

Année 2021

N°: MM0122021

**MÉMOIRE DE MASTER**  
MASTER DE «Biotechnologie médicale»  
OPTION: «Biomédicale»

Intitulé

**Profil du spectre mutationnel des  
gènes BRCA dans la population marocaine:  
Identification des mutations fondatrices et  
récurrentes**

Soutenu par:

**Benmokhtar Lahbiba**

Devant le jury composé de:

<b>Pr. Mouna Ouadghiri,</b>	Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat,	<b>Présidente</b>
<b>Pr. Abdelillah LARAQUI,</b>	Hôpital militaire d'instruction Mohammed V, (HMIMV) de Rabat	<b>Encadrant</b>
<b>Pr. Tarik Aanniz,</b>	Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat,	<b>Examinateur</b>

## Avant-Propos

Ce mémoire du Projet de Fin d'Études intitulé «**Profil du spectre mutationnel des gènes BRCA dans la population marocaine: Identification des mutations fondatrices et récurrentes.** » a été réalisé dans le cadre d'obtention du Master Biotechnologie Médicale, dont les enseignements sont dispensés par la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat de l'Université Mohammed V de Rabat. Il a été réalisé sous la direction du Professeur Abdelillah LARAQUI, enseignant chercheur au sein du laboratoire de recherche et de biosécurité P3 à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V (HMIMV), Rabat et du Pr Azedine Ibrahimy du Laboratoire Biotechnologie Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

Pour mieux répondre aux attentes des entreprises et du marché de travail, la spécialité : Master Biotechnologie Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V de Rabat, a dispensé un enseignement scientifique et technique de qualité.

Le stage est donc un des moyens d'intégration et d'affinage du projet professionnel, et du projet personnel de l'étudiant à l'égard du tissu socio-économique, scientifique et industriel marocain.

Il permet à l'étudiant de passer du système académique à un système professionnel (profil, compétences, potentiel, capacités, personnalité...).

Il est un véritable complément de formation, dans la mesure où il permet l'application des connaissances théoriques et pratiques dans un ou plusieurs métiers.

De plus, il renforce la motivation de l'étudiant et lui permet, au-delà de la connaissance de l'entreprise, la découverte de l'importance de "Savoir être" à côté des savoir et savoir-faire.

# DEDICACES

**Je dédie ce mémoire :**

*A mes très chers parents **Lhoussaine et Najia***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma Considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien Être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours

**Maman**, 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. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

**Papa**, affable, honorable, aimable tu as fait plus qu'un père puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

*A mon frère et ma sœur*

Je vous souhaite tout le bonheur et le succès et que Dieu garde l'amour entre nous pour toujours, j'espère que vous trouveriez dans ce travail le bon exemple.

*A mes Amis*

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Vous trouveriez dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

## REMERCIEMENTS

*Louange à Dieu le tout puissant qui nous a donné la force, la patience et la volonté  
d'achever ce travail et nous lui rendons grâce.*

Le présent travail s'appuie sur le concours d'un grand nombre de personnes que je souhaite vivement remercier, car sans leur aide et leur soutien, un tel résultat n'aurait pu être obtenu.

Je tiens donc à exprimer ma gratitude envers toute personne dont l'intervention a contribué au bon déroulement de ce travail, en particulier :

*Le Professeur Monsieur Mohamed ADNAOUI.*

*Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie à Rabat.*

Je tiens à vous exprimer mes sincères remerciements pour les bonnes conditions que vous nous avez procurées le long de ce parcours d'étude. Veuillez accepter l'assurance de mon estime et profond respect.

*Au responsable et Coordinateur du Master de biotechnologie Médicale à la faculté de  
médecine et de pharmacie-Rabat.*

*Monsieur IBRAHIMI AZZEDINE.*

Je vous adresse mes vifs remerciements, Monsieur, premièrement de nous avoir donné l'opportunité de profiter de l'excellente qualité d'enseignement qu'offre le master, pour l'effort et l'intérêt que vous accordez à notre formation et à l'amélioration de nos connaissances scientifiques, pour votre disponibilité, l'ouverture d'esprit et l'amabilité, pour vos remarques et conseils judicieux qui nous ont guidés durant ces deux années de formation.

***A Monsieur le Professeur SEKHSOUKH Yassine***  
***Professeur de microbiologie et Chef du Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3 à***  
***l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V.***

Je saisis cette occasion pour vous exprimer, Professeur, mes sincères remerciements pour l'opportunité de stage offerte au sein de votre laboratoire. Que ce travail soit un témoignage de mon profond respect.

***A mon encadrant Monsieur LARAQUI Abdelillah***  
***Professeur de Biologie Moléculaire à l'Université Mohammed V Faculté des Sciences de***  
***Rabat. Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3 à l'Hôpital Militaire D'Instruction,***  
***Mohamed V.***

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude. Je loue vos qualités humaines et votre amabilité. Vous m'avez réservé le meilleur accueil au sein du laboratoire de Recherche et de biosécurité, malgré vos obligations professionnelles. Je tiens à vous exprimer mon profond respect et ma très haute considération.

***Au membre de jury***

Je tiens à remercier les Professeurs qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail. Cet honneur me touche infiniment et me tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance. Veuillez accepter, chers professeurs, dans ce travail l'assurance de mon estime et mon profond respect.

***A Monsieur Elbiad Oubaida***  
***Doctorant chercheur à la Faculté des Sciences de Rabat-***  
***Laboratoire de Recherche et de Biosécurité P3 à l'Hôpital Militaire D'instruction Mohamed V.***

Permettez-moi de vous présenter, dans ce travail, le témoignage de mon profond respect et gratitude.

## Résumé

Le cancer du sein est le cancer féminin le plus fréquemment diagnostiqué au Maroc. Environ 5 à 10 % sont dus à une prédisposition héréditaire et les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables d'une proportion importante de familles à haute risque de cancer du sein /de l'ovaire. Ce travail a pour objectif de rassembler toutes les données publiées dans les différentes bases de données, sur les connaissances actuelles concernant le spectre des mutations pathogènes des gènes BRCA1 et BRCA2 au niveau de Maroc. Ainsi, d'établir une corrélation entre ces mutations délétères et les facteurs de risque démographiques (âge) et cliniques (type de KS, stage ...)

Notre étude a permis d'identifier 83 patientes porteuses de mutations au niveau du gène BRCA (49 sur le gène BRCA1 et 34 sur le gène BRCA2). Sur le plan histopathologique, la plupart des porteuses de mutations pathogènes ont un KS triple négatif et ils ont carcinomes canaux infiltrants de haut grade (grade III) et surviennent le plus souvent chez les patientes jeunes avec une tumeur de grande taille et un envahissement ganglionnaire au moment de diagnostic.

L'analyse des gènes BRCA1 et / ou BRCA2 par des méthodes de génotypage tels que ; le séquençage direct, HRM et NGS a permis d'identifier **30** mutations pathogènes distinctes chez **83** individus atteints d'un cancer du sein et/ou de l'ovaire. **17** mutations ont été identifiées dans le gène BRCA1, et **13** dans le BRCA2, En effet, la majorité de ces mutations sont localisées au niveau de l'exon 11 pour les gènes BRCA1 et BRCA2

L'identification du spectre mutationnel spécifique à chaque population, représente la première étape vers l'intégration des tests génétiques dans les pratiques génétiques chez certaines populations et groupes raciaux/ethniques et pourrait être la stratégie de diagnostic moléculaire la plus rentable.

**Titre** : Profil du spectre mutationnel des gènes BRCA dans la population marocaine:

Identification des mutations fondatrices et récurrentes

**Auteur** : Benmokhtar lahbiba

**Mots clés** : cancer du sein, gènes BRCA1 et BRCA2, KS triple négatif, carcinomes canaux infiltrants, grade III, NGS, HRM, Séquençage direct.

## **Abstract**

Breast cancer is the most common female cancer in Morocco. About 5-10% are due to hereditary predisposition and mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes are responsible for a significant proportion of families at high risk of breast/ovarian cancer.

The aim of this work is to gather all the data published in the different databases, on the current knowledge about the spectrum of pathogenic mutations of the BRCA1 and BRCA2 genes in Morocco. Thus, to establish a correlation between these deleterious mutations and demographic (age) and clinical (type of KS, stage ...) risk factors.

Our study identified 83 patients with mutations in the BRCA gene (49 in the BRCA1 gene and 34 in the BRCA2 gene). Histopathologically, most of the carriers of pathogenic mutations have triple-negative KS and have high-grade (grade III) infiltrating ductal carcinomas and occur most often in young patients with a large tumor and lymph node involvement at diagnosis.

Analysis of the BRCA1 and/or BRCA2 genes by genotyping methods such as direct sequencing, HRM and NGS identified 30 distinct pathogenic mutations in 83 individuals with breast and/or ovarian cancer. 17 mutations were identified in the BRCA1 gene, and 13 in BRCA2. The majority of these mutations are located at exon 11 for both BRCA1 and BRCA2.

The identification of the population-specific mutational spectrum represents the first step towards the integration of genetic testing into genetic practices in certain populations and racial/ethnic groups and may be the most cost-effective molecular diagnostic strategy.

**Title:** Profile of the mutational spectrum of BRCA genes in the Moroccan population:  
identification of founder and recurrent mutations

**Author:** Benmokhtar lahbiba

**Keywords:** breast cancer, BRCA1 and BRCA2 genes, triple-negative KS, invasive ductal carcinomas, grade III, NGS, HRM, Direct Sequencing.

## الملخص

يعد سرطان الثدي هو اكثر انواع السرطانات شيوعا بين النساء في المغرب. فحوالي 5-10 ٪ بسبب الاستعداد الوراثي والطفرات في جينات BRCA1 و BRCA2 مسؤولة عن نسبة كبيرة من العائلات المعرضة لخطر الإصابة بسرطان الثدي / المبيض.

يهدف هذا العمل إلى الجمع بين جميع البيانات المنشورة في قواعد البيانات المختلفة، حول المعرفة الحالية المتعلقة بطيف الطفرات المسببة للأمراض لجينات BRCA1 و BRCA2 في المغرب. وبالتالي، لتأسيس علاقة بين هذه الطفرات الضارة والعوامل الديموغرافية (العمر) وعوامل الخطر السريرية (نوع KS، المرحلة ...)

حددت دراستنا 83 مريضاً لديهم طفرات في جين BRCA (49 على جين BRCA1 و 34 على جين BRCA2). من الناحية النسيجية، فإن معظم حاملي الطفرات المسببة للأمراض لديهم سرطان الثدي سلبي ثلاثي ولديهم درجة عالية (الدرجة الثالثة) من سرطان الأفتنية الغازية ويحدث بشكل شائع في المرضى الشباب الذين يعانون من ورم كبير تورط العقدة الليمفاوية لحظة التشخيص.

تحليل جينات BRCA1 و / أو BRCA2 عن طريق طرق التتميط الجيني مثل؛ التسلسل المباشر، HRM و NGS. مكنت من تحديد 30 طفرة ممرضة مميزة في 83 فرداً يعانون من سرطان الثدي و / أو المبيض. تم تحديد 17 طفرة في جين BRCA1، و 13 طفرة في جين BRCA2. في الواقع، توجد غالبية هذه الطفرات في exon 11 لجينات BRCA1 و BRCA2

يمثل تحديد الطيف الطفري الخاص بكل مجموعة سكانية الخطوة الأولى نحو دمج الاختبار الجيني في الممارسة الجينية في مجموعات سكانية معينة ومجموعات عرقية / جنسية وقد يكون استراتيجياً للتشخيص الجزيئي الأكثر فعالية من حيث التكلفة.

**العنوان:** دراسة الطفرات الجينية لسرطان الثدي BRCA على الصعيد المغربي: تحديد الطفرات المؤسسة والمتكررة.

**الكاتب:** بنمختار لحبيبة

**الكلمات الأساسية:** سرطان الثدي، جينات BRCA1 و BRCA2، سرطان الثدي السلبي الثلاثي، سرطان الأفتنية الغازية، الدرجة الثالثة، NGS، HRM، التسلسل المباشر

## LISTE D'ABREVIATIONS

AA	Acide Aminé
ABRAXAS	BRCA1 A Complex Subunit
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADNdb	ADN double brin
ADNsb	ADN simple brin
BARD1	BRCA1 Associated RING Domain protein 1
BC	<i>Breast Cancer</i>
BOC	<i>Breast Ovarian Cancer syndrome</i>
BRCA	<i>Breast Cancer gene</i>
CtBP1	protéine d'interaction C-terminal binding protein 1
DBD	<i>DNA Binding Domain</i>
DSB	cassures double brin
ER	<i>Estrogen Receptor</i>
FABP7	Fatty Acid Binding Protein 7
FS	<i>Frame Shift</i>
HER2	<i>Human Epidermal growth factor Receptor 2</i>
HNF3	hepatocyte nuclear factor 3
HR	recombinaison homologue
HRM	<i>High Resolution Melt</i>
IFD	<i>In Fram Deletion</i>
IRM	Imagerie par résonnance magnétique
IVS	<i>Intervening Sequence</i>
KS	Cancer du sein
MiRs	MicroARN circulants
MS	<i>MisSense</i>
NA	<i>Not Available</i>

NHEJ	extrémités non homologues
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NLS	<i>Nuclear Localization Sequence</i>
NS	<i>Nonsense</i>
OB	oligonucléotides
OC	<i>Ovarien Cancer</i>
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PR	<i>Progesterone Receptor</i>
Rb	rétinoblastome
RING	<i>Really Interesting New Gene</i>
SBR	<i>Scarff Bloom et Richardson</i>
SCD	<i>Serine Cluster Domain</i>
TAD	domaine d'activation transcriptionnelle
TFF3	trefoil factor 3
THS	hormonothérapie substitutive
TNBC	<i>Triple Negative Breast cancer</i>
TPBC	<i>Triple Positive Breast Cancer</i>
HGVS	<i>Human Genome Variation Society</i>
LOVD	<i>Leiden Open Variation Database</i>
XBP1	X-box binding protein 1

## Liste des figures

Figure 1 : Structure anatomique d'un sein .....	2
Figure 2 : Schéma représentant les différentes étapes du développement de la glande mammaire et les hormones impliquées dans les transitions entre les différentes étapes .....	3
Figure 3 : Gènes et loci de prédisposition au cancer du sein .....	11
Figure 4 : Le gène BRCA1 montrant les exons .....	12
Figure 5 : Les principaux domaines fonctionnels de BRCA1.....	13
Figure 6 : Le gène BRCA2, montrant les exons .....	14
Figure 7: Les principaux domaines fonctionnels de BRCA2 .....	14
Figure 8 : Fonctions de la protéine BRCA1.....	15
Figure 9 : Rôles de BRCA1 et BRCA2 dans la réparation de l'ADN .....	18
Figure 10 : BRCA1, BRCA2 et la régulation de la transcription .....	20
Figure 11 : Diagramme de flux décrivant les étapes de la sélection des études.....	23
Figure 12 : Pourcentage des sous-types moléculaire du cancer du sein .....	35
Figure 13 : Pourcentage des types de cancer observé chez les cas positifs.....	35
Figure 14 : La fréquence des mutations en fonction de leurs localisations .....	36
Figure 15 : Pourcentage des types des mutations présentes dans les gènes BRCA1/2.....	36
Figure 16 : Le nombre de mutations en fonction de l'âge .....	37
Figure 17 : les grades SBR du KS en fonction de l'âge au moment du diagnostic .....	37

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumé des différentes études réalisées chez des patientes marocaines présentant un cancer du sein au Maroc .....	25
Tableau 2 : les différentes méthodes d'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2 .....	29
Tableau 3 : les mutations délétères BRCA1 et BRCA2 identifiées au Maroc .....	33
Tableau 4 : Répartition selon l'antécédent et l'âge de diagnostic .....	35

## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie 1 : Revue bibliographique</b> .....	<b>2</b>
<b>I. Le sein</b> .....	<b>2</b>
1. Anatomie .....	2
2. Glande mammaire .....	3
3. Physiologie de la glande mammaire .....	3
4. Physiopathologie .....	4
<b>II. Classification du cancer du sein</b> .....	<b>4</b>
1. Classification histologique .....	4
1.1 Carcinomes non infiltrants .....	4
1.2 Carcinomes infiltrants .....	5
2. Classification moléculaire .....	5
2.1. Tumeurs Luminales A .....	5
2.2. Tumeurs luminales B .....	5
2.3. Tumeurs HER2+ .....	6
2.4. Sous-types Basal-Like et Triple Négatif .....	6
<b>III. Diagnostic</b> .....	<b>6</b>
1. Examen d'imagerie médicale .....	6
1.1. Mammographie .....	6
1.2. Echographie mammaire .....	6
1.3. Imagerie par résonance magnétique (IRM) .....	7
2. Marqueurs tumoraux .....	7
2.1. <i>MicroARN circulants</i> .....	7
3. Ca15-3 .....	7
4. <i>Récepteurs de l'œstrogène et la progestérone</i> .....	8
5. Examens moléculaires .....	8
<b>IV. Epidémiologie analytique</b> .....	<b>9</b>
<b>A. Facteurs reproductifs et hormonaux</b> .....	<b>9</b>
1. Facteurs reproductifs .....	9

2. Facteurs hormonaux .....	9
<b>B. Facteurs environnementaux .....</b>	<b>9</b>
<b>C. Facteurs Génétiques .....</b>	<b>10</b>
<b>V. Etude des gènes BRCA1 et BRCA2 .....</b>	<b>12</b>
1. Gène BRCA .....	12
1.1. Protéine BRCA1 .....	12
1.1.1. Domaine fonctionnels BRCA1 .....	13
1.2. Protéine BRCA2 .....	14
1.2.1. Domaine fonctionnels BRCA2.....	14
2. Fonctions des protéines BRCA1 et BRCA2.....	15
2.1. Rôle dans la réparation de l'ADN .....	16
2.1.1. La recombinaison homologue.....	16
2.1.2. La voie de jonction d'extrémités non homologues.....	16
2.2. Régulation du cycle cellulaire .....	19
2.3. Régulation de la transcription .....	19
2.4. Duplication de centrosome.....	20
2.5. Action de l'ubiquitine ligase du BRCA1 .....	20
<b>Partie 2 : Matériels et Méthodes.....</b>	<b>22</b>
1. Objectif de travail .....	22
2. Recherche et sélection des études .....	22
3. Analyse statistique des données .....	24
<b>Partie 3 : RESULTATS .....</b>	<b>25</b>
1. Caractéristiques clinico-pathologiques des cas "de cancer du sein" des différentes études avec des mutations des gènes BRCA1 et 2 .....	25
2. Prévalence des mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 au Maroc .....	29
3. Types de mutations observées dans les différentes études .....	30
4. Analyse des donnés .....	35
5. Analyse de la corrélation entre les différents paramètres .....	37

<b>Partie 4 : Discussion.....</b>	<b>38</b>
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>42</b>
<b>Références .....</b>	<b>43</b>

## **Introduction**

Le cancer du sein (KS) est la principale cause de décès par cancer chez les femmes dans le monde. En Afrique du nord et au moyen orient, le KS est également le premier cancer de la femme. Il représente 14-42 % de tous les cancers féminins avec une augmentation exponentielle [1]. L'organisation mondiale de la santé (OMS) considère le cancer du sein comme une priorité de santé publique et un problème majeur chez la femme dans cette région du monde [2]

A l'échelle mondiale, en 2020, 2.3 millions nouveau cas ont été identifiés et représentant 11.7% de tous les cancers, avec une mortalité de 18% chez les deux sexes. Chez les femmes, le pourcentage de décès est de 15.5 % et une incidence de 24.5 %, pour être la première cause de mortalité et le cancer le plus abondant chez les femmes [3].

