchia, 2017).

1.3. Répartition selon la prise du contraceptif

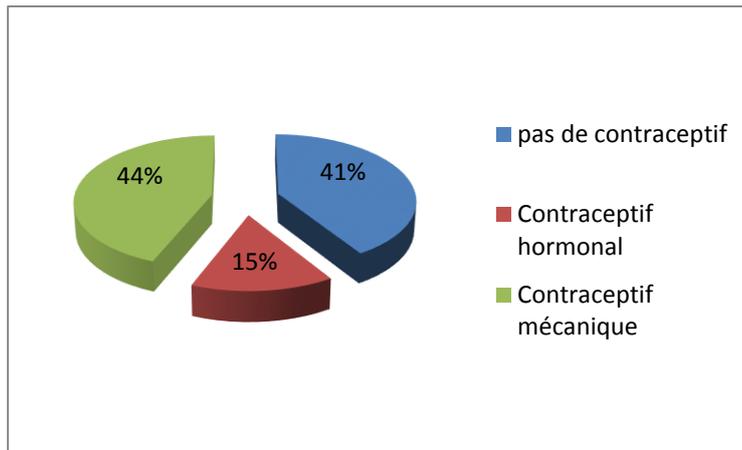


Figure 20 : Répartition des patientes selon la prise du contraceptif.

Selon les résultats obtenus 41% des patientes n'avaient jamais été sous contraception, tandis que 59 % des femmes de notre population d'étude utilisaient un moyen de contraception (Figure 20). Ces résultats ne concordent pas avec les données de la littérature qui avaient démontré que la prise de contraceptifs réduirait le risque de survenue d'un cancer ovarien (Syed. *et al.*, 2003 ; Baik. *et al.*, 2008 ; Chene *et al.*, 2011).

L'analyse profonde de nos résultat montre que la majorité de nos patientes utilisaient un moyen de contraception mécanique (74,58 %) alors que seulement (25,42%) étaient sous contraception hormonal. Dans ce contexte plusieurs études ont démontré l'effet protecteur des contraceptifs hormonaux mais pas mécaniques. En effet, le mode d'action de chaque type de contraception est différent ; la contraception mécanique agit en provoquant une inflammation au niveau de l'endomètre empêchant ainsi la nidation, elle agit également sur la mobilité spermatique privant ces derniers d'atteindre l'ovule. Dans ce cas, inflammation et ovulation incessante sont deux critères pouvant provoquer un cancer ovarien (Syed *et al.*, 2003 ; Marie et Petit, 2008).

D'autre part, les oestrogénostatifs contenus dans les différents contraceptifs hormonaux provoquent la baisse du nombre d'ovulations et l'effet mutagène des proliférations cellulaires engendrées, la baisse du taux circulant des gonadotrophines. Certaines études ont même observé un effet apoptotique de la progestérone sur des cellules ovariennes malignes humaines (Syed *et al.*, 2003 ; Baik *et al.*, 2008 ; Marie et Petit, 2008 ; Mathilde, 2020).

1.4. Répartition selon la durée de la prise de la contraception

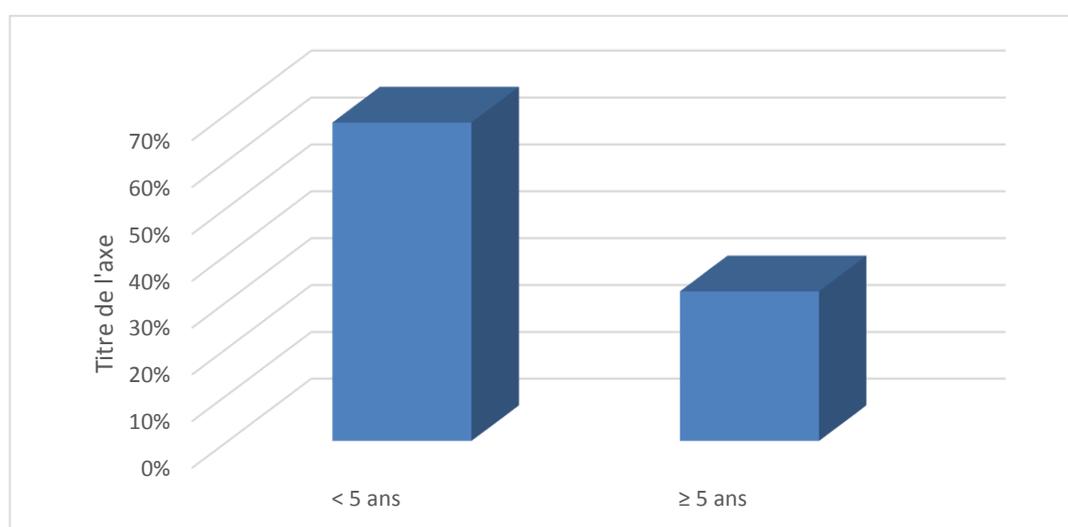


Figure 21 : Répartition des patientes selon la durée de contraception.

Dans notre série, 68% des femmes avaient utilisé les contraceptions pour une durée inférieure à 5 ans, ces dernières demeurent plus susceptibles au risque de développer un cancer ovarien comparées aux femmes ayant utilisées la contraception pour une durée supérieure ou égale à 5 ans (**Figure 21**). Ces résultats sont en accord avec ce qui a été reporté dans la littérature (**Lancet et Edito, 2011**).

En effet, une relation dose-durée de la contraception et du cancer ovarien a été mise en évidence dans un grand nombre d'études, le risque semble être inversement proportionnel avec la durée de prise des contraceptifs (**Eustache, 2008 ; Lancet et Edito, 2011**).

1.5. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux

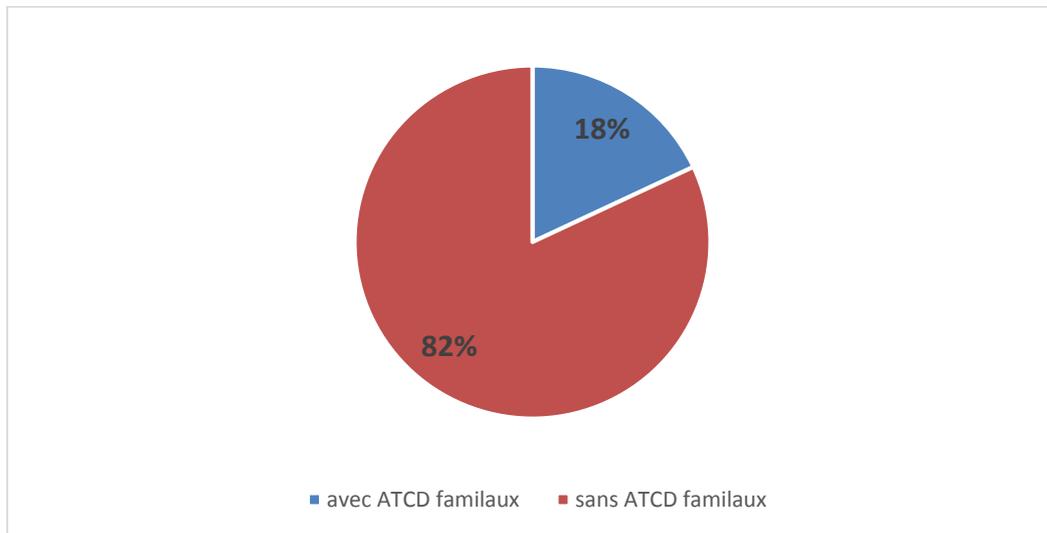


Figure 22 : Répartition des patientes selon les antécédents familiaux.

Dans notre groupe 18% présentent des antécédents familiaux (**Figure 22**). Selon des études, plusieurs facteurs de risque ont été identifiés pour le cancer de l'ovaire, notamment des facteurs génétiques. Les femmes dont un parent du premier degré est atteint d'un cancer de l'ovaire sont au moins deux fois plus susceptibles de développer la maladie que celles qui n'ont pas d'antécédents familiaux. Cette augmentation du risque est due à une prédisposition génétique dont les gènes *BRCA1* et *BRCA2* qui sont fréquemment impliqués, et à un moindre degré les gènes MMR dans le cadre du syndrome de Lynch II ou syndrome HNPCC, les gènes supresseurs, *TP53*, dans le syndrome LF, et d'autres gènes impliqués dans la réparation des CDB, tels que *CHEK*, *RAD51* et *PALB2* (Engbang *et al.*, 2015b ; Toss *et al.*, 2015.).

