République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique

Université Abbes Laghrour _Khenchela_

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie moléculaire et cellulaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Filière : **Sciences Biologiques**

Option :Biochimie appliquée

Thème

Étude bio-informatique des oncoprotéines virales E6/E7 du HPV à haut risque

Réalisé par :

Tout Romaissa

Bougherara Dounia

Soutenu publiquement devant le jury :

President :	**Hamza Athmani**	**MCA**	**Univ. Abbes Laghrour – Khenchela**
Examinateur :	**Zakaria Badis**	**MCB**	**Univ. Abbes Laghrour – Khenchela**
Encadrant :	**Massinissa Yahia**	**MCA**	**Univ. Abbes Laghrour – Khenchela**

Année universitaire

2025/2026



Remerciements

Nous remercions avant tous, Dieu « ALLAH » le tout puissant pour la volonté, santé et le courage qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études afin que nous puissions arriver là.

Il ne serait pas possible de nous présenter ce mémoire sans témoigner de nos

profondes gratitudes et nos sincères remerciements à Dr. Massinissa Yahia

pour nous avoir encadré , pour sa gentillesse, ses conseils et ses encouragements.

On tient à remercier fortement Dr Athmani H Qui nous a honorés en acceptant de président le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Dr Badis z, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Un grand merci particulier pour nos chers parents, nos amis Pour leur patience et le bonheur qui nous ont apporté.

A la fin, Nos remerciements nos collègues d'études et particulièrement les

étudiants de notre promotion de 2026



Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu le Tout-Puissant de m'avoir accordé la force, la volonté et la patience nécessaires pour accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire :

À mes chers parents, mon père et ma mère, en témoignage de mon profond amour et de ma gratitude, pour leurs sacrifices constants, leur soutien indéfectible et leurs précieux conseils tout au long de mon parcours universitaire.

À mon cher frère : RAID, pour son soutien et sa présence à mes côtés.

À mes chères sœurs : AMIRA, SANA et AMANI, pour leur affection et leurs encouragements permanents.

À mes chères amies : IKRAM, MANAR, ABIR, DOUNIA, OUMAIMA, ROMAISSA, ASSALA et SADJIDA, en souvenir de nos moments partagés et de leur amitié sincère.

À tous mes enseignants, qui m'ont guidé avec patience, dévouement et professionnalisme.

À tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce travail.

2026

Romaissa



Dédicace

Tout d'abord, je remercie le Dieu, notre créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

je dédie ce travail

*à **ma mère**, la source de tendresse et la lumière qui guide mes routes et qui m'emméne aux chemins de la réussite, pour tous ses sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*À **mon père** que je le remercie énormément pour ses efforts, ses conseils et sa surveillance.*

*À mes chers frère et sœurs:**ISHAK**, **KARAWAN** et **WIAM***

*À mon meilleure amie:**Oumaima** et **romaissa***

*À notre amie:**manar essabil** et **abir***

À tout ce que je connais sans exceptions

A tout mes enseignants sans exception

2026

Dounia

Résumé

Le cancer du col de l'utérus constitue un problème majeur de santé publique, principalement associé à l'infection persistante par les papillomavirus humains à haut risque, notamment les génotypes HPV16 et HPV18. Les oncoprotéines virales E6 et E7 jouent un rôle central dans le processus de cancérisation cervicale. La protéine E6 favorise la dégradation de la protéine suppresseur de tumeur p53, tandis que la protéine E7 inactive la protéine du rétinoblastome Rb, entraînant une dérégulation du cycle cellulaire, une instabilité génomique et une progression vers les lésions précancéreuses de haut grade.

Cette étude vise à analyser, par une approche bio-informatique, les oncoprotéines E6/E7 des HPV à haut risque et à discuter l'impact potentiel de leurs polymorphismes génétiques sur l'agressivité des lésions précancéreuses du col de l'utérus. Le travail repose sur l'exploitation de données cliniques, cytologiques et épidémiologiques, ainsi que sur l'utilisation de bases de données biologiques telles que NCBI, PaVE et UniProt pour identifier les séquences de référence, les domaines fonctionnels et les mutations prioritaires associées aux génotypes HPV16 et HPV18.

Les résultats montrent que certains polymorphismes des protéines E6 et E7 peuvent modifier leur interaction avec les protéines cellulaires clés, notamment p53 et Rb, et pourraient ainsi influencer la persistance virale, la progression des lésions et le risque oncogène. Cependant, l'effectif limité de la cohorte et l'absence de données moléculaires complètes imposent une interprétation prudente. Cette étude souligne l'intérêt d'intégrer le génotypage HPV, le séquençage des gènes E6/E7 et l'analyse bio-informatique dans l'évaluation du risque des lésions cervicales.

Mots-clés : HPV à haut risque, E6, E7, HPV16, HPV18, cancer du col de l'utérus, polymorphisme génétique, lésions précancéreuses, bio-informatique, p53, Rb.

Abstract

Cervical cancer is a major public health issue mainly associated with persistent infection by high-risk human papillomaviruses, particularly HPV16 and HPV18 genotypes. The viral oncoproteins E6 and E7 play a key role in cervical carcinogenesis. E6 promotes the degradation of the tumor suppressor protein p53, while E7 inactivates the retinoblastoma protein Rb, leading to cell-cycle deregulation, genomic instability, and progression toward high-grade precancerous lesions.

This study aimed to analyze, using a bioinformatics approach, the E6/E7 oncoproteins of high-risk HPV and to discuss the potential impact of their genetic polymorphisms on the aggressiveness of cervical precancerous lesions. The work was based on clinical, cytological, and epidemiological data, combined with biological databases such as NCBI, PaVE, and UniProt to identify reference sequences, functional domains, and priority mutations associated with HPV16 and HPV18 genotypes.

The results suggest that some E6 and E7 polymorphisms may alter their interaction with key cellular proteins, especially p53 and Rb, and may therefore influence viral persistence, lesion progression, and oncogenic risk. However, the small cohort size and the lack of complete molecular data require cautious interpretation. This study highlights the importance of integrating HPV genotyping, E6/E7 gene sequencing, and bioinformatics analysis into the assessment of cervical lesion risk.

Keywords: high-risk HPV, E6, E7, HPV16, HPV18, cervical cancer, genetic polymorphism, precancerous lesions, bioinformatics, p53, Rb.

ملخص

يُعد سرطان عنق الرحم من أهم مشكلات الصحة العمومية، ويرتبط أساسًا بالعدوى المستمرة بفيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة، خاصة النمطين الجينيين HPV16 و HPV18. تلعب البروتينات الورمية الفيروسية E6 و E7 دورًا رئيسيًا في آلية التسرطن على مستوى عنق الرحم؛ إذ يعمل البروتين E6 على تحفيز تدهور البروتين الكابح للورم p53 ، بينما يؤدي البروتين E7 إلى تعطيل بروتين الورم الأرومي الشبكي Rb ، مما يسبب اضطراب دورة الخلية، وعدم استقرار الجينوم، وتطور الآفات السابقة للسرطان نحو درجات أكثر خطورة.

تهدف هذه الدراسة إلى تحليل البروتينات الورمية E6/E7 لفيروسات HPV عالية الخطورة باستعمال مقاربة بيو-معلوماتية، ومناقشة التأثير المحتمل للتعددات الشكلية الجينية لهذه البروتينات على شدة الآفات السابقة لسرطان عنق الرحم. اعتمد العمل على معطيات سريرية وخلوية ووبائية، إضافة إلى استعمال قواعد بيانات بيولوجية مثل NCBI و PaVE و UniProt من أجل تحديد التسلسلات المرجعية، والمجالات الوظيفية، والطفرات ذات الأولوية المرتبطة بالنمطين HPV16 و HPV18.

تشير النتائج إلى أن بعض التغيرات الجينية في البروتينين E6 و E7 قد تؤثر في تفاعلهما مع البروتينات الخلوية المهمة، خاصة p53 و Rb، وبالتالي قد تساهم في استمرار العدوى الفيروسية، وتطور الآفات، وزيادة الخطر السرطاني. ومع ذلك، فإن صغر حجم العينة ونقص المعطيات الجزيئية الكاملة يفرضان تفسير النتائج بحذر. تبرز هذه الدراسة أهمية دمج التنميط الجيني لفيروس HPV ، وتسلسل جيني E6/E7 ، والتحليل البيو-معلوماتي في تقييم خطورة آفات عنق الرحم.

الكلمات المفتاحية : فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة، E6، E7، HPV16، HPV18، سرطان عنق الرحم، التعدد الشكلي الجيني، الآفات السابقة للسرطان، البيو-معلوماتية، p53، Rb.

Table des matières

Introduction générale 1
1. Physiologie l'utérus 4
1.1 Anatomie 4
Zone de jonction 6
1.2. Histologie 6
A. Epithélium pavimenteux stratifié non kératinisé 6
B. Jonction exo-endocervical (zone de transformation) 7
C. Epithélium cylindrique endocervical 8
1.3. Modification de l'histologie du col de l'utérus au cours de la vie génitale 8
2. Définition et histoire du cancer du col de l'utérus 8
2.1. Définition du cancer de col de l'utérus 8
2.2. Histoire de cancer de col de l'utérus 9
3. Epidémiologie 10
3.1 Epidémiologie du cancer du col de l'utérus dans le monde 10
3.2 Epidémiologie du cancer du col de l'utérus en Afrique 11
4. Les cofacteurs 12
5. Les symptômes du cancer du col de l'utérus 13
6. Histoire naturelle : de l'infection HPV au carcinome invasif 14
7 . caractéristiques spécifiques 15
7.1. Structure 15
A. La capside 15
B. Génome 16
7.2. Classification 18
A. Selon la séquence génomique 18
B. Selon leur tropisme 20
C. Selon leur potentiel oncogénique 21
8. Cycle viral des papillomavirus 23
8.1 Les différents types des cycles viraux du PVH 24
8.1.1 L'infection latente (phase non productive) 24
8.1.2 L'infection productive (phase productive) 24
8.1.3 L'infection transformante 25

9. Génotypes a haut risque vs bas risque 25
10 . Oncprotéines virales E6 et E7 25
A. La protéine E6 26
B. La protéine E7 27
11. mécanismes d'oncogenèse 30
12. Dégradation de la protéine p53 par l'oncoprotéine E6 31
13. Inactivation de la protéine Rb par l'oncoprotéine E7 33
14. Télomérase, apoptose et instabilité génomique 34
14.1 Polymorphisme génétique des HPV-HR 36
14.1.1 Définition et origine des variants intra-génotypiques 36
14.2. Principales lignées phylogénétiques (européenne, asiatique, africaine, etc.) 36
14.3 Polymorphismes d'E6/E7 documentés dans la littérature 36
14.3.1 HPV16 (L83V, D25E, H78Y, etc) 36
14.3.2 HPV18 (E6 T85R, etc) 36
14.3.3 HPV31, 33, 45, 52, 58 37
15. Impact des polymorphismes sur l'agressivité des lésions précancéreuses 37
15.1 Association avec le grade CIN (CIN2 vs CIN3) 37
15.2 Association avec la progression rapide / persistance 37
15.3 Interaction avec la charge virale et le statut immunitaire 37
15.4 Mécanismes moléculaires sous-jacents 37
16. Lacunes scientifiques et justification de l'étude 38
16.1 Hétérogénéité des études existantes 38
16.2 Peu de données sur les populations nord-africaines / méditerranéennes 38
16.3 Absence d'intégration des polymorphismes multiples dans un score de risque 38
16.4 Manque de standardisation pour l'agressivité lésionnelle 38
1. Matériel et méthode 40
1.1 analyse_HPV_E6_E7_statistiques 40
1.2 Etude bio-informatique 44
1.1 polymorphisme génétique des oncoprotéines virales E6/E7 du HPV à haut risque et agressivité des lésions précancéreuses du col de l'utérus 50
1.2 Synthèse des résultats observés dans la cohorte 50
2.Interprétation clinique et épidémiologique 51
2.1. Interprétation de l'âge 51
2.2. Premier rapport sexuel et exposition virale 52
2.3. Multiparité et contexte gynéco-obstétrical 52

2.4. Tabagisme, IST et immunité 52
3. Interprétation cytologique et histologique 53
1. Interprétation bio-informatique des données HPV16/HPV18 53
5. Lien mécanistique entre E6/E7 et agressivité des lésions 54
5.1. Oncoprotéine E6 54
5.2. Oncoprotéine E7 55
5.3. HPV16/HPV18 comme génotypes prioritaires 55
2. les mutations prioritaires 56
7. Discussion 57
1. Données disponibles et codage 59
1. Statistiques descriptives 59
Conclusion 62
Références bibliographique 66
Annexe 1 73

Liste des figures

Figure 1. Anatomie du col de l'utérus montrant l'épithélium endocervical et exocervical de....5
Figure 2. Les caractéristiques histologiques principales de chacune des zones du col de l'utérus (Beaudin *et al*., 2015).....6
Figure 3. Vue microscopique de l'épithélium pavimenteux stratifié (objectif×20) (Sellors et Sankaranarayanan, 2004).....7
Figure 4. Vue microscopique d'une jonction pavimento-cylindrique (JPC (×10)).....7
Figure 5. À gauche : représentation schématique de la zone de reminement (Sellors et Sankaranarayanan, 2004), à droite : frottis cervical avec aspect évocateur d'une infection à PVH avec présence de koïlocyte (Albertini *et al*; 2013). 9
Figure 6. Evolution du cancer du col de l'utérus (Haute Autorité de Santé, 2013). 10
Figure 7. Prévalence de l'infection PVH génitale chez la femme dans les différentes tranches d'âge (Louie *et al*., 2008). 11
Figure 8. Expression et assemblage des protéines de la capside (Hantz *et al*.,2008).....16
Figure 9. Représentation schématique du génome circulaire du PVH 16 illustrantla localisation des gènes précoces (E:early) et tardifs (L :Late) et celle de la région LCR (Long Control Region)(Beaudin *et al* ., 2015). 18
Figure 10. La classification des papillomavirus humains fondée sur leur tropisme et.....22
Figure 11. Cycle de papillomavirus (Robert, 2016) 24
Figure 12. Représentation des principales activités des protéines virales E5, E6 et E7 des 29
Figure 13. Mécanisme de l'oncogenèse induite par les oncoprotéines E6 et E7 du papillomavirus humain (HPV) à haut risque(Doorbar J. *et al*.,2012).....31
Figure 14. Mécanisme de dégradation de la protéine p53 par l'oncoprotéine virale E6 des HPV à haut risque (Scheffner *et al*.,1990 ; Scheffner *et al*., 1993 ; Moody & Laimins, 2010). 32
Figure 15. Mécanisme d'inactivation de la protéine Rb par l'oncoprotéine virale E7 des HPV à haut risque (Dyson *et al*.,1989 ; Münger *et al*., 1989 ; McLaughlin-Drubin & Münger, 2009).....34
Figure 16. Histogramme de répartiton du frottis 42
Figure 17. Histogramme de la répartition par résidence 43
Figure 18. Distribution des âges 51
Figure 19. Répartition des résultats de frottis.....56
Figure 20. Relation âge - nombre de grossesses.....53
Figure 21. Répartition géographique 40

Liste des tableaux

Tableau 1: Évolution des lésions de CIN **(Albertini *et al*., 2013).**.....10
Tableau 2. La classification des PVH selon leur tropisme **(Beaudin *et al* .,2015).**.....21
Tableau 3. Classification des PVH ano-génitaux selon leur potentiel oncogénique **(Rappillard, 2010).**.....22
Tableau 4 . Classification des génotypes du papillomavirus humain (HPV) selon leur potentiel oncogène et leurs principales pathologies associé **(Muñoz *et al*.,2003 ; Walboomers *et al*.,1999)**.....25
Tableau 5. Principales fonctions des oncoprotéines virales E6 et E7 des HPV-HR.....26
Tableau 6. Rôles de E6 et E7 dans le processus de cancérisation suite à l'intégration de l'ADN viral des PVH à haut potentiel oncogène **(Beaudin *et al*.,2015).**.....35
Tableau 7. Données nettoyées.....40
Tableau 8. Statistiques.....41
Tableau 9. Statistiques.....41
Tableau 10. Comparaison des variables HSIL.....43
Tableau 11. Pipeline bio-informatique des Analyses.....43
Tableau 12. Analyse bioinformatique de l'etude.....44
Tableau 13. Bases HPV16 HPV18.....45
Tableau 14. Mutations_prioritaires.....46
Tableau 15. Pipeline_bioinfo.....46
Tableau 16. Codage tests pour variable.....48

Liste des abréviation

ADN : Acide désoxyribonucléique (Deoxyribonucleic Acid)

ARNm : Acide ribonucléique messager (Messenger RNA)

HPV : Virus du papillome humain (Human Papillomavirus)

HPV-HR : Virus du papillome humain à haut risque (High-Risk HPV)

HPV-BR : Virus du papillome humain à bas risque (Low-Risk HPV)

CIN : Néoplasie intraépithéliale cervicale (Cervical Intraepithelial Neoplasia)

CIN2 : Lésion intraépithéliale de grade modéré (Moderate-grade lesion)

CIN3 : Lésion intraépithéliale de haut grade (High-grade lesion)

LSIL : Lésion intraépithéliale de bas grade (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion)

HSIL : Lésion intraépithéliale de haut grade (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion)

E6 : Oncoprotéine virale E6 (Viral oncoprotein E6)

E7 : Oncoprotéine virale E7 (Viral oncoprotein E7)

p53 : Protéine suppresseur de tumeur p53 (Tumor suppressor protein p53)

Rb : Protéine du rétinoblastome (Retinoblastoma protein)

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction)

qPCR : Réaction de polymérisation en chaîne quantitative (Quantitative PCR)

SNP : Polymorphisme nucléotidique simple (Single Nucleotide Polymorphism)

BLAST : Outil d'alignement local de séquences (Basic Local Alignment Search Tool)

NCBI : Centre national d'information pour la biotechnologie (National Center for Biotechnology Information.

Introduction

Introduction générale

Le cancer du col de l'utérus (CCU) représente un problème majeur de santé publique mondiale. Avec environ 660 000 nouveaux cas et 350 000 décès en 2024 (Globocan/OMS), il est le quatrième cancer le plus fréquent chez la femme et la première cause de décès par cancer dans 23 pays à revenu faible ou intermédiaire. En Afrique du Nord et particulièrement en Algérie, l'incidence standardisée est estimée à 12,4 pour 100 000 femmes, avec une mortalité encore élevée (≈6/100 000) en raison d'une couverture insuffisante du dépistage cytologique et de la vaccination anti-HPV **(Sahraoui *et al*., 2021)**. Pourtant, le CCU est un cancer potentiellement évitable et hautement curable s'il est détecté à un stade précoce.

Il est désormais établi que l'infection persistante par un papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR) est nécessaire au développement du CCU. Plus de 99 % des cancers du col contiennent de l'ADN HPV, principalement les génotypes 16 et 18, responsables de 70 % des cas **(Bosch *et al*., 2002)**. Cependant, l'infection HPV est très fréquente dans la population générale (jusqu'à 80 % des femmes sexuellement actives) mais seulement une minorité évolue vers des lésions précancéreuses de haut grade (CIN2/3) ou un cancer invasif. Cette observation souligne l'importance de **cofacteurs viraux et hôtes** qui modulent le risque de progression.

Parmi les gènes viraux, les oncoprotéines **E6** et **E7** sont les principaux effecteurs de la transformation cellulaire. E6 cible la protéine suppresseur de tumeur p53 pour dégradation protéasomale, inhibant l'apoptose et la réparation de l'ADN. E7 inactive la protéine du rétinoblastome (pRb), libérant le facteur de transcription E2F et forçant l'entrée en phase S du cycle cellulaire. Leur action synergique induit une prolifération incontrôlée, une instabilité génomique et, à terme, le cancer **(Schiffman *et al*., 2007)**.

Au sein d'un même génotype HPV (par exemple HPV16), il existe des variants naturels, ou **polymorphismes**, qui diffèrent par 1 à 5 % de la séquence nucléotidique d'E6/E7. Ces variations ne sont pas silencieuses : elles peuvent modifier la structure tridimensionnelle des oncoprotéines, leur affinité pour les protéines cellulaires (p53, Rb, E6AP, PDZ) et leur stabilité intracellulaire. Ainsi, certains variants sont plus oncogènes que d'autres. Par exemple, le polymorphisme **E6 L83V** de HPV16 est associé à un risque accru de lésions de haut grade dans plusieurs méta-analyses **(Berumen *et al*., 2001)**, tandis que le variant **E6 D25E** augmente la dégradation de p53 in vitro **(Richard *et al*., 2020)**.

