

Université des Frères Mentouri Constantine1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



N° d'ordre : 33/D3C/23

N° de série : 02/Bio/23

Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Génétique Moléculaire*

Intitulé :

Interrelations entre les gènes CYP450 et la réponse à l'hormonothérapie adjuvante chez la femme en pré-ménopause dans le cancer du sein

Présentée et soutenue par : BOUCENNA Amira

Jury :

Président : LALAOUI Korichi (Professeur) Université des Frères Mentouri Constantine1

Directeur de thèse : BOUDAUD Kadidja (Professeur) Université Ferhat Abbas Sétif 1

Co-Directrice de thèse : SATTA Dalila (Professeur) Université des Frères Mentouri Constantine1

Examineurs :

FILALI Taha (Professeur) Université Salah Boubnider, Constantine 3

REZGOUN Mohamed Larbi (MCA) Université des Frères Mentouri Constantine1

SEMMAM Ouarda (MCA) Université des Frères Mentouri Constantine1

Année universitaire 2022/2023

***Au Nom de Dieu, le Tout
Miséricordieux,***

Le Très Miséricordieux

Merci Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail
et me permettre de réaliser mes rêves.

Remerciements

S'il faut beaucoup de motivation, de rigueur et d'enthousiasme pour mener à bien une thèse, je dis spécifier que mon travail de recherche a eu besoin de la contribution de plusieurs personnes, que je tiens à remercier !

A ma Directrice de thèse : Madame **BOUDAUD** Khadidja : pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail, malgré un emploi du temps chargé. pour les bons conseils et vos compétences dans ce domaine

Veillez trouver ici ma reconnaissance et mon profond respect.

A Madame **SATTA** Dalila, co-directrice, pour vos conseils et vos connaissances. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude.

A **Monsieur LALAOUI** Korrichi, j'adresse mes sincères remerciements pour l'honneur que vous me faites, en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples tâches.

A Monsieur **REZGOUNE** Mohammed Larbi, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant de me guider dans ce travail. Pour avoir partagé avec moi vos connaissances et expériences dans la recherche. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Un grand merci au **Pr. FILALI Taha**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'évaluer ce modeste travail. Veuillez recevoir mon grand respect.

A Madame **SEMMAM** Ouarda, pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail en acceptant d'être membres du jury.

Je tiens à vous remercier, pour votre lecture attentive de ma thèse.

Je tiens également à remercier le **Pr. ABADI** Norreddine de m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Mes remerciements vont également au **Pr. DJEMAA** pour m'avoir accueilli au sein de son service durant ma thèse.

Je remercie vivement le personnel du Centre Anti-Cancer du CHU Ben Badis : médecins et infirmiers pour leur collaboration ayant permis la réalisation de mon travail. Je vous suis pleinement reconnaissante.

J'exprime ma gratitude à Mme Yasmina **DADCI** pour tout ce qu'elle m'a apportée dans la réalisation de ce travail. Toutes ces heures à m'écouter et bien plus encore ! Merci infiniment Madame.

J'aimerais exprimer ma gratitude à **tous les chercheurs et spécialistes**, trop nombreux pour les citer, qui ont pris le temps de discuter de mon sujet. Chacun de ces échanges m'a aidé à faire avancer mon analyse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements les plus sincères à l'ensemble des enseignants **de la spécialité Génétique de l'Université Frères Mentouri Constantine**, pour tout ce qu'ils m'ont donné et appris.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A ma MAMAN, qui est partie trop tôt. Il y a 3 ans que tu n'es plus près de moi. Cela me paraît une éternité, tu me manques tellement. Tu m'as transmis la passion de ton métier : Enseignante, c'est à toi que je dois tout.

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour.

J'espère que de là où tu es, tu es fière de moi.

A mon papa, pour cet amour inconditionnel que tu as su nous donner. Même dans les moments difficiles tu as toujours été là.

Merci pour ton courage et ta force.

A mon frère,

Qui a toujours avancé à mes côtés, mon confident, mon ami. Merci d'avoir été là et d'avoir su me supporter ! Tu as su pansé mon cœur tellement de fois, tu as trouvé les mots qui m'ont fait avancer. Je suis fière d'être ta sœur.

Mes chères sœurs

Pour votre dévouement, et disponibilité, vos encouragements, m'ont permis d'arriver à finaliser mes travaux et ma thèse, Merci de m'avoir toujours soutenues.

A mes amies,

Merci pour tous ces bons moments passés avec vous, merci pour vos conseils avisés, pour tous nos fous rires, pour votre soutien tout au long de ces années. Vous êtes des amies en OR !

A toutes mes tantes et tous mes oncles, votre présence m'est toujours précieuses

Abréviations

ATM	<i>Ataxia Telangiectasia Mutated</i>
CAC	Centre Anti Cancéreux Constantine
CAR	<i>Constitutive Androstane Receptor</i>
CCI	Carcinome Canalaire Infiltrant
CCIS	Carcinomes Canalaire <i>In Situ</i>
CiMus	Centre d'Investigation Médical Universitaire d'Espagne
c-kit	Protéine kinase Kit
CLI	Carcinome Lobulaire Infiltrant
CLIS	Carcinomes Lobulaires <i>In Situ</i>
c-myc	<i>myelocytomatosis oncogene</i>
CNV	<i>Copy Number Variation</i>
CPIC	<i>Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium</i>
CS	Cancer du sein
CYP	Cytochrome p450
E2	<i>17β œstradiol</i>
EBCTCG	<i>Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group</i>
EDTA	<i>Ethylene Diamine Tetracetic Acid</i>
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
ER	Œstrogènes
ERs	Récepteurs aux œstrogènes
ES	Échantillons de contrôle
FSH	<i>Follicle-Stimulating Hormone</i>
GATA3	<i>GATA Binding Protein 3</i>
GH	Hormone de croissance
HER2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i>
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
IGF	<i>Insulin Growth Factor</i>
Ins/Del	Insertion/Délétion
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LC-MS/MS	<i>Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry</i>
LOF	<i>Loss Of Function</i>
MDGF-1	<i>Mammary Derived Growth Factor</i>

Mis	Métaboliseurs Intermédiaires
MLs	Métaboliseurs Lents
MNs	Métaboliseurs Normaux
MURs	Métaboliseurs Ultra-Rapides
NADP	<i>Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
OMS	Organisation Mondial de la Santé
PCNA	<i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i>
PCR-RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
PXR	<i>Pregran x-Receptor</i>
qPCR	PCR quantitative en temps réel
QSE	Quadrant Supéro Externe
QSI	Quadrant Supéro Interne
Rad51	RAD51 recombinaise
RE	Réticulum Endoplasmique
RH	Récepteur Hormonal
SBR	Scarff-Bloom et Richardson
SDS	<i>Sodium Dodécyle Sulfate</i>
SERM	<i>Selective Estrogen Receptor Modulators</i>
SG	Survie Globale
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SSR	Survie Sans Récidives
SULT1A1	<i>Sulfo-transférases 1</i>
TCD8+	Lymphocyte T8 cytotoxique
TGFa	<i>Transforming Growth Factor</i>
THS	<i>Traitement Hormonal Substitutif</i>
TNM	Tumeur- Nodule- Métastase
UGT	UDP-Glucuronyl Transférases
UHPLC	<i>Chromatographie Liquide Ultra-Performante</i>
UTDL	Unité Terminale Ducto-Lobulaire

Liste des figures

Figure 01	anatomie de la glande mammaire	04
02	carcinomes in situ lobulaire vs Carcinome infiltrant lobulaire	09
03	mécanisme d'action de la sonde Taqman dans le système de qPCR	50
04	résultats de spécificité et de non-spécificité entre les séquences d'allèle et de sonde dans une réaction de génotypage	51
05	profil de génotypage type d'un des gènes du CYP450 en utilisant la puce OpenArray™ et le logiciel TaqMan® Genotyper	54
06	répartition des patientes selon les classes d'âge	58
07	répartition des patientes selon les circonstances de découverte du CS	59
08	répartition selon le délai de consultation	60
09	répartition selon la localisation de la tumeur	61
10	répartition selon le siège de la tumeur	62
11	répartition selon le type histologique	63
12	répartition selon le grade histo-pronostique	64
13	répartition selon le profil d'expression de la protéine HER2	65
14	répartition selon l'âge des ménarches	66
15	répartition des patients selon le statut marital	67
16	répartition selon l'âge de la première grossesse	68
17	répartition selon le nombre d'enfants	69
18	répartition selon le recours à des contraceptifs oraux	70
19	répartition des patientes selon les antécédents personnels	71
20	répartition des patientes selon les antécédents familiaux	72
21	répartition selon la thérapeutique utilisée	73
22	schéma de métabolisation du tamoxifène et des métabolites analysés dans l'étude	75
23	diagramme de dispersion montrant Pearson corrélation entre endoxifène et tamoxifène (A), N-desméthyltamoxifène et tamoxifène (B) et 4-hydroxytamoxifène et tamoxifène (C), endoxifène et N-desméthyltamoxifène (D) endoxifène et 4-hydroxytamoxifène (E)	76
24	concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des diplotypes <i>CYP2D6</i>	87
25	concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes <i>CYP3A5</i>	89
26	concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes <i>CYP2C19</i>	89
27	Courbe de survie globale selon Kaplan-Meier	91
28	Courbe de survie sans récurrences selon Kaplan-Meier	91

Liste des tableaux

Tableau 01	correspondance génotype - phénotype pour le gène <i>CYP2D6</i>	34
02	correspondance génotype - phénotype pour le gène <i>CYP2C19</i>	35
03	correspondance génotype - phénotype pour le gène <i>CYP3A5</i>	36
04	Identification des variants alléliques SNP et Ins/Del étudiés	52
05	composition du milieu réactionnel de la qPCR pour génotypage des SNP - Ins/Del ...	53
06	composition du milieu réactionnel de la qPCR pour génotypage des CNV.....	54
07	programme du thermocycleur pour l'amplification q-PCR	55
08	répartition selon la thérapeutique utilisée	73
09	concentrations plasmatiques de tamoxifène et ses métabolites	76
10	association entre les concentrations plasmatiques de l'endoxifène et les différents phénotypes des gènes <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i> et <i>CYP3A5</i>	78
11	répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène <i>CYP2D6</i>	80
12	répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène <i>CYP2D6</i>	80
13	répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène <i>CYP2C19</i>	81
14	répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène <i>CYP2C19</i>	81
15	répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène <i>CYP3A5</i>	81
16	répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène <i>CYP3A5</i>	82
17	association phénotypes <i>CYP2D6</i> - caractéristiques clinico-pathologiques	83
18	association phénotypes <i>CYP2C19</i> - caractéristiques clinico-pathologiques	83
19	association phénotypes <i>CYP3A5</i> - caractéristiques clinico-pathologiques	84
20	concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des diplotypes <i>CYP2D6</i>	87
21	concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes <i>CYP2C19</i> et <i>CYP3A5</i>	89
22	Répartition des patientes selon la survie	90

Table des matières

Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre 01 : cancer du sein	
1- Anatomie et histologie de la glande mammaire	04
2- Physiologie de la glande mammaire	05
3- Pathologies mammaires	06
3-1- Pathologies bénignes	08
3-2- Pathologies malignes	00
4- Cancer du sein	08
4-1- Définition	08
4-2- Épidémiologie	10
4-3- Classification	10
4-3-1- Classification TNM	10
4-3-2- Classification histologique	11
a- Cancers épithéliaux	11
b- Cancers non épithéliaux	12
c- Cancers inflammatoires	13
4-3-3- Classifications moléculaires	13
a- Tumeurs lumorales	13
b- Tumeurs de phénotype HER2 enrichi	13
c- Tumeurs dites normal-like	14
d- Tumeurs dites Basal-like	14
4-4- Facteurs de risque	14
4-4-1- Âge et sexe	15
4-4-2- Facteurs hormonaux	17
4-4-3 - Facteurs environnementaux, démographiques et sanitaires	18
4-4-4 - Facteurs liés aux habitudes de vie et nutrition	21
4-4-5 - Facteurs génétiques	21
4-5- Approches thérapeutiques actuelles du cancer du sein	21
4-5-1- Aperçu général	21
4-5-2- Place de l'hormonothérapie dans le cancer du sein	22
Chapitre 02 : génétique cancer du sein	
1- Génétique du cancer du sein	23
1-1- Antécédents familiaux	23
1-2- Gènes de prédisposition (<i>BRCA1</i> et <i>BRCA2</i>)	23
1-3- Gènes de susceptibilité	24
2- Mécanismes moléculaires de la tumorigénèse mammaire	27
3- Mutations et corrélation génotype-phénotype	28

Chapitre 03 : cytochrome P450, tamoxifène et cancer du sein

1- Cytochrome P450	29
1-1- Définition	29
1-2- Fonction	30
1-3- Régulation génétique	30
1-4- Gènes d'intérêt du cytochrome P450 dans le cancer du sein	33
1-4-1- <i>CYP2D6</i>	33
1-4-2- <i>CYP2C19</i>	35
1-4-3- <i>CYP3A5</i>	37
1-5- Cytochromes P450 et interactions médicamenteuses	38
2- Tamoxifène	39
2-1- Place du tamoxifène dans le traitement du cancer du sein	39
2-2- Propriétés physico-chimiques	39
2-3- Propriétés pharmacodynamiques	40
2-4- Propriétés pharmacocinétiques	40
2-4-1- Absorption	40
2-4-2- Distribution	40
2-4-3- Métabolisation	40
2-4-4- Élimination	41
2-5- Efficacité clinique	41
2-6- Effets indésirables (profil de toxicité)	42
3- Tamoxifène et polymorphisme génétique du cytochrome P450	42
3-1- Relation pharmacogénétique-pharmacodynamie	42
3-2- Relation génotypage efficacité thérapeutique	43

Partie pratique

Patients et méthodes

1- Présentation de la population	45
2- Population de l'étude	46
2.1. Critères d'inclusion	46
2.2. Critères d'exclusion	47
3- Méthodologie	47
3-1- Etudes statistique	47
3-2- Etude pharmacocinétique	48
3-3- Etude moléculaire	49
3-3-1- Extraction d'ADN à partir du sang total	50
a- Prélèvement sanguin	50
b- Extraction d'ADN	50
c- Mesure de la concentration de l'ADN	50
3-3-2- Génotypage et le choix de polymorphismes	50
a- SNP et Ins/Del étudiés des gènes <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i> et <i>CYP3A5</i>	53
b- Génotypage du <i>CYP2D6</i> pour les CNV	56
3-3-3- Phénotypage en fonction des génotypes	57

4- La surveillance des récidives	58
--	----

Résultats et discussions

1- Étude statistique	59
2-1- Paramètres sociodémographiques (âge)	59
2-2- Paramètres clinico-pathologiques	60
2-2-1- Circonstance de découverte	60
2-2-2- Délais de consultation	61
2-2-3- Localisation	61
2-2-4- Type histologique	63
2-2-5- Grade histo-pronostique (Scarff-Bloom et Richardson)	64
2-2-6- Expression de la protéine HER2	66
2-3- Facteurs gynéco-obstétriques	67
2-3-1- Âge de la ménarche	67
2-3-2- Statut marital	68
2-3-3- Age de la première grossesse	68
2-3-4- Multiparité	70
2-3-5- Utilisation de contraceptifs oraux	71
2-4- Antécédents personnels et familiaux	72
2-4-1- Antécédents personnels	72
2-4-2- Antécédents familiaux	72
2-5- Thérapeutique	74
2- Étude de la pharmacocinétique-pharmacogénétique du tamoxifène	75
3-1- Concentration de tamoxifène et ses métabolites dans le plasma des patientes	76
3-2- Évaluation de l'impact des polymorphismes génétiques du <i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i> et <i>CYP3A5</i> sur les concentrations plasmatiques du tamoxifène et ses métabolites	78
4- Étude moléculaire	80
4-1- Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène <i>CYP2D6</i> chez les patientes	80
4-2- Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène <i>CYP2C19</i> chez les patients	81
4-3- Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène <i>CYP3A5</i> chez les patients	82
4-4- Caractéristiques clinico-pathologiques en association avec les phénotypes	83
5- Étude de la relation pharmacodynamique-pharmacogénétique du tamoxifène	85
6- Survie	90

Conclusion et perspectives	94
----------------------------------	----

Références bibliographiques	98
-----------------------------------	----

Annexes

Résumés

Introduction

Le Cancer du Sein (CS) est une maladie générale, qui a été la principale cause de décès chez les femmes dans le monde en 2018. Selon des prévisions, plus de 3 millions de cancer du sein seront diagnostiqués par cette affection en 2040 (Ray *et al.*, 2018). En Algérie, le taux d'incidence était de 12 536 nouveaux cas diagnostiqués en 2020 (Benmahdi *et al.*, 2021). La découverte des récepteurs aux œstrogènes dans les cellules cancéreuses du sein ainsi que la meilleure compréhension de leur implication dans cette pathologie ont conduit dans les années 1970 à l'introduction de l'hormonothérapie (Petit *et al.*, 2019).

Le tamoxifène, un modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes (SERM : Selective Estrogen Receptor Modulators) est la molécule de référence en hormonothérapie pour les femmes pré-ménopausées, il est recommandé pour les patientes atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant (ER+) en situation adjuvante, car il réduit considérablement le risque de rechutes et de mortalité avec une fréquence de 12% et 9% respectivement. La durée recommandée de traitement adjuvant est de 5 ans dans le cas du cancer du sein diagnostiqué au stade précoce (Lee *et al.*, 2020).

Chez l'humain, les œstrogènes jouent un rôle clef dans la reproduction et ont des effets protecteurs sur la masse osseuse, le système cardio-vasculaire et le système nerveux central (Balian *et al.*, 2020). L'action du tamoxifène sur les cellules tumorales est médiée par les récepteurs aux œstrogènes, ER alpha et ER bêta (Teymourzadeh *et al.*, 2017). Le tamoxifène est le ligand des récepteurs aux œstrogènes qui a une action agoniste ou antagoniste en fonction du tissu dans lequel il agit. En particulier, il a une action antagoniste des œstrogènes dans la glande mammaire d'où son efficacité dans le traitement des cancers du sein, mais une action agoniste des œstrogènes sur l'utérus d'où l'augmentation du risque de cancer de l'endomètre chez les patientes traitées par **sous** tamoxifène (Puszkiewski *et al.*, 2019). Dans une cohorte de plus de 12 000 patientes à risque de cancer du sein analysant l'effet du tamoxifène en préventif contre placebo, le risque relatif de cancer de l'endomètre chez les femmes sous tamoxifène était de 2,53 (Fisher *et al.*, 1998). Par ailleurs, le caractère longitudinal et les effets indésirables fréquents de tamoxifène sont à l'origine de la diminution de la qualité de vie des patients qui s'accompagne souvent d'un arrêt volontaire de traitement ou d'une mauvaise adhérence (Martinez *et al.*, 2021). La pharmacovigilance fait partie des acteurs incontournables de la surveillance des médicaments après leur mise sur le marché y compris le tamoxifène. Plus de 87 médicaments métabolisés sont influencés par la présence des polymorphismes génétiques dans les cytochromes P450 (Whirl *et al.*, 2021), (Caudle *et al.*, 2017). Ceci est d'autant plus important dans le cas du tamoxifène puisque son activité anti tumorale dépend de sa biotransformation par le *CYP2D6* en métabolites actifs, notamment l'endoxifène qui est le métabolite puissant du tamoxifène (Mulder *et al.*, 2021).

La présence de variant pharmacogénétiques associées à un déficit de l'activité enzymatique peut nécessiter une dose non-standard, bénéficier ou même switcher avec d'autres thérapies plus appropriées en cas de cancer du sein (Sanchez *et al.*, 2019). Néanmoins, des résultats contradictoires sur la relation entre, d'une part les polymorphismes génétiques de *CYP2D6*, et d'autre part l'efficacité de l'endoxifène ont été rapportés (Mulder *et al.*, 2021). En conséquence, l'individualisation de la dose du tamoxifène peut être remise en cause. Le tamoxifène est une prodrogue métabolisée principalement par le cytochrome *CYP2D6*, dont il existe plus de 80 variants décrits à ce jour et qui aboutissent à quatre phénotypes enzymatiques distincts, allant d'une activité nulle à une activité accrue, en passant par une activité normale ou réduite (Whirl *et al.*, 2021), (Caudle *et al.*, 2017). Avec des résultats contradictoires n'ayant pas retrouvé de lien significatif entre certains polymorphismes du *CYP2D6* et l'efficacité du tamoxifène, le niveau de preuve est donc encore insuffisant pour suggérer systématiquement la détermination du génotype d'une patiente avant toute prescription de tamoxifène. La mise en place d'essais prospectifs est essentielle avant d'envisager une approche de prescription intégrant les données de pharmacogénétique (Lim *et al.*, 2011). Cette approche va permettre de réduire les effets indésirables liés au médicament et d'obtenir ainsi une réponse optimale afin de minimiser les risques de développer des récurrences locorégionales ou à distance (Goetz *et al.*, 2005).

Actuellement, de nombreuses recherches porte également sur d'autres pharmacogènes tels que le *CYP2C19* et le *CYP3A5* tous les deux impliqués dans le métabolisme du tamoxifène (White *et al.*, 2022). Même si leur niveau d'implication dans le métabolisme du tamoxifène paraît assez dérisoire en comparaison avec le *CYP2D6*, cette question mérite d'être précisée davantage.

Étant donné le manque d'essais cliniques dans la population algérienne où la grande majorité des patientes reçoivent du tamoxifène en situation adjuvante pour le cancer du sein hormono-dépendant, nous nous sommes assigné comme objectif principal de décrire la relation entre les principaux métabolites de tamoxifène et l'incidence des rechutes après 9 ans de traitement par le tamoxifène en adjuvant, chez une cohorte de patientes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant.

Nous espérons que ce modeste travail de recherche constituera une première référence à cette thématique de recherche et qui va servir pour les futures études de pharmacogénétiques à grande échelle qui contribueront à améliorer l'efficacité de l'hormonothérapie du tamoxifène en optimisant les doses utilisées en tenant compte de la constitution génétique des patientes.

Dans le cadre de nos travaux de thèse, nous avons effectué :

- Une étude statistique, descriptive, prospective et transversale, en vue de déterminer le profil clinico-pathologique de femmes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein

hormono-dépendant prouvé histologiquement, population cible de notre étude, prises en charge au niveau du CHU Benbadis - Constantine.

- Une étude pharmacocinétique-pharmacogénétique pour déterminer l'influence des polymorphismes des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* sur les taux plasmatiques du tamoxifène et de ses trois principaux métabolites (4-hydroxy-tamoxifène, N-desméthyl-tamoxifène et endoxifène),
- Une étude pharmacodynamique visant à évaluer l'influence des polymorphismes des gènes étudiés sur le développement de récurrences chez les patientes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono dépendant après 5 ans de traitement par le tamoxifène en adjuvant.

Partie bibliographique

Chapitre I

Cancer du sein

1. Anatomie et histologie de la glande mammaire

Les glandes mammaires sont présentes chez les deux sexes, mais qui ne fonctionnent que chez la femme. Localisées dans les seins, du latin *sinus* (courbure, sinuosité, pli) globuleux et pair, ce sont des organes génitaux annexes spécialisés dans la production de lait après l'accouchement, des glandes sudoripares spécialisées qui occupent la partie antéro-supérieur du thorax, de part et d'autre du sternum, plus ou moins symétrique, en avant des muscles pectoraux, ils s'étendent de la 3^{ème} à la 7^{ème} côte (Verbeke, 2010 ; EL Rhouizi, 2016 ; Razali, 2018). La glande mammaire est un tissu adipeux formé par des fibres de soutiens (ligaments de Cooper) qui peuvent varier d'une femme à une autre. Le sein est recouvert par des nerfs, des vaisseaux sanguins et lymphatiques (El Rhouizi, 2016). Le développement excessif de la glande mammaire durant la vie s'effectue suite à une hyper-sécrétion des œstrogènes, soit endogène (à la puberté par exemple), ou exogène (traitement hormonal) assurant ainsi son rôle biologique au cours de la vie. Ce phénomène est appelé une gynécomastie qui se caractérise par une prolifération des canaux du tissu de la glande mammaire qui a tendance à se dilater. Il existe à la surface du mamelon de 15 à 20 orifices chacun étant bordé d'un épithélium pavimenteux stratifié kératinisant (Lecarpetier, 2012 ; Roux, 2013 ; Bicar, 2018). Chaque orifice est responsable de l'abouchement d'un canal galactophore inter-lobaire bordé d'un épithélium bistratifié, chaque canal inter-lobulaire se termine par des groupes de canaux intra-lobulaire, chaque groupe constitue un lobule mammaire de forme ovoïde assurant ainsi un phénotype sécrétoire très caractéristique. Le tissu de soutien des canaux intra-lobulaire est riche en capillaires quelques lymphocytes et macrophages. Ce tissu est entouré d'un tissu du soutien fibro-adipeux qui contient de nombreux faisceaux musculaires lisses longitudinaux et circulaire et qui représente l'unité fonctionnelle du sein (Olivier, 2006). (figure 01).

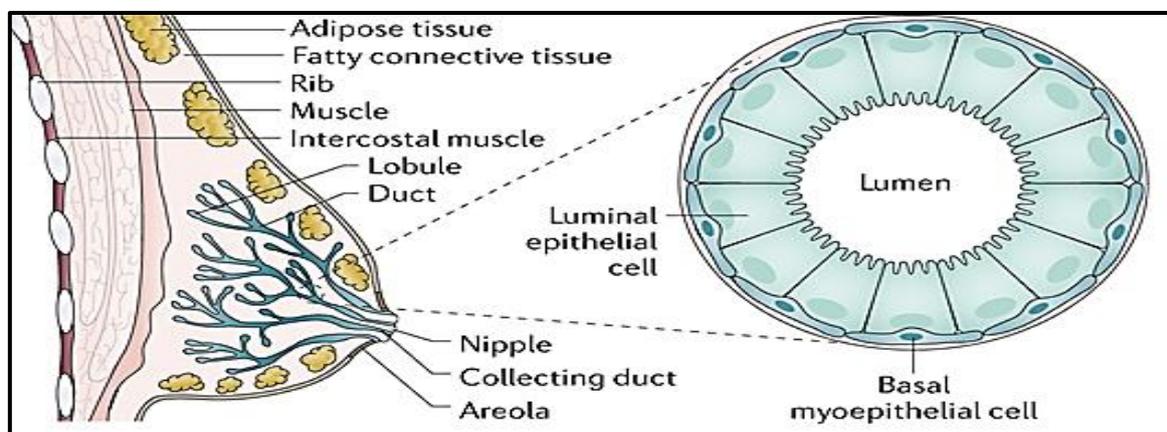


Figure 01 : anatomie de la glande mammaire (Harbeck *et al.*, 2019).

2. Physiologie de la glande mammaire

Le sein reste quiescent pendant l'enfance et la croissance et se limite à quelques canaux qui se terminent par des bourgeons constitués de cellules épithéliales. Au moment de la puberté, sous l'influence des stéroïdes sexuels, mais aussi de l'hormone de croissance (GH) et des corticostéroïdes, survient une phase de croissance des canaux et du stroma (Platet *et al.*, 2006). La structure du sein se modifie précocement au cours de la grossesse dont la maturation fonctionnelle, la vascularisation et la pigmentation du mamelon et l'aréole augmentent sous la dépendance des hormones hypophysaires et ovariennes, tandis que les lobules mammaires grossissent par hyperplasie des canaux galactophores (Platet *et al.*, 2006). Les œstrogènes sécrétés par l'ovaire et la progestérone sécrétée par le corps jaune, puis par le placenta, provoquent le développement ainsi que l'élargissement des mamelons (Roux, 2013). Les œstrogènes ciblent également de nombreux autres tissus (os, cartilage, système nerveux central et système immunitaire). L'œstrogène biologiquement le plus actif au niveau de la glande mammaire est le 17 β -estradiol (E2). Les récepteurs aux œstrogènes (Estrogen Receptors : ERs) se divisent en 2 groupes, les RE α et les RE β . Ils appartiennent à la grande famille des récepteurs nucléaires, qui comprend les récepteurs des différentes hormones stéroïdes, et des hormones thyroïdiennes (Ueda *et al.*, 2020). On retrouve ces 2 récepteurs aux œstrogènes dans la plupart des tissus, mais dans des proportions différentes. En effet, le sein est plus riche en RE α et les cellules endothéliales sont plus riches en RE β (Kheddache *et al.*, 2018). La progestérone est l'hormone physiologique directement sécrétée par les ovaires, elle est connue pour agir en inhibant l'action prolifératrice des œstrogènes sur le tissu glandulaire, mais elle est capable d'influencer directement la prolifération et la différenciation cellulaire. Dès le second trimestre, une sécrétion apparaît au niveau des seins des canaux galactophores hyperplasiques puis elle devient importante au troisième trimestre. Parallèlement au développement des lobules, il y a une hypertrophie du tissu lâche capillaire des canaux intra-lobulaire avec une augmentation du nombre des cellules inflammatoires. Pendant l'allaitement, les lobules hyperplasiques secrètent du liquide protéique riche en lipides qui est le lait (Emonts *et al.*, 2017). Lors du sevrage la glande mammaire se retrouve en son état de repos quelques mois après, ou les cellules épithéliales reprennent leurs tailles initiales grâce à l'apoptose et le tissu lâche des canaux intra-lobulaire régresse pour retrouver sa taille normale qu'il avait avant la grossesse (Kermarrec *et al.*, 2020).

L'exposition répétée des lobules mammaires aux sécrétions variables des hormones sexuelles durant les différents cycles et les phases de vie chez la femme peut provoquer une hypertrophie tissulaire de la glande mammaire qui modifie l'architecture du sein. Une adénomatoïse, une fibrose ou une dilatation des canaux mammaires les plus volumineux deviennent des modifications sévères du sein chez la multipare et font apparaître des nodules dans le parenchyme mammaire avec parfois des formations de kystes (Laurent, 2003 ; Sylvain, 2004 ; Vandermoere, 2005).

3. Pathologies mammaires

Les pathologies de la glande mammaire sont diverses, elles englobent un éventail de troubles bénins et malins dû au dysfonctionnement des cellules qui composent le tissu. Ces troubles se manifestent souvent par des douleurs mammaires, écoulement du mamelon ou apparition des masses cellulaires palpables. Les causes sont multidisciplinaires (Anusha *et al.*, 2018 ; Parul *et al.*, 2020). Les pathologies bénignes sont plus répandues chez les femmes jeunes, tant que le taux des pathologies malignes augmente avec l'âge. La problématique des pathologies mammaires bénignes est l'évolution vers la malignité de certaines formes en absence de prise en charge adéquate (Parul *et al.*, 2020). Cependant, selon Globocan 2020, le cancer du sein est le premier cancer de la femme avec un taux de mortalité à 6,9% (Globocan, 2020).

3.1. Pathologies bénignes du sein

On désigne sous le terme de mastopathie les principales maladies bénignes du sein : les kystes, les adénofibromes, les mastites inflammatoires (Lansac *et al.*, 1994).

3.1.1. Kystes

Le kyste, maladie fibrokystique appelée aussi dystrophie, est une cavité néoformée à contenu liquidien possédant un revêtement propre (épithélium). Ce sont des tumeurs bénignes du sein dont 30% ont une évolution lente (1 à 5 mm/an), 45% ont une croissance modérée (6 à 15 mm/an), et 11 % une croissance plus rapide (30 mm/an) qui peut atteindre le volume d'une tête d'enfant en plusieurs années d'évolution (Holcman *et al.*, 1997). La forme du kyste dépend du tissu dont il se développe, selon on distingue 3 types : simple, compliqué et complexe (Lavoué *et al.*, 2015), il peut être solitaire (unique) ou multiple (Tahari, 2008).

3.1.2. Adénofibrome

Les adénofibromes ou fibroadénomes sont des tumeurs solides bénignes à prolifération intra-parenchymateuse à partir des canaux intra lobulaires et des acini. Il existe une double composante proliférative épithéliale et conjonctive (Lansac *et al.*, 1994). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) considère les adénofibromes comme des différenciations bénignes de l'épithélium et du tissu conjonctif qui se développent au dépend de la glande mammaire. C'est la tumeur bénigne la plus fréquente qui affecte les femmes avec une fréquence dominante chez les femmes entre 15 et 35 ans (Sanogo, 2022).

3.1.3. Mastites inflammatoires

Ce sont des maladies inflammatoires de la glande mammaire qui peuvent être dans certains cas d'origines infectieuse ou non infectieuse, c'est une pathologie rare qui se manifestent le plus souvent par une rougeur du sein plus ou moins douloureuse. Elle peut évoluer vers un abcès non infectieux récidivant qui peut être secondaire à cause d'un abcès pas bien traité à cause de germes spéciaux (Lavoué *et al.*, 2015).

3.1.4. Autres pathologies bénignes du sein

- **Lipomes** : ce sont des tumeurs adipeuses bénignes rares, mésenchymateuse primaire à croissance lente qui se développent à partir des cellules adipocytes. Leur expression clinique est dominée par l'apparition d'une tuméfaction palpable associée parfois à une douleur. C'est la tumeur la plus fréquente de toutes les tumeurs bénignes des parties molles (Rosen *et al.*, 2006).
- **Hamartomes** : c'est une tumeur bénigne faite de tissu glandulaire, adipeux, et fibreux qui a été décrite la première fois en 1971 par Arrigoni *et al.* C'est une affection rare de la glande mammaire qui apparaît le plus souvent chez les femmes pré-ménopausées, suspectée sur la base d'une masse progressivement croissante, dont la texture ne se différencie pas du tissu mammaire environnant. Une masse volumineuse peut entraîner des modifications de la taille et de la forme du sein (Soukaina *et al.*, 2021).
- **Tumeur papillaire** : prolifération épithéliale à types à point de départ intra-canaux et développée autour d'un axe conjonctivo-vasculaire. Certes, plus rare par rapport aux autres lésions mammaires bénignes, mais ayant un taux important de malignité retrouvée après exérèse chirurgicale. Le papillome mesure en moyenne de 1 à 2 cm, mais peut aussi être plus petit et mesurer moins de 5 mm (Rosen *et al.*, 2006).

On distingue les papillomes centraux qui se développent dans les canaux principaux et les canaux segmentaires de gros calibre et les papillomes périphériques, qui siègent dans les Unités Terminales Ductulo-Lobulaires (TDLU) (Sylla, 2021).

- **Tumeur Phyllode** : prolifération cellulaire d'origine stromale périductale du sein, difficile de distinguer des fibroadénomes. Ce sont des tumeurs fibro-épithéliales, rares, représentant 1% des tumeurs primitives du sein. Leur diagnostic est histologique (Marpeau *et al.*, 2008).
- **Cyto-stéato-nécrose (CSTN)** : autodigestion du tissu adipeux par ses propres lipases adipocytaires, des tumeurs de diagnostic histologique qui se définit comme un nodule induré, de taille variable survenant le plus souvent comme une complication de l'allaitement (Kouk *et al.*, 2021).
- **Fibromatose mammaire ou tumeur desmoïde du sein** : une entité rare de prolifération fibroblastique mésenchymateuse des tumeurs primitives du sein (moins de 0,2% des tumeurs primitives du sein). Bien que localement agressive, elle reste bénigne avec un risque modéré de récurrence locale (Laakom *et al.*, 2022).
- **Hémangiome mammaire** : c'est une tumeur vasculaire se développant dans le parenchyme mammaire ou le tissu sous-cutané adjacent (David, 2019).

3.2. Pathologies malignes du sein

Les pathologies malignes du sein ont la particularité d'être polymorphes. Les types histologiques de tumeurs malignes du sein les plus fréquents sont les tumeurs épithéliales, cependant les tumeurs non-épithéliales sont plus rares. Les pathologies malignes du sein sont rares pour les jeunes filles, la plus fréquente est le carcinome sécrétoire juvénile, aussi les carcinomes inflammatoires et les carcinomes médullaires qui sont de plus en plus agressifs (Bruant *et al.*, 2016).

4. Cancer du sein

4.1. Définition

Le cancer du sein est connu chez l'humanité depuis les époques antiques. On l'a mentionné dans presque chaque période de l'histoire (Lakhtakia, 2014). Les cellules épithéliales des canaux galactophores peuvent subir une transformation cancéreuse pour faire apparaître l'un des principaux cancers de la femme, le cancer du sein qui est une multiplication anarchique des cellules de la glande mammaire (Waks *et al.*, 2019).

Les cancers provenant des lobules sont appelés carcinomes lobulaires et ceux provenant des canaux galactophores sont appelés carcinomes canaux (Haïfa *et al.*, 2019). La glande mammaire est un tissu en abondances des vaisseaux sanguins et lymphatiques ce qui facilite la propagation des cellules tumorales en assombrissant ainsi le pronostic. La dissémination lymphatique se fait habituellement vers le groupe ganglionnaire auxiliaire homolatéral (métastase ganglionnaire), par contre la dissémination par voie sanguine est habituellement plus tardive et s'effectue envers d'autres organes et tous particulièrement les poumons et l'os. En fonction de leur niveau d'infiltration tumorale, les carcinomes non-infiltrant ou *in situ* et les carcinomes infiltrant ou invasifs (Khalifa *et al.*, 2022). Les carcinomes infiltrant canaux et lobulaires correspondent aux deux sous-types histologiques les plus fréquents dans les cancers mammaires, représentant 75% et 5 à 15% respectivement des cancers du sein (Ainslie *et al.*, 2001). Dans le cas des cancers *in situ*, les cellules tumorales n'ont pas passé la membrane basale. Le cancer canalaire *in situ* est le plus fréquent des cancers non-infiltrant avec près de 85 à 90% des cancers. Le cancer lobulaire ne représente que 10 à 15% des cancers *in situ* et est souvent considéré comme une forme précancéreuse. Cependant, il existe de nombreux types de cancers invasifs, le plus fréquent est le cancer canalaire qui représente 75% des cancers infiltrant. Le cancer lobulaire ne représente que 5 à 10% des cancers infiltrant et d'autres formes encore plus rares existent telles que les carcinomes tubuleux, cribriformes, médullaires, mucineux ou papillaires. Certaines formes de cancers peuvent avoir plusieurs atteintes et sont ainsi classées mixtes (ex: canalaire et lobulaire) (Amalik *et al.*, 2021).

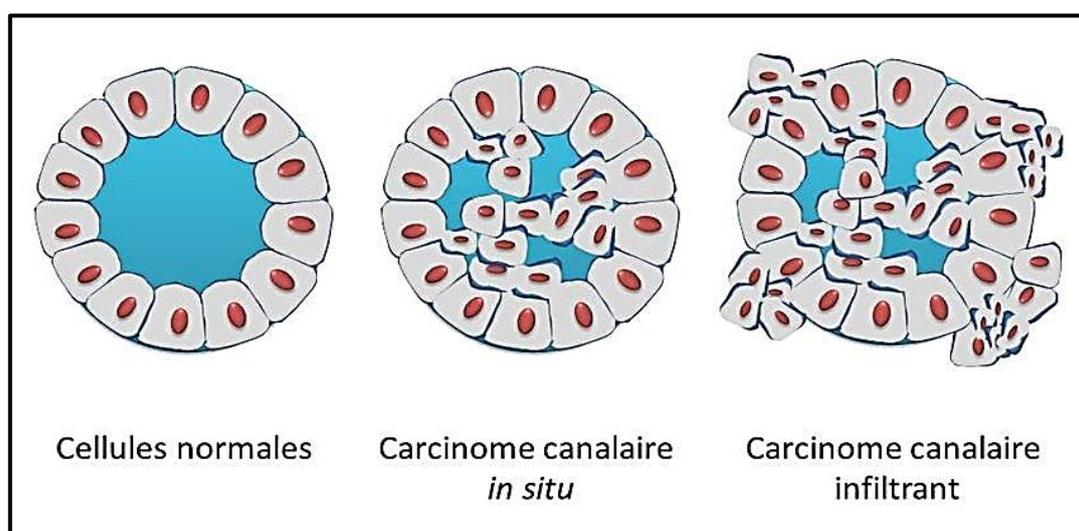


Figure 02 : carcinome canalaire *in situ* vs carcinome canalaire infiltrant (Cutuli, 2019).

4.2. Épidémiologie

Le cancer du sein est une maladie multidisciplinaire dont l'apparition résulte d'une combinaison des facteurs environnementaux et génétiques (WCRFI, 2019), c'est l'un des cancers où le taux de guérissant est élevé grâce aux progrès dans la prise en charge de cette affection. Selon les projections, le cancer du sein sera diagnostiqué chez plus de 3 millions de femmes en 2040 (Ray *et al.*, 2022). En Algérie, le taux d'incidence était de 12,536 nouveaux cas en 2020 (Sung *et al.*, 2020). Ce chiffre s'explique par le caractère particulièrement accéléré de la transition démographique et épidémiologique dans notre pays et d'un développement socio-économique très rapide. Depuis plusieurs années, le cancer du sein est devenu un problème majeur de santé publique dans les pays industrialisés, nécessitant la mise en place d'actions de prévention, de dépistage et de recherche de nouvelles thérapies. Selon l'OMS, environ 2,1 millions de cas de cancer du sein ont été diagnostiqués avoir (11,6%) du total de tous types de cancer, un taux de mortalité de 6,3 millions (6,6%) et une prévalence de (15,7%). Environ 43,8 millions de femmes vivaient avec un cancer du sein diagnostiqué au cours des 5 années précédentes. En Afrique, 16 8690 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 2018 (Globocan, 2020)

4.3. Classification du cancer du sein

Malgré les progrès des thérapies adjuvantes du cancer du sein, cette affection reste un problème crucial de santé publique, des algorithmes de calcul de risque basé sur les classifications cliniques classiques sont à la disposition du clinicien pour calculer le bénéfice de la mise au point d'un traitement adjuvant (Hosni *et al.*, 2019). Cependant, dans un certain nombre de cas, cette corrélation a besoin d'être infirmée par d'autres classifications pronostics et moléculaires pour l'accomplir (Tsang *et al.*, 2020). Avec une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires ainsi que l'amélioration des outils de la biologie moléculaire, l'étude des facteurs biologiques tissulaires s'est développée considérablement. Parallèlement à la classification anatomo-pathologique se profile une classification moléculaire issue de la génomique (Al-Thoubaity *et al.*, 2020).