1.6. Répartition des patientes selon le stade

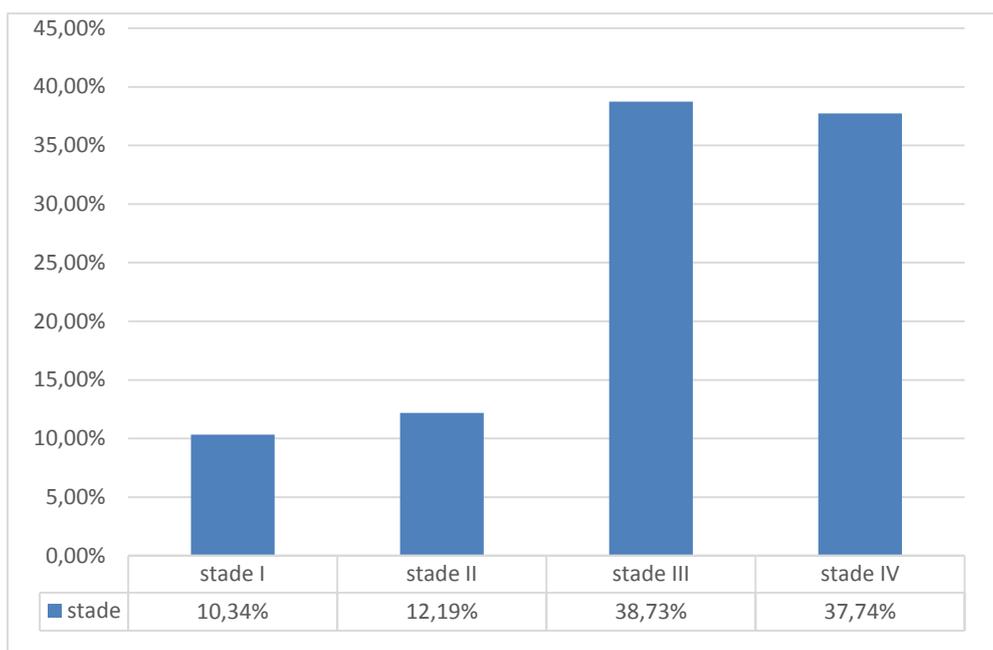


Figure 23 : Répartition des patientes selon le stade.

En ce qui concerne la répartition des patientes selon les stades FIGO (**Figure 23**), nos résultats démontrent qu'une proportion très élevée (76,47%) de nos patientes étaient diagnostiquées à des stades très tardifs (III, IV).

Parmi les causes principales de diagnostic tardif de cancer ovarien dans les pays à faible ressources est : le manque de dépistage, le coût élevé, et les difficultés d'accès aux moyens thérapeutiques sophistiqués. Le cancer de l'ovaire est rare mais grave compte tenu du stade avancé observé au moment du diagnostic et de la forte proportion de patientes qui décèdent par manque de traitement (**Fanomezantsoa et al., 2015**).

Moins de la moitié des femmes atteintes de cancer ovarien survivent plus de cinq ans après le diagnostic, en raison du manque de symptômes précoces spécifiques et de stratégies de détection précoce efficaces. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour développer des méthodes de détection précoce efficaces et d'améliorer les traitements (**Lindsey et al., 2018**).

2. Etude génétique

L'étude génétique a inclut une étude cytogénétique portée sur 9 patientes afin de chercher les principaux changements chromosomiques rencontrés suite à un cancer ovarien, et une étude moléculaire réalisée dans le but d'investiguer l'existence d'une éventuelle association entre le polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* et la carcinogenèse ovarienne.

2.1. Etude cytogénétique

2.1.1. Présentation des patientes

Il s'agit de femmes âgées de 20 à 82 ans. Ces patientes présentaient un statut civil différent, elles sont sans antécédents particuliers, ayant toutes subies une hystérectomie et étaient toutes suivies depuis au minimum une année pour une tumeur ovarienne starifiée maligne (métastasée).

2.1.2. Caryotypes

L'étude des caryotypes s'est réalisée sur plusieurs mitoses de lames différentes. Un minimum de 20 mitoses a été observé pour chaque patiente.

Le classement des chromosomes a été établi par le logiciel « CytoVision », ce classement a été par la suite vérifié et corrigé.

Les chromosomes sont classés selon leur taille et leur position centromériques en 7 groupes:

Groupe A : grands métacentriques (chromosome 1 et 3) et submétacentrique (chromosome 2).

Groupe B : grands submétacentriques (chromosomes 4 et 5).

Groupe C : moyens métacentriques et submétacentriques (chromosomes 6,7, 8, 9, 10, 11, 12, X) (la taille du chromosome X et voisine de celle du chromosome 6).

Groupe D : grands acrocentriques (chromosomes 13, 14, 15).

Groupe E : petits métacentriques et submétacentriques (chromosomes 16, 17, 18).

Groupe F : tous petits métacentriques (chromosomes 19 et 20).

Groupe G : petits acrocentriques (chromosomes 21, 22, Y).

Suite à l'analyse des caryotypes des lymphocytes sanguins issues de chaque patiente de notre population d'étude, aucune anomalie chromosomique numérique ou structurale n'a été reportée (**Figure 24**). Ce résultat peut être expliqué d'une part, par le fait que toutes nos patientes avaient subi une hystérectomie et d'autres part, par le fait que leurs métastases n'ont pas atteints un

stade très avancé pour provoquer le passage des cellules cancéreuses dans la circulation sanguine.

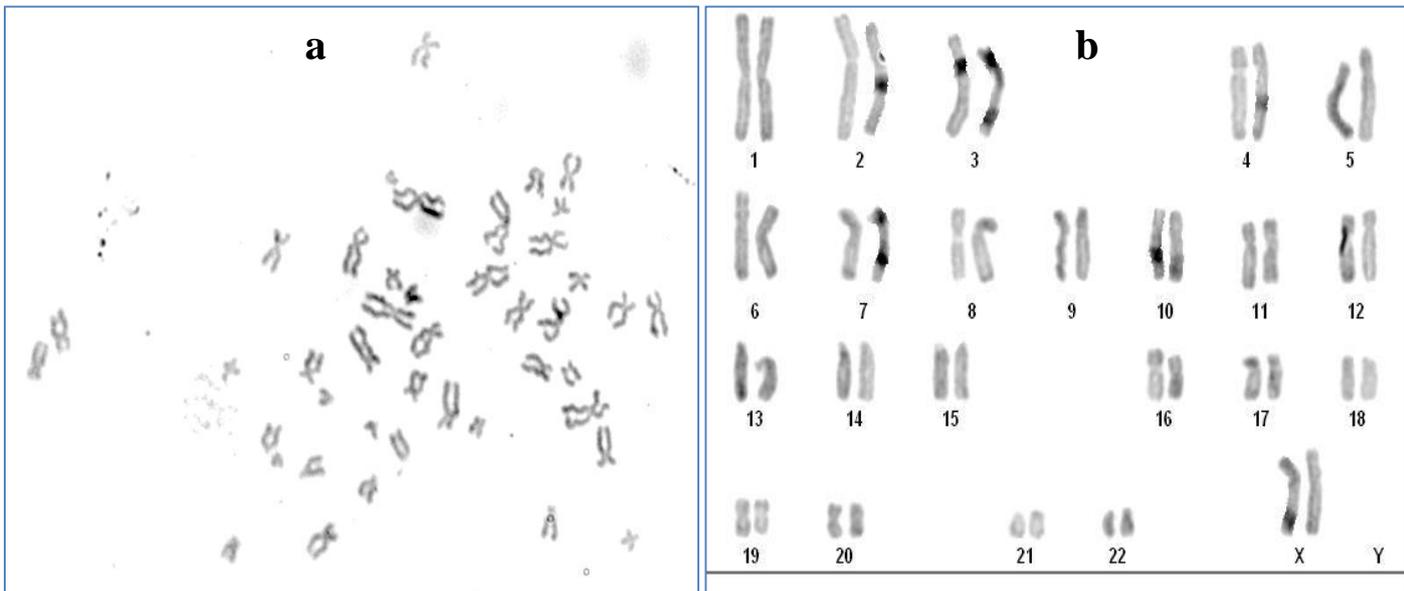


Figure 24 : a : Chromosomes métaphasiques d'un noyau d'un lymphocyte sanguin éclaté et dispersé Grossissement X100 ; **b :** Exemple de caryotype d'un lymphocyte sanguin 46, XX. (Les deux métaphases a et b ne correspondent pas aux chromosomes de la même cellule).

Il faut noter qu'aucune donnée bibliographique n'a rapporté la réalisation d'études cytogénétiques sur les cellules du sang du fait que pour ce type de cancer le passage des cellules cancéreuses dans la circulation sanguine demeure très rare. Pour cette raison, presque la totalité des études cytogénétiques réalisées ont été faites sur les tissus histologiques des tumeurs ovariennes.

Perte de chromosomes, délétions et translocations représentent les variations structurales majoritaires rencontrés lors d'un cancer ovarien et sont probablement responsables de mutations géniques incluant l'activation d'oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs jouant des rôles cruciaux dans la tumorigenèse (**Li et al., 2019**). Ces auteurs ont détecté plusieurs variations de structure incluant des délétions dans tous les groupes de cancers ovariens testés depuis le stade primaire jusqu'au stade métastatique et des amplifications qui ont surtout concerné les régions 3q26, 8q23-24, et 14q1. D'autres auteurs ont rapporté des aberrations du nombre chromosomique : des trisomies des chromosomes 7, 12, 15, 17, 21, et des monosomies surtout des chromosomes 3, 6 et X (**Tudrej et al., 2018**).