Au Maroc, en 2020, l'incidence du KS chez les deux sexes est d'environ 19.8 % et il est la deuxième cause de mortalité, avec 10.5 % après le cancer du poumon. Chez les femmes, l'incidence est estimée à 38.9 % et la mortalité arrive à 24.7 % (3659 nombres d'individus), pour être la cause principale de décès chez les femmes [3].

Les protéines BRCA1 et BRCA2 jouent un rôle crucial dans le maintien de l'intégrité génomique grâce au processus de réparation précise de l'ADN par recombinaison homologue. La perte des fonctions BRCA entraîne une instabilité génomique qui aboutit à la transformation oncogène de cellules non tumorigènes en cellules initiatrices de tumeurs ou en cellules souches cancéreuses (CSC) et à une évolution tumorale ultérieure [4].

Plusieurs mutations ont été identifiées au niveau des gènes BRCA1/2, ces altérations génétiques jouent un rôle crucial dans la survenue du KS.

Dans ce cadre, notre étude est d'établir le spectre mutationnel dans la population marocaine et d'identifier les mutations fondatrices et récurrentes afin d'obtenir un profil mutationnels des gènes BRCA1 et BRCA2 chez les femmes marocaine.

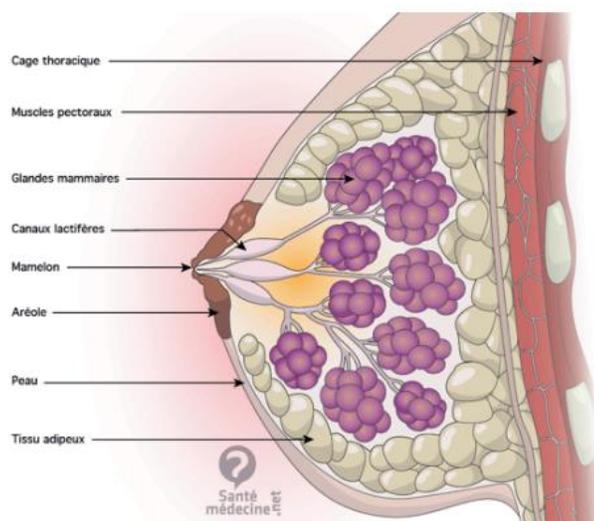
## Partie 1 : Revue bibliographique

### I. Le sein

#### 1. Anatomie

Le KS est un carcinome qui se développe anarchiquement au profit des tissus qui l'entoure, comprendre l'anatomie et la physiologie du sein normal est essentiel pour décrire les changements pathogéniques associés aux transformations malignes.

Le sein est une glande exocrine qui se compose d'une masse, d'une aréole, d'un mamelon qui renferme la glande mammaire. Cette glande exocrine d'origine ectodermique, sécrète du lait. La glande mammaire est nichée dans du tissu adipeux (Figure 1). Elle est formée de 15 à 20 lobes glandulaires qui contiennent des lobules. Chaque lobule contient des acini ou alvéoles. L'alvéole ou l'acinus est une cavité à activité sécrétrice. Chaque acinus se draine par un canal alvéolaire. Les acini et les canaux alvéolaires forment le lobule qui se draine par un canal lobulaire. Plusieurs lobules réunis forment un lobe glandulaire qui se draine par un canal galactophore ou lactifère. Les lobes sont entourés de filets nerveux, de vaisseaux sanguins, de tissu conjonctif et de vaisseaux lymphatiques. La majorité des vaisseaux lymphatiques se jette dans les ganglions axillaires. Dès les premières semaines de vie fœtale commence le développement anatomique de la glande et il suit les étapes hormonales de la vie de la femme. [5].



**Figure 1: Structure anatomique d'un sein**

« Sein : anatomie, examens et maladies ». <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2571039-sein-anatomie-examens-et-maladies/> (consulté le juillet31, 2021).

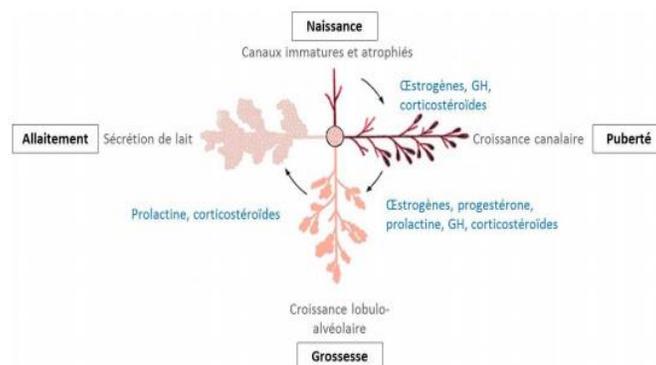
## 2. La glande mammaire

La glande mammaire est constituée de 2 compartiments cellulaires : le compartiment épithélial qui s'articule autour d'un réseau de canaux galactophores et de lobules renfermant les alvéoles et le compartiment mésenchymateux, perfusé par les nerfs et les vaisseaux sanguins. Ces deux compartiments sont séparés par une membrane basale de collagène de type IV, de laminine et de glycosaminoglycanes mais une coopération permanente existe entre eux au cours du développement de la glande mammaire. Les vaisseaux lymphatiques et sanguins circulent dans les tissus adipeux et conjonctifs. Le drainage par les vaisseaux lymphatiques s'effectue vers la chaîne mammaire interne, les ganglions sus-claviculaires et axillaires. [6].

L'architecture de la glande mammaire évolue tout au long de la vie, en fonction de l'âge et du stade de la vie reproductive et se construit sous l'influence des hormones sexuelles d'origine ovarienne (œstrogènes et progestérone) et d'un certain nombre de facteurs de croissance [7].

## 3. Physiologie de la glande mammaire

Au cours du stade fœtal, le sein se développe à partir de l'ectoderme dès la quatrième semaine de la vie intra-utérine. À la naissance, 15 à 20 canaux lactifères constituant la glande mammaire. Cette dernière reste au repos toute la vie pour le garçon, alors que pour la fille, des modifications morphologiques commencent à l'âge de la puberté, sous l'effet des hormones et des facteurs de croissance. Des variations se poursuivent au cours du cycle menstruel, puis la lactation au cours de la grossesse est influencée par l'œstrogène, la progestérone et la prolactine. Une atrophie est observée à la ménopause, sans changement de la taille du sein. [8].



**Figure 2 : Schéma représentant les différentes étapes du développement de la glande mammaire et les hormones impliquées dans les transitions entre les différentes étapes [8].**

#### **4. Physiopathologie du cancer de sein**

La glande mammaire est un organe en évolution permanente sous l'influence des hormones sexuelles (œstrogènes et progestérone) et de facteurs de croissance. Ces derniers entraînent une croissance et une différenciation cellulaire importante, ce qui rend cet organe plus susceptible aux transformations cancéreuses. [9].

Les cellules cancéreuses localisées dans les canaux galactophores ou la glande mammaire sont considérées comme un « cancer primitif ».

La dissémination métastatique du cancer du sein se fait principalement via les néovaisseaux lymphatiques, dans ce cas les chaînes ganglionnaires sont rapidement envahies avec des localisations au niveau des ganglions axillaires, mammaires internes, sus-claviculaires et ceux de la région du cou, et un envahissement régional peut aboutir à l'atteinte de la paroi thoracique. La dissémination métastatique se fait également via le nouveau réseau de vaisseaux sanguins et provoque généralement l'apparition des foyers secondaires au niveau des os, des poumons, du foie, du sein controlatéral, ou encore du cerveau [10].

## **II. Classification du cancer du sein**

### **1. Classification histologique**

Les carcinomes représentent 98% des tumeurs malignes du sein. On distingue les carcinomes infiltrants et des carcinomes non infiltrants. Les autres types histologiques concernent le carcinome tubuleux, le carcinome mucineux, médullaire et papillaire [12].

#### **1.1 Carcinomes non infiltrants représentent 25% des cas :**

Ces carcinomes sont non-invasives aux tissus voisins. On distingue :

- **Les carcinomes lobulaires** qui représentent 0.8 à 2% des cancers, et se caractérisent par la prolifération des cellules de petites tailles au niveau des canalicules intra-lobulaire et peuvent être accompagnés par des altérations épithéliales extra-lobulaires. [11].
- **Les carcinomes canaux** qui désignent 4% des cancers et présentent des microcalcifications mammographiques et une multicentricité [12].

## 1.2 Carcinomes infiltrants représentent 75% des cas

Ce type des carcinomes se caractérise par la capacité des cellules cancéreuses d'envahir les tissus voisins. Il existe différents sous-types tels que :

- **Le carcinome canalaire infiltrant** qui forme des lésions tumorales mal délimités et il est le plus fréquent des tumeurs malignes du sein (70%) [12-13].
- **Le carcinome lobulaire infiltrant** représente 10%-15%, se caractérise par des petites cellules néoplasiques non adhérentes et qui envahissent le stroma [12-13]

Certains types histologiques sont de meilleurs pronostics tels que : les carcinomes lobulaires, mucineux (colloïdes) et médullaires ; par contre les carcinomes invasifs (canales et lobulaire) sont de mauvais pronostic. Les carcinomes non infiltrants (15%) peuvent être des carcinomes canaux (ou galactophoriques in situ) qui n'infiltrant pas la membrane basale et le tissu conjonctif. Ils sont souvent considérés comme une maladie diffuse de tout l'arbre galactophorique et sont caractérisés par leur multicentricité. Les carcinomes infiltrants (75 %) sont des carcinomes canaux infiltrants retrouvés dans 70 % des cas tandis que les carcinomes lobulaires infiltrants sont retrouvés dans 5 à 15% des cas.

## 2. Classification moléculaire

Des études de l'expression génique des cancers du sein par microarray ont permis d'établir une classification moléculaire. Cette dernière est basée sur l'expression d'un panel de gènes dans les cancers du sein a permis de classer les tumeurs du sein en 4 groupes [14].

### 2.1 Les tumeurs luminal A

*Les tumeurs luminal A* présentent une expression élevée des gènes (GATA 3, ER  $\alpha$ , XBP1 (X-box binding protein 1), TFF3 (trefoil factor 3), les gènes LIV-1 et HNF3 (hepatocyte nuclear factor 3)), qui codent pour des transporteurs de zinc, régulés par les estrogènes

### 2.2 Les tumeurs luminal B

Ils présentent une faible expression du gène ER et des gènes régulés par les estrogènes avec une forte expression des gènes liés à la prolifération (ki67).

### **2.3 Tumeurs Her2+**

Ce groupe de tumeurs est caractérisé par une sur-expression des gènes situés sur en 17q22.24 (amplicon de ERBB2) tels que ERBB2 et GRB7.

### **2.4 Sous-types Basal-Like (BL) et Triple Négatif (TN)**

Ils présentent une forte expression des kératines 5 et 17, laminine et FABP7 (Fatty Acid Binding Protein 7). Le sous-type basal I est caractérisé par l'absence d'expression des récepteurs hormonaux et d'HER2, c'est pourquoi on parle de cancer triple négatif.

## **III. Diagnostic**

### **1. Examen d'imagerie médicale**

#### **1.1. Mammographie**

La mammographie est la méthode la plus couramment utilisée pour le suivi et le diagnostic des maladies du sein. Il est également utilisé pour le dépistage mammaire, permettant la détection des lésions mammaires à un stade très précoce, ce qui augmente considérablement l'espérance de vie des patientes atteintes. Selon le programme de dépistage, une mammographie est généralement réalisée tous les deux ans (deux projections) chez les femmes de plus de 40 ou 50 ans, avec double lecture par deux radiologues différents. Cependant, la mammographie présente encore quelques inconvénients. C'est d'abord une technique ionisante, et bien que la dose de rayonnement ait considérablement diminué, elle est toujours d'actualité si l'on tient compte du fait que le sein est un tissu radiosensible. Deuxièmement, la mammographie ne peut pas différencier les lésions liquides, y compris les kystes, et les lésions solides, ce qui constitue une limitation majeure pour l'identification précise des masses tumorales [15].

#### **1.2. Echographie mammaire**

L'échographie mammaire est une technique utilisant des ultrasons et permet de générer des images précises de la partie interne des seins et des ganglions. Elle est souvent réalisée en complément de la mammographie, soit pour caractériser la nature des lésions, soit pour faciliter l'interprétation des clichés mammographiques douteux, soit lorsque la mammographie n'a pas été informative du fait de la densité des seins chez certaines patientes [16]. En présence d'anomalies ou de ganglions suspects, le radiologue peut réaliser des prélèvements échoguidés : cytoponction ou microbiopsie.

### **1.3. Imagerie par résonance magnétique (IRM)**

L'IRM est un outil de diagnostic important fréquemment utilisé pour étudier les maladies du sein. Il a actuellement des indications spécifiques, dont l'évaluation de la réponse au traitement, le dépistage chez les patientes à haut risque, l'étude du cancer du sein occulte, l'étude de la récurrence tumorale et l'évaluation des prothèses mammaires. L'IRM peut également être recommandée pour la stadification du cancer du sein, l'étude des microcalcifications, des écoulements mammaires, des lésions précancéreuses, des tumeurs résiduelles chez les patientes opérées ou en cas de résultats non concluants par mammographie et échographie. Les techniques d'IRM appliquées à l'étude du cancer du sein reposent à la fois sur l'évaluation des caractéristiques morphologiques des lésions et sur les caractéristiques de prise de contraste de ces lésions. Les tumeurs malignes ont une angiogenèse désorganisée présentant des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles spécifiques [15].

## **2. Marqueurs tumoraux**

### **2.1. MicroARN circulants**

Les miRs sont de potentiels biomarqueurs mais peuvent aussi constituer des nouvelles cibles thérapeutiques comme décrit par Bertoli et ses collaborateurs. Par ailleurs, Bovy et ses collaborateurs ont démontré le potentiel du miR-503-5p dans les lignées cellulaires. Ce miR sur-exprimé dans cellules endothéliales, peut être secrété dans des exosomes et transféré vers les cellules de cancers du sein. Ce miR inhibe la croissance tumorale en ciblant CCND2 et CCND3. De plus, la chimiothérapie néoadjuvante augmente de niveau plasmatique du miR-503-3p. Ce microARN peut être impliqué dans l'effet antitumoral de la chimiothérapie dans les cancers du sein. Les microARNs circulants constituent aujourd'hui une voie d'avenir pour la recherche scientifique et translationnelle dans les cancers du sein. En effet, plusieurs miRs sont identifiés mais leurs cibles potentielles restent inconnues. Des études sur les cibles des microARNs intéressants pourraient aboutir à de nouvelles cibles thérapeutiques dans les cancers du sein et particulièrement les cancers triples négatifs. [17-18-19].

## **3. Ca 15-3**

Le CA 15-3 qui détecte les formes solubles de la protéine MUC-1 est le marqueur sérique le plus utilisé chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Son utilisation principale est le suivi thérapeutique chez les patients atteints d'une maladie métastatique. Lors de la surveillance du traitement dans ce contexte, le CA 15-3 ne doit pas être utilisé seul mais mesuré en conjonction

avec l'imagerie diagnostique, les antécédents cliniques et l'examen physique. La principale limitation du CA 15-3 en tant que marqueur du cancer du sein est que les taux sériques sont rarement augmentés chez les patientes atteintes d'une maladie précoce ou localisée [20].

#### ***4. Récepteurs de l'œstrogène et la progestérone***

Les récepteurs aux oestrogènes (RE) et à la progestérone (RP) sont les protéines effectrices de la réponse biologique des hormones stéroïdiennes dans les cellules mammaires. Ce sont des facteurs de transcription, localisés dans le noyau cellulaire. Ils lient, chacun de façon spécifique, une hormone stéroïde et cette liaison leur permet de reconnaître des séquences d'ADN spécifiques au niveau du noyau, puis d'activer la transcription des gènes spécifiques. Les récepteurs hormonaux sont présents dans les cellules des lobules et des galactophores de la glande mammaire normale. Ils sont plus fortement exprimés dans les adénocarcinomes lobulaires et canaux bien différenciés. Ils sont l'un des marqueurs immunohistochimiques pronostiques et prédictifs les plus importants dans le cancer du sein. Les cancers du sein peuvent exprimer divers profils de récepteurs hormonaux : ER(+)/PgR(+), ER(-)/PgR(-), ER(+)/PgR(-) et ER(-)/PgR(+) [21].

#### **5. Examens moléculaires**

L'examen moléculaire se réalise par des méthodes de séquençages pour mettre en évidence des mutations au niveau de l'ADN. La méthode de SANGER est une méthode de séquençage directe par amplification des séquences génomiques sélectionnées, suivie d'une amplification par PCR (polymerase chain reaction) [22]. Cette méthode est dite traditionnelle qui nécessite un long temps et un coût élevé [23]. La détection des mutations au niveau d'une séquence peut se faire par la technique de pyroséquençage. Elle repose sur la détection des variations qualitatives présentes dans une séquence par rapport à une séquence de référence [24].