Actuellement, la prise en charge des femmes HPV-positives repose sur la cytologie (frottis) et l'histologie (biopsie) classant les lésions en CIN1 (bas grade), CIN2 ou CIN3 (haut grade). Cependant, cette classification statique est insuffisante pour prédire **l'agressivité** évolutive :

- Certaines CIN2 régressent spontanément, d'autres progressent rapidement vers CIN3.
- Certaines CIN3 restent stables pendant des années, d'autres évoluent vers un carcinome invasif en quelques mois.
- Les recommandations actuelles (surveillance vs conisation) ne tiennent pas compte du polymorphisme viral.

Or, l'agressivité lésionnelle – définie par le grade histologique élevé (CIN3 vs CIN2) et/ou la vitesse de progression – pourrait être en partie déterminée par des variants particuliers d'E6/E7. Identifier ces variants permettrait de stratifier le risque et d'adapter la prise en charge : surveillance rapprochée pour les variants dits « peu agressifs », conisation précoce pour les variants « très agressifs ».

Chapitre 1

Revue de la littérature

1. Physiologie l'utérus

1.1 Anatomie

L'utérus est un organe musculaire creux. La partie inférieure de l'abdomen est sa localisation chez la femme, entre la vessie et le rectum. L'utérus contient une épaisse couche de muscle qui lui permet de changer sa taille dans des cas exceptionnels (la grossesse par exemple). La taille du col varie entre 3 à 4 cm de longueur et 2,5 cm de diamètre (Figure 9) **(Badoual et Jacopin, 2022)**.

Le col utérin comporte deux parties anatomiques :

- **L'exocol** : est facile à voir lors d'un examen gynécologique. Il s'étend au-delà de l'orifice cervical externe et présente un aspect rose et lisse (Figure 10).
- **L'endocol** : est la partie invisible située près de l'ouverture externe du col de l'utérus. Il présente un aspect rouge et brillant **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004)** (Figure 10).

Cependant, la taille et la forme du col de l'utérus varie en fonction de l'âge, de la parité et de l'état menstruel de la femme. Par exemple, chez les femmes multipares, le col de l'utérus est plus large et l'orifice cervical externe ressemble à une large fente latérale. Par contre, chez les femmes nullipares, l'orifice cervical externe apparaît

comme un petit trou au centre du col de l'utérus (Figure 1) **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004)**.

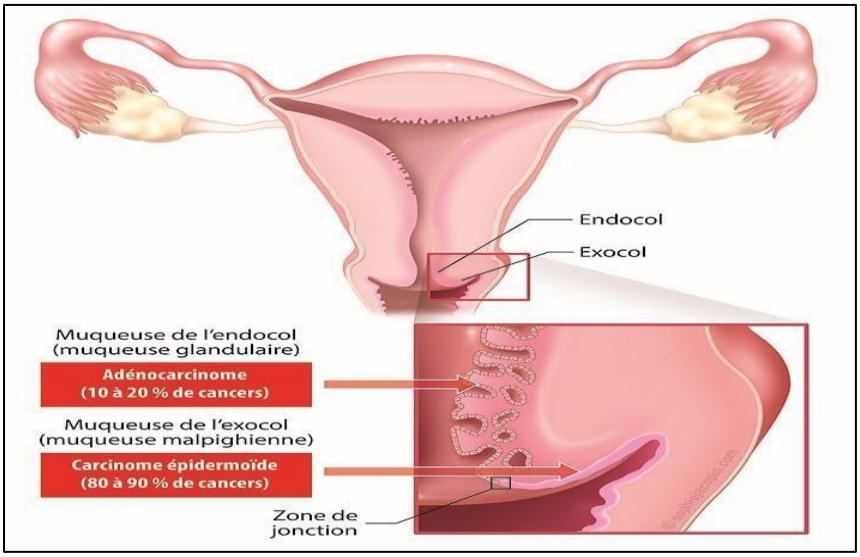
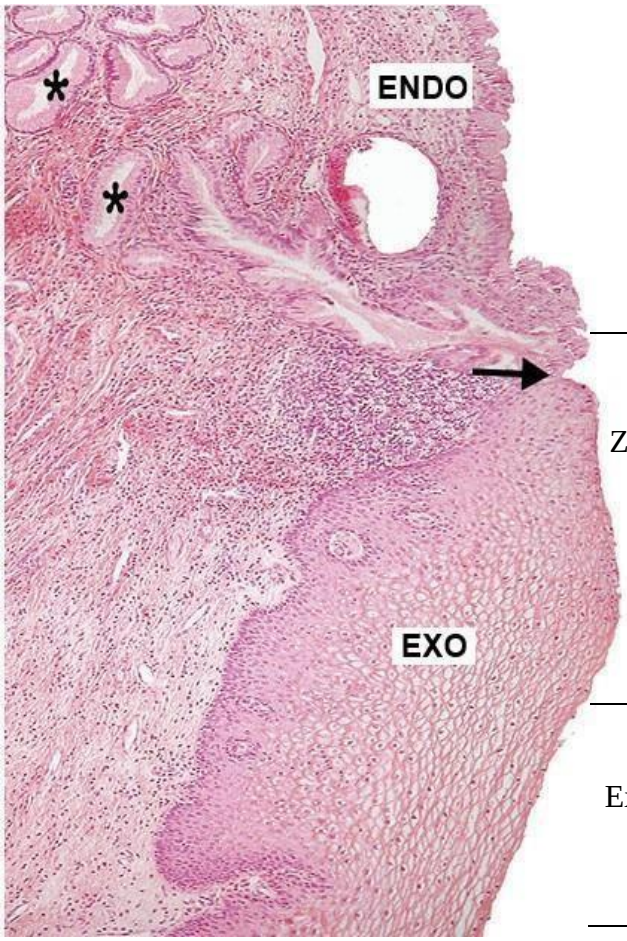


Figure 1. Anatomie du col de l'utérus montrant l'épithélium endocervical et exocervical de la zone de transition **(Jacopin, 2022).**



Endocol	Épithélium cylindrique glandulaire (une couche de cellules) en continuité avec l'épithélium glandulaire endométrial. Il présente un aspect rouge et brillant. Il intervient dans la sécrétion de la glaire cervicale (glycoprotéines) sous l'influence des œstrogènes.★= glandes endocervicales
Zone de jonction	Zone de jonction pavimento-cylindrique : régiond'affrontement des 2 épithéliums qui subit desremaniements permanents. La transition entre lesdeux épithéliums se fait de manière abrupte et sesitue au niveau de l'orifice externe Zone de naissance des cancers qui doit être surveillée par frottis cervicaux vaginaux
Exocol	Épithélium malpighien (pluristratifié, pavimenteux et non kératinisé) en continuité avecl'épithélium malpighien vaginal. Il prés ente unaspect rose et lisse.

Figure 2. Les caractéristiques histologiques principales de chacune des zones du col de l'utérus **(Beaudin *et al*., 2015).**

1.2. Histologie

A. Epithélium pavimenteux stratifié non kératinisé

A couleur est rose pâle et est formé au cours de la vie embryonnaire comme il peut aussi être nouvellement formé comme dans le cas de l'épithélium pavimenteux métaplasique. Sa couleur est variable : chez les femmes non ménopausées, elle est de couleur rose tandis que chez les femmes métaplasiques, elle apparaît blanc-rosâtre à l'examen visuel (Figure 11) **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004) .**

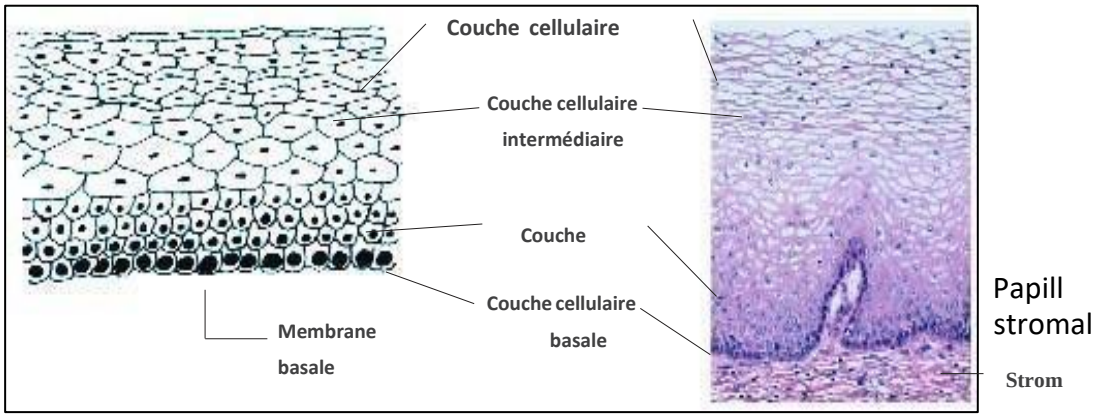


Figure 3. Vue microscopique de l'épithélium pavimenteux stratifié (objectif×20) **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004).**

Ilest divisé en plusieurs couches **(Boutabba, 2012)**

- La couche basale.
- La couche parabasale.
- La couche intermédiaire.
- La couche superficielle.
- Le chorionb .

B. Jonction exo-endocervical (zone de transformation)

La jonction exo-endocervical est le résultat de la différence d'épaisseur des épithéliums pavimenteux et cylindriques sous un aspect de ligne étroite marquée par une dénivellation (Figure 12) **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004) .**

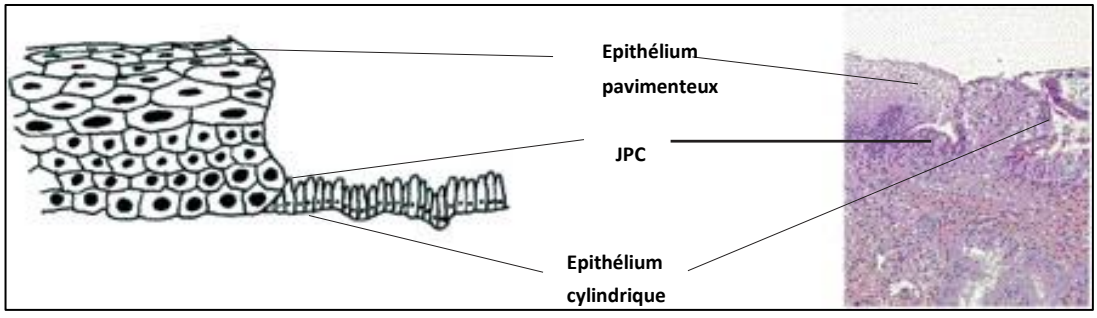


Figure 4. Vue microscopique d'une jonction pavimento-cylindrique (JPC (×10))

(Sellors et Sankaranarayanan, 2004).

C. Epithélium cylindrique endocervical

L'épithélium cylindrique endocervical appelé également épithélium glandulaire, tapisse le canal endocervical. À l'examen visuel, on observe une couleur rouge **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004)**. Une sécrétion élaborée par ces cellules constitue la glaire cervicale **(Boutabba, 2012)** .

1.3. Modification de l'histologie du col de l'utérus au cours de la vie génitale

La structure histologique de l'appareil génital féminin n'est pas fixe. Elle subit d'importantes variations en fonction de l'activité neuro-endocrinienne. Or, cette activité change avec l'âge (avant la puberté, après la ménopause) et selon les circonstances physiologique (cycle ou grossesse) **(Mahnane, 2005)**.

2. Définition et histoire du cancer du col de l'utérus

2.1. Définition du cancer de col de l'utérus

Selon l'OMS : « Le cancer du col de l'utérus se développe chez la femme, au niveau du col utérin qui correspond à l'entrée de l'utérus à partir du vagin. Presque tous les cas de cancer du col de l'utérus (99 % de cas) sont liés à une infection par un papillomavirus humain (PVH) à haut risque, un virus extrêmement courant qui se transmet par contact sexuel » **(OMS, 2022**).

Les Cancers du col qui touche l'épithélium sont des carcinomes :

✓ les carcinomes épidermoïdes: se développent à partir de l'épithélium malpighien de l'exocol. Ils représentent 80 % à 90 % des cancers du col de l'utérus **(Institut national de cancer, 2022)**.

✓ les adénocarcinomes: se développent au niveau de l'épithélium glandulaire (cylindrique) de l'endocol. Ils représentent 10 à 20 % des cancers de col de l'utérus **(Hentati, 2019)** .

✓ Mélanome (forme rare): un sarcome, carcinome adénosquameux, lymphome ou tumeur secondaire dans des cas rare **(Hentati, 2019)**.

2.2. Histoire de cancer de col de l'utérus

PVH infecte l'épithélium malpighien et pénètre dans les cellules hôtes à travers la couche basale des zones de jonctions (zone de remaniement pavimentaire) (Figure 5) facilité par la présence des microlésions. Il prolifère progressivement selon la direction de la couche superficielle et se propage tout au long de l'épaisseur du tissu conjonctif fibreux. Le PVH introduit son génome à celui de la cellule hôte, ce qui engendre le phénomène précoce de la cancérogénèse cervicale. La cellule infectée est alors caractéristique et s'appelle un « koïlocyte » (Figure 5) **(Labalte, 2015)**.

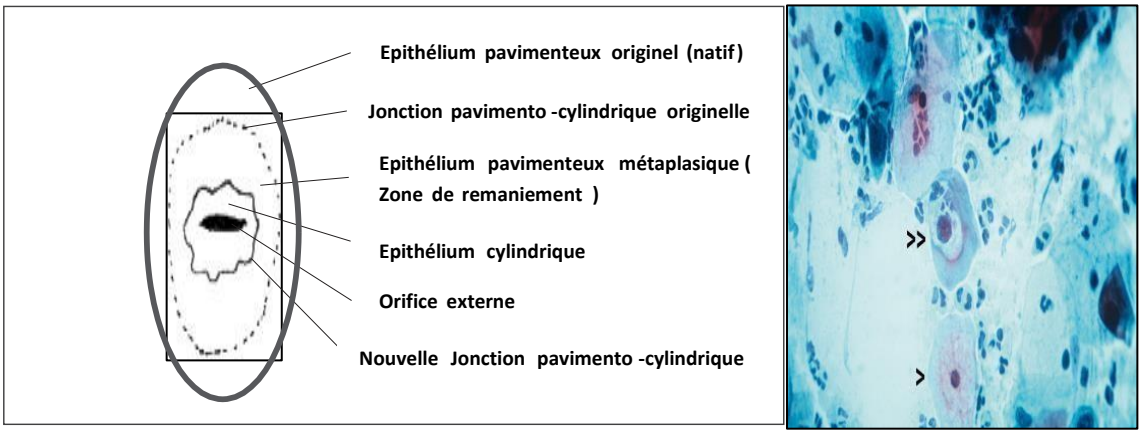


Figure 5. À gauche : représentation schématique de la zone de reminement **(Sellors et Sankaranarayanan, 2004),** à droite : frottis cervical avec aspect évocateur d'une infection à PVH avec présence de koïlocyte **(Albertini *et al*., 2013)**.

Il y'a deux modes d'évolution de l'infection à PVH : la clairance ou la persistance. Cependant, environ 70 % des infections à PVH sont éliminées spontanément en 12 mois et 90 % en 24 mois. La clairance des PVH à haut risque est de l'ordre de 12 à 16 mois tandis que celle des PVH à bas risque est de l'ordre de 3 à 6 mois. La clairance dépend de l'efficacité de la réponse immunitaire. Dans peu de cas, il y'a la maintenance du virus : c'est la persistance virale (Figure 6) **(Monsonégo, 2007)**.

Il existe une période variante entre le moment de l'infection par PVH et celle de l'évolution et la persistance du cancer. Il peut mettre 10 à 20 ans pour transformer les lésions précancéreuses en cancer invasif. Le pouvoir de développement des lésions dépend de la gravité **(Rappillard, 2010)**. La gravité de l'infection à PVH présente 3 grades croissants en fonction

des lésions nommées « Néoplasies Intraépithéliales Cervicales » ou CIN (CIN1/CIN2/CIN3). L'aggravation des lésions de CIN et leurs développements vers l'apparition d'un cancer (carcinome épidermoïde) peut être latente, jusqu'à 10 ans et n'est pas inéluctable (Tableau 1) **(Albertini *et al.*,2013) .**

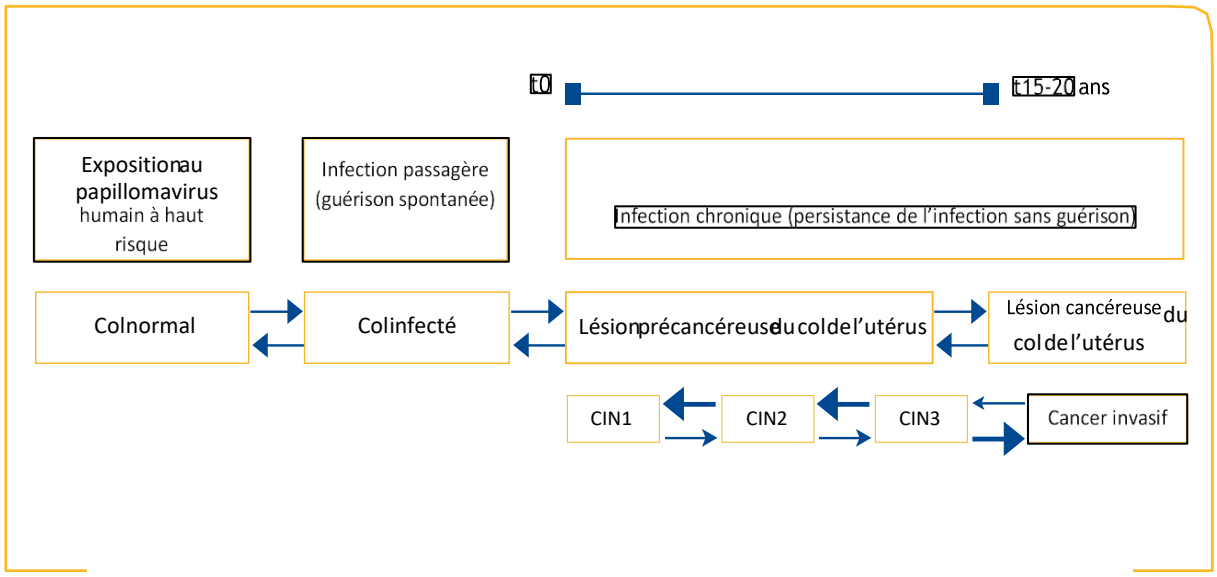


Figure 6. Evolution du cancer du col de l'utérus **(Haute Autorité de Santé, 2013).**

Tableau 1: Évolution des lésions de CIN **(Albertini *et al.*, 2013).**

/	Régression	Persistance	Évaluation vers CIN supérieure	Risque cancer infiltrant
CIN1	60%	30%	10%	1%
CIN2	40%	30%	20%	5%
CIN3	30%	>60%	-	>12%

3. Epidémiologie

3.1 Epidémiologie du cancer du col de l'utérus dans le monde

Les infections ano-génitales à PVH représentent les infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes, elles peuvent être envisagées comme un marqueur d'activité sexuelle **(Hantz, 2021)**. Selon l'OMS, le cancer du col de l'utérus est le

quatrième cancer le plus courant chez la femme dans le monde. En 2020, l'OMS estime qu'il y'a 60.4000 nouveaux cas et 34.2000 décès dus au cancer du col de l'utérus dans le monde. Environ 90 % survenus dans les pays en voie de développement. Dans toutes les régions du monde, la contribution du VIH au cancer du col de l'utérus pèse de manière disproportionnée sur les femmes plus jeunes et on estime que les femmes vivant avec le VIH sont six fois plus susceptibles d'avoir un cancer du col de l'utérus **(OMS, 2022)**. La prévalence de l'infection génitale chez la femme est basée sur la détection d'ADN viral au niveau cervical qui varie selon l'âge et l'origine géographique. Le pic de prévalence est observé autour de 20-25 ans correspondant au début de l'activité sexuelle. La prévalence diminue progressivement avec l'âge. Chez les femmes ayant une cytologie cervicale normale, la prévalence est estimée à environ 12% **(Hantz, 2021)**.