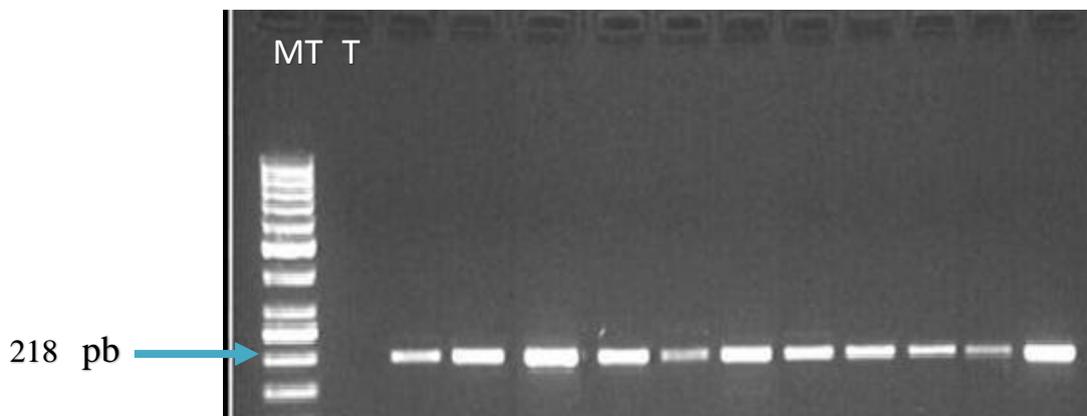
2.2. Etude moléculaire

Le polymorphisme étudié correspond à une mutation non-sens de type transversion d'une adénine par une cytosine au niveau de l'exon 16.

Le génotypage de l'*XPC* pour ce polymorphisme a été réalisé par PCR-digestion pour les deux populations étudiées (patients et témoins).

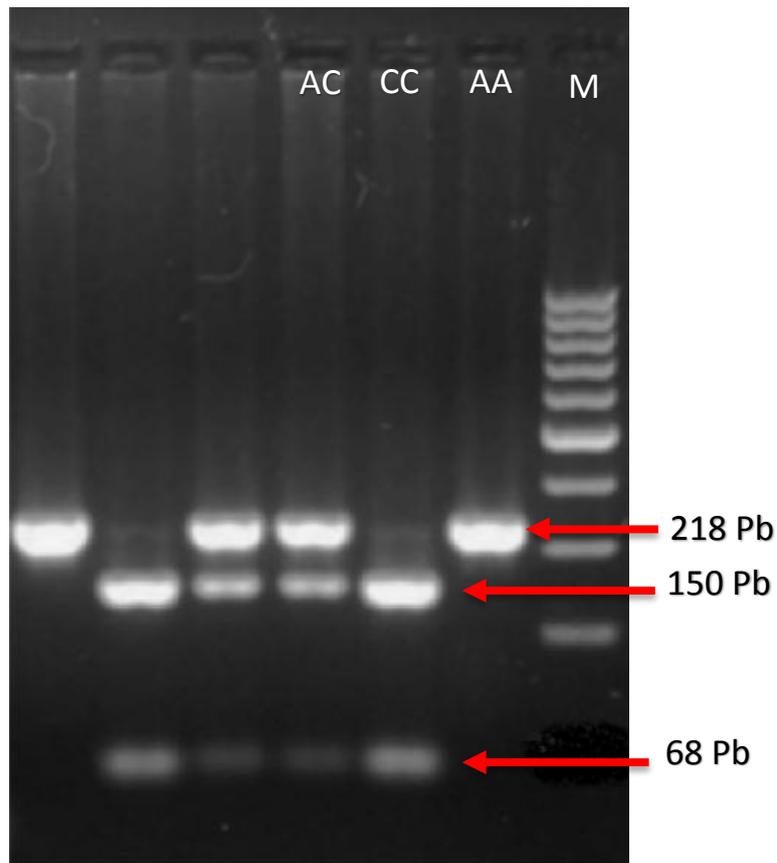
2.2.1. Profils RFLP obtenus :

Le contrôle de la taille des fragments amplifiés a permis de visualiser des fragments de 218 pb (**Photographie 1**).



Photographie 1 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des fragments amplifiés par PCR (MT : Marqueur de taille / T : Témoin).

Le profil de restriction obtenu permet la distinction entre l'homozygote sauvage AA, l'hétérozygote AC et l'homozygote muté CC (**Photographie 02**).



Photographie 2 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose (3 %) des fragments issus du clivage par *PvuII* présentant différents génotypes d'*XPC* (M : marqueur de taille 100pb).

La digestion du produit d'amplification du gène *XPC* (218 pb) par l'enzyme *PvuII* a révélé les fragments suivants :

- Homozygote sauvage (A/A) : pas de digestion et donc obtention d'une seule bande de 218pb
- Hétérozygote (C/A) : digestion sur une seule copie du chromosome conduisant à l'obtention de 3 bandes de : 218 pb, 150 pb et 68 pb.
- Homozygote muté (C/C) : bande de 150 pb et bande de 68 pb.

2.2.2. Répartition des fréquences génotypiques et alléliques et association au risque du cancer ovarien :

Tableau 2 : Fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme rs2228001 de l'*XPC* parmi témoins et patients et association au risque du cancer ovarien.

<i>RS2228001</i>	Cas (%)	Témoins (%)	<i>P</i> -valeur	OR (IC à 95%)
AA	6 (24,00 %)	13 (43,33 %)	-	Ref
AC	12 (48,00 %)	11 (36,67 %)	0,18	2,36 (0,66-8,39)
CC	7 (28,00 %)	6 (20,00 %)	0,21	2,52 (0,58-10,85)
Allèle A	24 (48,00 %)	37 (61,66 %)	-	Ref
Allèle C	26 (52,00 %)	23 (38,33 %)	0,15	1,74 (0,81-3,72)

Dans notre échantillon la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* montre que le génotype sauvage AA se trouve prédominant chez les témoins (43,33 % vs 24,00 % chez les patientes), contrairement au génotype hétérozygote AC qui est majoritairement présent chez les cas comparés aux témoins (48,00 %, 36,67 % respectivement). Nous constatons que le génotype homozygote muté CC est légèrement plus élevé chez les patientes comparées aux témoins (28,00 % et 20,00 % respectivement) (**Tableau 2, Figure 25**).

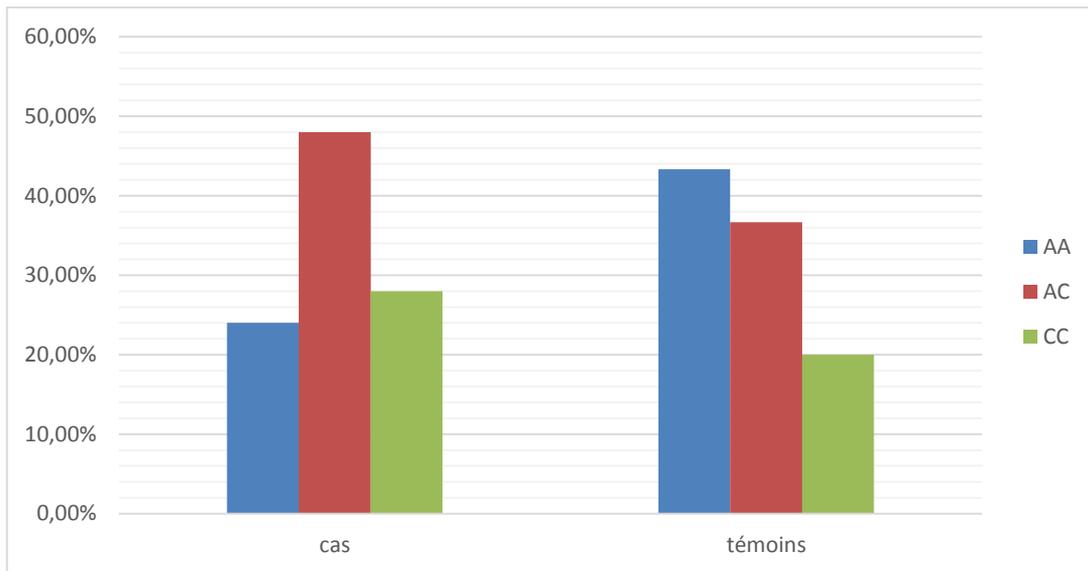


Figure 25 : Répartition des fréquences génotypiques dans les populations cas et témoins.

Pour la répartition des fréquences alléliques entre les cas et les témoins, nos résultats montrent bien que l'allèle sauvage A prédomine chez les témoins (61,66% vs 48% chez les cancéreux), tandis que l'allèle muté C prédomine chez les patients (52% vs 38,33% chez les témoins) (**Figure 26**).

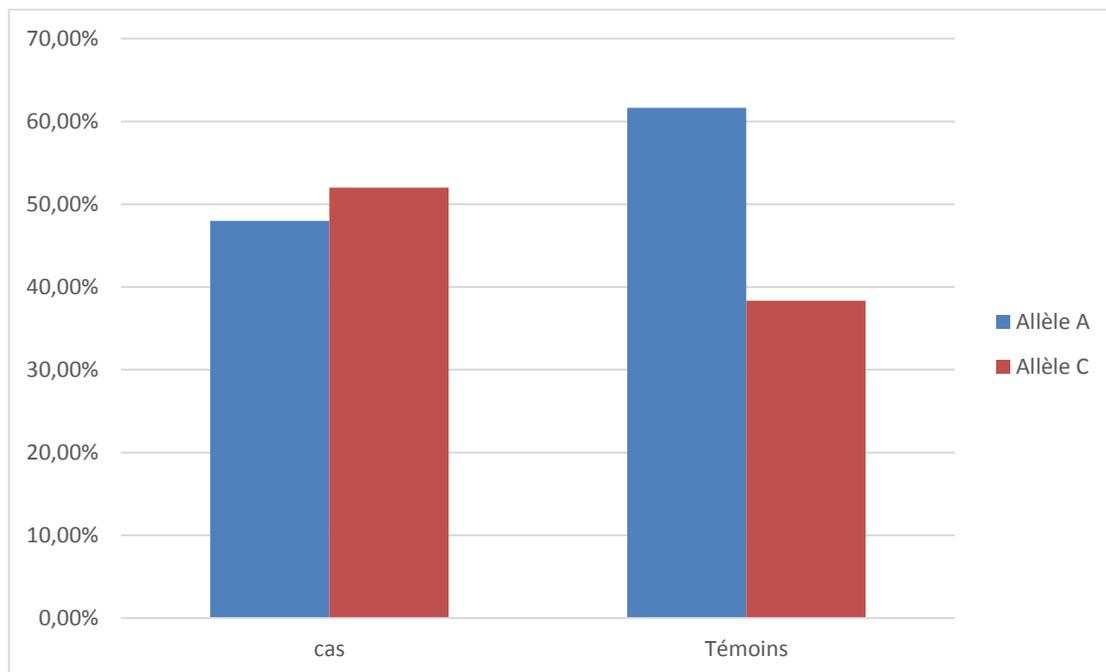


Figure 26 : Répartition des fréquences alléliques dans les populations cas et témoins.