La NGS (next generation sequencing) est utile dans la recherche du cancer solide, détecte les mutations ponctuelles du BRCA1 et BRCA2 dans un temps court, rapide plus sensible et précise. La recherche du cancer la NGS utilise trois aspects :

- L'analyse de la séquence d'ADN du génome, le séquençage du génome entier, de l'exon et le séquençage du gène ciblant
- Le séquençage de groupe de transcription d'ARN soit par l'analyse du transcriptome entier, le séquençage des petits ARN ou l'analyse d'ARN non codant.

- Séquençage épigénétique par le séquençage d'immunoprécipitation de la chromatine ou le séquençage d'analyse de méthylation pour détecter l'état d'activation du gène [25].

#### **IV. Epidémiologie analytique**

Le cancer du sein est une maladie complexe, car une grande majorité des cancers du sein se développent de façon sporadique (75%), et elle est sans aucun doute due à de multiples étiologies inconnues. Cela contraste avec la forme la moins courante le cancer du sein héréditaire (5 à 10%), qui est attribuée à des anomalies monogéniques [26].

Il existe de nombreux facteurs de risque qui ont été établis par de nombreuses études expérimentales, épidémiologiques et cliniques, notamment :

#### **A. Facteurs reproductifs et hormonaux**

##### **1. Facteurs reproductifs**

La plupart des cancers du sein sont liés aux hormones féminines, et donc tout facteur qui augmente l'exposition à ces hormones est un facteur de risque. En particulier, les facteurs de reproduction associés à une exposition accrue aux œstrogènes endogènes produits par les ovaires, tels que [27]:

- Âge précoce des premières menstruations
- Ménopause tardive
- Faible parité
- Âge tardif à la première grossesse

##### **2. Facteurs hormonaux**

Les femmes exposées aux hormones exogènes, courent souvent un risque accru. On distingue [28]:

- Les contraceptifs oraux
- L'hormonothérapie substitutive (THS) ; implique l'administration d'œstrogène exogène ou d'autres hormones pour les femmes ménopausées ou post-ménopausées.

#### **B. Facteurs environnementaux**

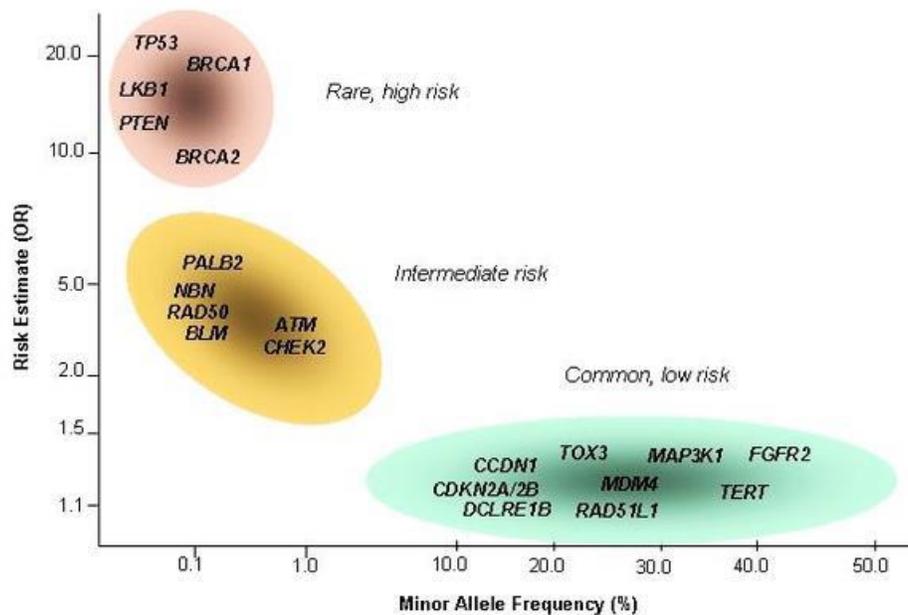
Les facteurs environnementaux, incluent les facteurs liés au mode de vie et les facteurs de l'environnement à proprement parler [29] :

- ❖ Surpoids ou l'obésité (chez les femmes ménopausées)
- ❖ Manque d'activités physiques
- ❖ Certains types de régime alimentaire
- ❖ Tabagisme et Alcoolisme
- ❖ Les radiations ionisantes

### **C. Facteurs Génétiques**

Il est estimé que 5 à 10 % des KS s'inscrivent dans un contexte de prédispositions génétiques héréditaires. La prévalence de ces prédispositions est très faible dans la population générale et elles se transmettent pour la plupart selon un mode autosomique dominant [26].

Les progrès technologiques de ces dernières années ont permis de détecter les facteurs de risque génétiques grâce au dépistage à haut débit de grandes séries cas-témoins de cancer du sein. Des allèles à pénétrance élevée et intermédiaire ont été identifiés dans plus de 20 gènes impliqués dans la signalisation et la réparation des dommages à l'ADN, et plus de 70 loci à faible pénétrance ont été découverts grâce à de récentes études d'association à l'échelle génomique (figure 3). En plus de la mutation classique de la lignée germinale et du polymorphisme mononucléotidique, la variation du nombre de copies et le mosaïsme somatique ont été proposés comme mécanismes de prédisposition potentiels [30].



**Figure 3 : Gènes et loci de prédisposition au cancer du sein [31].**

Les gènes de prédisposition au cancer du sein peuvent être regroupés en trois grandes catégories [26] :

**Les gènes à faible pénétrance** : dont les allèles à risque sont relativement fréquents dans la population générale (5 à 50 %) ; ils induisent un risque relatif faiblement augmenté (plus de 2) ; ces gènes, associés à des facteurs environnementaux, seraient possiblement impliqués dans les agrégations familiales de cancer du sein [32].

**Les gènes à pénétrance modérée** : Les gènes de susceptibilité au cancer du sein de pénétrance modérée, y compris CHEK2, ATM, NBN, RAD50, BLM et PALB2, sont associés à une augmentation de 2 à 4 fois du risque et se produisent plus fréquemment dans le cancer du sein. Ils sont associés à des risques de cancer du sein modérés, soit un risque relatif de deux à quatre fois par rapport à la population générale et La prévalence de leurs allèles à risque dans la population générale est relativement faible [32].

**Les gènes à pénétrance élevée** : leurs allèles à risque ont une fréquence très faible (inférieure à 0,1 %) dans la population générale ; ils confèrent des risques relatifs de cancer mammaire très élevés (supérieurs ou égaux à 5) ; leur mode de transmission est habituellement autosomique

dominant. Les gènes BRCA1 et BRCA2 appartiennent à cette catégorie, Leurs altérations sont associées à un risque cumulé à l'âge de 70 ans de développer un KS de l'ordre de 80% pour BRCA1 et 60 % pour BRCA2. [32].

## V. Etude des gènes BRCA1 et BRCA2

### 1. Gène BRCA

Le gène BRCA1 est situé sur le chromosome 17q21 et le gène BRCA2 est situé sur le chromosome 13q12. Bien qu'il existe une certaine similitude entre les structures d'exons de *BRCA1* et *BRCA2*, il n'y a pas d'homologie de séquence significative entre elles [33]. Ces deux gènes appartiennent au groupe des gènes suppresseurs de tumeur [26].

#### 1.1. Protéine BRCA1

BRCA1 est une protéine de 1 863 acides aminés composée de 24 exons. Il se compose de plusieurs domaines essentiels à ses multiples fonctions (Figure 4). Les exons 11-13 contiennent un grand pourcentage des mutations cliniquement pertinentes et très importants pour la fonction suppresseur de tumeur de BRCA1. Cette région médiane de BRCA1 est connue pour interagir avec plusieurs protéines impliquées dans un large éventail de voies cellulaires telles que la transcription, la réparation de l'ADN et la progression du cycle cellulaire et les partenaires d'interaction comprennent la protéine du rétinoblastome (Rb), c-Myc, RAD50 et RAD51 [34].

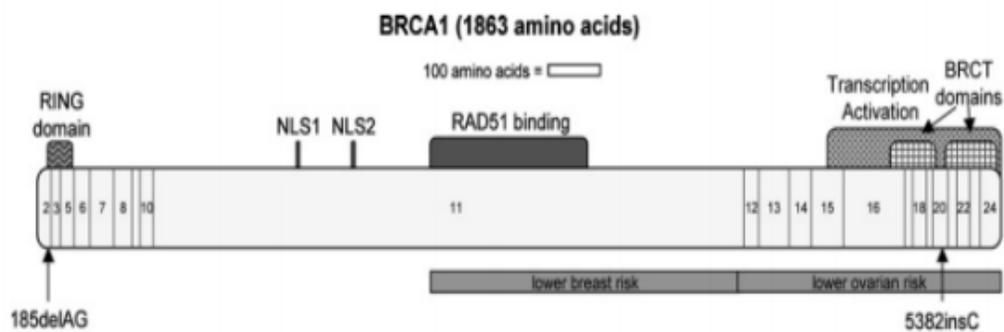


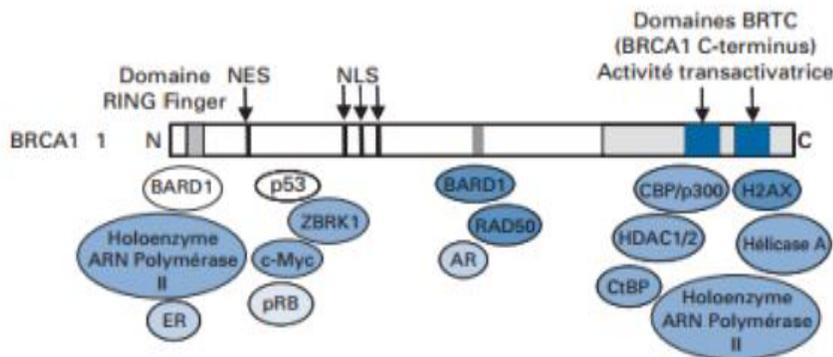
Figure 4 : Le gène BRCA1 montrant les exons [35].

### 1.1.1. Domaines fonctionnels de BRCA1

Dans la région N-terminale, il porte le domaine doigt de liaison au zinc RING (Really Interesting New Gene) qui est essentiel pour l'interaction de BRCA1 et BARD1 (BRCA1 Associated RING Domain protein 1) et la formation du complexe E3 ubiquitine ligase (Figure 5) . L'activité ubiquitine ligase de BRCA1 est considérablement augmentée par la formation de l'hétérodimère BRCA1/BARD1 [34].

Au niveau de l'extrémité C, deux domaines BRCT de liaison aux phosphopeptides (BRCA1 C-terminal) médient l'interaction de BRCA1 avec des protéines partenaires clés telles que CtIP (protéine d'interaction C-terminal binding protein 1 (CtBP1)), BRCA1 A Complex Subunit (ABRAXAS) , et BRCA1 interagissant avec la protéine C-terminale hélicase 1 ( *BRIP1* / FACJ) [34].

La partie centrale de BRCA1 est codée par les exons 11-13 et les mutations dans ces régions sont fréquemment détectées chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Ces parties se composent de deux signaux de localisation nucléaire (NLS) et d'un domaine de bobine enroulé qui est important pour l'interaction avec BRCA2 via le partenaire et le localisateur de BRCA2 (PALB2) [34].



**Figure 5 : Les principaux domaines fonctionnels de BRCA1 [36]**

*Le complexe BRCA1/RAD50 joue un rôle central dans la réparation des cassures double brin de l'ADN par recombinaison homologue. Une mutation d'un site de liaison à RAD50 de BRCA2 pourrait moduler la capacité de réparation de l'ADN par recombinaison et ainsi entraîner un risque accru de cancer*

## 1.2. Protéine BRCA2

Le gène BRCA2 est une grande protéine de 3418 acides aminés. Il contient 27 exons avec huit séquence répétée interne appelé motif BRC, qui considéré comme le principal domaine d'interagir avec RAD51 et couvre environ 84,2 kb d'ADN génomique [35].

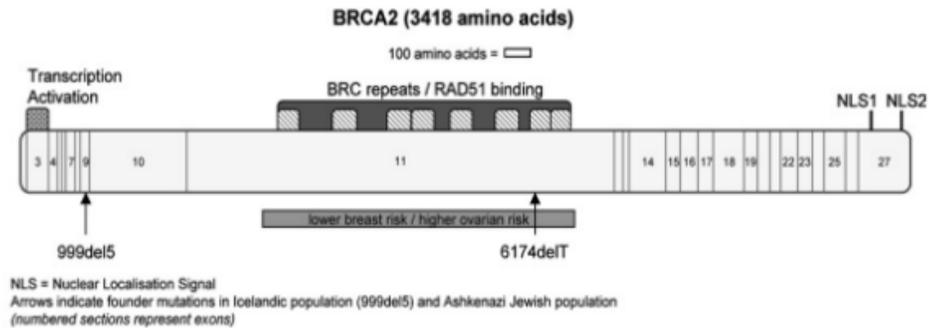


Figure 6 : Le gène BRCA2, montrant les exons [35]

### 1.2.1. Domaines fonctionnels de BRCA2

À l'extrémité N-terminale, BRCA2 contient un domaine d'activation transcriptionnelle (TAD). La partie médiane est codée par l'exon 11 et contient huit motifs conservés appelés répétitions BRC qui se lient à RAD51 (Figure 7).

Un domaine de liaison à l'ADN est situé à l'extrémité carboxyle de la protéine BRCA2 et il est composé d'un domaine hélicoïdal conservé, de trois plis de liaison aux oligonucléotides (OB) et d'un domaine tour (T), qui facilite la liaison de BRCA2 à l'ADN double brin (ADNdb) et ADN simple brin (ADNsb).

L'extrémité C de BRCA2 contient deux domaines NLS et un domaine TR2 [34].

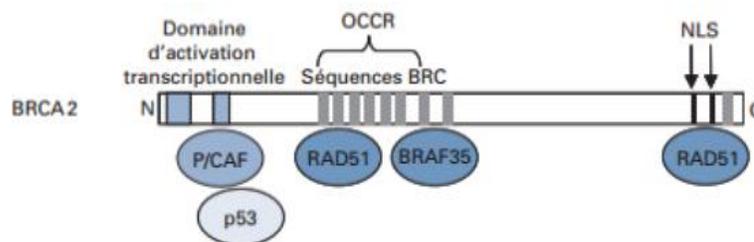
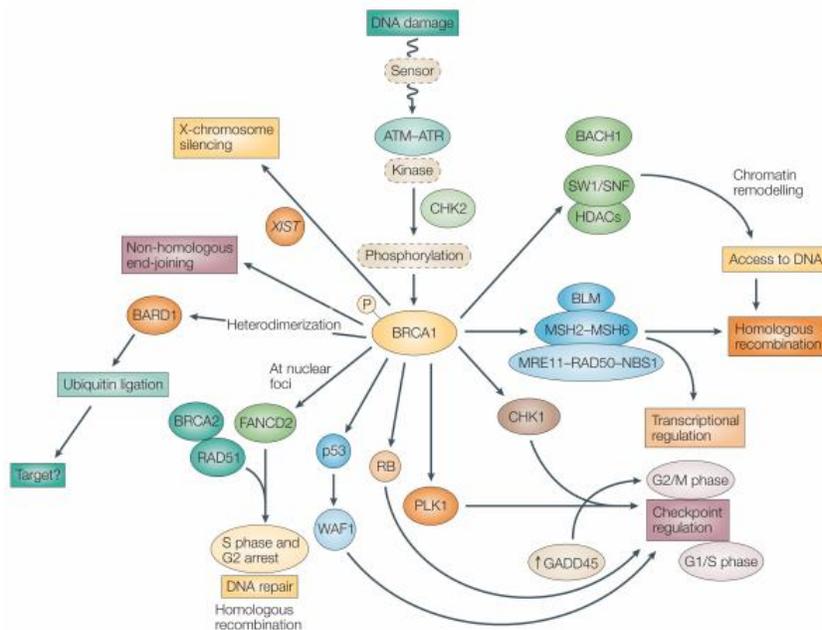


Figure 7: Les principaux domaines fonctionnels de BRCA2 [36]

## 2. Fonctions des protéines BRCA1 et BRCA2

La protéine BRCA1 a de multiples fonctions dans différents processus cellulaires, notamment la réparation de l'ADN, l'activation transcriptionnelle, la régulation du cycle cellulaire et le remodelage de la chromatine.

BRCA2 joue un rôle dans la régulation transcriptionnelle et du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et la stabilisation de la fourche de réplication (Figure 8) [38].



**Figure 8 : Fonctions de la protéine BRCA1 [37]**

BRCA1 est un composant important des voies qui régulent la réparation de l'ADN, la progression du cycle cellulaire, l'ubiquitylation et la régulation transcriptionnelle. Les dommages à l'ADN (indiqués en haut de la figure) sont considérés comme l'un des principaux déclencheurs de l'activation de BRCA1. Plusieurs capteurs de dommages, dont l'ataxie télangiectasie mutée (ATM) et d'autres kinases, sont activés en réponse aux dommages de l'ADN. La CHK2 est également activée et empêche la division cellulaire en phosphorylant BRCA1 et p53.

## **2.1. Rôle dans la réparation de l'ADN**

Les protéines BRCA1 et BRCA2 jouent un rôle crucial dans le processus de réparation des cassures double brin (DSB) de l'ADN par la régulation de la recombinaison homologue (HR).

### **2.1.1. La recombinaison homologue**

HR est un mécanisme de réparation de l'ADN utilisant une matrice homologue telle que les chromatides sœurs. Par conséquent, ce processus peut être actif dans les phases S et G2 du cycle cellulaire lorsque les chromatides sœurs sont disponibles pour les RH. Le processus de réparation de l'ADN dirigé par l'homologie comprend quelques étapes telles que la pré-synapsie, la synapsie et la post-synapsie [39].

Dans la première étape, le complexe Mre11-RAD50-Nbs1 (MRN) et son partenaire d'interaction protéine d'interaction C-terminal binding protein (CtIP) avec activité nucléase effectuent la résection des extrémités DSB pour générer une queue d'ADN 3' - simple brin (ss) protégé de la dégradation par la protéine de réplication A (RPA). Ensuite, dépendant des protéines BRCA1 et BRCA2, le filament RAD51-ssDNA envahit l'ADN duplex homologue qui sert de matrice. Cela génère une structure en boucle D (boucle de déplacement), qui est une structure d'ADN dans laquelle les brins d'un ADN double brin (ds) sont séparés sur un tronçon par un troisième brin d'ADN. Le filament de nucléoprotéine résultant recherche une séquence d'ADN homologue sur le chromatide sœur et envahit le duplex pour former une molécule commune. Finalement, Les structures intermédiaires résultantes de la recombinaison de l'ADN, appelées jonctions Holliday, sont en outre résolues par les différents mécanismes, ce qui entraîne une réparation sans erreur [40].