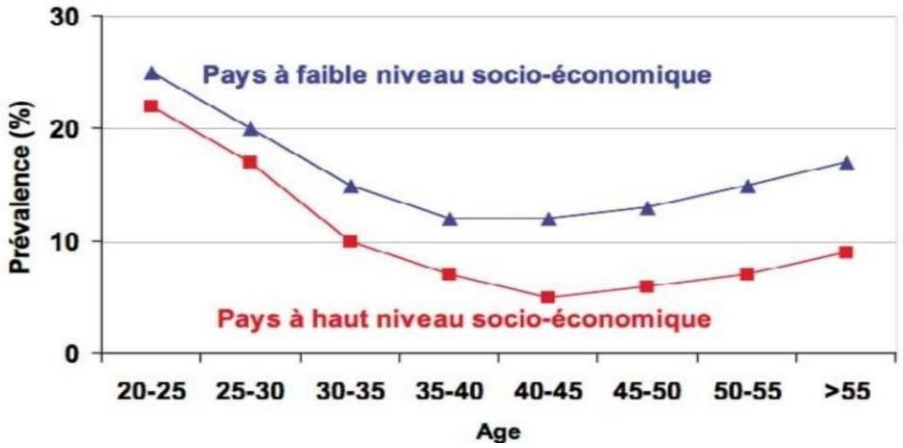


Figure 7. Prévalence de l'infection PVH génitale chez la femme dans les différentes tranches d'âge **(Louie *et al.*, 2008).**

3.2 Epidémiologie du cancer du col de l'utérus en Afrique

Selon l'OMS, le fardeau du cancer du col de l'utérus pèse lourdement sur l'Afrique d'une manière inéquitable. On retrouve 19 à 20 pays les plus touchés au monde par le cancer du col de l'utérus dans le continent africain. « Avec des taux de cancer du col de l'utérus jusqu'à six fois plus élevés en Afrique qu'en Amérique du Nord, force est de constater que la maladie est inéquitable », a déclaré le Dr Mathshidiso Moeti, Directrice régionale de l'OMS en Afrique. Nous espérons que la nouvelle stratégie

mondiale de lutte contre la propagation de l'infection par le PVH comble cet écart **(OMS, 2019).**

En Algérie

En Algérie, 10,5 % des cancers féminins sont des cancers du col de l'utérus qui occupent la 2e place des cancers qui touche les femmes. Le cancer du col de l'utérus est considéré comme une cause majeure de décès. Cependant, une mise à jour des statistiques en Algérie s'impose vu que les dernières données sont datées de 2009. Les informations disponibles sur le dépistage, le nombre, l'âge et la localisation des patients infectés dans le pays sont vraiment rares ce qui rend l'aperçu général sur cette maladie, difficile à établir **(Boutebba, 2009)**. Le cancer du col de l'utérus est considéré comme la sixième cause de décès due au cancer chez les femmes en Algérie après le cancer du sein, le cancer colorectal et le cancer de la thyroïde **(Hamdi Cherif *et a* ., 2015)**.

Entre 2018 et 2020, le nombre de cas a augmenté de 1594 à 1713 cas et le nombre de décès de 1066 à 1151 morts par an. Si des mesures sanitaires rigoureuses ne sont pas prises au niveau national, les décès et les cas annuels dus à ce cancer vont doubler d'ici 2040, atteignant 2244 décès et 3046 cas par an2.

4. Les cofacteurs

A. Le tabagisme

Le tabagisme actif est associé aux lésions cervicales, il favorise la persistance de l'infection aux PVH en augmentant le risque de développer des lésions précancéreuses du col **(Sebban, 2019)**.

B . Les contraceptifs oraux

Il existe une différence de comportement sexuel entre les femmes qui utilisent les contraceptions orales et les femmes qui n'en utilisent pas (Boutebba, 2012).

C. Activité sexuelle

C'est chez les femmes actives sexuellement que le cancer du col utérin apparait généralement. Le risque d'infection au PVH est multiplié par les contacts sexuels **(Sebban, 2019).**

L'âge : l'âge à partir duquel les femmes ont leurs premiers rapports sexuels a• une influence sur la survenue du cancer du col de l'utérus **(Sebban, 2019)**.

Le nombre de partenaires sexuels : le risque d'exposition au PVH• augmente avec l'augmentation des partenaires sexuels, mais aussi les femmes ayant des partenaires masculins qui multiplient les partenaires sexuels féminins **(Sebban, 2019).**

D. La multiparité Les femmes ayant accouché par voie basse plusieurs fois sont plus susceptibles d'avoir une infection au PVH **(Sebban, 2019)**.

E. Absence de vaccination anti-PVH La vaccination contre les infections à PVH est recommandée pour les jeunes filles qui ont entre 11 et 14 ans. Elle réduit la survenue de lésions précancéreuses génitales chez la femme mais aussi indirectement chez l'homme **(Boutebba, 2012)**.

F. Absence de suivi par frottis Dans le dépistage du cancer du col de l'utérus, le frottis est le premier examen indiqué **(Hantz, 2021)**.

5. Les symptômes du cancer du col de l'utérus

Comme déjà expliqué, dans la majorité des cas, Le cancer du col de l'utérus peut ne causer aucun signe ou symptôme au premier stade de la maladie. Une fois que la tumeur s'est développée dans les tissus et organes proches, les symptômes apparaissent souvent.

À un stade précoce, les signes et symptômes du cancer du col de l'utérus sont les suivants :

- Métrorragies irrégulières ou légers saignements entre les périodes de règles chez les femmes en âge de procréer **(OMS, 2022)**.
- Métrorragies ou saignements post-ménopausique **(OMS, 2022) .**
- Des saignements déclenchés lors les rapports **sexuels (Journal des femmes santé, 2020) .**

- Augmentation des pertes vaginales, parfois avec une odeur désagréable **(OMS, 2022).**

Au fur et à mesure que le cancer du col de l'utérus progresse, des symptômes plus graves peuvent apparaître, tels que :

- Des douleurs dans le bas du ventre, des douleurs au niveau de la région pelvienne **(Journal des femmes santé, 2020)**.
- Des douleurs permanentes dans le dos, les jambes ou le bassin **(OMS, 2022)**.
- Perte de poids, fatigue et perte d'appétit **(OMS, 2022)**.
- Inconfort vaginal **(OMS, 2022)**.
- Un œdème sur une ou les deux jambes **(OMS, 2022)**.

selon les organes touchés par le cancer, d'autres symptômes graves peuvent apparaître à des stades avancés.

6. Histoire naturelle : de l'infection HPV au carcinome invasif

L'histoire naturelle du cancer du col utérin débute généralement par une infection transitoire au HPV acquise lors des rapports sexuels. Dans la majorité des cas, cette infection disparaît spontanément grâce à la réponse immunitaire de l'organisme **(Doorbar, 2006)**. Cependant, chez certaines femmes, l'infection persiste et entraîne des modifications cellulaires progressives.

Ces anomalies évoluent d'abord vers des lésions intraépithéliales de bas grade (LSIL), puis vers des lésions de haut grade (HSIL). En absence de prise en charge, ces lésions peuvent évoluer progressivement vers un carcinome invasif après plusieurs années **(zur Hausen, 2002)**. Les oncoprotéines virales E6 et E7 jouent un rôle central dans cette transformation maligne en induisant l'inactivation des protéines suppresseurs de tumeurs p53 et pRb, favorisant ainsi une prolifération cellulaire incontrôlée et une instabilité génétique **(Moody et Laimins, 2010) .**

Les papillomavirus sont des agents pathogènes responsables de la formation de tumeurs cutanéo-muqueues bénignes ou malignes chez de nombreux vertébrés tel que l'homme et chez

de nombreuses espèces animales (bovins (BPV), canins (COPV), équins (EcPV)). Virus très résistant dans l'environnement, ce microorganisme ubiquiste se transmet le plus souvent par contact direct ou plus rarement par contact indirect. La caractérisation de ces virus fut relativement longue, car il n'existe pas de système cellulaire permettant leur propagation in vitro. Le développement des techniques de biologie moléculaire dans les années 1970 a permis d'établir leur remarquable pluralité, leur spécificité tissulaire et leur pathogénicité dépendante du type. Les mécanismes de carcinogenèse liés à certains virus, et en particulier au PVH16 impliqué dans le développement du cancer du col utérin chez l'homme, sont révélés grâce à l'étude de l'organisation du génome, de la régulation de l'expression des gènes et de la caractérisation des protéines **(Mougin *et al*.,1997)** .

7 . caractéristiques spécifiques

Les papillomavirus humains sont des virus de la famille des Papillomaviridae , du genre Alphapapillomavirus à Pipapillomavirus , en sous-type puis en variant. Les PVHs sont des virus à ADN qui appartiennent aux genre Alphapapillomavirus (PVH6, 11, 16, 18, 31, 33) et plus rarement aux genre Betapapillomavirus comme PVH5, 9 et 49.Ce virus oncogène est caractérisé par de multiples génotypes (plus de 100), dont deux sont particulièrement dangereux par rapport aux autres, il s'agit du PVH 16 et PVH 18 **(Pasquier *et al*., 2005).**

7.1. Structure

Sur le plan structurel, les papillomavirus sont constitués d'une capside protéique qui contient le génome.

A. La capside

Le PVH est un petit virus, composé de 72 capsomères disposés selon une symétrie icosaédrique d'une taille de 45-55 nm de diamètre. Ce sont des virus nus c'est-à-dire non enveloppés (Figure 8) **(Douvier et Dalac, 2004)**.Cette capside est constituée de deux protéines : une protéine majeure (L1) de 54000 Da, et une protéine mineure (L2) de 43 à 54000 Da, renfermant des antigènes spécifiques du genre et sont donc communs à tous les PVHs. La capside porte également des antigènes spécifiques de type **(Douvier et Dalac, 2004)**.

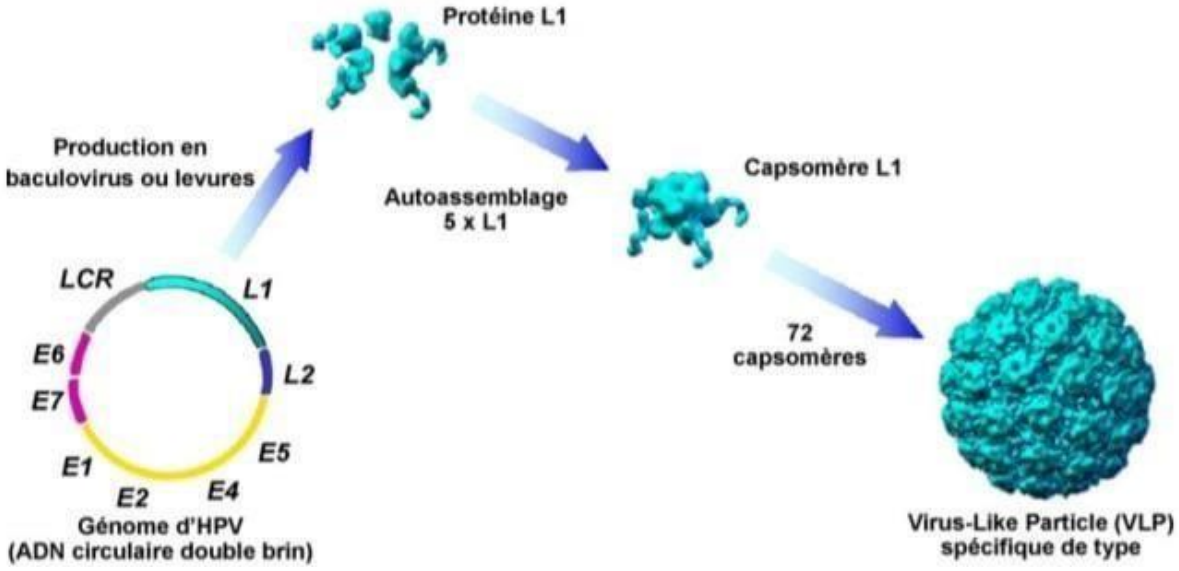


Figure 8. Expression et assemblage des protéines de la capside **(Hantz *et al*.,2008).**

B. Génome

Le matériel génétique des PVHs est constitué d'une molécule d'ADN, double brin, circulaire de 8000 pb environ, surenroulée autour de protéines de type histone. Un seul brin de ce génome est codon **(Hantz, 2021)**. Le génome du PVH contient peu de gènes, distribué sur une région précoce E et une région tardive L **(Hantz, 2021)**.

La comparaison de l'analyse des séquences nucléotidiques des papillomavirus dans les différents genres et espèces a montré une organisation génétique commune. Ils portent 10 phases ouvertes de lecture (POL, en anglais ORF) par un seul des deux brins d'ADN. Ce dernier est partagé en trois régions, dont deux régions codantes et une région non codante. Les cadres de lecture sont de deux types : Early (précoce) et Late (tardive) selon leur localisation sur le génome et selon leur rapidité d'expression. La phase précoce de lecture représente 45% de la totalité du génome qui peut donner jusqu'à 8 POL (de E1 à E8) et la phase tardive représente 40% du génome et contient deux POL (L1 et L2). Les 15% restants représentent la région moins systématisée ou non codante (LCR) (Figure 9) **(Douvier et Dalac, 2004)**.

Région E (Early =Précoce) : code pour des protéines non structurales (E1, E2, E4, E5, E6, E7) (Figure 9) **(Lepiller *et al* .,2021)**.

Rôle des protéines :

- E1 : contrôle de la réplication de l'ADN virale couplé avec la protéine E2.
- E2 : la réplication et la régulation de la transcription
- E3 : fonction inconnue
- E4 : maturation et organisation des virions (encapsidation, sécrétion des virions,…)
- E5 : -excitation de la multiplication cellulaire -contrôle de la production d'interféron béta par les kératinocyte.

-Déphosphorylation des connexions ce qui provoque la mal communication cellulaire

- E6 : protéine oncogène favorisant l'altération de la protéine P53
- E7 : protéine oncogène favorisant l'altération de la protéine sensible au rétinoblastome P105Rb **(Monsonego, 2006)**.
- E8 : fonction inconnue.

✓ Région L (Late =Tardive) : code pour des protéines structurales c'est-à-dire qui forment la capside icosaèdre, dont la protéine L1 (protéine majeure) qui joue un rôle dans la reconnaissance et la liaison avec les récepteurs cellulaires, et L2 (protéine mineure) qui permet la maintenance de la capside et qui intervient dans l'assemblage des virions (Figure 9) **(Monsonego, 2006)**.

✓ Région LCR (Long Control Région = de Régulation) : c'est une zone non codante localisée entre L1 et E6 (Figure 9). De son nom, elle est impliquée dans la régulation de l'expression des gènes et dans la réplication de l'ADN viral **(Lepiller *et al* .,2021)**.

Elle contient un site Ori (Origine de réplication), les promoteurs des gènes précoces et des sites de régulation de la réplication et de la transcription. Ces sites sont reconnus par des facteurs d'origine cellulaire ou virale **(Lepiller *et al* .,2021)**.

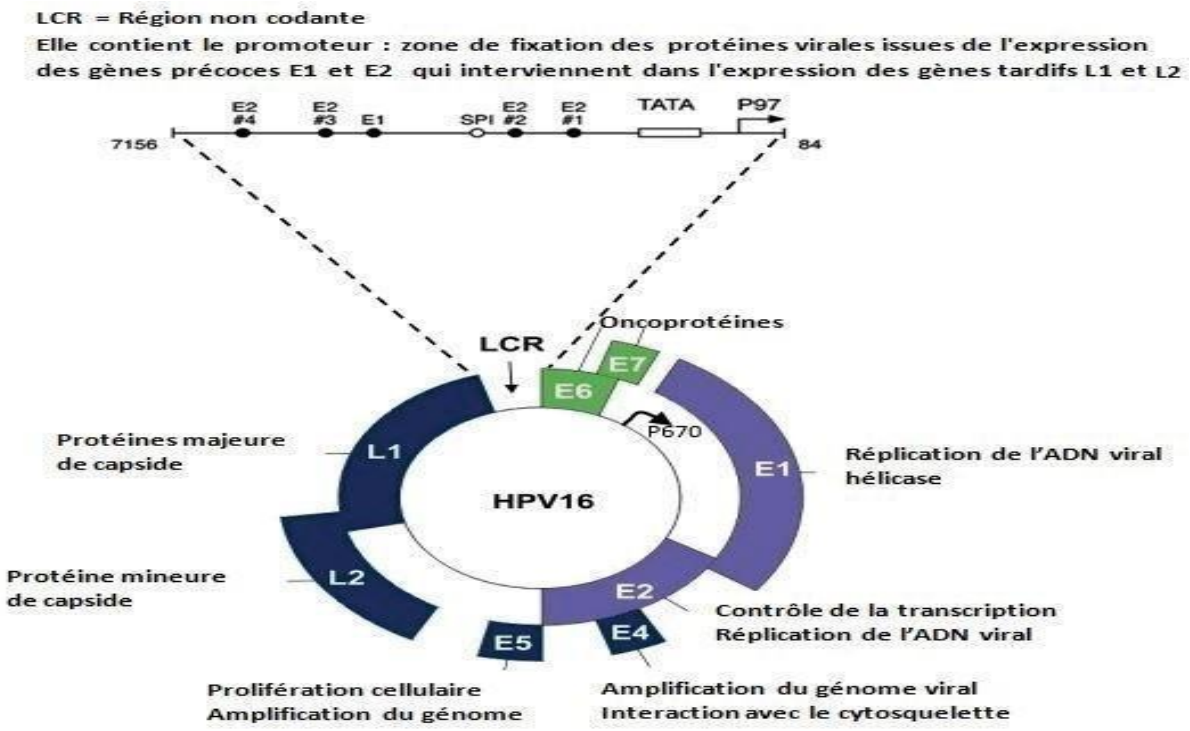


Figure 9. Représentation schématique du génome circulaire du PVH 16 illustrantla localisation des gènes précoces (E:early) et tardifs (L :Late) et celle de la région LCR (Long Control Region)**(Beaudin *et al* ., 2015).**

7.2. Classification

La classification des PVH est basée sur le génotype et l'analyse phylogénétique, leur tropisme (cutané ou muqueux), et/ou leur potentiel oncogénique (haut ou bas risque) **(Segondy, 2008).**

A. Selon la séquence génomique

En 1962, Melnick a rassemblé les papillomavirus dans la famille des Papillomaviridae. Cette famille regroupe les papillomavirus et les polyomavirus. Récemment le comité international a séparé les papovaviridae en deux familles distinctes : les papillomaviidea et Les polyomaviridae en se basant sur la taille des virions et la taille de leur ADN . La classification des papillomavirus permet de différencier les papillomavirus de lapin (CRPV), du bovin (BPV), des cervidés (DPV) et de l'homme (HPV

en français PVH) en se basant sur la spécificité de l'hôte et sur la similarité génomique **(Douvier et Dalac, 2004)**.

La distinction des PVH se fait par les techniques de biologie moléculaire. Deux types sont divers lorsqu'ils présentent moins de 50% d'hybridation **(Douvier et Dalac, 2004)**.

Les papillomaviridae sont divisés en 5 sous -familles (Figure 10) :

• La sous-famille A (alpha) : comporte les PVH à tropisme muqueux génitale

• La sous-famille B (beta) : comporte les PVH à tropisme cutané et le HaOPV (Hamster Oral Papillomavirus).

• La sous-famille C (gamma) : regroupe les DPV (Deer PapillomaVirus), les OVPV (Ovine PapillomaVirus) et les BPV 1,2 et 5 (Bovine PapillomaVirus).

• La sous-famille D (mu) : avec les BPV 3, 4 et 6

• La sous-famille E (nu) : regroupent les PVH 1, 41 et 63, et les COPV et CRPV (CottonTail Rabbit Papillomavirus Humain) **(Douvier et Dalac, 2004)**.