Comme mentionné dans le **Tableau 2**, le test statistique montre une association non significative entre le polymorphisme rs2228001 et le cancer ovarien, et ce pour les hétérozygotes (OR=2,36, IC 95% 0,66-8,39, $P = 0,18$), et les homozygotes mutés (OR=2,52, IC 95% 0,58-10,85, $P = 0,21$).

Dans ce cadre, les résultats d'études cherchant l'implication du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* et la carcinogénèse ovarienne sont très rares et demeurent controversés. En effet, certains auteurs ont rapporté que le polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* représente un facteur pronostic et est associé au cancer de l'ovaire (**Zhao et al., 2018 ; Hengzi et al., 2019**). Par ailleurs, **Zhiguang et al.** ont conclu en 2018 que ce polymorphisme était un facteur protecteur vis-à-vis de la carcinogénèse ovarienne.

*Conclusion et
perspectives*

Le cancer de l'ovaire est une maladie tumorale maligne qui prend naissance dans les cellules des ovaires. C'est l'un des cancers gynécologiques les plus mortels dans le monde. Son pronostic est nettement mauvais, car ce type de tumeurs sont souvent découvertes tardivement et sont très agressives. C'est une maladie multifactorielle dans laquelle interviennent à la fois plusieurs facteurs acquis et environnementaux

Notre étude a montré que ce type de cancer survient à tout âge, bien que la probabilité augmente considérablement avec l'âge. Dans ce cas l'hypothèse de l'ovulation incessante et celle de la ménopause et les perturbations hormonales ont été émises en faveur de la carcinogénèse ovarienne. Le risque s'accroît pour les femmes nullipares ou paucipares et pour celles présentant des antécédents familiaux. Dans ce contexte, en termes de conseil génétique pour les femmes à risque, le diagnostic moléculaire du risque génétique, doit être proposé systématiquement.

76,47% des patientes sont diagnostiquées à des stades FIGO très avancés III et IV vu la situation anatomique profonde des ovaires et l'absence d'une symptomatologie propre.

L'étude moléculaire cherchant l'implication du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* dans la survenue du cancer ovarien a montré une association non significative que ce soit pour le génotype hétérozygote (OR=2,36, IC 95% 0,66-8,39, $P = 0,18$) ou le génotype muté (OR=2,52, IC 95% 0,58-10,85, $P = 0,21$). Par ailleurs, la répartition des fréquences alléliques entre les cas et les témoins, a montré que l'allèle muté C prédomine chez les patients (52% vs 38,33% chez les témoins).

Il est à noter, que selon la littérature, très peu d'études ont été réalisées sur ce polymorphisme.

Suite à l'étude cytogénétique aucune anomalie chromosomique numérique ou structurale n'a été rapportée sur les caryotypes des lymphocytes sanguins issus de chaque patiente de notre population d'étude. Il faut noter qu'aucune donnée bibliographique n'a rapporté la réalisation d'études cytogénétiques sur les cellules du sang du fait que pour ce type de cancer le passage des cellules cancéreuses dans la circulation sanguine demeure très rare. Pour cette raison, presque la totalité des études cytogénétiques réalisées ont été faites sur les tissus histologiques des tumeurs ovariennes. En plus il a été rapporté que la culture cellulaire ainsi que les métaphases analysées étaient vraiment médiocres pour les tumeurs ovariennes solides ce qui rend la caractérisation des variations chromosomiques dans ce type de cancer toujours incomplète et non satisfaisante.

Comme perspectives de notre travail, il serait intéressant de poursuivre la recherche sur ce thème :

- en élargissant la taille de notre échantillon par réalisation d'une enquête épidémiologique à très grande échelle afin d'avoir une idée réelle sur les facteurs de risques les plus incriminés dans la carcinogénèse ovarienne et mieux évaluer l'association du polymorphisme étudié et la carcinogénèse ovarienne.
- Afin de rechercher les anomalies chromosomiques, il serait judicieux de réaliser des études cytogénétiques sur les tissus histologiques des tumeurs ovariennes.

*Références
bibliographiques*

A

Adami H, Hsieh C, Lambe M, Trichopoulos D, Leon D, Persson I, *et al.*, (1994). Parity, age at first childbirth, and risk of ovarian cancer. *Lancet*, **344**(8932): 1250-1254.

Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, *et al.*, (2012). BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *J. Clin. Oncol.*, **30**(21): 2654–2663.

B

Baik I, Lambe M, Liu Q, Cnattingius S, Mucci LA, Riman T, *et al.*, (2007). Gender of offspring and maternal risk of invasive epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **16**:2314–2320.

Bandera EV, Lee VS, Qin B, Rodriguez-Rodriguez L, Powell CB & Kushi LH. (2017). Impact of body mass index on ovarian cancer survival varies by stage. *Br. J. Cancer.*, **117**(2): 282–289.

Benchimol. (2021). anatomie fonctionnelle de l'appareil génital féminin.

<https://www.docteur-benchimol.com/anatomie-fonctionnelle-de-lappareil-genital-feminin.html>.

Benedet JL. (2000). *Staging* classifications and clinical practice guidelines for gynaecologic cancers, FIGO.

Billiau A. (2014). Qu'est-ce que le cancer de l'ovaire ? Guide pour les patientes – Basé sur les recommandations de l'ESMO -v. fourni par le Fonds Anti cancer .1: 47p.

Binelli C, Chretien MF, Yves G, Kanaya M & Alain D. (1997). Inhibin assays of ovarian cyst liquid obtained by needle aspiration may allow differential diagnosis between functional and organic cysts. *Eur J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, **73**(2): 1615.

Blanc B, Gamerre M, Martin PM, Jouve MP, Thomas M & Serment H. (1985). Tumeurs non endocrines de l'ovaire. *Encyc Med Chir Gynecol.*, **680**(10):11- 22.

Blin I. infertilité. Article publié le 19 octobre (2007), Article mis à jour le 16 octobre 2013.

Boyle K J & Torrealday S. (2008). Benign gynecologic conditions. *Surg. Clin. North.Am.*, **88**(2): 245-264.

Brodie K & Henderson B. (2012). Characterization of BRCA1 protein targeting, dynamics, and function at the centrosome: a role for the nuclear export signal, CRM1, and Aurora A kinase. *J. Biol. Chem.*, **287**: 7701-7716.

Brooker C. (2001). *Le corps humain : étude, structure et fonction*. De Boeck université (Ed.), Bruxelles, Belgique. 525p.

Brown J, Jhingran A & Deavers M, Raghavan D, Blanke CD, Honson DH, *et al.*, (2012). Stromal tumors of the ovary. *Textbook of Uncommon Cancer*, **36**: 508-518.

C

Calas A, Boulouis HJ, Perrin JF, Plas C & Vanneste P. (2016). *Précis de physiologie*. Doin-John Libbey Eurotext (Ed.), 2^{ème} édition, France.

Cannioto R, LaMonte MJ, Risch HA, Hong CC, Sucheston-Campbell LE, Kevin H Eng, *et al.*, (2016). Chronic Recreational Physical Inactivity and Epithelial Ovarian Cancer Risk: Evidence from the Ovarian Cancer Association Consortium. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, **25**(7):1114-1124.

Cazier JB & Tomlinson I. (2009). General lessons from large-scale studies to identify human Cancer predisposition genes. *J.Pathol.*, **48**(7): 948-954.

Chen VW, Ruiz B, Killeen JL, Coté TR, Wu XC & Correa KN. (2003). Pathology and classification of ovarian tumors. *Cancer*, **97**(10): 2631-2642.

CGOES: Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian Cancer *et al.*, (2015). Menopausal hormone use and ovarian cancer risk: individual participant metaanalysis of 52 epidemiological studies. *Lancet Lond. Engl.*, **385**(9980): 1835-1842.

Chene G, Penault-Llorca F, Raouf I, Bignon YJ, Ray-Coquard I, Seffert P, *et al.*, (2011). Ovarien carcinogenesis: Recent and past hypotheses. *Obstet. Gynecol.*, **39**: 216-223.

CIRC : Centre International de Recherche Contre le Cancer (2012). Pharmaceuticals. Volume 100 A. A review of human carcinogens. Disponible sur <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4781347/>

CIRC : Centre International de Recherche Contre le Cancer (2016). IARC identifies eight additional cancer sites linked to overweight and obesity. Disponible sur <https://www.iarc.who.int/pressrelease/iarc-identifies-eight-additional-cancer-sites-linked-to-overweight-and-obesity/>. Consulté le 20 juin 2022.