### **2.1.2. La voie de jonction d'extrémités non homologues**

BRCA1 régule également la voie de réparation des extrémités non homologues (NHEJ). NHEJ est l'une des principales voies de réparation de l'ADN lorsque les extrémités de l'ADN cassées sont directement ligaturées sans avoir besoin d'une matrice homologue. [41].

Le NHEJ classique (C) prédomine en G0 et G1 mais peut opérer dans toutes les phases du cycle cellulaire. Il se compose de quelques étapes : la reconnaissance de la rupture, le traitement final et la ligature. Premièrement, les extrémités DSB sont reconnues par l'hétérodimère Ku70/Ku80, qui recrute la protéine kinase dépendante de l'ADN (ADN-PK) et d'autres protéines NHEJ telles que l'ADN polymérase, l'hélicase et la ligase. Ensuite, l'ADN-PK phosphoryle et recrute l'endonucléase

Artémis, qui traite davantage les extrémités DSB. La ligature des extrémités est facilitée par la protéine XRCC4 (protéine de complémentation croisée de réparation aux rayons X 4)/Lig4 [41].

Contrairement au mécanisme C-NHEJ, l'alternative (A)-NHEJ dépend d'autres facteurs tels que le complexe MRN, le CtIP et la poly (ADP-ribose) polymérase-1 (PARP-1) qui joue un rôle dans la détection des lésions de l'ADN et recrutement de la protéine sur les sites de dommages à l'ADN. A-NHEJ fonctionne comme une voie de réparation de secours lorsque C-NHEJ est compromis, et son mécanisme est moins défini que pour C-NHEJ [42].

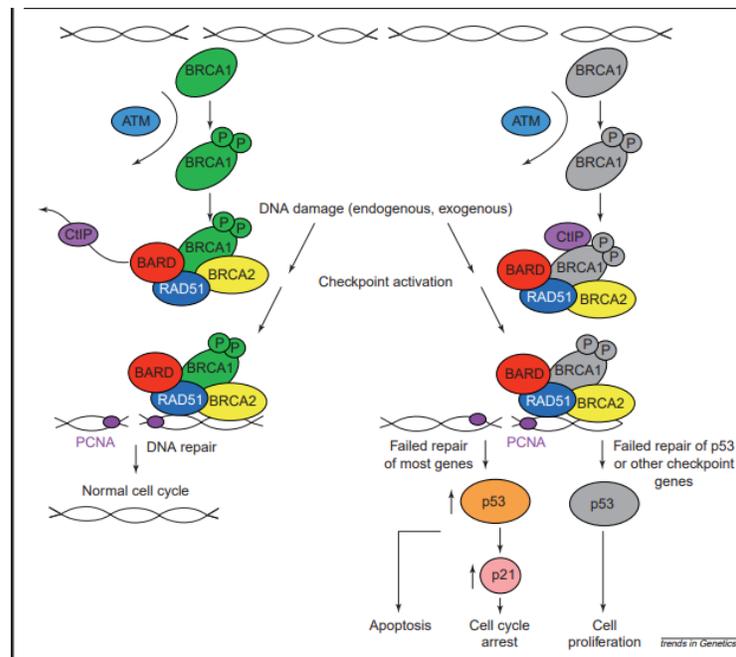
BRCA1 est impliqué dans les voies C-NHEJ et A-NHEJ. L'interaction de BRCA1 avec le facteur C-NHEJ Ku80 stabilise l'hétérodimère Ku sur les sites DSB qui est nécessaire pour une réparation précise des extrémités. En revanche, un nombre croissant de preuves suggère que BRCA1 bloque A-NHEJ par phosphorylation de BRCA1 à S988 par la kinase de point de contrôle 2 (Chk2), mais le mécanisme exact de cette régulation est inconnu [43].

Des études sur *les* gènes *BRCA* ont révélé leur interaction avec des facteurs HR tels que RAD51 un régulateur central de l'échange de brin. Des études récentes ont démontré que BRCA1 favorise la réparation de l'ADN dépendant de HR par déphosphorylation de 53BP1 (p53-binding protein 1) qui entraîne par conséquent le passage de la voie de réparation de NHEJ à HR. L'interaction entre BRCA1, CtIP et le complexe MRN s'est avérée importante pour l'activation de la RH par les mécanismes impliquant la phosphorylation médiée par CDK (cycline-dépendante kinase) de CtIP à Ser327. BRCA1 est important pour le recrutement de BRCA2 sur les sites des DSB d'ADN au cours de la RH, et l'association entre ces deux protéines est médiée par l'interaction avec la protéine PALB2/FANCN (anémie de Fanconi, groupe de complémentation N) [44].

Le rôle de BRCA2 dans la réparation des DSB a également été largement étudié. Il a été démontré que BRCA2 joue un rôle essentiel dans les RH par les mécanismes impliquant le recrutement de RAD51 sur les sites des DSB. La perte de BRCA2 entraîne une instabilité génomique et une tumorigenèse. Cela peut s'expliquer en partie par le rôle de BRCA2 dans la régulation de la localisation intracellulaire et la capacité de liaison à l'ADN de la recombinaison RAD51. Après détection de DSB par le complexe MRN, les événements de phosphorylation et d'ubiquitination des protéines qui en résultent recrutent les protéines BRCA1 et CtIP sur le site de l'ADN DSB. Avec les exonucléases Exo1 et DNA2-BLM (protéine du syndrome de Bloom), ce complexe déclenche la résection terminale de l'ADN et mobilise BRCA2 vers les sites des DSB d'ADN. BRCA2

favorise la RH par le déplacement de la RPA et le recrutement de la recombinaise RAD51 sur les sites d'endommagement de l'ADN. BRCA2 se lie directement à RAD51 via ses répétitions BRC et son domaine TR2 et facilite donc le chargement de RAD51 sur l'ADNsb et une recherche de matrice d'ADN homologue. BRCA2 peut fonctionner comme un complexe avec les paralogues de RAD51 tels que XRCC2 et XRCC3 pour faciliter un assemblage de RAD51 avec ssDNA. [44].

BRCA2 joue un rôle protecteur pour le maintien de la stabilité génomique lors du stress de réplication. Il a été caractérisé comme un régulateur de la fourche de réplication de l'ADN bloquée par le chargement et la stabilisation de RAD51 polymérisé sur l'ADN par liaison à ses répétitions BRC. Dans le même temps, BRCA2 peut empêcher la formation d'aberrations chromosomiques lors du blocage de la réplication par inhibition de la nucléase de MRE11. BRCA2 est également recruté par les complexes 3'-repair exonucléase 2 (TREX-2) pour le traitement des boucles R, les structures formées lors de la transcription et composées d'un hybride ADN-ARN et de l'ADNsb associé [45].



**Figure 9 : Rôles de BRCA1 et BRCA2 dans la réparation de l'ADN [44]**

Ce modèle suggère qu'un complexe macromoléculaire composé de BRCA1, BRCA2, BARD1 et RAD51 fonctionne pour réparer l'ADN endommagé. En réponse aux dommages causés à l'ADN, le complexe se déplace vers les régions chromosomiques en cours de réplication de l'ADN marquées par l'antigène nucléaire des cellules proliférantes (PCNA).

## **2.2. Régulation du cycle cellulaire**

Au cours de la phase S du cycle cellulaire ou du stress génotoxique, BRCA1 phosphorylé se transloquer vers le noyau et régule les processus de réparation endommagés de l'ADN, la réplication de l'ADN, la transactivation des gènes et également l'inactivation du chromosome X. l'expression de BRCA1 reste faible aux phases G0 et G1 ,mais augmente à partir du point de contrôle de la phase G1/S et se maintient tout au long des phases S, G2 et M .BRCA1 subit une hyperphosphorylation pendant la phase S, alors qu'il est déphosphorylé après la phase M [46].

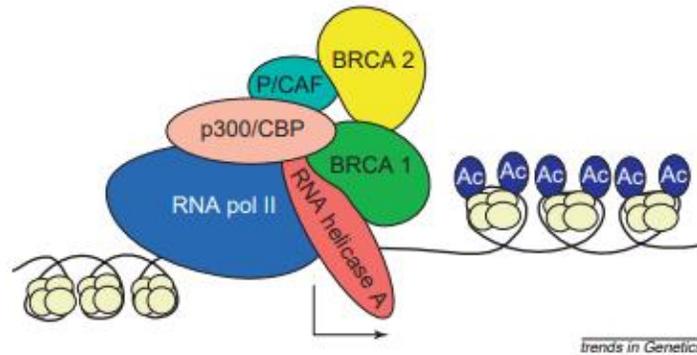
BRCA1 contient un domaine appelé serine cluster domain situé dans les exons 11-13 et cette région contient plusieurs sites de phosphorylation putatifs. Les kinases ATM, ATR et de point de contrôle phosphorylent le BRCA1 lors des dommages à l'ADN et le BRCA1 hyperphosphorylé est rapidement déplacé vers les sites de réplication pour recruter et organiser plusieurs complexes protéiques distincts qui reconnaissent et réparent l'ADN endommagé et activent les points de contrôle du cycle cellulaire [47].

Dans le cytoplasme, BRCA1 régule la division cellulaire mitotique, le réarrangement du cytosquelette, l'apoptose et la réparation du génome mitochondrial.

BRCA2 peut protéger l'intégrité des télomères via le chargement de RAD51 sur les télomères pendant la phase S/G2, ce qui est mis en évidence par l'accumulation de foyers induits par le dysfonctionnement des télomères et le raccourcissement des télomères chez les souris déficientes en Brca2 mais pas en Brca1 [47].

## **2.3. Régulation de la transcription**

BRCA1 est impliquée dans régulation de la transcription via son domaine BRCT qui lui permet de se lier à d'autres facteurs de transcription dont p53. D'autre part, ce même domaine interagit avec l'enzyme RNA POL II (figure 10) comme activateur de la transcription. BRCA1 pourrait activer la transcription en éloignant les complexes d'histone désacétylase des promoteurs, BRCA2 pourrait également activer la transcription en modulant l'acétylation des histones. BRCA2 interagit avec la protéine co-activatrice de la transcription P/CAF (p300/CBP-associated factor), qui possède une activité d'acétylase des histones [44].



**Figure 10 : BRCA1, BRCA2 et la régulation de la transcription [44]**

BRCA1 se co-purifie avec l'holoenzyme ARN Pol II et interagit avec l'ARN hélicase A et les régulateurs de transcription. BRCA2 interagit avec P/CAF, et donc son associé p300/CBP, qui possèdent tous deux une activité histone acétylase. BRCA2 pourrait recruter ces modificateurs d'histones au complexe de transcription. L'acétylation des histones facilite l'accès du complexe de transcription à l'ADN. La désacétylation complémentaire des histones est facilitée par BRCA1.

#### 2.4. Duplication de centrosome

BRCA1 est impliquée dans d'autres processus cellulaires tels que la régulation de la duplication du centrosome lors de la mitose. La duplication des centrosomes est coordonnée avec le cycle cellulaire et n'arrive qu'une fois pendant le cycle cellulaire pour permettre la ségrégation égale des chromosomes lors de la mitose. La dérégulation de cette duplication induit des anomalies malignes dont des tumeurs. La protéine BRCA1 joue un rôle dans le contrôle de la duplication des centrosomes et a été décrite comme interagissant physiquement avec le centrosome. En effet, 30% des cellules avec une délétion de l'exon 11 de BRCA1 possèderaient plusieurs centrosomes. Ceci résulte en une aneuploïdie, c'est à dire un nombre anormal de chromosomes [48].

#### 2.5. Action de l'ubiquitine ligase du BRCA1

BRCA1 existe en tant qu'hétérodimère RING avec BARD1 pour fournir l'activité ubiquitine E3 ligase nécessaire à sa fonction de suppresseur de tumeur. Il a été récemment révélé que le doigt BRCA1 RING est capable de catalyser plusieurs types d'ubiquitination en fonction de l'interaction E2, la protéine porteuse de l'ubiquitine. BRCA1 peut catalyser une ubiquitination distincte sur différents substrats selon la situation, des preuves récentes ont montré que l'ubiquitination est une

étape critique pour recruter BRCA1 sur le site endommagé via UIM (ubiquitine interacting motif) contenant la protéine RAP80. Ainsi, l'ubiquitine et le BRCA1 s'affectent probablement mutuellement de plusieurs manières pour exécuter des fonctions cellulaires [49].

Le système d'ubiquitine se compose de trois enzymes essentielles : une enzyme d'activation de l'ubiquitine (E1), une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine (E2) et une ubiquitine ligase (E3). L'E3 catalyse la formation de chaînes de polyubiquitine (ou parfois de monoubiquitine), en utilisant des ubiquitines qui ont été activées par les enzymes E1 et E2, et les transfère sur des substrats spécifiques via des liaisons isopeptidiques [50].

L'activité ligase E3 de BRCA1 dépend de l'hétérodimérisation avec BARD1 via son domaine N-terminal RING finger et de la formation du complexe ligase BRCA1-BARD1. Une déficience en BRCA1 ou BARD1 dans ce complexe hétérodimère réduit sa stabilité et empêche son activité ubiquitine E3 ligase. BRCA1 est signalé pour catalyser l'ubiquitination d'une pléthore de protéines, y compris les régulateurs du cycle cellulaire cycline B et Cdc25C , récepteur IGF-1 , nucléophosmine/B23 (NPM) , CtIP , polymérase (ARN) II (dirigé par l'ADN) polypeptide H (POLR2H) , facteur de transcription 776 IIE (TFIIE) , histones H2A, H2B, H3, H4 et H2AX , ainsi que -tubuline , récepteur d'œstrogène  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) et BRCA1 lui-même . L'ubiquitination dépendante de BRCA1 régule de manière différentielle la stabilité des protéines cibles. [51].

Le grand nombre de mutations *BRCA1* se produisent dans le domaine N-terminal RING, qui est responsable de l'activité E3 ubiquitine ligase de BRCA1 [52].

## **Partie 2 : MATERIELS ET METHODES**

### **1. Objectif de travail**

Ce travail a pour objectif d'établir le spectre mutationnel et d'identifier les mutations fondatrices et récurrente dans la population marocaine, des gènes BRCA1 et BRCA2 chez les femmes marocaines.

### **2. Recherche et sélection des études**

Nous avons effectué une revue systématique de toute la littérature publiée sur les gènes BRCA1 et BRCA2 chez les femmes Marocaines atteint d'un KS. Les termes de recherche incluaient « cancer du sein », ou « tumeur du sein », ou « adénocarcinome du sein » ou « gènes BRCA », ou « gène BRCA1 », ou « gène BRCA2 », ou « variant pathogène BRCA », ou « mutations BRCA », ou « prévalence BRCA » ou « fréquence BRCA », ou « incidence BRCA ». Nous avons vérifié manuellement les références bibliographiques des études incluses et les revues pertinentes, pour identifier des études supplémentaires. Les bases de données consultées sont : *NCBI*, *PubMed*, *Science Direct* et *Google Scholar* (Figure 1).

### **Critères de sélection**

Les critères de sélection sont précisés ci-dessous :

Critères d'inclusion :

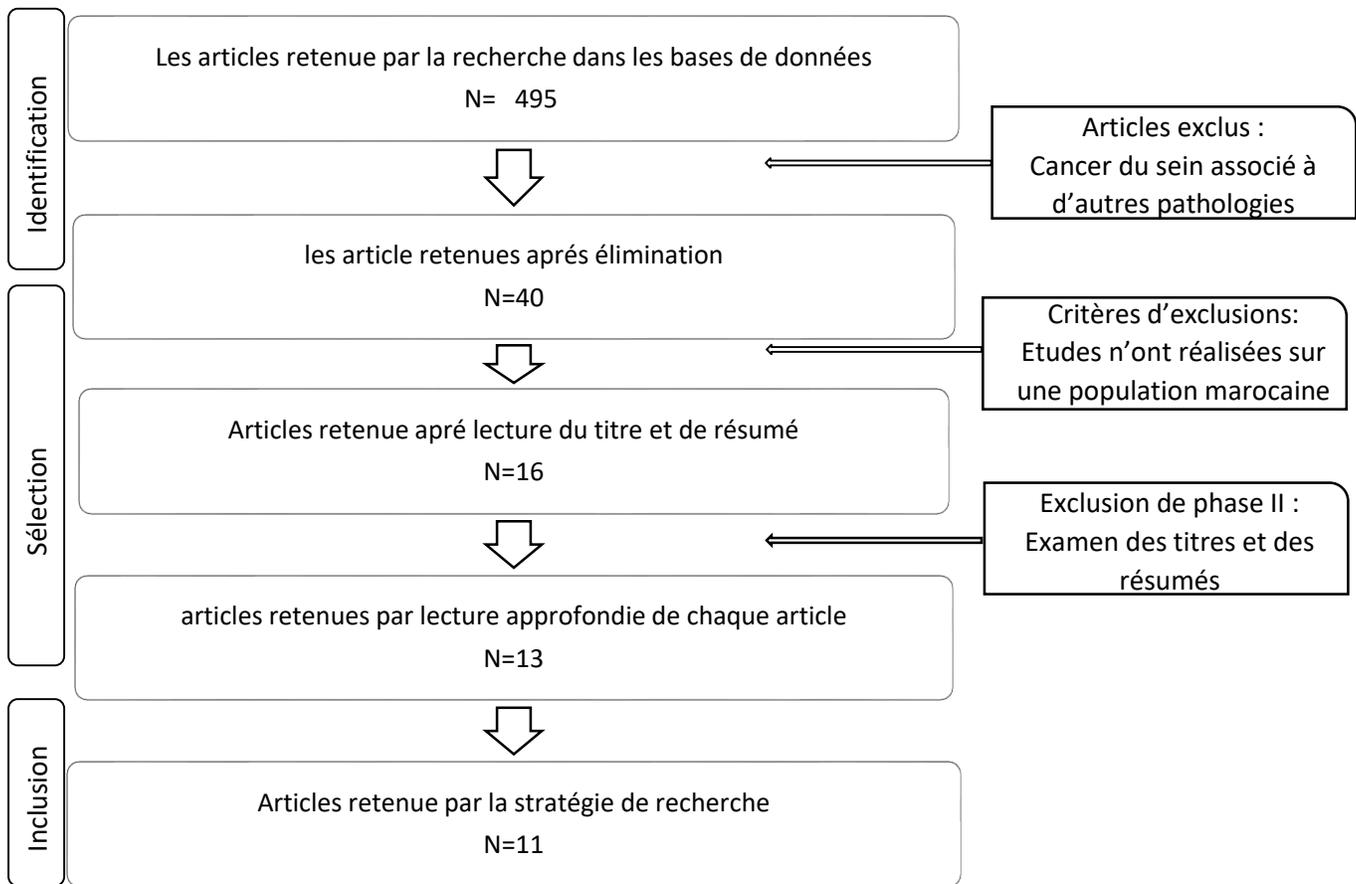
- Des travaux qui traitent les genes BRCA1 et BRCA2 chez les femmes marocaines attentent de KS.