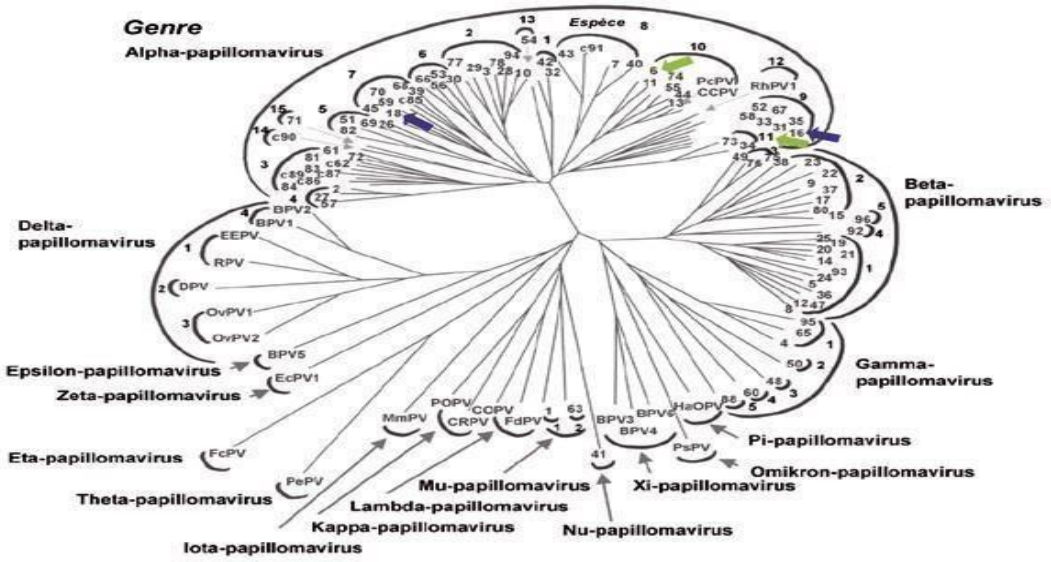


Figure 10. L'arbre phylogénétique de la classification des papillomavirus en se basant sur la séquence du gène conservé L1 **(Villiers, 2013).**

Cette classification génomique est basée sur la séquence nucléotidique du gène L1 le plus stable qui code pour la protéine de la capside. Il faut que le génome du virus ait été séquencé complètement et sa séquence L1 présente une différence de plus de 10% avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement, pour qu'un nouveau type de PVH soit identifié. Une divergence de 2 à 10% donne un sous-type, une différence de moins de 2% donne un variant **(Segondy, 2008)**. De plus les virus initialement dénommés PVH46, PVH55 et PVH64 sont considérés comme les sous-types de PVH20, PVH44 et PVH34 respectivement, car ils présentent une portion d'homologie supérieure à 90% **(Segondy, 2008)**. Les divers types de papillomavirus présentant une homologie de la séquence L1 supérieure à 70% sont rassemblés dans la même espèce **(Segondy, 2008)** .

B. Selon leur tropisme

Il y'a des types de PVH à tropisme muqueux et à tropisme cutané. Certains autres types de PVH n'ont pas de tropisme précis pour la peau ou les muqueuses, ils sont dits « Mixte ». Le genre Alpha-papillomavirus présente les PVH à tropisme muqueux tandis que les PVH à tropisme cutané sont présentés par le genre béta-papillomavirus et gamma

papillomavirus ainsi que les genres mu et nu –papillomavirus (Tableau 2) **(Segondy, 2008).**

Environ 40 types de PVH cutanés ont été identifiés par séquençage complet. L'étude des séquences sous-génomiques avec moins de 90 % d'homologie avec des types connus indiqueplus de 130 types putatifs, ce qui donne un total d'environ 170 types de PVH cutanés (Figure10) **(Segondy, 2008).**

Tableau 2. La classification des PVH selon leur tropisme **(Beaudin *et al* .,2015).**

Tropisme du virus PVH	Génotype viral
Cutané	1,2,4,5,8,9,12,14,17,19,20,21,22,23,25,27,36,38,41 ,47,48,49,50,57,60,63,65,75,76,80,88,92,93,95,96
Muqueux	6,11,13,16,18,26,30,31,32,33,34,35,39,42,44,45,51 ,52,53,54,56,58,59,61,62,66,67,68,69,70,71,72,73, 74,81,82,83
Mixte	3,7,10,28,29,40,78,91,94

C. Selon leur potentiel oncogénique

Bien qu'une infection par le PVH à haut risque soit nécessaire, elle n'est pas suffisante pour développer un cancer. La plupart des infections sont latentes et disparaissent spontanément sans traitement. Cependant, le PVH à haut risque est associé à la plupart des lésions précancéreuses et au cancer du col de l'utérus **(Mahnane, 2005)**.

La classification des PVHs selon leur pouvoir pathogène est basée sur la fréquence de leur présence dans les cancers cervicaux et ano-genitaux **(Mahnane, 2005)**.

Les PVHs sont divisés en 2 catégories selon leur pouvoir ou potentiel oncogénique :

- ✓ D'une part ceux à faible risque liés aux verrues génitales bénignes **(Santos-Lopez et al; 2015)**. A titre d'exemple, le PVH 6 et 11 qui sont responsables aussi des condylomes, des lésions sans potentiel de se développer vers des lésions de haute gravité ou vers un cancer invasif (Tableau 3) **(Beaudin *et al*.,2015)**.

- ✓ Et de l'autre part, ceux à haut risque qui sont les facteurs étiologiques des cancers **(Santos- Lopez *et al.*,2015)**. Par exemple, les PVH à haut risque 16 et 18 provoquent des lésions précancéreuses et environ 90% des carcinomes du col utérin ainsi que 80% d'autres cancers ano-génitaux (anus, vagin, vulve…) (Figure 10) **(Beaudin *et al.*,2015)**.

La co-infection par multiple types de PVH n'est pas rare (20% à 30% des cas recensés). A titre d'exemples l'association entre PVH à haut risque et à bas risque (PVH 16 et 52, PVH 16 et 68 et PVH 18 et 6/11) **(Beaudin *et al.*,2015)**.

Tableau 3. Classification des PVH ano-génitaux selon leur potentiel oncogénique **(Rappillard, 2010).**

Classification des PVH ano-génitaux selon leur potentiel oncogène	Types de virus
Haut risque	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59
Haut risque probable	25,53,66,68,73,82
Bas risque	6,11,13,40,42,43,44,54,61,70,72,81,89

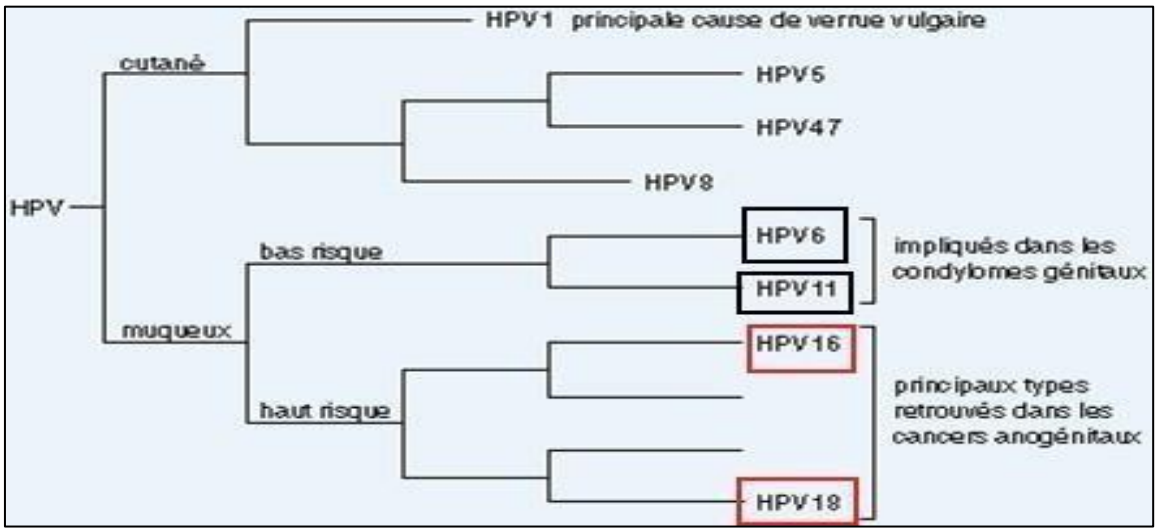


Figure 10. La classification des papillomavirus humains fondée sur leur tropisme et leur potentiel oncogène **(Beaudin *et al.*,2015)**.

8. Cycle viral des papillomavirus

Les PVH sont des virus spécifiques d'espèces et ont un tropisme particulièrement marqué pour les épithéliums malpighiens (cutanéomuqueux) **(Robert, 2016)**.

Le PVH se fixe par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires sur les kératinocytes des couches basales des épithéliums **(Bernichon *et al*.,2019)**, et la progression du cycle de réplication virale se fera en parallèle avec la différenciation des cellules épidermiques **(Rappillard, 2010)**.

Au niveau du col de l'utérus, les PVH peuvent atteindre les cellules épithéliales soit au profit de microlésions de l'épithélium, soit directement au niveau de la zone de transformation entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol **(Prétet *et al*.,2007)**. Les virus de PVH pénètrent donc l'épithélium et infectent les cellules basales qui sont le site de la régénération permanente de ces tissus. Après l'internalisation du virus à l'intérieure de la cellule, l'ADN virale est transporté au noyau où il est maintenu sous forme d'épisome (ADN circulaire extra-chromosomique). Le virus va détourner la machinerie cellulaire à son profit pour faire la réplication de son ADN en se servant des enzymes de la cellule hôte **(Rappillard, 2010)**.

Le génome viral se multiplie sous sa forme épisomale au niveau des couches basales de l'épithélium, cela se fait de manière limitée de 50 à 100 copies par cellule **(Beaudin *et al*.,2015)**. C'est la première phase d'amplification contrôlée par les protéines précoces E1 et E2 **(Bernichon *et al*.,2019)**. Au cours de la migration vers les couches superficielles de l'épithélium, les cellules infectées par le PVH sont soumises à une prolifération intense coordonnée par les protéines virales E6 et E7, retardant ainsi le processus de différentiation cellulaire **(Bernichon *et al*.,2019)**.

Au niveau de cette phase d'amplification, la réplication du génome viral augmente de 1000 à 10.000 copies par cellule accompagné d'une forte expression des protéines précoces. Dans les couches superficielles de l'épithélium, les promoteurs des gènes tardifs sont activés ce qui se traduit par l'expression des protéines de capside L1 et L2, permettant l'encapsidation du génome viral et la formation de nouveaux virions. Le virus suit un non cycle lytique et les nouveaux virions matures sont libérés dans le milieu

extérieur lors de la desquamation des couches superficielles épithéliales (Figure 12) **(Rappillard, 2010)**. Ces virions libérés peuvent alors se propager : soit au niveau du même ou d'autres épithéliums sains du même individu soit à une autre personne par contact direct ou indirect **(Robert, 2016)**.

8.1 Les différents types des cycles viraux du PVH

On identifie trois principaux types d'infection sur la base de l'expression des gènes viraux dans les cellules infectées.

8.1.1 L'infection latente (phase non productive)

le virus PVH pénètre les cellules basales de l'épithélium sans expression des gènes dans aucune des cellules de l'épithélium. L'épithélium semble sain (Figure 11) **(Beaudin *et al*.,2015).**

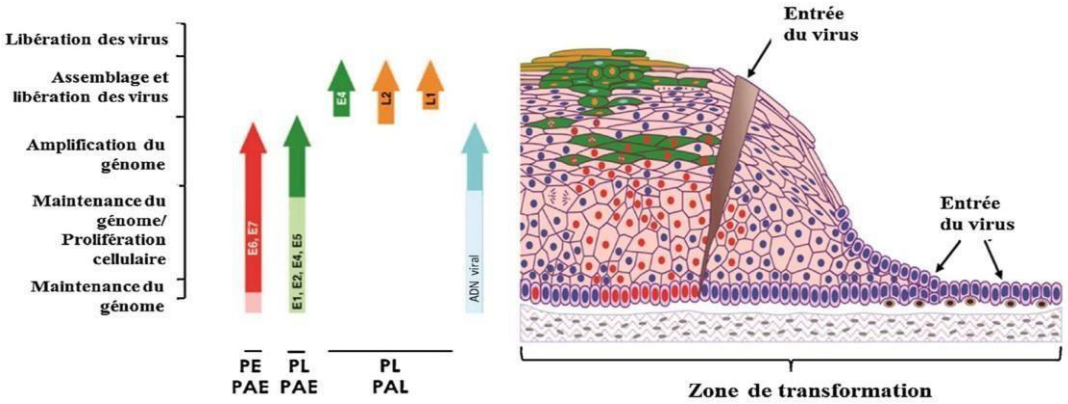


Figure 11. Cycle de papillomavirus **(Robert, 2016)**

8.1.2 L'infection productive (phase productive)

sous l'effet de certains facteurs endogènes et exogènes, le virus se réplique mais ne s'intègre pas dans le génome de la cellule infectée. Cette étape concerne l'expression des gènes viraux tardifs qui sont L1 et L2 dans les cellules intermédiaires et superficielles de l'épithélium infecté. Et donc la formation des nouveaux virions dans les cellules superficielles de l'épithélium et la propagation du virus (Figure 11) **(Beaudin *et al*.,2015)**

8.1.3 L'infection transformante

Qui survient après ou au cours d'une infection aiguë productive dans les couches basales. L'expression des gènes viraux précoces qui sont E6 et E7, dans les couches basales provoque une instabilité chromosomique et des anomalies qui durent et peuvent évoluer vers un cancer invasif. Le génome viral des PVH à haut risque s'intègre donc au génome de la cellule infectée contrairement au PVH à bas risque **(Beaudin *et al*.,2015)**.

9. Génotypes a haut risque vs bas risque

Les papillomavirus humains (HPV) sont classés en génotypes à bas risque (BR) et à haut risque (HR) selon leur capacité à induire une transformation cellulaire maligne(**de Villiers *et al*.,2004)**. Les génotypes BR, principalement HPV6 et HPV11, sont généralement associés à des lésions bénignes telles que les condylomes acuminés **(Garland & Steben, 2014)**. En revanche, les génotypes HR, notamment HPV16 et HPV18, jouent un rôle majeur dans le développement des lésions précancéreuses et du cancer du col de l'utérus **(Walboomers *et al*.,1999)**. Leur pouvoir oncogène est lié à l'expression des oncoprotéines virales E6 et E7, capables d'inactiver les protéines suppresseurs de tumeurs p53 et pRb, favorisant ainsi la prolifération cellulaire incontrôlée et l'instabilité génomique **(McLaughlin-Drubin & Münger, 2009)**.

Tableau 4 . Classification des génotypes du papillomavirus humain (HPV) selon leur potentiel oncogène et leurs principales pathologies associé **(Muñoz *et al*.,2003 ; Walboomers *et al*.,1999)**.

Principale pathologie associées	Génotype HPV	Niveau de risque oncogène
Condylomes acuminés, papillomes bénins	HPV6 ,HPV11	Faible risque (LR)
Lésions intraépithéliales de bas et haut grade	HPV31,HPV33 ,HPV35, HPV51 ,HPV52, HPV58	Risque intermédiare
Cancer du col de l'utérus, cancers anogénitaux et oropharyngés	HPV16, HPV18, HPV45, HPV56 ,HP59	Haut risque (HR)

10 . Oncprotéines virales E6 et E7

Les oncoprotéines virales E6 et E7 sont considérées comme les principaux facteurs impliqués dans la carcinogenèse induite par les papillomavirus humains à haut risque (HPV-

HR) **(McLaughlin-Drubin & Münger, 2009)**. Ces protéines sont exprimées précocement après l'infection virale et interviennent dans la perturbation du cycle cellulaire normal **(Moody & Laimins, 2010)**. L'oncoprotéine E6 agit principalement en favorisant la dégradation de la protéine suppresseur de tumeur p53, entraînant une inhibition de l'apoptose et une accumulation des anomalies génétiques **(Scheffner *et al*.,1990).** De son côté, l'oncoprotéine E7 se lie à la protéine du rétinoblastome (pRb) et provoque son inactivation, ce qui stimule une prolifération cellulaire incontrôlée **(Dyson *et al*., 1989)**. L'action combinée des protéines E6 et E7 favorise ainsi l'immortalisation cellulaire, l'instabilité génomique et la progression des lésions précancéreuses vers le cancer du col de l'utérus **(Moody & Laimins, 2010)**.

Tableau 5. Principales fonctions des oncoprotéines virales E6 et E7 des HPV-HR **(McLaughlin-Drubin & Münger, 2009 ; Moody & Laimins, 2010).**

Cible cellulaire	Effet principal	Conséquence
P53	Dégradation de p53	Diminution de l'apopptose
pRb	Inactivation depRb	Prolifération cellulaire incontrolée
ADN cellulaire	Perturbation du cycle cellulaire	Instabilité génomique et cancérisation

La protéine E6 La protéine E6 contient deux doigts de zinc hautement conservés et essentiels à sa fonctionnalité et un domaine de liaison aux protéines à domaines PDZ. Plusieurs partenaires de E6 sont décrits ce qui lui confère un nombre conséquent de fonctions **(Prétet *et al*.,2007)**. La première cible d'E6 est la protéine suppresseur de tumeur p53 **(Robert, 2016)**. Dans la :

A. La protéine E6

La protéine E6 contient deux doigts de zinc hautement conservés et essentiels à sa fonctionnalité et un domaine de liaison aux protéines à domaines PDZ. Plusieurs partenaires de E6 sont décrits ce qui lui confère un nombre conséquent de fonctions **(Prétet *et al*., 2007**). La

première cible d'E6 est la protéine suppresseur de tumeur p53 **(Robert, 2016)**. Dans la plupart des cancers humains, p53 est mutée. En effet, en association avec l'ubiquitine ligase E6AP (E6 Associated Protein), E6 favorise l'étiquetage de p53 par des molécules d'ubiquitine, p53 est alors dégradée par le protéasome 26S. E6 a également la capacité de piéger p53 dans le cytoplasme de la cellule et ainsi d'inhiber son activité transcriptionnelle nécessaire à la régulation du cycle cellulaire, à la réparation de l'ADN et à l'induction de l'apoptose. La protéine E6 interfère directement avec l'activité de protéines impliquées dans la réparation de l'ADN (MGMT, XRCC1). D'autres protéines impliquées dans l'apoptose sont des cibles d'E6. L'activation des récepteurs de mort directe (TNF R1) ou indirecte (Fas via son adaptateur FADD) est ainsi inhibée par E6. En outre, la protéine pro-apoptotique Bak est sujette à la dégradation médiée par E6 des PVH6 ou 18. Finalement, l'expression des ARNm de Bax est réduite en présence d'E6 du PVH16 et la stabilité de la protéine est diminuée. De plus, E6 limite la perte des télomères typiquement observée lors des divisions cellulaires successives. À cet effet, E6 active l'expression de la sous-unité catalytique limitante de la télomérase, hTERT. De plus, E6 favorise le processus métastatique en réduisant l'adhérence cellulaire à la matrice extracellulaire et en activant la production de VEGF, le principal facteur responsable de l'angiogenèse (Figure 12) **(Prétet *et al.*,2007)**.

B. La protéine E7

La protéine E7 a deux motifs en doigt de zinc, ce qui lui permet de se lier aux dimères. Parmi les propriétés d'immortalisation de cette protéine, l'inactivation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb joue un rôle essentiel **(Prétet *et al.*,2007)**. La principale cible de E7 est la protéine suppresseur de tumeur pRb. La protéine E7 des PVH HR présente une forte affinité à la protéine pRb et est facilement hydrolysée via le protéasome. Cela permet particulièrement de libérer les facteurs de transcription E2F/DP de l'action inhibitrice de pRb qui induit l'entrée en phase S du cycle cellulaire utile au cycle viral productif. La protéine E7 est aussi capable d'activer les complexes cyclines E/CDK2 (CDK : 16 kinase dépendante des cyclines), participer dans le passage du point de restriction R du cycle cellulaire et la phase G1 tardive, et cycline A/CDK2, participer dans la transition G1/S et la progression dans S. De plus, la protéine E7 est capable de s'attacher et d'inactiver les inhibiteurs de CDK (CKI) p21Cip1 et p27Kip1, qui ne sont plus capable d'inhiber l'activité des complexes cycline/CDK. La surexpression d'E7 conduit également à l'expression de la CKI p16INK4 a considérée, dans le

contexte de l'infection par PVH, comme un marqueur indirect de l'expression d'E7 **(Robert, 2016)**. L'expression d'E7 favorise aussi l'instabilité génomique en perturbant la duplication des centrosomes et la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose des cellules infectées. Il en résulte des mitoses anormales, dites multipolaires qui sont caractéristiques des lésions associées aux PVH à haut risque. Récemment, **(Thierry *et al*.,2004),** ont pu démontrer que E7 est impliquée dans l'activation de gène mitotiques tels que Plk ou Aurora ce qui induit l'instabilité génomique. Elle peut également favoriser le développement tumoral et de moduler la mobilité cellulaire en agissant sur la structure du cytosquelette, ou en diminuant la production de fibronectines indispensables à l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire (Figure 13) **(Prétet *et al*.,2007)**.