Cole A, Dwight T, Gill A, Dickson K, Zhu Y, Clarkson A *et al.*, (2016). Assessing mutant p53 in primary high-grade serous ovarian cancer using immunohistochemistry and massively parallel sequencing. *Sci. Rep.*, **6**: 26191.

Colombo N, Van Gorp NT, Parma G, Amant F, Gatta G, Sessa C, *et al.*, (2006). Ovarian cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **60**(2): 159-179.

Références Bibliographiques

Cortez AJ, Tudrej P, Kujawa KA & Lisowska, KM. (2018). Advances in ovarian cancer therapy. *Cancer. chemother. Pharmacol.*, **81**(1): 17-38.

Crouet H, Herlicoviez M, Rouffet P, Mandard J C & Lévy G. (1985). Hyperplasie kystique lutéinisée des ovaires au cours d'une grossesse normale. *J. Gynécol.Obst.et Biol.*, **14** : 613-618.

D

Desrumaux C, (2022). Appareil génital féminin : anatomie, fonctionnement. *Femme Actuelle*. <https://www.femmeactuelle.fr/sante/anatomie/appareil-genital-feminin-anatomie-fonctionnement-2129378>.

Dixon SC, Nagle CM, Thrift AP, Pharoah DP, Pearce CL, Zheng W, *et al.*,(2016). Adult body mass index and risk of ovarian cancer by subtype: a Mendelian randomization study. *Int. J. Epidemiol.*,**45**(3) :884-895.

E

Engbang JP, Koh VM, Nguéfac C & Fewou A. (2015) **a**. Aspects histo-épidémiologiques des cancers génitaux de la femme dans la région du Littoral, Cameroun. *Pan. Afr. Med. J.*, **21**: 1-16.

Engbang NJP, Essome H, Bell ED, Fonkwa C & Essame OJL. (2015) **b**. Profil épidémiologique et histologique des cancers ovariens à Douala (Cameroun) : à propos de 91 cas. *African J. of Cancer*, **7**(4), 190–194.

Engelmann P. (1983). Gynécologie hormonale, Maloine (Ed), France. 197-210.

Eustache I. (2008). Pilule contraceptive : avantages, risques et inconvénients. *The lancet*, **371**: 303-314.

F

Fang H, Tong W, Shi LM, Blair R, Perkins R & Branham W. (2001). Structure-activity relationships for a large diverse set of natural, synthetic, and environmental estrogens. *Chem.Res.Toxicol.*,**14**(3) : 280-294.

Fanomezantsoa R, Solonirina DR, Felantsoa AR, Florine R, & Hery NR. (2015). Une étude rétrospective sur le cancer de l'ovaire avec un recul médian de 42 mois. *Pan. Afr. Med. J.*, **20**: 211.

Fathalla, M. F. (1971). Incessant ovulation—a factor in ovarian neoplasia. *Lancet*, **2**(7716), 163.

Feki A, Berardi P, Bellingan G, Major A, Krause KH, Petignat P, *et al.*, (2009). Dissemination of intraperitoneal ovarian cancer: discussion of mechanisms and demonstration of lymphatic spreading in ovarian cancer model. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **72**(1): 1-9.

Friedberg EC. (2003). DNA damage and repair. *Nature*, **421**: 436-440.

Ferrieu-Garcia. (2017). Aix-en-Provence (13) L'ovaire endocrine CAHIERS DE Biothérapie - N°256 - page 1 L'homéopathie Française : Numéro Spécial Enseignement : Gynécologie (Pathogénésie de Folliculinum).

Furelaud G & Calvino B. (2009). Cybernétique et Physiologie. Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielle de Paris, ancien IA-IPR.

H

Hanna LM, Leitzmann MF, Lacey Jr JV, Colbert LH, Albanes D, Schatzkin A, *et al.*, (2004). Physical activity and risk of ovarian cancer: a prospective cohort study in the United States. *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.*, **13**(5):765-770.

Harrison M.L, Jameson C, & Gore M.E, (2008). Mucinous ovarian cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.*, **18**(2) : 209-214.

Has, (2010). Guide ALD cancer de l'ovaire à destination des patients.

Heath JW, Stevens A, Young B, Validire P, Validire- Charpyl P. (2008). Atlas d'histologie fonctionnelle de Weather, De Boeck université (Ed.), Bruxelles Belgique.432p.

Héron I. (2021). Ovaire : anatomie, rôle, douleur, maladies, examen.

<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2707408-ovaire-anatomie-role-douleur-maladies-examenkyste-polykystique-definition/>

Hodgson A & Turashvili G. (2020). Pathology of Hereditary Breast and Ovarian Cancer. *Front Oncol.* **29** (10) : 531790.

Hu Z, Wang Y, Wang X, Liang G, Miao X, Xu Y & Shen H. (2005). DNA repair gene XPC genotypes/ haplotypes and risk of lung cancer in a Chinese population. *Int. J. Cancer.*, **115**: 478-483.

Huang T, Eliassen AH, Hankinson SE, Okereke OI, Kubzansky LD, Wang M, *et al.* (2016). A prospective study of leisure-time physical activity and risk of incident epithelial ovarian cancer : impact by menopausal status. *Int J Cancer.* **38**(4):843-852.

I

INCa. (2018) . Meeting report from the 2018 12th Biennial Ovarian Cancer Research Symposium detection and prevention of ovarian cancer.

G

Gauthier T, Gouy S, Uzan C, Rey A, Lhommé C, Pautier P, *et al.*, (2008). Cancer de l'ovaire chez la femme âgée. *La lettre du gynécologue*, **374** : 18-21.

Globocan (2020). <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/12-algeria-factsheets.pdf>.

Gorodetska I, Kozeretska I & Dubrovskaya A. (2019). BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *J. of Cancer*, **10**(9): 2109-2127.

Griffiths A, Carroll S, Doebley J & Wessler S. (2010). Introduction à l'analyse génétique. De Boeck (Ed.). 5ème édition, Paris. 856p.

Guénard H. (1996). *Physiologie Humaine*. Pradel (Ed.). Paris, France. 605p.

K

Khan SG. (2002). The human XPC DNA repair gene: arrangement, splice site information content and influence of a single nucleotide polymorphism in a splice acceptor site on alternative splicing and function. *Nucleic. Acids. Res.*, **30** (16): 3624-3631.

Kim SJ, Rosen B, Fan I, Ivanova A, McLaughlin J R, Risch H, *et al.*, (2017). Epidemiologic factors that predict long-term survival following a diagnosis of epithelial ovarian cancer. *Br. J. Cancer.*, **116**(7): 964-971.

L

Lainé J, Mocquet V & Egly J. (2006). TFIIH enzymatic activities in transcription and nucleotide excision repair. *Methods. Enzymol.*, **408**: 246-63.

Lancet & édito, (2011). La contraception orale diminue le risque de cancer de l'ovaire jusqu'à trente ans après l'arrêt. **371** : 303-314.

La Vecchia C. (2017). Ovarian cancer: epidemiology and risk factors. *Eur. J. Cancer. Prev.*, **26**(1): 55-62.

<https://www.notrefamille.com/sante/maladies/news/la-contraception-orale-diminue-le-risque-de-cancer-de-lovaire-jusqua-trente-ans-apres-larret-21906>.

Li C, Bonazzoli E, Bellone S, Choi J, Dong W, Menderes G. (2019). Mutational landscape of primary, metastatic, and recurrent ovarian cancer reveals c-MYC gains as potential target for BET inhibitors. *Biol. Sci.*, **116**(2): 619-624.

Lindsey A, Britton T, Carol E, Kimberly D, Goli S, Carolyn D *et al.*, (2018). Ovarian Cancer Statistics, CA. *Cancer. J Clin.*, **68**(4): 284-296.

Liping L, Youxiang S, Jiangqin L, Xiaodan W, Lijun C, Li M & Pengfei W. (2015). Histone deacetylase inhibitor sodium butyrate suppresses DNA double strand break repair

induced by etoposide more effectively in MCF-7 cells than in HEK293 cells. *BMC. Biochem.*, **16**: 2.

M

Marieb E.N & Hoehn K.(2014). *Anatomie et physiologie humaine*. PEARSON education (Ed.), 9^{ème} édition, France.

Marie C & Petit P. (2008). La pilule protège contre le cancer de l'ovaire. <https://www.google.com/search?client=opera&q=«+La+pilule+protège+contre+le+cancer+de+l'ovaire+».+Le+Temps%2C+30+janvier+2008>.

Mathilde D. (2020). La pilule contraceptive protège durablement contre le cancer des ovaires et de l'endomètre. <https://www.pourquoidoctor.fr/Articles/Question-d-actu/34831-La-pilule-contraceptive-protège-durablement-cancer-ovaires-l->

McGuire WP & Markman M. (2003). Primary ovarian cancer chemotherapy: current standards of care. *Br. J. Cancer.*, **89**(S3): 3-8.

McGuire V, Felberg A, Mills M, Ostrow K L, DiCioccio R, John EM, *et al.*, (2004). Relation of Contraceptive and Reproductive History to Ovarian Cancer Risk in Carriers and Noncarriers of BRCA1 Gene Mutations. *American J. Epidimio.*, **160**(7): 613-8

Metcalfe K, Lynch H, Ghadirian P, Tung N, Olivotto I, Warner E & Narod SA. (2004). Contralateral Breast Cancer inBRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *J of Clin.Oncol.*, **22**(12): 2328-2335.