4.3.1. Classification TNM

Il est toujours important de classer les tumeurs afin de créer des groupes homogènes quel que soit sur le plan pronostique, mais aussi thérapeutique, et c'est là le rôle de la classification classique TNM qui définit la propagation locale T (Tumor), régionale N (Node) et générale M (Metastasis) de la tumeur (Berghmans *et al.*, 2019).

Elle permet une première évaluation pronostique basée sur l'extension de la tumeur au moment de la chirurgie. D'une façon générale, à ces trois lettres sont associés des chiffres, dont la valeur augmente en fonction de la gravité, et qui varie de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et sont soit 0 soit 1 pour le M (Fourati *et al.*, 2019). La classification classique est fondée sur l'extension anatomique de la tumeur déterminée par la clinique et l'histopathologie. Elle regroupe l'atteinte locale (T0 à T4), ganglionnaire (N0 à N3) et métastatique (M0 ou M1) où les chiffres associés à chaque critère augmentent en fonction de la gravité du cancer. Ces constatations sont le résultat de l'examen clinique, de l'imagerie, de l'endoscopie, des biopsies, de l'exploration chirurgicale et d'autres examens complémentaires (Saglier *et al.*, 2009). La combinaison des trois paramètres T, N, M permet d'établir le stade d'évolution du cancer étudié. On parle alors de classification par stade UICC (Lee *et al.*, 2019). La classification des cas de cancer par groupe est pratiquée depuis que l'on s'est aperçu que les taux de survie étaient plus élevés dans les cas où la maladie était localisée que dans les cas où elle s'était étendue au-delà de l'organe atteint à l'origine (Berzenji *et al.*, 2018). Le grade SBR est réalisé sur tous les types histologiques de cancers infiltrant, mais les cancers médullaires qui ont un diagnostic difficilement à être établis (INCa, 2016). La quantité des marges d'exérèses chirurgicales et la présence d'embolies péri-tumorales font partie du compte rendu anatomopathologique et peuvent servir d'éléments supplémentaires pour un bon pronostic. Les avancées de la biologie du cancer ainsi que les progrès techniques tels que les analyses génomiques et transcriptomiques confirment que le cancer du sein est une maladie très hétérogène avec une diversité dans la réponse aux traitements, expliquant les différences dans l'évolution de la maladie pour des populations de patients diagnostiqués et traités à des stades identiques (Rosen *et al.*, 2021) (annexe I).

4.3.2. Classification histologique

La classification histologique actuellement utilisée est celle de l'OMS. Les carcinomes sont des proliférations malignes de nature épithéliale. Les tumeurs épithéliales malignes sont les plus fréquentes, elles représentent presque la totalité des tumeurs malignes du sein (Bagot *et al.*, 2020). Les tumeurs malignes non carcinomateuses (sarcomes, métastases intra-mammaires) beaucoup plus rares (moins de 1% des cancers du sein) (Sobin, 2010) (annexe I).

a. Cancers épithéiaux

- **Carcinomes non invasifs ou non infiltrant** : ils représentent 15 à 20% des cancers du sein. Ce sont les carcinomes canalaire *in situ* (CCIS) et les carcinomes lobulaires *in situ* (CLIS), Il s'agit d'une prolifération de cellules cancéreuses maligne épithéliale limitée à l'intérieur et le long de l'arbre canalaire dans la lumière des canaux et des lobules, sans franchir la membrane basale et sans envahir le tissu conjonctif. La membrane basale empêche tout contact avec les vaisseaux et le tissu conjonctif environnant, d'où un risque métastatique nul. D'autre part le risque évolutif à terme est l'apparition d'une tumeur infiltrante. Le diagnostic de carcinome *in situ* peut être difficile (Singletary *et al.*, 2002).
- **Carcinomes invasifs ou infiltrant** : tumeur où la composante invasive est supérieure à 25% du volume tumoral total, les cellules tumorales envahissent les tissus conjonctifs, générant alors un risque de métastases locorégionales ou à distance (Haïfa *et al.*, 2019). Les carcinomes deviennent infiltrants lorsque les cellules cancéreuses franchissent la membrane basale et envahissent le tissu conjonctif de soutien. Elles entrent alors en contact avec des vaisseaux sanguins et lymphatiques à l'origine d'une possible diffusion métastatique. Les plus fréquents sont les carcinomes canalaire infiltrant : ils représentent 80% des carcinomes infiltrant (Cepo *et al.*, 2002).
- **Maladie de Paget** : elle représente 1 à 3% des cancers du sein. Il s'agit d'un adénocarcinome intra-épidermique du mamelon, associé à un adénocarcinome intra- galactophoriques sous-jacent dans 82 à 100% des cas (Michou *et al.*, 2019).

b. Cancers non-épithéiaux

Elles sont rares, représentant moins de 1% de toutes les tumeurs malignes du sein. Il s'agit d'une prolifération tumorale maligne issue des autres structures du sein (tissus conjonctifs, graisse, vaisseaux sanguins ou lymphatiques) représentées par :

- Les sarcomes phyllades,
- Les sarcomes mésoenchymateux ou sarcome du stroma,
- Les angiosarcomes,
- Les lymphomes malins non hodgkiniens primitifs du sein,
- Les métastases intra-mammaires d'un autre cancer primitif : mélanome, tumeurs pulmonaires, du tractus digestif, de l'appareil urogénital (Traoé *et al.*, 2020).

c. Cancers inflammatoires

Le cancer du sein inflammatoire représente 1 à 6% des cancers du sein, mais constitue une forme agressive dont l'évolution est rapide et le pronostic très sévère. Ce type de tumeurs s'accompagne des métastases à distance lors du diagnostic dans un tiers des cas (Singh *et al.*, 2019).

4.3.3. Classifications moléculaires

Plus récemment, des techniques d'analyse génomique à large échelle comme les puces à ADN ont rendu possible de dresser une carte d'identité moléculaire des tumeurs et de dégager de nouveaux facteurs pronostiques et prédictifs qui apportent de précieux compléments d'information pour la prise en charge des patientes atteintes d'un cancer du sein (Dombia *et al.*, 2020). Les deux classifications cliniques et histologiques permettent avec d'autres paramètres biologiques tels que la présence ou l'absence de récepteur des œstrogènes alpha (ER α), de récepteur à la progestérone (PR), d'établir un pronostic et un traitement approprié avec l'identification de deux groupes principaux : un groupe caractérisé par une expression faible (ou nulle) du REs (tumeurs dites « RE négatives ») et l'autre par une expression plus ou moins forte de celui-ci (tumeurs dites « RE positives » ou lumbinales) (Hamdan *et al.*, 2018) (annexe I).

a. Tumeurs lumbinales (profil lumbinal)

Les tumeurs exprimant des gènes codant pour les protéines des cellules épithéliales de la lumière des canaux ou des lobules du sein furent classées dans type dit « lumbinal ». C'est le type le plus fréquent, il représente 60 à 70% des carcinomes. 4 types moléculaires ont été identifiés : lumbinal A, B et C et HER2 (Rouëssé *et al.*, 2002). Le type C fit une apparition éphémère, avec un pronostic moins bon. Le type lumbinal correspond à des tumeurs exprimant des cytokératines lumbinales 8, 18 et du gène *GATA3* impliqué dans le contrôle de la croissance et le maintien de la différenciation des tumeurs ER+ (Porras *et al.*, 2022).

b. Tumeurs de phénotype HER2 enrichi :

La classification intrinsèque individualise la catégorie HER2 enrichie dans la classe des tumeurs RE négatives. Mais les données de la pratique clinique suggèrent qu'approximativement 50% des tumeurs sur exprimant HER2 sont RE négatives et 50% sont RE positives. Les tumeurs RE+ et sur exprimant HER2 sont en fait retrouvées dans la catégorie des tumeurs Lumbinal B (Rouëssé *et al.*, 2002).

c. Tumeurs dites normal-like

Représentent 5 à 10% des carcinomes dont le phénotype est proche de celui du tissu normal et dont le pronostic est intermédiaire. Ce dernier type fut ensuite écarté, car il correspondait à un biais de sélection de certaines tumeurs contaminées par du tissu mammaire non cancéreux (Pediconi *et al.*, 2007).

d. Tumeurs dites Basal-like

Tumeurs dites « triples négatives » c'est-à-dire n'exprimant ni les RH ni HER2. Ce sont des tumeurs agressives, de haut grade avec un index mitotique élevé et un pronostic défavorable (Cortet *et al.*, 2021). Elles représentent 65% des tumeurs RE-, elles expriment le plus souvent des cytokératines basales 5/6, 14 et 17, des cavéolines 1 et 2, de l'EGFR et de c-kit. La protéine P53 est mutée dans 80% des cas souvent avec une associée à la mutation de *BRCA1* (Yakhni *et al.*, 2018). Cette dernière caractéristique les rend sensibles à la chimiothérapie dont les cassures des brins d'ADN ainsi induits ne sont plus réparées, conduisant la cellule tumorale d'activer sa mort cellulaire programmée, la chimiothérapie est donc le traitement de choix pour ce type (Cortet *et al.*, 2021).

4.4. Facteurs de risque du cancer du sein

Le cancer est une maladie multi-étape et multifactorielle, il n'y a donc jamais de cause unique du développement d'un cancer. Même s'il existe encore aujourd'hui des incertitudes quant à l'implication et au poids de plusieurs facteurs, les plus clairement identifiées sont représentées par les facteurs liés à la vie reproductive et hormonale, ou au mode de vie (alimentation, manque d'activité physique), ainsi que les facteurs génétiques (Sancho *et al.*, 2019). Malgré une connaissance accrue des facteurs de risque, il reste impossible de prédire individuellement qui développera un cancer, selon les risques auxquels il est exposé. Néanmoins, la connaissance de ces facteurs de risque permet la mise en œuvre de mesures adaptées de prévention des cancers et de dépistages ciblés (Frikha *et al.*, 2021).

4.4.1. Âge et sexe

L'âge est un facteur de risque important pour le cancer du sein, la probabilité de développer un cancer augmente avec l'âge. Le cancer du sein touche essentiellement les femmes, seulement 1% des hommes sont concernés. Les traitements sont les mêmes pour les hommes et les femmes (Radja *et al.*, 2021).

L'augmentation du risque n'est pas linéaire en fonction de l'âge puisque le risque de cancer du sein augmente jusqu'à environ 65 ans et décroît ensuite. Environ deux tiers sont diagnostiqués chez des femmes âgées de plus de 55 ans et 10% chez les femmes de moins de 40ans. Dans la population générale, la maladie est rare chez les femmes de moins de 30ans (< 25 cas pour 100 000) (Cheang *et al.*, 2009). L'âge jeune (< à 35 ou 40 ans selon les séries) est considéré comme un facteur de mauvais pronostic indépendant dans de nombreuses séries il favorise le risque de rechute à distance, mais aussi le risque de rechute loco-régionale (Pediconi *et al.*, 2007). Une étude de Montagna et son équipe (Montagna *et al.*, 2018) effectuées sur 2970 patientes démontre que chez les patientes jeunes (< 35ans), il y a moins de tumeurs de type luminal A et plus de triples négatives. L'étude de Carolina sur le cancer du sein effectuée sur des Afro-américaines, montre également que les lumorales A et B sont plus fréquentes chez les patientes ménopausées que chez celles qui ne le sont pas (Van *et al.*, 2005). À l'inverse, les tumeurs triples négatives sont plus fréquentes chez les femmes de moins de 40ans (Saridakis *et al.*, 2021).

4.4.2. Facteurs hormonaux

L'équilibre oestrogénique permet le développement harmonieux de la glande mammaire. Ainsi, l'hyper-œstrogénie relative ou absolue entraîne une hyperplasie épithéliale. Le développement de la pathologie épithéliale est lié à des facteurs hormonaux (hyper-œstrogénie) (Gompel, 2019). Cette hyper-œstrogénie relative ou absolue varie en fonction de la vie génitale de la femme, et d'éventuels traitements hormonaux. Ainsi, la ménarche précoce, la ménopause tardive, la nulliparité, l'âge tardif de la première grossesse, l'absence d'allaitement et la prise d'œstrogènes seuls de façon prolongée augmentent le risque du cancer du sein (Oncopaca *et al.*, 2008). L'exposition aux œstrogènes peut être endogène ou exogène.

a. Endogène

Un fort taux sanguin d'œstradiol est associé à un risque accru de cancer du sein (Oncopaca *et al.*, 2008). Les résultats concernant l'effet du taux de progestérone ne sont pas probants, mais tendraient vers un effet protecteur sur le risque de cancer du sein en pré-ménopause (INCa, 2016). L'âge des premières règles peut avoir un impact sur la survenue du cancer du sein. En effet, le risque s'accroît avec leur précocité. Le risque de cancer du sein augmente également de façon importante avec le moment d'apparition de la ménopause (Gompel, 2019).

Une période d'activité génitale longue (puberté précoce < 11 ans, ménopause tardive > 55 ans, première grossesse tardive > 30 ans) augmente le risque de développer un cancer du sein. Le risque de cancer du sein est diminué de 5 à 20% pour chaque année supplémentaire d'âge aux 1ères règles (Oncopaca *et al.*, 2008) en diminuant la durée d'exposition hormonale. De la même façon, il a été montré que des cycles menstruels longs étaient associés à une diminution du risque de cancer du sein (Erić *et al.*, 2020). L'âge de survenue de la première grossesse peut avoir une importance, car le risque diminue si elle survient avant 30 ans, mais il augmenterait pour un âge supérieur à 35 ans. Concernant l'âge à la ménopause, le risque de cancer du sein augmente de 2,8% pour chaque année d'âge à la ménopause en augmentant la durée d'exposition hormonale (Kroman *et al.*, 2000). Une ménopause précoce induite (ovariectomie bilatérale) est associée avec une diminution du risque de cancer du sein. Ainsi que le nombre de grossesses à terme a un effet dual sur le risque de cancer du sein. D'une part, il a été montré une augmentation du risque à court terme c'est-à-dire pendant ou juste après la grossesse. Cette augmentation refléterait l'effet proliférateur sur les cellules tumorales de hauts niveaux d'œstrogènes produits pendant la grossesse (Lee *et al.*, 2019). D'autre part, un effet protecteur à long terme est communément observé. Cet effet est d'autant plus marqué que le nombre d'enfants est élevé. L'allaitement et la durée d'allaitement sont associés à une diminution du risque de cancer du sein (Carey *et al.*, 2006). Cet effet protecteur peut être expliqué par un degré de différenciation cellulaire plus important chez les femmes allaitantes (Bauer *et al.*, 2007). De plus, l'allaitement retarde le retour des menstruations et de la production hormonale ovarienne. Il a été montré que le risque de cancer du sein diminue de 4,3% pour chaque période de 12 mois d'allaitement (Gompel, 2019).

b. Exogènes

Une analyse de 54 études montre que la prise de contraceptifs oraux est associée à une augmentation de la survenue du cancer du sein (Gaffield *et al.*, 2009). La prise de contraceptifs oraux et de traitements hormonaux substitutifs augmente le risque de développer un cancer du sein (Nkondjock *et al.*, 2005).

Globalement, on observe une augmentation de 25 % du risque chez les utilisatrices d'œstroprogestatifs, mais ce risque semble disparaître dix ans après l'arrêt du contraceptif. Il n'y aurait pas d'effet par rapport au type d'hormones (œstrogènes ou progestatifs), ni par rapport à la durée d'utilisation, ni par rapport au type de combinaison (œstroprogestatif ou progestatif seul) (Fournie *et al.*, 2008).

4.4.3. Facteurs environnementaux, démographiques et sanitaires

a. Tabac

Le tabac est une importante source de substances carcinogènes. Il est associé à la survenue de diverses maladies incluant de nombreux cancers (Barrault *et al.*, 2009). Pourtant, la cigarette n'est pas considérée comme un facteur de risque établi du cancer du sein. La production de substances carcinogènes induites par la consommation de tabac active ou passive pourrait expliquer son effet délétère sur le risque de cancer du sein (Mavaddat *et al.*, 2019). Une association entre consommations de tabac active et passive et risque de cancer du sein a été rapportée (Dam *et al.*, 2019). Il a été suggéré que ce risque augmentait pour les femmes exposées entre le début de la puberté et la 1^{ère} grossesse, période de forte sensibilité aux carcinogènes. Le tabagisme passif semble associé à un risque augmenté d'environ 60% (Sancho *et al.*, 2019).

b. Radiations ionisantes

Les radiations ionisantes augmentent le risque de cancer du sein dans la mesure où elles endommagent l'ADN et ses constituants. Le rôle de l'irradiation a été prouvé par les explosions atomiques d'Hiroshima, ainsi que les expositions professionnelles aux polluants environnementaux et les agents chimiques (Maschmeyer *et al.*, 2019). L'exposition du tissu mammaire aux radiations ionisantes, avant l'âge de 40 ans, est susceptible de provoquer un cancer du sein dans les années ultérieures. Il a également été montré que l'effet des radiations ionisantes chez les femmes exposées avant l'âge de 40 ans est associé à un risque de cancer du sein multiplié par trois, pour une exposition évaluée à 1 Gy. Le risque de cancer du sein est similaire pour une exposition unique ou pour des expositions multiples à intensité totale égale (Nkondjock *et al.*, 2005).

c. Agents chimiques

Les xéno-œstrogènes organochlorés, en particulier les pesticides, pourraient représenter une piste sérieuse en raison de leur aptitude à se comporter comme des perturbateurs endocriniens, de leur caractère ubiquitaire, leur persistance dans l'environnement que ce soit l'eau, l'air ou la chaîne alimentaire et leur aptitude à exercer *in vitro* ou chez l'animal un pouvoir carcinogène sur les cellules mammaires. Mais leur implication est loin d'avoir été formellement démontrée (Pourquier *et al.*, 2000).

Cependant en mai 2014, des scientifiques américains ont identifié les substances chimiques les plus cancérigènes présentes dans l'environnement quotidien que les femmes devraient éviter pour réduire les risques de cancer du sein, une piste jugée prometteuse pour sa prévention. Cette recherche, publiée dans la revue *Environmental Health Perspectives*, établit une liste de 17 substances cancérigènes hautement prioritaires parce qu'elles provoquent des tumeurs mammaires chez les animaux et que de nombreuses femmes y sont exposées. Il s'agit de produits chimiques présents dans l'essence, le gasoil et autres substances d'échappement des véhicules, ainsi que des ignifuges, des textiles anti-tâches, des dissolvants, des décapants à peinture et des dérivés de désinfectants utilisés dans le traitement de l'eau potable (Pourquier *et al.*, 2000).

4.4.4. Facteurs liés aux habitudes de vie et nutrition

a. Alimentation

Le rôle des facteurs alimentaires, souvent source d'obésité, est discuté et expliquerait l'incidence croisée avec le cancer du sein. La consommation de graisse a été associée à une augmentation du risque de cancer du sein (Habak *et al.*, 2022), mais cette association est controversée (Lauby *et al.*, 2019). La relation entre l'apparition de cancer et particulièrement le cancer du sein et les différents nutriments a fait l'objet de nombreuses études. Un intérêt particulier a été porté sur les graisses alimentaires. D'une manière générale, les résultats restent discordants. Par ailleurs, la restriction de l'apport énergétique durant l'enfance ou avant la première grossesse réduit le risque de cancer du sein de 23 à 76%. Le mécanisme de cette association impliquerait le recul de l'âge d'apparition des premières règles et la diminution du niveau de l'hormone de croissance IGF-I et des œstrogènes. Il y a 25 ans, l'OMS considérait le café comme un facteur de risque probable de cancer de la vessie. Mais au fil du temps, plus de 1 000 études sont venues contredire cet avis (Maumy *et al.*, 2020). Désormais, le café est même suspecté de faire baisser le risque de certains cancers, cet effet bénéfique serait dû à la grande variété de substances bioactives contenues dans le café. Une nouvelle étude, publiée dans la revue *Clinical Cancer Research*, montre que le café inhibe la croissance des tumeurs et réduit le risque de récurrence chez les femmes qui ont été traitées avec le tamoxifène. Parmi les plus de 500 participantes qui ont été traitées avec le tamoxifène, celles qui prenaient au moins deux tasses de café par jour avaient la moitié moins de risque de récurrence que celles qui en buvaient moins ou pas du tout (Lüftner *et al.*, 2021).

L'hypothèse d'un lien entre le café et le cancer du sein est étayée par plusieurs mécanismes. La caféine exerce une influence favorable sur la concentration des hormones stéroïdiennes et sur le métabolisme des œstrogènes (Cohen *et al.*, 2011). De plus, le café est riche en phyto-œstrogènes, particulièrement la dizaine, qui du fait de la similarité de sa structure biochimique à celle des œstrogènes endogènes et de sa propension à se fixer sur les REs, peut réduire le risque du cancer du sein. Une étude récente impliquant une cohorte de 80 familles canadiennes francophones de 250 membres porteurs et non porteurs d'une mutation de *BRCA1/2* a révélé que les femmes porteuses d'une mutation de *BRCA1/2* qui ont un apport énergétique quotidien dépassant 2339 kcal ont un risque de cancer du sein augmenté de 2,76 fois par rapport à celles qui ont un apport énergétique inférieur ou égal à 1724 kcal par jour. Cette augmentation significative de risque de cancer du sein est indépendante de l'âge, de l'indice de Masse Corporelle (IMC) et de l'activité physique. Cette observation suggère que la restriction énergétique est associée à une diminution de risque de cancer du sein lié aux mutations de *BRCA1/2*. Il a été montré que la restriction énergétique réprime la sécrétion oestrogénique dans des conditions qui suppriment le développement tumoral (Britt *et al.*, 2020).

b. Obésité

L'obésité est associée à une diminution de la survie globale des patientes et à une augmentation du risque de récurrence indépendamment du statut ménopausique, les risques relatifs en termes de mortalité semblant plus élevés en période de pré-ménopause. L'excès de tissus adipeux entraîne l'augmentation de la production et du temps d'exposition aux hormones stéroïdiennes pendant la période de la pré-ménopause (Lauby *et al.*, 2019). Le tissu adipeux est un site privilégié de stockage et de métabolisme des stéroïdes sexuels. Le diabète de type 2 est un grave problème de santé publique qui touche plus de 7% des adultes dans les pays développés. D'après la revue de la littérature de Advani *et al.*, 2021, le diabète de type 2 pourrait augmenter de 10 à 20% le risque relatif de développer un cancer du sein chez la femme pré-ménopausée. Ceci serait dû notamment à une surproduction du récepteur à l'insuline causée par une plus grande concentration d'insuline. Le complexe insuline/récepteur induit, par des réactions en cascades, une diminution de l'apoptose et entraîne une plus forte prolifération cellulaire (Lauby *et al.*, 2019).

c. Activité physique

L'activité physique, qu'elle soit professionnelle, domestique ou de loisirs joue un rôle protecteur reconnu dans la survenue du cancer du (Advani *et al.*, 2021). Le risque de cancer du sein diminuerait avec l'intensité de l'activité physique (Cordina *et al.*, 2016). L'activité physique modérée (30 à 60 minutes au moins 4 fois par semaine) diminue le risque de cancer du sein d'environ 35 %, en particulier chez les femmes ménopausées. Un bénéfice maximal est tiré d'une activité physique intense et soutenue tout au long de la vie. Les mécanismes biologiques par lesquels l'activité physique serait associée à une diminution de risque impliquent la réduction de la production d'œstrogènes et le maintien de l'équilibre énergétique. L'activité physique intense chez la jeune fille peut perturber et retarder la puberté et diminuer le taux d'hormones circulantes, elle augmente l'âge d'apparition des premières règles, l'ovulation et le nombre de cycles menstruels irréguliers. Par conséquent, elle diminue l'exposition générale aux œstrogènes endogènes, des mécanismes hormonaux, d'insulino-résistance, ou d'inflammation chronique (Dam *et al.*, 2019).

d. Trouble du rythme circadien

Les horaires décalés et particulièrement le travail de nuit provoquent des perturbations de l'horloge biologique interne qui régule l'alternance des périodes de veille et de sommeil. Une association a été montrée entre le travail de nuit et la survenue de cancer du sein dans diverses études (CGHF in BCa, 2019). Les mécanismes possibles incluent la suppression du pic nocturne de mélatonine lors de l'exposition à la lumière pendant la nuit, les perturbations de l'horloge circadienne, ou un dérèglement du système immunitaire dû aux troubles du sommeil induits par les horaires décalés (Hadadi *et al.*, 2021).

e. Stress

De nombreuses recherches ont tenté de désigner le stress comme facteur déclenchant ou aggravant du cancer. Dans l'ensemble, les études donnent des résultats controversés, et ne permettent pas d'établir de lien de causalité entre stress et cancer (Duboc, 2011).

4.4.5. Antécédents personnels de maladies bénignes du sein

Il convient de différencier les types de maladies bénignes du sein. Les lésions bénignes non-prolifératives, sont associées à un faible risque de cancer du sein (Benchellal *et al.*, 2000). Les lésions prolifératives non-atypiques, sont associées à un risque plus élevé. Les femmes qui ont eu un cancer du sein ont 5 fois plus de risque de développer un nouveau

cancer dans le même sein lorsque la chirurgie a été conservatrice, ou dans le sein controlatéral que la population générale (Tlemsani *et al.*, 2014). Enfin, les antécédents personnels d'un autre cancer majorent le risque de cancer du sein : il est multiplié par 2 à 4 fois après un cancer du côlon et par 1 à 2 fois après un cancer de l'ovaire ou de l'endomètre (El Fouhi *et al.*, 2020). Ces lésions constituent en réalité un stade précurseur de cancer du sein. Les carcinomes canalaire *in situ* (CCIS) ou les carcinomes lobulaires *in situ* (CLIS) dont l'exérèse est incomplète multiplient par 8 à 10 le risque de cancer du sein (Guo *et al.*, 2019).

4.5. Approches thérapeutiques actuelles du cancer du sein:

4.5.1. Aperçu général

Le cancer du sein est une affection hétérogène qui fait appel à d'éventuelles thérapies multidisciplinaires, impliquant un respect référentiel de bonnes pratiques. Les principaux traitements sont la chirurgie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la chimiothérapie qui varient en fonction notamment de la taille et de la position de la tumeur dans le sein (Doridot *et al.*, 2004). Les cancers du sein opérables sont définis par des tumeurs de taille égale ou supérieure à 2 cm et/ou en position centrale dans le sein. Ce traitement est également le traitement de référence des cancers du sein localement avancé ou inflammatoire, en revanche, les tumeurs de petite taille (< 2cm) sont généralement traitées par chirurgie première suivie d'une radiothérapie, puis si nécessaire, les patientes peuvent recevoir une chimiothérapie et/ou une hormonothérapie dites alors adjuvantes (Doridot *et al.*, 2004). Certaines molécules sont couramment utilisées en clinique, d'autres font encore l'objet d'études cliniques prospectives. Plus le traitement est précoce, plus le taux de guérison est élevé, d'où l'importance des dépistages systématiques de la population (Kuhl *et al.*, 2007). Une équipe pluridisciplinaire obligatoire est mise en place pour chaque patiente de manière à établir une proposition de traitement. Cette équipe se compose au minimum d'un chirurgien, d'un radiologue et d'un oncologue (Doridot *et al.*, 2004).

4.5.2. Place de l'hormonothérapie dans le cancer du sein

L'hormonothérapie a pendant longtemps été considérée comme le traitement adjuvant de référence du cancer du sein hormono-dépendant. Aujourd'hui, hors essais cliniques, l'hormonothérapie adjuvante qui vise à réduire le risque de rechute locale ou à distance chez la femme traitée en situation non métastatique standard du cancer

du sein est le tamoxifène qui jusqu'à ce jour est entièrement validé dans le monde. Jusqu'à ces dernières années, le tamoxifène était également un traitement proposé en cas de cancers avancés chez des femmes ménopausées (Delozier *et al.*, 2010) (annexe II).

En conclusion, la recherche dans le cadre des hormonothérapies face au cancer du sein est en cours permettant ainsi de développer des molécules efficaces, moins toxiques, avec comme résultats les points de repère suivants :

- **En situation adjuvante :** le tamoxifène et l'anastrozol sont utilisés dans cette indication, chez des femmes ménopausées. D'autres molécules sont en cours de validation.
- **En situation néo-adjuvante :** les études en cours cherchent à améliorer les bénéfices obtenus avec le standard actuel, à savoir le tamoxifène donné à 20mg/jour pour une durée de cinq ans. Une nette percée d'études à grande échelle est perceptible en ce sens.
- **En situation métastatique :** les nouveaux anti-œstrogènes ainsi que les inhibiteurs de l'aromatase qui montrent un bon profil de tolérance devraient permettre de proposer plusieurs lignes efficaces de traitement dans les cancers avancés, cela étant favorisé par la non-résistance croisée de ces molécules (Delozier *et al.*, 2010).

Chapitre II

Génétique cancer du sein

1. Génétique du cancer du sein

1.1. Antécédents familiaux

Les formes familiales du cancer du sein sont connues depuis temps, la recherche a mis en évidence des gènes de prédisposition au cancer du sein qui sont transmis dans certaines familles. Ils confèrent un risque important de développer un cancer du sein aux femmes qui en sont porteuses. Nous estimons que 5 à 10% des cancers seraient liés à une prédisposition génétique (Puddu et Tafforeau, 2005). Une femme qui possède une mutation *BRCA1* a un risque de 55 à 65% de développer un cancer du sein au cours de sa vie, 45% pour une mutation *BRCA2* et en moyenne une femme portant une de ces mutations aura 70% de chance d'avoir un cancer du sein avant 80 ans (Antoniou *et al.*, 2003). D'autres mutations germinales dans de nombreux autres gènes sont capables d'amener au développement d'une forme familiale de cancer du sein. Bien que certains facteurs de risque aient été identifiés, les connaissances actuelles sont insuffisantes pour permettre d'identifier tous les individus ayant un risque plus élevé au sein de la population, ou de comprendre le lien entre la génétique et le statut hormonal (Petronis *et al.*, 2001).

1.2. Gènes de prédispositions

1.2.1. *BRCA1/2*

Les gènes *BRCA1* et *BRCA2* localisés respectivement sur les chromosomes 17q et 13q où les altérations dans l'un ou l'autre de ces gènes confèrent un risque 3 à 7 fois plus élevé (Casasent *et al.*, 2022). Une étude récente a suggéré que le risque estimé à 70 ans chez les individus porteurs de la mutation sur le *BRCA1* est de 69% et de 74% pour les sujets porteurs de la mutation sur le gène *BRCA2* (Casasent *et al.*, 2022). La fréquence de mutations germinales délétères de ces deux gènes est de 1/800 dans la population caucasienne, 2% environ dans les populations juives ashkénazes pour 3 mutations fondatrices. Plusieurs années après le clonage du gène *BRCA1* et celui de *BRCA2* et les fonctions précises des protéines induites ne sont pas encore déterminés. Le *BRCA1* semble avoir un rôle multiple et il se lie à de très nombreuses protéines *in vivo*. Le produit de la protéine du *BRCA1* est impliqué dans divers processus cellulaires fondamentaux qui dépendent du contexte cellulaire, elle a un rôle régulateur de la transcription des gènes cibles comme *p21* et *c-myc*. Les deux protéines *BRCA1* et *BRCA2* interviennent de façon majeure dans la réponse cellulaire aux lésions génotoxiques, un rôle indispensable dans la réparation de l'ADN, la recombinaison et l'apoptose (Takaoka *et al.*, 2018).

La seule fonction connue du gène *BRCA2* est le rôle de facilitation de la recombinaison homologue au cours de laquelle la protéine BRCA2 interagit avec des facteurs majeurs comme la protéine Rad51 (Davies *et al.*, 2001). Les cancers liés aux *BRCA1* présentent un phénotype particulier fait de croissance rapide, haut grade, fréquence de l'histologie médullaire, récepteurs hormonaux très fréquemment absents, indice de proliférations élevées, rareté de la surexpression du gène *Her2* (English *et al.*, 2013).

1.2.2. *P53*

Un gène suppresseur de tumeur localisé sur le chromosome 17 qui code pour une phosphoprotéine connue pour son rôle important dans des diverses fonctions cellulaires. Dans de rares cas l'altération du gène *p53* induit une protéine tronquée associée à des cancers du sein chez des femmes jeunes, il est associé particulièrement à des sarcomes, tumeurs cérébrales hémopathies, cortico-surénalomes survenant dans l'enfance. Le taux de risque de développer un cancer chez un individu porteur de mutation germinale du *p53* est estimé à 50% à l'âge de 30 ans et de 90% à l'âge de 70 ans (Jerry *et al.*, 2010).

1.2.3. *ATM*

Un gène suppresseur de tumeur associé à la transmission autosomique récessive de l'ataxie télangiectasie. Des études menées dans des familles d'enfant atteint d'ataxie télangiectasie ont montré que la possibilité de développer un cancer du sein chez leurs mères hétérozygotes obligatoirement et 5 fois plus élevés que la population générale. Il a un rôle majeur dans l'intégrité du génome, il régule en fait les effets majeurs des lésions induites après une génotoxicité comme les lésions du *BRCA1* et *p53* (Gasco *et al.*, 2000).

1.3. Gènes de susceptibilité

1.3.1. *P53*

Il semble que des mutations somatiques du *p53* sont liées avec des risques de récurrences chez des femmes atteintes d'un cancer de la glande mammaire. Dans la série de Pare *et al.*, 2020, un excès dans l'expression de la protéine p53 était significativement lié aux risques de récurrences locales chez des femmes traitées par chimiothérapie conservatrice sans irradiation. La plus grande étude cas-contrôle publiée n'a démontré aucune corrélation entre la surexpression du p53 et le risque de récurrences locales (Kaur *et al.*, 2018).

À l'opposé dans une autre étude de cohorte de femmes traitées par mastectomie pour cancer du sein, le risque de récidives pariétale était plus élevé en présence d'une forte expression de p53 avec ou sans radiothérapie (McGowan *et al.*, 2018).

1.3.2. *Her2*

Un gène qui se localise sur le bras long du chromosome 17 (17q), il code pour le récepteur de tyrosine kinase qui se trouve sur la surface des cellules prolifératives, sa surexpression est liée au cancer du sein et de l'estomac. Les cancers du sein exprimant *Her2* représentent 15 à 20% des cancers du sein, une combinaison entre la chimiothérapie et les traitements ciblant le *Her2* permet d'améliorer la survie et de diminuer de façon importante la mortalité des patientes qui présentent un profil hormonal positif (Goutsouliak *et al.*, 2020).

1.3.3. *HLA*

Le polymorphisme *HLA* est corrélé à la survenue de plusieurs types de tumeurs du fait de son rôle clé dans la présentation des antigènes au système immunitaire y compris les cancers du sein sporadiques. L'efficacité de cette présentation est définie par le type de molécules *HLA* impliquées. Une combinaison *HLA* pourrait donc induire une bonne réponse ou un échappement de l'antigène au système immunitaire. Par ailleurs, la diminution du niveau d'expression des molécules *HLA* I à la surface des cellules tumorales est une modalité d'échappement de ces cellules au système immunitaire, ces molécules déclenchent la cytotoxicité spécifique suite à la présentation des antigènes endogènes aux TCD8+ (Sayad *et al.*, 2020).

1.3.4. *CYPs*

Les modifications des gènes impliqués dans le métabolisme des composés exogènes (les xénobiotiques) et des composés endogènes (les œstrogènes) peuvent altérer les niveaux plasmatiques des œstrogènes entraînant ainsi l'apparition de certains cancers tels que le cancer du sein hormono-dépendant (Alonso *et al.*, 2006). De nombreuses études épidémiologiques ont montré le rôle des expositions professionnelles (HAP, amiante, amines aromatiques, benzène, chlorure de vinyle) dans le développement de cancers. La plupart de ces substances n'ont pas d'effet cancérigène direct, c'est au cours des étapes de leur métabolisme qu'apparaissent des métabolites actifs susceptibles de léser l'ADN (Benhamou, 2001).

La phase I de ce métabolisme fait intervenir plusieurs enzymes notamment des cytochromes P 450 (1A1, 1A2, 3A et 1B1) pour catalyser l'œstradiol et l'œstrone en 2-hydroxycatecholestrogène et en 4-hydroxycathecholestrogène. Ces métabolites forment ensuite des quinones par une réaction d'oxydoréduction qui entraîne la libération de radicaux libres (Yager *et al.*, 2006). Les quinones formées ont des propriétés carcinogènes, elles forment avec l'adénine et la guanine de l'ADN des adduits dont ces adduits entraînent des mutations de l'ADN. De plus les radicaux libres accentuent le phénomène de mutations de l'ADN. L'accumulation de ces mutations contribue au développement du cancer du sein. *CYP1A1* impliqué dans la phase I de détoxification des xénobiotiques, située sur le chromosome 15q22-q24 et est un gène long de 5987 pb. Il possède 7 exons et 6 introns qui codent pour une protéine de 512 acides aminés. C'est l'une des principales enzymes impliquées dans la voie de détoxification et qui est fortement exprimée dans les cellules épithéliales de la glande mammaire (Vitresia *et al.*, 2020). C'est un gène polymorphe impliqué dans le métabolisme des stéroïdes et de plusieurs produits chimiques potentiellement génotoxiques. Ainsi, il joue un rôle principal dans la production d'œstrogènes 2-hydroxy. Quatre polymorphismes de type SNP ont été identifiés pour le gène *CYP1A1* : M1, qui correspond à une transition T/C au niveau du nucléotide 3801 ; M2, une transition du A/G dans le codon 2455 résultant en une modification de l'acide aminé Ile en Val en position 462; M3, une transition du T/C au niveau du nucléotide 3205 ; et M4, une transition du C/A dans le nucléotide 2453 entraînant une modification de l'acide aminé Thr en Asn en position 461. Il a été identifié que le polymorphisme M1 dans la région flanquante en 3' (T3801C) était associé à une activation accrue des cancérogènes (Vitresia *et al.*, 2020).

On connaît à ce jour plus de cent gènes de prédisposition au cancer du sein (Rahman *et al.*, 2014) (Nagy *et al.*, 2016). La plupart des gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein ont été identifiés entre 1986 et 2000, par des approches combinant des études de liaisons dans de grandes familles à cas multiples de cancer et du clonage positionnel. Quelques gènes ont été identifiés par des hypothèses de gènes candidats sur des bases fonctionnelles, tels que les gènes de prédisposition au cancer du côlon, MSH2 (Fishel *et al.*, 1993) puis MLH1, MSH6 et PMS2. La découverte de ces quatre gènes a posé les bases du concept que des gènes codants des protéines agissant dans une même voie métabolique pouvaient être à l'origine d'un phénotype commun. Plus récemment, un autre mécanisme que celui des mutations génétiques a été impliqué dans la prédisposition génétique au cancer. Initialement, il a été décrit dans des

syndromes de Lynch, des épimutations du gène *MLH1*, qui correspondent à une hyperméthylation allèle-spécifique du promoteur de ce gène présente dans tous les tissus somatiques, entraînant une diminution d'expression allèle-spécifique. Cette hyperméthylation peut-être dûe à des épimutations primaires, se produisant de novo, responsables de formes sporadiques car effacées lors de la génération suivante. Alternativement, il peut s'agir d'épimutations dites secondaires car résultant d'altérations génétiques, par exemple, d'un SNV dans le promoteur du gène *MLH1*. Ces dernières sont transmissibles et donc à l'origine de formes familiales de cancers du sein (Hitchins *et al.*, 2015).

Depuis, bien d'autres gènes ont été associés à une augmentation du risque de tumeurs mammaires, qu'elles soient au premier ou au second plan de la symptomatologie. Les gènes *CDH1*, ou encore *PTEN* n'en sont que des exemples. Les altérations responsables ségrégent selon le mode autosomique dominant, mais certains gènes ont la caractéristique d'induire des phénotypes extrêmes en cas d'inactivation bi-allélique constitutionnelle, à l'image du CMMRD ou de l'anémie de Fanconi. Pour la part restante des cancers héréditaires, en l'absence de variant délétère identifié, l'association de plusieurs cas semble être le témoin du partage de gènes de susceptibilité et de facteurs environnementaux communs entre les différents membres d'une même famille.