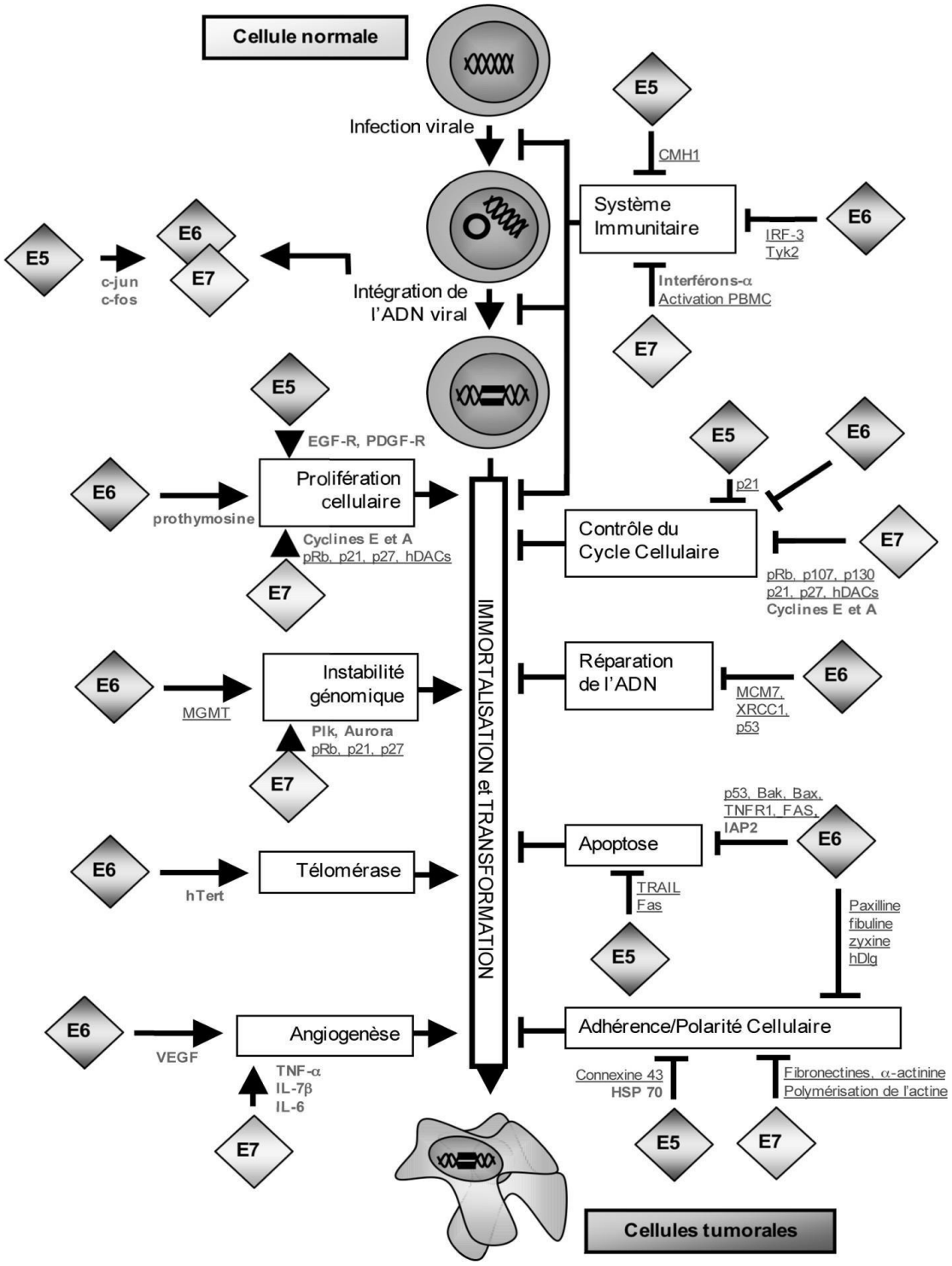


Figure 12. Représentation des principales activités des protéines virales E5, E6 et E7 des PVH à haut risque, impliquées dans l'immortalisation et la transformation des cellules infectées **(Prétet *et al.*, 2007)**

11. mécanismes d'oncogenèse

L'oncogenèse induite par le papillomavirus humain (HPV) à haut risque repose principalement sur l'expression des oncoprotéines virales E6 et E7, qui jouent un rôle central dans la transformation maligne des cellules épithéliales du col utérin. Ces protéines perturbent les mécanismes de régulation du cycle cellulaire en ciblant des suppresseurs de tumeurs majeurs, notamment p53 et la protéine du rétinoblastome (pRb), entraînant ainsi une prolifération cellulaire incontrôlée et une immortalisation des kératinocytes infectés. La protéine E7 se lie à pRb et provoque son inactivation ou sa dégradation, ce qui libère les facteurs de transcription E2F et induit l'entrée forcée en phase S du cycle cellulaire, favorisant une prolifération excessive des cellules infectées. Parallèlement, la protéine E6 induit la dégradation de la protéine p53 via un complexe ubiquitine-ligase, empêchant ainsi l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose normalement déclenchée en cas de dommages de l'ADN. Cette double inactivation des voies p53 et pRb entraîne une instabilité génomique importante, caractérisée par des anomalies chromosomiques, des cassures d'ADN et une altération des mécanismes de réparation, ce qui favorise l'accumulation de mutations oncogéniques. En outre, l'expression persistante de E6 et E7 permet de contourner la sénescence cellulaire en activant la télomérase, contribuant ainsi à l'immortalisation des cellules épithéliales infectées. Lorsque le génome viral s'intègre dans celui de la cellule hôte, il peut entraîner la perte de la régulation du gène E2, ce qui provoque une surexpression des oncogènes E6 et E7 et accélère la progression vers les lésions précancéreuses puis cancéreuses.

Enfin, ces altérations moléculaires s'accompagnent d'une dérégulation des voies de réparation de l'ADN et d'un stress géno-toxique chronique, renforçant le potentiel tumoral des cellules infectées et favorisant la progression des lésions intraépithéliales vers des stades de plus haut grade.

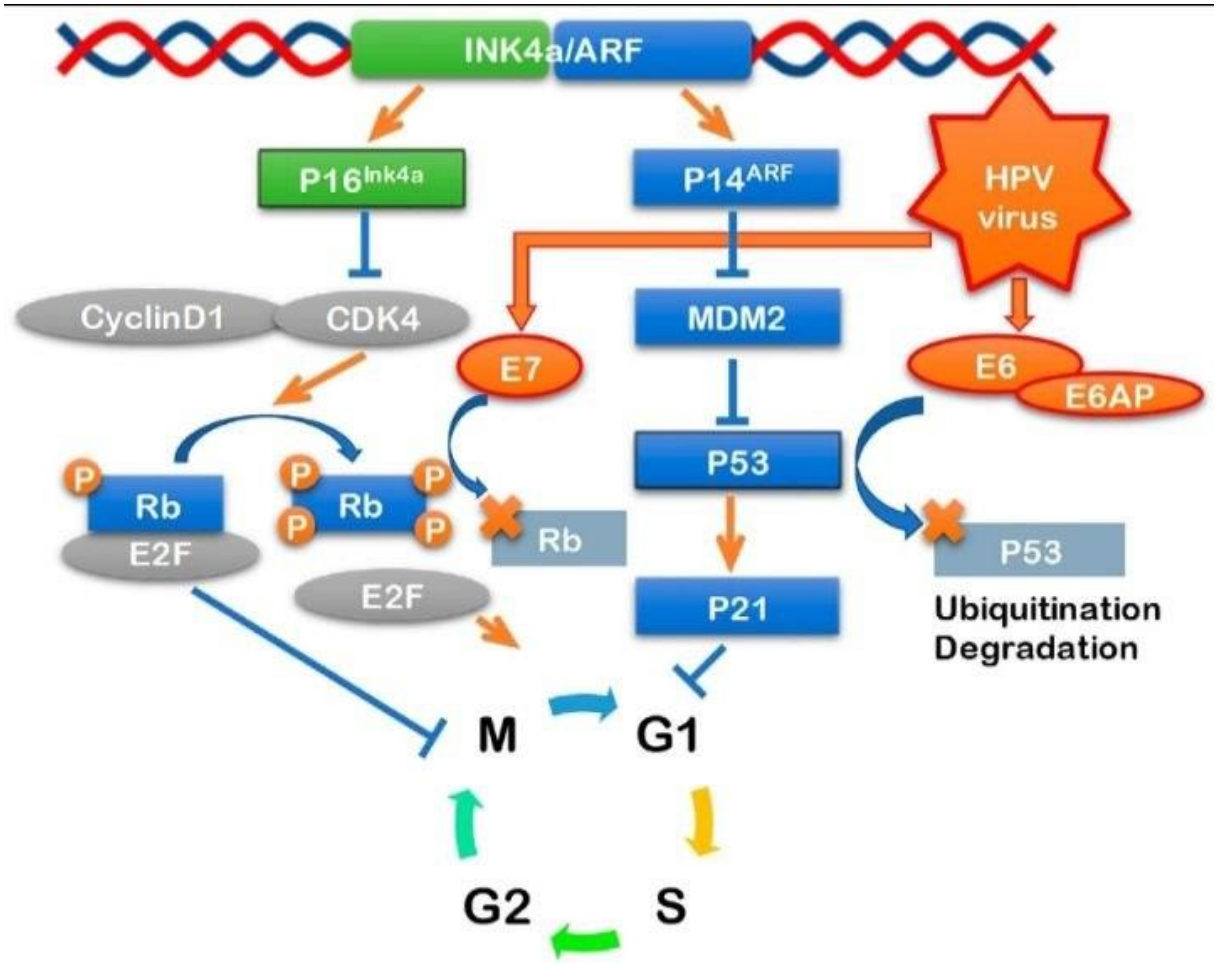


Figure 13. Mécanisme de l'oncogenèse induite par les oncoprotéines E6 et E7 du papillomavirus humain (HPV) à haut risque**(Doorbar J. *et al*.,2012).**

12. Dégradation de la protéine p53 par l'oncoprotéine E6

La protéine p53 constitue un élément essentiel dans la protection de la cellule contre les transformations malignes. En conditions physiologiques normales, cette protéine intervient dans le contrôle du cycle cellulaire, la réparation des lésions de l'ADN ainsi que l'induction de l'apoptose lorsque les dommages cellulaires deviennent irréversibles **(Levine, 1997)**.Lors d'une infection par les papillomavirus humains à haut risque, notamment HPV16 et HPV18, la cellule

infectée exprime l'oncoprotéine virale E6. Cette protéine joue un rôle majeur dans la cancérogenèse cervicale en ciblant directement la protéine p53 **(Mantovani & Banks, 2001)**.

Le mécanisme débute par l'interaction entre E6 et une protéine cellulaire appelée E6-AP **(E6-Associated Protein)**, possédant une activité d'ubiquitine ligase. Après la formation du complexe E6/E6-AP, celui-ci se fixe à p53 et induit son ubiquitination **(Scheffner *et al*.,1993)**.L'ubiquitination correspond à l'ajout de plusieurs molécules d'ubiquitine sur la protéine p53. Cette modification sert de signal intracellulaire dirigeant p53 vers le protéasome, structure responsable de la dégradation des protéines cellulaires **(Scheffner *et al*., 1990)**.La destruction progressive de p53 entraîne une perte du contrôle des dommages de l'ADN et une inhibition des mécanismes apoptotiques. Par conséquent, les cellules infectées continuent à proliférer malgré la présence d'anomalies génétiques, favorisant ainsi l'accumulation des mutations et l'instabilité génomique **(Moody & Laimins, 2010)** . Cette altération des mécanismes de défense cellulaire représente une étape importante dans le développement des lésions précancéreuses et du cancer invasif du col de l'utérus **(Münger *et al*., 2004)**.

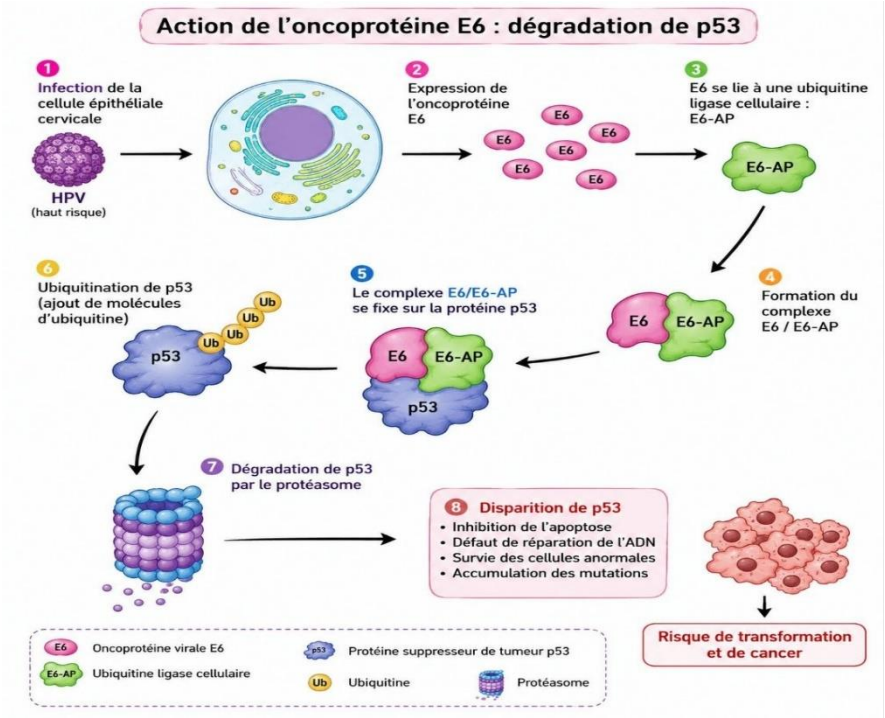


Figure 14. Mécanisme de dégradation de la protéine p53 par l'oncoprotéine virale E6 des HPV à haut risque **(Scheffner *et al*.,1990 ; Scheffner *et al*., 1993 ; Moody & Laimins, 2010).**

13. Inactivation de la protéine Rb par l'oncoprotéine E7

La protéine du rétinoblastome (Rb) est l'un des principaux régulateurs du cycle cellulaire. Dans une cellule normale, elle contrôle le passage de la phase G1 vers la phase S en se liant aux facteurs de transcription E2F. Cette liaison empêche l'activation des gènes nécessaires à la réplication de l'ADN et maintient ainsi la prolifération cellulaire sous contrôle **(Dyson *et al*., 1989)**.Au cours de l'infection par un HPV à haut risque, la cellule infectée produit l'oncoprotéine virale E7. Cette protéine possède une forte affinité pour Rb et se fixe directement sur celle-ci, provoquant son inactivation fonctionnelle **(Münger *et al*.,1989)**.

La fixation de E7 sur Rb entraîne la libération des facteurs E2F auparavant inhibés. Une fois activés, ces facteurs stimulent l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la synthèse de l'ADN et la progression du cycle cellulaire **(McLaughlin-Drubin & Münger, 2009)**.La cellule entre alors de manière incontrôlée dans la phase S, même en présence d'altérations génétiques. Cette prolifération excessive favorise l'apparition d'erreurs de réplication et contribue à l'instabilité chromosomique observée dans les cellules infectées **(Doorbar, 2006)**.Par ailleurs, l'action de E7 agit en synergie avec celle de E6. Tandis que E7 stimule la prolifération cellulaire par l'inactivation de Rb, E6 empêche l'élimination des cellules anormales par la dégradation de p53. L'association de ces deux mécanismes favorise progressivement la transformation maligne des cellules cervicales **(Moody & Laimins, 2010)**.

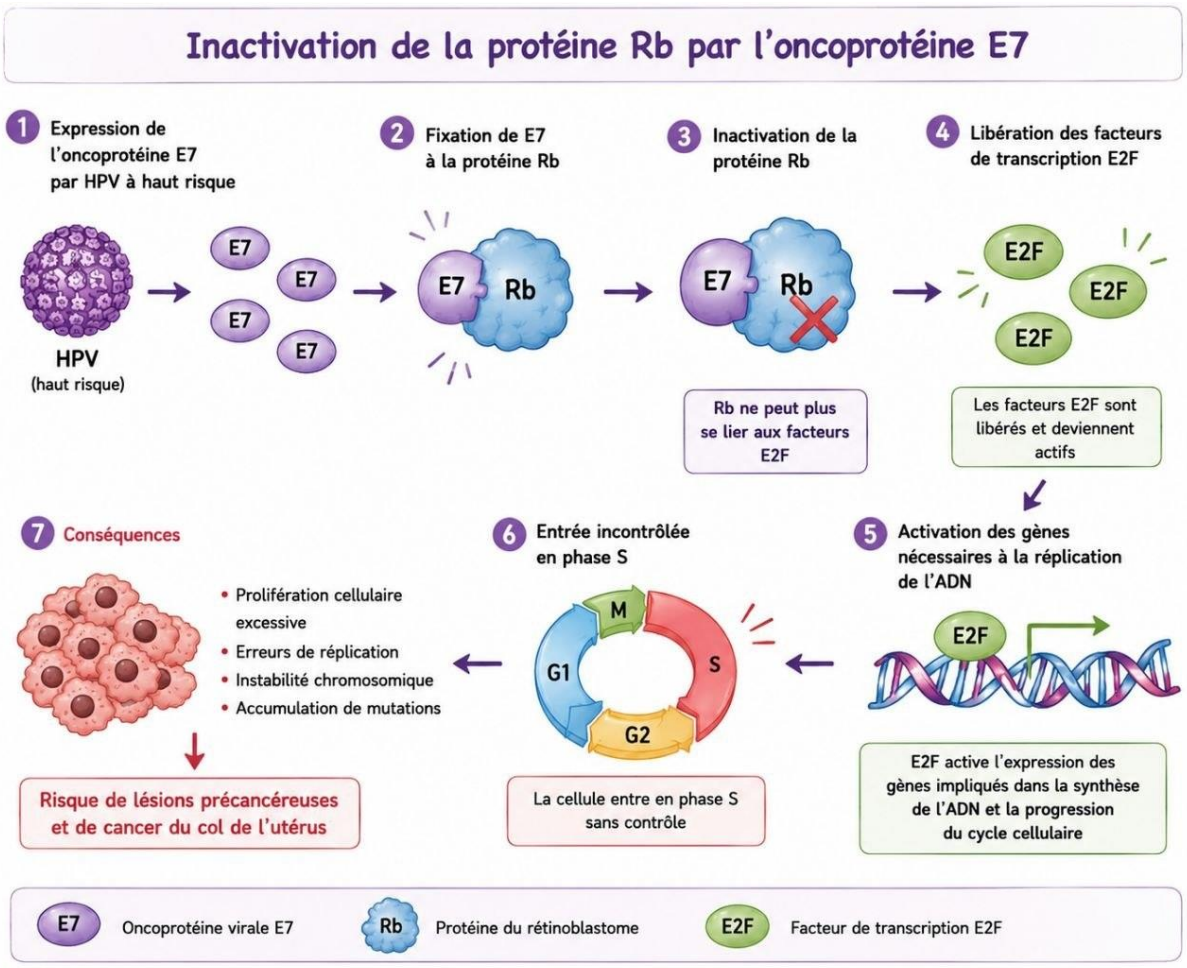


Figure 15. Mécanisme d'inactivation de la protéine Rb par l'oncoprotéine virale E7 des HPV à haut risque **(Dyson *et al*.,1989 ; Münger *et al*., 1989 ; McLaughlin-Drubin & Münger, 2009).**

14. Télomérase, apoptose et instabilité génomique

Les oncoprotéines virales E6 et E7 des papillomavirus humains à haut risque jouent un rôle majeur dans la transformation maligne des cellules épithéliales du col de l'utérus. En plus de la dégradation de p53 et de l'inactivation de Rb, ces protéines perturbent plusieurs mécanismes cellulaires impliqués dans le maintien de la stabilité génétique, notamment l'apoptose, l'activité de la télomérase et l'intégrité chromosomique.