Miller, SA., Dykes, DD., Polesky, HF. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, **16**(3),12-15.

Modan B, Hartge P, Hirsh-Yechezkel G, Chetrit A, Lubin F, Beller U, *et al.*, (2001). Parity, oral contraceptives, and the risk of ovarian cancer among carriers and non-carriers of a *BRCA1* or *BRCA2* mutation. *N. Engl. J. Med.*, **45**(4): 235-240.

Momenimovahed Z, Tiznobaik A, Taheri S &Salehiniya H. (2019).Ovarian cancer in the world: epidemiology and risk factors. *Int. J. Women's Health.*, **11** : 287-299.

N

Noguès C. (2015). Les défis de l'oncogénétique et ses applications médicales : nouvelles problématiques psycho-oncologiques ? Le modèle des prédispositions génétiques au cancer du sein et de l'ovaire. *Psycho-Oncol.*, **9**(4): 222.

Normandin K. (2008). Caractérisation de la SERPINA1, une antiprotéase différentiellement exprimée dans le cancer epithelial de l'ovaire. Maitrise en biologie moléculaire. Université Montréal, Canada.126p.

O

Orr KS & Savage KI. (2015). The *BRCA1* and *BRCA2* Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Genes Implications for DNA Damage Response, DNA Repair and Cancer Therapy. CC Chen (Ed.), Amérique.

Ouellet V, Provencher DM, Maugard CM, Le Page C, Ren F, Lussier C, *et al.*,(2005). Discrimination between serous low malignant potential and invasive epithelial ovarian tumors using molecular profiling. *Oncogene*, **24**(29) : 4672-4687.

P

Postolou P & Fostira F. (2013). Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed. Res Int.*747318.

R

Raju KM, Ruchika G, Rakesh K & Rama DM. (2012). Polymorphisms in base-excision & nucleotide-excision repair genes & prostate cancer risk in north Indian population. *Indian. J. Med. Res.*, **135**(1): 64–71.

Ramé A & Théron S. (2018). Anatomie et physiologie. Aide-soignant et auxiliaire de puériculture. Elsevier Masson (Ed). France.

Risch A, McLaughlin J, Cole D, Rosen B, Bradley L, Kwan E & Narod S. (2001). Prevalence and Penetrance of Germline *BRCA1* and *BRCA2* Mutations in a Population Series of 649 Women with Ovarian Cancer. *Am. J. Hum. Genet.*, **68**(3): 700-710.

Roy R, Chun J & Powell S. (2012) *BRCA1* and *BRCA2*: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat. Rev. Cancer.*, **12**: 68-78.

S

Santucci, C. Bosetti, G. Peveri, Xiaoqiu Liu, V. Bagnardi, C. Specchia *et al.*, (2019). Dose–risk relationships between cigarette smoking and ovarian cancer histotypes: a comprehensive meta-analysis. *Cancer Causes & Contro.*, **30**(9):1023-1032.

Shi M, Whorton AE, Sekulovski N, Paquet M, MacLean JA, Song Y, *et al.*, (2020). Inactivation of TRP53, PTEN, RB1, and/or CDH1 in the ovarian surface epithelium induces ovarian cancer transformation and metastasis. *Biology of Reproduction*, **102** (5):1055–1064.

Schildkraut JM , Cooper G S, Halabi S, Calingaert B, Hartge P & Whittemore A S. (2001). Age at natural menopause and the risk of epithelial ovarian cancer. *Obstet. Gynecol.*, **98**:85-90.

Références Bibliographiques

Schüler S, Ponnath P, Engel J & Ortmann O. (2013). Ovarian epithelial tumors and reproductive factors: a systematic review. *Arch. Gynecol. Obstet.*, **287**(6), 1187-1204.

Siegel RL, Miller KD & Jemal A. (2020). Cancer statistics. *CA. Cancer. J. Clin.*, **70**(1): 7-30.

Sugasawa K, Ng J M, Masutani C, Iwai S, van der Spek PJ, Eker AP *et al.*, (1998). Xeroderma pigmentosum group C protein complex is the initiator of global genome nucleotide excision repair. *Mol. Cell.*, **2**(2): 223-232.

Sun H, Cao D, Ma X, Yang J, Peng P, Yu M, *et al.*, (2019). Identification of a Prognostic Signature Associated With DNA Repair Genes in Ovarian Cancer. *Front. Genet.* **10**:839.

Syed V & Ho SM. (2003). Progesterone-Induced Apoptosis in Immortalized Normal and Malignant Human Ovarian Surface Epithelial Cells Involves Enhanced FasL Expression. *Oncogene.* **22**(44):6883-6890.

T

Tadjan G, Baudin B, Bobé P, Cuif-Lordez MH, faivre J, Guinchon-Montel A *et al.*, (2012). La cellule et les tissus ? Elsevier Masson (Ed.), paris, France :378-383.

Tewari D, Java JJ, Salani R, Armstrong DK, Markman M, Herzog T, Monk BJ & Chan JK. (2015). Long-term survival advantage and prognostic factors associated with intraperitoneal chemotherapy treatment in advanced ovarian cancer: a gynecologic oncology group study. *J. Clin. Oncol.*, **33**(13) : 1460-1466.

Thérier J, Solari F, Billaud M. (2007). PTEN est un gardien de la sûreté nucléaire. *Med. Sci.*, **23**(5) : 453-454.

Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2017). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaine*. De Boeck supérieur (Ed.), Paris : France.

Toss A, Tomasello C, Razzaboni E, Contu G, Grandi G, Cagnacci A, *et al.*, (2015). Hereditary Ovarian Cancer: Not Only BRCA 1 and 2 Genes. *Biomed. Res. Int.*, 341723.

Trétarre B, Remontet L, Ménégos F, Mace-Lesec'h J, Grosclaude P, Buemi A, *et al.* (2005). Ovarian cancer : incidence and mortality in France. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* **34**:154–6.

Tudrej P, Cortez A, Olbryt M, Kujawa K, Fiszer-Kierzkowska A, Piękowski W. (2018). Cytogenetic and molecular characterisation of new high grade serous ovarian cancer cell line OVPA8. *ESMO Open.*, **3**(2):A1–A463.

Z

Zhang M & Chen T. (2021). Overview on population screening for carriers with germline mutations in mismatch repair (MMR) genes in China. *Hered. Cancer Clin. Pract.*, **19**(1):1.

Références Bibliographiques

Zhang S, Royer R, Li S, McLaughlin J R, Rosen B, Risch H A, Fan I, Bradley L, Shaw PA, Narod SA. (2011). Frequencies of *BRCA1* and *BRCA2* mutations among 1,342 unselected patients with invasive ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*, **121**(2): 353–357.

Zhao Z, Zhang A, Zhao Y, Xiang J, Yu D, Liang Z, *et al.*, (2018). The association of polymorphisms in nucleotide excision repair genes with ovarian cancer susceptibility. *Biosci Rep.* **38** (3): BSR20180114.

Zhu, Y., Yang, H., Chen, Q., Lin, J., Grossman, H. B., Dinney, C. P., *et al.*, (2008). Modulation of DNA damage/DNA repair capacity by XPC polymorphisms. *DNA Repair.*, **7** (2), 141–148.

Webographie:

W1:<https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/ifiinfirmier/le-systeme-reproducteur> Consulté le 16/06/2022

W2 :http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/physio_endocrino23-06gonades.pdf Consulté le 16/06/2022

W3 :<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BRCA1> Consulté le 16/06/2022

W 4: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=BRCA2> Consulté le 16/06/2022

W5:<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=TP53> Consulté le 16/06/2022

W6:<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=STK11> Consulté le 16/06/2022

W7:<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=XPC> Consulté le 20/06/2022

Annexes

Annexe N° 1 : Questionnaire

Date de prélèvement:/...../.....

N° de patient:

.....

Nom:

Prénom:

Adresse:

.....

Profil épidémiologique:

Age :

Profession :

Age de diagnostic :

Taille :

Poids :

IMC :

Statut hormonal :Activité génital

Age à la ménarche :

jrs

Cycle régulier/irrégulier

Cycle ≤ à 24

à 31jrs

Cycle de 25

32 jrs

Cycle ≥ à

Ménopause

Age:

Parité : Non Oui

Nb d'accouchement:

Age à la 1^{ère} naissance:

.....

Fausses couches : Non Oui

Nb de fausses couches:

Moyen contraceptif : hormonal Dispositif intra-utérin Mécanique

Durée:

.....

Traitement hormonal substitutif : Non Oui

Durée:

Antécédents médicaux :Diabète HTA Cardiopathie

Autre:

.....

Antécédents familiaux :Cancer ovarien

Autre cancer:

Lien familial:

.....

Fumeur : Oui Non ancien fumeur Tabac passif

Nb de cigarette/jour:

.....

Consommation d'alcool :Oui Non **Etude anatomo-pathologique :**✓ **Type de la tumeur :**Tumeur épithéliale Tumeur des cordons sexuels et du stroma gonadique Tumeur germinale maligne Tumeur secondaire Carcinome à petites cellules

Autre:

✓ **Classification FIGO:**

✓ **Evolution:**

Complication per ou postoperatoires

Récidive

Décès

Durée de traitement (Survie):

Annexe N° 2 : Consentement

I- Etat civil de la patiente :

Nom :
Prénom :
Adresse /tel :
Age :

II- Renseignements cliniques :

.....