2. Mécanismes moléculaires de la tumorigenèse mammaire

Les événements induisant la transformation d'une cellule saine en cellule cancéreuse ainsi que la propagation aux tissus avoisinants provoquant ainsi l'apparition des métastases sont complexes et multiples. En 2000, Douglas Hanahan et Robert A. Weinberg ont publié une revue qui fait date dans le domaine de la cancérologie (Hanahan *et al.*, 2000). La carcinogenèse comprend 3 grandes étapes aboutissant à la prolifération incontrôlée des cellules :

- **Initiation** : une cellule saine est une cellule qui est capable de se multiplier différencier puis entrer en apoptose. Cependant, le début d'une cellule tumorale concerne une seule cellule qui va devenir immortelle. On suppose que ce phénomène ne survient qu'une seule fois et qu'il n'est dû qu'à un seul facteur dit génotoxique : chimique, physique ou génétique (Razali, 2018).

- **Promotion** : la cellule acquiert par mutations successives les caractéristiques qui lui permettent de créer une cellule cancéreuse, cellule mère de la tumeur. Ces étapes peuvent être réversibles et sont modulées par de nombreux facteurs immunitaires et hormonaux. Cette étape aboutit à la formation d'une lésion précancéreuse (Allioua *et al.*, 2014).
- **Progression** : une phase d'autonomie de croissance, de l'expression phénotypique de la malignité et d'une instabilité génétique de plus en plus marquée. L'accroissement du taux de division cellulaire augmente les risques de mutations. C'est une phase qui se prolonge avec le temps, par l'acquisition progressive de caractéristiques de plus en plus malignes, notamment des mécanismes biochimiques de l'invasion tumorale, de la capacité métastatique, de la résistance aux antimétabolites. Lors de la phase de progression, plusieurs mécanismes peuvent être observés : l'angiogenèse ainsi que l'invasion et dissémination tumorale (Razali, 2018).

3. Mutations et corrélation génotype-phénotype

Le cancer du sein est une maladie génétiquement multi-étape dont plus de 1800 mutations entrent en question favorisant la voie vers la carcinogenèse. Il s'agit le plus souvent des mutations avec un décalage de cadre de lecture, une perte d'hétérozygotie conduisant à la formation d'une protéine aberrante. Une corrélation positive retrouvée entre le génotype et le phénotype associé. En effet, le type de mutation ainsi que sa position dans le gène peuvent modifier le risque de développer un cancer du sein, de l'ovaire ou autres en l'augmentant ou en le diminuant (Petrucci *et al.*, 2016). Par exemple, il a été rapporté que :

- Parmi les corrélations génotype-phénotype, il est à noter une forte relation entre le cancer du sein et les mutations *BRCA1* d'une part, et entre les cancers de l'ovaire de haut grade et les mutations *BRCA1* d'autre part (Habak *et al.*, 2019).
- Au niveau du gène *BRCA2*, une région centrale nommée OCR (Ovarian Cluster Region) a été décrite comme étant associée à un faible risque de cancer du sein.
- Enfin, une mutation au niveau de *BRCA2*, serait associée à un risque de cancer du sein chez l'homme, mais aussi de la prostate (Le Caignec, 2000 ; Lecarpentier, 2012).

Chapitre III

Cytochrome P450, tamoxifène
et cancer du sein

1. Cytochrome P450

1.1. Définition

La membrane cellulaire joue un rôle primordial dans la protection de la cellule contre les agressions génotoxiques des molécules hydrophiles, via ces lipides elle est capable de les éliminer en dehors de la cellule. À l'inverse, des molécules hydrophobes qui ne peuvent être exclues que par des systèmes spécifiques. Au cours de son évolution, la cellule eucaryote a développé des structures spécialisées qui ont la capacité de la protéger contre l'accumulation de ces molécules hydrophobes et c'est par les fluides corporels que leurs éliminations est ainsi facilité. Le système du cytochrome 450 (CYP450) a un rôle crucial dans la détoxification de ces composés. Il représente une superfamille de 100 gènes (Khalaj *et al.*, 2019) qui code pour des hémoprotéines essentielles pour le corps humain. Les CYP sont responsables d'environ 75% des réactions métaboliques à savoir les xénobiotiques, mais aussi des composés endogènes tels que les acides biliaires, l'acide arachidonique, la vitamine D et les stéroïdes. Les CYP450 appariaient sous microscope sous la forme de pigments capables d'émettre un spectre d'absorbance à 450 nm d'où leurs noms (Simpson *et al.*, 1994). Le bon fonctionnement de ces enzymes nécessite différentes sources d'électrons en fonction de leur emplacement cellulaire, telles que la NADP cytochrome p450 réductase si elles sont situées dans le réticulum endoplasmique (ER) ou la ferrédoxine si leurs localisation est mitochondriale. Parmi les 57 CYP humains, 15 sont impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et appartiennent essentiellement aux familles 1, 2 et 3. Bien que certains substrats endogènes aient été identifiés, la majorité des molécules transformées sont des xénobiotiques. En fait, plus de 90 % du métabolisme des médicaments passe par l'activité des CYP, avec plus de 2000 substrats identifiés à ce jour (He *et al.*, 2020). Ce sont des hémoprotéines qui diffèrent par leurs poids moléculaires, leurs propriétés spectrales, leur spécificité de substrats et leur pouvoir catalytique. Cette diversité est surtout liée à la composition très variable en acides aminés de la partie protéique impliquée dans la reconnaissance des substrats, qui explique la diversité de reconnaissance des différentes formes existantes des cytochromes p450 (Imili *et al.*, 2020). Un ensemble de caractéristiques définissent ces enzymes :

- Formées par 500 acides aminés, une cystéine à l'extrémité carboxyle essentielle pour la liaison « thiol - ligand ». la partie N-terminale est riche en acides aminés hydrophobes pour la liaison des molécules de xénobiotiques,

- Une faible expression de ces enzymes qui catalysent le métabolisme des xénobiotiques et l
- eurs expression élevée en présence d'un inducteur,
- Leur régulation est essentiellement transcriptionnelle via les récepteurs nucléaires,
- Ces enzymes sont appelées mono-oxygénase parce qu'elles nécessitent la présence d'un atome d'oxygène moléculaire pour fonctionner (Imili *et al.*, 2020).

1.2. Fonction

Le métabolisme hépatique des xénobiotiques est classiquement divisé en 2 phases importantes :

- **Phase I** : une première phase d'oxydation, elle est basée sur un ensemble de réactions d'oxydation et d'hydrolyses. Cette phase dite de fonctionnarisation essentiellement régit par les cytochromes P450 dont la propriété caractéristique est de pouvoir métaboliser une grande variété des composés endogènes (vitamine - stéroïdes) et des composés exogènes (xénobiotiques, médicaments).
- **Phase II** : la deuxième phase dite de métabolisation, durant laquelle les médicaments ou les composés endogènes subissent une phase de détoxication et des réactions de conjugaison pour arriver à la formation des molécules inactives par l'augmentation de leurs polarités en ajoutant des radicaux de poids moléculaire élevé. La vitesse de l'élimination de ces molécules dépend soit de la phase I ou II, un problème quelconque de ces 2 phases entraine l'apparition des maladies enzymatiques d'origine génétique (El youssouffi *et al.*, 2020).

1.3. Régulation génétique

La nomenclature actuelle des cytochromes P450 consiste à nommer un gène ou ADNc par le symbole CYP, suivi d'un chiffre arabe désignant la famille puis une lettre majuscule désignant la sous-famille et enfin un chiffre arabe pour chaque gène. Les CYP appartenant à la même famille possèdent une homologie qui peut atteindre 40% avec une proportion de 55% entre les membres d'une même sous-famille. Chez l'homme plus de 3000 de séquences de gènes de *CYP* ont été connus. Les gènes codant pour ces enzymes qui assurent le catabolisme des médicaments sont régulés par des facteurs de transcriptions qui sont des récepteurs nucléaires. Cette régulation est un facteur clef qui influence le

métabolisme des médicaments et son effet thérapeutique (Michau *et al.*, 2002 ; Esteves *et al.*, 2020).

Les gènes codant pour ces enzymes sont induits par de nombreux xénobiotiques ou ligands endogènes. Il convient de noter que les mêmes récepteurs nucléaires ont des effets temporisant sur des tissus spécifiques. Ils peuvent également moduler des transporteurs membranaires dont l'activité va réduire l'efficacité thérapeutique des médicaments. Ces récepteurs appartiennent à une grande famille de facteurs de transcription représentés par une grande variété de molécules lipophiles qui sont activés par des ligands endogènes tels que les acides gras, les eicosanoïdes, les acides biliaires et les oxystéroles ou d'autres molécules exogènes tels que les polluants ou des pesticides. En absence de ligands, ces facteurs de transcriptions sont bloqués par des protéines nucléaires (corépresseurs) ou cytoplasmiques (chaperonnes). L'arrivée d'une molécule activatrice (endogène ou exogène) déclenche l'activité de ces récepteurs (Michau *et al.*, 2002 ; Esteves *et al.*, 2020). Parmi ces facteurs de transcriptions on note :

- **PXR (Pregnen X-Receptor) :** facteur de transcription qui se localise dans le foie, les tissus de la glande mammaire, l'intestin grêle. Son domaine de liaison avec le ligand est formé par plusieurs acides aminés qui ne sont plus conservés au fil du temps. Cela explique la grande variété des inducteurs des différents *CYP* (Maglish *et al.*, 2002). Le PXR est le régulateur majeur de plusieurs gènes codants pour des enzymes impliquées dans le métabolisme, mais aussi dans le transport membranaire des médicaments. Parmi ces gènes cibles chez l'Homme, on retrouve ceux codants les enzymes de la phase I telles que les mono-oxygénases *CYP2B6*, *CYP2C8*, *CYP2C9* et la famille des *CYP3A*, mais aussi des gènes qui codent pour les enzymes impliquées dans la phase II de détoxification comme la glutathion S transférase, les sulfo-transférases et les UDP-glucuronosyl-transférase (Stingl *et al.*, 2014). PXR est donc un acteur clé du système adaptatif de défense contre les xénobiotiques et la cytotoxicité des certains pro-médicaments ainsi que leurs métabolites actifs.
- **CAR (Constitutive Androstane Receptor) :** facteur de transcription qui a le même principe que celui du PXR. Deux métabolites de la testostérone qui sont l'androstanol et l'androsténol entre en action avec CAR et bloque son activité représentant ainsi le premier exemple d'un facteur de transcription régulé négativement par des ligands endogènes. Essentiellement retrouvé dans le foie, l'intestin grêle et le muscle. Le phénobarbital cependant régule l'activité transcriptionnelle

de CAR en augmentant son déplacement depuis le cytoplasme vers le noyau (Yang *et al.*, 2013).

Dans l'espèce humaine, l'induction du facteur de transcription CAR entraîne l'activation d'un panel des gènes qui codent pour les enzymes des cytochromes P450, essentiellement les *CYP2B6*, *CYP2C9* et *CYP2C19* (Bachmann *et al.*, 2021).

- **AhR (Aryl hydrocarbon Receptor)** : il s'agit d'un facteur de transcription qui fonctionne en hélice-boucle-hélice. Détecté presque chez tous vertébrés, il est présent dans le système nerveux, tissus de la glande mammaire, le système cardiovasculaire et l'utérus (Neavin *et al.*, 2018). En absence de ligand, sa localisation est cytoplasmique trouvé sous sa forme inactive bloquée par des protéines chaperonnes. La liaison du ligand entraîne sa translocation vers le noyau où il se lie avec le ligand ainsi avec son partenaire Arnt (Aryl hydrocarbon receptor nuclear Translocator). Le dimère Arnt-AhR-et le ligand se fixent en amont des gènes cibles au niveau de leurs promoteurs entraînant ainsi leur expression. Au total, il est maintenant bien établi que les récepteurs nucléaires peuvent modifier l'induction des *CYP* impliquées dans les processus de catabolisme et détoxification des médicaments et donc perturber la cinétique d'action des molécules et leurs demi-vies (Zhan *et al.*, 2022).

- **PPAR (Peroxisome Proliferative Activated Receptor)** : un récepteur nucléaire qui est fortement impliqué dans le métabolisme des lipides, dans l'homéostasie glucidique, mais également dans la prolifération et la différenciation cellulaire, ce qui explique que certains xénobiotiques agonistes ont été associés avec la carcinogénèse de la cellule entraînant ainsi une prolifération anarchique de la cellule avec un échappement à l'apoptose qui est induite par les peroxysomes chez les rongeurs d'où viennent leurs noms (Laurent *et al.*, 2008). De façon générale, les récepteurs des PPAR comportent trois isotypes (alpha, bêta/delta et gamma), de nombreux effets cytotoxiques sont liés avec l'effet du PPAR gamma, mais ce sont ceux d'alpha qui ont été les plus élucidés. Ces mécanismes abondamment étudiés chez le hamster ont été peu abordés dans l'espèce humaine. Du point de vue de la détoxification, ces facteurs de transcription sont impliqués majoritairement dans l'activation des gènes qui modulent la phase I du métabolisme (*CYP1A*, *CYP2A*, *CYP2C* et *CYP2E*) et d'une façon moindre pour les gènes de la phase II de conjugaison (Liu *et al.*, 2020).

1.4. Gènes d'intérêt du CYP450 dans le cancer du sein

1.4.1. *CYP2D6*

Due à son importance chimique ainsi que sa capacité de gérer la majorité des voies métaboliques, le CYP2D a représenté depuis temps un projet fascinant et a attiré la tension des chercheurs. Bien que 29 superfamilles des CYP2D aient été identifiées, seulement une petite fraction a été étudiée chez les vertèbres. Le gène *CYP2D* s'étend sur 40 Kb, il est formé par 3 gènes respectivement, *CYP2D8P (D8P)*, *CYP2D7 (D7)* et *CYP2D6* disposé en tandem, les 2 premiers gènes sont des pseudogènes (Nelson *et al.*, 2004), ainsi un quatrième gène le *CYP2D9* mais qui n'a pas encore clairement étudié chez l'être humain (Ferrucci *et al.*, 2020). Le gène *CYP2D6* P450 family 2 subfamily D polypeptide 6, localisé sur le chromosome 22 q13.2 et s'étend sur 9,8 Kb, la région codante représente 4.41kb seulement formés par 4383 bp (NCBI, 2021). Il est formé par 9 exons, les 1531 pb en amont et les 3522 pb en aval sont connus. Une région d'environ 10kb, entre *D7* et *D6* n'a pas encore été séquencée. Un ARN messager de 1269 pb a été identifié à partir duquel un ADNc peut être récupéré et utilisé comme une sonde splénétique pour les 3 gènes du locus *CYP2D*, il code pour une séquence protéique constituée de 497 acides aminés (UCSC, 2022). Bien que le *CYP2D6* ne représente que 4% de la totalité des Cytochromes p450, il catalyse d'environ 20% à 25% des réactions métaboliques de la phase I du métabolisme des xénobiotiques (Wang *et al.*, 2014), ainsi il existe dans les différents tissus de l'organisme à savoir le cerveau, l'intestin grêle, le sein, la thyroïde, mais avec une portion majeure dans le foie. Les hybrides sont des événements de recombinaison du gène *CYP2D* qui peuvent se produire à l'intérieur du locus et donner lieu à des gènes hybrides composés de *CYP2D6* avec *CYP2D7* (Xu *et al.*, 2002 ; Okishiro *et al.*, 2009 ; Wegman *et al.*, 2005). Si le gène hybride inclut l'exon 1 du gène *CYP2D7*, l'activité catalytique devrait être non fonctionnelle en raison de la transcription prématurée. Ces gènes hybrides sont maintenant unifiés sous la désignation *CYP2D6*13* (Xu *et al.*, 2002). Étant donné que la détection des gènes hybrides implique généralement un essai de chaînes complexe qui n'est pas facilement compatible avec l'automatisation, ou une analyse quantitative plus sophistiquée du nombre de copies de gènes, les gènes hybrides du *CYP2D6* ne sont généralement pas testés systématiquement (Rubben *et al.*, 2022).

Le *CYP2D6* est un gène hautement polymorphe (Fortenberry *et al.*, 2019), il code pour les enzymes qui catalysent la majorité des réactions métaboliques des différents médicaments tels que les B bloquants, les antiarythmiques, les analgésiques, mais aussi les traitements hormono-thérapeutiques essentiellement le tamoxifène. Plus de 121 variants polymorphiques ont été identifiés jusqu'à présent (Whirl *et al.*, 2021).

Les métaboliseurs ultrarapides (*Ultrarapid Metabolizers*, UM) ont un métabolisme accéléré et une fréquence phénotypique de 1% à 5% dans la population européenne; ils sont généralement porteurs de duplications ou multiplication du gène *CYP2D6*. Les métaboliseurs normaux, ont une activité enzymatique normale (*Normal Metabolizers*, NM) et une fréquence phénotypique de 75% à 85% de la population européenne. Par conséquent, l'allèle sauvage *1, associé à une activité fonctionnelle, est l'allèle le plus dominant dans la plupart des groupes ethniques (Whirl *et al.*, 2021). Les variants génétiques *2 et *35 associés à une activité fonctionnelle, mais moins fréquents dans la majorité des ethnies. Les métaboliseurs intermédiaires (*Intermediate Metabolizers*, IM) ont une activité enzymatique diminuée et une fréquence phénotypique de 10% à 15% de la population européenne. Cependant, le phénotype (IM) reste toujours un sujet de controverse dû à l'incertitude de prédire le phénotype en rapport avec le génotype (Caudle *et al.*, 2017 ; Mulder *et al.*, 2021). Les allèles *9, *10, *17, *41 engendrent une protéine avec une fonction réduite. Toutefois, le *CYP2D6**41 est un haplotype qui résulte des deux variantes alléliques engendrant ainsi une augmentation dans la formation de l'inactif exon (Toscano *et al.*, 2006), provoquant une diminution du niveau de l'ARNm et par conséquent une activité baisse de l'enzyme comparé avec le type sauvage *CYP2D6**1 ou *2 (Raimundo *et al.*, 2004 ; Toscano *et al.*, 2006). Les métaboliseurs lents (*poor metabolizer*, PM) ont une déficience enzymatique complète et une fréquence phénotypique de 5% à 10% dans la population européenne (Griese *et al.*, 1998 ; Gaedigk *et al.*, 2008), ce sont les individus homozygotes pour un allèle défectueux (au moins quinze variantes décrites) ou, plus rarement, ceux qui combinent deux allèles défectueux distincts. Les variants *3, *4, *5, *6, *7 et *8 responsables de la formation d'une protéine inactive (Whirl *et al.*, 2021).

Dans la population africaine, la majorité des sujets représentent un phénotype normal avec une fréquence phénotypique de 71,9%, suivis par une fréquence phénotypique d'une activité métabolique intermédiaire de l'ordre de 12,56%. Néanmoins, l'allèle déficient le plus fréquent dans la population caucasienne est le *CYP2D6**4, il représente une fréquence de 20 à 25%, cet allèle est totalement absent dans certaines populations telles que les populations de l'Europe de l'Est ainsi que les populations océaniques (Whirl *et al.*, 2021).

Tableau 01 : correspondance génotype - phénotype pour le gène *CYP2D6* d'après CPIC®.

Phénotype	Génotype	Exemples de génotypes
Métaboliseur ultrarapide (MUR)	Sujet porteur des duplications des allèles fonctionnels	(*1/*1) xN, (*1/*2)xN, (*2/*2)xN
Métaboliseur normal (MN)	Sujet porteur des de 2 allèles de fonction normale de l'enzyme, ou 2 allèles de diminution de l'activité de l'enzyme, ou un allèle normal et un allèle d'absence d'activité de l'enzyme, ou un allèle normal et un allèle de diminution de l'activité de l'enzyme	*1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*9, *1/*41, *41/*41, *1/*5, *1/*4
Métaboliseur intermédiaire (MI)	Sujet porteur d'un allèle de diminution d'activité et d'un allèle d'absence d'activité	*4/*41, *5/*9, *4/*10
Métaboliseur lent (ML)	Sujet porteur uniquement d'allèles d'absence d'activité	*4/*4, (*4/*4) xN, *3/*4, *5/*5, *5/*6

1.4.2. *CYP2C19*

La famille des cytochromes 2C s'étend sur approximativement 500 kb sur le chromosome 10q24 et il comprend 4 gènes arrangés sur l'ordre: *CYP2C18*, *CYP2C19*, *CYP2C9* et *CYP2C8* (Goldstein *et al.*, 1994). Elle est localisée principalement dans le foie humain, mais également dans le cœur, les poumons et les cellules des muscles lisses (Thum *et al.*, 2000). *CYP2C19*, cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19 un gène qui code pour l'enzyme mono-oxygénase *CYP2C19* impliqué dans le métabolisme des composés exogènes tel que les médicaments, les xénobiotiques et des composés endogènes plus essentiellement le cholestérol, l'acide arachidonique et les stéroïdes ce qui explique sa forte implication dans l'apparition des cancers hormono-dépendants. Le *CYP2C19* s'étend sur 1,7 kb entre une séquence de 3,4 Kb et 9 Mb du bras long du chromosome 10, formé par 9 exons et code pour une protéine qui mesure 5,6 kDa et constitué de 490 acides aminés, l'ARNm ainsi formé et de 1,4Kb est situé en cluster avec le *CYP2C9* et *CYP2C18* (NCBI, 2022). Plusieurs mutations de types Ins/del aboutissent à la formation des différents variants alléliques du gène *CYP2C19*, certains sont des haplotypes qui apparaissent dans un seul variant allélique d'autres se manifestent dans plusieurs polymorphismes. *CYP2C19* est très polymorphe, plusieurs variant génétiques ont été identifiés qui conduisent à une perte de fonction de la protéine (Whirl *et al.*, 2021).

En effet, à ce jour il existe 47 variants dont l'allèle *CYP2C19*1* est le type sauvage et particulièrement fréquent chez les Caucasiens (Sim *et al.*, 2006). Le *CYP2C19*2* est associé à une diminution de l'activité de l'enzyme et résulte d'une substitution du G en A dans la position 681 dans la région codante de l'exon 5 avec l'intron 4 conduisant ainsi à un mauvais *splicing* (Hicks *et al.*, 2016). Par ailleurs, le *CYP2C19*17* est le plus documenté depuis sa découverte en 2006, plusieurs études se sont concentrées sur son rôle critique, il est associé à une activité enzymatique augmentée du gène, cependant il représente un sujet de discordance (Sugimoto *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2021). Il est caractérisé par 2 différents SNPs, dans la région 5- flanquant (3402 C>T) /(801C>T) dont l'activité augmentée du gène est attribuée au 2^{ème} SNP. Alternativement, certaines mutations peuvent apparaître sur les 2 brins d'ADN dû aux différents événements physiques ou chimiques. Bien que les variantes bi-alléliques ont une densité moindre en comparaison avec les variants tri-alléliques et ce fait peut être expliqué par le pouvoir raisonnable des variants bi-alléliques par rapport avec ces dernières (Suzuki *et al.*, 2007). Les variantes tri-alléliques sont considérés d'être 2 fois plus fréquentes dans le génome que les variantes bi-alléliques et qui sont dues d'une façon attendue que par le hasard (Suzuki *et al.*, 2007; Kurzawski *et al.*, 2007). Trois mécanismes essentiels sont à la base de générer des sites tri-alléliques : une région d'ADN hypermutable, génération simultanée des 2 allèles en même temps chez le même individu, ou des mutations inhabituelles induites par différents SNPs au moment du mismatching du processus de la recombinaison génétique lors de formation des ADN duplexes (Rehman *et al.*, 2015).

Tableau 02 : correspondance génotype - phénotype pour le gène *CYP2C19* d'après CPIC®.

Phénotype	Génotype	Exemples de génotypes
Métaboliseur ultrarapide (MUR)	Sujet porteur de deux allèles d'augmentation d'activité	<i>*17/*17</i>
Métaboliseur Rapide (MR)	Sujet porteur d'un allèle de fonction normale et d'un allèle d'augmentation d'activité	<i>*1/*17</i>
Métaboliseur normal (MN)	Sujet porteur de deux allèles de fonction normale	<i>*1/*1</i>
Métaboliseur intermédiaire (MI)	Sujet porteur d'un allèle de fonction normale et d'un allèle d'absence d'activité, ou d'un allèle d'absence d'activité et d'un allèle d'augmentation d'activité	<i>*1/2, *1/*3, *2/*17</i>
Métaboliseur lent (ML)	Sujet porteur de deux allèles d'absence d'activité	<i>*2/*2, *2/*3, *3/*3</i>

1.4.3. *CYP3A5*

La famille des cytochromes p450 3A est une grande famille qui s'étend sur 231Kb au niveau du chromosome 7q21 (NCBI, 2022). Il y a 4 gènes différents localisés en cluster sur le chromosome 7, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7*, *CYP3A43*. Les 2 gènes *CYP3A4* et *CYP3A5* catalysent environ 36% des différentes réactions métaboliques dans le foie (Tucker *et al.*, 2005). Le *CYP3A5* cytochrome P450 family 3 subfamily A polypeptide 5 s'étend sur 1,7Kb, il code pour une protéine de 502 acides aminés et qui mesure 52,5 KDa et représente 85% d'homologie avec le *CYP3A4* (NCBI, 2022), et a une activité analogue dans le métabolisme des stéroïdes ce qui explique son grande pénétrance comme facteurs de prédisposition aux cancers. Un total de 11 variants alléliques ont été identifiés pour le *CYP3A5* (Whirl *et al.*, 2021), bien que le foie soit la principale localisation, les cytochromes 3A existent également dans l'intestin grêle, les muscles lisses, dans le rein normal et tumoral ainsi que dans le cerveau (Murray *et al.*, 1999 ; Whirl *et al.*, 2021).

Il a été démontré que l'activité enzymatique du *CYP3A5* montre une grande variété génétique tout au long les individus, avec une déficience enzymatique de 1 à 30% dans la population générale (Cao *et al.*, 2022). *CYP3A5*3* entraîne une diminution dans l'activité de l'enzyme par un mauvais épissage suite à une mutation ponctuelle au niveau de l'intron 3 (Mortimer *et al.*, 2007). Le *CYP3A5*1* représente le type sauvage du gène avec une fréquence de 70% dans la population africaine, mais seulement 5 à 30% dans la population caucasienne (Tucker *et al.*, 2005). En outre, les deux allèles *CYP3A5*6* et *CYP3A5*7* qui ont été responsables d'une perte de la protéine, ont une fréquence de 10% à 20% dans la population africaine, mais absents chez les autres ethniques (Cao *et al.*, 2022). La présence d'un seul allèle *CYP3A5*1* (AA6986) est associée à l'expression normale du *CYP3A*, les sujets hétérozygotes (*CYP3A5*1/*3*), porteurs d'au moins un variant allélique ont une activité enzymatique *CYP3A5* identique à celle des homozygotes *CYP3A5*1/*1*. La présence de l'allèle *CYP3A5*3* à l'état homozygote (*CYP3A5*3/*3*) est associée à une absence d'expression de la protéine *CYP3A5* (Whirl *et al.*, 2021).

Tableau 03 : correspondance génotype - phénotype pour le gène *CYP3A5* d'après CPIC®.

Phénotype	Exemples de génotypes
Métaboliseur normal (MN)	*1
Métaboliseur intermédiaire (MI)	*2, *4, *5, *8, *9
Fonction perdue	*3, *6, *7

1.5. Cytochromes P450 et interactions médicamenteuses

Les cytochromes P450 prennent en charge plus de 75% de métabolisation des médicaments. Les CYP450 peuvent subir l'influence de molécules (médicaments ou aliments) inductrices ou inhibitrices de leur activité qui donne naissance à certaines interactions médicamenteuses pharmacocinétiques, expliquant probablement le surdosage pour une molécule donnée qui mènent principalement à des toxicités additives suite à une forte exposition à ces molécules médicamenteuses (Geniaux *et al.*, 2019).

Le tamoxifène peut interagir avec de nombreux autres médicaments : cimétidine, amiodarone, venlafaxine, duloxétine, bupropion, terbinafine, propafenone, quinidine, ritonavir, fluoxétine, paroxétine, etc. Cette interaction se traduit par une diminution de l'efficacité du tamoxifène due à la diminution de la formation de son métabolite actif (ANSM ; 2019). La métabolisation du tamoxifène s'effectue par le CYP2D6 dont son activité peut être altérée suite à deux raisons : une variabilité génétique due aux polymorphismes génétiques ou la prise de certains médicaments qui provoquent l'inactivation de cette enzyme. Il en résulte une baisse des concentrations circulantes de l'endoxifène (ANSM, 2010). Les médicaments inhibiteurs puissants du CYP2D6, réduisent des deux tiers aux trois quarts les concentrations d'endoxifène chez les patientes avec une enzyme fonctionnelle, les ramenant au niveau de celles mesurées chez des patientes déficitaires homozygotes (IM), (PM).

Une étude, publiée par Kelly *et al.* en 2010, a calculé que la prise associée de paroxétine et de tamoxifène pourrait entraîner 1 décès supplémentaire pour 19,7 patientes. Ainsi, selon les recommandations de l'AFSSAPS et de l'INCa, la fluoxétine en particulier ne devrait pas être administrée concomitamment au tamoxifène. Il en est de même pour d'autres molécules comme la paroxétine et à un moindre degré la sertraline, le citalopram et l'escitalopram (Kelly *et al.*, 2010).

Les patientes sous tamoxifène porteuses d'allèles non fonctionnels du *CYP2D6* ont des critères de survie significativement plus courts et un risque de récurrences double, comparativement à celles avec allèles fonctionnels (Stearns *et al.*, 2003 ; Jin *et al.*, 2005 ; Borge *et al.*, 2006). La décision de déconseiller le tamoxifène avec certains antidépresseurs s'est basée sur l'observation, chez des patientes avec *CYP2D6* fonctionnel, de la diminution de 65 à 75% de l'endoxifène circulant. Cette diminution était du même ordre de grandeur chez les patientes homozygotes porteuses de deux allèles déficitaires, et chez lesquelles

le risque de récurrences était doublé. On pouvait donc pareillement craindre un doublement des récurrences si l'un de ces antidépresseurs était associé au tamoxifène (Auber *et al.*, 2009)

2. Tamoxifène

2.1. Place du tamoxifène dans le traitement du cancer du sein

La prise en charge d'un cancer du sein non métastatique consiste à traiter localement et précocement par un traitement adjuvant afin de limiter les risques des métastases. Pendant plus de 35 ans, le tamoxifène a été le chef de file de l'hormonothérapie, sa découverte dans les années 1960 a révolutionné le traitement hormonal du cancer du sein. Le tamoxifène peut être prescrit à tous les âges et quel que soit le statut ménopausique, il est indiqué en postopératoire en prévention des récurrences, ou dans les formes évoluées des tumeurs mammaires hormonosensibles avec progression locale et/ou métastatique (Braul *et al.*, 2022).

2.2. Propriétés physico-chimiques

Le tamoxifène ou (Z)-2-[4-(1,2-diphénylbut-1-enyl)phénoxy]-N,N-diméthylethanamine est une molécule sous forme d'une poudre cristalline blanche fine et sans odeurs de sel de citrate dans les spécialités commercialisées. Il possède un poids moléculaire de 563,6 g/mol, soluble dans l'eau, le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Une molécule qui peut être stable pendant 5 ans si elle est bien conservée contre les rayons et l'humidité (Nadaud, 1997) (annexe III).

2.3. Propriétés pharmacodynamiques

Les œstrogènes jouent un rôle fondamental dans la genèse et la progression du cancer du sein, d'où vient l'importance d'obtenir des molécules capables d'inhiber l'activité œstrogénique (Marina *et al.*, 2022). L'utilisation de composés antagonistes des œstrogènes est une approche thérapeutique de choix. Le tamoxifène est un modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes (SERM) fortement impliqué dans l'hormonothérapie du cancer du sein ER positif. C'est l'anti-œstrogène qui jusqu'à présent était le plus couramment utilisé. Il provoque de nombreuses modifications physiologiques et a une capacité d'interaction très complexe dû à son analogie structurale moléculaire. Chimiquement il est très assimilé à l'œstradiol, il agit par inhibition compétitive de la liaison de l'œstradiol avec ses récepteurs et exerce une action anti-œstrogénique au niveau du tissu de la glande mammaire en régulant les gènes qui stimulent la réplication des cellules cancéreuses en se fixant ainsi

sur les récepteurs aux œstrogènes alpha et bêta des cellules tumorales et on provoquant ainsi l'apoptose (Huang *et al.*, 2019) (annexe III).

2.4. Propriétés pharmacocinétiques

2.4.1. Absorption

Après administration orale, le pic de concentration sérique de tamoxifène est atteint en 4 à 7 heures (Zhao *et al.*, 2001). En l'absence de données sur l'administration du tamoxifène par voie intraveineuse, sa biodisponibilité absolue est inconnue.

2.4.2. Distribution

Le tamoxifène est fortement lié aux protéines plasmatiques, sa demi-vie est de 7 jours et l'équilibre pharmacocinétique est donc atteint après 5 à 6 semaines de traitement (Lesur *et al.*, 2019).

2.4.3. Métabolisation

Le tamoxifène est un pro-médicament qui a besoin d'être métabolisé a de nombreux métabolites primaires et secondaires pour être effectif sur l'action des cellules cancéreuses (Ximenez *et al.*, 2019). Il subit de nombreuses réactions de dégradation dans le foie aboutissant à la formation de différents métabolites essentiellement le N-desméthyltamoxifène et le 4-hydroxytamoxifène, qui semblent être plus puissants que le tamoxifène lui-même. La voie de la 4-hydroxylation, fait intervenir de différents gènes du cytochrome p450 (CYP) 2D6, 3A4, 2C9, 2B6, et 2C19, commençant ainsi par une phase d'oxydation donnant naissance au 4-hydroxytamoxifène, ce dernier a une abondance cytoplasmique de 30 à 100 fois plus importante que le tamoxifène. Il est principalement formé par le CYP2D6, mais d'autres enzymes sont aussi impliquées notamment le CYP2C19 et CYP3A4 (Irvin *et al.*, 2009). Cependant, cette voie ne contribue qu'environ 7% du métabolisme du tamoxifène. le 4-Hydroxytamoxifène subit ensuite une N-déméthylation par le CYP3A4/5 conduit à la formation du N-desméthyltamoxifène qui est ensuite oxydé en un certain nombre de métabolites du tamoxifène, le plus important étant l'endoxifène dont sa concentration est de 5 à 10 fois plus supérieur à celle du 4-Hydroxytamoxifène. La conversion de ce dernier par N-déméthylation en N-desméthyltamoxifène est catalysée principalement par le CYP3A4 et le CYP3A5, contribue à environ 92% du métabolisme du tamoxifène (Cao *et al.*, 2022). Ces deux métabolites présentent une affinité pareille pour les deux récepteurs hormonaux RE- α et RE- β , l'endoxifène provoque une dégradation de la protéine

ER α est donc bloqué la transcription induite par ces récepteurs pour les oncogènes qui provoque la prolifération des cellules tumorales tandis que les autres métabolites du tamoxifène les stabilisent (Asberger *et al.*, 2020) (annexe III).

Il est important de noter que ses réactions moléculaires sont maintenues en présence de la molécule mère (tamoxifène) et son premier métabolite (4-hydroxytamoxifène), mais à des concentrations standards chez les patientes, ce qui prouve que l'activité anti tumorale est essentiellement liée à l'endoxifène. Le tamoxifène est également métabolisé en N-desméthyltamoxifène principalement par le CYP3A4/5, avec des contributions mineures du CYP2D6, il semblerait que cette voie soit la principale source de production d'endoxifène (Tucker *et al.*, 2005) (annexe III).

2.4.4. Élimination

Enfin, une hydroxylation additionnelle du composé 4-hydroxytamoxifène par les CYP3A4 et CYP2D6 au niveau du groupement phényle aboutit à la formation du 3,4-dihydroxytamoxifène. Ce métabolite est capable de se lier de façon covalente à l'ADN cellulaire, contribuant ainsi aux effets toxiques et cancérigènes liés au traitement par le tamoxifène, d'où vient l'importance d'une phase de conjugaison qui aboutit à la formation de substances conjuguées, hydrosolubles et facilement éliminées par les urines ou la bile. Les métabolites subissent différentes conjugaison : glycuconjugaison, sulfoconjugaison, acétylation et alcoylation pour donner un produit conjugué qui sera éliminé en dehors de la cellule (Goetz *et al.*, 2005). Le tamoxifène et ses métabolites sont inactivés par glucuronidation et sulfatation par l'UDP-glucuronyl transférases (UGT) et les sulfo-transférases (SULT1A1), respectivement (Goetz *et al.*, 2005). La glucuronidation est la voie la plus importante dans le métabolisme des médicaments. En effet, environ 75% de la dose de tamoxifène est excrétée dans les voies biliaires sous forme de glucuronides (Stingl *et al.*, 2014). La glucuronidation est réalisée par les différentes UGT qui se lient avec les différents métabolites du tamoxifène, alors que la sulfatation est principalement réalisée par SULT1A1 (Kodama *et al.*, 2015).

2.5. Efficacité clinique

Chez les patientes dont la tumeur présente des récepteurs aux estrogènes positifs ou si ceux-ci sont inconnus, un traitement par le tamoxifène a montré une réduction significative des récives de la maladie et une amélioration de la survie à 10 ans. L'effet est significativement supérieur pour un traitement de 5 ans par rapport

à des traitements de 1 ou 2 ans. Cette efficacité paraît indépendante de l'âge, du statut ménopausique, de la dose de tamoxifène et d'une éventuelle chimiothérapie additionnelle (Saleh *et al.*, 2020).

En effet, la méta-analyse effectuée par l'Early Breast Cancer Trialist Collaborative Group (EBCTCG) a retrouvé qu'un traitement de cinq ans par le tamoxifène est associé à une réduction significative des taux de récurrences : réduction de 18% à un an, de 25% à deux ans et de 42% à cinq ans ; $2p < 0,0001$) et de mortalité (diminution des taux de mortalité de 10% en un an et de 15% à 2 ans et 22% à cinq ans avec $2p < 0,00001$) (Saleh *et al.*, 2020).

2.6. Effets indésirables (profil de toxicité)

L'effet le plus gênant de cette molécule est l'augmentation faible, mais statistiquement significative de la fréquence des cancers de l'endomètre chez la femme ménopausée. Au niveau de l'endomètre, le tamoxifène exerce toutefois une action œstrogène-like, responsable de diverses pathologies. Les polypes glandulo-kystiques représentent l'anomalie la plus fréquente. Les autres troubles gynécologiques décrits regroupent des hyperplasies d'andulo-kystiques simples et adénomateuses typiques ou atypiques ainsi que des cancers de l'endomètre. Les premiers cas d'adénocarcinome endométrial apparus sous tamoxifène ont été rapportés en 1985 par (Killackey *et al.*, 1985). Depuis, cette association a été étudiée il est désormais admis que le traitement par le tamoxifène augmente le risque relatif de développer un cancer de l'endomètre d'environ 2 à 4 comparativement à une population de même âge ne prenant pas de tamoxifène (Sasco *et al.*, 1994). Les cancers sont significativement de plus hauts grades et avec des histologies plus agressives, plus le tamoxifène est pris sur une longue période (Yang *et al.*, 2013).

3. Tamoxifène et polymorphisme génétique du cytochrome P450

3.1. Relation pharmacogénétique-pharmacodynamie

Compte tenu de la prépondérance des enzymes qui participent au métabolisme du tamoxifène, de nombreuses variantes génétiques peuvent influencer les quantités relatives des différents métabolites (Cronin *et al.*, 2014). Le CYP2D6 est l'enzyme unique qui est impliquée dans la conversion de N-desméthyltamoxifène en endoxifène et est l'enzyme principale dans l'activation pharmacologique du tamoxifène. Dès lors, plusieurs études ont été effectuées pour évaluer l'association entre la variation du *CYP2D6* et les résultats cliniques chez les femmes atteintes d'un cancer du sein traité au tamoxifène

(Schroth *et al.*, 2009 ; Hertz *et al.*, 2012 ; Mulder *et al.*, 2021). La présence de 2 allèles fonctionnels du *CYP2D6* était associée à une meilleure réponse thérapeutique (Van *et al.*, 2021).

Cette association est principalement due à l'hydroxylation du N-desméthyltamoxifène induite par le *CYP2D6* en endoxifène qui, en raison de son pouvoir anti-œstrogénique élevé, est principalement responsable de l'efficacité thérapeutique. Goetz *et al.* ont suggéré dans une cohorte de 256 patientes que les patientes porteuses de l'allèle déficient *CYP2D6* *4/*4, avaient une survie sans rechute plus étroite ($p = 0,023$ et $p = 0,012$ respectivement) que les patientes hétérozygotes ou homozygotes pour l'allèle normale, mais cet effet n'a pas été observé sur la survie globale ($p = 0,169$). Dans cette étude, l'extraction d'ADN a été réalisée sur des échantillons tumoraux et buccaux. Pour certaines patientes, les auteurs ont démontré une bonne concordance entre les génotypes obtenus à partir de ces deux types d'échantillons (Goetz *et al.*, 2005).