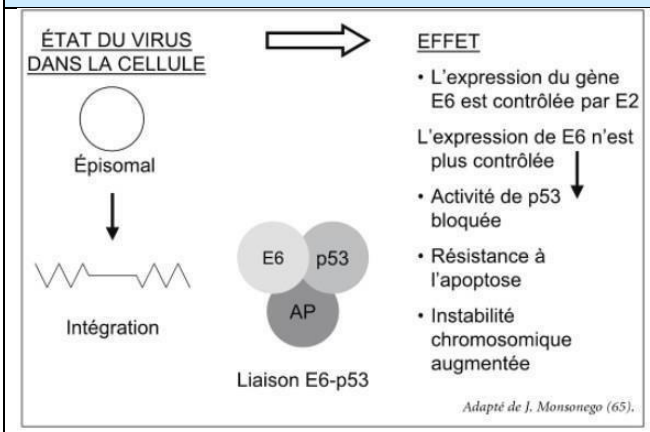
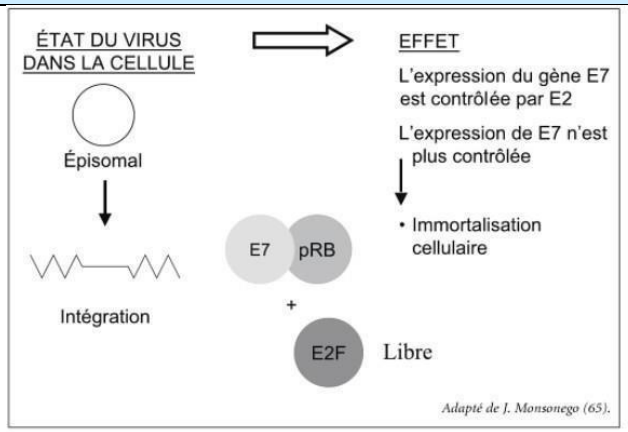
La télomérase est une enzyme responsable du maintien de la longueur des télomères situés à l'extrémité des chromosomes. Dans les cellules normales, l'activité télomérase est faible ou

absente, ce qui limite le nombre de divisions cellulaires. Cependant, l'oncoprotéine E6 peut activer l'expression de la sous-unité catalytique hTERT de la télomérase. Cette activation permet aux cellules infectées d'échapper à la sénescence et d'acquérir une capacité de prolifération prolongée **(Klingelhutz *et al*.,1996)**.

Par ailleurs, la dégradation de p53 par E6 entraîne une inhibition des mécanismes apoptotiques. En absence de p53 fonctionnelle, les cellules présentant des anomalies génétiques ne sont plus éliminées par apoptose et continuent à survivre malgré les dommages de l'ADN **(Scheffner *et al*.,1990)**.

L'oncoprotéine E7 contribue également à l'instabilité génomique par l'inactivation de la protéine Rb et la stimulation incontrôlée du cycle cellulaire. Cette prolifération excessive favorise les erreurs de réplication de l'ADN, les anomalies chromosomiques et l'accumulation progressive des mutations génétiques **(Moody & Laimins, 2010)**.L'association de l'activation de la télomérase, de l'inhibition de l'apoptose et de l'instabilité génomique crée un environnement favorable à la persistance virale et à la transformation cancéreuse des cellules cervicales **(Moody & Laimins, 2010 ; Münger *et al*.,2004)** .

Tableau 6. Rôles de E6 et E7 dans le processus de cancérisation suite à l'intégration de l'ADN viral des PVH à haut potentiel oncogène **(Beaudin *et al*.,2015).**

Role de l'oncoprotéine E6 dans la transformation	**Role de l'oncoprotéine E7 dans la transformation**
	

14.1 Polymorphisme génétique des HPV-HR

14.1.1 Définition et origine des variants intra-génotypiques

Au sein d'un même génotype (ex. HPV16), il existe des variants naturels différant par 1 à 5 % de la séquence nucléotidique. Ces polymorphismes résultent d'erreurs de la polymérase virale et d'une pression sélective exercée par le système immunitaire de l'hôte. Ils sont classés en différentes lignées phylogénétiques et sous-lignées selon leurs variations génétiques **(Cornet *et al*., 2012).**

14.2. Principales lignées phylogénétiques (européenne, asiatique, africaine, etc.)

Pour le HPV16, plusieurs lignées phylogénétiques ont été identifiées : la lignée européenne (A), la lignée africaine 1 (B), la lignée africaine 2 (C) et la lignée asiatique-américaine (D). Certaines lignées, notamment les variants non européens, semblent associées à un risque plus élevé de persistance virale et de progression vers des lésions cervicales sévères **(Mirabello *et al*., 2016).**

14.3 Polymorphismes d'E6/E7 documentés dans la littérature

14.3.1 HPV16 (L83V, D25E, H78Y, etc)

Plusieurs polymorphismes des régions E6 et E7 du HPV16 ont été décrits dans la littérature. Le variant E6 L83V représente le polymorphisme le plus étudié et a été associé à un risque accru de lésions intraépithéliales de haut grade et de cancer du col de l'utérus. D'autres variants, tels que D25E, H78Y, N29S et S71F, pourraient modifier les propriétés biologiques des protéines virales E6/E7 et influencer leur potentiel oncogène **(Berumen *et al*., 2001)**.

14.3.2 HPV18 (E6 T85R, etc)

Pour le HPV18, certains polymorphismes de la région E6 ont également été identifiés. Le variant T85R a été associé à une progression plus rapide des lésions cervicales dans certaines études, tandis que la région E7 semble présenter moins de variations génétiques **(Chen *et al*., 2018).**

14.3.3 HPV31, 33, 45, 52, 58

Les données concernant les polymorphismes des HPV31, 33, 45, 52 et 58 restent limitées. Certains variants ont toutefois été rapportés dans les lésions précancéreuses cervicales, notamment le variant A2 du HPV33, qui semble plus fréquent dans les lésions CIN3 **(Zhao *et al*., 2019).**

15. Impact des polymorphismes sur l'agressivité des lésions précancéreuses

15.1 Association avec le grade CIN (CIN2 vs CIN3)

Plusieurs études ont montré une association entre certains polymorphismes des régions E6/E7 et la sévérité des lésions cervicales. Les variants non européens du HPV16 seraient plus fréquemment retrouvés dans les lésions CIN3 que dans les lésions CIN2, suggérant un potentiel oncogène plus important **(Mirabello *et al*., 2016).**

15.2 Association avec la progression rapide / persistance

Certaines études de cohorte ont montré que les variants non européens du HPV16 sont associés à un risque plus élevé de persistance virale ainsi qu'à une progression plus rapide vers des lésions cervicales de haut grade **(POBASCAM Study Group, 2012).**

15.3 Interaction avec la charge virale et le statut immunitaire

La charge virale semble moduler l'effet des polymorphismes viraux sur l'agressivité des lésions. Certains variants des protéines E6/E7 pourraient également favoriser l'échappement immunitaire en modifiant les épitopes reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques **(Kim *et al*., 2011)**.

15.4 Mécanismes moléculaires sous-jacents

Les protéines E6 et E7 interviennent dans l'inactivation des protéines suppresseurs de tumeurs p53 et pRb. Certains polymorphismes augmentent la capacité des protéines virales à dégrader ces protéines cellulaires, favorisant ainsi la prolifération cellulaire et la progression tumorale **(Richard *et al*., 2020).**

16. Lacunes scientifiques et justification de l'étude

16.1 Hétérogénéité des études existantes

Les études publiées présentent une grande hétérogénéité concernant les définitions de l'agressivité lésionnelle, les populations étudiées ainsi que les méthodes d'analyse moléculaire utilisées **(Mirabello *et al*., 2016)**.

16.2 Peu de données sur les populations nord-africaines / méditerranéennes

Les données concernant les polymorphismes des régions E6/E7 dans les populations nord-africaines restent limitées. La distribution des variants HPV dans la population algérienne demeure encore insuffisamment étudiée **(Cornet *et al*., 2012)**.

16.3 Absence d'intégration des polymorphismes multiples dans un score de risque

La majorité des études se concentrent sur un polymorphisme isolé sans intégrer plusieurs variants au sein d'un même modèle prédictif de risque lésionnel **(Zhao *et al*., 2019)**.

16.4 Manque de standardisation pour l'agressivité lésionnelle

La classification basée uniquement sur le grade histologique CIN2/CIN3 reste insuffisante pour évaluer l'évolution clinique réelle des lésions cervicales. Une approche basée sur la persistance et la progression histologique paraît plus pertinente **(POBASCAM Study Group, 2012)**.

Notre étude vise à contribuer à une meilleure caractérisation des polymorphismes des régions E6/E7 des HPV à haut risque dans une population nord-africaine, ainsi qu'à étudier leur relation potentielle avec l'agressivité des lésions précancéreuses cervicales **(Cornet *et al*., 2012 ; Zhao *et al*., 2019)**.

Chapitre 2
Matériel et méthodes

1. Matériel et méthode

Slection des patient :

Patients admis avec HPV ou lesion Precancereuse au 3 service hospitalier .

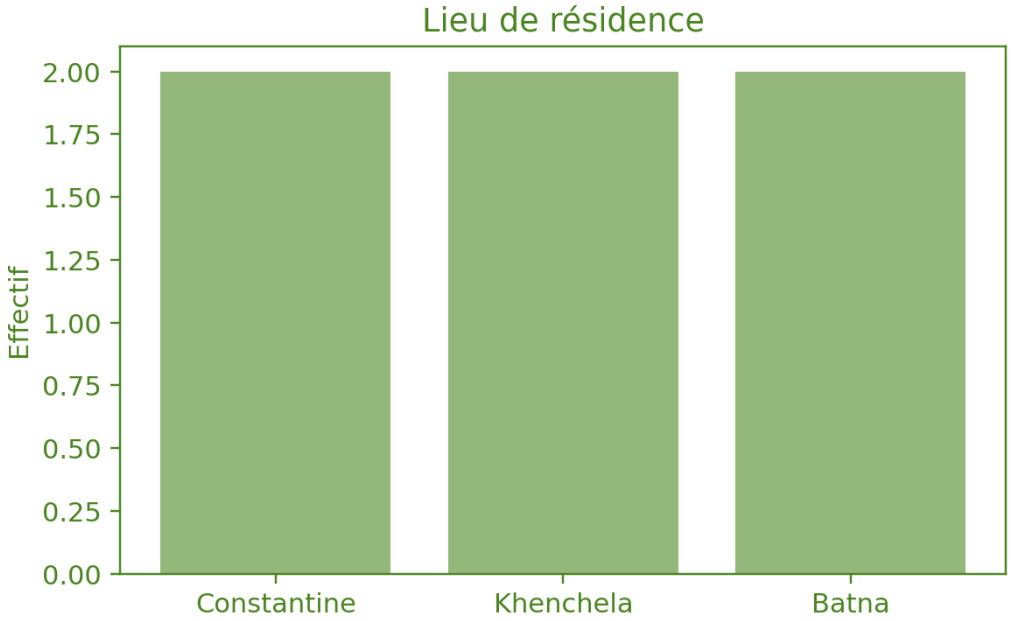


Figure 16. Répartition géographique

1.1 analyse_HPV_E6_E7_statistiques

Tableau 7. Données nettoyées

Patient	Age	Situation familiale	Résidence	Age 1er rapport	Partenaires	Grossesse	Nb grossesses	Contraception hormonale	Tabagisme	IST	Statut immunitaire	Frottis	Histologie	HPV HR	Type HPV	Charge virale	Séquençage E6/E7	Polymorphisme	Type mutations	Localisation	Impact
1	59	Mariée	Constantine (ville)	19	1	Oui	7	Oui	Non	Non	Normale	HSIL									

2	75	Mariée	Constantine (ville)	13	1	Oui	10	Oui	Non	Non	Normale	HSIL							
3	67	Mariée	Khenchela (ville)	19	1	Oui	6	Oui	Non	Non	Normale			Non						
4	70	Mariée	Khenchela (ville)	22	1	Oui	8	Oui	Non	Non	Normale			Non						
5	37	Mariée	Batna (ville)	20	1	Oui	3	Oui	Non	Non	Normale	HSIL								
6	45	Mariée	Batna (ville)	18	1	Oui	4	Oui	Non	Non	Normale			Non						

Tableau 8. Statistiques

Indicateur	n	Moyenne	ET	Médiane	Min	Max
Age actuel	6	58,83	15	63	37	75
Age 1er rapport	6	18,5	3	19	13	22
Nombre de grossesses	6	6,33	2,6	6,5	3	10

Tableau 9. Statistiques

Variable catégorielle	Modalité	Effectif	%
Frottis	HSIL	3	50
Frottis	Non renseigné / non-HSIL	3	50
HPV haut risque	Non	3	50

HPV haut risque	Non renseigné	3	50
Résidence	Constantine	2	33
Résidence	Khenchela	2	33
Résidence	Batna	2	33

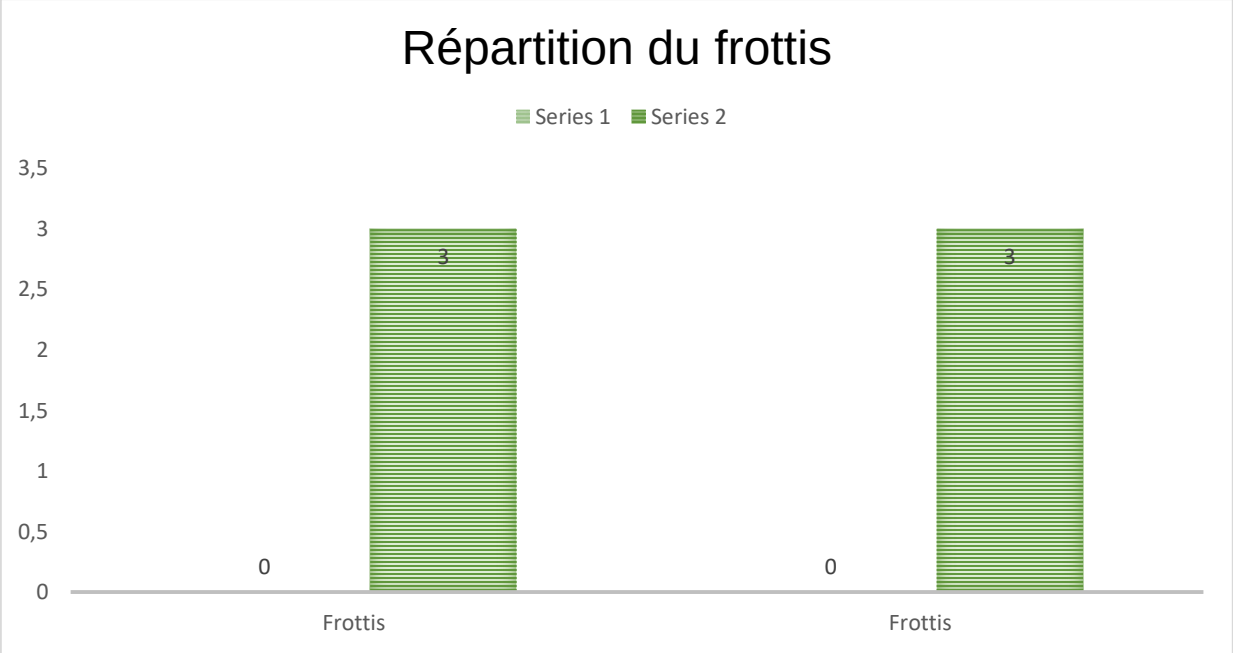


Figure 17. Histogramme de répartiton du frottis

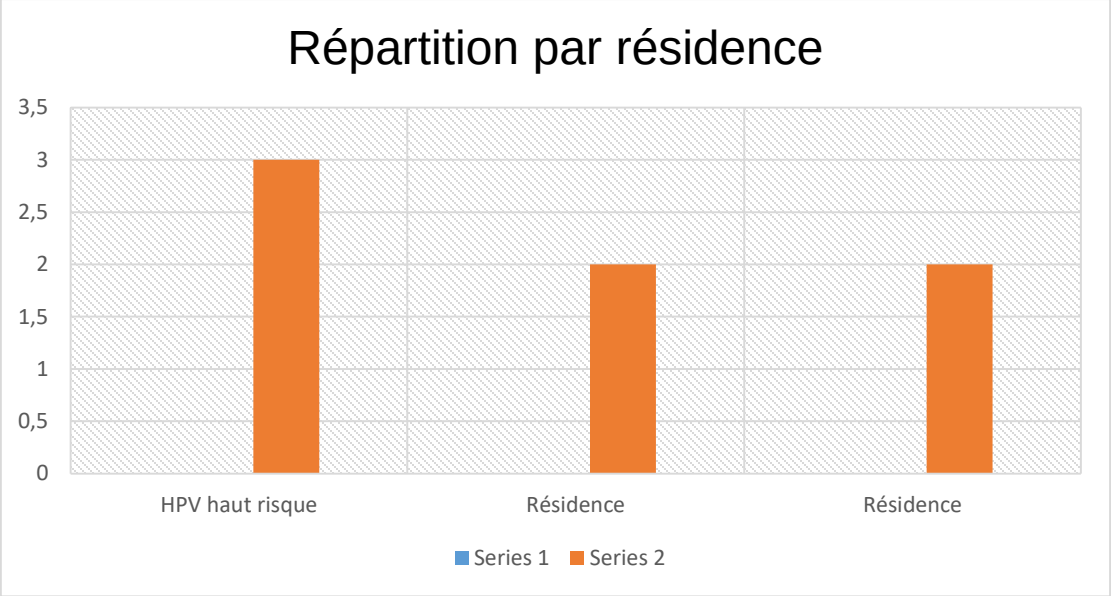


Figure 18. Histogramme de la répartition par résidence

Tableau 10. Comparaison des variables HSIL

Variable	Comparaison	n HSIL	Moyenne HSIL	n autre	Moyenne autre	ddl1	ddl2	F	p	eta²	Conclusion
Age actuel	HSIL vs non renseigné/non-HSIL	3	57	3	60,67	1	4	0,1	0,8	0	Non significatif; exploration seulement
Age 1er rapport	HSIL vs non renseigné/non-HSIL	3	17,33	3	19,67	1	4	0,9	0,4	0,2	Non significatif; exploration seulement
Nombre grossesses	HSIL vs non renseigné/non-HSIL	3	6,67	3	6	1	4	0,1	0,8	0	Non significatif; exploration seulement

Tableau 11. Pipeline bio-informatique des Analyses

Etape	Analyse	Outil / base	Résultat attendu
1	Typage HPV haut risque	PCR/kit HPV HR	HPV16, HPV18 ou autre HR
2	Séquençage E6/E7	Sanger ou NGS	Fichiers .ab1/.fastq par patiente
3	Contrôle qualité	Chromas / FastQC	Bases fiables, trimming
4	Alignement	PaVE, NCBI BLAST, MAFFT	Alignement contre HPV16REF/HPV18REF
5	Appel des variants	MEGA/Geneious/Snippy selon données	Substitutions, insertions, délétions
6	Traduction protéique	Expasy/ORF translator/Biopython	Mutations synonymes et non synonymes
7	Annotation fonctionnelle	UniProt, PaVE, littérature	Domaine zinc-binding, motif PDZ, p53/pRb
8	Prédiction impact	SIFT/PROVEAN/MutPred/structure	Impact fonctionnel probable
9	Analyse clinique	Fisher/Chi², régression logistique	Association variants-génotype-charge-grade

1.2 Etude bio-informatique

Tableau 12. Analyse bioinformatique de l'etude

Étude bio-informatique HPV E6/E7 – lien avec le PFE	
Objectif	Compléter le tableau épidémiologique avec un cadre bio-informatique fiable à partir des bases de données publiques et préciser ce qui reste à mesurer chez les patientes.
Important	Les bases de données permettent de renseigner les références HPV16/HPV18, les gènes E6/E7, les motifs fonctionnels, les mutations à rechercher et l'interprétation biologique. Elles ne permettent pas d'attribuer un génotype, une charge virale ou une mutation à une patiente sans test moléculaire réel.
Conclusion pratique	Pour les patientes HSIL, l'hypothèse forte du PFE est : lésion agressive ↔ infection persistante HPV-HR, surtout HPV16/18 ↔ variations E6/E7 pouvant modifier l'interaction E6-p53/E6AP et E7-pRb. Les colonnes patient-spécifiques sont donc marquées : à confirmer par PCR/génotypage/séquençage.
Sources principales	NCBI RefSeq NC_001526.4 (HPV16), NC_001357.1 (HPV18); PaVE HPV16REF/HPV18REF; UniProt P03126/P03129/P06463/P06788; littérature sur L83V/T350G et E7 LxCxE.
Date applica	2026-05-31