III- Objectif de l'étude :

Réalisation de caryotype humain à partir de différents liquides biologiques et recherche de mutations et de polymorphismes de gènes candidats impliqués dans la carcinogénèse ovarienne.

Consentement du patient :

Je déclare avoir été informé(e), oralement et par écrit, des objectifs et du déroulement de l'étude biologique sur les tumeurs des ovaires et je donne mon accord pour les prélèvements de liquides biologiques nécessaires.

Avis du médecin traitant	Signature du patient (e)
---------------------------------	---------------------------------

Lieu, Date :

Annexe N° 3 : Protocole du caryotype

Caryotype Standard (CRBt)

➤ Mise en culture : 72h «Lundi»

- Étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- Travailler sous hotte à flux laminaire, ouvrir les tubes et éviter de passer les mains au-dessus des tubes.
- On met **10 gouttes** de sang dans le milieu de culture PBM et CMP.
- Il faut bien fermer les tubes et les déposer horizontalement sur un plateau en inox et les mettre dans une étuve.

➤ Synchronisation : Après 48h «Mercredi»

- Ajout de **100µl** de Thymidine après 48h de mise en culture et remise en culture.
Lavage, remise en culture, blocage en métaphase, choc hypotonique, préfixation et fixation Après 72h «Jeudi»

➤ Lavage :

- On commence par une centrifugation **1500 rpm** durant **5min 30**.

Après avoir préparé les réactifs (solution de PBS) et après la centrifugation :

- On aspire le surnageant, on ajoute vers **1ml** de PBS.
- On vortex pour bien mélanger.
- On met **10ml** de PBS (jusqu'à l'étiquette).
- On mélange bien.
- On centrifuge une deuxième fois et on procède à un deuxième lavage « aspiration du surnageant, dilution au PBS, mélanger au vortex, rajouter du PBS et remettre à la centrifugeuse »

- Après centrifugation :

- rajouter **1.5ml** de RPMI et vortexer,
- compléter avec **5ml** de RPMI et **1.5ml** de SVF. 'pipette graduée

□ **Note :**

- Pour **les bandes R** : homogénéiser par retournements puis remettre à l'étuve pendant 5h à 5h30 en position horizontale.

- Pour **les bandes HR** : ajouter **50µl** de BrDU et remettre les tubes à l'étuve.

Sortie de culture

➤ **Blocage en métaphase :**

- Après incubation de 5h-5h30, ajouter **60µl** de colchicine pure dans chaque tube, homogénéiser et remettre à l'étuve en position horizontale pendant **30 minutes**.

➤ **Choc hypotonique et préfixation :**

- Centrifuger les tubes de culture «**1500rpm à 5min30**»
- Sous hotte chimique, aspirer le surnageant avec la pompe à vide.
- Ajouter **1 à 2ml** de KCl à la concentration de **5.6g/l** préchauffé à **37°C**.
- Vortexer et compléter avec **10ml** de KCl
- Homogénéiser par retournements.
- Incuber en position horizontale pendant **20min**.
- Préfixation : ajouter 0,5ml à 1ml du réactif de carnoy
 - Homogénéiser par retournements.
 - Centrifuger les tubes de culture «1500rpm durant 5min 30»
 - Sous hotte aspirer le surnageant avec la pompe à vide.

➤ **Fixation :**

- Ajouter 1 à 2ml de carnoy.
- Vortexer et compléter avec du carnoy.
- Homogénéiser par retournements.
- Fixer à température ambiante pendant 20 minutes.
- Centrifuger les tubes de culture « 1500rpm à 5minutes 30 »
- Sous hotte chimique, aspirer le surnageant avec la pompe à vide.
- Refaire une de deuxième fixation : ajouter le carnoy, vortex, compléter et on met au réfrigérateur.

➤ **Etalement :**

- Centrifugation : 1500rpm pendant 5min30

- Aspirer le surnageant (l'ancien carnoy) et le remplacer par un nouveau carnoy
- A l'aide d'un compte-goutte aspirer et refouler le culot afin de le mettre en suspension.
- Placer une lame dégraissée et séchée à plat et laisser tomber une goutte de culot, rincer au carnoy «ou pas » car cela dépend de la qualité des étalements.
- Essuyer le bas de la lame ainsi qu'à côté de l'étalement.
- La faire sécher au bain marie.
- Observer au microscope optique.

Dénaturation

➤ Bandes R :

Les faire rapidement après étalement.

- Commencer par réhydrater les lames dans de l'eau distillée durant **5 minutes**.
- Plonger les lames dans la solution phosphate qui se trouve au bain marie à **86°C** de **13-20minutes** (tout dépend du résultat de la première lame).
- Plonger les lames dans le colorant Giemsa -tampon de Gürd durant **5 minutes**.

➤ Bandes G :

- La lame doit dater d'une semaine.
- Plonger les lames dans la solution de trypsine ; le temps doit être adapté à l'ancienneté de l'étalement, et varie de **30 secondes** jusqu'à **2 minutes** :
- **30 secondes** pour le lendemain et on ajoute **5 secondes** aux jours qui suivent.
- Rincer rapidement dans du PBS 1X.
- Coloration et rinçage.
- Faire sécher la lame avant de l'observer.

Annexe N° 4 :**Protocole d'Extraction de l'ADN
Technique au NaCl (CRBt)****➤ Principe**

Les leucocytes sont séparés du sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K.

L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associés sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec éthanol.

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse.

➤ Réactifs

- TE: Tris EDTA (20:5).
- TE 10:1.
- Tampon de Lyse (NaCl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10 mM, pH 8.2).
- SDS à 10 %.
- Protéinase K à 10mg/ml.
- NaCl 4M.
- Éthanol à 70%.
- Éthanol absolu.

➤ Consommable

- Tube Falcon 50ml.
- Tube Falcon 15 ml.
- Pastille Stérile.

➤ Procédure**❖ Préparation des Leucocytes**

1. Dans un tube Falcon 50ml, mettre le sang.
2. Compléter à 25 ml avec Tris EDTA (20:5), pour la lyse des GR.
3. Agitation manuel (forte agitation).
4. Laisser 10 min dans la glace.
5. Centrifuger 10 min à 3900g (3800 rpm).
6. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
7. Ajouter quelques ml de TE (20:5) au culot et le remettre en suspension avec une pastille stérile.
8. Compléter à 25 ml avec du TE (20:5) et laisser 10 min dans la glace.
9. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
10. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes.
(si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nue de 1.5 ml avec du TE 10:1 et les conserver à -20 dans le frigo).

❖ Extraction d'ADN :

11. transvaser le culot de leucocytes dans un tube Falcon 15 ml.
12. Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot avec une palette stérile.
13. Ajouter 200 µl de SDS à 10 %.
14. Ajouter 100 µl de protéinase K à 10mg/ml.
15. Agiter le tube sur une roue à 37°C une nuit. Incubation une nuit.
16. Le lendemain refroidir dans la glace.
17. Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
18. Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
19. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
20. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
21. Si la pelote d'ADN ne se forme pas, laisser éventuellement 30 min à -20°C.
22. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer 02 fois dans éthanol à 70%.
23. Mettre la pelote d'ADN dans un tube nue.

❖ Solubilisation d'ADN :

24. Ajouter entre 300 et 1000 µl de TE (10:1) selon la grosseur de la pelote d'ADN et la concentration souhaitée.
25. Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

➤ Notes

RAS.

➤ References

- Ingénieur ; Dadci Yasmina -Centre Hôpitalo-universitaire Benbadis Constantine.
- Miller S.A, Dykes D.D., Polesky H.F (1988) Nucleic acid research 16(3) 1215.

Annexe N° 5 : Protocole de La PCR**Tableau I** : Préparation du milieu réactionnel de PCR pour XPC.

Réactifs	Quantité en (µl)	X Nombre d'échantillons	Total
Tompon 10X	2		
dNTP 10mM	0,5		
Oligo F 5µM	2		
Oligo R 5µM	2		
Taq (5U/µl)	0,5		
H2O	10		

Dans l'éppendorf :

- 3µl ADN de chaque échantillon (40 ng) + 17µl Mix
- Le blanc : 3µl d'eau distillée + 17µl Mix

Tableau II : Programmation des cycles de PCR.

Nombre de cycle	Etape	Température	Durée
X1	Dénaturation initiale	94°C	10 min
X 35	Dénaturation	94°C	1 min
	Hybridation	56 °C	30 sec
	Elongation	72 °C	1 min
	Elongation finale	72 °C	10 min

Annexe N° 6 : Protocole de la digestion enzymatique**Tableau III** : Préparation du milieu de digestion par l'enzyme *PvuII*.

Réactifs	Quantité en (µl)	X Nombre d'échantillons	Total
<i>PvuII</i>	1		
Buffer M	2		
H2O	6		

- 10µl du produit PCR +9 µl du Mix
- Mettre à l'étuve pendant 1h à 37 °C

Résumés

Résumé

Le cancer de l'ovaire est une maladie peu fréquente mais grave et mortelle en raison de son diagnostic le plus souvent tardif. Bien qu'il occupe le huitième rang des cancers féminins, il est classé cinquième cause de décès par cancer dans le monde. En Algérie c'est le troisième cancer gynécologique chez la femme après le cancer du sein et du col utérin.