Dans une étude de Schroth *et al.*, il a été admis non seulement que pour les PM (*4 et *5), mais aussi les IM pour (*10 et *41) ont montré une survie sans rechute au tamoxifène inférieur, par rapport aux patientes NM. L'extraction d'ADN a été réalisée sur le tissu mammaire normal à partir des biopsies ou exérèse (Schroth *et al.*, 2007). Cependant, les analyses rétrospectives de deux grands essais cliniques, ATAC et BIG 1-98, ont montré des résultats contradictoires remettant en cause l'utilité du génotypage du gène *CYP2D6* en début de traitement. (Rae *et al.*, 2012 ; Regan *et al.*, 2012). De ce fait, l'étude ATAC a démontré aucune association entre le phénotype *CYP2D6* et la rechute (HR = 0,99, CI95% = 0,48 – 2,08, $p = 0,99$) (Sestak *et al.*, 2010). De même, l'étude BIG 1-98 a démontré que les patientes avec des phénotypes IM et PM avaient un risque de récurrence statistiquement non significatif par rapport aux patientes NM (HR = 0,86, IC95% = 0,60 - 1,24) (Regan *et al.*, 2011). Il est à noter que l'extraction d'ADN pour ces deux analyses a été réalisée à partir d'échantillons tumoraux. Enfin, une étude prospective visant à évaluer la relation entre le phénotype *CYP2D6* (déterminé sur la base d'analyse de génotypage de l'ADN germlinal) et l'efficacité du tamoxifène n'a rapporté aucune association dans le cancer du sein métastatique (Neven *et al.*, 2018) et en situation adjuvante (Sanchez *et al.*, 2019). De même, Les altérations de l'activité du *CYP2D6* peuvent influencer l'intensité ou la fréquence des effets indésirables du tamoxifène. En effet, dans une étude évaluant l'impact du *CYP2D6* sur l'adhérence au traitement, le nombre de patientes ayant arrêté prématurément le tamoxifène était plus élevé chez les porteuses d'un allèle *CYP2D6* fonctionnel ($p = 0,018$) ; il a été suggéré que les

patientes ayant une activité réduite pourraient être à moindre risque de toxicité (Rae et al., 2009).

Cette hypothèse a été étudiée dans plusieurs études qui ont produit des résultats contradictoires. Concernant les bouffées de chaleur, Goetz et al. ont suggéré aucune association entre les bouffées de chaleur d'intensité modérée et sévère et le génotype *CYP2D6* *4/*4 par rapport aux patientes homozygotes et hétérozygotes pour l'allèle sauvage (Goetz et al., 2005). Une étude prospective a démontré que les patientes *CYP2D6* IM avaient un plus grand risque d'avoir des bouffées de chaleur que les patientes NM et PM tandis que chez les patientes PM ce risque était moins important (Lynn et al., 2009). En revanche, au cours de l'étude BIG 1-98, les patientes avec les phénotypes PM et IM avaient un risque augmenté d'avoir des bouffées de chaleur par rapport aux patientes NM (Regan et al., 2012). Enfin, d'autres études plus récentes n'ont observé aucune corrélation entre la survenue des bouffées de chaleur et le génotype/phénotype *CYP2D6* (Ruddy et al., 2013 ; Fox et al., 2016 ; Baxter et al., 2014 ; Dezentjé et al., 2014 ; Jansen et al., 2018).

3.2. Relation génotypage efficacité thérapeutique :

Au cours d'un traitement au tamoxifène, les femmes ayant deux copies fonctionnelles ou plus du *CYP2D6* présentent des concentrations plasmatiques d'endoxifène plus élevées en comparaison avec les patientes avec un allèle défectueux ou nul, ou celles qui prennent des inhibiteurs pour le *CYP2D6* (Jin et al., 2005). Dans une cohorte de 158 patients de différentes ethnies, l'analyse du génotype *CYP2D6* et de la concentration plasmatique d'endoxifène a montré que les IM (*CYP2D6**10) ou PM (*CYP2D6**4) avaient des concentrations d'endoxifène similaires. De même, une étude chinoise a démontré que les patientes homozygotes pour le *CYP2D6**10 avaient des concentrations sériques plus faibles de 4-hydroxytamoxifène (Xu et al., 2008). Tous ces résultats confirment l'utilité du génotypage du *CYP2D6* pour prédire la formation des métabolites de tamoxifène hautement actifs chez les patients qui envisagent ou suivent un traitement au tamoxifène. La FDA a suggéré que la notice du tamoxifène devrait alerter les médecins des points suivants : premièrement, que les patientes PM ont un risque accru de récurrence de leur cancer du sein si elles sont traitées au tamoxifène, et deuxièmement, que la co-administration de certains inhibiteurs du *CYP2D6* peut affecter le métabolisme du tamoxifène (Young et al., 2006). Du coup, la connaissance du génotype du patient peut guider le choix thérapeutique (Robert et al., 2010).

Partie pratique

Patients et méthodes

1. Présentation de l'étude

Il s'agit d'une étude avec quatre volets complémentaires ; statistique, pharmacocinétique, moléculaire et pharmacodynamique.

- **Étude statistique** descriptive, prospective et transversale, menée entre le 01 février 2014 et le 31 décembre 2017, réalisée respectivement au niveau des services d'Oncologie et Radiothérapie du Centre Anti Cancer (CAC) CHU Benbadis - Constantine. L'objectif étant de contribuer à déterminer le profil clinco-pathologique de femmes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant typique confirmé histologiquement par des médecins cliniciens spécialistes, et prises en charge au niveau des dites structures de santé. Les données anthropométriques, socio-démographiques, gynéco-obstétriques, cliniques et biologiques des patientes retenues dans notre prospection sont recueillies à partir du dossier médical de la patiente et/ou par la réalisation d'un questionnaire (annexe IV). Toutes ces patientes, après explications exhaustives sur place, nous ont donné leur consentement nous autorisant ainsi à l'utilisation des données ainsi collectées pour la réalisation de cette étude (annexe V). Les données ont été traitées et analysées statistiquement avec la plateforme logicielle IBM® SPSS® Statistics 26.0.
- **Étude pharmacocinétique** réalisée au niveau du centre de recherche du département de pharmacologie de l'université Santiago de Compostela - Espagne, pour le dosage du tamoxifène et de ses trois principaux métabolites : N-desméthyl-tamoxifène, 4-hydroxy-tamoxifène et endoxifène, sur des échantillons de plasma isolés à partir des prélèvements sanguins des patientes enrôlées dans cette étude. Les concentrations plasmatiques de tamoxifène et de ses principaux métabolites actifs ont été décrites par la médiane et intervalle interquartile établis sous SPSS® Statistics 26.0.
- La corrélation entre les différents génotypes, phénotypes des *CYP2D6*, *CYP2C19* et du *CYP3A5*, ainsi que les concentrations du tamoxifène et de ses métabolites sera établie par le test statistique d'analyse de la variance ANOVA avec le logiciel IBM® SPSS® Statistics 26.0.
- Les différences des taux d'endoxifène entre les homozygotes pour l'allèle nulle (nul) et les homozygotes pour l'allèle réduit (red) du *CYP2D6* ou les hétérozygotes *CYP2D6* red/nul

ont été comparées par le test de Kruskal-Wallis, toujours avec le logiciel IBM® SPSS® Statistics 26.0.

- **Étude moléculaire** menée conjointement au niveau du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (BGM) de l'université Salah Boubnider - Constantine 3 pour l'extraction de l'ADN, et du centre de recherche en médecine moléculaire et en maladies chroniques (CiMUS) - Espagne pour le génotypage des polymorphismes d'intérêt des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5*. La détermination des génotypes est réalisée par une technique particulière de PCR quantitative en temps réel (qPCR). Les fréquences génotypiques obtenues sont utilisées pour vérifier d'abord que notre population est en équilibre d'*Hardy-Weinberg*. Un test du Chi carré (χ^2) réalisé sur SPSS® Statistics 26.0 a été utilisé pour comparer la fréquence du génotype observée et prévue.
- La corrélation entre les différents phénotypes des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* et les données clinico-pathologiques des patientes a été examinée en utilisant le test statistique d'analyse de la variance ANOVA, aussi avec le logiciel IBM® SPSS® Statistics 26.0.
- **Étude pharmacodynamique** pour déterminer l'influence des concentrations plasmatiques du tamoxifène sur le développement de récurrences chez les patientes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant après une durée de 5 ans d'un traitement par le tamoxifène en adjuvant. La corrélation entre les génotypes des patientes pour les gènes des CYP450 d'intérêt et le développement des récurrences a été analysé par le test de Fisher avec le logiciel IBM® SPSS® Statistics 26.0.

Il est à noter que parmi les 143 échantillons inclus dans notre étude, les génotypes ont été obtenus avec succès chez 100 patients. Cependant, dans 43 cas aucun génotype n'a été obtenu.

Population d'étude

1.1. Critères d'inclusion

- Patientes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant typique confirmé histologiquement,
- Patientes traitées par le tamoxifène en adjuvant,
- Patientes en bon état général (PS : Performance Status < 2) défini par l'indice de performance de l'OMS de l'autonomie et de l'état physique,

- Patientes non métastatiques au moment du prélèvement,
- Patientes refusant de participer à l'étude et de faire le prélèvement.
- Patientes refusant de participer à l'étude et de faire le prélèvement.
- Patientes acceptant de participer à l'étude et de faire le prélèvement. Un consentement éclairé, co-signé par la patiente et le médecin traitant, nous autorisant à l'utilisation des données clinico-biologiques, ainsi que des échantillons biologiques (plasma et ADN) à des fins de recherche.

1.2. Critères d'exclusion

- Patientes traitées auparavant pour un autre cancer,
- Patientes avec des cancers synchrones,
Patientes utilisant des substances ayant un effet inhibiteur sur l'une des enzymes CYP2D6, CYP2C19 et/ou CYP3A5 : cimétidine (antihistaminique de type 2), amiodarone (antiarythmique de classe III), inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (venlafaxine, duloxétine, bupropion), terbinafine (antimycosique), les antiarythmiques de classe I (propafenone, quinidine), le ritonavir, les antidépresseurs (fluoxétine, paroxétine), voriconazole (antifongique), ticlopidine (anti-agrégation des plaquettes),
- Patientes utilisant des substances qui augmentent l'activité des CYP450 en général : certains médicaments, surtout des anti-infectieux (rifampicine, rifabutine, éfavirenz, névirapine, griséofulvine) et des anti-convulsivants (carbamazépine, phénobarbital, phénytoïne, oxcarbazépine), le millepertuis, à la fois plante et médicament, le tabac, la consommation d'alcool (en prise chronique).
- Patientes refusant de participer à l'étude et de faire le prélèvement.

2. Méthodologie

2.1. Étude statistique

Les données recueillies de nos patientes, à partir du dossier médical et/ou par la réalisation d'un questionnaire, concerne les caractéristiques suivantes :

- **Socio-démographiques** : âge, âge au diagnostic du cancer du sein, adresse, profession, niveau d'études et motif de consultation.
- **Caractéristiques cliniques, pathologiques et biologiques du cancer du sein** : type de prélèvement utilisé pour confirmer histologiquement le cancer du sein (biopsie, mastectomie, tumorectomie, etc.), localisation tumorale (sein droit, sein gauche

ou bilatéral), type histologique (CCI, CLI, adénocarcinome, carcinome *in situ*, carcinome mixte, etc.), grade SBR (I, II, III ou IV), bilan radiologique, bilan d'extension (dosage du CA 15-3, scintigraphie osseuse), ainsi thérapeutique utilisée, présence d'antécédents personnels de maladies bénignes du sein et/ou familiaux de cancer du sein ou toute autre pathologie cancéreuse, présence d'éventuelles pathologies associées (comorbidités) a été relevée.

- **Facteurs gynéco-obstétriques :** liées à la vie reproductive des patientes incluent : âge des ménarches, situation maritale, nombre d'enfants, âge au cours de la première grossesse, exposition à des facteurs hormonaux endogènes (présence d'une pathologie endocrinienne) et exogènes (prise de contraceptifs oraux, utilisation de TSH), présence d'éventuels problèmes de fertilité.

Toutes ces données collectées pour la détermination du profil clinico-pathologiques de nos patientes ont été traitées et analysées avec le logiciel SPSS® Statistics 26.0.

2.2. Étude Pharmacocinétique

L'extraction du plasma a été effectuée sur des échantillons du sang total dans des tubes héparines ont été prélevés après au moins 4 mois d'hormonothérapie suivant la technique décrite par (Christine *et al.*, 2019). Une centrifugation est effectuée après 2 heures du prélèvement sanguin pendant 15 minutes à 4000 tours par minute. Les échantillons de plasma ont été ensuite conservés à -80°C jusqu'au moment de l'étude. Le tamoxifène et ses trois principaux métabolites (N-desméthyltamoxifène, 4-hydroxytamoxifène et endoxifène) ont été quantifiés par Chromatographie Liquide Ultra-Performante (UHPLC) suivie d'une spectrométrie de masse en tandem par électro-pulvérisation (LC-MS/MS : Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry) ; une technique hautement sensible qui couple un système de chromatographie avec un spectromètre de masse en tandem. Des solutions mères des échantillons étudiés et des étalons internes ont été préparés à 1 mg/ml dans du méthanol. Ces solutions mères sont diluées de 10 à 5000 ng/ml pour le tamoxifène et le N-desméthyltamoxifène, de 2 à 1000 ng/ml pour l'endoxifène et de 1 à 500 ng/ml pour le 4-hydroxytamoxifène dans l'eau/méthanol 30/70, avec de l'acide formique à 0,1%, afin d'obtenir les concentrations d'étalonnage suivantes de 1, 5, 20, 100, 250 et 500 ng/ml ; de 0,2, 1, 4, 20, 50 et 100 ng/ml et de 0,1, 0,5, 2, 10, 25 et 50 ng/ml pour le tamoxifène, le N-desméthyltamoxifène, l'endoxifène et 4-hydroxytamoxifène, respectivement.

Les échantillons de contrôle (ES) sont préparés pour obtenir les concentrations plasmatiques suivantes : 1, 2,5, 40 et 400 ng/ml; 0,2, 0,5, 8 et 80 ng/ml et 0,1, 0,25, 4 et 40 ng/ml, pour le tamoxifène, le N-desméthyltamoxifène, l'endoxifène et le 4-hydroxytamoxifène, respectivement.

Un total de 100 µl d'eau : de l'acide formique 100:1 (v/v) a été ajouté à 100 µl d'échantillons de plasma dans des tubes micro-centrifugeuses de 1,5 ml, puis centrifuger pendant 30 secondes afin d'éliminer l'interaction des protéines avec le plasma. Du méthanol (100 µl) a été ajouté puis agitées transversalement pendant 10 minutes à température ambiante. Les échantillons (300 µl) ont été centrifugés à nouveau après l'ajout de 400 µl de solution étalon interne, puis à 18000 tours par minutes pour 10 minutes à 4C°. Enfin, 300 µl du surnageant est mélangé avec 300 µl d'eau / acide formique (100/0,2), le formate d'ammonium à 2 mM puis injecté dans l'appareil.

2.3. Étude moléculaire

Après recrutement des patientes, l'extraction de l'ADN a été effectuée par la méthode au NaCl (Miller *et al.*, 1988). S'en ai suivi le génotypage des polymorphismes d'intérêt. La révélation des variants SNP (Single-Nucleotide Polymorphism) et Ins/Del (Insertion/Délétion) des gènes d'intérêt *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* s'est faite par une technique de PCR quantitative en temps réel (TaqMan® real-time PCR) en utilisant un système de sondes spécifiques de type OpenArray™ block, Accufill™ System avec un système de qPCR QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. L'analyse du polymorphisme de nombre de copie (CNV : Copy Number Variation) du gène *CYP2D6* a été faite en utilisant le même système de qPCR, mais avec un système de sondes différent (Taqman specific probes). Les résultats ainsi obtenus sont analysés avec deux logiciels spécifiques :

- TaqMan® Genotyper Software (Applied Biosystems) V1.6 (QuantStudio™ 1/3/5/6 Flex/6 Pro/7 Flex/7 Pro/12 Flex/7500/7500 Fast, StepOnePlus®) pour l'analyse des polymorphismes de type SNP et Ins/Del révélés par le système de sondes spécifique OpenArray™.
- TaqMan® CopyCaller® Software (Applied Biosystems) pour l'analyse des polymorphismes de type CNV établis par le système des sondes Taqman® specific probes

La définition des haplotypes se fait par le logiciel AlleleTyper™ Software v1.0 (Life Technologies), alors que la détermination du phénotype approprié en fonction du génotype

obtenu se fait en utilisant la base de données pharmacogénomiques en ligne PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org>).

2.3.1. Extraction d'ADN à partir du sang total

a. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin destiné à l'extraction de l'ADN est recueilli à partir du sang total périphérique (6 à 10ml), par ponction veineuse, dans un tube vacutainer contenant de l'EDTA (Ethylene Diamine Tetracetic Acid) comme anticoagulant. Ces prélèvements ont été réalisés, après avoir eu l'accord des patientes pour participer à l'étude. Des explications concernant l'objectif du travail ont été données aux patientes par le médecin traitant. Le formulaire du consentement a été co-signé par la patiente et le médecin traitant.

b. Extraction de l'ADN

Les leucocytes représentent la source d'ADN la plus facilement exploitable. La technique employée sur un prélèvement de sang total utilise un solvant inorganique, le NaCl. L'extraction se fait en trois étapes ; préparation des leucocytes, extraction de l'ADN proprement dite et enfin solubilisation (annexe VI).

c. Mesure de la concentration de l'ADN

La pureté ainsi que la concentration de l'ADN sont déterminées par spectrophotométrie à UV avec un fluoromètre Qubit[®] 3.0 (Invitrogen[™] Q33216) ; un spectrophotomètre adapté qui, avec un échantillon de 2 µl est déposé directement, permet l'analyse de l'absorbance.

L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (contaminants) absorbent à 280 nm. L'absorption (absorbance ou Densité Optique (DO)) est mesurée à 3 longueurs d'onde différentes (230, 260 et 280) et deux rapports sont établis (260/280 et 260/230). Tous ces paramètres sont calculés automatiquement par le logiciel. En effectuant le rapport de DO 260/280, la pureté de l'ADN est déterminée en vérifiant une éventuelle contamination par les protéines ou par les ARN. On considère que : l'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO\ 260/280$ est compris entre 1,6 et 2 ($1,6 < R \leq 2$), l'ADN est contaminé par les protéines si $R < 1,6$ et que l'ADN est contaminé par les ARN si $R > 2$.

2.3.2. Génotypage et le choix de polymorphismes

Le génotypage des différents gènes a été effectué par PCR quantitative en temps réel (TaqMan[®] real-time PCR) en utilisant des systèmes de sondes spécifiques. Le principe de cette technique innovante repose sur la fonction exonucléase 5'→3' de l'enzyme Taq Polymérase. La sonde est un oligonucléotide spécifique d'un morceau interne à la séquence amplifiée.

La sonde est marquée en 5' par un fluorophore rapporteur « Reporter » et en 3' par un autre type de fluorophore « extincteur » communément nommé « Quencher ». Le spectre d'émission du rapporteur chevauche le spectre d'excitation de l'extincteur. Ainsi, l'émission du rapporteur est atténuée ou éteinte « Quenched » par la proximité de l'extincteur. Si la sonde est dégradée par l'activité exonucléase de la Taq, les fluorophores ne seront plus reliés entre eux et l'émission du rapporteur sera augmentée. Cette augmentation du signal est proportionnelle au nombre de copies polymérisées à chaque cycle de la PCR (figure 03).

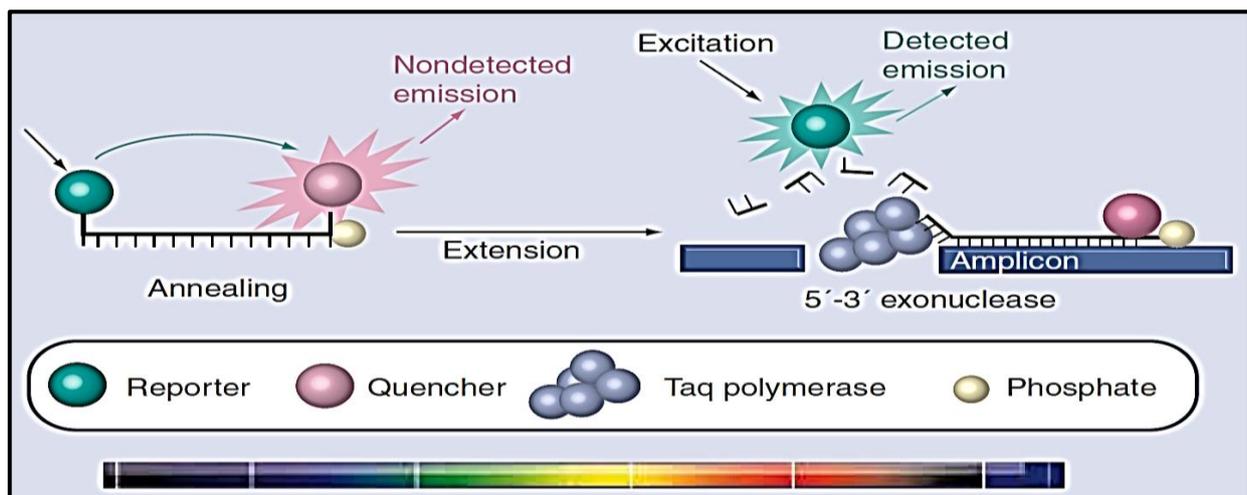


Figure 03 : mécanisme d'action de la sonde Taqman dans le système de qPCR (Poitras et Houde, 2002).

Une réaction de génotypage est réalisée en point final pour déterminer le génotype d'échantillons inconnus. Avec cette application, il est possible de différencier un polymorphisme de nucléotide unique (SNP). Une réaction de génotypage détermine si les échantillons inconnus sont : homozygotes (échantillons avec l'allèle 1 uniquement), homozygotes (échantillons avec l'allèle 2 uniquement) ou hétérozygotes (échantillons avec l'allèle 1 et l'allèle 2). Les réactions de génotypage requièrent deux étapes : le thermocyclage (amplification par PCR) et la détection en point final des signaux fluorescents produits. L'étape de thermocyclage peut être effectuée sur le système de PCR en temps réel Applied Biosystems StepOne[™] ou sur un thermocycleur autonome (sur le système StepOne[™]).

Dans une réaction de génotypage, la PCR inclut une sonde spécifique marquée par un fluorophore particulier pour chaque allèle. Les sondes contiennent des reporters différents pour discriminer chaque allèle. Les sondes TaqMan[®] MGB (Minor Groove Binder) ; un agent intercalant qui permet d'augmenter la température du milieu réactionnel sans altérer la longueur des sondes est compatible avec le système StepOne.

Chaque sonde TaqMan[®] MGB contient :

- Un reporter à l'extrémité 5' de chaque sonde : le fluorophore VIC[®] est lié à l'extrémité 5' de la sonde pour l'allèle 1, alors que le fluorophore FAM[™] est lié à l'extrémité 5' de la sonde pour l'allèle 2.
- Un ligand du petit sillon (MGB). Cette modification augmente la température de fusion (T_m) des sondes sans augmenter leur longueur ce qui permet de créer des sondes plus courtes. Par conséquent, les sondes TaqMan MGB présentent de plus grandes différences de valeurs de T_m entre les sondes spécifiques et non spécifiques, ce qui permet d'obtenir un génotypage précis.
- Un quencher non fluorescent (NFQ) à l'extrémité 3' de la sonde. Puisque le quencher n'émet pas de fluorescence, les systèmes PCR en temps réel peuvent mesurer plus précisément les contributions du reporter. Pendant la PCR, chaque sonde s'hybride spécifiquement sur sa séquence complémentaire entre les sites d'amorces sens et anti-sens. La polymérase AmpliTaq Gold[®] DNA Polymérase ne peut cliver que les sondes qui s'hybrident sur la séquence allélique (spécificité). Le clivage sépare le reporter du quencher, ce qui augmente la fluorescence du reporter. Ainsi, les signaux de fluorescence générés pendant l'amplification par PCR indiquent les allèles présents dans l'échantillon. Les non-spécificités entre une sonde et un allèle réduisent l'efficacité de l'hybridation de la sonde. En outre, la polymérase AmpliTaq Gold[®] DNA Polymérase peut déplacer la sonde non spécifique plutôt que de la cliver afin de libérer le reporter (figure 04).

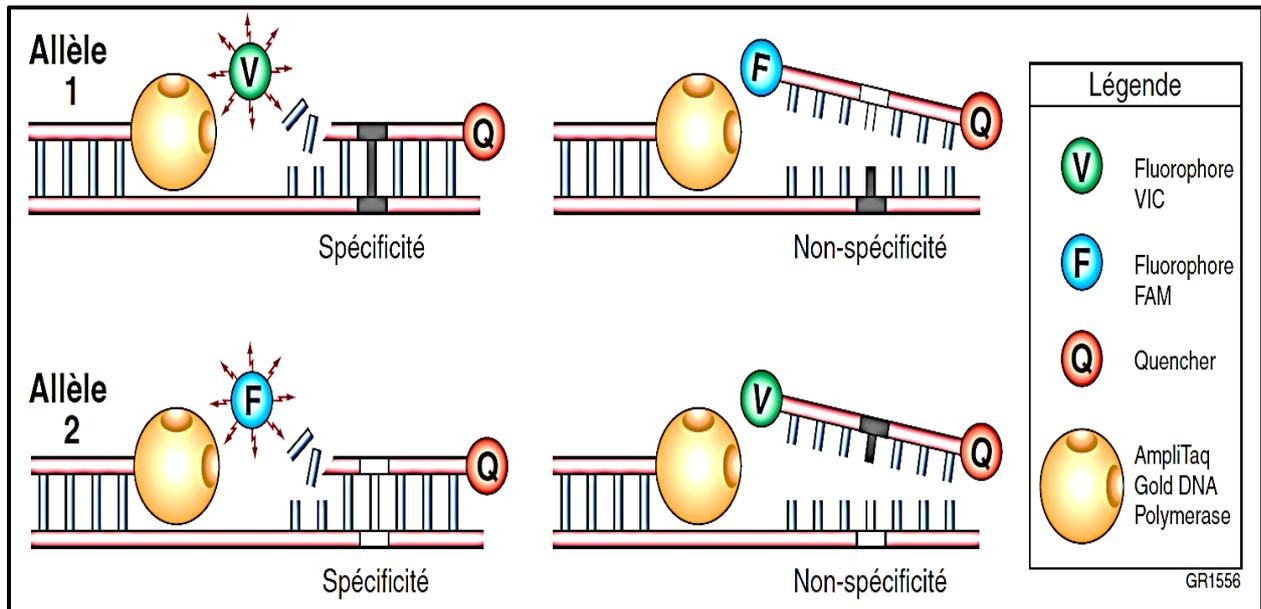


Figure 04 : résultats de spécificité et de non-spécificité entre les séquences d'allèle et de sonde dans une réaction de génotypage (Busse et Klein, 2008).

Les patientes ont été génotypées pour les 3 gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* choisis pour leur forte implication dans le métabolisme du tamoxifène, et plus précisément pour les allèles avec un impact majeur sur l'activité des enzymes codées par ces gènes. Au total, 32 polymorphismes ont été recherchés : 15 de type SNP, 04 de type Ins/Del et 13 de type CNV. Certaines variants alléliques sont associés à une perte de fonction (LOF : Loss Of Function) (*CYP2D6* *3, *4, *5 del, *6) ; (*CYP2C19* *2, *3) ; (*CYP3A5* *3, *6, *7), alors que d'autres allèles conduisent à une diminution de l'activité (*CYP2D6* *10, *41, *9). En revanche, d'autres sont plutôt associés à une augmentation de l'activité enzymatique (*CYP2D6* *2xN) ; (*CYP2C19* *17).

a. SNP et Ins/Del étudiés des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5*

Les variants alléliques de type SNP et Ins/Del des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* sont révélés par TaqMan® real-time PCR en utilisant des sondes spécifiques de type OpenArray™ block, Accufill™ System avec un système de qPCR QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. Les informations concernant ces variants alléliques SNP et Ins/Del étudiés des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* sont résumées dans le tableau ci-après.

Tableau 04 : identification des variants alléliques SNP et Ins/Del étudiés.

Gène	Haplotype	Changement	Allèle de référence	Sonde Taqman utilisée
CYP2D6	CYP2D6*-	1584C>G	G/G	C 32407252_30
	CYP2D6*4, *10	100C>T	G/G	C 11484460_40
	CYP2D6*11	883G>C	C/C	C 30634118_A0
	CYP2D6*17	1023C>T	G/G	C 2222771_A0
	CYP2D6*6	1707delT	A/A	C 32407243_20
	CYP2D6*4	1846G>A	C/C	C 27102431_D0
	CYP2D6*3	2549delA	T/T	C 32407232_50
	CYP2D6*9	2615_2617delAAG	TTC/TTC	C 32407229_60
	CYP2D6*-	2850C>T	G/G	C 27102425_10
	CYP2D6*41	2988G>A	C/C	C 34816116_20
	CYP2D6*29	3183G>A	C/C	C 34816113_20
	CYP2D6*-	4180G>C	C/C	C 27102414_10
	CYP2D6*35	31G>A	C/C	C 27102444_F0
CYP2C19	CYP2C19*2	681G>A	G/G	C 25986767_70
	CYP2C19*3	636G>A	G/G	C 27861809_10
	CYP2C19*17	- 806C>T	C/C	C 469857_10
CYP3A5	CYP3A5*3	6986A>G	T/T	hCV59013445
	CYP3A5*6	14690G>A	C/C	C 26201809_30
	CYP3A5*7	27131_27132insT	- /-	C 30203950_10

Les TaqMan[®] SNP Genotyping Assays comprennent une gamme complète d'ensembles d'amorces et de sondes destinés au génotypage des polymorphismes SNP dans des études sur l'humain. Ils utilisent les réactifs TaqMan[®] pour amplifier et détecter les allèles SNP spécifiques dans les échantillons d'ADN génomique purifié. Tous les essais sont conçus au moyen des processus et logiciels bio-informatique d'Applied Biosystems, ainsi qu'avec les données génomiques de Celera Genomics et des bases de données publiques.

La réaction de qPCR un kit particulier (TaqMan[®] Genotyping Master Mix) comprenant un Master Mix spécifique : qPCR TaqMan[™] Fast Universal PCR Master Mix (2X), ainsi qu'un Taqman assay Q (20X), une DNase, ainsi que des sondes VIC[®] et FAM[™].

Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel de la qPCR ainsi que les quantités nécessaires pour chaque tube sont mentionnés dans le tableau ci-après. La préparation du milieu réactionnel de la PCR se fait à une température ambiante.

Tableau 05 : composition du milieu réactionnel de la qPCR pour génotypage des SNP - Ins/Del.

Réactifs	Plaque de 384	Plaque de 96
TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix (2X)	05 µL	10 µL
Sonde 01 VIC® (20X)	0,5 µL	01 µL
Sonde 02 FAM™ (20X)	0,5 µL	01 µL
Taqman assay Q (20X)	0,5 µL	01 µL
Dnase Free Water (DFW)	2,5 µL	05 µL
Échantillon d'ADN génomique 50 ng/ml	01 µL	02 µL
Volume final	V= 10 µL	V= 20 µL

Les échantillons d'ADN génomique et les cartes OpenArray™ block, AccuFill™ System sont placés dans le système de qPCR QuantStudio™ 12K Flex Real-Time PCR System. Un volume final de 33 µL contenant de l'ADN génomique et le Master Mix TaqMan™ Fast Universal PCR (2X) a été distribué dans chaque nano-spot de la puce OpenArray. Chacune contient à l'intérieur de son spot microscopique : 250 haplotypes d'ADN spécifique de l'ordre du picomole fixés de façon ordonnée sur sa surface qui peut être du verre, silicium ou même plastique. Une fois le fluide est injecté dans la puce OpenArray™, l'échantillon est placé dans le système AccuFill™ et le taux de fluorescence émis est détecté, quantifié puis analysé.

Les résultats ainsi obtenus sont analysés avec un logiciel spécifique TaqMan® Genotyper Software V1.6 (figure 05). La définition des haplotypes se fait par le logiciel AlleleTyper™ Software v1.0 (Life Technologies), alors que la détermination du phénotype approprié en fonction du génotype obtenu se fait en ayant recours à la base de données en ligne PharmGKB.

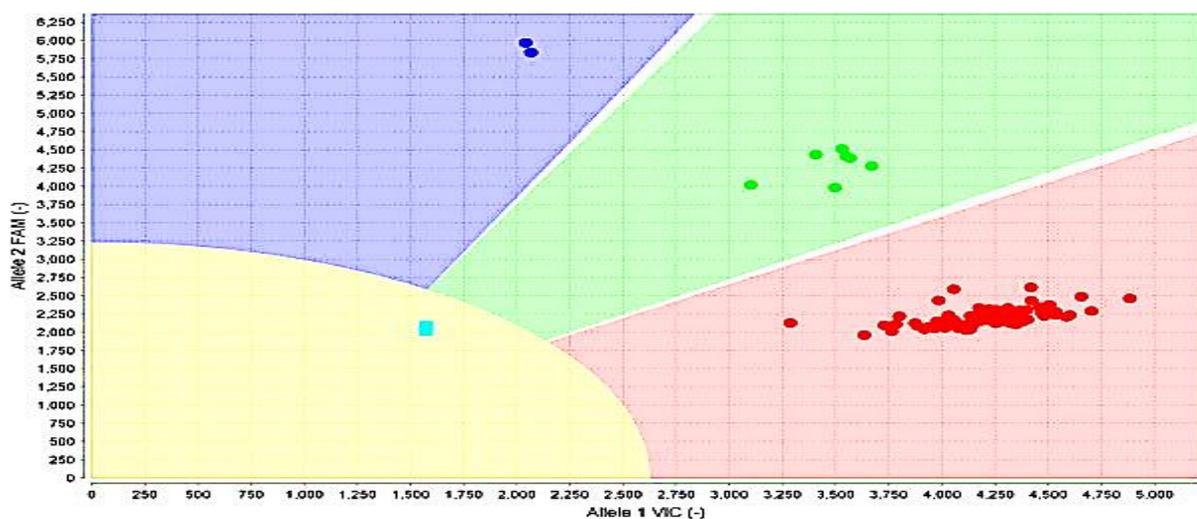


Figure 05 : profil de génotypage type d'un des gènes du CYP450 en utilisant la puce OpenArray™ et le logiciel TaqMan® Genotyper (Hartshorne *et al.*, 2014).

La couleur rouge représente les échantillons homozygotes pour l'allèle sauvage. Le groupe vert comprend les patientes ayant un allèle normal combiné avec un allèle muté (hétérozygote). La couleur bleue représente des mutants homozygotes contenant les deux copies des allèles mutés. La région jaune avec correspond à la fluorescence des contrôles (NTC).

b. Géotypage du *CYP2D6* pour les CNV

Le polymorphisme CNV ou variation du nombre de copies est dû à des duplications ou des délétions du gène *CYP2D6*. Le nombre de copies pour le *CYP2D6* a été analysé en utilisant un système de sondes différent (Taqman specific probes) avec le même système de qPCR illustré précédemment et qui a été utilisé pour le géotypage des variant SNP et Ins/Del. Trois régions différentes ont été examinées, intron 2, intron 6 et exon 9, du gène candidat avec un contrôle interne de 2 copies (RNase P). Les réactifs utilisés pour la préparation du milieu réactionnel de la qPCR ainsi que les quantités nécessaires pour chaque tube sont mentionnées dans le tableau ci-après. La préparation du milieu réactionnel de la PCR se fait à température ambiante.

Tableau 06 : composition du milieu réactionnel de la qPCR pour géotypage des CNV.

Réactifs	Plaque de 384	Plaque de 96
TaqMan™ Fast Universal PCR Master Mix (2X)	05 µL	10 µL
Taqman CN assay (20X)	0,5 µL	01 µL
Taqman CN reference (20X)	0,5 µL	01 µL
Dnase Free Water (DFW)	02 µL	04 µL
Échantillon d'ADN génomique 50 ng/ml	02 µL	04 µL
Volume final	V= 10 µL	V= 20 µL

Une fois la plaque établie, couverte et soumise à centrifugation pendant 1 minute à une vitesse de 1000 tours/minute, elle est mise ensuite pour PCR/analyse dans le Taqman® après avoir chargé le programme précisé dans le tableau suivant.

Tableau 07 : programme du thermocycleur pour l'amplification q-PCR (durée : 105 minutes).

Processus	Température (°C)	Temps	Nombre de cycles	Observation
Dénaturation initiale	95	10 minutes	01	Dénaturation de l'ADN double brin
Dénaturation	95	15 secondes	40	Hybridation et élongation avec acquisition de fluorescence
Hybridation	60	1 minute		
Dénaturation	95	10 secondes	01	Génération de plusieurs courbes de fusion
Hybridation	60	30 secondes		
Élongation finale	95	01 minute		

La fluorescence est mesurée de manière ponctuelle à la fin de l'étape d'élongation de chaque cycle d'amplification. Elle permet ainsi d'établir une courbe de quantification représentant la fluorescence en fonction du nombre de cycles. Afin de s'assurer de la spécificité des produits de PCR amplifiés, une courbe de fusion est réalisée après la phase d'amplification. Elle consiste en une étape de dénaturation ponctuelle à 95°C puis une hybridation à 60°C pendant 60 secondes et enfin une étape de fusion avec élévation progressive de la température jusqu'à 95°C par incrément de 0,1°C par seconde. La fluorescence est lue en continu pendant cette dernière phase de fusion. L'établissement de la courbe de fusion (fluorescence en fonction de la température) permet de discriminer les dimères d'amorces et les produits de PCR spécifiques.

2.3.3. Phénotypage en fonction des génotypes

Dans cette analyse, les patientes ont été classifiées en 4 groupes de phénotypes pour les *CYP2D6* et 5 groupes pour le *CYP2C19* selon leurs génotypes, et ce selon les recommandations du Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC®) en libre accès sur le site <https://cpicpgx.org>.

Pour le *CYP2D6*, le groupe des Métaboliseurs Normaux (MNs) correspond aux individus qui possèdent deux allèles avec une fonction normale (*1); ou un allèle avec une fonction normale et un allèle de diminution d'activité ou alors une combinaison d'une duplication d'un

allele normal avec une perte de fonction ou un allèle de diminution d'activité. Les Métaboliseurs Lents (MLs) sont des individus porteurs de 2 allèles perte de fonction. Le groupe des Métaboliseurs Intermédiaires (MIs) est constitué des individus porteurs d'un allèle avec une fonction normale et un allèle de perte de fonction (*3, *4, *5 del, *6), ou deux allèles de diminution d'activité. Les Métaboliseurs Ultra-Rapides (MURs) sont des porteurs de duplications du gène *CYP2D6* (*CYP2D6**2xN) (Hicks *et al.*, 2016).

Pour le *CYP2C19*, les MNs sont porteurs de deux allèles avec une fonction normale (*1). Les MIs sont des porteurs d'un allèle *CYP2C19* perte de fonction (*2, *3, *4, *5) et un allèle avec une fonction normale ; ou un allèle perte de fonction et un allèle d'augmentation d'activité (*17). Les MLs sont des individus porteurs de deux allèles pertes de fonction *CYP2C19* (*2, *3, *4, *5). Les *CYP2C19* Métaboliseurs Rapides (MRs) sont porteurs d'un allèle normal et d'un allèle d'augmentation d'activité *17. Les MURs sont porteurs hétérozygotes de l'allèle *17. Pour le *CYP3A5*, les MNs sont porteurs de deux allèles avec une fonction normale (*1). Les MIs sont des porteurs d'un allèle *CYP3A5* perte de fonction (*3, *6, *7) et un allèle avec une fonction normale ; ou métaboliseurs lents (MLs), des individus porteurs de 2 allèles perte de fonction.

3. La surveillance des récidives

Les données des patientes développant des récidives, après une période de 5 ans de traitement par tamoxifène en adjuvant ont été obtenues rétrospectivement à partir des dossiers médicaux. La surveillance des récidives locorégionales et à distance se réalisera par :

- ❖ Un examen clinique qui comprend à la palpation du sein non atteint, du sein ou de la paroi thoracique du coté atteint, des aires ganglionnaires, axillaires et sus claviculaire)
- ❖ Un bilan radiologique (scanner thoraco-abdomino-pelvien ou à défaut une échographie abdominopelvienne, radiographie du thorax)
- ❖ Un bilan biologique (dosage du CA 15,3)
- ❖ Une mammographie une fois par an
- ❖ Une scintigraphie osseuse et un scanner cérébral seront pratiqués en cas de signes d'appel.

**Résultats
et
discussion**

1. Étude statistique

1.1. Paramètres sociodémographiques (âge)

La probabilité de développer un cancer du sein s'accroît significativement avec l'âge. Il représente un facteur de risque important. En effet, la survenue d'un cancer du sein est exceptionnelle chez les femmes de moins de 30 ans, mais le risque augmente entre 50 et 75 ans. L'âge relativement jeune au diagnostic (< à 35 ou 40 ans selon les séries) est un facteur de mauvais pronostic rapporté dans de nombreuses prospections. Selon ces études, la survenue précoce du cancer du sein favorise le risque de récidives à distance, mais aussi le risque de récidives locorégionale (Belkacémi *et al.*, 2010 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

Dans notre série, la moyenne d'âge était de 44,5 ans (\pm 6,3), avec des extrêmes de 25 ans à 65 ans. Nous avons réparti nos patientes en 04 tranches d'âges de dix ans. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous (figure 06).