L'étude doit :

- Porter sur le rôle des gènes BRCA1/2 dans le KS chez les femmes marocaines,
- Analyser toutes les régions codantes des gènes BRCA1 et/ou BRCA2, des exons des gènes BRCA1 et/ou BRCA2, ou cibler des mutations spécifiques (c.1310\_1313delAAGA au niveau du BRCA2, exon 11 du BRCA1) ;
- Présenter des informations suffisantes sur les variantes pathogènes et les patientes, ...)

Critères d'exclusion :

- Des revues de la littérature, des revues systématiques ou des méta-analyses ;
- Les études qui ont ciblé des mutations non délétères.



**Figure 11 : Diagramme de flux décrivant les étapes de la sélection des études.**

Ensuite, nous avons extrait les données à l'aide d'un formulaire standardisé afin de recenser des variables telles que l'auteur, l'année de publication, l'âge au moment du diagnostic, la méthode du diagnostic, le type du cancer (KS ou de l'ovaire), sporadique ou familial, type de mutation et sa localisation au niveau du gène, conséquence protéique et caractéristiques histopathologiques etc... (Tableau 1).

Au total, 11 études (incluant 556 patientes) remplissaient l'objectif de notre étude (tableau1). sept études (incluant 231 patientes) ont évalué toutes les régions codantes de BRCA1 et BRCA2 [53-54- 57- 61-62-63-60]. Une étude réalisée sur 121 patientes (6 à caractère héréditaire et 1 à caractère sporadique) évaluait toute la partie codante de BRCA1 [65]. 3 études (incluant 267 patients) examinaient uniquement des exons de BRCA1 et/ou BRCA2 (exon 11, 20 du BRCA1, exon 10 du BRCA2).

De nombreuses méthodes de génotypage des gènes BRCA ont été utilisées pour identifier des mutations au niveau de ces deux gènes, on distingue :

**Séquençage de sanger** : cette technique a été utilisée par la plupart des études marocaine [53-54-55].

**HRM (High Resolution Melt):** Le Principe de la HRM est d'observer la fusion de l'ADN en temps réel en chauffant progressivement un échantillon d'ADN double brin d'intérêt. Pour cela, on utilise des colorants fluorescents intercalant de l'ADN double brin. Ainsi, au fur et à mesure que la température de l'échantillon augmente, les brins se séparent et la fluorescence du colorant diminue, permettant d'établir la courbe de fusion. Cette technique a été utilisée par une seule équipe [56].

**NGS (Next Generation Sequencing) :** La technologie NGS la plus utilisée est la technologie Illumina. Cette technologie utilise l'amplification clonale et le séquençage par synthèse (SBS). Le processus permet d'identifier simultanément les bases d'ADN lorsqu'elles sont incorporées dans la chaîne d'acide nucléique. Chaque base émet un signal de fluorescence unique lorsqu'elle est ajoutée au brin en cours de synthèse, ceci est utilisé pour déterminer la séquence d'ADN [57- 61- 62- 63- 60].

### **3. Analyse statistique des données**

L'analyse statistique des données a été faite à l'aide du logiciel SPSS :

Des analyses descriptives: pour les variables qualitatives, dénombrements des effectifs par classe et calcul des fréquences. Pour les variables quantitatives, calcul des moyennes, écart-types.

Des analyses de lien entre deux variables:

Les variables catégorielles ont été analysées par le test du Chi carré (Chi-2), Les valeurs de  $p < 0,05$  sont considérées comme statistiquement significatives.

## **Partie 3 : Résultats**

### **1. Caractéristiques clinico-pathologiques des cas "de cancer du sein" des différentes études avec des mutations des gènes BRCA1 et 2**

Plusieurs données intéressantes ont été extraites à partir de L'analyse des articles, parmi celles-ci nombre des patientes testées, âge de diagnostic du KS, méthodes de génotypage des gènes *BRCA*, histoire familiale, grade et sous-type moléculaire du KS). Par ailleurs, nous avons réunis toutes les informations concernant les mutations délétères détectées dans les différentes publications sélectionnées (type de mutation, localisation au niveau du gène et conséquence protéique (Tableau 1).

**Tableau 1 : Résumé des différentes études réalisées chez des patientes marocaines présentant un cancer du sein au Maroc :**

Reference	authors	year of publication	number of patients tested	positive cases	mean/median age of the study	Methods	covered gene regi	Patiente ID	age at diagnosis of BRCA carrier	BC/BOC	tumor size	TNM	BRCA1 PVs	BRCA2 PVs	Pathogenic/V US	BIC nomenclatur	localisation in the gene	mutation type	Amino acid change	familial / sporadic	Ethnic origin	SBR	Molecular subtype
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	1	37	BC	8	T3N0M0	c.68_69delIAG		PV	185_186delIAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	familial	NA	III	TPBC
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	2	48	BC	8	T1N0M0	c.68_69delIAG		PV	185_186delIAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	familial	NA	II	TPBC
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	3	55	BC	8	T2N1M0		c.5073dupA	PV	5301_5302insA	11	FS	p.(Trp1692MetfsTer3)	familial	NA	III	TPBC
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	4	48	BC	8	T1N0M0	c.68_69delIAG		PV	185_186delIAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	familial	NA	II	TPBC
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	5	42	OC	8	T2N0M0	c.68_69delIAG		PV	185_186delIAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	familial	NA	I	TPBC
1	Laarabi et al	2017	8	6	NA	direct sequencing	ALL	6	48	BC	1	T1N0M0		c.5073dupA	PV	5301_5302insA	11	FS	p.(Trp1692MetfsTer3)	familial	NA	II	TPBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	7	34	BC	NA	NA	c.181T>G		PV	300T>G	5	MS	p.(Cys61Gly)	familial	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	8	42	BC	NA	NA	c.798_799delIT		PV	916delIT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	9	41	BC	NA	NA	c.2805delA		PV	2924delA	11	FS	p.(Asp936IlefsTer64)	familial	Berber	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	10	32	BC	T3	NA	c.3278delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	Berber	II	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	11	25	BC	NA	NA	c.5062_5064delGTT		PV	5181delGTT	17	FS	p.(Val1688del)	familial	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	12	33	BC	NA	NA		c.517_1G>A	PV	IVS6_1G>A	intron 6	IVS	NA	sporadic	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	13	38	BC	NA	NA		c.3381delIT	PV	3609delIT	11	FS	p.(Phe1127LeufsTer23)	familial	Berber	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	14	38	BC	NA	NA		c.7110delA	PV	7338delA	14	FS	p.(Lys2370AsnfsTer6)	familial	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	15	40	BC	NA	NA		c.7235insG	PV	7463insG	14	FS	STOP2413	familial	Arab	NA	TNBC
2	Tazzite et al	2012	40	10	38	direct sequencing	ALL	16	45	BOC	NA	NA		c.7235insG	PV	7463insG	14	FS	STOP2413	familial	Arab	NA	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	17	44	BC	NA	NA	c.798_799delIT		PV	916delIT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	III	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	18	40	BC	NA	NA	c.798_799delIT		PV	916delIT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	III	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	19	44	BC	T1	NA	c.1016dupA		PV	1129insA	11	FS	p.(Val340GlyfsTer6)	familial	NA	III	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	20	46	BC	T1	NA	c.1016dupA		PV	1129insA	11	FS	p.(Val340GlyfsTer6)	familial	NA	III	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	21	45	BC	NA	NA	c.4942A>T		PV	NA	16	NS	p.(Lys1688Ter)	sporadic	NA	II	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	22	44	BC	NA	NA	c.5095C>T		PV	5214C>T	14	MS	p.(Arg1699Trp)	familial	NA	III	TNBC
3	Laraoui et al	2013	121	7	44	direct sequencing	BRCA1	23	45	BC	NA	NA	c.5095C>T		PV	5214C>T	14	MS	p.(Arg1699Trp)	familial	NA	IV	TNBC
4	Elkhachibi et al	2015	71	2	41	HRM analysis, direct sequencing	BRCA1	24	41	BC	T3	NA	c.3278delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	Berber	II	TNBC
4	Elkhachibi et al	2015	71	2	41	HRM analysis, direct sequencing	BRCA1	25	32	BC	NA	NA	c.2805delA		PV	2924delA	11	FS	p.(Asp936IlefsTer64)	familial	Berber	NA	NA

Reference	authors	year of publication	number of patients tested	positive cases	mean/median age of the study	Methods	covered gene regi	Patient n	age at diagnosis of BRCA carrier	BC	BOC	OC	tumor size	TNM	BRCA1 PVs	BRCA2 PVs	Pathogenic/VUS	BIC nomenclature	localisation in the gene	mutation type	Amino acid change	familial / sporadic	Ethnic origin	SBR	Molecular subtype
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	26	47	BC	NA	NA			c.2125_2126insA		pv	2244insA	11	FS	p.(Phe709Y)rf3Ter3)	familial	Nord-Est	NA	NA
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	27	47	BC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	11	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	familial	Nord-Est	NA	NA
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	28	47	BC	NA	NA			c.3453delT		pv	NA	11	FS	p.Asp1151G)ufs	familial	Nord-Est	NA	NA
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	29	47	BC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	11	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	familial	Nord-Est	NA	NA
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	30	47	BC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	11	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	familial	Nord-Est	NA	NA
5	Jouali et al	2016	15	6	47	NGS	ALL	31	47	BC	NA	NA				c.7234_7235insG	pv	NA	11	NS	p.(Thr2412Ser)fsTer2)	familial	Nord-Est	NA	NA
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	32	30	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	Nador	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	33	31	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	Nador	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	34	NA	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	NA	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	35	57	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	Nador	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	36	38	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	NA	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	37	NA	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	NA	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	38	36	BC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	oudja	III	TNBC
6	Quiles et al	2016	11	8	36,5	Direct sequencing	BRCA1	39	27	OC	NA	NA			c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly1770Val)	familial	Tanger	III	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	40	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	41	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	42	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	43	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	44	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	45	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	46	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	47	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	48	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	49	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	50	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	51	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	tional individual exon-by-exon S	BRCA2	52	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC
7	Laarabi et al	2017	122	14	50	Next generation sequencing	BRCA2	53	50	BOC	NA	NA				c.1310_1313delAAAGA	PV	1529del4	NA	NS	p.(Lys437I)ef3Ter22)	sporadic	nord-est	NA	TNBC

Reference	authors	year of publication	number of patients tested	positive cases	mean/median age of the study	Methods	covered gene region	Patient ID	age at diagnosis of BRCA carrier	BC	BOC	OC	tumor size	TNM	BRCA1 PVs	BRCA2 PVs	Pathogenic/VUS	BIC nomenclature	localisation in the gene	mutation type	Amino acid change	familial / sporadic	Ethnic origin	SBR	Molecular subtype
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	54	42	BC		T2	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	55	42	BC		T2	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	56	42	BC		T2	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	57	42	BC		T3	NA		c.3279delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	NA	II	TNBC
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	58	42	BC		T3	NA		c.3279delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	NA	II	TNBC
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	59	42	BOC		T3	NA		c.3279delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	NA	II	TNBC
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	60	42	BC		T3	NA		c.3279delC		PV	3398delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	familial	NA	II	TNBC
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	62	42	BC		T4	NA		c.4823C>G		PV	NA	16	NS	p.Ser160Ter	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	63	42	BC		T1	NA		c.1016dupA		PV	1129insA	11	FS	p.(Val340GlyfsTer6)	familial	NA	III	TNBC
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	64	42	BC		T2	NA		c.66_67delAG		PV	185_186delAG	2	FS	p.(Glu239ValfsTer17)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	64	42	OC		T2	NA		c.66_67delAG		PV	185_186delAG	2	FS	p.(Glu239ValfsTer17)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	65	42	OC		T3	NA		c.5158C>T		PV	NA	18	MS	p.Arg1720Trp	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	66	42	OC		T4	NA			c.1302_1305delAAGA	PV	NA	10	FS	p.Lys437fs	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	67	42	BC		T1	NA			c.7110delA	PV	7338delA	14	FS	p.(Lys2370AsnfsTer6)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	68	42	BC		T2	NA			c.3847_3848delGT	PV	4075_4076delGT	11	FS	p.(Val1283LysfsTer2)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	69	42	BC		T3	NA			c.5576_5579delTTAA	PV	5803delA	11	FS	p.(Ile1850LysfsTer3)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	70	42	OC		T4	NA			c.7235_7236insG	PV	7463insG	14	FS	p.(Lys2413Ter)	familial	NA	II	luminal
8	El Ansari et al	2020	64	18	42	NGS	ALL	71	42	OC		T1	NA			c.3860delA	PV	4082delA	11	FS	p.(Asn1287IlefsTer6)	familial	NA	II	luminal
9	Bakkach et al	2020	33	4	35	NGS	ALL	72	28-35	BC		NA	NA		c.2125_2126insA		PV	2244insA	11	FS	p.(Phe709TyrfsTer3)	familial	NA	II	TNBC
9	Bakkach et al	2020	33	4	35	NGS	ALL	73	28-35	BC		NA	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	familial	NA	III	TNBC
9	Bakkach et al	2020	33	4	35	NGS	ALL	74	28-35	BC		NA	NA			c.2896>T	PV	5166>T	3	NS	p.(Glu9Ter)	familial	NA	II	luminal
9	Bakkach et al	2020	33	4	35	NGS	ALL	74	36-40	BC		NA	NA			c.5116_5119delAATA	PV	5344delAATA	11	FS	p.(Asn1706LeufsTer5)	familial	NA	III	luminal
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	51	OC		NA	NA		c.5390C>A		PV	NA	22	NS	p.(Ser1797Ter)	familial	NA	III	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	28	BC		NA	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	sporadic	NA	III	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	31	BC		NA	NA		c.2125_2126insA		PV	2244insA	11	FS	p.(Phe709TyrfsTer3)	familial	NA	II	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	46	BC		NA	NA		c.5309G>T		PV	NA	20	MS	p.(Gly170Val)	sporadic	NA	III	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	48	BC		NA	NA		c.5309G>T		pv	NA	20	MS	p.(Gly170Val)	sporadic	NA	III	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	34	BC		NA	NA		c.1166>A		PV	C39Y	3	MS	p.(Cys39Tyr)	familial	NA	III	TNBC
10	Mansouri et al	2020	32	7	45	NGS	ALL	74	38	BC		NA	NA			c.5116_5119delAATA	PV	5344delAATA	11	FS	p.(Asn1706LeufsTer5)	familial	NA	III	TNBC
11	Jouali et al	2020	39	1	46	NGS	ALL	74	46	BC		>2cm	NA		c.798_799delTT		PV	916delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	sporadic	NA	III	TNBC

## 2. Prévalence des mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 au Maroc (TABLEAU 2)

Les détails des méthodes d'études, les caractéristiques de la population et la prévalence des PV de BRCA ont été extraits et résumés dans le tableau 2.

**TABLEAU 2 : les différentes méthodes d'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2**

Références	Nombre des patients	Cas positifs	Médiane de l'âge	Méthodes	Région du gène
Laarabi et al. (2011)	8	6	NA	Séquençage direct	BRCA1 et BRCA2
Tazzite et al. (2012)	40	10	38	Séquençage direct	BRCA1 et BRCA2
Laraqui et al. (2013)	121	7	44	Séquençage direct	Tout le BRCA1
Elkhachibi et al. (2015)	71	2	41	HRM, Séquençage direct	Exon 11 BRCA1
Jouali et al. (2016)	15	6	47	NGS	BRCA1 et BRCA2
Quiles et al.(2016)	11	8	36,5	Séquençage direct	BRCA1
Laarabi et al. (2011)	122	14	50	Séquençage direct	BRCA1 et BRCA2
El Ansari et al. (2020)	64	18	42	NGS	BRCA1 et BRCA2
Bakkach et al.(2020)	33	4	35	NGS	BRCA1 et BRCA2
Mansouri et al (2020)	32	7	45	NGS	BRCA1 et BRCA2
Jouali et al.(2020)	39	1	46	NGS	BRCA1 et BRCA2

### 3. Types de mutations observées dans les différentes études

Deux mutations ont été rapportées par Laarabi et al. La mutation 185delAG (c.68\_69delAG), située au niveau de l'exon 2 du gène BRCA1, a été identifiée dans deux familles non apparentées. La mutation c.5073dupA, située au niveau de l'exon 11 du gène BRCA2 a été détectée dans une seule famille. La découverte de ces deux mutations dans les trois familles non apparentées a permis d'effectuer des tests génétiques des gènes BRCA dans le cadre d'un conseil génétique chez 5 femmes. Les tests génétiques ont identifié la mutation BRCA1 185delAG et la mutation BRCA2-c.5073dupA dans les deux familles d'appartenance [53] (Tableau 3).

L'étude de Tazzite et al. a mis en évidence neuf mutations délétères chez neuf patientes au niveau des gènes BRCA. Cinq mutations au niveau du gène BRCA1 [c.181T>G (300T>G), c.798\_799delTT (917delTT), c.2805delA (2924delA), c.3279delC (3398delC), c.5062\_5064delGTT (5181delGTT)] et quatre mutations au niveau du gène BRCA2 [IVS c.517\_1G>A (IVS6-1G>A), c.3381delT (3609delT), c.7110delA (7338delA), c.7234\_7235insG (7463insG)] [54].