Tableau 13. Bases HPV16 HPV18

RIVM	PaVE	HPV18	HPV18	HPV16	HPV16	HPV18	HPV16	Gène/protéine	Référence séquence	Longueur/coordonnées utiles	Motif/domaine clé	Fonction biologique	Utilisation dans le PFE	Source URL
Typage papillomavirus	Références et annotations	E7	E6	E7	E6	Génome complet	Génome complet	Génome complet	NCBI RefSeq NC_001526.4 ; prototype GenBank K02718.1	Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4
Papillomavirus Genotyping Tool	HPV16REF / HPV18REF	UniProt P06788	UniProt P06463; extraire CDS depuis NC_001357.1	UniProt P03129	UniProt P03126; extraire CDS depuis NC_001526.4/	NCBI RefSeq NC_001357.1				Génome circulaire ~7857 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV18	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001357.1
Entrée FASTA patient	Gènes, ORF, transcrits, protéines, BLAST PV	105 aa selon UniProt	~158 aa selon UniProt/littérature	98 aa	151 aa selon UniProt/littérature					Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4
Typage par similarité de séquence	Annotation papillomavirus spécialisée	Motif LxCxE pRb; domaine C-terminal	Domaines zinc CxxC; motif PDZ C-terminal;	Motif LxCxE de liaison pRb; région CR2; domaine C-terminal CXXC	Deux domaines zinc CxxC; motif PDZ C-terminal;					Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4
Identifier HPV16/18/ autres à partir des	Contrôle d'annotation et BLAST spécifique	Entrée en cycle cellulaire et	Oncoprotéine HPV-HR; dégradation p53	Force l'entrée G1/S; inactive la voie pRb/E2F	Oncoprotéine; favorise dégradation p53 et					Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4
Alternative pratique pour génotypage in silico	Base recommandée pour valider les ORF E6/E7	Comparer impact E7 HPV18 chez les HSIL/CIN	Comparer HPV18 aux HPV16 dans les lésions agressives	Relier variants E7 à prolifération et agressivité lésionnelle	Relier variants E6 aux HSIL/CIN II-III					Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4
https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/papillomavirus/	https://pave.niaid.nih.gov/	https://www.uniprot.org/uniprotkb/P06788/entry	https://www.uniprot.org/uniprotkb/P06463/entry	https://www.uniprot.org/uniprotkb/P03129/entry	https://www.uniprot.org/uniprotkb/P03126/entry					Génome circulaire ~7906 bp	Référence officielle pour alignement	Base pour extraire E6/E7 et annoter variants	Référence primaire pour les patientes HPV16 positives	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4

Tableau 14. Mutations_prioritaires

HPV	Gène	Variant à rechercher	Type	Localisation / domaine	Impact fonctionnel attendu	Interprétation pour votre cohorte	Source URL
HPV16	E6	T350G → L83V	Non synonyme	E6, région associée à variants intratypiques	Associée dans plusieurs études à persistance/progression et risque HSIL/CIN élevé	À rechercher en priorité chez les 3 patientes HSIL	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9862970/
HPV16	E6	Variants dans domaines CxxC zinc	Non synonyme/indel critique	Domaines zinc E6	Peuvent altérer stabilité E6 et liaison partenaires cellulaires	À annoter comme fort impact si mutation touche Cys	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2768073/
HPV16	E6	Altérations motif PDZ C-terminal	Non synonyme/stop/indel	Extrémité C-terminale E6	Peut modifier interactions avec protéines à domaine PDZ et transformation	À classer comme fonctionnellement important	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5497797/
HPV16	E7	L28F	Non synonyme	Région CR2 proche motif pRb	Rapportée; certaines études l'associent à risque plus faible que L83V	À interpréter avec prudence selon contexte géographique	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9862970/
HPV16	E7	Mutations motif LxCxE	Non synonyme/indel critique	Motif de liaison pRb	Peut modifier liaison pRb et dérégulation	Fort lien mécanistique avec agressivité des lésions	https://www.mdpi.com/1422-0067/22/3/1400
HPV18	E6/E7	Variants E6-E7 contre NC_001357.1	Synonyme/non synonyme/indel	E6-p53/E6AP; E7-pRb	Impact variable selon substitution et domaine	À intégrer car HPV18 est HR et fréquent dans cancers	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11227198/
HPV16/18	E6/E7	Charge virale élevée + expression E6/E7	Quantitative	Non mutationnel	Associée biologiquement à expression E6/E7 et prolifération	Variable quantitative majeure à relier HSIL/CIN III	https://arxiv.org/abs/q-bio/0511019

Tableau 15. Pipeline_bioinfo

Étape	Donnée nécessaire	Outil/base recommandé	Résultat produit	Lien avec variable du tableau
1	ADN cervical tumoral ou frottis positif	Extraction ADN + contrôle qualité	ADN exploitable	Condition préalable
2	ADN HPV	PCR HPV-HR ou test génotypage commercial	Présence HPV-HR Oui/Non	Présence HPV HR
3	Échantillons HPV-HR positifs	Génotypage HPV16/18/autres HR	Type HPV détecté	Génotype HPV16/18/autres
4	ADN positif	qPCR ou ddPCR	Copies virales/cellule ou Ct	Charge virale
5	ADN HPV16/18/autres HR	PCR E6/E7 puis Sanger ou NGS	Séquences FASTA E6/E7	Séquences E6/E7
6	FASTA patientes	NCBI BLAST + PaVE PV BLAST + RIVM genotyping	Confirmation génotype et similarité	Contrôle qualité génotype
7	FASTA E6/E7 + référence	MAFFT/MUSCLE/MEGA/Geneious	Alignement multiple	Détection des substitutions
8	Alignement codant	Traduction in silico + comparaison protéique	Synonyme/non synonyme/indel/stop	Type de mutation
9	Variant protéique	UniProt/PaVE/domaines fonctionnels	Domaine touché: E6 zinc/PDZ, E7 LxCxE/CXXC	Localisation mutation
10	Variables cliniques + moléculaires	Fisher/Chi2; Kruskal/ANOVA; régression logistique	Association mutation/charge/génotype avec HSIL/CIN	Lien statistique avec agressivité

Tableau 16. Codage tests pour variable

Variable PFE	Codage proposé	Test statistique	Hypothèse testée	Remarque
Agressivité lésionnelle	0=normal/LSIL/CIN I; 1=HSIL/CIN II-CIN III	Régression logistique; Fisher si n faible	Les polymorphismes E6/E7 augmentent la probabilité HSIL/CIN II-III	Avec n=6, résultat uniquement descriptif
Génotype HPV	HPV16 / HPV18 / autres HR / négatif	Fisher exact ou Chi2	HPV16/18 plus associés aux lésions agressives	Regrouper autres HR si effectif faible
Charge virale	Faible/modérée/élevée ou continue log10	Kruskal-Wallis/ANOVA si normalité; régression	Charge élevée associée à HSIL/CIN III	Utiliser log10(copies)
Mutation E6/E7	0=absente; 1=présente; sous-types L83V/L28F/etc.	Fisher exact; régression pénalisée si petit n	Mutations non synonymes associées à agressivité	Éviter surinterprétation des synonymes
Localisation fonctionnelle	hors domaine / domaine critique	Fisher exact	Les mutations en domaine critique ont plus d'impact	E6 zinc/PDZ; E7 LxCxE/CXXC
Impact protéique	faible/modéré/élevé	Test de tendance; régression ordinale	Impact prédit croissant avec sévérité CIN	Basé sur domaine + changement aa + prédicteurs

Chapitre 3
Résultats et Discussion

1.1 polymorphisme génétique des oncoprotéines virales E6/E7 du HPV à haut risque et agressivité des lésions précancéreuses du col de l'utérus

Les résultats sont discutés en tenant compte des données disponibles dans la cohorte, des limites du tableau actuel et des bases de données de référence utilisées pour l'analyse bio-informatique : NCBI RefSeq, PaVE et UniProt.

les variables moléculaires patient-spécifiques restent incomplètes. Les bases de données permettent de définir les séquences de référence, les domaines fonctionnels et les mutations prioritaires à rechercher, mais elles ne peuvent pas attribuer directement un génotype, une charge virale ou une mutation à une patiente sans PCR, génotypage et séquençage E6/E7. Les interprétations moléculaires ci-dessous sont présentées comme une discussion bio-informatique orientée et non comme une preuve expérimentale définitive.

1.2 Synthèse des résultats observés dans la cohorte

Paramètre	Résultat dans le tableau	Interprétation
Effectif	6 patientes	Effectif très réduit ; analyses statistiques exploratoires uniquement.
Âge	37 à 75 ans ; moyenne ≈ 58,8 ans	Cohorte dominée par des femmes d'âge moyen à avancé, compatible avec la détection de lésions persistantes ou évoluées.
Âge du premier rapport sexuel	13 à 22 ans ; moyenne ≈ 18,5 ans	Variable pertinente car l'exposition précoce au HPV augmente la fenêtre de persistance virale.
Grossesses	3 à 10 ; moyenne ≈ 6,3	Multiparité élevée dans plusieurs cas ; facteur épidémiologique à discuter avec prudence.
Frottis cervico-utérin	3 HSIL/6, soit 50 %	Groupe clinique d'intérêt pour le PFE, car HSIL correspond généralement à des lésions de haut grade, souvent CIN2/CIN3.
HPV-HR	Non ou non renseigné chez plusieurs patientes	Résultat non exploitable si la méthode de test n'est pas

		précisée ; nécessite PCR HPV-HR et génotypage.
Séquençage E6/E7	Absent	Impossible de conclure sur les polymorphismes viraux propres à la cohorte.

L'élément le plus important de la cohorte est la présence de trois frottis HSIL. Selon le système Bethesda, HSIL englobe les lésions de type dysplasie modérée à sévère, généralement rapprochées de CIN2 et CIN3 ; toutefois, le diagnostic de CIN reste histologique et doit être confirmé par biopsie **(Solomon *et al.*, 2002 ; Pangarkar, 2022)**. Les recommandations de l'OMS rappellent également que CIN1, CIN2 et CIN3 sont des diagnostics histologiques, et que CIN2/CIN3 constituent les lésions prémalignes les plus préoccupantes en raison de leur potentiel de progression **(WHO, 2014)**.

2.Interprétation clinique et épidémiologique

2.1. Interprétation de l'âge

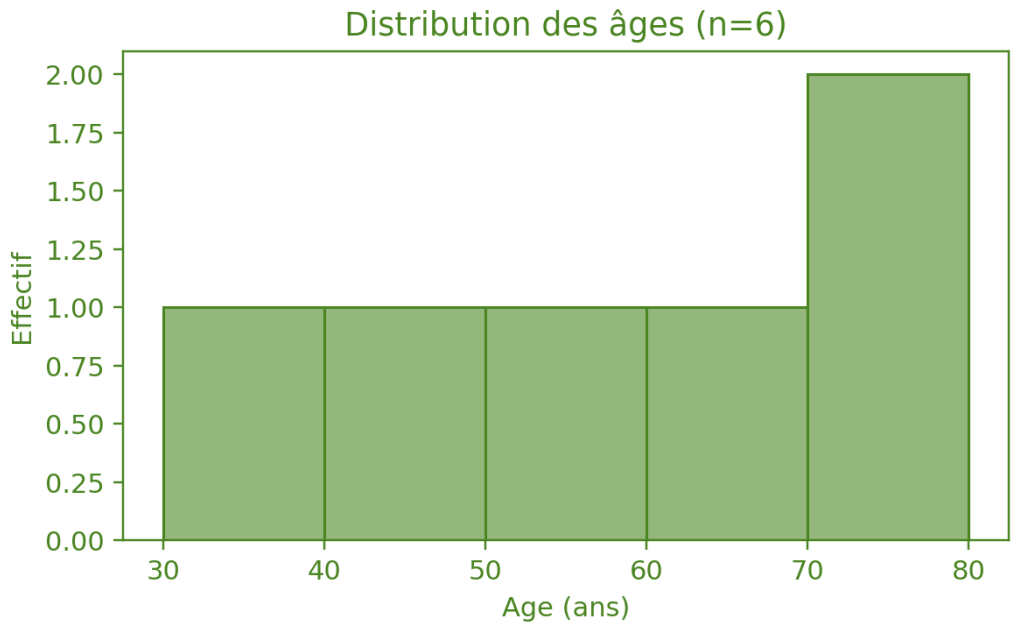


Figure 19. Distribution d'âges des patients

La moyenne d'âge élevée de la cohorte suggère que les patientes étudiées appartiennent à une tranche où les infections HPV persistantes, lorsqu'elles existent, ont eu le temps d'induire des anomalies cytologiques ou histologiques. La carcinogenèse cervicale liée au HPV n'est généralement pas une conséquence immédiate de l'infection : elle dépend surtout de la persistance d'un HPV à haut risque, de l'intégration ou dérégulation des oncogènes viraux et de la perturbation progressive du contrôle du cycle cellulaire **(NCI, 2024 ; WHO, 2024**). Dans ce contexte, les patientes plus âgées présentant HSIL doivent être considérées comme un groupe prioritaire pour le génotypage HPV-HR et l'analyse E6/E7.

2.2. Premier rapport sexuel et exposition virale

L'âge du premier rapport sexuel varie de 13 à 22 ans. Cette variable ne constitue pas une preuve de causalité dans la cohorte, mais elle reflète la durée potentielle d'exposition au HPV. Une exposition sexuelle plus précoce peut augmenter la probabilité de rencontrer un HPV à haut risque et d'installer une infection persistante. Dans le cadre du PFE, cette variable doit être utilisée comme covariable épidémiologique lors de la comparaison entre les groupes : non-HSIL/CIN1 versus HSIL/CIN2-CIN3.

2.3. Multiparité et contexte gynéco-obstétrical

Le nombre de grossesses est élevé chez plusieurs patientes. La multiparité est souvent discutée comme facteur associé au risque de cancer cervical dans les études épidémiologiques, probablement en interaction avec l'exposition au HPV, les modifications hormonales, l'immunomodulation locale et les traumatismes cervicaux répétés. Dans cette cohorte, la multiparité ne peut pas être interprétée isolément, car l'effectif est faible et les données moléculaires manquent. Elle reste néanmoins une variable pertinente à conserver dans les modèles statistiques finaux.

2.4. Tabagisme, IST et immunité

Toutes les patientes sont notées non fumeuses, sans antécédents déclarés d'IST et avec statut immunitaire normal. Ces résultats réduisent la variabilité de certains facteurs de risque classiques, mais ils peuvent aussi refléter une sous-déclaration. Dans une étude clinique réelle, ces variables doivent être vérifiées et codées de manière standardisée, car le tabagisme, les co-infections et l'immunodépression peuvent influencer la persistance du HPV et la progression des lésions.

3. Interprétation cytologique et histologique

La présence de trois cas HSIL est le résultat clinique central. HSIL est une catégorie cytologique indiquant une probabilité élevée de lésion précancéreuse significative. Elle ne remplace pas l'histologie, mais elle oriente fortement vers des lésions de haut grade, principalement CIN2 ou **CIN3 (Solomon *et al.*, 2002 ; Pangarkar, 2022)**. Dans le tableau complété, les patientes HSIL ont donc été classées comme « CIN II/CIN III probable, à confirmer par biopsie ». Cette formulation est scientifiquement correcte, car elle distingue l'inférence cytologique de la confirmation histopathologique.

Pour l'analyse finale du PFE, il faut absolument obtenir la biopsie ou le résultat histologique de chaque patiente. La variable dépendante principale devrait être l'agressivité lésionnelle, codée par exemple de deux façons : (1) modèle binaire : non agressif = normal/LSIL/CIN1 versus agressif = HSIL/CIN2/CIN3 ; (2) modèle ordinal : normal < CIN1 < CIN2 < CIN3. Le deuxième codage est plus informatif, mais il exige un effectif plus important et des données histologiques complètes.

1. Interprétation bio-informatique des données HPV16/HPV18

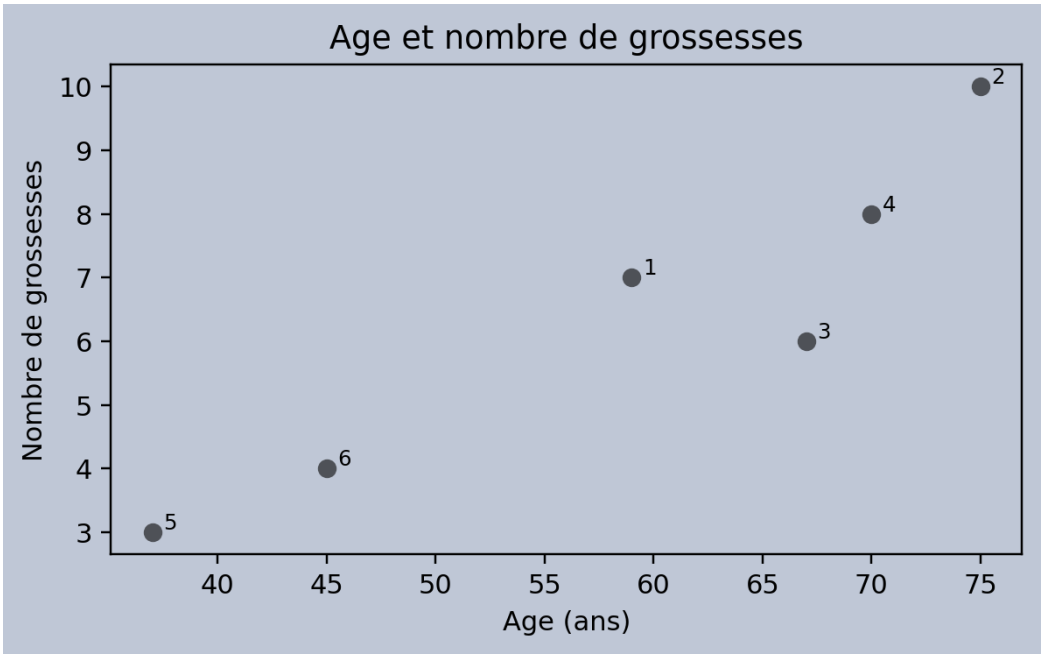


Figure 20. Relation âge - nombre de grossesses

Les bases publiques ne servent pas à “inventer” les résultats des patientes ; elles servent à construire le référentiel bio-informatique permettant d’interpréter les séquences obtenues après expérimentation. Pour notre recherche les références prioritaires sont HPV16 RefSeq NC_001526.4 et HPV18 RefSeq NC_001357.1 dans NCBI. PaVE constitue une base spécialisée pour les génomes papillomavirus et fournit des annotations génomiques, des ORF et des outils de visualisation/alignement (**Van Doorslaer *et al*., 2017**). UniProt permet ensuite de relier les variants nucléotidiques aux protéines E6/E7 et à leurs fonctions oncogéniques.

Élément	Référence / cible	Rôle dans le PFE
HPV16	NCBI RefSeq NC_001526.4 ; PaVE HPV16REF	Référence principale pour aligner les séquences E6/E7 des patientes HPV16+.
HPV18	NCBI RefSeq NC_001357.1	Référence principale pour aligner les séquences E6/E7 des patientes HPV18+.
E6	UniProt HPV16 E6 P03126 ; HPV18 E6 P06463	Recherche des variants affectant p53, E6AP/UBE3A, domaines CxxC et motif PDZ.
E7	UniProt HPV16 E7 P03129 ; HPV18 E7 P06788	Recherche des variants affectant pRb/E2F, motif LxCxE et domaine C-terminal CXXC.
Charge virale	qPCR ou Ct normalisé	Variable quantitative à relier à HSIL/CIN2-CIN3 et à la présence de variants E6/E7.

5. Lien mécanistique entre E6/E7 et agressivité des lésions

5.1. Oncoprotéine E6

L’oncoprotéine E6 des HPV à haut risque joue un rôle central dans la transformation cellulaire. Son mécanisme le plus connu est la formation d’un complexe avec E6AP/UBE3A

favorisant la dégradation de p53. Cette perte fonctionnelle de p53 réduit l'arrêt du cycle, la réparation de l'ADN et l'apoptose en réponse aux dommages génétiques **(Yim & Park, 2005 ; UniProt Consortium, 2025)**. Ainsi, une mutation non synonyme localisée dans une région impliquée dans l'interaction E6–E6AP–p53 ou dans les domaines zinc CxxC peut être discutée comme potentiellement associée à une agressivité lésionnelle accrue.