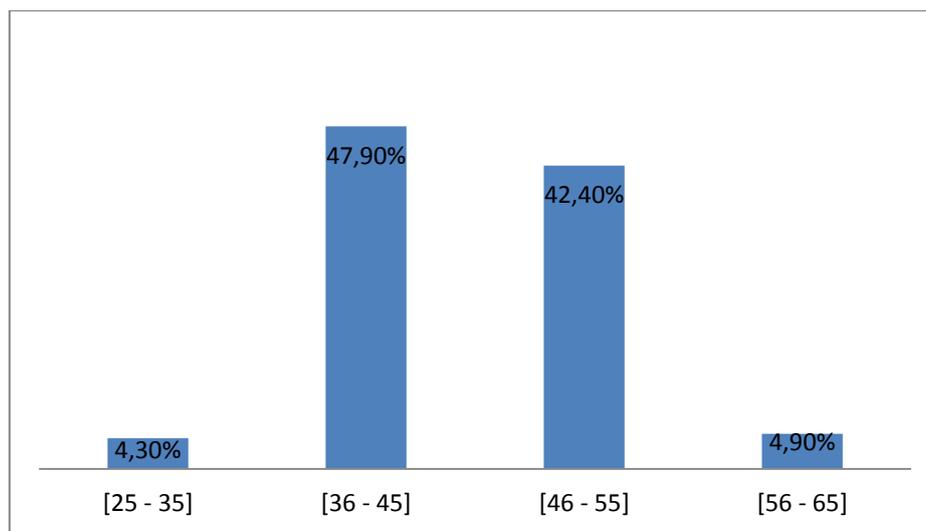


Figure 06 : répartition des patientes selon les classes d'âge.

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par les différents auteurs africains (Foulkes *et al.*, 2009 ; Abbasset *al.*, 2011 ; Lygiaet *al.*, 2012 ; Mohammed *et al.*, 2012) et européens (Durbardet *al.*, 2013). Concernant l'effet de l'âge sur la pharmacocinétique de tamoxifène, des résultats discordants ont été rapportés. Par exemple, dans une étude incluant 316 patientes, des concentrations plus fortes de tamoxifène et de ses métabolites ont été observées chez les patientes âgées (> 80 ans) par rapport aux patientes jeunes (< 40 ans) (Peyradeet *al.*, 1996).

Lien et ses collaborateurs ont confirmé une augmentation des concentrations de tamoxifène, d'endoxifène et de N-desméthyltamoxifène avec l'âge dans une population de 151 patientes (Lien *et al.*, 2013). En revanche, d'autres n'ont observé aucune association entre les concentrations d'endoxifène et l'âge chez 302 patientes (Marcathet *et al.*, 2017). De plus, dans une étude récente réalisée chez 908 patientes, aucune différence significative de concentrations d'endoxifène n'a été retrouvée entre les patientes quel que soit l'âge supérieur ou inférieur à 50ans (Schroth *et al.*, 2017) ce qui est comparable avec nos résultats.

1.2. Paramètres clinico-pathologiques

1.2.1. Circonstances de découverte

Le signe révélateur de la maladie a été découvert par la patiente. L'autopalpation d'un nodule était le mode de découverte le plus fréquent constaté dans 73,7% des cas, suivi d'une modification cutanée (15,7%) et d'une ulcération du sein (6,3%) (Figure 07). 9 cas (6,3%) seulement ont été dépistés lors d'un examen médical systématique.

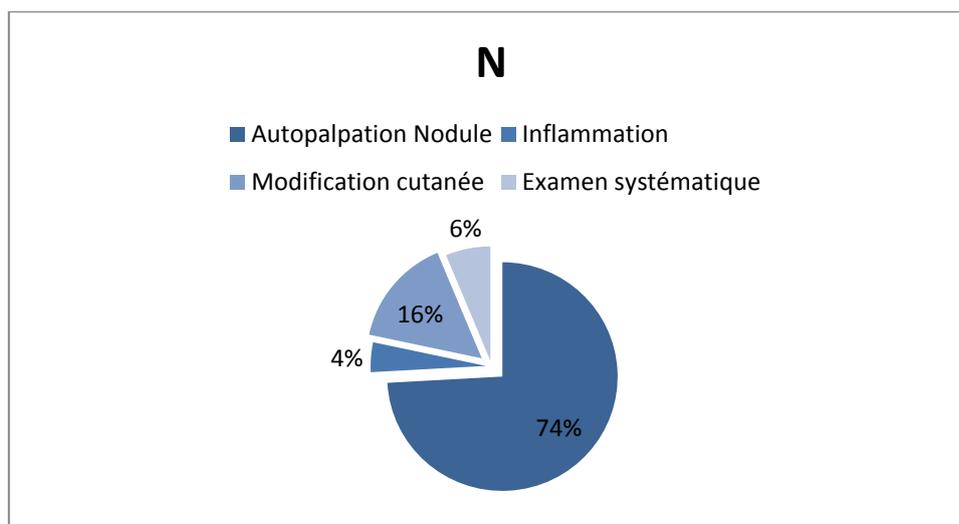


Figure 07 : répartition des patientes selon les circonstances de découverte du CS.

En ce qui concerne les circonstances de découverte, les résultats relevés dans notre série rejoignent ceux de Zacharie *et al.*, 2014 et Ben Ahmed *et al.*, 2002 en Tunisie où la découverte de la maladie par autopalpation a été respectivement de 96% et 92% des cas, ce mode de découverte du cancer du sein a été inférieur dans des études africaines de Mody *et al.*, et Essiben *et al.*, en 2013 ils représentaient 75,3%.

1.2.2. Délais de consultation

Le délai moyen entre le premier symptôme et la consultation était de $6,3 \pm 2,29$ mois avec des extrêmes de 15 jours à 3 ans, avec une prédominance de plus de 06 mois (44,1%) (Figure 08).

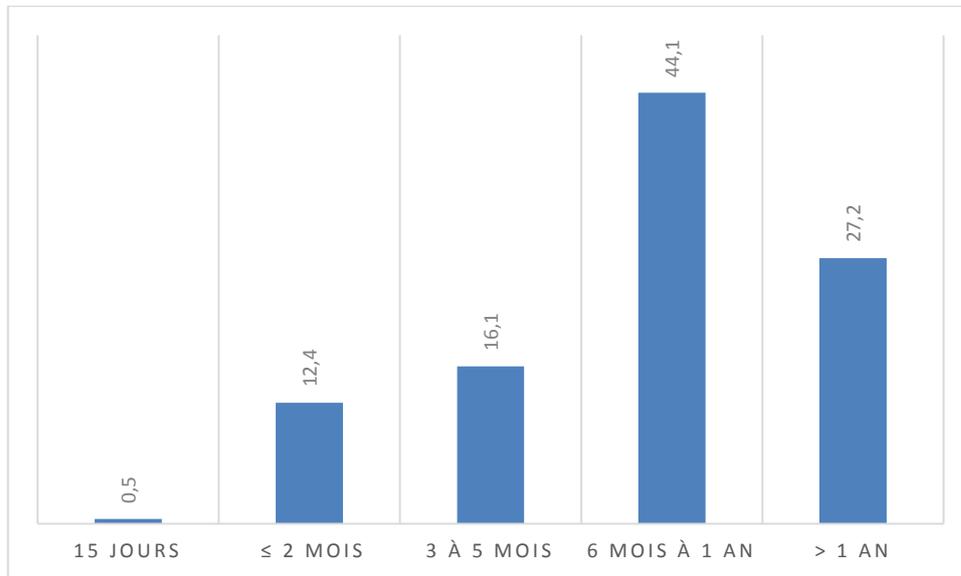


Figure 08 : répartition selon le délai de consultation.

Les délais de consultation de nos patientes après l'apparition des premiers signes sont comparables à ceux mentionnés dans la littérature (Chang *et al.*, 2000 ; Dem *et al.*, 2006 ; Sarre *et al.*, 2006). Ces délais relativement tardifs expliquent le stade avancé de la maladie au moment de la consultation. Les raisons évoquées pour expliquer un délai de consultation aussi long sont la nature du symptôme mammaire, le coût de la consultation médicale, l'inaccessibilité géographique des structures sanitaires dans certaines régions, les erreurs de diagnostic, des croyances socio-culturelles, les peurs engendrées par la maladie, les errements dus à la médecine traditionnelle, l'ignorance des patientes, etc. (Burgess *et al.*, 1998 ; Bish *et al.*, 2005 ; Ekortark *et al.*, 2007).

1.2.3. Localisation

L'examen des seins a permis d'objectiver des atteintes aussi fréquentes au niveau du sein gauche qu'au niveau du sein droit chez nos patientes, celles-ci étaient respectivement

de 47,55% et 46,85%. Une atteinte bilatérale a été observée chez 8 patientes soit 5,59% (Figure 09).

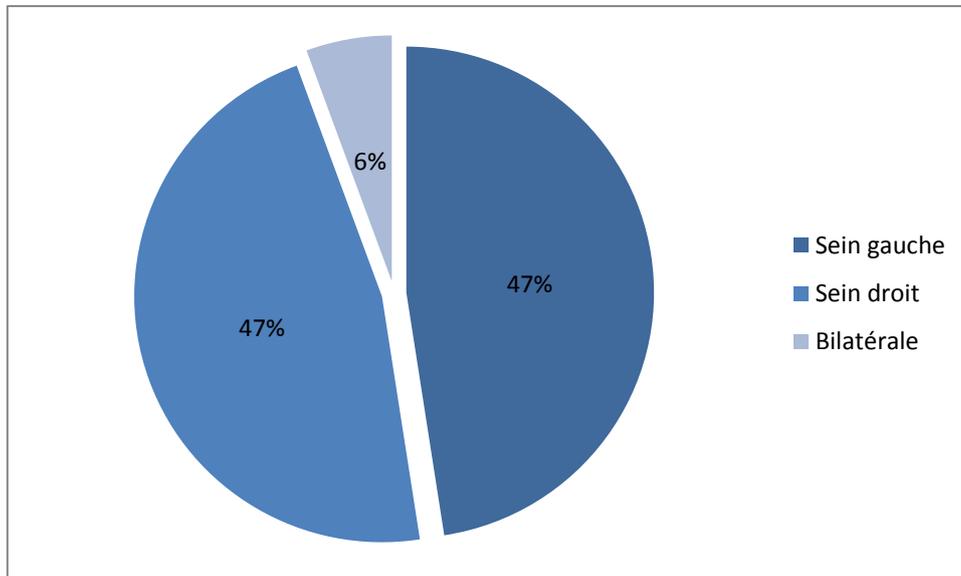


Figure 09 : répartition selon la localisation de la tumeur.

La quasi-totalité des études concluent que le cancer du sein n'a pas de préférence distinctive pour le sein droit ou gauche, les deux sont touchés avec une même fréquence. Néanmoins, certains auteurs rapportent le contraire. Selon Nait-Behloul, 2018, environ 47,5% des tumeurs mammaires sont localisées sur le sein droit et 48,2% sur le sein gauche, et 4,3% sur les deux (bilatérale). Dans une autre étude, El-Yakoubi, 2019 signale quant à lui une légère prédominance du sein droit. Néanmoins, la proportion des formes bilatérale dans cette étude est 7,5% ; légèrement supérieure à la nôtre, ainsi qu'à celle mentionnée par Nait-Behloul, 2018.

Nos résultats sont également en contradiction avec ceux de Zemmouli, 2020 qui indique que le sein gauche (56%) est plus touché que le sein droit (44%), et qu'aucun cas de cancer du sein bilatéral n'a été détecté. Nos résultats sont également superposables à ceux de Mbala *et al.*, 2011 ; Ben Ahmed *et al.*, 2002 ; Thiam *et al.*, 2002, mais différents de ceux indiqués dans les travaux publiés par Bissan *et al.*, 2007 ; Taore *et al.*, 2005 ; Wail *et al.*, 2015 qui ont relevé une prédominance du sein droit respectivement 61,3%, 62,9% et 75% des cas.

Le Quadrant Supéro-Externe (QSE) était le siège de prédilection du cancer du sein dans 48,7% des cas, suivi par le Quadrant Supéro-Interne (QSI) avec 23% et le Quadrant Inféro-Interne (QII) avec 12,6% (Figure 10).

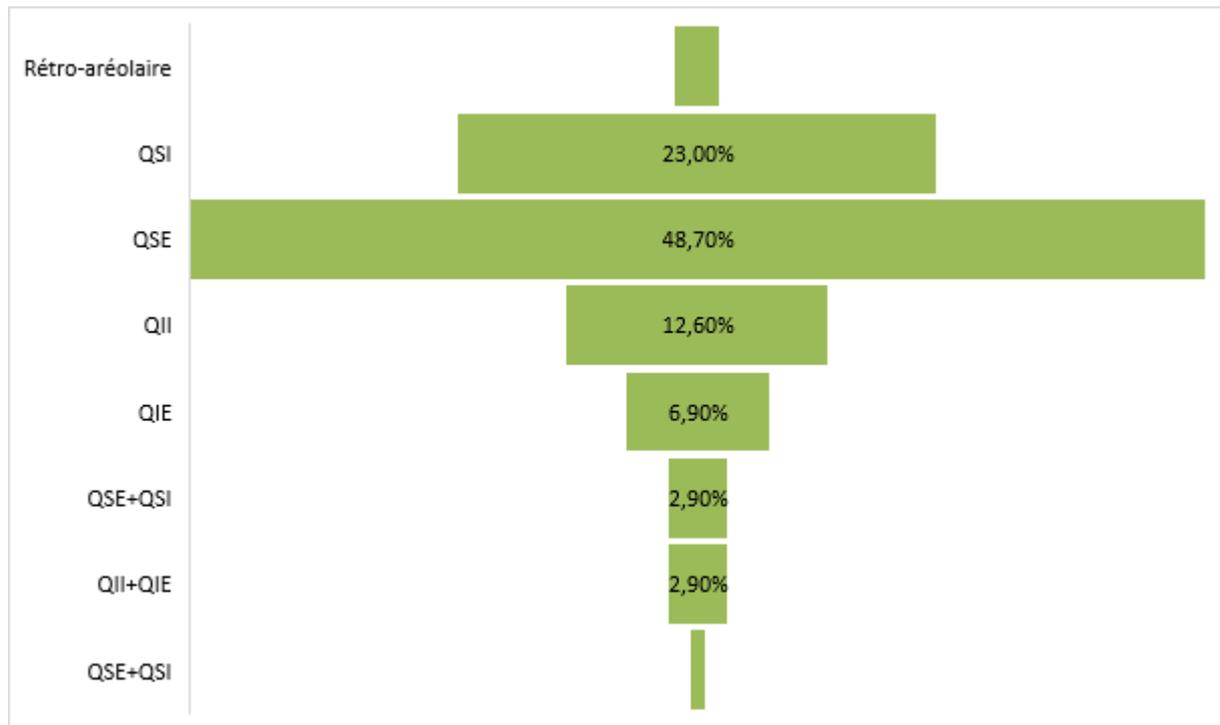


Figure 10 : répartition selon le siège de la tumeur.

Nos résultats sont pratiquement les mêmes de ceux observés et publiés par (Diakité *et al.*, 2011), mais de loin supérieur aux 38,4% de formes de cancer du sein dans le QSE mentionnées par Mbala *et al.*, 2010. La proportion des atteintes au niveau du QSE indiquée dans notre série est nettement inférieure à celle observée par Zacharie *et al.*, 2014 qui était de 68,7%.

Selon les données de la littérature, le sein gauche et le QSE sont généralement plus atteints, car plus vascularisés. Cette vascularisation favorise le développement plus rapide des tumeurs. Pratiquement l'ensemble des auteurs européens (Lygiaet *et al.*, 2012), asiatiques (Richa *et al.*, 2017) et africains (Sarré *et al.*, 2005 ; Lamine *et al.*, 2005 ; Mbala *et al.*, 2010 ; Lygia *et al.*, 2012 ; Essiben *et al.*, 2013 ; Kaouther *et al.*, 2015) ont fait le même constat. Le QSE est une zone à surveiller lors des examens cliniques et de l'autopalpation.

1.2.4. Type histologique

Dans notre série, le CCI représente le type le plus fréquent avec 88,10% des cas, suivi par CLI avec 7% des cas répertoriés. Dans notre cohorte, les CC *in situ*, les carcinomes

mucineux, ainsi que les carcinomes médullaires étaient relativement peu fréquents avec des proportions respectives de 2,80%, 1,40% et 0,7% (figure 11).

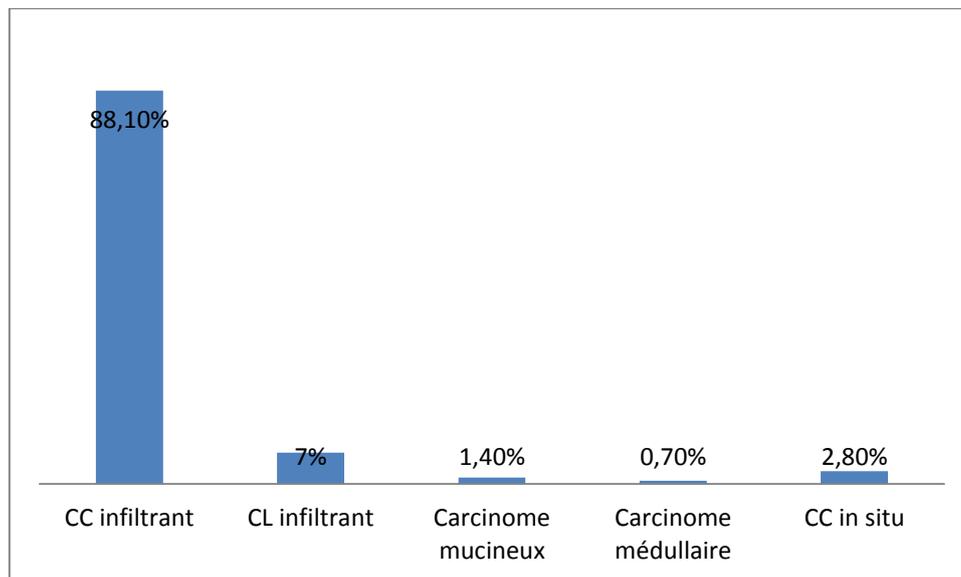


Figure 11 : répartition selon le type histologique.

Nos résultats se rapprochent de ceux réalisés par Khalil *et al.*, 2016 dans lesquelles le CCI était le plus fréquent avec 80,7% des cas, suivi par le carcinome invasif avec 8,1% des cas. La fréquence du CLI et les autres types histologiques étaient respectivement de 4,6% et 6,6% des cas. Le CCI est caractérisé par un bas grade histologique et un indice de prolifération faible (Khalil *et al.*, 2016). De même, en 2015, Engbang *et al.*, rapportent que le type histologique le plus fréquent est le CCI avec une proportion de 74,38% des cas, suivi par le CLI avec 4,30%, ainsi que les autres entités : carcinome médullaire, carcinome papillaire infiltrant, carcinome tubulaire, etc.

Les autres types histologiques étaient retrouvés à des taux plus faibles 11%. Les résultats d'une étude algérienne menée dans la ville de Tlemcen sont en parfait accord avec les nôtres et concordent aussi avec la littérature. Une autre étude réalisée par Hamdi *et al.*, 2017 au niveau de la région de Bouira retrouve que le type le plus fréquent est toujours le CCI avec 81,98% des cas, suivi par le carcinome mixte infiltrant qui représentait 6,3% des cas. Le CLI était présent dans 3,6%, et le carcinome mucineux chez 2,3% des patientes (Hamdi *et al.*, 2017).

1.2.5. Grade histo-pronostique (Scarff-Bloom et Richardson)

Le grade histo-pronostique de Scarff-Bloom et Richardson ou SBR a été précisé chez 143 patientes. Le grade SBR II était le plus fréquent (67,4%), suivi du grade SBR III (26,4%), et le grade I (5,6%).

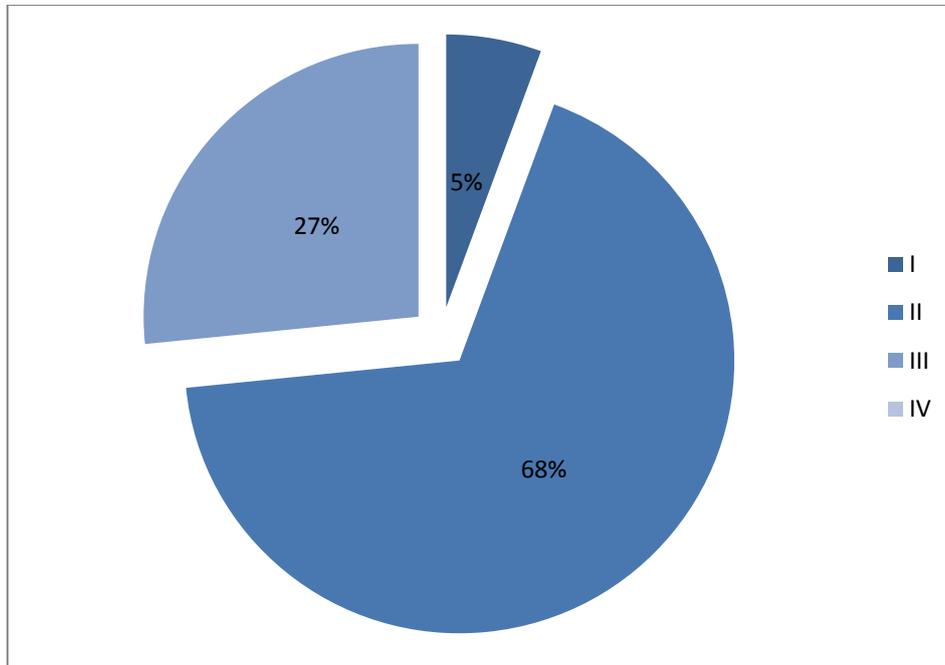


Figure 12 : répartition selon le grade histo-pronostique.

À l'heure actuelle, la stratification en grade la plus utilisée en pratique clinique est celle de Scarff-Bloom et Richardson (SBR). Le grade SBR est établi sur la somme de trois scores, déterminés à partir de 3 caractéristiques histologiques indépendantes : pauvreté en structures glandulaires bien définies, irrégularité des noyaux et richesse des noyaux. Le score total permet de la sorte de subdiviser les tumeurs en 3 classes : grade I pour les tumeurs très différenciées, grade II pour les tumeurs moyennement différenciées et grade III pour les tumeurs faiblement différenciées

Dans l'étude d'El Yakoubi, 2019, les résultats rapportés sont en accord avec les nôtres. En effet, le grade SBR II était le plus prédominant avec un taux de 70,28%, suivi par le grade III avec 24%, puis le grade I avec 5,71% des cas.

Dans une autre étude chez des femmes atteintes de cancer du sein au Mali, Feupi, 2019 a conclu à des résultats similaires plaçant les grades histologiques des patientes selon un ordre décroissant de fréquence : grade II (68,9%), suivi des grades III (27,2%) et I (3,9%). Cette hiérarchie des grades a été constatée dans de nombreuses études. Néanmoins, certaines

publications mentionnent des résultats différents. En effet, selon Dehayni, 2009, dans une étude menée au Maroc, il a été constaté que 38,46% des patientes sont du premier grade, alors que 35,04% sont du grade II et 21,36% du grade III, ce qui est en contradiction avec nos résultats.

1.2.6. Expression de la protéine HER2.

La recherche du statut HER2 est aujourd'hui systématique chez les femmes atteintes d'un cancer du sein. Ce test permet en effet de savoir si elles peuvent bénéficier d'une thérapie ciblée anti-HER2. L'expression de la protéine HER2 a été évaluée par immunohistochimie (IHC) chez la totalité des 143 patientes incluses dans notre série. Nos résultats indiquent que dans 78,30% la tumeur ne surexprime pas le HER2 (échelle 0 ou 1+, la tumeur est dite HER2 négative). Le HER2 est légèrement surexprimée (échelle 2+) dans 8,40% des cas (statut HER2 incertain à confirmer par FISH). Dans notre série, le taux de HER2 est surexprimé (score 3+) et la tumeur est alors dite HER2 positive chez 13,30% de nos patientes (Figure 13).

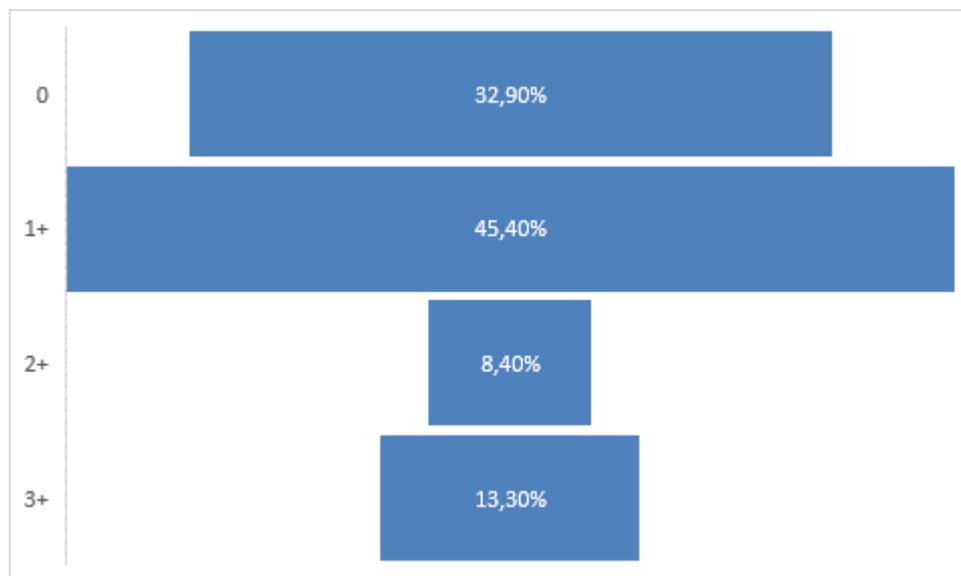


Figure 13 : répartition selon le profil d'expression de la protéine HER2.

Toutes les études menées actuellement ont montré que les tumeurs HER2 positives sont plus agressives, et ont tendance à se développer et se propager plus rapidement que les tumeurs HER2 négatifs. Elles sont habituellement de grade plus élevé (Gompel, 2019). Concernant le taux d'expression de la protéine HER2, 15 à 20% des cancers du sein sont associés à une surexpression de cette protéine.

Il s'agit d'un membre de la famille du récepteur au facteur de croissance épidermique EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) (Walshe *et al.*, 2006 ; Schneeweiss *et al.*, 2013). La mise en évidence d'une surexpression de la protéine apparaît donc comme le point clef pour commencer éventuellement un traitement par Herceptin. Nos résultats sont proches de ceux de certains auteurs (Beuzeboc *et al.*, 2008), variant de 4 à 10%, et inférieurs à ceux observé par d'autres auteurs (Gentilini *et al.*, 2010), variant de 24 à 30%, (Abbass *et al.*, 2011 ; Mohammed *et al.*,2012 ; Guendouz *et al.*, 2011 ; Jedid *et al.*, 2010 ; Tonato *et al.*,2016 ; Chahbouni *et al.*,2009) variant de 32 à 72%, et Mbala *et al.*, 2008 qui était de 86%. Ce résultat pourrait se justifier par le fait que ces tumeurs possèdent une surexpression des RE et RP qui entraîneraient une sous-expression de la protéine HER2.

1.3. Facteurs gynéco-obstétriques

1.3.1. Âge de la ménarche

L'âge de la ménarche a été précisé chez 143 patientes. L'âge moyen était de 12,8 ans avec des extrêmes de 09 et 17 ans. 114 d'entre elles ont eu une ménarche à un âge ≤ 12 ans soit 79,9% du nombre total des cas, alors que 29 patientes ont eu leur ménarche à un âge > 12 ans (figure 14)

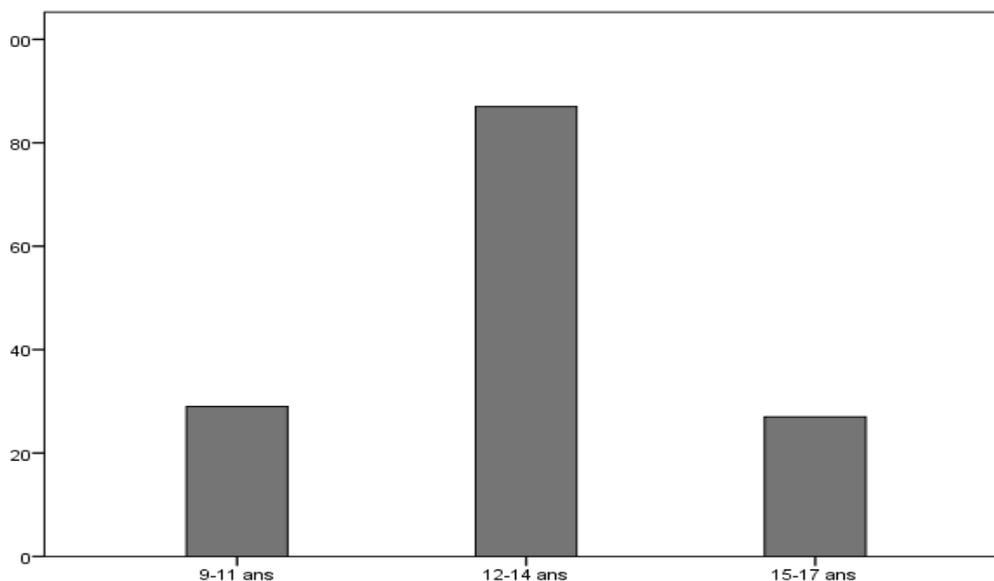


Figure 14 : répartition selon l'âge des ménarches.

Ainsi, de nombreuses études montrent que la survenue des premières règles avant l'âge de 12 ans augmente le risque de cancer du sein. Le fondement biologique de cette association correspond à l'exposition précoce et donc plus prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité des ovaires. Cette exposition est considérable lorsque

les cycles menstruels sont réguliers en plus d'être précoce. Un tel postulat concorde avec les niveaux d'œstrogènes élevés après les règles que l'on observe chez les femmes qui ont eu leurs menstruations précocement (Key *et al.*, 2001). De nombreuses prospections montrent que les patientes ayant un cancer du sein avaient une ménarche à un âge plus jeunes et à la leur première grossesse à un âge tardif, avec une dominance des patientes pré-ménopausées (Merviel *et al.*, 2011).

1.3.2. Statut marital

L'évaluation du statut marital des femmes de notre cohorte a révélé que la majorité de nos patientes sont mariées 121 (84,6%) et 21 (14,6%) sont célibataires. Une d'entre elles était divorcée (0,8%) (figure 15).

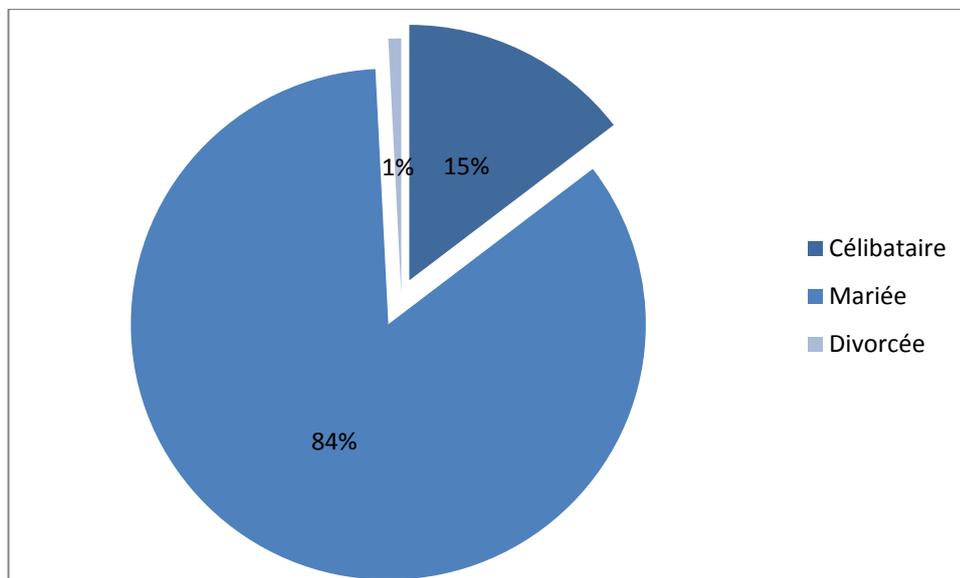


Figure 15 : répartition des patients selon le statut marital.

Dans toutes les études épidémiologiques menées en Afrique ce cancer est plus fréquent chez les femmes mariées (Diakite *et al.*, 2011), et plus faible chez les femmes célibataires (Zemmouli, 2020).

Par contre, Senhadji et El Kébir (2010), montre que les femmes célibataires sont plus susceptibles de développer un cancer du sein que les femmes mariées. Ceci est également retrouvé dans une autre étude réalisée à l'ouest de l'Algérie. De même, les femmes qui se marient tardivement sont plus touchées par ce cancer, et ce risque double lorsqu'elles se marient après l'âge de 30 ans (Senhadji, 2010).

1.3.3. Age de la première grossesse

L'âge moyen de la première grossesse des patientes incluses dans notre série est de 18,21 ans \pm 12,09 avec des extrêmes allant de 18 à 45 ans. Les catégories d'âges les plus représentatifs étaient celles des [14 - 24] et des [25 - 35] ans, avec 41,3% et 29,4% respectivement. Dans notre série, aucune femme n'a eu sa première grossesse avant 18 ans ou après 45 ans (figure 16).

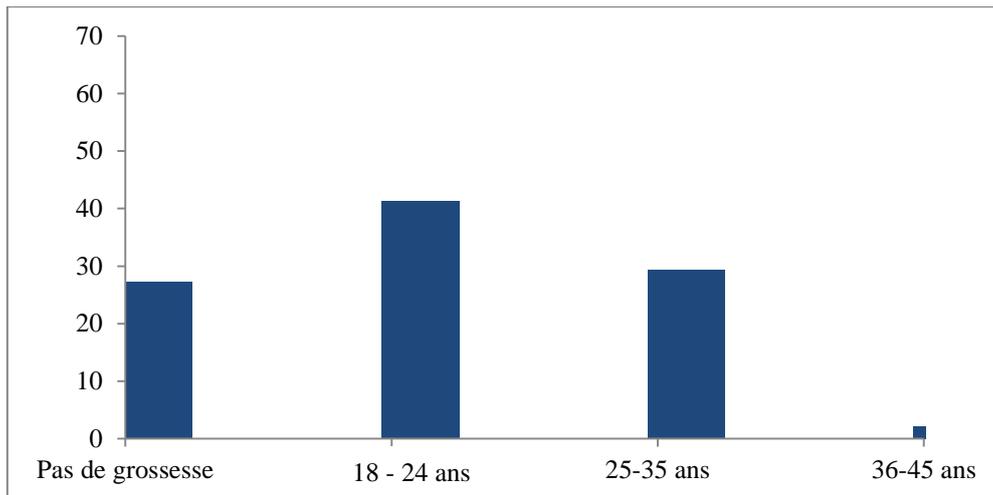


Figure 16 : répartition selon l'âge de la première grossesse.

Les données épidémiologiques actuelles indiquent que le risque de cancer du sein augmente avec la nulliparité et l'âge tardif de la première grossesse (Clavel *et al.*, 2002). Ainsi, les femmes ayant eu leur première grossesse à terme avant l'âge de 30 ans présentent en moyenne un risque de cancer du sein diminué de 25% par rapport aux femmes nullipares (Fotoohi *et al.*, 2016).

La nulliparité et l'âge tardif de la première grossesse menée à terme accroissent tous deux cette incidence. En effet, le risque de développer un cancer du sein chez les femmes qui ont leur premier enfant après l'âge de 30 ans est environ deux fois supérieur à celui des femmes qui ont eu leur premier enfant avant l'âge de 20 ans (Sancho-Garnier et Colonna, 2019). Il semble même, selon plusieurs projections faites sur plusieurs ethnies, que le groupe le plus à risque est celui des femmes qui ont un premier enfant après l'âge de 35 ans. En effet, il a été rapporté que ces femmes semblent avoir un risque encore plus grand que les nullipares (Recoules-Arché et Fourchette, 2012 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019). Il est que des dissemblances qui peuvent être observées dans certaines études, la nôtre entre autres, par rapport aux données mondiales, pourraient s'expliquer par des considérations

d'ordre socio-culturelles. En effet, dans le continent africain et en comparaison avec l'Europe, les femmes ont eu leurs enfants à un âge relativement précoce. En Algérie, des disparités assez marquées concernant ce paramètre sont observées dans les quatre coins du pays (Amrani et Belaili, 2017 ; Hamdi *et al.*, 2017).

1.3.4. Multiparité

Dans notre série, 72,72% des femmes ont mené au moins une grossesse à terme et plus de 36,36% ont eu plus de 3 enfants. Parmi nos patientes, 27,27% sont nullipares. Dans notre étude, la proportion des femmes paucipares (celles ayant au moins 3 enfants) est de 36,4% (52 femmes), est proche de celles ayant plus de 3 enfants 35,7% (51 femmes), mais légèrement supérieure à celle des femmes nullipares 27,80% (39 femmes) (figure 17).

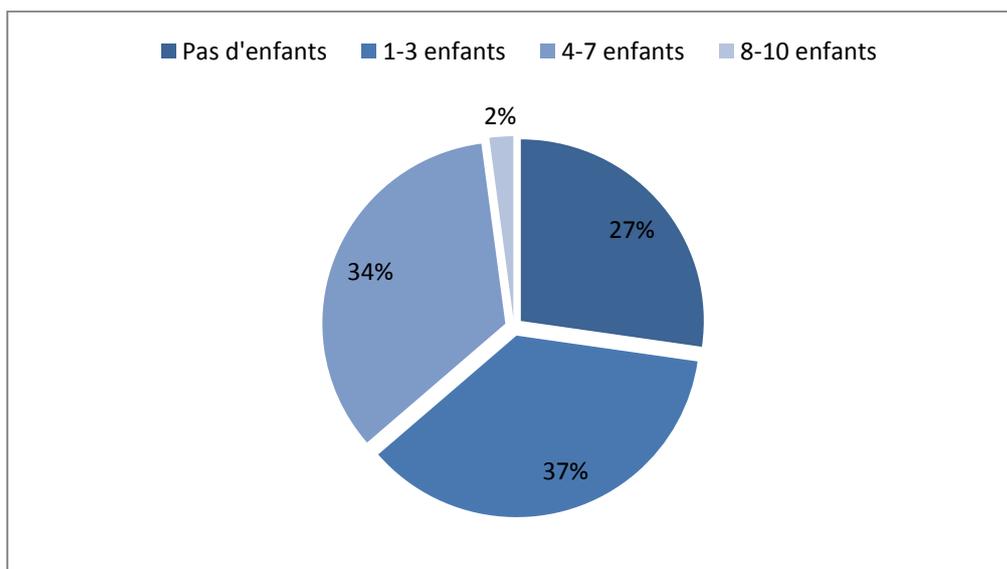


Figure 17 : répartition selon le nombre d'enfants.

Les données actuellement disponibles sur le cancer du sein semblent indiquer que la multiparité a un effet protecteur. Les femmes qui ont eu de huit à neuf accouchements présentent un risque réduit d'environ 30% en comparaison avec celles qui ont eu cinq accouchements (Tucker *et al.*, 2005).

Il semble que la période reproductive a un double effet sur le développement de cette pathologie cancéreuse. Selon ce constat, le risque est accru après la première grossesse, puis se réduit progressivement. Plusieurs études ont rapporté que le risque de cancer du sein augmente pendant les 10 ans après une grossesse avec un risque relatif de 2 à 3 dans les trois

premières années suivant la naissance. Néanmoins, cette augmentation n'est que transitoire et aboutit plus tard à un effet protecteur tardif des grossesses menées à terme. Cet effet s'exprime généralement après l'âge de 40 à 50 ans selon les mêmes études. L'explication biologique proposée pour expliquer cette tendance est que le processus de grossesse s'accompagne d'une différenciation rapide et accélérée du tissu mammaire, et donc une prolifération cellulaire rapide susceptible de favoriser la naissance d'un clone cellulaire transformé (Woo *et al.*, 2003 ; Recoules-Arché et Fourchette, 2012).

1.3.5. Utilisation de contraceptifs oraux

Dans notre série, 101 des patientes ont confirmé la prise de contraceptifs oraux soit environ 70,63% des cas. Alors que 42 patientes affirment n'avoir jamais eu recours à un moyen de contraception soit 29,37% des cas (figure 18).