L'analyse du gène BRCA réalisée par Laraoui et al, a montré la présence de trois mutations délétères chez six patientes parmi les 19 cas avec antécédents familiaux positifs et une mutation parmi les 102 cas sporadiques. Les mutations pathogènes comprenaient deux mutations de décalage du cadre de lecture (c.798\_799delTT, c.1016dupA), une mutation faux-sens (c.5095C>T) et une mutation non-sens (c.4942A>T). La mutation c.798\_799delTT (p. Ser267LysfsX19), localisée dans l'exon 11, a été identifiée dans deux cas non apparentés avec des antécédents familiaux de KS et c'est une mutation par décalage du cadre de lecture comprenant deux petites délétions, une délétion de deux bases (TT), qui provoquent un signal protéique tronqué au codon 285. La mutation c.1016dupA (p. Val340LysfsX6) a été détectée dans deux cas non apparentés, exhibant de forts antécédents familiaux suggérant une prédisposition génétique à KS et/ou CO. La c.1016dupA est une mutation de décalage du cadre de lecture due à l'insertion d'un A au niveau de l'acide nucléotidique 1135 du codon 340 dans l'exon 11, qui conduit à un codon stop prématuré dans la position 345 et à une protéine tronquée. La mutation c.5095C>T (p. Arg1699Trp), située dans l'exon 18, a été identifiée dans deux cas non apparentés, tous deux avec de forts antécédents familiaux de cancer. La mutation conduit à un changement non conservateur de l'arginine au tryptophane à la position hautement conservée 1699 dans le domaine BRCT N-terminal

du gène *BRCA1*. La mutation non-sens c.4942A>T (p. Lys1648X), localisée dans l'exon 16, a été trouvée dans un cas d'apparition précoce sans antécédents familiaux de BC et/ou d'OC. La mutation c.4942A>T était une adénine pour la substitution de la thymine sur le nucléotide 4942 et conduisant à un codon stop prématuré en position 1648 [55].

En 2015, El Khachibi et *al.* ont analysé l'exon 11 du gène *BRCA1*, et ont identifié deux types de mutations de décalage de cadre de lecture dans la région H de l'exon 11, chez deux patientes non apparentées avec des antécédents familiaux de KS. Cette équipe a pu valider l'approche HRM pour l'ensemble de la séquence de l'Exon 11 du gène *BRCA1* pour les deux mutations : c.3279delC qui est une mutation de décalage de cadre de lecture résultant d'une délétion d'une cytosine en position 3279 et c.2805delA qui est due à une délétion d'une adénine dans la position 2924 [56].

Quatre mutations *BRCA* ont été identifiées dans 6 familles marocaines : la mutation c.2126insA ; p. Phe709TyrfsX3 dans l'exon 11 de *BRCA1* et la mutation c.7234\_7235insG ; p. Thr2412Serfs dans l'exon 14 de *BRCA2*, une mutation du nucléotide *BRCA1* c.3453delT dans l'exon 11. Ce décalage du cadre de lecture modifie l'acide aminé 151 de l'acide aspartique à l'acide glutamique, ce qui entraîne un codon stop prématuré à l'acide aminé 4. La quatrième mutation est c.1310\_1313delAAGA ; p. Lys437IlefsX22 [57].

En 2016, Quiles et *al.* ont génotypé l'exon 20 du gène *BRCA1* chez 11 patientes qui appartenaient à cinq familles non apparentées d'origine de la région du nord du Maroc. Cette étude avait comme objectif de dépister et d'identifier la mutation faux-sens c.5309G>T (p. Gly1770Val) chez huit patientes (cinq avec un KS, une avec un cancer de l'ovaire, et deux saines) [58].

La mutation de décalage du cadre de lecture c.1310\_1313delAAGA située dans l'exon 10 du gène *BRCA2* a été trouvée chez 14 patients parmi 123 dépistés pour cette variante pathogène. L'enquête généalogique a montré que tous les porteurs partageaient la même origine géographique dans le nord-est du Maroc [59].

Récemment, El Ansari, et *al* ont effectué une analyse moléculaire de *BRCA1/2* ce qui a permis de détecter 6 variants pathogènes de *BRCA1* chez 12 patientes et 6 variants *BRCA2*, Parmi les 18 patients présentant des variants pathogènes dans les gènes *BRCA1/2*, douze avaient un cancer du sein : c.798\_799delTT (p.Ser267fs),c.3279delC (P.TYR1094fs),c.1016dupA(p.Val340fs), 4823C>G(5P.Ser1608Ter)c.7110delA(p.Lys2370fs),c.3847\_3848delGT(p.Val1283fs),c.5576-

5579delTTAA(p.I1859fs),c.66\_67delAG(p.Glu23fs) et cinq avaient un cancer des ovaires :c.7235\_7236insG(p.Lys2413fs),c.3860delA(p.Asn1287fs),c.66\_67delAG(p.Glu23fs),c.5158C>T(p.Arg1720Trp),c.1302\_1305delAAGA(p.Lys437fs) et une avait à la fois un cancer du sein et un cancer de l'ovaire :c.3279delC(P.Tyr1094fs), [61].

Trois mutations ont été trouvées dans le gène BRCA1 et deux dans BRCA2 Sur les trois mutations identifiées sur le gène BRCA1, deux étaient localisées sur l'exon 11 et une sur l'exon 3. Sur les deux mutations BRCA2, une était localisée sur l'exon 11 et l'autre sur l'exon 3. Il s'agit notamment de trois mutations de déphasage : BRCA1 : c. 798\_799del (p.Ser267Lysfs), BRCA1 : c.2125\_2126insA (p.Phe709Tyrfs), BRCA1 : c.5116\_5119delAATA (p.Asn1706Leufs), un BRCA1 faux-sens : c.116G > A (p.Cys39Tyr) et un BRCA2 : mutation nons-c .289G > T (p.Glu97Ter). La mutation BRCA1 : c.116G > A (p.Cys39Tyr) est une substitution de G par A en position 39 à l'exon 3 du gène BRCA1. La mutation BRCA1:c.2125\_2126insA (p.Phe709Tyrfs) est une insertion d'un A qui produit une altération du cadre de lecture et conduit à un codon STOP dans l'exon 10 de BRCA1. La mutation BRCA1 : c.798\_799del (p. Ser267Lysfs) est une délétion de 2 bases T qui conduit à l'arrêt prématuré de la synthèse protéique au niveau du codon 285 de l'exon 10 de BRCA1. La mutation BRCA2 : c.5116\_5119delAATA (p.Asn1706Leufs) est une délétion d'AATA qui produit une altération du cadre de lecture et conduit à un codon STOP dans l'exon 11 de BRCA2. La mutation BRCA2 : c.289G > T (p.Glu97Ter) est une substitution de la base G par T conduisant à un codon STOP prématuré à l'exon 3 du gène BRCA2 [62].

Six variantes pathogènes différentes de *BRCA1* ou *BRCA2* ont été identifiées, y compris des variantes à décalage de cadre, non-sens et faux-sens. Le faux-sens *BRCA1* c.5309G>T, un variant pathogène fondateur dans la population marocaine, a été identifié chez deux patients non apparentés [63].

Les résultats du séquençage *BRCA1* ont révélé la présence d'une mutation BRCA1 c.798\_799delTT (p.Ser267Lys) située dans l'exon 10, aucune autre altération génétique n'a été rapportée chez tous les autres patients séquencés. De plus, aucune corrélation n'a été rapportée entre les données pathologiques cliniques des patients et le statut mutationnel BRCA1.et l'absence des mutations dans les gènes de BRCA2 [60].

**Tableau 3: les mutations délétères BRCA1 et BRCA2 identifiées au Maroc**

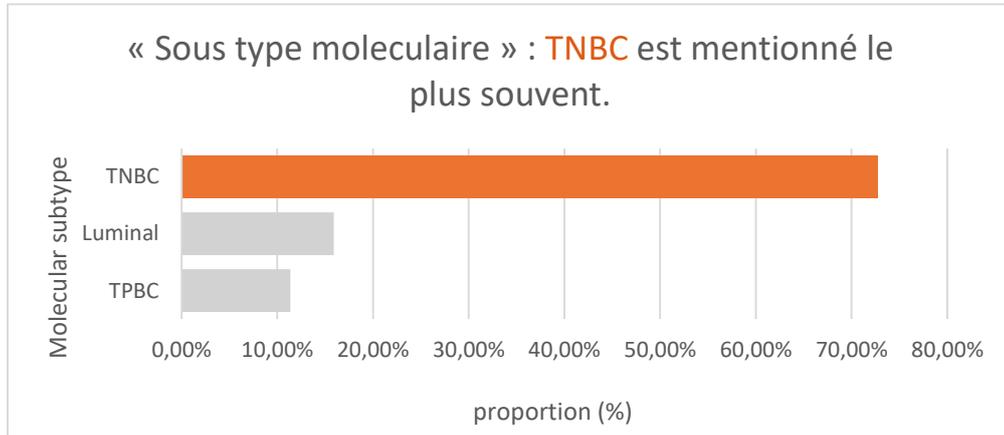
mutation	Exon	Mutation type	Variant		Delétère BRCA1		References
			Protein consequence	Number of cases	Cancer site	Familial/Sporadic	
c.3453delT	11	FS	p.Asp1151Glufs	1	1 BC,	1 familial	Jouali et al. (2016)
c.5309G>T	20	MS	p.(Gly1770Val)	10	9 BC ,1 OC	8 familial , 2 Sporadic	Quiles et al.(2016) , Mansouri et al (2020)
c.1016dupA	11	FS	p.(Val340GlyfsTer6)	3	1 BC, 2 BOC,	3 familial	Laraqui et al. (2013),El Ansari et al. (2020)
c.116G>A	3	MS	p.(Cys39Tyr)	1	1 BC	1 familial	Mansouri et al (2020)
c.181T>G	5	MS	p.(Cys61Gly)	1	1 BC	1 familial	Tazzite et al. (2012)
c.2125_2126insA	11	FS	p.(Phe709TyrfsTer3)	3	3 BC	3 familial	Jouali et al. (2016)/Bakkach et al.(2020)/Mansouri et al (2020)/Jouali et al.(2020)
c.2805delA	11	FS	p.(Asp936IlefsTer64)	2	2 BC	2 familial	Tazzite et al. (2012) /Elkhachibi et al. (2015)
c.3279delC	11	FS	p.(Tyr1094IlefsTer15)	3	3 BC	3 familial	Tazzite et al. (2012) /Elkhachibi et al. (2015)/El Ansari et al. (2020)
c.4823C>G	16	NS	p.Ser1608Ter	1	1 BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.4942A>T	16	NS	p.(Lys1648Ter)	1	1 BC	1 Sporadic	Laraqui et al. (2013)
c.5062_5064delGTT	17	FS	p.(Val1688del)	1	1 BC	1 familial	Tazzite et al. (2012)
c.5095C>T	14	MS	p.(Arg1699Trp)	2	2 BOC	2 familial	Laraqui et al. (2013)
c.5158C>T	18	MS	p.Arg1720Trp	1	1 BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.5390C>A	22	NS	p.(Ser1797Ter)	1	1 OC	1 familial	Mansouri et al (2020)
c.66_67delAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	1	1 BC	1 familial	Mansouri et al (2020)
c.68_69delAG	2	FS	p.(Glu23ValfsTer17)	4	3 BC, 1 OC	4 familial	Laarabi et al. (2011)
c.798_799delTT	11	FS	p.(Ser267LysfsTer19)	7	7 BC	5 familial , 2 Sporadic	Tazzite et al. (2012)/Laraqui et al. (2013) / El Ansari et al. (2020)/Bakkach et al.(2020)/Mansouri et al (2020)/Jouali et al.(2020)

Variant délétère BRCA2							
Mutation	Exon	Mutation type	Protein consequence	Number of cases	Cancer site	Familial/Sporadic	References
c.1302_1305delAAGA	10	FS	p.Lys437fs	1	BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.1310_1313delAAGA	11	NS	p.(Lys437IlefsTer22)	17	BC	3 familial, 14 sporadic	Jouali et al. (2016)/ Laarabi et al. (2017)
c.289G>T	3	NS	p.(Glu97Ter)	1	BC	1 familial	Bakkach et al.(2020)
c.3381delT	11	FS	p.(Phe1127LeufsTer23)	1	BC	1 familial	Tazzite et al. (2012)
c.3847_3848delGT	11	FS	p.(Val1283LysfsTer2)	1	BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.3860delA	11	FS	p.(Asn1287IlefsTer6)	1	BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.5073dupA	11	FS	p.(Trp1692MetfsTer3)	2	BC	2 familial	Laarabi et al. (2017)
c.5116_5119delAATA	11	FS	p.(Asn1706LeufsTer5)	2	BC	2 familial	Bakkach et al.(2020)/Mansouri et al (2020)
c.517_1G>A	Intron 6	IVS	NA	1	BC	1 sporadic	Tazzite et al. (2012)
c.5576_5579delTTAA	11	FS	p.(Ile1859LysfsTer3)	1	BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.7110delA	14	FS	p.(Lys2370AsnfsTer6)	2	BC	2 familial	Tazzite et al. (2012)/ El Ansari et al. (2020)
c.7234_7235insG	11	NS	p.(Thr2412SerfsTer2)	1	BC	1 familial	Jouali et al.(2016)
c.7235_7236insG	14	FS	p.(Lys2413Ter)	1	BC	1 familial	El Ansari et al. (2020)
c.7235insG	14	FS	STOP2413	2	BC	2 familial	Tazzite et al. (2012)

#### 4. Analyse des données

➤ Age au diagnostic, Phénotypes histopathologiques et Histoire familiale :

L'âge du diagnostic allait de 25 à 57 ans, avec une moyenne d'âge de 39.5 ans et une médiane de 40 ans dans la majorité des études. Sur le plan histopathologique, la plupart des porteuses de mutations pathogènes (72.7% ;32/44) ont un KS triple négatif (figure 11).



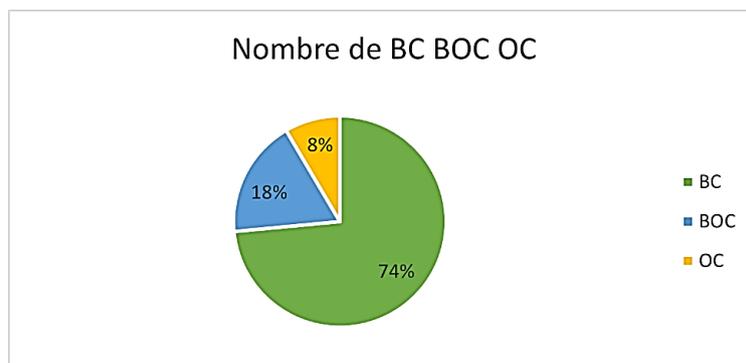
**Figure 12 : Pourcentage des sous-types moléculaire du cancer du sein**

Les patientes identifiées dans les études réalisées ont carcinomes canaux infiltrants de haut grade (grade III) (66.67% et 22/33) et surviennent le plus souvent chez les patientes jeunes (39.6 ans) (39.5%) avec une tumeur de grande taille et un envahissement ganglionnaire au moment diagnostic. Au total, 75% (62/83) des cas ont une histoire familiale du KS et/ou l'ovaire. Les cas sporadiques ont une fréquence de 8.5% (8/83) (tableau 4).

**Tableau 4 : Répartition selon l'antécédent et l'âge de diagnostic**

	Antécédant familiaux	Sans histoire familiale	Moyenne âge de diagnostic
BRCA1	80%	20%	39.6
BRCA2	91.6%	8.33%	41

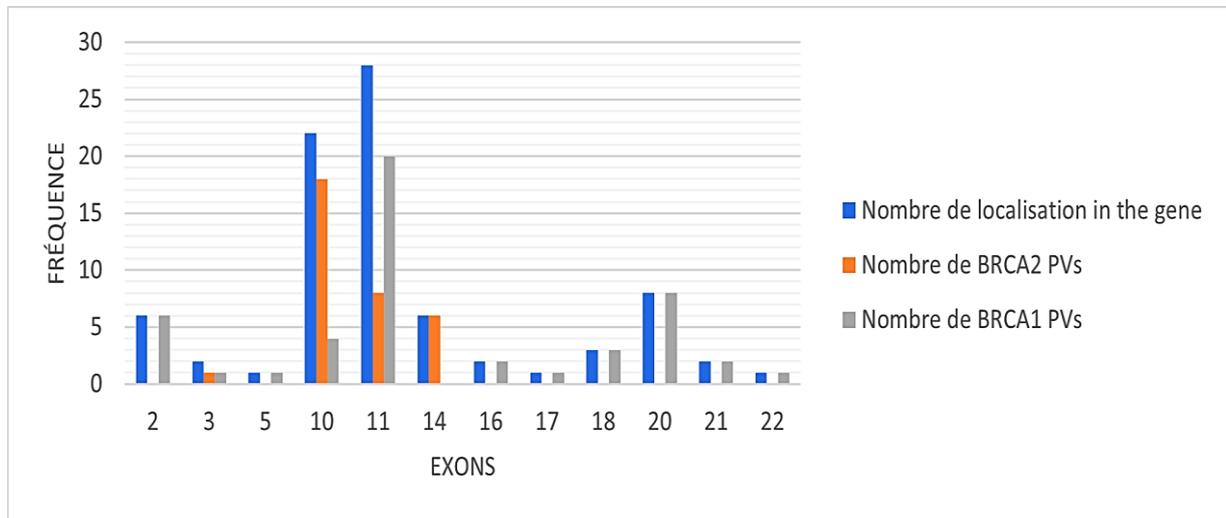
Parmi les 83 cas BRCA-positif identifiés, 74% (61/83) souffraient d'un cancer du sein, tandis que 18% avaient un cancer de l'ovaire, et 8% ayant les deux types de cancer (figure12).



**Figure 13 : Pourcentage des types de cancer observé chez les cas positifs**

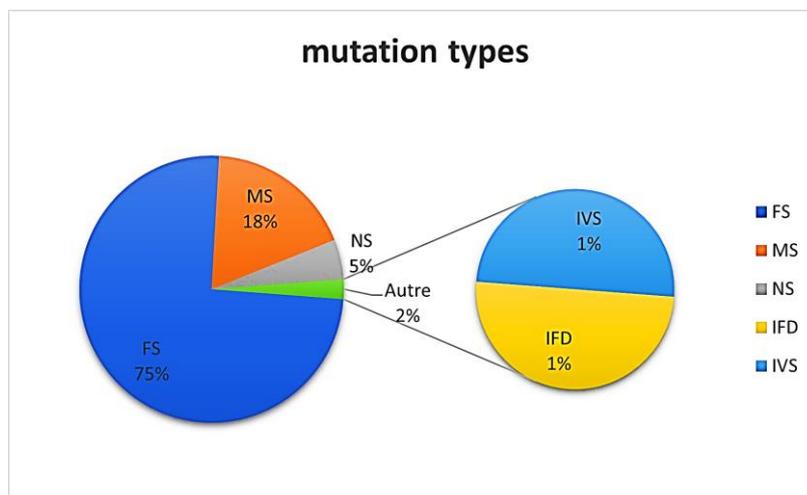
L'analyse des gènes BRCA1 et / ou BRCA2 a identifié 30 mutations pathogènes distinctes chez 83 individus atteints d'un KS et/ou de l'ovaire. 17 mutations ont été identifiées dans le gène BRCA1, et 13 dans le BRCA2 (Tableau 3).