Objectifs

Deux études ont été entreprises l'une statistique et l'autre génétique sur des patientes atteintes de cancer ovarien de différents stade et type. Nos objectifs ont été d'une part la recherche de l'implication de certains facteurs de risque dans la survenue de ce type de cancer et d'autre part la recherche d'une éventuelle association entre le risque de ce type de cancer et le polymorphisme rs2228001 du gène *XPC*. Une étude cytogénétique a été également réalisée dans le but de rechercher d'éventuelles anomalies chromosomiques chez 9 patientes.

Méthodes

L'étude statistique a concerné un ensemble de 55 sujets. L'étude moléculaire a été de type cas-témoins portant sur 25 patientes et 30 témoins. Le génotypage du polymorphisme rs2228001a été réalisé par PCR-RFLP. Le caryotypage de lymphocytes sanguins périphériques a été réalisé pour 9 de nos patientes.

Résultats

L'apparition du cancer ovarien, augmente proportionnellement avec l'âge. L'effectif maximal a été observé pour des patientes plus de 40 ans. Le facteur génétique augmente d'avantage le risque de ce type de cancer (18% présentent des antécédents familiaux). Suite au diagnostic qui est généralement tardif, ~ 76,47 % des patientes ont présenté une forte agressivité tumorale.

L'étude moléculaire a montré une association non significative entre le polymorphisme étudié et le cancer ovarien. Aucune variation chromosomique n'a été observée sur les caryotypes réalisés.

Conclusion

Nos résultats préliminaires ne peuvent pas être généralisés à l'ensemble de la population Algérienne. Des études supplémentaires sur un échantillon plus large sont nécessaires pour affirmer ou infirmer l'association du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* au cancer des ovaires. Afin de rechercher les anomalies chromosomiques, il serait judicieux de réaliser des études cytogénétiques sur les tissus histologiques des tumeurs ovariennes.

Mots Clés : Cancer ovarien, facteurs de risque, polymorphisme rs2228001, *XPC*, PCR-RFLP, caryotype.

Summary

Ovarian cancer is an infrequent but serious and fatal disease due to its usually late diagnosis. Although it ranks eighth among female cancers, it is ranked the fifth leading cause of cancer death worldwide. In Algeria, it is the third gynecological cancer in women after breast and cervical cancer.

Aim

Two studies were undertaken, one statistical and the other genetic, on patients with ovarian cancer of different stages and types. Our objectives were on the one hand the search for the involvement of certain risk factors in the occurrence of this type of cancer and on the other hand the search for a possible association between the risk of this type of cancer and the polymorphism rs2228001 of the XPC gene. A cytogenetic study was also carried out in order to search for possible chromosomal abnormalities in nine patients.

Methods

The statistical study involved a set of 55 subjects. The molecular study was of the case-control type involving 25 patients and 30 controls. Genotyping of the rs2228001 polymorphism was performed by PCR-RFLP. Karyotyping of peripheral blood lymphocytes was performed for nine of our patients. rs228001 polymorphism was performed by PCR-RFLP. Karyotyping of peripheral blood lymphocytes was performed for nine of our patients.

Results

The appearance of ovarian cancer increases proportionally with age. The maximum number was observed for patients over 40 years old. The genetic factor further increases the risk of this type of cancer (18% have a family history). Following diagnosis, which is generally late, ~ 76.47% of patients presented with strong tumor aggressiveness.

The molecular study showed a non-significant association between the studied polymorphism and ovarian cancer. No chromosomal variation was observed on the karyotypes performed.

Conclusion

Our preliminary results cannot be generalized to the entire Algerian population. Additional studies on a larger sample are needed to confirm or refute the association of the rs2228001 polymorphism of the XPC gene with ovarian cancer. In order to search for chromosomal abnormalities, it would be wise to carry out cytogenetic studies on the histological tissues of ovarian tumors.

Keywords: Ovarian cancer, risk factors, rs2228001 polymorphism, XPC, PCR-RFLP, karyotype.

ملخص

سرطان المبيض هو مرض نادر الحدوث ولكنه خطير ومميت بسبب التشخيص المتأخر عادة. على الرغم من احتلاله المرتبة الثامنة بين السرطانات التي تصيب النساء، إلا أنه يحتل المرتبة الخامسة بين الأسباب الرئيسية للوفاة بالسرطان في جميع أنحاء العالم. في الجزائر هو ثالث سرطان يصيب النساء بعد سرطان الثدي وسرطان عنق الرحم.

الأهداف

أجريت دراستان إحداهما إحصائية والأخرى وراثية على مرضى سرطان المبيض بمراحل وأنواع مختلفة. كانت أهدافنا البحث عن عوامل خطر مشتركة لحدوث هذا النوع من السرطان من ناحية ومن ناحية أخرى البحث عن ارتباط محتمل بمخاطر هذا النوع من السرطان. rs2228001 ... ومتعدد الأشكال xpc للجين

كما تم إجراء دراسة خلوية واثية بهدف البحث عن طفرات صبغية محتملة في 9 مريضات.

الوسائل

اشتملت الدراسة الإحصائية على مجموعة من 55 شخص. كانت الدراسة الجزيئية تتمثل في الحالات والشواهد التي شملت 25 مريضة و30 شاهدة.

تم إجراء الطابع النووي للخلايا للمفاوية في الدم ل 9 مريضات.

نتائج

يتناسب ظهور سرطان المبيض طردياً مع التقدم في السن. لوحظ الحد الأقصى لمريضات تزيد أعمارهم عن 40 عاماً. يزيد العامل الجيني من خطر الإصابة بهذا النوع من السرطان (18 لديهم تاريخ عائلي). بعد التشخيص المتأخر بشكل عام، يعاني 76.47% من المريضات من عدوانية شديدة للورم.

أظهرت الدراسة الجزيئية وجود علاقة غير ترابطية بين متعدد الأشكال المدروس وسرطان المبيض. لم يلاحظ أي اختلاف في الكروموسومات على الأنماط النووية التي تم إجراؤها.

استنتاج

لا يمكن تعميم نتائجنا الأولية على الشعب الجزائري بأكمله. هناك حاجة لدراسات إضافية على عينة أكبر لتأكيد أو إبطال بسرطان المبيض. من أجل البحث عن الطفرات الصبغية، سيكون من xpc للجين rs2228001 ارتباط متعدد الأشكال الحكمة إجراء دراسات وراثية خلوية على أنسجة سرطان المبيض.

Présenté par : Benkara Ines

Année universitaire : 2021/2022

Meguellati Hadjer

Millet Abir

Etude moléculaire et cytogénétique du cancer ovarien

Résumé

Le cancer de l'ovaire est une maladie peu fréquente mais grave et mortelle en raison de son diagnostic le plus souvent tardif. Bien qu'il occupe le huitième rang des cancers féminins, il est classé cinquième cause de décès par cancer dans le monde. En Algérie c'est le troisième cancer gynécologique chez la femme après le cancer du sein et du col utérin.

Objectifs

Deux études ont été entreprises l'une statistique et l'autre génétique sur des patientes atteintes de cancer ovarien de différents stade et type. Nos objectifs ont été d'une part la recherche de l'implication de certains facteurs de risque dans la survenue de ce type de cancer et d'autre part la recherche d'une éventuelle association entre le risque de ce type de cancer et le polymorphisme rs2228001 du gène *XPC*. Une étude cytogénétique a été également réalisée dans le but de rechercher d'éventuelles anomalies chromosomiques chez 9 patientes.

Méthodes

L'étude statistique a concerné un ensemble de 55 sujets. L'étude moléculaire a été de type cas-témoins portant sur 25 patientes et 30 témoins. Le génotypage du polymorphisme rs2228001a été réalisé par PCR-RFLP. Le caryotypage de lymphocytes sanguins périphériques a été réalisé pour 9 de nos patientes.

Résultats

L'apparition du cancer ovarien, augmente proportionnellement avec l'âge. L'effectif maximal a été observé pour des patientes plus de 40 ans. Le facteur génétique augmente d'avantage le risque de ce type de cancer (18% présentent des antécédents familiaux). Suite au diagnostic qui est généralement tardif, ~ 76,47 % des patientes ont présenté une forte agressivité tumorale.

L'étude moléculaire a montré une association non significative entre le polymorphisme étudié et le cancer ovarien. Aucune variation chromosomique n'a été observée sur les caryotypes réalisés.

Conclusion

Nos résultats préliminaires ne peuvent pas être généralisés à l'ensemble de la population Algérienne. Des études supplémentaires sur un échantillon plus large sont nécessaires pour affirmer ou infirmer l'association du polymorphisme rs2228001 du gène *XPC* au cancer des ovaires. Afin de rechercher les anomalies chromosomiques, il serait judicieux de réaliser des études cytogénétiques sur les tissus histologiques des tumeurs ovariennes.

Mots Clés : Cancer ovarien, facteurs de risque, polymorphisme rs2228001, *XPC*, PCR-RFLP, caryotype

Laboratoire de recherche : Centre de Recherche de Biotechnologie : CRBt

Encadreur : Ribouh-Arras A. (MRB- Centre de Recherche de Biotechnologie :CRBt)

Co-encadreur : Chaoui-Kherouatou N. (Pr-Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur 1 : Rezgoun-Chellat D. (Pr-Université Frères Mentouri, Constantine 1)

Examineur 2 : Bensaksali- Semmam O. (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).