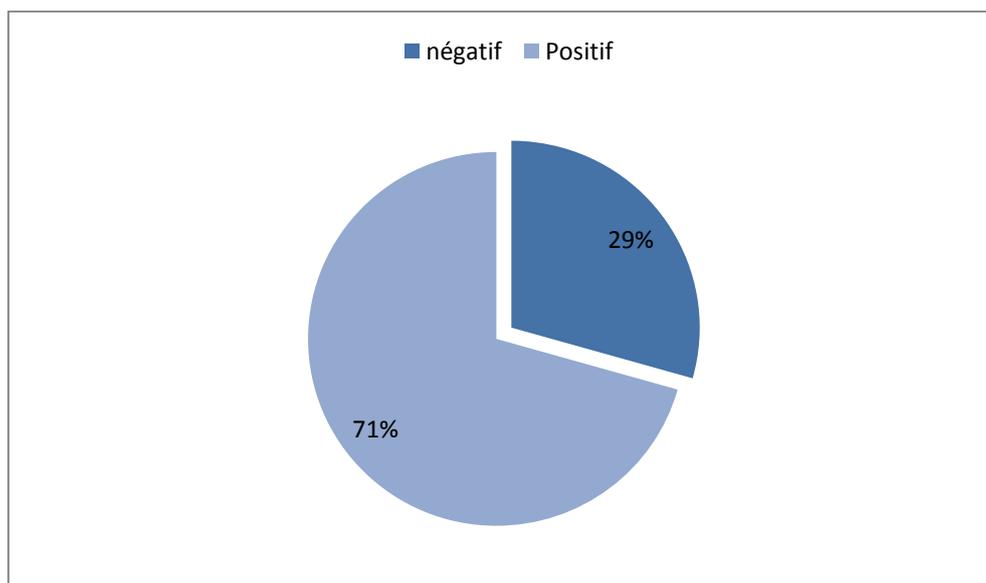


Figure 18 : répartition selon le recours à des contraceptifs oraux.

L'association entre l'utilisation de contraceptifs oraux et le cancer du sein a été largement étudiée et débattue. Une méta-analyse qui a inclus 54 études épidémiologiques en 1996 a suggéré une augmentation significative du risque associé à l'utilisation actuelle ou récente des contraceptifs oraux. L'association avec la prise de contraceptifs oraux n'était plus apparente 10 ans après l'arrêt d'utilisation (CGHF in BCa, 1996). Depuis la publication des résultats de cette étude, d'autres prospections postérieures sur l'utilisation de contraceptifs oraux montrent des résultats inconsistants, allant de l'absence d'effet à une augmentation

plus ou moins modérée du risque de 20 à 30% (Van *et al.*, 2000; Marchbanks *et al.*, 2002 ; Dumeaux *et al.*, 2003 ; Hunter *et al.*, 2010 ; Marchbanks *et al.*, 2012 ; Beaber *et al.*, 2014). Selon plusieurs études, le rôle de la contraception orale dans la survenue du cancer du sein paraît plus important chez la femme jeune que chez la femme âgée où aucune élévation du risque n'a été rapportée (Goetz *et al.*, 2005). Reste à signaler que le risque de survenue du cancer mammaire chez les femmes utilisant la contraception orale est d'autant plus élevé que la femme est porteuse du gène *BRCA1* et *BRCA2* (Mortimer *et al.*, 2007).

1.4. Antécédents personnels et familiaux

1.4.1. Antécédents personnels

Dans notre série, des antécédents personnels ont été observés chez 32%, cependant dans 68% des cas aucun antécédent personnel n'a été détecté. Parmi les antécédents personnels retrouvés dans notre cohorte, des mastopathies fibrokystiques ont été retrouvées chez 1 patiente soit 0,73% ainsi que 4 cas de fibromes utérins soit 2,92% (figure 19).

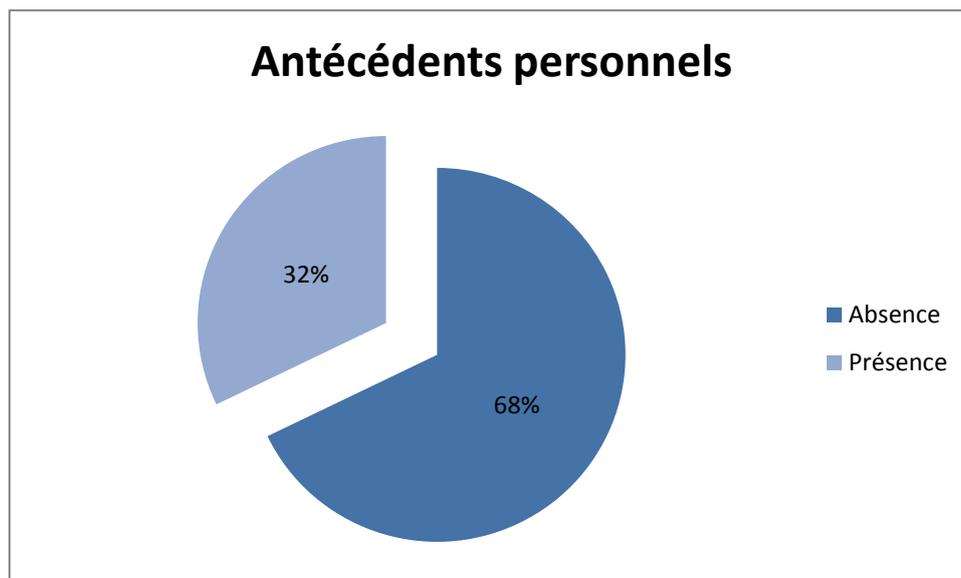


Figure 19 : répartition des patientes selon les antécédents personnels.

Les antécédents personnels de mastopathie bénigne n'augmentent pas dans leur grande majorité le risque de survenue de cancer du sein. Les lésions non prolifératives ne sont généralement pas associées à un risque accru de développer cette pathologie cancéreuse. En revanche, les lésions prolifératives sans atypies multiplient le risque par 2 et les lésions hyperplasiques avec atypies augmentent ce risque d'au moins 4 fois.

1.4.2. Antécédents familiaux

Dans notre série, et après avoir posé la question directement à chacune de nos patientes s'il existait des antécédents familiaux de cancer du sein dans la fratrie, environ 44,10% d'entre elles ont déclaré avoir dans leurs apparentés des femmes souffrant d'une pathologie cancéreuse, dont 37% chez un parent de 1^{er} degré et 25 chez un parent de 2^{ème} degré. Pour 32,10%, 2,30% et 2,80% il s'agit d'un cancer du sein, de l'endomètre et de l'utérus respectivement. Les autres types de cancers tels que le cancer du poumon, du pancréas ainsi que des leucémies représentent 6,9% (figure 20).

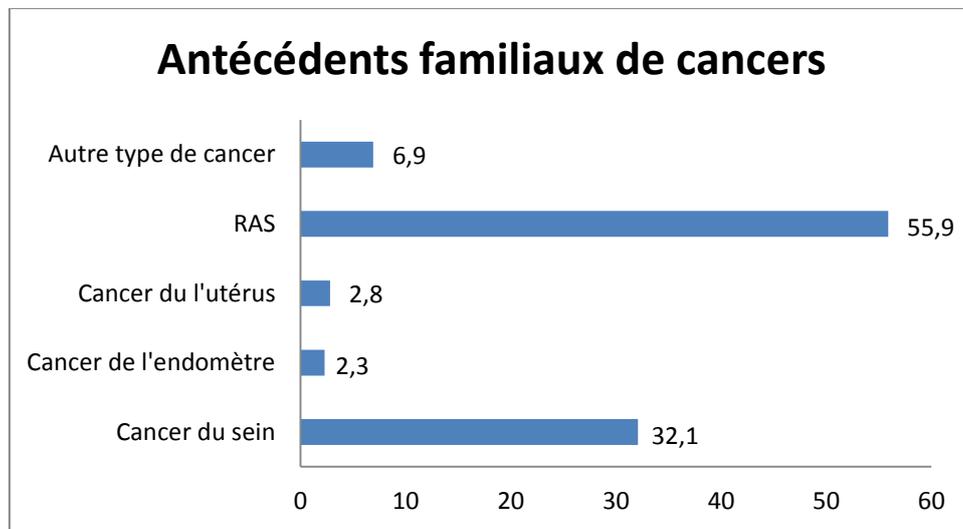


Figure 20 : répartition des patientes selon les antécédents familiaux.

Il est aujourd'hui admis par la communauté scientifique que des facteurs génétiques interviennent dans 5 à 10% des cancers du sein. Ils sont surtout responsables des formes qui surviennent avant 40 ans. Le risque est d'autant plus sérieux si le cancer s'est déclaré chez une parente de premier degré (sœur, mère, fille). Les gènes les plus impliqués sont les gènes *BRCA1* et *BRCA2* (Zoure, 2017).

Les femmes dont la mère ou la sœur est atteinte sont deux fois plus à risque que la population générale (Stratton *et al.*, 2008). Il en ressort que les altérations génétiques responsables de ces cancers du sein ne sont pas entièrement connues (Stratton *et al.*, 2008). Les cancers du sein héréditaires sont souvent caractérisés par un diagnostic précoce et un risque en excès d'apparition des formes bilatérales (Turnbull *et al.*, 2008).

Nos résultats sont en accord avec les données rapportées par une étude réalisée à Oran en 2018 par Nait-Behloul qui a conclu au fait que 38% des patientes avaient des ATCD

familiaux. Ces proportions diffèrent d'une étude à une autre. En effet, Traoré (2008) rapporte l'absence d'ATDs familiaux chez 89,2%, alors que pour Mamouch (2019) ce taux est de 88%. Razali (2018) dans une étude réalisée à Bejaia déclare que ce taux est de 8%.

1.5. Thérapeutique

Traiter un cancer du sein consiste le plus souvent à faire appel à de multiples méthodes complémentaires, afin de garantir une guérison ou permettre le contrôle de la tumeur. Le choix des thérapeutiques dépend du type de cancer, en particulier au niveau moléculaire, de ses caractéristiques, de son degré d'invasion ou de métastases, et de l'état général.

Dans notre série, l'approche chirurgicale la plus utilisée est la chirurgie radicale dans 86,71 des cas, alors que l'approche chimiothérapeutique c'est la chimiothérapie adjuvante avec une fréquence de 79,72% des cas. Dans cette démarche, seulement 18,80% de nos patientes ont bénéficié d'une chimiothérapie néo-adjuvante. Il est à mentionner également que la radiothérapie a été utilisée pour 93,71% des patientes incluses dans notre série (figure 21).

Tableau 08 : répartition selon la thérapeutique utilisée.

Type de thérapie		Cohorte	
Chimiothérapie	Adjuvante	114	79,72%
	Néo-adjuvante	27	18,80%
	Palliative	2	1,38%
Total		143	100%
Chirurgie mammaire	Chirurgie radicale	124	86,71%
	Chirurgie conservatrice	12	8,39%
	Curage axillaire	7	4,90%
Total		143	100%

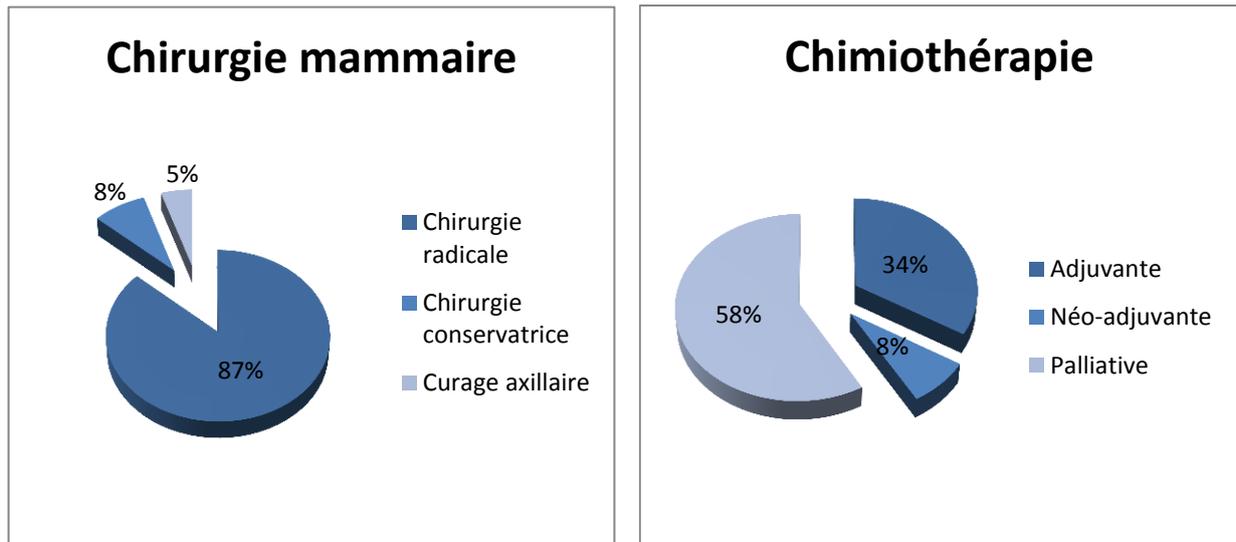


Figure 21 : répartition selon la thérapeutique utilisée.

La consultation des données de la littérature nous a fait prendre conscience des dissemblances importantes entre pays et même entre régions du même pays concernant l'approche thérapeutique utilisée pour traiter un cancer du sein (Samphao *et al.*, 2009 ; Derouache *et al.*, 2016 ; Amrani *et al.*, 2017 ; Zemmouli, 2020).

La chimiothérapie, radiothérapie et hormonothérapie utilisées en routine s'est enrichie par l'introduction des thérapies ciblées basées sur le principe d'orienter le médicament pour cibler les mécanismes biologiques, physio-pathologiques menant au développement des tumeurs et d'ajuster la prise en charge.

Néanmoins, il ne faudra pas égarer le fait qu'il n'y a pas un, mais plusieurs types de cancer du sein, surtout au niveau moléculaire, en conséquence, pour un résultat optimal, il est nécessaire de combiner les thérapies ciblées à la chimiothérapie, la radiothérapie et à l'hormonothérapie (Waks et Winer, 2019).

Aussi, dans notre démarche de l'évaluation des différentes approches thérapeutiques utilisées pour traiter le cancer du sein, nous ne devons pas perdre de vue l'impact parfois considérable des facteurs géographiques et socio-économiques. Les inégalités d'accès aux services de soins, étroitement associées au statut socio-économique et à l'habitat, sont une réalité à prendre en compte (IARC, 2018).

2. Étude de la pharmacocinétique-pharmacogénétique du tamoxifène

Au cours des dernières années, plus de 20 métabolites du tamoxifène ont été identifiés chez l'Homme (Mürdter *et al.*, 2011). Dans notre étude, les concentrations plasmatiques de

tamoxifène et de ses trois métabolites majeurs ont été recueillies : 4-hydroxytamoxifène, *N*-desméthyltamoxifène, endoxifène.

Des analyses plus détaillées ont consisté en l'évaluation de l'impact des différents génotypes du *CYP2D6* sur les concentrations d'endoxifène afin d'améliorer la classification existante des génotypes en phénotypes (Whirl *et al.*, 2021). Enfin, les autres variables pouvant influencer les concentrations d'endoxifène telles que le traitement concomitant par des inhibiteurs de *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* ont été exclus dans cette analyse. La figure 22 présente le schéma de métabolisation du tamoxifène incluant les métabolites dosés dans le plasma des patientes de l'étude. Les molécules encadrées en bleu correspondent aux métabolites actifs.

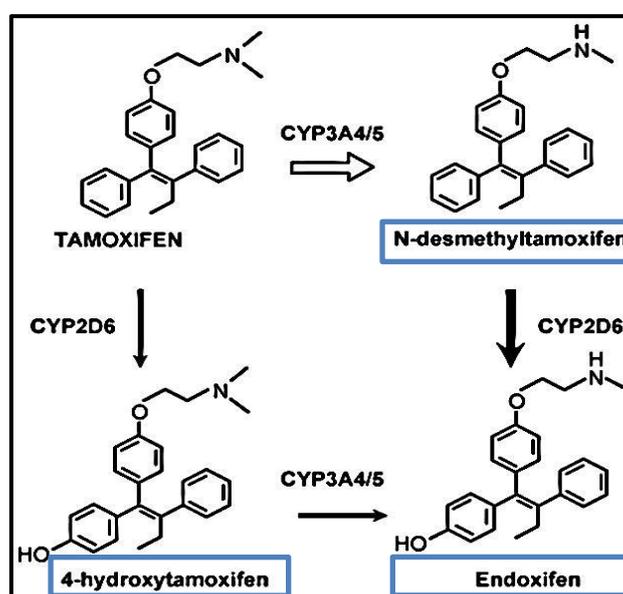


Figure 22 : schéma de métabolisation du tamoxifène et des métabolites analysés dans l'étude.

L'identification et la quantification de l'impact des variables pharmacogénétiques des *CYP450* sur les paramètres pharmacocinétiques a permis de simuler les concentrations d'endoxifène et de déterminer les facteurs de risque de la sous-exposition à l'endoxifène. Cette prospection a été réalisée pour effectuer des simulations d'adaptation de dose chez les patientes à risque de sous-exposition à l'endoxifène basée sur le seuil thérapeutique proposé par Madlensky *et al.*, 2011.

2.1. Concentration de tamoxifène et ses métabolites dans le plasma des patientes

Des études antérieures ont émis l'hypothèse que les variations des concentrations d'endoxifène pourraient être liées aux variations de tamoxifène lui-même (Hwang *et al.*, 2003). Les concentrations plasmatiques de tamoxifène et ses métabolites

évalués chez nos patientes sont indiqués au (tableau 09). La concentration médiane d'endoxifène (34,4 ng/ml) était 6,2 fois supérieure à celle du 4-hydroxytamoxifène (4,6 ng/ml). Cette étude observationnelle prospective a révélé que les concentrations plasmatiques moyennes de l'endoxifène à un état d'équilibre étaient supérieures à celles du 4-hydroxytamoxifène. Ceci explique le rôle important de l'endoxifène dans la suppression des cellules cancéreuses de la glande mammaire.

Tableau 09 : concentrations plasmatiques de tamoxifène et ses métabolites.

Concentration plasmatique (médiane - écart interquartile)	Valeurs	Coefficient de Variation (%)
Tamoxifène	226,98 (108,8 - 273,9)	139,24
N-desméthyltamoxifène	597,44 (282,5 - 658,6)	138,61
4-Hydroxytamoxifène	9,16 (4,6 - 11,3)	151,66
Endoxifène	70,00 (34,4 - 81,9)	145,79

Une variabilité inter-individuelle de la concentration d'endoxifène exprimée par un coefficient de variation 145,79% a été observée. L'analyse de corrélation par le test de Pearson entre le taux plasmatique de tamoxifène et ses métabolites a révélé une forte association positive entre les taux de tamoxifène et de N-desméthyltamoxifène, et entre le tamoxifène et le 4-hydroxytamoxifène ($R = 0,97$) (figure 23). Ainsi, une augmentation de la concentration de tamoxifène a été associée à une augmentation correspondante des concentrations de N-desméthyltamoxifène et de 4-hydroxytamoxifène. Cependant, la corrélation entre le N-desméthyltamoxifène et la formation d'endoxifène était de ($R = 0,93$), de même pour le tamoxifène et l'endoxifène ($R = 0,96$).

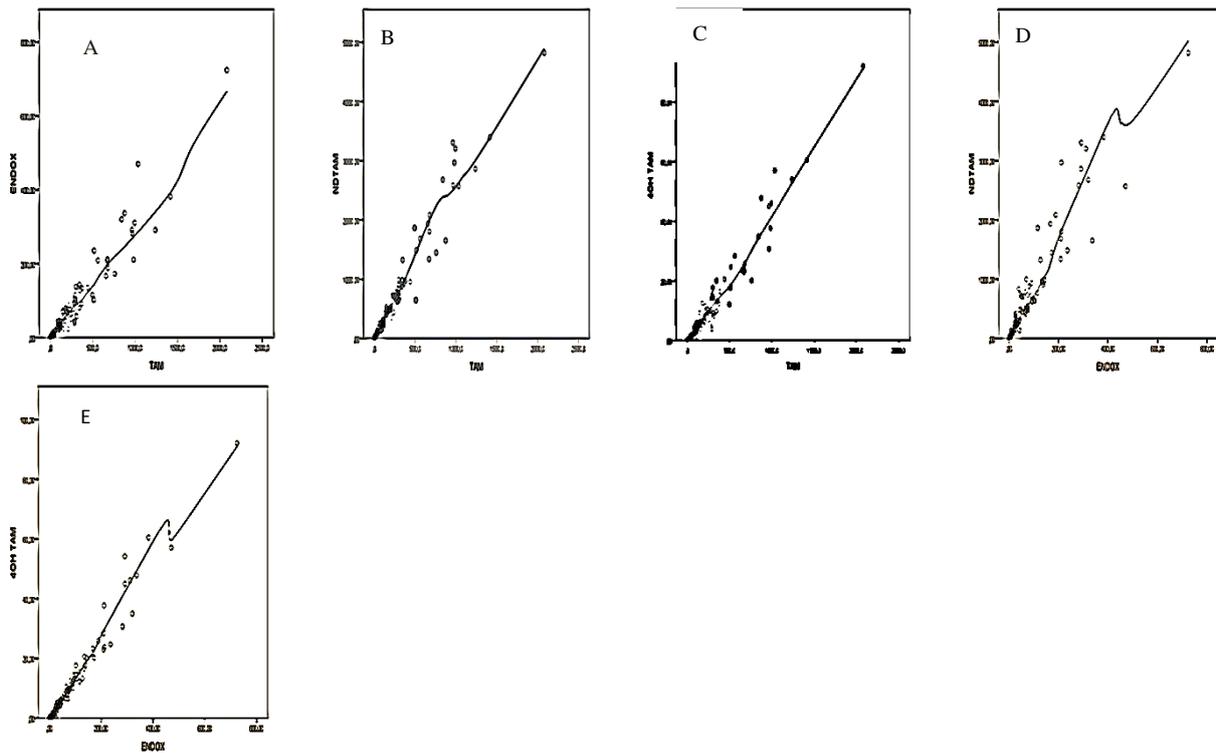


Figure 23 : diagramme de dispersion montrant Pearson corrélation entre endoxifène et tamoxifène (A), N-desméthyltamoxifène et tamoxifène (B) et 4-hydroxytamoxifène et tamoxifène (C), endoxifène et N-desméthyltamoxifène (D) endoxifène et 4-hydroxytamoxifène (E).

Les coefficients de corrélation entre l'endoxifène et le tamoxifène ($R = 0,96$) et entre l'endoxifène et le N-desméthyltamoxifène ($R = 0,93$) indiquent que les taux d'endoxifène doivent être prédits à partir de celui du tamoxifène. Cela pourrait s'expliquer par l'absorption étendue de tamoxifène, ainsi que l'interaction médicament-aliment qui est un facteur potentiel affectant la biodisponibilité de tamoxifène et donc les concentrations plasmatiques d'endoxifène.

La variabilité interindividuelle de l'endoxifène a été modélisée par la régression linéaire. Les résultats de la régression linéaire ont indiqué que le génotype *CYP2D6* expliquait 83% de la variabilité de la concentration d'endoxifène, alors que les diplotypes expliquaient 81% de cette variabilité ($R^2 = 0,81, p = 0,02$). De même, le 4-hydroxytamoxifène avec 80% de variabilité ($R^2 = 0,80, p = 0,00$). Cependant, le *CYP3A5* expliquait 40% de la variabilité de la concentration d'endoxifène ($R^2 = 0,4, P > 0,001$). Le génotype du *CYP2C19* expliquait 20% de la variabilité de la concentration d'endoxifène ($R^2 = 0,2, p > 0,001$).

2.2. Évaluation de l'impact des polymorphismes génétiques du *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* sur les concentrations plasmatiques du tamoxifène et ses métabolites

Ensuite, nous avons examiné l'association entre les gènes candidats et les concentrations plasmatiques de l'endoxifène. La relation entre les principaux groupes des diplotypes du gène *CYP2D6* et les taux plasmatiques d'endoxifène sont présentés dans (figure 23).

Dans notre série, des taux diminués d'endoxifène ont été observés non seulement chez les patientes avec 2 allèles nuls du *CYP2D6* ($C > 5,9$ ng/ml) mais aussi chez les patients avec 2 allèles réduits ou un allèle réduit en combinaison avec un allèle nul, ce qui implique que l'absence d'activité enzymatique est étroitement liée à des niveaux faibles ou potentiellement inférieurs au seuil thérapeutique d'endoxifène proposé. Plus précisément, il était évident que les patientes avec des diplotypes nul/nul ; red/red ou red/nul pourraient avoir un mauvais pronostic et une réponse altérée envers le tamoxifène. Les sujets porteurs de l'allèle *CYP2D6*1* avaient des concentrations plasmatiques d'endoxifène supérieures de 12 fois. Des différences significatives ($p = 0,00$) dans les taux plasmatiques d'endoxifène entre les sujets avec deux allèles fonctionnels (médiane 69,13 ng/ml), et les sujets avec les génotypes : *CYP2D6*1/*red*, *CYP2D6*1/*nul*, *CYP2D6 *red/*red* ou *CYP2D6 *nul/*nul* ; (médiane 29,40 ng/ml), (médiane 4,40 ng/ml) ont été observées. Pour les phénotypes *CYP3A5* et *CYP2C19*, une concentration plasmatique diminuée chez les patientes avec un phénotype PM, mais les résultats n'ont pas atteint de différences significatives.

Parmi les diplotypes NM/NM (AS = 2), NM/IM (AS = 1.5) et NM/IM (AS = 1.25) tous classés en phénotype NM selon CPIC, des différences significatives au niveau des concentrations d'endoxifène ont été constatées. En conséquence, l'activité enzymatique est surestimée chez les patientes avec le diplotype NM/IM ce qui, dans le cas de l'adaptation de dose en fonction du phénotype *CYP2D6*, pourrait s'accompagner d'une dose faible chez ces patientes. Nos travaux ont montré que le classement des patientes NM/IM avec les IM/IM serait plus approprié puisque ces deux diplotypes présentent des concentrations d'endoxifène comparables.

Concernant le *CYP3A5* dans notre étude, les sujets porteurs d'au moins un allèle *CYP3A5*1* présentent des concentrations plasmatiques d'endoxifène plus élevées par rapport à ceux qui n'ont aucun allèle *CYP3A5* fonctionnel (génotype *CYP3A5*3/*3*), mais les statistiques n'ont pas atteint une association significative (tableau 10).

Tableau 10 : association entre les concentrations plasmatiques de l'endoxifène et les différents phénotypes des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5*.

Phénotype CPIC® <i>CYP2D6</i>	Endoxifène (ng/mL) médiane
URM	94,19
NM	69,13
IM	29,40
PM	04,40
Phénotype CPIC® <i>CYP3A5</i>	Endoxifène (ng/mL) médiane
NM	114,31
IM	90,92
PM	70,88
Phénotype CPIC® <i>CYP2C19</i>	Endoxifène (ng/mL) médiane
URM	88,70
RM	60,53
NM	71,77
IM	47,34
PM	45.60

Nos résultats sont en accord avec l'étude de Lim *et al.*, 2011 qui ont trouvé une concentration plasmatique d'endoxifène plus élevée chez les patientes porteuses d'au moins un allèle fonctionnel (82,0 nM : plage de 56,2 à 107,8) comparativement à ceux qui n'ont aucun allèle fonctionnel (58,1 nM : plage de 49,3 à 66,9).

Bien qu'une étude de Tucker *et al.*, 2005 n'a indiqué aucune différence significative des concentrations de tamoxifène, de N-desméthyltamoxifène ou de 4-hydroxytamoxifène chez les patientes porteuses d'au moins un variant de l'allèle *CYP3A5*3*, *CYP3A5*6*. D'autres études ont révélé aucune différence significative entre la *CYP3A5*3* et les concentrations ou le MR (Metabolic Ratio) des différents métabolites (Owen *et al.*, 1998 ; Borges *et al.*, 2006 ; Puszkiel *et al.*, 2019). De même, pour Lim *et al.*, 2007 et Murder *et al.*, 2017 qui n'ont souligné aucune corrélation entre *CYP2C19*3*, *CYP2C19*17* et la concentration plasmatique d'endoxifène, 4-hydroxytamoxifène ou le MR.

3. Étude moléculaire

3.1. Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène *CYP2D6* chez les patientes

Au total, 35 patients (24,40%) avaient 3 copies du gène *CYP2D6* ou plus. Les fréquences des allèles de *CYP2D6**5 (délétion totale du gène) et *1 ou *2 étaient de 0,7 et 30,7% respectivement. L'activité Score (AS) du gène *CYP2D6* sont présentées au (tableau 11). Selon la nomenclature du CIPC, 31,5% et 24,4% des patients sont des (NM) et (URM), respectivement. La prévalence des (PM) et (IM) était faible, représentant respectivement 0,7% et 4,9%.

Notre population présente une hétérogénéité dans la distribution des duplications et des multiplications du gène *CYP2D6*. Il y avait 7 génotypes différents et 2 allèles différents pour l'URM, 3 génotypes et 3 allèles pour l'IM, et 21 génotypes et 4 allèles pour les phénotypes NM. Un seul génotype (*5/*5) a été trouvé pour PM. Dans 43 cas, soit (30,7%) aucun génotype n'a été obtenu. La fréquence des PM dans notre population est de 0,7% avec une fréquence prédominante de l'allèle *CYP2D6**5 ce qui est proche d'une étude menée par Sistonen *et al.*, 2007 et Fuselli *et al.*, 2004 dont la fréquence varie de 0,98% chez les Syriens à 3,3% chez les Algériens. La fréquence de l'allèle fonctionnel *CYP2D6**2 était la plus élevée à 20,97%, ce qui est proche de l'étude d'Alali *et al.*, 2022 dont la fréquence est de 28,3%. Par ailleurs, une prévalence plus importante des phénotypes URM est observée dans la population africaine ce qui est lié à une fréquence plus importante de la duplication du gène.

L'allèle fonctionnel *CYP2D6**2_{xN} étant le plus fréquent dans notre étude avec une fréquence de 42,26% des URM. Conformément à l'étude de M. Ailleurs, la fréquence des duplications chez les Arabes variait entre 7,6% et 31,3%.

Tableau 11 : répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène *CYP2D6*.

Phénotype CPIC® <i>CYP2D6</i>	N	%
URM: Ultra-Rapid Metabolizer	35	24,4%
NM: Normal Metabolizer	45	31,5%
IM: Intermediate Metabolizer	07	4,9%
PM: Poor Metabolizer	01	0,7%
NDM: Undetermined	43	30,7%
Possible Hybride	12	7,7%
	143	100%

Tableau 12 : répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène *CYP2D6*.

Génotype <i>CYP2D6</i>	N	%
<i>CYP2D6*1, CYP2D6*2 > 2 copies</i>	35	33,03%
<i>CYP2D6*1</i>	13	9,09%
<i>CYP2D6*2</i>	30	20,97%
<i>CYP2D6*5</i>	01	0,7%
<i>CYP2D6*10</i>	02	1,39%
<i>CYP2D6*17</i>	03	2,09%
<i>CYP2D6*35</i>	01	0,7%
<i>CYP2D6*39</i>	01	0,7%
<i>CYP2D6*41</i>	02	1,39%
NDM	43	30,7%
Possible hybride	12	7,7%

3.2. Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène *CYP2C19* chez les patients

Concernant le gène *CYP2C19*, les fréquences étaient respectivement de 64.30%, 4.20% pour *CYP2C19*1*, *CYP2C19*2*, et de 0.7% pour le génotype *CYP2C19*17*. Dans 43 cas, soit (30,7%) aucun génotype n'a été obtenu.

Tableau 13 : répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène *CYP2C19*.

Phénotype CPIC® <i>CYP2C19</i>	N	%
URM: Ultra-Rapid Metabolizer	01	0,7%
RM: Rapid Metabolizer	32	22,2%
NM: Normal Metabolizer	46	32.16%
IM: Intermediate Metabolizer	14	9,8%
PM: Poor Metabolizer	07	4,2%
NDM: Undetermined	43	30,7%
	143	100%

Tableau 14 : répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène *CYP2C19*.

Génotype <i>CYP2C19</i>	N	%
<i>CYP2C19*1</i>	92	64,40%
<i>CYP2C19*2</i>	07	4,90%
<i>CYP2C19*17</i>	01	0,7%
NDM	43	30,70%
	143	100%

3.3. Fréquences phénotypiques et génotypiques du gène *CYP3A5* chez les patients

Les fréquences du *CYP3A5* et leurs distributions dans la population, le génotype le plus fréquent était *CYP3A5*3*, suivi par *CYP3A5*1* et *CYP3A5*6*, soit 73 (50,7%), 25 (16,7%) et 2 (1,4%) respectivement. Dans 43 cas, soit (30,7%) aucun génotype n'a été obtenu.

Tableau 15 : répartition des patientes selon les fréquences phénotypiques du gène *CYP3A5*.

Phénotype CPIC® <i>CYP3A5</i>	N	%
PM: Poor Metabolizer	73	50,7%
IM: Intermediate Metabolizer	25	16,7%
NDM: Undetermined	43	30,7%
NM: Normal Metabolizer	02	1,4%
	143	100%

Tableau 16 : répartition des patientes selon les fréquences génotypiques du gène *CYP3A5*.

Génotype <i>CYP3A5</i>	N	%
<i>CYP3A5*1</i>	27	18,8%
<i>CYP3A5*3</i>	72	50,3%
<i>CYP3A5*6</i>	01	0,7%
NDM: Undetermined	43	30,7%
	143	100%

3.4. Caractéristiques clinico-pathologiques en association avec les phénotypes

En général, les enzymes CYP sont nécessaires au développement normal des mammifères (McKinnon *et al.*, 1998). Ils ont une large spécificité de substrat et jouent un rôle important dans la synthèse des hormones endogènes et dans le métabolisme des xénobiotiques (Blackburn *et al.*, 2015). Il a été démontré que les variants fonctionnels du gène *CYP2C19* sont associés au cancer du sein. Le variant *CYP2C19*3* lié à une diminution de l'activité de l'enzyme *CYP2C19* était associé à un risque accru de cancer du sein chez les femmes asiatiques (Gan *et al.*, 2011). À l'inverse, le variant *CYP2C19*17* lié au phénotype « métaboliseur ultra-rapide » était associé avec une diminution du risque de cancer

du sein chez les femmes européennes (Justenhoven *et al.*, 2012).

Tableau 17 : association phénotypes *CYP2D6* - caractéristiques clinico-pathologiques.

Caractéristiques clinico-pathologiques	Phénotypes <i>CYP2D6</i>			
	NM (45)	URM (35)	IM (7)	PM (1)
N (88)				
Taille de la tumeur				
≤ 2 cm	19	04	03	0 (00%)
2 < Taille ≤ 5cm	24	26	03	0 (00%)
> 5 cm	02	05	01	1
<i>p</i> -value	Réf	0,02*	0,02*	0,04*
Grade				
I	05	03	01	0 (00%)
II	24	30 (30,92%)	04	0 (00%)
III	16	02	02	1
<i>p</i> -value	Réf	0,02*	0,02*	0,03*
Récidives				
Pas de récidives	43	31	02	0 (00%)
Local	01	03	04	1
Métastatique	01	01	01	0 (0%)
<i>p</i> -value	Réf	0,00*	0,00*	0,00*

Tableau 18 : association phénotypes *CYP2C19* - caractéristiques clinico-pathologiques.

Caractéristiques clinico-pathologiques	Phénotypes <i>CYP2C19</i>				
	N (100)	NM (46)	URM (2)	RM (32)	IM (13)
Taille de la tumeur					
≤ 2 cm	16	01	12	03	03
2 < Taille ≤ 5cm	24	01	17	09	04
> 5 cm	06	00	03	01	00
<i>p</i> -value	Réf	0,68	0,90	0,25	0,82
Grade					
I	34	00	08	09	02
II	12	00	18	03	03
III	00	02	06	01	02
<i>p</i> -value	Réf	0,15	0,87	0,44	0,35
Récidives					
Pas de récidives	43	00	24	09	05
Local	02	02	05	03	01
Métastatique	01	00	03	01	01
<i>p</i> -value	Réf	0,27	0,22	0,17	0,46

Tableau 19 : association phénotypes *CYP3A5* - caractéristiques clinico-pathologiques.

Caractéristiques clinico-pathologiques	Phénotypes <i>CYP3A5</i>		
	N (100)	NM (6)	IM (22)
Taille de la tumeur			
≤ 2 cm	02	07	22
2 < Taille ≤ 5cm	04	12	40
> 5 cm	00	03	10
<i>p</i> -value	Réf	0,80	0,78
Grade			
I	02	01	01
II	02	16	50
III	02	05	21
<i>p</i> -value	Réf	0,60	0,62
Récidives			
Pas de récidives	04	18	60
Local	02	02	06
Métastatique	00	02	06
<i>p</i> -value	Réf	0,52	0,68

Des différences significatives ont été observées entre les caractéristiques cliniques et les différents groupes de phénotypes *CYP2D6* en termes de grade, taille de la tumeur ($p < 0,05$) et récidives ($p < 0,05$) (tableau 17). Toutefois, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les caractéristiques cliniques et les différents groupes des autres *CYPs* candidats. Nos résultats confortent l'hypothèse qu'une activité métabolique accrue de l'enzyme *CYP2D6* diminue les niveaux d'exposition aux hormones endogènes entraînant une diminution du risque de cancer du sein.

4. Étude de la relation pharmacodynamique-pharmacogénétique du tamoxifène

Ce volet de notre étude vise à déterminer la relation entre les concentrations plasmatiques du tamoxifène et le développement de récidives chez les patientes pré-ménopausées diagnostiquées par un cancer du sein hormono-dépendant. Les données des patientes développant des récidives, après une période de 5 ans de traitement par tamoxifène en adjuvant ont été obtenues rétrospectivement à partir des dossiers médicaux. Le tamoxifène a été envisagé pendant 30 mois en moyenne (12 à 77 mois), avec un suivi médian de 46 mois. Dans notre série de 143 patientes, 8 (5,6%) étaient au stade I, 97 (67,8%) au stade II et 38 (26,60%) au stade III. Environ 35% de la population globale ont développé des récidives.

Parmi les 100 échantillons génotypés, 03 patientes sur 07 étaient red/red, 04 sur 07 étaient reds/nuls et 01 patiente sur 01 était nul/nul, 2 patientes étaient NM/nul, alors que 8 patientes été « *possible hybrid* ». Le groupe de référence été le Phénotype NM. Dans notre cohorte nous avons constaté que les sujets hétérozygotes red/nul et homozygotes nul/nul était plus fortement associé aux récidives en comparaison avec les sujets NM ($p = 0,005$). Les patientes avec des concentrations plasmatiques élevées d'endoxifène étaient significativement plus susceptibles de ne pas tester des récidives ($p < 0,05$), par rapport aux sujets mutés avec des diplotypes nul/nul, red/red et red/nul, qui ont été associés à des récidives régionales, locorégionales ou à distance, indiquant que l'efficacité de tamoxifène est fortement liée à atteindre une concentration d'endoxifène élevée ou supérieure au seuil thérapeutique ($C > 5,9$ ng/ml).

Notre étude démontre que le risque de récurrence locale, locorégionale et à distance du cancer augmente de façon progressive et constante avec le temps et était surtout intimement lié au degré de sévérité du cancer au diagnostic. En effet, dans notre série,

les patientes ayant un grade II et/ou un nombre important de ganglions envahis au moment du diagnostic ont un risque significativement plus élevé. Le risque global de récurrence à long terme allant de 10 à 41% : 10 à 24% pour les tumeurs de grade III, 20 à 41% pour les tumeurs de grade II. En concordance avec des études antérieures (Balkenende *et al.*, 2013 ; Christine *et al.*, 2013), nous avons pu démontrer que les génotypes associés à une activité *CYP2D6* normale ou augmentée contribuent à des résultats favorables lors d'un traitement par le tamoxifène. Cela s'explique par une production accrue de deux métabolites puissants, le 4-hydroxytamoxifène et l'endoxifène. Ainsi, une étude cas-témoin comprenant 46 femmes atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant traitées par le tamoxifène en adjuvant et 136 témoins a révélé que la fréquence du *CYP2D6*4* était plus élevée chez les patientes développant un cancer du sein que chez les témoins 9% vs 1% ($p = 0,015$) (Pungli *et al.*, 2007). Dans une autre étude, Kiyotani *et al.*, 2008 ont constaté que les femmes atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant sous tamoxifène ayant le génotype T/T (homozygote muté) pour le *CYP2D6*10* présentaient un taux de Survie Sans Maladie (DFS) nettement plus faible que celles ayant un génotype C/C (homozygote sauvage) ou C/T (hétérozygote). Cette même observation a été faite par l'étude de Solai *et al.*, 2012.

En plus des facteurs génétiques, d'autres facteurs non génétiques notamment les mécanismes de régulation, y compris les modifications au niveau de la région « *Enhancer* » ou les aberrations des gènes qui codent pour les facteurs de transcription conduisant ainsi à la formation d'un ARNm modifié et par conséquent une protéine tronquée, ont un impact majeur sur l'altération de l'activité enzymatique du *CYP2D6* (Woo *et al.*, 2017).

Il est à noter que la plupart des études qui n'ont dévoilé aucune association avec le *CYP2D6* n'ont pas étudié la relation entre les données cliniques et le *CYP2D6*/endoxifène/résultat en même temps. Néanmoins la majorité des études réalisées analysent les variantes des phénotypes PM ou IM du *CYP2D6* les plus connus, mais pas les allèles rares, elles comprennent généralement un nombre de SNP limité ce qui fournit peu d'information sur le polymorphisme du *CYP2D6*, des CNV et des modifications structurelles rares du gène (Aklillu *et al.*, 1998 ; Woo *et al.*, 2017). Des polymorphismes génétiques ou mutations rares pouvant affecter l'activité enzymatique du *CYP2D6* contribuant ainsi à une modification de la variabilité de l'enzyme et la réponse au traitement.