En effet, la majorité de ces mutations sont localisées au niveau de l'exon 11 (5/17 ; 30%) pour le gène BRCA1 et au niveau de l'exon 11 pour le gène BRCA2 (6/13 ; 46%) (Figure 13).



**Figure14 : La fréquence des mutations en fonction de leurs localisations**

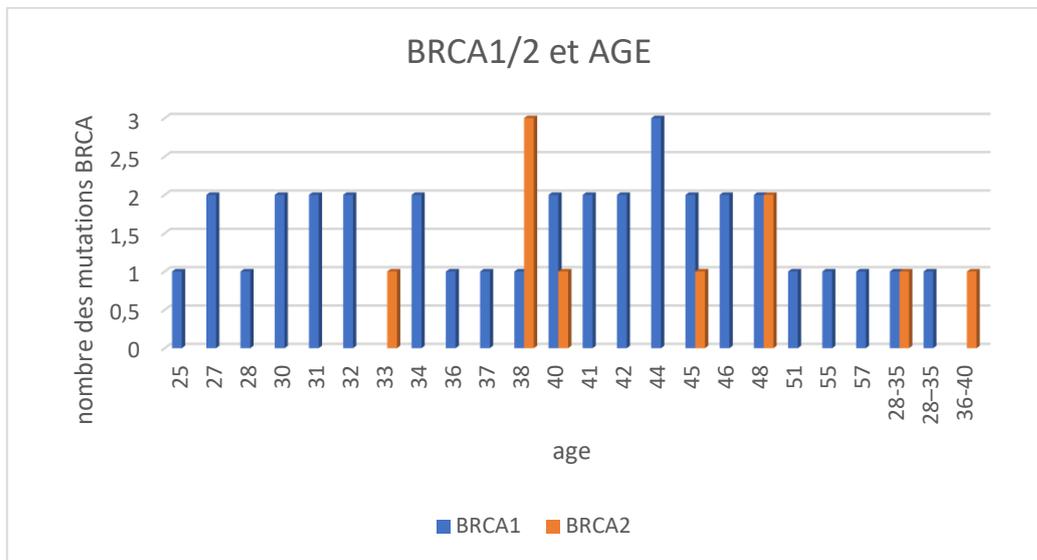
Autres mutations ont été identifiées au niveau des introns. Au total, ces mutations sont de types : décalages de cadre de lecture (75% ; 62/83), faux-sens (18% ; 15/83), non-sens (5% ; 4/83), et IFD « *insertion in fingers domain* » (1% ; 1/83), IVS « *intervening sequence* » (1% ; 1/83) (figure 14).



**Figure 15 : Pourcentage des types des mutations présentes dans les gènes BRCA1/2**

## 5. Analyse de la corrélation entre les différents paramètres

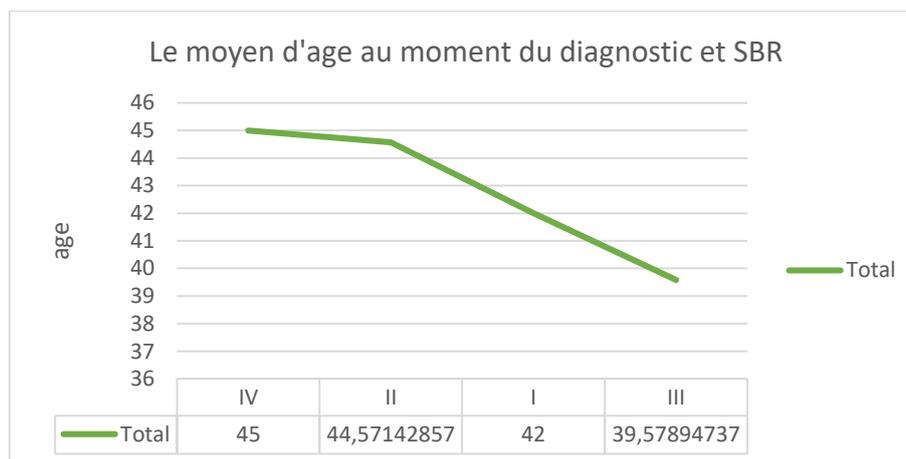
Aucune relation significative n'a été aperçue entre les mutations BRCA et l'âge, les mutations BRCA survient à tout âge du 25 à 57ans (figure 15).



**Figure 16 : Le nombre de mutations en fonction de l'âge**

Une corrélation significative a été observée entre l'âge et le sous-type moléculaire du KS (P-value < 0.01), dont la moyenne d'âge pour le KS triple négative (le plus fréquent) est 40ans, alors que pour le triple positive est de 47ans. Le sous-type Luminal est observé chez des patientes de 28 au 40ans.

La majorité des cas avec un cancer invasive de grade III sont liés à un âge moyen de 39.5ans, tandis que pour les grades I et II, les moyennes sont respectivement 42 et 44.5ans (figure 16) :



**Figure 17: les grades SBR du KS en fonction de l'âge au moment du diagnostic**

## Partie 4 : DISCUSSION

Les gènes BRCA restent les principales causes de survenue du KS et/ ou de l'ovaire, représentant 30% à 70% des familles ayant un KS héréditaire, et approximativement 90% des familles avec un cancer de l'ovaire héréditaire. Les porteurs des variants pathogéniques des gènes BRCA sont associés à un risque élevé de développer un KS et /ou de l'ovaire au cours de leurs vie. La prévalence des variants pathogéniques diffère selon des facteurs tels que la race/ethnique et la région géographique. Cette prévalence montre une fréquence de 17.6% à 29.8% chez la population de race blanche d'Europe et d'Australie, et 9.4% à 21.7% pour les non-blancs d'Asie [65].

Au Maroc, la prévalence des variants pathogéniques varie largement de  $\approx 1\%$  au 36.5% [55 - 61].

Le spectre mutationnel des gènes BRCA diffère entre les populations les groupes raciaux/ethniques, principalement sous l'effet des variants récurrents/fondateurs spécifiques aux populations. Certains ont identifié une seule origine (effet fondateur) pour un variant récurrent ou rare par analyse des haplotypes. Les études de la prévalence des mutations des gènes BRCA, ont suggérées que la fréquence élevée de KS chez certaines populations par rapport aux autres est due à un effet fondateur de ces altérations génétiques, et elles peuvent contribuer à des différences de prévalence entre les populations et les minorités raciales/ethniques [64]

L'identification du spectre mutationnel spécifique de chaque population, représente la première étape vers la mise en place des tests génétiques dans les pratiques courants chez certaines populations et groupes raciaux/ethniques [65].

Les mutations pathogènes comprenaient c.798\_799delTT, c.5309G>T, c.1016dupA, c.5095C>T parmi les cas familiaux et c.4942A> mutations dans les cas sporadiques.

Au Maroc, Un effet fondateur a été rapporté pour la mutation *BRCA1* c.5309G>T et la mutation *BRCA1* c.798\_799delTT. Ces deux mutations ont été identifiées chez 10.8% (9/83) des cas porteurs de la mutation BRCA. La mutation *BRCA1* c.798\_799delTT a été trouvée en premier temps dans la population algérienne (5/26, 19.23%) ([71]; [72].), puis elle a été identifiée en Tunisie (4/54, 7.4%) [71]; et au Maroc (9/49, 18.4%) ([54]; [55]; [60]; [61]; [62]; [63]). Cette mutation de décalage du cadre de lecture est citée deux fois dans la base de données BIC (*Breast Cancer Information Core*), sans aucune origine ethnique indiquée. Le

variant *BRCA1* c.798\_799delTT a été identifié en Espagne [66], dans le sud de l'Italie ([67]; [68]), et en France [69].

Cherbal et al ont remarqué que cette variante a également été détectée dans d'autres familles non apparentées d'Italie et décrite comme variante fondatrice dans le sud et le centre de la Sardaigne, respectivement. Comme les pays méditerranéens partagent une histoire de flux migratoire commune, ils ont conclu que le c.798\_799delTT dans *BRCA1* pourrait être une variante fondatrice méditerranéenne [72].

Les marqueurs microsatellites de locus *BRCA1* ont montré un haplotype commun associé à cette mutation chez tous les porteurs des deux cas algériens. Aucune des mutations fondatrices précédemment observées parmi les populations du Moyen-Orient (iraniennes) ou juives n'a été trouvée.

La mutation c.1016dupA a déjà été décrite comme l'une des quatre mutations fondatrices provenant de la population orientale de la Norvège. Contrairement à d'autres mutations fondatrices norvégiennes, le c.1016dupA a également été signalé dans d'autres groupes ethniques. Dans la base de données BIC, la mutation c.1016dupA est la 12<sup>e</sup> mutation de décalage du cadre de lecture la plus courante dans *BRCA1*. Il a été signalé qu'il était présent dans des populations dans toute l'Europe, notamment en Espagne, en Norvège, aux Pays-Bas, en Autriche et en Italie, ainsi qu'en Amérique latine et en Amérique du Nord ; cependant, les résultats d'allélotypage ont indiqué une origine indépendante de cette mutation. La mutation c.1016dupA est une duplication d'un A dans une série de sept. Cette région poly-A peut ainsi être un point chaud pour les erreurs de réplication.

La mutation c.5095C>T avaient de forts antécédents familiaux de KS et/ou OC. Cette variante a été décrit précédemment dans les familles de KS et il est classé comme cliniquement significative dans la base de données de BIC. La substitution d'acides aminés conduit à un défaut de repliement du domaine BRCT et réduit la stabilité protéolytique de ce domaine qui interagit avec de nombreuses protéines impliquées dans la transcription et la réparation de l'ADN. Les données fonctionnelles et la co-ségrégation suggèrent fortement que la mutation c.5095C>T a un effet délétère et prédispose les porteurs à KS et OC.

Le décalage du cadre de lecture *BRCA1* c.2125\_2126ins, Un variant pathogène a été rapporté dans certaines familles cancéreuses canadiennes-françaises. Il a également été identifié chez des patients algériens et marocains atteints de TNBC. Par ailleurs, *BRCA1* faux-sens c.116G>A correspond à des variants pathogènes très récurrents. Il a été signalé en Slovénie et

a été suggéré comme variante fondatrice slovène. Enfin, la variante pathogène du décalage de cadre *BRCA2* c.5116\_5119del a été décrite comme récurrente en Castille-et-León en Espagne, une région qui partage une histoire de flux migratoire commune avec le nord du Maroc.

Autres variants présentent une prévalence mutationnelle importante en l'occurrence la *BRCA2* c.1310\_1313delAAGA. L'analyse des haplotypes sont encore nécessaires pour confirmer son effet fondateur au Maroc. Selon la base de données BIC, la mutation *BRCA2* c.1310\_1313delAAGA a été rapportée chez différents patients européens, et elle a été citée plusieurs fois dans la base de données française UMD-*BRCA2*, et classifiée autant qu'une mutation fondatrice [70].

Les taux élevés des variants récurrents/fondateurs spécifiques, a conduit à une initiative scientifiquement valable pour offrir des plateformes de génotypage de ces mutations dans un panel de mutation en tant qu'une première barrière de test génétique chez les patientes à haut risque. Cela permet de réduire les coûts des tests génétiques, qui constituent l'obstacle le plus répandue dans les pays en voie de développement. Si on procède à diminuer les coûts, le dépistage va s'étendre et va couvrir un large nombre de femmes, qui vont bénéficier des diagnostics précoces et présymptomatiques. L'évaluation complète du gène *BRCA* est nécessaire uniquement dans le cas d'une histoire familiale solide, et lorsqu'aucun de ces variants fondateurs n'est identifié. Cette approche nécessite une connaissance préalable de la prévalence des variants pathogéniques dans la population d'intérêt [73].

Les trois mutations fondatrices juives (c.66\_67del, c.5266dup dans *BRCA1*, et c.5946del dans *BRCA2*) sont proposées en tant que panel de test de variantes pour les Ashkénazes autodéclarés. Cette approche est beaucoup moins coûteuse que le séquençage complet des gènes. Avec les progrès des technologies de séquençage, tester les femmes pour le panel de variants récurrents/fondateurs spécifiques à la population peut être une avancée précieuse pour les décisions thérapeutiques chez les patientes avec un KS et/ou de l'ovaire. Un panel des variants *BRCA1* et *BRCA2*, comprenant près de 100 mutations récurrentes (HISPANEL), a été construit avec des variants divers de femmes hispaniques des États-Unis avec KS, il est basé sur des informations contenues dans les manuscrits, décrivant les variants du *BRCA* des pays d'Amérique latine et des bases de données [76].

En Pologne, Lukomska et *al.*, ont recommandé que tous les femmes diagnostiquées par un cancer de l'ovaire, et les membres de famille à haut risque, doivent être testés pour un panel de 18 variants fondateurs au niveau du *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* et le *RAD51C*. dans la

population chinoise, Jiang et al., ont signalé qu'en plus des variants fondateurs délétères, les variants pathogènes récurrents doivent être inclus comme des candidats pour le dépistage génétique des locus pour un véritable dépistage génétique de cette population [74].

D'après des études réalisées en Égypte, un dépistage plus large des variants pathogéniques fondateurs (c.68\_69del et c.5266dupC au niveau du BRCA1), au profit des familles à risque élevé. L'emploi de la technique de pyroséquençage peut être une excellente plateforme pour l'analyse des variants pathogènes fondateurs des gènes BRCA [75].

L'identification des variants spécifiques et récurrents/fondateurs, qui pourraient être inclus dans un panel des variants pathogéniques à faible coût, utilisé comme la première approche de dépistage, serait utile pour la population du nord d'Afrique. Le panel des variants pathogéniques peut également englober d'autres variants pathogènes récurrents à l'échelle mondiale, tel que le BRCA1 c.1016dupA qui a été rapporté dans d'autres pays (Italie, Allemagne, France-Canada). Cependant, les résultats d'allélotypage ont indiqué des origines indépendantes de ce variant, ce qui explique son inclusion dans des panels de dépistage ciblés des variants dans n'importe quelle population, quelle que soit son origine ethnique.

L'une des contraintes majeures du séquençage conventionnel de Sanger, est qu'il est coûteux à réaliser et prend du temps ; encore plus pour tester de grands gènes tels que *BRCA1/2*, avec un financement limité et l'absence d'une stratégie de test moléculaire ciblée. La technologie de NGS à haut débit a augmenté la capacité de séquençage et réduit le coût du séquençage, offrant ainsi une alternative puissante au séquençage de Sanger pour les tests génétiques. De plus, le lancement de séquenceurs de paillasse capables de détecter des mutations à partir d'un nombre significativement plus important d'échantillons en parallèle, et de manière plus rentable, a conduit davantage de laboratoires cliniques à adopter cette technologie.

### Conclusion :

Le spectre et la prévalence des VP BRCA varient principalement en raison des variants récurrents/fondateurs spécifiques à la population. Certains d'entre eux ont un effet fondateur de ces variantes récurrentes ou uniques par l'analyse des haplotypes.

Les études de prévalence des variantes du gène BRCA suggèrent que ces altérations génétiques peuvent expliquer une fréquence élevée de mutations BRCA dans certaines populations

L'étude de l'effet fondateur de ces variants peut fournir une analyse complète de l'évolution d'une population et de ses voies de migration.

L'identification des variantes récurrentes/fondatrices est une étape extrêmement importante vers l'amélioration du conseil génétique puisque les tests moléculaires peuvent être ciblés sur la variante récurrentes/fondatrice permettant un test plus rapide et moins coûteux

### Perspectives :

Il serait judicieux de penser à créer une banque de mutations des gènes BRCA et d'autres gènes liés KS spécifique à la population marocaine.

Il serait également intéressant de réaliser un suivi de ces patientes porteuses de mutation constitutionnelles. En effet dans le cas où une mutation délétère, a été identifiée, cela indique que le risque de développer un KS est très élevé. Cependant, la patiente devrait prévenir les membres de sa famille au cas où ils souhaiteraient également connaître leurs statuts génétiques et agir précocement sur le risque de développer un cancer de sein.

L'analyse chez les cas apparentés sera plus rapide et simple à réaliser dans le cadre d'un conseil génétique car il s'agira d'une analyse ciblée sur l'anomalie déjà identifiée.

Par la suite, les patientes porteuses de mutation délétère ou leurs apparentées seront orientées vers un programme de suivi personnalisé qui permet une surveillance de la maladie.