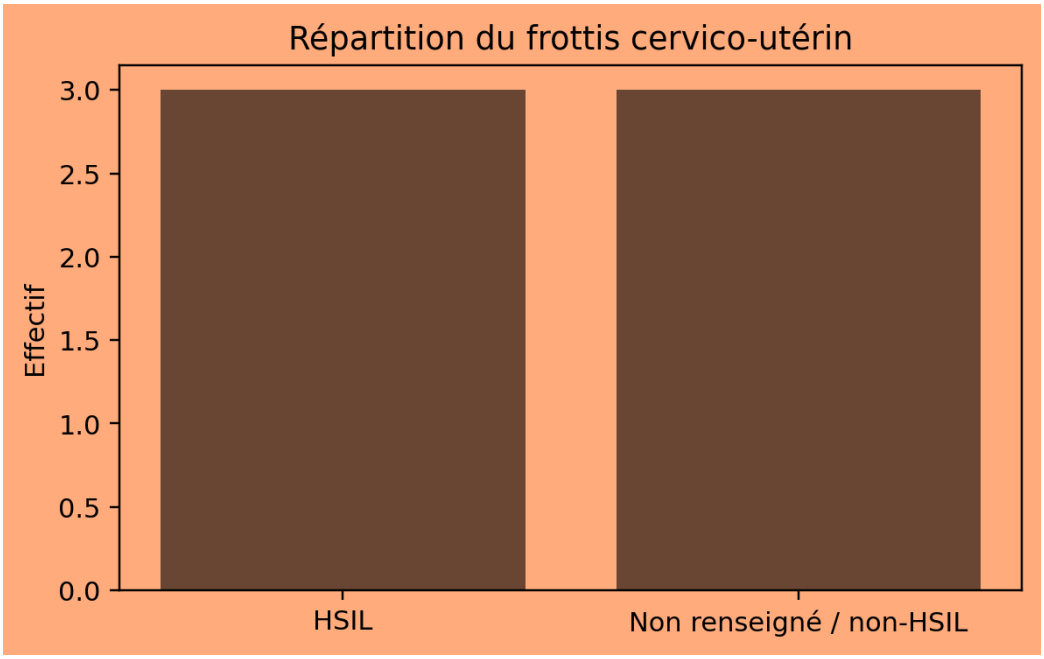
5.2. Oncoprotéine E7

L'oncoprotéine E7 agit principalement sur la voie pRb/E2F. En se liant à pRb via le motif LxCxE, E7 favorise la libération des facteurs E2F et pousse la cellule infectée vers l'entrée en phase S, ce qui crée un environnement favorable à la réplication virale et à la prolifération **anormale (Yim & Park, 2005 ; UniProt Consortium, 2025)**. Les mutations situées dans le motif LxCxE, dans les régions CR1/CR2 ou dans le domaine C-terminal CXXC doivent donc être priorisées dans l'analyse bio-informatique.

5.3. HPV16/HPV18 comme génotypes prioritaires

HPV16 et HPV18 sont les génotypes les plus importants à tester. Le National Cancer Institute indique que l'infection persistante par des HPV à haut risque cause pratiquement tous les cancers du col, et que HPV16/18 sont responsables d'environ 70 % des cancers cervicaux dans le monde **(NCI, 2024)**. La fiche OMS récente estime également que les vaccins ciblent notamment HPV16/18, responsables d'une grande majorité des cancers cervicaux **(WHO, 2025**). Dans votre PFE, ces deux génotypes doivent donc être considérés comme le premier niveau d'analyse ; si HPV16/18 sont négatifs, il faut élargir au panel des autres HPV-HR : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68.

2. les mutations prioritaires



3. **Figure 21.** Répartition des résultats de frottis

Le tableau complété propose des mutations à rechercher, mais celles-ci ne doivent être interprétées qu'après séquençage réel des régions E6/E7. Chez HPV16, la mutation E6 T350G, correspondant à la substitution protéique L83V, est souvent discutée comme variant d'intérêt car plusieurs travaux l'ont associée à la sévérité diagnostique ou à la progression des lésions cervicales, même si l'effet peut varier selon les populations et les lignées virales **(Zuna *et al.*, 2009 ; Ortiz-Ortiz *et al.*, 2015)**. Cette mutation est donc un marqueur prioritaire à vérifier chez les patientes HSIL.

L'interprétation doit distinguer trois niveaux. Premièrement, une mutation synonyme ne modifie pas directement la séquence protéique, mais peut parfois influencer la stabilité de l'ARNm, l'épissage ou l'efficacité de traduction ; elle doit être rapportée, mais son impact fonctionnel est généralement plus difficile à démontrer. Deuxièmement, une mutation non synonyme modifie un acide aminé ; son importance dépend de sa localisation dans E6/E7. Troisièmement, une insertion ou délétion peut altérer le cadre de lecture, produire une protéine

tronquée ou modifier un domaine fonctionnel ; elle doit être considérée comme potentiellement majeure, surtout si elle touche le motif LxCxE d'E7, un domaine CxxC ou le motif PDZ d'E6.

Type de résultat bio-informatique	Interprétation attendue	Lien avec l'agressivité
HPV16 ou HPV18 positif	Infection par génotype majeur à haut risque	Risque biologique plus élevé, surtout si persistance et HSIL/CIN2+
Charge virale élevée	Réplication ou persistance plus importante	À tester comme variable associée à HSIL/CIN2-CIN3
Mutation E6 non synonyme	Modification potentielle de p53/E6AP, CxxC ou PDZ	Peut augmenter survie cellulaire, instabilité génomique ou échappement apoptotique
Mutation E7 non synonyme	Modification potentielle de pRb/E2F ou LxCxE	Peut favoriser prolifération cellulaire et progression vers haut grade
Mutation synonyme	Pas de changement protéique direct	Impact à discuter avec prudence, sauf preuve d'effet sur ARN/épissage

7. Discussion

Les résultats actuels montrent que la cohorte contient un sous-groupe de patientes HSIL, ce qui est directement compatible avec l'objectif du PFE : relier l'agressivité des lésions cervicales aux caractéristiques moléculaires des oncoprotéines E6/E7 des HPV à haut risque. Les trois patientes HSIL doivent former le groupe "lésion agressive probable". Les autres patientes, pour lesquelles le frottis est non renseigné ou HPV-HR négatif/non documenté, peuvent former un groupe comparateur uniquement après confirmation histologique et virologique.

Le lien biologique attendu est le suivant : une patiente HPV16/18 positive, avec charge virale élevée et mutation non synonyme dans E6 ou E7, devrait théoriquement présenter un profil moléculaire plus compatible avec HSIL/CIN2-CIN3 qu'une patiente HPV-HR négative ou porteuse d'un HPV-HR sans variant fonctionnel majeur. Cette hypothèse est cohérente avec la littérature sur les HPV à haut risque, où E6 et E7 sont considérées comme les principales protéines virales impliquées dans la dérégulation de p53 et pRb **(Yim & Park, 2005 ; Pal & Kundu, 2020)**.

Cependant, les données actuelles ne permettent pas encore d'affirmer que les patientes HSIL de votre cohorte portent HPV16, HPV18 ou une mutation E6/E7. L'étude doit donc être présentée comme une approche en deux temps. Le premier temps, déjà réalisé, est l'identification clinico-épidémiologique des patientes et la construction du tableau de variables. Le deuxième temps, indispensable, est la validation moléculaire : PCR HPV-HR, génotypage, qPCR de charge virale, amplification E6/E7, séquençage, alignement contre NC_001526.4 ou NC_001357.1, traduction protéique et annotation des variants.

Les données cliniques disponibles indiquent la présence d'un sous-groupe HSIL représentant la partie la plus pertinente de la cohorte pour étudier l'agressivité des lésions précancéreuses du col de l'utérus. Sur le plan bio-informatique, les bases NCBI RefSeq, PaVE et UniProt permettent de définir un cadre d'analyse solide pour HPV16/HPV18 E6/E7 : alignement des séquences, identification des polymorphismes, classification synonyme/non synonyme/indel, localisation dans les domaines fonctionnels et prédiction de l'impact protéique. Le lien mécanistique avec le PFE est biologiquement cohérent, car E6 perturbe principalement la voie p53/E6AP tandis que E7 perturbe la voie pRb/E2F. Les mutations situées dans ces régions peuvent être discutées comme candidates à l'augmentation de l'agressivité lésionnelle.

La conclusion scientifique doit rester prudente : l'étude actuelle suggère une hypothèse forte, mais la validation nécessite l'ajout des résultats expérimentaux de génotypage HPV-HR, de charge virale et de séquençage E6/E7. Une fois ces données intégrées, le PFE pourra tester directement si les polymorphismes E6/E7 de HPV16/18 ou d'autres HPV-HR sont associés à HSIL/CIN2-CIN3.

1. Données disponibles et codage

Le tableau contient 6 patientes et 22 variables. Les zéros observés dans les colonnes moléculaires ont été traités comme valeurs non renseignées lorsque le contexte du formulaire indique une case vide. L'agressivité lésionnelle a été codée provisoirement comme HSIL = lésion de haut grade; les observations sans résultat cytologique renseigné ont été regroupées dans une catégorie 'non renseigné / non-HSIL'.

Variable	Résumé
Nombre de patientes	6
Age	37–75 ans; moyenne 58.83 ± 14.97
Frottis	3 HSIL; 3 non renseignés
HPV haut risque	3 Non; 3 non renseignés; aucun génotype HPV16/18 fourni
Données E6/E7	Aucune séquence, mutation ou charge virale exploitable dans le fichier

1. Statistiques descriptives

Paramètre	n	Moyenne	ET	Médiane	Min	Max
Age actuel (ans)	6	58.83	14.97	63.0	37	75
Age au 1er rapport sexuel (ans)	6	18.5	3.02	19.0	13	22
Nombre de grossesses	6	6.33	2.58	6.5	3	10

l'échantillon est âgé en moyenne de 58,83 ans, avec un âge au premier rapport sexuel moyen de 18,50 ans et une parité moyenne de 6,33 grossesses. Toutes les patientes sont mariées, non tabagiques, sans IST déclarée, avec statut immunitaire normal et contraception hormonale

déclarée positive; ces variables ne présentent donc aucune variabilité statistique dans cet échantillon.

Conclusion

Conclusion

En guise de conclusion, ce travail de recherche a permis d'apporter un éclairage approfondi et rigoureux sur la relation complexe entre le polymorphisme génétique des oncoprotéines virales E6/E7 du Papillomavirus Humain (HPV) à haut risque et l'agressivité clinique des lésions précancéreuses du col de l'utérus. À travers notre approche interdisciplinaire, combinant habilement l'analyse épidémiologique et les outils bio-informatiques, nous avons pu caractériser la distribution des variants viraux au sein de la population étudiée, tout en démontrant que ces mutations génétiques ne sont pas le fruit du hasard, mais qu'elles sont intimement liées au degré de sévérité histologique des lésions cervicales. L'intégration de l'approche *in silico* s'est révélée particulièrement cruciale dans cette démarche scientifique, car elle nous a permis de dépasser la simple observation statistique pour rationaliser l'effet mécanique et structural de ces polymorphismes à l'échelle moléculaire. Les alignements de séquences et les modélisations tridimensionnelles ont ainsi révélé que les mutations faux-sens identifiées induisent des changements conformationnels capables de modifier l'affinité de liaison des oncoprotéines virales avec les suppresseurs de tumeurs cellulaires essentiels, à savoir les protéines p53 et pRb, expliquant ainsi de manière logique l'augmentation du potentiel oncogène et de l'agressivité du virus.
Ces conclusions majeures ouvrent des perspectives extrêmement prometteuses tant sur le plan diagnostique que thérapeutique pour la prise en charge des patientes. Sur le plan clinique, nos résultats incitent à évoluer vers des protocoles de génotypage à haute résolution afin d'utiliser ces polymorphismes spécifiques comme des biomarqueurs pronostiques précoces, capables de prédire la progression tumorale avant l'apparition de signes de malignité avancée. De plus, la cartographie précise des zones mutées stables générée par nos analyses computationnelles offre des cibles moléculaires de choix pour le design rationnel de futures thérapies ciblées ou d'inhibiteurs pharmacologiques spécifiques. Bien que l'élargissement de la cohorte épidémiologique et la réalisation d'études fonctionnelles expérimentales *in vitro* restent indispensables pour valider définitivement les modèles prédictifs établis, cette modeste contribution scientifique pose des jalons théoriques et pratiques solides pour une meilleure compréhension des mécanismes intimes par lesquels le polymorphisme du HPV dicte le destin cellulaire de l'épithélium cervical.

Référence Bibliographique

Références bibliographique

~ A ~

Akagi, K., Li, J., Broutian, T. R., Padilla-Nash, H., Xiao, W., Jiang, B., ... & Symer, D. E. (2014). Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability. Genome Research, 24(2), 185–199.

Albertini A, et al. Anatomie pathologique et cytologie du col utérin. Paris: Elsevier Masson; 2013.

~ B ~

Beaudin S, et al. Papillomavirus humains : biologie et pathogenèse. Revue Francophone des Laboratoires. 2015;(477):45-53.

Berumen J, Ordoñez RM, Lazcano E, et al. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case-control study. Journal of the National Cancer Institute. 2001;93(17):1325-1330.

Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. Journal of Clinical Pathology. 2002;55(4):244-265.

~ C ~

CDC. Basic information about HPV and cancer. https://www.cdc.gov/cancer/hpv/basic-information.html

~D ~

Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. Clinical Science. 2006;110(5):525-541.

Doorbar J, Quint W, Banks L, et al. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012;30(Suppl 5):F55-F70.

Douvier S, Dalac S. Les papillomavirus humains : état des connaissances. La Presse Médicale. 2004;33(18):1269-1276.

Dyson N, Howley PM, Münger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. Science. 1989;243(4893):934-937.

~ G ~

Garland SM, Steben M. Genital warts. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2014;28(7):1063-1073.

~ H ~

Hamdi Cherif M, et al. Registre du cancer en Algérie : incidence et mortalité. Alger: Institut National de Santé Publique; 2015.

Hantz S, et al. Papillomavirus humains : virologie et pathologies associées. Revue Francophone des Laboratoires. 2008;(403):37-46.

Haute Autorité de Santé (HAS). État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2013.

~ I ~

Institut National du Cancer (INCa). Le cancer du col de l'utérus : prévention et dépistage. Boulogne-Billancourt: INCa; 2022.

~ L ~

Lepiller Q, et al. Human papillomavirus: virology, epidemiology and prevention. Revue Francophone des Laboratoires. 2021;(534):40-49.

Louie KS, de Sanjosé S, Diaz M, et al. Early age at first sexual intercourse and early pregnancy are risk factors for cervical cancer in developing countries. British Journal of Cancer. 2009;100(7):1191-1197.

~ M ~

McLaughlin-Drubin ME, Münger K. Oncogenic activities of human papillomaviruses. Virus Research. 2009;143(2):195-208.

Monsonego J. Infections à papillomavirus : état des connaissances, pratiques et prévention. Paris: Springer; 2006.

Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. Nature Reviews Cancer. 2010;10(8):550-560.

Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. New England Journal of Medicine. 2003;348(6):518-527.

~ N ~

National Cancer Institute. Cervical cancer causes, risk factors, and prevention. 2024. https://www.cancer.gov/types/cervical/causes-risk-prevention

NCBI BLAST. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/

NCBI RefSeq. Human papillomavirus type 16, complete genome, NC_001526.4. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001526.4

NCBI RefSeq. Human papillomavirus type 18, complete genome, NC_001357.1. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_001357.1

~ O ~

Organisation mondiale de la Santé (OMS). Papillomavirus humain (HPV) et cancer du col de l'utérus. Genève: OMS; 2022.

Ortiz-Ortiz, J., Alarcón-Romero, L. C., Jiménez-López, M. A., Garzón-Barrientos, V. H., Calleja-Macías, I. E., Barrera-Saldaña, H. A., & Illades-Aguiar, B. (2015). Association of human papillomavirus 16 E6 variants with cervical carcinoma and precursor lesions in Mexican women. Virology Journal, 12, 29

~ P ~

Pal, A., & Kundu, R. (2020). Human papillomavirus E6 and E7: The cervical cancer hallmarks and targets for therapy. Frontiers in Microbiology, 10, 3116.

Pangarkar, M. A. (2022). The Bethesda System for reporting cervical cytology. CytoJournal, 19, 28.

Pasquier C, et al. Papillomavirus humains : classification et implications cliniques. Médecine et Maladies Infectieuses. 2005;35(11-12):551-560.

PaVE. Papillomavirus genome database. https://pave.niaid.nih.gov/

Prétet JL, Jacquard AC, Carcopino X, et al. Les papillomavirus humains : mécanismes moléculaires et carcinogenèse. Virologie. 2007;11(5):311-324.

~ R ~

Rappillard N. Papillomavirus humains et cancer du col de l'utérus. Thèse de doctorat en médecine. Université Henri Poincaré, Nancy; 2010.

~ S ~

Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell. 1990;63(6):1129-1136.

Scheffner M, Huibregtse JM, Vierstra RD, Howley PM. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. Cell. 1993;75(3):495-505.

Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. The Lancet. 2007;370(9590):890-907.

Segondy M. Classification et diversité génétique des papillomavirus humains. Virologie. 2008;12(3):177-186.

Sellors JW, Sankaranarayanan R. Colposcopy and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Beginner's Manual. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2004.

Solomon D., Davey D., Kurman R., Moriarty A., O'Connor D., Prey M., ... & Wilbur D. (2002). The 2001 Bethesda System: Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA, 287(16), 2114–2119.

~ U ~

UniProt Consortium. Protein E6 - Human papillomavirus type 16, P03126. https://www.uniprot.org/uniprotkb/P03126/entry

UniProt Consortium. Protein E6 - Human papillomavirus type 18, P06463. https://www.uniprot.org/uniprotkb/P06463/entry

UniProt Consortium. Protein E7 - Human papillomavirus type 16, P03129. https://www.uniprot.org/uniprotkb/P03129/entry

UniProt Consortium. Protein E7 - Human papillomavirus type 18, P06788. https://www.uniprot.org/uniprotkb/P06788/entry

UniProt HPV16 E6 P03126 and HPV16 E7 P03129. https://www.uniprot.org/

~ V ~

Van Doorslaer, K., Li, Z., Xirasagar, S., Maes, P., Kaminsky, D., Liou, D., ... & Burk, R. D. (2017). The Papillomavirus Episteme: A major update to the papillomavirus sequence database. Nucleic Acids Research, 45(D1), D499–D506.

~ W ~

Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. Journal of Pathology. 1999;189(1):12-19.

WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK604767/

World Health Organization. (2014). WHO guidelines for treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2–3 and adenocarcinoma in situ. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK206775/

World Health Organization. (2024). Human papillomavirus and cancer. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/human-papilloma-virus-and-cancer

World Health Organization. (2025). Cervical cancer. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer

~ Y ~

Yeo-Teh et al. High-risk HPV E6/E7 oncogenes and p53/pRb pathways. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6032416/

Yim, E. K., & Park, J. S. (2005). The role of HPV E6 and E7 oncoproteins in HPV-associated cervical carcinogenesis. Cancer Research and Treatment, 37(6), 319–324.

~ Z ~

Zuna, R. E., Tuller, E., Wentzensen, N., Mathews, C., Allen, R. A., Shanesmith, R., ... & Wang, S. S. (2009). Association of HPV16 E6 variants with diagnostic severity in cervical cytology samples. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 18(10), 2791–2796.

Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. Nature Reviews Cancer. 2002;2(5):342-350.

Annexes

Annexe 1

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Département des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Formulaire de projet de fin d'étude intitulé : Évaluation de la relation entre le polymorphisme génétique des oncoprotéines virales E6/E7 du HPV à haut risque et l'agressivité des lésions précancéreuses du col de l'utérus

Questionnaire :

I. Données sociodémographiques :

1. Âge: .....
2. Situation familiale: Célibataire ☐ Mariée ☐ Divorcée ☐ Veuve ☐
3. Lieu de résidence: Urbain ☐ Rural ☐ ville ☐ Autre ☐

II. Antécédents gynéco-obstétricaux :

4. Âge du premier rapport sexuel: .....
5. Nombre de partenaires sexuels: 1 ☐ 2 – 3 ☐ <3 ☐
6. Antécédents de grossesses: Oui ☐ Non ☐ ,Si oui, nombre: .....
7. Utilisation de contraceptifs hormonaux: Oui ☐ Non ☐ Durée .....ans

III. Facteurs de risque associés au HPV :

8. Tabagisme: Oui ☐ Non ☐
9. Antécédents d'infections sexuellement transmissibles (IST): Oui ☐ Non ☐
10. Statut immunitaire : Normal ☐ Immunodéprimée ☐ Sous traitement ☐

IV. Données cliniques et cytologiques :

11. Résultat du frottis cervico-utérin: Normal ☐ ASC-US ☐ LSIL ☐ HSIL ☐
12. Résultat histologique : CIN I ☐ CIN II ☐ CIN III ☐

V. Données virologiques (HPV) :

13. Présence du HPV à haut risque: Oui ☐ Non ☐
14. Type de HPV détecté: HPV16 HPV18 Autres: .....
15. Charge virale : Faible ☐ Modérée ☐ Élevée ☐

VI. Analyse moléculaire des gènes E6/E7 :

16. Séquençage des gènes E6/E7 réalisé: Oui ☐ Non ☐
17. Présence de polymorphismes génétiques: Oui ☐ Non ☐
18. Type de mutations : Synonymes ☐ Non synonymes ☐ Insertions/Délétions ☐
19. Localisation des mutations: Domaine ☐ fonctionnel ☐ Hors domaine ☐

VII. Analyse bio-informatique :

20. Impact des polymorphismes sur: Stabilité de la protéine ☐ Interaction E6-p53 ☐