Ainsi, la dose de tamoxifène n'a pas été la même dans toutes les études, ce qui peut influencer la pharmacocinétique du tamoxifène chez les patientes avec un déficit enzymatique du *CYP2D6*. Cependant, les patientes avec un phénotype PM ou IM n'ont pas toutes été

corrélées avec une faible concentration d'endoxifène ($C < 5,9$ ng/ml) (Zanger *et al.*, 2018 ; CPIC, 2018). Certaines d'entre elles restent encore capables de générer un seuil thérapeutique important d'endoxifène malgré l'absence de l'activité métabolique de l'enzyme qui pourrait être attribuée en particulier à des facteurs environnementaux. En outre, l'impact des facteurs environnementaux n'est pas bien établi (Gaedigk *et al.*, 2015). Une étude récente a montré que le mode de vie et l'état nutritionnel peuvent altérer l'activité enzymatique du *CYP450*, une récente prouvé sur des modèles animaux et qui n'a pas été encore testé chez l'être humain (Gaedigk *et al.*, 2015 ; CPIC, 2018).

D'autres facteurs biologiques et spécifiques peuvent également moduler l'activité de l'enzyme. Des données récentes sur l'effet du microbiome sur le métabolisme du tamoxifène et la réponse au *CYP2D6* ont été mis en évidence, mais ces résultats doivent être confirmés dans des cohortes plus importantes (Puszkiet *et al.*, 2019). D'autre part, le tamoxifène un modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes, agit par inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec les récepteurs des œstrogènes et bloque ainsi les cellules tumorales de leur croissance et leurs réplifications (Lukina *et al.*, 2021). D'ailleurs, des organismes de référence tels que la FDA et la HCSC suggèrent que des variations au niveau des gènes *ESR1*, *ESR2* codant respectivement pour les deux récepteurs ER α et ER β peuvent donc expliquer une partie de la variabilité observée dans la réponse au tamoxifène (Attia *et al.*, 2022), qui est une molécule de référence qui montre son intérêt dans les thérapies hormonales et qui faire preuve à une association d'intérêt à la lignée germinale des variabilités pharmacogénétique (Kim *et al.*, 2011). Ainsi, selon les indications de la FDA et du HCSC, l'analyse des mutations somatiques des gènes *ESR1*, *ESR2* sont catégorisées comme exigées avant l'administration de toutes thérapies endocriniennes. Le génotypage des gènes qui codent pour les récepteurs cibles pour le tamoxifène est donc nécessaire dans n'importe quelle étude qui sert à comprendre les différences significatives dans la réponse au traitement.

Tableau 20 : concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des diplotypes *CYP2D6*.

Diplotype <i>CYP2D6</i>	[C] endoxifène (ng/ml)
URM	94,19
NM/NM	69,13
NM/red	29,40
NM/nul	27,30
red/red	29,40
red/nul	27,20
nul/nul	4,43

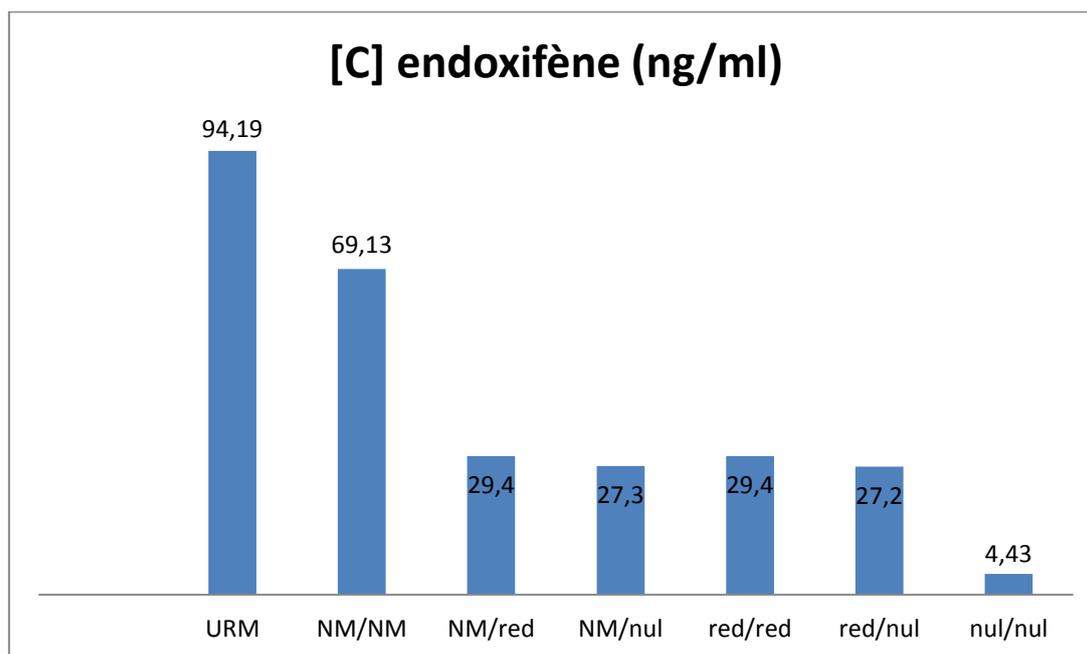


Figure 24 : concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des diplotypes *CYP2D6*.

Concernant le *CYP3A5* et *CYP2C19*, nos résultats ne rapportent aucune différence statistiquement significative entre les différents génotypes des deux gènes candidats et les taux plasmatiques de l'endoxifène ou le développement des récidives.

Plusieurs rapports de la littérature sont en parfaite concordance avec nos constatations. En effet, chez une cohorte de patientes Japonaises atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant et traitées par le tamoxifène en adjuvant, Beleen, 2013 n'a relevé aucune différence significative entre les génotypes du *CYP2C19* et la survie sans récidives (HR = 0,37 vs $p = 0,19$). Néanmoins, les patientes ayant un allèle *CYP2C19*2* présentaient un Intervalle sans récidives améliorée (RFI) par rapport à celles avec un génotype sauvage présentant ainsi un risque diminué.

Dans une autre étude menée sur des patientes européennes qui étaient NM pour le *CYP2C19*, le pronostic était meilleur en comparaison avec les autres phénotypes (Madlensky *et al.*, 2011). Parallèlement, une étude qui a inclus des patients avec un cancer du sein hormono-dépendant sous tamoxifène en adjuvant, a révélé que la survie sans récidives était similaire pour toutes les catégories (Wegman *et al.*, 2005 ; Okishiro *et al.*, 2009). Par ailleurs, Schroth *et al.*, 2013 ont démontré une corrélation importante entre les différents génotypes du *CYP2C19* et la réponse au traitement par le tamoxifène. En fait, leur approche était fondée sur une étude de cohorte non randomisée comprenant 206 patientes atteintes d'un cancer du sein traitées par le tamoxifène et 280 patientes sans tamoxifène et un suivi

de 71 mois. Ils ont constaté que le variant *CYP2C19* *17 qui donne naissance à une activité enzymatique élevée était associée à des résultats cliniques plus favorables (FC= 0,45; IC à 95% 0,21 - 0,92; $p = 0,03$) que ceux des variantes du *CYP2C19**1, *2 et *3.

Tableau 21 : concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes *CYP2C19* et *CYP3A5*.

Allèle <i>CYP2C19</i>	[C] endoxifène (ng/ml)
<i>CYP2C19</i> *1	71.7
<i>CYP2C19</i> *2	45.6
<i>CYP2C19</i> *17	88.7
Allèle <i>CYP3A5</i>	[C] endoxifène (ng/ml)
<i>CYP3A5</i> *1/*1	114.31
<i>CYP3A5</i> **1	90.92
<i>CYP3A5</i> **3	70.88

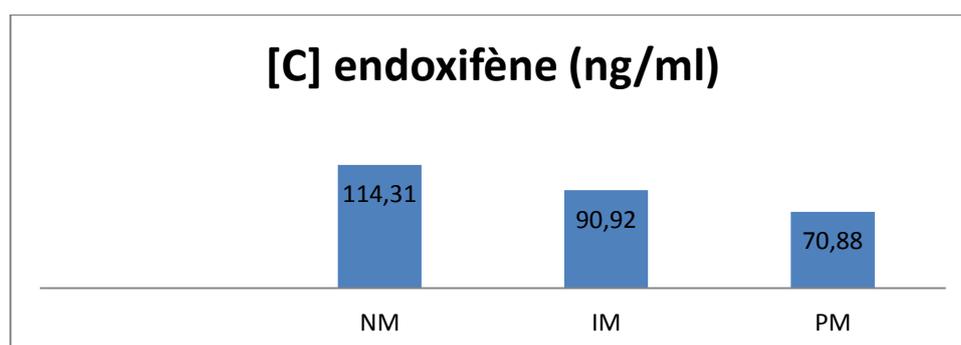


Figure 25 : concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes *CYP3A5*.

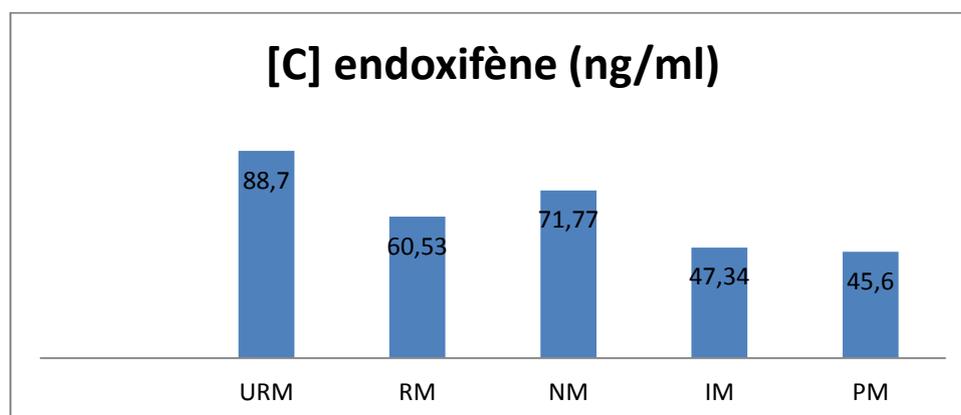


Figure 26 : concentrations plasmatiques de l'endoxifène en fonction des phénotypes *CYP2C19*.

5. Survie :

Afin de mieux apprécier les résultats thérapeutiques et leur relation avec la survie sans récurrences et la survie globale, nous avons essayé de contacter l'ensemble des patientes ayant disparu au cours ou directement après la fin du traitement, 10 d'entre elles restaient injoignables. Ainsi, 65 des patientes étaient en vie, tandis que 37 étaient décédées (Tableau 22). La survie a été calculée selon la méthode de Kaplan-Meier et a permis de déduire que la survie globale à 3 ans était de 74% et la survie sans récurrences à 63%.

Plusieurs études ont montré que la survie globale et la survie sans récurrences sont meilleures chez des patientes présentant une tumeur très différenciée (grade I), en comparaison à des patientes présentant une tumeur moyennement (grade II) ou peu différenciée (grade III), et ce en situation adjuvante comme en néo-adjuvante (Chauleur *et al.*, 2008 ; Bollet *et al.*, 2011 ; Pêtre *et al.*, 2017).

Tableau 22 : Répartition des patientes selon la survie.

Survie des patientes	Effectifs	pourcentage
En vie	65	45,45%
Décédées	37	25,88%
Perdue de vue	41	28,67%
Total	143	100%

5.1. Survie globale (SG) :

Le délai de la survie globale a été calculé entre la date du premier diagnostic et la date du décès ou de la dernière consultation.

Le taux de la SG à 5ans été de 70% (figure 27).

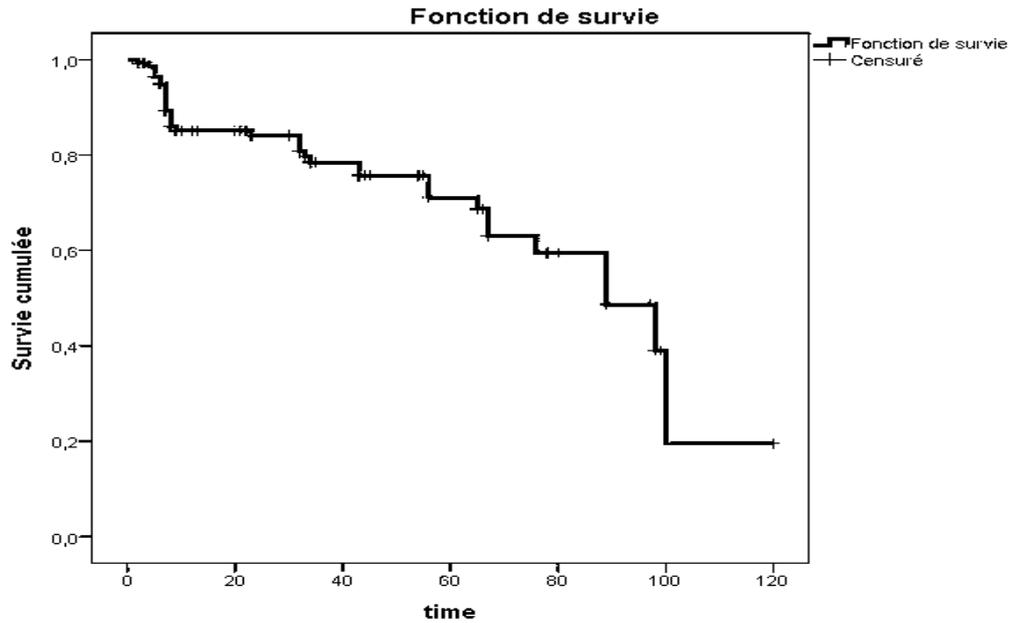


Figure 27 : Courbe de survie globale selon Kaplan-Meier

5.2. Survie sans récurrences (SSR) :

Le délai de survie sans récurrences a été calculé à partir de la date du 1er geste thérapeutique (chirurgie ou chimiothérapie) et jusqu'à la date de la survenue de l'événement (la récurrences) ou la date de la dernière consultation.

Le taux de SSR à 5 ans était de 60 % (Figure 28).

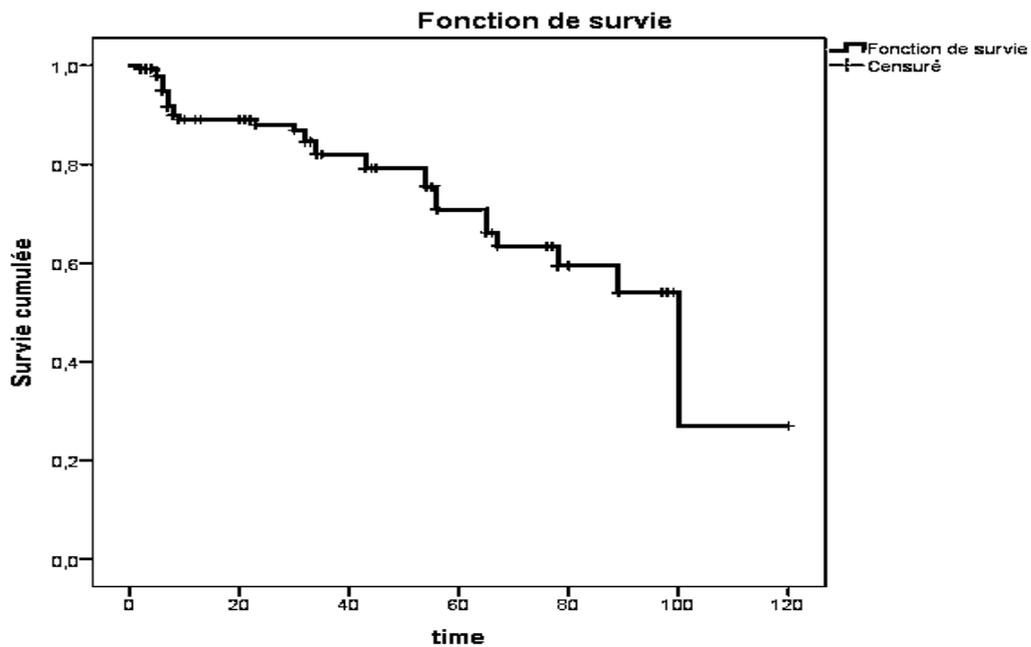


Figure 28 : Courbe de survie sans récurrences selon Kaplan-Meier

Ce taux varie selon les auteurs entre 55% et 80% (Foxcroft *et al.*, 2004 ; Liukkonen *et al.*, 2011 ; Bouzid *et al.*, 2013 ; Guendouz *et al.*, 2011). Néanmoins, l'âge jeune a été retenu par plusieurs auteurs comme facteur pronostique péjoratif indépendant dans le cancer du sein. Dans notre série la survie globale à 5 ans était de 70% et la survie sans récurrences à 63%. Nos résultats sont comparables à ceux observés par (Belhafiane *et al.*, 2015) dont ils ont constaté que la survie globale à 3 ans était de 70% et la survie sans récurrences à 63%.

À l'heure actuelle, chez les patientes qui doivent être traitées par le tamoxifène, il paraît indispensable de reconnaître les métaboliseurs lents *CYP2D6*. En effet, selon les recommandations thérapeutiques du CIPC, et dans le cas d'un métaboliseur lent, cet organisme recommande vivement l'utilisation d'une hormonothérapie alternative (un inhibiteur de l'aromatase par exemple) (Goetz *et al.*, 2018). Dans le cas où ces patientes avec un profil métaboliseur lent aient une contre-indication à l'inhibiteur d'aromatase, il est recommandé d'accroître les doses de tamoxifène à 40 mg par jour. Néanmoins, même avec cette posologie accrue, la concentration en endoxifène n'atteint pas celle des métaboliseurs normaux (Tomas, 2015; Dean *et al.*, 2019).

Malheureusement, les données conflictuelles de la littérature font qu'il n'existe pas actuellement de recommandations de génotypage systématique du *CYP2D6* chez les patientes traitées par le tamoxifène. Les données controversées de la littérature concernant cette thématique découlent essentiellement du fait que le gène *CYP2D6* est particulièrement complexe difficile à génotyper. En effet, ce gène possède de très nombreux variants qui ne sont pas tous testés par les laboratoires, et ce en dépit de l'utilisation de techniques de pointe la proportion des génotypes indéterminés est importante (30,7% dans notre étude). Cette difficulté de détermination peut entraîner une contradiction des résultats du phénotype. Aussi, actuellement, de nombreuses recherches portent également sur d'autres pharmacogènes tels que le *CYP2C19* et le *CYP3A5* tous les deux impliqués dans le métabolisme du tamoxifène (White *et al.*, 2022). Même si leur niveau d'implication dans le métabolisme du tamoxifène paraît assez dérisoire en comparaison avec le *CYP2D6*, cette question mérite d'être précisée davantage. Il est à signaler également que, dans notre étude, les proportions de génotypes non déterminés pour le *CYP2C19* et le *CYP3A5* étaient aussi très élevées (respectivement de 30,7% et 30,8%).

Conclusion
et
Perspectives

L'individualisation thérapeutique représente un enjeu important dans le traitement des cancers en général et du cancer du sein en particulier, et ce afin d'optimiser la prise en charge des patientes en rapport avec l'efficacité, la toxicité, et le coût du traitement. La pharmacogénétique constitue aujourd'hui une approche très prometteuse dans notre espoir de personnalisation du traitement, et ce par l'étude de l'influence des polymorphismes génétiques de l'individu impliqués dans la réponse au médicament. Ces données constitueront une aide précieuse à la prise de décision clinique afin d'optimiser l'efficacité thérapeutique et de réduire le risque d'effet indésirable.

D'ailleurs, la FDA (Food and Drug Administration) a été la première agence d'enregistrement à prendre position dès 2003 en exigeant et mentionnant explicitement dans les Résumés des caractéristiques du produit (RCP) la réalisation de tests pharmacogénétiques avant l'introduction de certains médicaments « à risque » d'entraîner des effets indésirables graves voire mortels chez certains patients. Aujourd'hui, sur la base de données en ligne de la FDA (<https://www.fda.gov/ph/>), et dans la dernière mise à jour, figurent 517 biomarqueurs pharmacogénomiques pour plus de 400 médicaments. Dans un avenir proche, et à la lumière des nombreuses recherches menées actuellement, cette liste risque de s'élargir davantage.

À l'heure actuelle, l'hormonothérapie représente une approche incontournable dans la thérapeutique des cancers du sein hormono-dépendant exprimant les récepteurs aux estrogènes et est mis en place pour une durée de 5 ans. Même si les effets indésirables des molécules utilisées dans cette démarche tels que le tamoxifène sont moins sévères que ceux de la chimiothérapie classique, ils peuvent être incommodes pour les patientes et entraîner une mauvaise observance, qui se révélera néfaste en termes de survie globale. En ce qui concerne le tamoxifène, une grande variabilité de l'efficacité et de la toxicité de cette molécule est observée et pourrait être liée à des différences de concentration plasmatique. En effet, le tamoxifène requiert une bio-activation par des cytochromes P450 en 4-hydroxytamoxifène et en endoxifène, beaucoup plus actifs que le tamoxifène lui-même en raison de leurs affinités amplement supérieures pour le récepteur des estrogènes. Cette grande hétérogénéité est essentiellement due à des différences de l'activité enzymatique des CYP450 qui découlent de polymorphismes génétiques, principalement dans le gène *CYP2D6* et à moindre degré ceux des gènes *CYP3A5* et *CYP2C19*. En dépit des recommandations de la FDA, dans la littérature, les études de pharmacogénétique réalisées sur le tamoxifène dans la thérapeutique du cancer du sein hormono-dépendant retrouvent des résultats souvent hétérogènes et discordants.

Dans ce travail de recherche, nous avons voulu apporter une modeste contribution aux interrogations liées aux influences des polymorphismes génétiques des CYP450 impliqués dans le métabolisme du tamoxifène sur la réponse et la tolérance à l'hormonothérapie en adjuvant chez des patientes pré-ménopausées atteintes d'un cancer sein hormono-dépendant. Nous avons essayé d'évaluer sur notre cohorte l'effet des polymorphismes des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* sur la pharmacocinétique-pharmacodynamique du tamoxifène. La confrontation des données pharmacocinétiques, pharmacogénétiques et pharmacodynamiques obtenues ont mis en évidence une variation importante, statistiquement significative, des concentrations plasmatiques du tamoxifène et de ses principaux métabolites en corrélation avec les différents variants du *CYP2D6*, et à un moindre degré avec ceux du *CYP3A5* et du *CYP2C19* chez les sujets homozygotes mutés en allèles réduits (red/red), allèles inactifs (nul/nul) ou les sujets hétérozygotes mutés (red/nul). Nos résultats ont mis également en exergue l'influence de ces facteurs génétiques sur des paramètres clinico-pathologiques tels que la taille et grade tumoral, ainsi que sur la pharmacocinétique du tamoxifène. Nos résultats du volet pharmacodynamique de cette étude ont mis également en évidence que nos patientes avec les phénotypes PM et IM pour le gène *CYP2D6* sont plus à risque de développer des rechutes pendant ou post-traitement par le tamoxifène en adjuvant.

Nos travaux de thèse, les premiers réalisés sur cette thématique en Algérie, apportent des éléments de preuve sur l'influence des facteurs génétiques sur la pharmacocinétique-pharmacodynamique du tamoxifène dans le traitement en adjuvant du cancer du sein hormono-dépendant. Néanmoins, nos résultats statistiquement significatifs présentent quelques limites. Premièrement, la taille relativement faible de notre population étudiée, et de ce fait la puissance statistique insuffisante pour mettre en évidence des effets modestes des variants génétiques étudiés, pourrait introduire un biais statistique certain et expliquer, en partie, la discordance des résultats avec d'autres sur cette thématique. Aussi, avec une taille limitée de l'échantillon, en particulier dans les groupes phénotypiques subdivisés (NM, PM, IM, RM et URM), nos résultats ne permettent de tirer que des conclusions préliminaires sur l'impact des trois polymorphismes prospectés sur les aspects pharmacocinétiques-pharmacodynamique du tamoxifène. Une autre limite à cette étude est que des allèles rares du *CYP2D6* n'ont pas été génotypés. Inclure les données relatives à ces génotypes dans notre interprétation du profil pharmacogénétique-pharmacocinétique, pharmacogénétique-pharmacodynamique du tamoxifène pourra apporter une meilleure compréhension de ces mécanismes est recommandé.

D'autre part, il ne faut pas perdre de vue que des variations interindividuelles au niveau des gènes *ESR1* et *ESR2* codant respectivement pour les deux récepteurs aux œstrogènes ($ER\alpha$ et $ER\beta$) peuvent expliquer une partie de la variabilité observée dans la réponse au tamoxifène. Malheureusement, à l'instar de nombreuses études menées sur la même thématique que la nôtre, l'effet de ces variations n'a pas été prospecté. Une approche génétique globale intégrant tous les variants géniques répertoriés comme ayant un effet sur la pharmacocinétique-pharmacodynamique du tamoxifène paraît nécessaire. Même si certains de ces variants génétiques pris individuellement seraient capables d'induire des variations relativement mineurs, l'effet combiné de plusieurs polymorphismes serait non négligeable. D'un autre côté, les aspects pharmacocinétique-pharmacodynamique du tamoxifène peuvent être par la prise de certains médicaments. Dans ce sens, et dans notre questionnaire, nous avons dressé une liste de substances médicamenteuses et demandé directement aux patientes si elles en ont pris durant la période du traitement par le tamoxifène. Bien qu'il s'agît d'une approche imparfaite dont les réponses sont sujet à un biais de questionnement certain, c'était le seul moyen pratique à notre disposition pour obtenir cette information.

À lumière de ce travail de recherche, nous voyons les perspectives suivantes :

- Conduire des études prospectives basées sur un grand nombre de patientes afin de conclure sur l'utilité clinique de l'adaptation de dose dans l'optimisation du traitement par tamoxifène. À ce jour, l'optimisation de thérapie par tamoxifène reste une problématique d'actualité pour des milliers de patientes qui sont et seront encore traitées par tamoxifène avant que l'endoxifène ne se démontre supérieur et le remplace dans la prise en charge du cancer du sein ER+ en situation adjuvante.
- Mener des recherches supplémentaires qui sont nécessaires pour obtenir un profil pharmacogénétique plus complet, avec un plus grand nombre de gènes tels que les gènes qui codent pour la phase II de métabolisation du tamoxifène ou des gènes rares.
- Diriger des études pharmacogénétiques/pharmacodynamiques longitudinales incluant les effets indésirables et les données pharmacocinétiques du tamoxifène. Ainsi, une évaluation de la non-adhérence au tamoxifène basée sur les concentrations plasmatiques d'endoxifène à l'état d'équilibre sera envisagée.
- Adopter dans cette thématique de recherche une approche à différents volets comprenant des perspectives génétiques, et épigénétiques aidera à générer une image plus complète des processus clinico-pathologiques et pharmacogénétiques impliqués dans la modulation de la biodisponibilité de l'endoxifène conduira donc à mieux comprendre les processus de variations interindividuelles peuvent être combiné pour améliorer significativement le diagnostic.
- Il est impérativement important de penser à des collaborations entre les différents services d'oncologie dans le cadre d'une étude multicentrique pour pouvoir augmenter la taille de la population d'étude, nous permettant ainsi de tirer des conclusions plus pertinentes concernant la population algérienne.

Références bibliographiques

1. Abbass, F., Bennis, S., Znati, K., Akasbi, Y., Amrani, J. K., El Mesbahi, O., & Amarti, M. (2011). Epidemiological And Biologic Profile Of Breast Cancer In Fez-Boulemane, Morocco. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 17 (12), 930-936, 2011.
2. Advani, P., Advani, S., Nayak, P., Vonville, H. M., Diamond, P., Burnett, J., ...& Vernon, S. W. (2021). Racial/Ethnic Disparities In Use Of Surveillance Mammogram Among Breast Cancer Survivors: A Systematic Review. *Journal Of Cancer Survivorship*, 1-17.
3. Ahmed, S. B., Aloulou, S., Bibi, M., Landolsi, A., Nouria, M., Fatma, L. B., ... & Kraïem, C. (2002). Breast Cancer Prognosis In Tunisian Women: Analysis Of A Hospital Series Of 729 Patients. *Sante Publique*, 14(3), 231-241.
4. Ahmed, S. B., Aloulou, S., Bibi, M., Landolsi, A., Nouria, M., Fatma, L. B., ... & Kraïem, C. (2002). Pronostic Du Cancer Du Sein Chez Les Femmes Tunisiennes: Analyse D'une Série Hospitalière De 729 Patientes. *Santé Publique*, 14(3), 231-241.
5. Aklillu, E., Herrlin, K., Gustafsson, L. L., Bertilsson, L., & Ingelman-Sundberg, M. (2002). Evidence For Environmental Influence On CYP2D6-Catalysed Debrisoquine Hydroxylation As Demonstrated By Phenotyping And Genotyping Of Ethiopians Living In Ethiopia Or In Sweden. *Pharmacogenetics And Genomics*, 12(5), 375-383.
6. Alali, M., Ismail Al-Khalil, W., Rijjal, S., Al-Salhi, L., Saifo, M., & Youssef, L. A. (2022). Frequencies Of CYP2D6 Genetic Polymorphisms In Arab Populations. *Human Genomics*, 16(1), 1-12.
7. Allioua, M., Djaziri, R., Mahdad, M. Y., Gaouar, S. B. S., Derradji, H., Boudjemaa, B. M., & Belbraouet, S. (2015). Dietary Fat Intake, Micronutrient And Obesity Among Adolescent In Tlemcen (Western Algeria). *Food And Nutrition Sciences*, 6(10), 860.
8. Al-Tam, R. M., Al-Hejri, A. M., Narangale, S. M., Samee, N. A., Mahmoud, N. F., Al-Masni, M. A., & Al-Antari, M. A. (2022). A Hybrid Workflow Of Residual Convolutional Transformer Encoder For Breast Cancer Classification Using Digital X-Ray Mammograms. *Biomedicines*, 10(11), 2971.
9. Al-Thoubaity, F. K. (2020). Molecular Classification Of Breast Cancer: A Retrospective Cohort Study. *Annals Of Medicine And Surgery*, 49, 44-48.
10. Amstutz, U., Henricks, L. M., Offer, S. M., Barbarino, J., Schellens, J. H., Swen, J. J., ... & Schwab, M. (2018). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline For Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype And Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 103(2), 210-216.
11. Antoniou, A., Pharoah, P. D., Narod, S., Risch, H. A., Eyfjord, J. E., Hopper, J. L., ...& Easton, D. (2003). Average Risks Of Breast And Ovarian Cancer Associated With BRCA1 Or BRCA2 Mutations Detected In Case Series Unselected For Family History: A Combined Analysis Of 22 Studies. *The American Journal Of Human Genetics*, 72(5), 1117-1130.
12. Asberger, J., Erbes, T., Jaeger, M., Rücker, G., Nöthling, C., Ritter, A., ...& Hirschfeld, M. (2020). Endoxifen And Fulvestrant Regulate Estrogen-Receptor A And Related Deadbox Proteins. *Endocrine Connections*, 9(12), 1156-1167.

13. Attia, Y. M., Salama, S. A., Shouman, S. A., Ivan, C., Elsayed, A. M., Amero, P., ... & Lopez-Berestein, G. (2022). Targeting CDK7 Reverses Tamoxifen Resistance Through Regulating Stemness In ER+ Breast Cancer. *Pharmacological Reports*, 74(2), 366-378.
14. Aubert, J., Begriche, K., Knockaert, L., Robin, M. A., & Fromenty, B. (2011). Increased Expression Of Cytochrome P450 2E1 In Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Mechanisms And Pathophysiological Role. *Clinics And Research In Hepatology And Gastroenterology*, 35(10), 630-637.
15. Bachmann, M. P., Bartsch, T., Bippes, C. C., Bachmann, D., Puentes-Cala, E., Bachmann, J., ...& Feldmann, A. (2021). T Cell Mediated Conversion Of A Non-Anti-La Reactive B Cell To An Autoreactive Anti-La B Cell By Somatic Hypermutation. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(3), 1198.
16. Bagot, J. L. (2020). Comment Prescrire Thuya Occidentalis En Cancérologie? Analyse De La Littérature, Etude Des Pratiques Et Expérience Personnelle. *La Revue d'Homéopathie*, 11(3), 125-132.
17. Balian, R., Bach, J. F., & Baccelli, F. (2020). CHAPITRE 2. Le Traitement Substitutif De La Ménopause–La Contraception. In *Hormones, Santé Publique Et Environnement* P. 67-126.
18. Balkenende, E. M. E., Dahhan, T., Linn, S. C., Jager, N. G. L., Beijnen, J. H., & Goddijn, M. (2013). A Prospective Case Series Of Women With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: Levels Of Tamoxifen Metabolites In Controlled Ovarian Stimulation With High-Dose Tamoxifen. *Human Reproduction*, 28(4), 953- 959.
19. Barreau, B., Ettore, F., Giard, S., Hannoun-Levi, J. M., Kerrou, K., & Tredan, O. (2012). Prise En Charge De La Récidive Homolatérale D'un Cancer Du Sein Après Traitement Conservateur Initial. In *Cancer Du Sein* P. 135-164.
20. Bauer, K. R., Brown, M., Cress, R. D., Parise, C. A., & Caggiano, V. (2007). Descriptive Analysis Of Estrogen Receptor (ER)-Negative, Progesterone Receptor (PR)-Negative, And HER2-Negative Invasive Breast Cancer, The So-Called Triple-Negative Phenotype: A Population-Based Study From The California Cancer Registry. *Cancer*, 109(9), 1721-1728.
21. Baxter, S. D., Teft, W. A., Choi, Y. H., Winqvist, E., & Kim, R. B. (2014). Tamoxifen-Associated Hot Flash Severity Is Inversely Correlated With Endoxifen Concentration And CYP3A4* 22. *Breast Cancer Research And Treatment*, 145(2), 419-428.
22. Baxter, S. D., Teft, W. A., Choi, Y. H., Winqvist, E., & Kim, R. B. (2014). Tamoxifen-Associated Hot Flash Severity Is Inversely Correlated With Endoxifen Concentration And CYP3A4* 22. *Breast Cancer Research And Treatment*, 145, 419-428.
23. Beelen, K., Opdam, M., Severson, T. M., Koornstra, R. H. T., Vincent, A. D., Hauptmann, M., ...& Linn, S. C. (2013). CYP2C19* 2 Predicts Substantial Tamoxifen Benefit In Postmenopausal Breast Cancer Patients Randomized Between Adjuvant Tamoxifen And No Systemic Treatment. *Breast Cancer Research And Treatment*, 139(3), 649-655.
24. Belhaj, S. (2021). TESTS GENOMIQUES DANS LE CANCER DU SEIN: ENJEUX ET PERSPECTIVES D'AVENIR (Doctoral Dissertation).

25. Belkacémi, Y., Boussen, H., Hamdi-Cherif, M., Benider, A., Errihani, H., Mrabti, H., ... & Gligorov, J. (2010, November). Épidémiologie Des Cancers Du Sein De La Femme Jeune En Afrique Du Nord. In 32^e Journées De La Société Française De Sénologie Et De Pathologie Mammaire (SFSPM), Strasbourg, 2010. La Femme Jeune Face Au Cancer Du Sein P. 56-68.
26. Benmahdi, L., Dahim, F. A., Fadlallah, T. M., Lachibi, S., Bekki, N., & Benhadj, A. (2021). Article Original Qu'en Est-Il De La Prévalence Du Cancer Et De Sa Prise En Charge A L'Hôpital Militaire Régional Universitaire d'Oran En 2020
27. Benhamou, S., Demenais, F., Dupret, J. M., Haguenoer, J. M., Leszkowicz, A., & Stucker, I. (2001). Susceptibilités Génétiques Et Expositions Professionnelles (Doctoral Dissertation, Institut National De La Santé Et De La Recherche Médicale (INSERM)).
28. Berghmans, T., Grigoriu, B., Giroux-Leprieur, E., & Revel, M. P. (2019). La Classification TNM En Pratique. *Revue Des Maladies Respiratoires Actualités*, 11(3), 218-225.
29. Berzenji, L., Van Schil, P. E., Snoeckx, A., Hertoghs, M., & Carp, L. (2018). Mesothelioma With A Large Prevascular Lymph Node: N1 Involvement Or Something Different?. *The Annals Of Thoracic Surgery*, 105(5), E189-E191.
30. Beuzeboc, P., Scholl, S., & Gligorov, J. (2008). Anticorps Anti-HER2. In *Les Thérapies Ciblées* P. 11-33.
31. Bicar A. 2018. Le Cancer Du Sein Chez La Jeune Femme Et Sa Prise En Charge. Thèse De Doctorat : Université De Limonge, France.
32. Bish, A., Ramirez, A., Burgess, C., & Hunter, M. (2005). Understanding Why Women Delay In Seeking Help For Breast Cancer Symptoms. *Journal Of Psychosomatic Research*, 58(4), 321-326.
33. Blackburn, H. L., Ellsworth, D. L., Shriver, C. D., & Ellsworth, R. E. (2015). Role Of Cytochrome P450 Genes In Breast Cancer Etiology And Treatment: Effects On Estrogen Biosynthesis, Metabolism, And Response To Endocrine Therapy. *Cancer Causes & Control*, 26(3), 319-332.
34. Borges, S., Desta, Z., Li, L., Skaar, T. C., Ward, B. A., Nguyen, A., ...& Flockhart, D. A. (2006). Quantitative Effect Of CYP2D6 Genotype And Inhibitors On Tamoxifen Metabolism: Implication For Optimization Of Breast Cancer Treatment. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 80(1), 61-74.
35. Botteri, E., Bagnardi, V., Rotmensz, N., Gentilini, O., Disalvatore, D., Bazolli, B., ... & Veronesi, U. (2010). Analysis Of Local And Regional Recurrences In Breast Cancer After Conservative Surgery. *Annals Of Oncology*, 21(4), 723-728.
36. Bouzid, N., Lahmar, R., Tebra, S., & Bouaouina, N. (2013). Cancer Du Sein Chez La Femme Jeune De Moins De 35 Ans En Tunisie: Etude Rétrospective A Propos De 124 Cas. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 41(6), 356-360.
37. Braal, C. L., Jager, A., Hoop, E. O. D., Westenberg, J. D., Lommen, K. M., De Bruijn, P., ... & Koolen, S. L. (2022). Therapeutic Drug Monitoring Of Endoxifen For Tamoxifen Precision Dosing: Feasible In Patients With Hormone-Sensitive Breast Cancer. *Clinical Pharmacokinetics*, 61(4), 527-537.
38. Braman, N., Prasanna, P., Whitney, J., Singh, S., Beig, N., Etesami, M.,& Madabhushi, A. (2019). Association Of Peritumoral Radiomics With Tumor Biology And Pathologic Response To Preoperative

- Targeted Therapy For HER2 (ERBB2)-Positive Breast Cancer. *JAMA Network Open*, 2(4), E192561-E192561.
39. Brauch, H., Murdter, T. E., Eichelbaum, M., & Schwab, M. (2009). Pharmacogenomics Of Tamoxifen Therapy. *Clinical Chemistry*, 55(10), 1770-1782.
 40. Britt, K. L., Cuzick, J., & Phillips, K. A. (2020). Key Steps For Effective Breast Cancer Prevention. *Nature Reviews Cancer*, 20(8), 417-436.
 41. Brouwer, J. M., Nijenhuis, M., Soree, B., Guchelaar, H. J., Swen, J. J., Van Schaik, R. H., ... & Mulder, H. (2022). Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) Guideline For The Gene-Drug Interaction Between CYP2C19 And CYP2D6 And SsrIs. *European Journal Of Human Genetics*, 30(10), 1114-1120.
 42. Browser, U. G. (2015). <https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>. Figure Legend Figure, 1.
 43. Bruant-Rodier, C., Dissaux, C., Baratte, A., Fiquet, C. F., & Bodin, F. (2016, October). Le Sein De L'adolescente. In *Annales De Chirurgie Plastique Esthétique* (Vol. 61, No. 5, Pp. 629-639).
 44. Burgess, C. C., Ramirez, A. J., Richards, M. A., & Love, S. B. (1998). Who And What Influences Delayed Presentation In Breast Cancer?. *British Journal Of Cancer*, 77(8), 1343-1348.
 45. Busse, B., & Klein, H. G. (2008). Pharmacogenetics In Laboratory Diagnostics. *Current Pharmacogenomics And Personalized Medicine (Formerly Current Pharmacogenomics)*, 6(1), 12-22.
 46. Cao, P., Zhang, F., Zhang, J., Zheng, X., Sun, Z., Yu, B., & Wang, W. (2022, April). CYP3A5 Genetic Polymorphism In Chinese Population With Renal Transplantation: A Meta-Analysis Review. In *Transplantation Proceedings*.
 47. Carey, L. A., Perou, C. M., Livasy, C. A., Dressler, L. G., Cowan, D., Conway, K., ...& Millikan, R. C. (2006). Race, Breast Cancer Subtypes, And Survival In The Carolina Breast Cancer Study. *Jama*, 295(21), 2492- 2502.
 48. Casasent, A. K., Almekinders, M. M., Mulder, C., Bhattacharjee, P., Collyar, D., Thompson, A. M., ...& Wesseling, J. (2022). Learning To Distinguish Progressive And Non-Progressive Ductal Carcinoma In Situ. *Nature Reviews Cancer*, 1-16.
 49. Castro, E., Goh, C., Olmos, D., Saunders, E., Leongamornlert, D., Tymrakiewicz, M., ...& Eeles, R. (2013). Germline BRCA Mutations Are Associated With Higher Risk Of Nodal Involvement, Distant Metastasis, And Poor Survival Outcomes In Prostate Cancer. *Journal Of Clinical Oncology*, 31(14), 1748.
 50. Caudle, K. E., Dunnenberger, H. M., Freimuth, R. R., Peterson, J. F., Burlison, J. D., Whirl-Carrillo, M., ... & Hoffman, J. M. (2017). Standardizing Terms For Clinical Pharmacogenetic Test Results: Consensus Terms From The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genetics In Medicine*, 19(2), 215-223.
 51. Kingu, M., Rahma, T., Nlandu, M., Bebele, K., Kiyabwe, S., & Ukundji, O. (2019). Profil Epidémiologique Et Moléculaire Du Cancer Du Sein Dans Les Hôpitaux De La Ville Kinshasa-RD Congo. *Kisangani Medical*, 9(1), 326-332.
 52. Chaji, S., Al-Saleh, J., & Gomillion, C. T. (2020). Bioprinted Three-Dimensional Cell-Laden Hydrogels To Evaluate Adipocyte-Breast Cancer Cell Interactions. *Gels*, 6(1), 10.