## References

- [1] N. S. El Saghir et al., « Trends in epidemiology and management of breast cancer in developing Arab countries: A literature and registry analysis », *Int. J. Surg.*, vol. 5, no 4, p. 225-233, août 2007, doi: 10.1016/j.ijisu.2006.06.015.
- [2] K. W. Hance, W. F. Anderson, S. S. Devesa, H. A. Young, et P. H. Levine, « Trends in Inflammatory Breast Carcinoma Incidence and Survival: The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program at the National Cancer Institute », *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 97, no 13, p. 966-975, juill. 2005, doi: 10.1093/jnci/dji172.
- [3] Globocan 2020 Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>) consulte le 22/07/2021
- [4] N. C. Turner et al., « BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer », *Oncogene*, vol. 26, no 14, p. 2126-2132, mars 2007, doi: 10.1038/sj.onc.1210014.
- [5] L. Hennighausen et G. W. Robinson, « Signaling Pathways in Mammary Gland Development », *Dev. Cell*, vol. 1, no 4, p. 467-475, oct. 2001, doi: 10.1016/S1534-5807(01)00064-8.
- [6] H. Macias et L. Hinck, « Mammary gland development », *WIREs Dev. Biol.*, vol. 1, no 4, p. 533-557, 2012, doi: 10.1002/wdev.35.
- [7] S. McNally et F. Martin, « Molecular regulators of pubertal mammary gland development », *Ann. Med.*, vol. 43, no 3, p. 212-234, mai 2011, doi: 10.3109/07853890.2011.554425.
- [8] S. Liu et al., « Breast cancer stem cells are regulated by mesenchymal stem cells through cytokine networks », *Cancer Res.*, vol. 71, no 2, p. 614-624, janv. 2011, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0538.
- [9] H. Olsson, « Tumour biology of a breast cancer at least partly reflects the biology of the tissue/epithelial cell of origin at the time of initiation - a hypothesis », *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 74, no 5, p. 345-350, nov. 2000, doi: 10.1016/s0960-0760(00)00111-4.
- [10] C. Moyret-Lalle, R. Pommier, C. Bouard, E. Nouri, G. Richard, et A. Puisieux, « Plasticité des cellules cancéreuses et dissémination métastatique », *Med Sci (Paris)*, vol. 32, no 8-9, Art. no 8-9, août 2016, doi:10.1051/medsci/20163208020.
- [11] Giard S. Carcinome in situ du sein, encyclopédie Médico-Chirurgicale, Gynécologie 865-A-30, 2001 Editions Scientifiques et Médicales Elsevier, 5p

- [12] Colin-Cassin Chri. Activité PPAR $\gamma$ -indépendante des ligands de PPAR $\gamma$  : une piste pour le traitement des cancers du sein, Le 07 novembre 2013, Thèse de Doctorat présentée à l'université de Lorraine. 359 pages
- [13] Portier L. « Etude de l'influence du stroma BRCA1 muté sur les étapes précoces de transformation tumorale dans le modèle du cancer du sein », s. d. Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay Préparée à l'Université Paris-Sud. 200pages
- [14] C. M. Perou et al., « Molecular portraits of human breast tumours », *Nature*, vol. 406, no 6797, p. 747-752, août 2000, doi: 10.1038/35021093.
- [15] Alcántara, David, Manuel Pernia Leal, Irene García-Bocanegra, et Maria L. García-Martín. 2014. « Molecular imaging of breast cancer: present and future directions ». *Frontiers in Chemistry* 2 (décembre). <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00112>.
- [16] K. M. Kelly, J. Dean, W. S. Comulada, et S.-J. Lee, « Breast cancer detection using automated whole breast ultrasound and mammography in radiographically dense breasts », *Eur. Radiol.*, vol. 20, no 3, p. 734-742, mars 2010, doi: 10.1007/s00330-009-1588-y.
- [17] H. M. Heneghan, N. Miller, et M. J. Kerin, « MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer », *Curr. Opin. Pharmacol.*, vol. 10, no 5, p. 543-550, oct. 2010, doi: 10.1016/j.coph.2010.05.010.
- [18] N. Bovy et al., « Endothelial exosomes contribute to the antitumor response during breast cancer neoadjuvant chemotherapy via microRNA transfer », *Oncotarget*, vol. 6, no 12, p. 10253-10266, avr. 2015, doi: 10.18632/oncotarget.3520.
- [19] G. Bertoli, C. Cava, et I. Castiglioni, « MicroRNAs: New Biomarkers for Diagnosis, Prognosis, Therapy Prediction and Therapeutic Tools for Breast Cancer », *Theranostics*, vol. 5, no 10, p. 1122-1143, 2015, doi: 10.7150/thno.11543.
- [20] M. J. Duffy, D. Evoy, et E. W. McDermott, « CA 15-3: uses and limitation as a biomarker for breast cancer », *Clin Chim Acta*, vol. 411, no 23-24, p. 1869-1874, déc. 2010, doi: 10.1016/j.cca.2010.08.039.
- [21] M. Kunc, W. Biernat, et E. Senkus-Konefka, « Estrogen receptor-negative progesterone receptor-positive breast cancer - "Nobody's land" or just an artifact? », *Cancer Treat Rev*, vol. 67, p. 78-87, juin 2018, doi: 10.1016/j.ctrv.2018.05.005.
- [22] Naïbo P. Cancer du sein triple négatif : histoire naturelle et étude des facteurs génétiques impliqués. *Sciences du Vivant [q-bio]*. 2018. ffdumas-02023905, LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MARSEILLE, ffdumas-02023905, 126pages

- [23] Serrati S. et al. "Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis." *OncoTargets and therapy* vol. 9 7355-7365. 2 Dec. 2016, doi:10.2147/OTT.S99807
- [24] Institut National du Cancer, Validation de méthodes pour la recherche de mutations en génétique somatique, DOCUMENT DESTINÉ AUX LABORATOIRES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE POUR ACCOMPAGNER LA DÉMARCHE DE VALIDATION DES TECHNIQUES D'ANALYSE, septembre 2014
- [25] Rong Ma, et al. "Novel applications of next-generation sequencing in breast cancer research." *Genes & diseases* vol. 4,3 149-153. 18 Jul. 2017, doi:10.1016/j.gendis.2017.07.003
- [26] V. Viassolo, A. Ayme, et P. O. Chappuis, « Cancer du sein : risque génétique », *Imag. Femme*, vol. 26, no 2, p. 95-104, juin 2016, doi: 10.1016/j.femme.2016.04.009.
- [27] Dossus L, Benusiglio PR. Lobular breast cancer: incidence and genetic and non-genetic risk factors. *Breast Cancer Res.* 2015 Mar 13;17:37. doi: 10.1186/s13058-015-0546-7. PMID: 25848941; PMCID: PMC4357148
- [28] Sun Y. S. al., « Risk Factors and Preventions of Breast Cancer », *International Journal of Biological Sciences* 13, no 11 (2017): 1387-97, <https://doi.org/10.7150/ijbs.21635>. *Int J Biol Sci.* 2017; 13(11): 1387–1397, Published online 2017 Nov 1
- [29] Clavel-Chapelon F, Fournier A, Berrino F, Unequal risks for breast cancer associated with different hormone replacement therapies: results from the E3N cohort study [published correction appears in *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Jan;107(2):307-8]. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;107(1):103-111. doi:10.1007/s10549-007-9523-x
- [30] Bogdanova N, Helbig S, Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle. *Hered Cancer Clin Pract.* 2013;11(1):12. Published 2013 Sep 11. doi:10.1186/1897-w4287-11-12
- [31] W. D. Foulkes, « Inherited susceptibility to common cancers », *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no 20, p. 2143-2153, nov. 2008, doi: 10.1056/NEJMra0802968.
- [32] F. J. Couch, K. L. Nathanson, et K. Offit, « Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention », *Science*, vol. 343, no 6178, p. 1466-1470, mars 2014, doi: 10.1126/science.1251827.
- [33] R. A. Oldenburg, H. Meijers-Heijboer, C. J. Cornelisse, et P. Devilee, « Genetic susceptibility for breast cancer: how many more genes to be found? », *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 63, no 2, p. 125-149, août 2007, doi: 10.1016/j.critrevonc.2006.12.004.

- [34] C.-X. Deng et F. Scott, « Role of the tumor suppressor gene *Brcal* in genetic stability and mammary gland tumor formation », *Oncogene*, vol. 19, no 8, p. 1059-1064, févr. 2000, doi: 10.1038/sj.onc.1203269.
- [35] D. Thompson et D. Easton, « The genetic epidemiology of breast cancer genes », *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, vol. 9, no 3, p. 221-236, juill. 2004, doi: 10.1023/B:JOMG.0000048770.90334.3b.
- [36] N. Uhrhammer, S. Bornes, et Y.-J. Bignon, « Quelle place tiennent les gènes BRCA1 et BRCA2 dans les risques héréditaires de cancer de l'ovaire? », *Oncologie*, vol. 7, no 7, p. 526-530, nov. 2005, doi: 10.1007/s10269-005-0283-0.
- [37] S. A. Narod et W. D. Foulkes, « BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond », *Nat. Rev. Cancer*, vol. 4, no 9, p. 665-676, sept. 2004, doi: 10.1038/nrc1431.
- [38] Gorodetska, Ielizaveta, Iryna Kozeretska, et Anna Dubrovska. 2019. « BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance ». *Journal of Cancer* 10 (9): 2109-27, doi : 10.7150/jca.30410
- [39] S. C. West, « Molecular views of recombination proteins and their control », *Nat Rev Mol Cell Biol*, vol. 4, no 6, p. 435-445, juin 2003, doi: 10.1038/nrm1127.
- [40] D. C. van Gent, J. H. Hoeijmakers, et R. Kanaar, « Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection », *Nat Rev Genet*, vol. 2, no 3, p. 196-206, mars 2001, doi: 10.1038/35056049.
- [41] Z. Mao, M. Bozzella, A. Seluanov, et V. Gorbunova, « Comparison of nonhomologous end joining and homologous recombination in human cells », *DNA Repair (Amst)*, vol. 7, no 10, p. 1765-1771, oct. 2008, doi: 10.1016/j.dnarep.2008.06.018.
- [42] M. R. Lieber, « The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway », *Annu Rev Biochem*, vol. 79, p. 181-211, 2010, doi: 10.1146/annurev.biochem.052308.093131.
- [43] Zhang, Junran et al. 2004. « Chk2 Phosphorylation of BRCA1 Regulates DNA Double-Strand Break Repair ». *Molecular and Cellular Biology* 24(2): 708-18.
- [44] P. L. Welch, K. N. Owens, et M.-C. King, « Insights into the functions of BRCA1 and BRCA2 », *Trends Genet.*, vol. 16, no 2, p. 69-74, févr. 2000, doi: 10.1016/S0168-9525(99)01930-7.
- [45] V. Bhatia, S. I. Barroso, M. L. García-Rubio, E. Tumini, E. Herrera-Moyano, et A. Aguilera, « BRCA2 prevents R-loop accumulation and associates with TREX-2 mRNA export factor PCID2 », *Nature*, vol. 511, no 7509, p. 362-365, juill. 2014, doi: 10.1038/nature13374.

- [46] A. D. Choudhury, H. Xu, et R. Baer, « Ubiquitination and proteasomal degradation of the BRCA1 tumor suppressor is regulated during cell cycle progression », *J Biol Chem*, vol. 279, no 32, p. 33909-33918, août 2004, doi: 10.1074/jbc.M403646200.
- [47] R. I. Yarden, S. Pardo-Reoyo, M. Sgagias, K. H. Cowan, et L. C. Brody, « BRCA1 regulates the G2/M checkpoint by activating Chk1 kinase upon DNA damage », *Nat Genet*, vol. 30, no 3, p. 285-289, mars 2002, doi: 10.1038/ng837.
- [48] C.-X. Deng, « Roles of BRCA1 in centrosome duplication », *Oncogene*, vol. 21, no 40, p. 6222-6227, sept. 2002, doi: 10.1038/sj.onc.1205713.
- [49] D. L. Mallery, C. J. Vandenberg, et K. Hiom, « Activation of the E3 ligase function of the BRCA1/BARD1 complex by polyubiquitin chains », *EMBO J*, vol. 21, no 24, p. 6755-6762, déc. 2002, doi: 10.1093/emboj/cdf691.
- [50] C. M. Pickart et M. J. Eddins, « Ubiquitin: structures, functions, mechanisms », *Biochim Biophys Acta*, vol. 1695, no 1-3, p. 55-72, nov. 2004, doi: 10.1016/j.bbamcr.2004.09.019.
- [51] W. Wu, A. Koike, T. Takeshita, et T. Ohta, « The ubiquitin E3 ligase activity of BRCA1 and its biological functions », *Cell Div.*, vol. 3, no 1, p. 1, janv. 2008, doi: 10.1186/1747-1028-3-1.
- [52] R. Hashizume et al., « The RING heterodimer BRCA1-BARD1 is a ubiquitin ligase inactivated by a breast cancer-derived mutation », *J Biol Chem*, vol. 276, no 18, p. 14537-14540, mai 2001, doi: 10.1074/jbc.C000881200.
- [53] F. Z. LAARABI et al., « Genetic testing and first presymptomatic diagnosis in Moroccan families at high risk for breast/ovarian cancer », *Oncol Lett*, vol. 2, no 2, p. 389-393, mars 2011, doi: 10.3892/ol.2011.248.
- [54] A. Tazzite et al., « BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Moroccan breast/ovarian cancer families: Novel mutations and unclassified variants », *Gynecologic Oncology*, vol. 125, no 3, p. 687-692, juin 2012, doi: 10.1016/j.ygyno.2012.03.007.
- [55] A. Laraqui et al., « Mutation Screening of the BRCA1 Gene in Early Onset and Familial Breast/Ovarian Cancer in Moroccan Population », *Int. J. Med. Sci.*, vol. 10, no 1, p. 60-67, 2013, doi: 10.7150/ijms.5014.

- [56] M. El Khachibi et al., « Screening of exon 11 of BRCA1 gene using the high resolution melting approach for diagnosis in Moroccan breast cancer patients », *BMC Cancer*, vol. 15, p. 81, févr. 2015, doi: 10.1186/s12885-015-1040-4.
- [57] F. Jouali et al., « First application of next-generation sequencing in Moroccan breast/ovarian cancer families and report of a novel frameshift mutation of the BRCA1 gene », *Oncol Lett*, vol. 12, no 2, p. 1192-1196, août 2016, doi: 10.3892/ol.2016.4739.
- [58] F. Quiles et al., « Identification of a founder BRCA1 mutation in the Moroccan population: Identification of a founder BRCA1 mutation », *Clin Genet*, vol. 90, no 4, p. 361-365, oct. 2016, doi: 10.1111/cge.12747.
- [59] F.-Z. Laarabi et al., « High frequency of the recurrent c.1310\_1313delAAGA BRCA2 mutation in the North-East of Morocco and implication for hereditary breast–ovarian cancer prevention and control », *BMC Res Notes*, vol. 10, no 1, p. 188, déc. 2017, doi: 10.1186/s13104-017-2511-2.
- [60] F. Jouali et al., « EGFR, BRCA1, BRCA2 and TP53 genetic profile in Moroccan triple negative breast cancer cases », *Int J Mol Epidemiol Genet*, vol. 11, no 1, p. 16-25, juin 2020.
- [61] F. Z. El Ansari et al., « Screening of BRCA1/2 genes mutations and copy number variations in patients with high risk for hereditary breast and ovarian cancer syndrome (HBOC) », *BMC Cancer*, vol. 20, no 1, p. 747, déc. 2020, doi: 10.1186/s12885-020-07250-0.
- [62] J. Bakkach et al., « Contribution of BRCA1 and BRCA2 germline mutations to early onset breast cancer: a series from north of Morocco », *BMC Cancer*, vol. 20, no 1, p. 859, sept. 2020, doi: 10.1186/s12885-020-07352-9.
- [63] M. Mansouri et al., « Screening of BRCA1 and BRCA2 germline mutations in unselected triple-negative breast cancer patients: A series from north of Morocco », *Precision Medical Sciences*, vol. 9, no 1, p. 43-48, 2020, doi: 10.1002/prm2.12009.

- [64]. Ferla, R., V. Calò, S. Cascio, G. Rinaldi, G. Badalamenti, I. Carreca, E. Surmacz, G. Colucci, V. Bazan, et A. Russo. « Founder Mutations in BRCA1 and BRCA2 Genes ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology* 18 Suppl 6 (juin 2007): vi93-98.
- [65]. Rashid, Muhammad Usman, Noor Muhammad, Humaira Naeemi, Faiz Ali Khan, Mariam Hassan, Saima Faisal, Sidra Gull, Asim Amin, Asif Loya, et Ute Hamann. « Spectrum and Prevalence of BRCA1/2 Germline Mutations in Pakistani Breast Cancer Patients: Results from a Large Comprehensive Study ». *Hereditary Cancer in Clinical Practice* 17 (2019): 27.
- [66]. John EM, Miron A, Gong G, Phipps AI, Felberg A, Li FP, et al. Prevalence of pathogenic BRCA1 mutation carriers in 5 US racial/ethnic groups. *JAMA*. 2007,298:2869–76.
- [67]. Baudi F, Fabiani F, Leone E. Ten years of BRCA testing in calabrian population. *Ann Oncol*. 2009,20:89–106.
- [68]. Russo A, Calò V, Agnese V, Bruno L, Corsale S, Augello C, et al. BRCA1 genetic testing in 106 breast and ovarian cancer families from Southern Italy (Sicily): a mutation analyses. *Breast Cancer Res Treat*. 2007,105:267–76.
- [69]. Muller D, Bonaiti-Pellié C, Abecassis J, Stoppa-Lyonnet D, Fricker JP. BRCA1 testing in breast and/or ovarian cancer families from northeastern France identifies two common mutations with a founder effect. *Fam Cancer*. 2004,3:15–20.
- [70]. Caputo S, Benboudjema L, Sinilnikova O, Rouleau E, Bérourd C, Lidereau R; French BRCA GGC Consortium. Description and analysis of genetic variants in French hereditary breast and ovarian cancer families recorded in the UMD-BRCA1/BRCA2 databases. *Nucleic Acids Res*. 2012,40:D992-1002.
- [71]. Uhrhammer N, Abdelouahab A, Lafarge L, Feillel V, Ben Dib A, Bignon YJ. BRCA1 mutations in Algerian breast cancer patients: high frequency in young, sporadic cases. *Int J Med Sci*. 2008,8:197–202.
- [72]. Cherbal F, Bakour R, Adane S, Boualga K, Benais-Pont G, Maillet P. BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast/ovarian cancer families. *Dis Markers*. 2010,28:377 – 84.
- [73] Felix GES, Zheng Y, Olopade OI. Mutations in context: implications of BRCA testing in diverse populations. *Fam Cancer*. 2018,17:471–483
- [74]. Jiang Y, Tian T, Yu C, Zhou W, Yang J, Wang Y, et al. Identification of recurrent variants in BRCA1 and BRCA2 across multiple cancers in the Chinese population. *Biomed Res Int*. 2020,15:6739823.

[75]. Gomaa Mogahed SH, Hamed YS, Ibrahim Moursy YE, Mahomoud Saied MH. Analysis of heterozygous BRCA1 5382ins founder mutation in a cohort of Egyptian breast cancer female patients using pyrosequencing technique. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2020,21:431–438.

[76]. Alvarez C, Tapia T, Perez-Moreno E, Gajardo-Meneses P, Ruiz C, Rios M, et al. BRCA1 and BRCA2 founder mutations account for 78% of germline carriers among hereditary breast cancer families in Chile. *Oncotarget.* 2017,8:74233–74243