53. Chang-Claude, J., Eby, N., Kiechle, M., Bastert, G., & Becher, H. (2000). Breastfeeding And Breast Cancer Risk By Age 50 Among Women In Germany. *Cancer Causes & Control*, 11(8), 687-695.
54. Chaleur, C., Vulliez, L., Trombert, B., Raoux, D., Khaddage, A., & Seffert, P. (2008). Facteurs De Risque De Récidive Des Cancers Du Sein Traités Par Chirurgie Conservatrice: A Propos De 254 Cas. *Journal De Gynécologie Obstétrique Et Biologie De La Reproduction*, 37(2), 170-178.
55. Christine Bobin-Dubigeon ., Campone, M., Rossignol, E., Salaun, E., Amiand, M. B., & Bard, J. M. (2019). New UPLC–MS/MS Assay For The Determination Of Tamoxifen And Its Metabolites In Human Plasma, Application To Patients. *Future Science OA*, 5(5).
56. Clavel-Chapelon, F., & Gerber, M. (2002). Reproductive Factors And Breast Cancer Risk. Do They Differ According To Age At Diagnosis?. *Breast Cancer Research And Treatment*, 72(2), 107-115.
57. Cohen, M., & Numa, M. (2011). Posttraumatic Growth In Breast Cancer Survivors: A Comparison Of Volunteers And Non-Volunteers. *Psycho-Oncology*, 20(1), 69-76.
58. Collaborative Group On Hormonal Factors In Breast Cancer. (2019). Type And Timing Of Menopausal Hormone Therapy And Breast Cancer Risk: Individual Participant Meta-Analysis Of The Worldwide Epidemiological Evidence. *The Lancet*, 394(10204), 1159-1168.
59. Cordina-Duverger, E., Koudou, Y., Truong, T., Arveux, P., Kerbrat, P., Menegaux, F., & Guénel, P. (2016). Night Work And Breast Cancer Risk Defined By Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER2) And Hormone Receptor Status: A Population-Based Case–Control Study In France. *Chronobiology International*, 33(6), 783-787.
60. Cortet, M. (2021). Sous-Types Moléculaires De Cancers Du Sein: Quels Enjeux Pour Faire Evoluer Le Dépistage En France. *Imagerie De La Femme*, 31(1), 6-12.
61. Cos, S., González, A., Martínez-Campa, C., Mediavilla, M. D., Alonso-González, C., & Sánchez- Barceló, E. J. (2006). Estrogen-Signaling Pathway: A Link Between Breast Cancer And Melatonin Oncostatic Actions. *Cancer Detection And Prevention*, 30(2), 118-128.
62. Cronin-Fenton, D. P., Damkier, P., & Lash, T. L. (2014). Metabolism And Transport Of Tamoxifen In Relation To Its Effectiveness: New Perspectives On An Ongoing Controversy. *Future Oncology*, 10(1), 107-122.
63. Cunningham, F., Amode, M. R., Barrell, D., Beal, K., Billis, K., Brent, S., ... & Flicek, P. (2015). Ensembl 2015. *Nucleic Acids Research*, 43(D1), D662-D669.
64. Cutuli, B. (2019). Les Carcinomes Canalaires In Situ En 2019: Diagnostic, Traitement, Pronostic. *La Presse Médicale*, 48(10), 1112-1122.
65. Cutuli, B., Lemanski, C., De Lafontan, B., Chauvet, M. P., De Lara, C. T., Mege, A., ... & Kirova, Y. (2020). Ductal Carcinoma In Situ: A French National Survey. Analysis Of 2125 Patients. *Clinical Breast Cancer*, 20(2), E164-E172.
66. Dam, V Den Eynden, G. G., Van Laere, S. J., Van Der Auwera, I., Merajver, S. D., Van Marck, E. A., Van Dam, P., ... & Van Golen, K. L. (2006). Overexpression Of Caveolin-1 And-2 In Cell Lines And In Human Samples Of Inflammatory Breast Cancer. *Breast Cancer Research And Treatment*, 95(3), 219-228.
67. David, A., Fernandez, A., Menard, M. L., Dor, E., Dugand, N., Verstuyft, C., ... & Thümmel, S. (2019).

- Pédopsychiatrie Et Pharmacogénétique: Pharmacorésistance Aux Psychotropes Et Duplication Du Cytochrome P450 2D6, A Propos De Trois Cas Cliniques. *Neuropsychiatrie De l'Enfance Et De l'Adolescence*, 67(8),406-414
68. Davies, A. A., Masson, J. Y., Mcilwraith, M. J., Stasiak, A. Z., Stasiak, A., Venkitaraman, A. R., & West, S. C. (2001). Role Of BRCA2 In Control Of The RAD51 Recombination And DNA Repair Protein. *Molecular Cell*, 7(2), 273-282.
69. Miclot, B., Boccabella, R. B., Hermitte-Gandolière, A., & Rondelot, G. (2020). Substitution Médicamenteuse—Enquête Sur Les Pratiques En Pharmacie Hospitalière. *Le Pharmacien Hospitalier Et Clinicien*, 55(1), 30-41.
70. Belachew, E. B., & Sewasew, D. T. (2021). Molecular Mechanisms Of Endocrine Resistance In Estrogen-Receptor-Positive Breast Cancer. *Frontiers In Endocrinology*, 12, 599586.
71. Dehayni, B. (2009). Le Traitement Conservateur Du Cancer De Sein A Propos De 117 Cas. Experience Du Service De Gynécologie-Obstétrique HMIMV (Doctoral Dissertation).
72. Delozier, T. (2010). Hormonal Treatment In Breast Cancer. *Journal De Gynecologie, Obstetrique Et Biologie De La Reproduction*, 39(8 Suppl), F71-8.
73. Dezentjé, V. O., Gelderblom, H., Van Schaik, R. H., Vletter-Bogaartz, J. M., Van Der Straaten, T., Wessels, J. A., ... & Guchelaar, H. J. (2014). CYP2D6 Genotype In Relation To Hot Flashes As Tamoxifen Side Effect In A Dutch Cohort Of The Tamoxifen Exemestane Adjuvant Multinational (TEAM) Trial. *Breast Cancer Research And Treatment*, 143, 171-179.
74. Malingisi, B. G., Andy, M. M., Alex, M. B., Joelle, L. A., Jean, M. T., Freddy, M. N., ... & Gérard, K. M. (2022). Clinical And Histological Profile Of Breast Cancer At University Clinics Of Kinshasa, Democratic Republic Of Congo. *Open Journal Of Obstetrics And Gynecology*, 12(8), 760-769.
75. Doridot, V., Nos, C., Aucouturier, J. S., Sigal-Zafrani, B., Fourquet, A., & Clough, K. B. (2004). Breast-Conserving Therapy Of Breast Cancer. *Cancer Radiotherapie: Journal De La Societe Francaise De Radiotherapie Oncologique*, 8(1), 21-28.
76. Doumbia, L. O. (2020). Cancers Avancés Du Sein Dans Le Service De Chirurgie Générale Au CHG-GT A Propose 163 Cas (Doctoral Dissertation, USTTB).
77. Duboc, A. (2011). Women With Breast Cancer: A Salutogene And Holistic Perspective. *Psycho-Oncologie*, 5(1), 11-24.
78. Dumeaux, V., Alsaker, E., & Lund, E. (2003). Breast Cancer And Specific Types Of Oral Contraceptives: A Large Norwegian Cohort Study. *International Journal Of Cancer*, 105(6), 844-850.
79. Ekotrak, F., Foumane, P., Mboudou, E. T., Dohbit, J. S., Mve Koh, V., & Ndom, P. (2007). Diagnostic Et Traitement Du Cancer De Sein Au Cameroun: A Propos De 65 Cas. *Mali Medical*, 28(1).
80. El Amrani, M., Lenne, X., Clement, G., Delpero, J. R., Theis, D., Pruvot, F. R., ...& Truant, S. (2019). Specificity Of Procedure Volume And Its Association With Postoperative Mortality In Digestive Cancer Surgery: A Nationwide Study Of 225,752 Patients. *Annals Of Surgery*, 270(5), 775-782.
81. El Fouhi, M., Benider, A., Gaëtan, K. Z. A., & Mesfioui, A. (2020). Epidemiological And Anatomopathological Profile Of Breast Cancer At The Ibn Rochd University Hospital, Casablanca. *The Pan*

- African Medical Journal, 37, 41.
82. El Rhouizi, N. (2021). Prédilection Hériditaire Au Cancer Du Sein Et/Ou De L'ovaire: A Propos De 40 Cas. Éditions Universitaires Européennes.
 83. EL Yakoubi, S. (2019). LES LIMITES DU TRAITEMENT CONSERVATEUR DU CANCER DU SEIN (A PROPOS 200 CAS) (Doctoral Dissertation).
 84. EL Youssoufi, Y. (2020). LES AVK: PLACE ET ROLE DU PHARMACIEN D'OFFICINE (Doctoral Dissertation).
 85. Engbang, J. P. N., Essome, H., Koh, V. M., Simo, G., Essam, J. D. S., Mouelle, A. S., & Essame, J. L. O. (2015). Cancer Du Sein Au Cameroun, Profil Histo-Epidémiologique: A Propos De 3044 Cas. Pan African Medical Journal, 21(1).
 86. Erić, I., Petek Erić, A., Koprivčić, I., Babić, M., Pačarić, S., & Trogrlić, B. (2020). Independent Factors FOR Poor Prognosis In Young Patients With Stage I-III Breast Cancer. Acta Clinica Croatica, 59(2.), 242-250.
 87. Essiben, F., Foumane, P., Mboudou, E. T., Dohbit, J. S., Mve Koh, V., & Ndom, P. (2013). Diagnostic Et Traitement Du Cancer De Sein Au Cameroun: A Propos De 65 Cas. Mali Medical, 28(1).
 88. Esteves, F., Campelo, D., Gomes, B. C., Urban, P., Bozonnet, S., Lautier, T., ...& Kranendonk, M. (2020). The Role Of The FMN-Domain Of Human Cytochrome P450 Oxidoreductase In Its Promiscuous Interactions With Structurally Diverse Redox Partners. Frontiers In Pharmacology, 11, 299.
 89. Evans, T. J., Yellowlees, A., Foster, E., Earl, H., Cameron, D. A., Hutcheon, A. W., ...& Mansi, J. L. (2005). Phase III Randomized Trial Of Doxorubicin And Docetaxel Versus Doxorubicin And Cyclophosphamide As Primary Medical Therapy In Women With Breast Cancer: An Anglo-Celtic Cooperative Oncology Group Study. Journal Of Clinical Oncology, 23(13), 2988-95.
 90. Ferrucci-Da Silva, C., Zhan, L., Shen, J., Kong, B., Campbell, M. J., Memon, N., ...& Guo, G. L. (2020). Effects Of Total Parenteral Nutrition On Drug Metabolism Gene Expression In Mice. Acta Pharmaceutica Sinica B, 10(1), 153-158.
 91. Feupi Lemouogue, W. (2019). Le Statut Hormonal Et Les Antécédents Familiaux De Cancer Du Sein Au Mali (Doctoral Dissertation, USTTB).
 92. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS Et Al. The Human Mutator Gene Homolog MSH2 And Its Association With Hereditary Non Polyposis Colon Cancer. Cell 1993;75:1027-1038.
 93. Fisher, B., Costantino, J. P., Wickerham, D. L., Redmond, C. K., Kavanah, M., Cronin, W. M., ...& Wolmark, N. (1998). Tamoxifen For Prevention Of Breast Cancer: Report Of The National Surgical Adjuvant Breast And Bowel Project P-1 Study. JNCI: Journal Of The National Cancer Institute, 90(18), 1371-1388.
 94. Fotoohi, A. K., Karim, H., Lafolie, P., Pohanka, A., Östervall, J., Hatschek, T., & Vitols, S. (2016). Pronounced Interindividual But Not Intraindividual Variation In Tamoxifen And Metabolite Levels In Plasma During Adjuvant Treatment Of Women With Early Breast Cancer. Therapeutic Drug Monitoring, 38(2), 239-245.
 95. Foulkes, W. D., Grainge, M. J., Rakha, E. A., Green, A. R., & Ellis, I. O. (2009). Tumor Size Is An

- Unreliable Predictor Of Prognosis In Basal-Like Breast Cancers And Does Not Correlate Closely With Lymph Node Status. *Breast Cancer Research And Treatment*, 117(1), 199-204.
96. Fourati, N., Pelachaud, C., & Darmon, P. (2019, September). Contribution Of Temporal And Multi-Level Body Cues To Emotion Classification. In 2019 8th International Conference On Affective Computing And Intelligent Interaction (ACII) P. 116-122.
 97. Fournier, A., Berrino, F., & Clavel-Chapelon, F. (2008). Unequal Risks For Breast Cancer Associated With Different Hormone Replacement Therapies: Results From The E3N Cohort Study. *Breast Cancer Research And Treatment*, 107(1), 103-111.
 98. Foxcroft, L. M., Evans, E. B., & Porter, A. J. (2004). The Diagnosis Of Breast Cancer In Women Younger Than 40. *The Breast*, 13(4), 297-306.
 99. Fox, P., Balleine, R. L., Lee, C., Gao, B., Balakrishnar, B., Menzies, A. M., ... & Gurney, H. (2016). Dose Escalation Of Tamoxifen In Patients With Low Endoxifen Level: Evidence For Therapeutic Drug Monitoring—The TADE Studytamoxifen Dose Escalation And Therapeutic Drug Monitoring. *Clinical Cancer Research*, 22(13), 3164-3171.
 100. Frikha, N., & Chlif, M. (2021). Un Aperçu Des Facteurs De Risque Du Cancer Du Sein. *Bulletin De l'Académie Nationale De Médecine*, 205(5), 519-527.
 101. Fuselli, S., Dupanloup, I., Frigato, E., Cruciani, F., Scozzari, R., Moral, P., ...& Barbujani, G. (2004). Molecular Diversity At The CYP2D6 Locus In The Mediterranean Region. *European Journal Of Human Genetics*, 12(11), 916-924.
 102. Gaedigk, A., Simon, S. D., Pearce, R. E., Bradford, L. D., Kennedy, M. J., & Leeder, J. S. (2008). The CYP2D6 Activity Score: Translating Genotype Information Into A Qualitative Measure Of Phenotype. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(2), 234-242.
 103. Gaffield, M. E., Culwell, K. R., & Ravi, A. (2009). Oral Contraceptives And Family History Of Breast Cancer. *Contraception*, 80(4), 372-380.
 104. Galetzka D, Hansmann T, El HN Et Al. Monozygotic Twins Discordant For Constitutive BRCA1 Promoter Methylation, Childhood Cancer And Secondary Cancer. *Epigenetics* 2012;7(1):47-54
 105. Gan, C. Q., Wang, X. Y., Cao, Y. D., Ye, W. X., Liu, H., & Sun, Y. Y. (2011). Association Of CYP2C19* 3 Gene Polymorphism With Breast Cancer In Chinese Women. *Genet Mol Res*, 10(4), 3514-3519.
 106. Gasco, M., Yulug, I. G., & Crook, T. (2003). TP53 Mutations In Familial Breast Cancer: Functional Aspects. *Human Mutation*, 21(3), 301-306.
 107. Geniaux, H., & Picard, N. (2019). Les Interactions Pharmacocinétiques Et Pharmacodynamiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(586), 52-54.
 108. Ghazal, D., Zalzal, F., Fisk, J. C., Tati, S., Karacosta, L. G., Morey, S., ...& Rittenhouse-Olson, K. (2018). Therapeutic Efficacy Of The Humanized JAA-F11 Anti-Thomsen-Friedenreich Antibody Constructs H2a12a And H3L3 In Human Breast And Lung Cancer Xenograft Models. *Oncotarget*, 13, 1155-1164.
 109. Goetz, M. P., Rae, J. M., Suman, V. J., Safgren, S. L., Ames, M. M., Visscher, D. W., ... & Ingle, J. N. (2005). Pharmacogenetics Of Tamoxifen Biotransformation Is Associated With Clinical Outcomes Of Efficacy And Hot Flashes. *Journal Of Clinical Oncology*, 23(36), 9312-9318.

110. Goetz, M. P., Sangkuhl, K., Guchelaar, H. J., Schwab, M., Province, M., Whirl-Carrillo, M., ...& Klein, T. E. (2018). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline For CYP2D6 And Tamoxifen Therapy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 103(5), 770-777.
111. Gokul, T., Anusha, D., & David, D. C. (2018). A Comparative Study On Viability Of Mcf-7 Human Breast Cancer Cell Lines Using Piperine And Tamoxifen—An In Vitro Study With A Novel Mishmash. *Biomedical And Pharmacology Journal*, 11(4), 1955-1959.
112. Goldstein, J. A., Faletto, M. B., Romkes-Sparks, M., Sullivan, T., Kitareewan, S., Raucy, J. L., ...& Ghanayem, B. I. (1994). Evidence That CYP2C19 Is The Major (S)-Mephenytoin 4'-Hydroxylase In Humans. *Biochemistry*, 33(7), 1743-1752.
113. Gompel, A. (2019). Hormone And Breast Cancer. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 48(10), 1085-1091.
114. Goutsouliak, K., Veeraraghavan, J., Sethunath, V., De Angelis, C., Osborne, C. K., Rimawi, M. F., & Schiff, R. (2020). Towards Personalized Treatment For Early Stage HER2-Positive Breast Cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(4), 233-250.
115. Griese, E. U., Zanger, U. M., Brudermanns, U., & Gaedigk, A. (1998). Assessment Of The Predictive Power Of Genotypes For The In-Vivo Catalytic Function Of CYP2D6 In A German. *Pharmacogenetics*, 8, 15-26.
116. Gross, E., Busse, B., Riemenschneider, M., Neubauer, S., Seck, K., Klein, H. G., ... & Meindl, A. (2008). Strong Association Of A Common Dihydropyrimidine Dehydrogenase Gene Polymorphism With Fluoropyrimidine-Related Toxicity In Cancer Patients. *Plos One*, 3(12), E4003.
117. Guendouz, H., Chetibi, W., Abdelouhab, A., & Bendib, A. (2011). Cancer Du Sein De La Femme De Moins De 35 Ans: Etude Rétrospective A Propos De 612 Cas. *Société Française De Sénologie Et De Pathologie Mammaire La Lettre Du Sénologue*, 52.
118. Guo, W., Lu, X., Liu, Q., Zhang, T., Li, P., Qiao, W., & Deng, M. (2019). Prognostic Value Of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio And Platelet-To-Lymphocyte Ratio For Breast Cancer Patients: An Updated Meta-Analysis Of 17079 Individuals. *Cancer Medicine*, 8(9), 4135-4148.
119. Habak, N., & Chikouche, A. (2022). Prévalence Des Mutations Germinales BRCA1/2 Dans Une Population Algérienne Atteinte De Cancer Du Sein Et/Ou De L'ovaire. *Journal Algérien De Biochimie Et De Génétique Médicales*, 1(2), 55-62.
120. Hadadi, I., Rae, W., Clarke, J., Mcintee, M., & Ekpo, E. (2021). Breast Cancer Detection: Comparison Of Digital Mammography And Digital Breast Tomosynthesis Across Non-Dense And Dense Breasts. *Radiography*, 27(4), 1027-1032.
121. Haïfa, B., El Mhabrech, H., Zouari, I., Njima, M., Daldoul, A., Ahmed, H., ... & Faleh, R. (2019). Le Carcinome Lobulaire Infiltrant Du Sein: A Propos De 30 Cas. *The Pan African Medical Journal*, 34.
122. Hajage, D., De Rycke, Y., Bollet, M., Savignoni, A., Caly, M., Pierga, J. Y., ... & Reyat, F. (2011). External Validation Of Adjuvant! Online Breast Cancer Prognosis Tool. Prioritising Recommendations For Improvement. *Plos One*, 6(11), E27446.
123. Hamdan, D., Nguyen, T. T., El Bouchtaoui, M., Janin, A., & Bousquet, G. (2018). Génomique Du Cancer Du Sein Appliquée Aux Traitements. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2018(506), 52-60.

124. Hamdi Cherif, M., Zaidi, Z., Abdellouche, D., Hamdi, S., Lakhdari, N., Djema Bendjazia, A., ... & Guerra, D. (2010). Registre Du Cancer De Sétif (Algérie): Incidence, Tendence Et Survie, 1986–2005. *Journal Africain Du Cancer/African Journal Of Cancer*, 2(4), 245-258.
125. Hamdi, N., & Merzouk, K. (2017). Etude Epidémiologique Et Anatomo-Pathologique Du Cancer Du Sein Dans La Région De Bouira.
126. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks Of Cancer. *Cell*, 100(1), 57-70.
127. Hartshorne, T., Le, F., Lang, J., Leong, H., Hayashibara, K., Dewolf, D., & Shelton, E. (2014). A High-Throughput Real-Time PCR Approach To Pharmacogenomics Studies. *Journal Of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*, 5(3), 1.
128. He, Z., Wang, Z., Gao, B., Liu, S., Zhao, X., Shi, H., & Wang, M. (2021). Stereostructure-Activity Mechanism Of Cyproconazole By Cytochrome P450 In Rat Liver Microsomes: A Combined Experimental And Computational Study. *Journal Of Hazardous Materials*, 416, 125764.
129. Hertz, D. L., Mcleod, H. L., & Irvin Jr, W. J. (2012). Tamoxifen And CYP2D6: A Contradiction Of Data. *The Oncologist*, 17(5), 620-630.
130. Hicks, J. K., Sangkuhl, K., Swen, J. J., Ellingrod, V. L., Müller, D. J., Shimoda, K., ... & Stingl, J. C. (2017). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline (CPIC®) For CYP2D6 And CYP2C19 Genotypes And Dosing Of Tricyclic Antidepressants: 2016 Update. *Clinical Pharmacology And Therapeutics*, 102(1), 37.
131. Hitchins MP. Constitutional Epimutation As A Mechanism For Cancer Causality And Heritability? *Nat Rev Cancer* 2015;15(10):625-634.
132. Holcman, R. (1997). Hôpital Public Et Redditions De Comptes. *Revue Francaise D'administration Publique*, (4), 1109-1122.
133. Horvath, E., Majlis, S., Rossi, R., Niedmann, J. P., Franco, C., Madrid, A., ... & Dominguez, M. (2009). Tirads: Un Nouveau Systeme De Classification De Nodules Thyroïdiens. *Journal De Radiologie*, 90(10), 1417.
134. Hosni, M., Abnane, I., Idri, A., De Gea, J. M. C., & Alemán, J. L. F. (2019). Reviewing Ensemble Classification Methods In Breast Cancer. *Computer Methods And Programs In Biomedicine*, 177, 89-112.
135. Hu, X., Lan, T., Dai, D., Xu, R. A., Yuan, L., Zhou, Q., ... & Hu, G. (2016). Evaluation Of 24 CYP2D6 Variants On The Metabolism Of Nebivolol In Vitro. *Drug Metabolism And Disposition*, 44(11), 1828-1831.
136. Huang, S., Chen, Y., Liang, Z. M., Li, N. N., Liu, Y., Zhu, Y., ... & Luo, M. L. (2019). Targeting Pin1 By All-Trans Retinoic Acid (ATRA) Overcomes Tamoxifen Resistance In Breast Cancer Via Multifactorial Mechanisms. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 7, 322.
137. Hunter, D. J., Colditz, G. A., Hankinson, S. E., Malspeis, S., Spiegelman, D., Chen, W., ...& Willett, W. C. (2010). Oral Contraceptive Use And Breast Cancer: A Prospective Study Of Young Women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 19(10), 2496-2502.

138. Hwang, J. J., Kim, H. N., Kim, J., Cho, D. H., Kim, M. J., Kim, Y. S., ... & Koh, J. Y. (2010). Zinc (II) Ion Mediates Tamoxifen-Induced Autophagy And Cell Death In MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Biometals*, 23(6), 997-1013.
139. Ifrah, N. (2016). L'Institut National Du Cancer: La Science Et La Médecine, Au Service Du Patient. *Innovations & Thérapeutiques En Oncologie*, 2(6), 265-266.
140. Im, S. A., Lu, Y. S., Bardia, A., Harbeck, N., Colleoni, M., Franke, F., ... & Tripathy, D. (2019). Overall Survival With Ribociclib Plus Endocrine Therapy In Breast Cancer. *New England Journal Of Medicine*, 381(4), 307-316.
141. Irvin Jr, W. J., Walko, C. M., Weck, K. E., Ibrahim, J. G., Chiu, W. K., Dees, E. C., ... & Carey, L. A. (2011). Genotype-Guided Tamoxifen Dosing Increases Active Metabolite Exposure In Women With Reduced CYP2D6 Metabolism: A Multicenter Study. *Journal Of Clinical Oncology*, 29(24), 3232.
142. Jansen, L. E., Teft, W. A., Rose, R. V., Lizotte, D. J., & Kim, R. B. (2018). CYP2D6 Genotype And Endoxifen Plasma Concentration Do Not Predict Hot Flash Severity During Tamoxifen Therapy. *Breast Cancer Research And Treatment*, 171, 701-708.
143. Jedidi Jihen, Amouri H., Toumi N., Yaich Soukouri, Chtourou Slim, Trabelsi Khaled, Frikh Mourir, Guerazi Mohamed, Damak Jamel, Le Cancer Du Sein Chez La Femme Agee : Epidemiologie Et Caracteristiques Cliniques, J.I. M. Sfax, 2010 19 , 20 : 41- 51.
144. Jerry, D. J., Dunphy, K. A., & Hagen, M. J. (2010). Estrogens, Regulation Of P53 And Breast Cancer Risk: A Balancing Act. *Cellular And Molecular Life Sciences*, 67(7), 1017-1023.
145. Jin Y., Desta Z., Stearns V., Ward B., Ho H., Lee KH., Et Al. CYP2D6 Genotype, Antidepressant Use, And Tamoxifen Metabolism During Adjuvant Breast Cancer Treatment. *Journal Of The National Cancer Institute*, 2005;97(1):30-39.
146. Jonker, J. W., Merino, G., Musters, S., Van Herwaarden, A. E., Bolscher, E., Wagenaar, E., ... & Schinkel, A. H. (2005). The Breast Cancer Resistance Protein BCRP (ABCG2) Concentrates Drugs And Carcinogenic Xenotoxins Into Milk. *Nature Medicine*, 11(2), 127-129.
147. Joyon, N., Penault-Llorca, F., & Lacroix-Triki, M. (2017). Molecular Taxonomy And Signatures Of Breast Cancer In 2017. *Oncologie*, 19(3-4), 64-70.
148. Jung S, Wang M, Anderson K Et Al. Alcohol Consumption And Breast Cancer Risk By Estrogen Receptor Status: In A Pooled Analysis Of 20 Studies. *Int J Epidemiol* 2016; 45:916-28.
149. Justenhoven, C. (2012). Polymorphisms Of Phase I And Phase II Enzymes And Breast Cancer Risk. *Frontiers In Genetics*, 3, 258.

150. Dimassi, K., Gharsa, A., Chanoufi, M. B., Sfar, E., & Chelli, D. (2014). Le Traitement Conservateur Du Cancer Du Sein: Expérience D'une Equipe Tunisienne. *Pan African Medical Journal*, 19(1).
151. Kaur, R. P., Vasudeva, K., Kumar, R., & Munshi, A. (2018). Role Of P53 Gene In Breast Cancer: Focus On Mutation Spectrum And Therapeutic Strategies. *Current Pharmaceutical Design*, 24(30), 3566-3575.
152. Kelly, C. M., Juurlink, D. N., Gomes, T., Duong-Hua, M., Pritchard, K. I., Austin, P. C., & Paszat, L. F. (2010). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors And Breast Cancer Mortality In Women Receiving Tamoxifen: A Population Based Cohort Study. *Bmj*, 340.
153. Kermarrec, É., Gardavaud, F., Kerrou, K., Bekhouche, A., Wahab, C. A., Milon, A., & Thomassin- Naggara, I. (2020). Risques Et Sécurité De L'imagerie Mammaire Chez La Femme Enceinte Et En Cours D'allaitement. *Imagerie De La Femme*, 30(1), 13-22.
154. Key, T. J., Verkasalo, P. K., & Banks, E. (2001). Epidemiology Of Breast Cancer. *The Lancet Oncology*, 2(3), 133-140.
155. Khalaj, Z., Baratieh, Z., Nikpour, P., Schwab, M., Schaeffeler, E., Mokarian, F., ...& Salehi, M. (2019). Clinical Trial: CYP2D6 Related Dose Escalation Of Tamoxifen In Breast Cancer Patients With Iranian Ethnic Background Resulted In Increased Concentrations Of Tamoxifen And Its Metabolites. *Frontiers In Pharmacology*, 10, 530.
156. Khalifa, M. F. (2022). Epidemiology Of Breast Cancer In Baghdad City 2018. *Journal Of Pharmaceutical Negative Results*, 1452-1456.
157. Khalil, A. I., Bendahhou, K., Mestaghanmi, H., Saile, R., & Benider, A. (2016). Cancer Du Sein Au Maroc: Profil Phénotypique Des Tumeurs. *The Pan African Medical Journal*, 25.
158. Kheddache, A., Zatra, Y., Aknoun-Sail, N., Amirat, Z., Moudilou, E., Exbrayat, J. M., & Khammar, F. (2018, September). Immunolocalisation Des Récepteurs Aux Œstrogènes Et De L'aromatase Au Niveau De La Prostate Ventrale D'un Rongeur Saharien, Gerbillus Tarabuli Au Cours Du Cycle De Reproduction. In *Annales d'Endocrinologie* Vol. 79, No. 4, P. 259.
159. Killian, J. K., Miettinen, M., Walker, R. L., Wang, Y., Zhu, Y. J., Waterfall, J. J., ... & Meltzer, P. S. (2014). Recurrent Epimutation Of SDHC In Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science Translational Medicine*, 6(268), 268ra177-268ra177.
160. Kim, C., Tang, G., Pogue-Geile, K. L., Costantino, J. P., Baehner, F. L., Baker, J., ...& Paik, S. (2011). Estrogen Receptor (ESR1) Mrna Expression And Benefit From Tamoxifen In The Treatment And Prevention Of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *Journal Of Clinical Oncology*, 29(31), 4160.
161. Kodama, T., Marian, T. A., Lee, H., Kodama, M., Li, J., Parmacek, M. S., ...& Wei, Z. (2019). MRTFB Suppresses Colorectal Cancer Development Through Regulating SPDL1 And MCAM. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 116(47), 23625-23635.
162. Kouk, F., Momozawa, Y., & Mushiroda, T. (2021). Update On Next Generation Sequencing Of Pharmacokinetics-Related Genes: Development Of The Pkseq Panel, A Platform For Amplicon Sequencing Of Drug-Metabolizing Enzyme And Drug Transporter Genes. *Drug Metabolism And Pharmacokinetics*, 37, 100370.
163. Kroman, N., Tutt, A., Jensen, M. B., Wohlfahrt, J., Mouridsen, H. T., Andersen, P. K., ...& Ross, G. (2000).

- Factors Influencing The Effect Of Age On Prognosis In Breast Cancer: Population Based Studycommentary: Much Still To Learn About Relations Between Tumour Biology, Prognosis, And Treatment Outcome In Early Breast Cancer. *Bmj*, 320(7233), 474-479.
164. Kuhl, C., Kuhn, W., Braun, M., & Schild, H. (2007). Pre-Operative Staging Of Breast Cancer With Breast MRI: One Step Forward, Two Steps Back?. *The Breast*, 16, 34-44.
165. Kurzawski, M., Gawrońska-Szklarz, B., Wrześniewska, J., Siuda, A., Starzyńska, T., & Drożdżik, M. (2006). Effect Of CYP2C19* 17 Gene Variant On Helicobacter Pylori Eradication In Peptic Ulcer Patients. *European Journal Of Clinical Pharmacology*, 62(10), 877-880.
166. Laakom, O., Bergaoui, H., Hammouda, S. B., Khalfalli, A., Njim, L., & Faleh, R. (2022). Fibromatose Desmoïde Mammaire: A Propos De Deux Cas Et Revue De La Littérature. *The Pan African Medical Journal*, 41.
167. Lakhtakia, R. (2014). A Brief History Of Breast Cancer: Part I: Surgical Domination Reinvented. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 14(2), 166-169.
168. Traoré, L. I. (2005). Le Cancer De Sein Dans Le Service De Chirurgie A De l'Hôpital National Du Point G: Aspects Cliniques Et Thérapeutiques Thèse De Médecine.
169. Lamy, P. J., Romieu, G., Rouanet, P., & Jacot, W. (2010). Classification Moléculaire Des Cancers Du Sein: Utilité En Clinique. *Médecine Nucléaire*, 34(1), 32-43.
170. Engbang, J. P. N., Essome, H., Koh, V. M., Simo, G., Essam, J. D. S., Mouelle, A. S., & Essame, J. L. O. (2015). Cancer Du Sein Au Cameroun, Profil Histo-Epidémiologique: A Propos De 3044 Cas. *Pan African Medical Journal*, 21(1).
171. Lauby-Secretan, B., Dossus, L., Marant-Micallef, C., & His, M. (2019). Obésité Et Cancer. *Bulletin Du Cancer*, 106(7-8), 635-646.
172. Dollé, L. (2003). Stimulation Autocrine De La Croissance Des Cellules Du Cancer Du Sein Par Le Nerve Growth Factor (Doctoral Dissertation, Lille 1).
173. Lavoue, V., Fritel, X., Antoine, M., Beltjens, F., Bendifallah, S., Boisserie-Lacroix, M., ... & Daraï, E. (2015). Tumeurs Bénignes Du Sein: Recommandations Pour La Pratique Clinique Du Collège National Des Gynécologues Et Obstétriciens Français (CNGOF)–Texte Court. *Journal De Gynécologie Obstétrique Et Biologie De La Reproduction*, 44(10), 1049-1064.
174. Le Caignec, C. (2000). Prédispositions Héritaires Aux Cancers Du Sein Et/Ou De L'ovaire: Expérience Lorraine: De La Caractérisation De Mutations Délétères Au Sein Du Gène BRCA1 (Doctoral Dissertation, UHP- Université Henri Poincaré).
175. Lecarpentier, J., Noguès, C., Mouret-Fourme, E., Gauthier-Villars, M., Lasset, C., Fricker, J. P., ... & Andrieu, N. (2012). Variation In Breast Cancer Risk Associated With Factors Related To Pregnancies According To Truncating Mutation Location, In The French National BRCA1 And BRCA2 Mutations Carrier Cohort (GENEPSO). *Breast Cancer Research*, 14(4), 1-13.
176. Lee, M., Piao, J., & Jeon, M. J. (2020). Risk Factors Associated With Endometrial Pathology In Premenopausal Breast Cancer Patients Treated With Tamoxifen. *Yonsei Medical Journal*, 61(4), 317.

- 177.** Lesur, A., Dalenc, F., & Beguinot, M. (2019). Consultation Dédicée De Prescription D'une Hormonothérapie Adjuvante Chez La Femme Jeune Traitée Pour Cancer Du Sein Hormonosensible: Une Clé Pour Améliorer L'adhésion?. *Bulletin Du Cancer*, 106(12), S28-S36.
- 178.** Li, C. I., & Beaber, E. F. (2010). Exogenous Hormones. In *Breast Cancer Epidemiology* P. 89-117.
- 179.** Lien, H. C., Wang, C. C., Lin, C. H., Lu, Y. S., Huang, C. S., Hsiao, L. P., & Yao, Y. T. (2013). Differential Expression Of Ubiquitin Carboxy-Terminal Hydrolase L1 In Breast Carcinoma And Its Biological Significance. *Human Pathology*, 44(9), 1838-1848.
- 180.** Lim, J. S., Chen, X. A., Singh, O., Yap, Y. S., Ng, R. C., Wong, N. S., ... & Chowbay, B. (2011). Impact Of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C9 And CYP2C19 Polymorphisms On Tamoxifen Pharmacokinetics In Asian Breast Cancer Patients. *British Journal Of Clinical Pharmacology*, 71(5), 737-750.
- 181.** Liukkonen, S., Leidenius, M., Saarto, T., & Sjöström-Mattson, J. (2011). Breast Cancer In Very Young Women. *European Journal Of Surgical Oncology (EJSO)*, 37(12), 1030-1037.
- 182.** Liu, Q., Wu, Z., Liu, Y., Chen, L., Zhao, H., Guo, H., ...& Shi, B. (2020). Cannabinoid Receptor 2 Activation Decreases Severity Of Cyclophosphamide-Induced Cystitis Via Regulating Autophagy. *Neurourology And Urodynamics*, 39(1), 158-169.
- 183.** Lüftner, D., Hartkopf, A. D., Lux, M. P., Overkamp, F., Tesch, H., Titzmann, A., ...& Fasching, P. A. (2021). Challenges And Opportunities For Real-World Evidence In Metastatic Luminal Breast Cancer. *Breast Care*, 16(2), 108-114.
- 184.** Lukina, E., Balwani, M., Belmatoug, N., Watman, N., Hughes, D., Gaemers, S. J., ...& Peterschmitt, M. J. (2021). Pregnancy Outcome In Women With Gaucher Disease Type 1 Who Had Unplanned Pregnancies During Eliglustat Clinical Trials. *JIMD Reports*, 57(1), 76-84.
- 185.** Lygia Vieira Lopes, António Tavares Frederico, Lúcio Lara Santos, *Cancer Du Sein En Angola : Une Etude Préliminaire*, Oarec Nouvelles Juin 2012, 22 :2
- 186.** Lynn Henry, N., Rae, J. M., Li, L., Azzouz, F., Skaar, T. C., Desta, Z., ... & Consortium On Breast Cancer Pharmacogenomics Investigators. (2009). Association Between CYP2D6 Genotype And Tamoxifen-Induced Hot Flashes In A Prospective Cohort. *Breast Cancer Research And Treatment*, 117, 571-575.
- 187.** Madlensky, L., Natarajan, L., Tchu, S., Pu, M., Mortimer, J., Flatt, S. W., ... & Pierce, J. P. (2011). Tamoxifen Metabolite Concentrations, CYP2D6 Genotype, And Breast Cancer Outcomes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 89(5), 718-725.
- 188.** Maglich, J. M., Stoltz, C. M., Goodwin, B., Hawkins-Brown, D., Moore, J. T., & Kliewer, S. A. (2002). Nuclear Pregnane X Receptor And Constitutive Androstane Receptor Regulate Overlapping But Distinct Sets Of Genes Involved In Xenobiotic Detoxification. *Molecular Pharmacology*, 62(3), 638-646.
- 189.** Malik, A., Hafeez, K., Nazar, W., Naeem, M., Ali, I., Ali, Q., ...& Hafeez, M. M. (2021). Assessment Of Controversial Risk Factors In Development Of Breast Cancer: A Study From Local Population. *Biological And Clinical Sciences Research Journal*, 2021(1).
- 190.** Maouche, F. A. M. O. U. C. H. (2019). Etude Observationnelle Clinique, Moléculaire Et Thérapeutique Des Cancers Du Sein Inflammatoires A l'Institut National d'Oncologie.

191. Marcat, L., Deal, A. M., Van Wieren, E., Danko, W., Walko, C. M., Ibrahim, J. G., ...& Hertz, D. L. (2017). Comprehensive Assessment Of Cytochromes P450 And Transporter Genetics With Endoxifen Concentration During Tamoxifen Treatment. *Pharmacogenetics And Genomics*, 27(11), 402.
192. Marchbanks, P. A., Mcdonald, J. A., Wilson, H. G., Folger, S. G., Mandel, M. G., Daling, J. R., ... & Weiss, L. K. (2002). Oral Contraceptives And The Risk Of Breast Cancer. *New England Journal Of Medicine*, 346(26), 2025-2032.
193. Marie, G., Consortium On Genetic Susceptibility For Menopausal Hormone Therapy Related Breast Cancer Risk. (2010). Genetic Polymorphisms In Phase I And Phase II Enzymes And Breast Cancer Risk Associated With Menopausal Hormone Therapy In Postmenopausal Women. *Breast Cancer Research And Treatment*, 119, 463-474.
194. Marina, D., Rasmussen, Å. K., Buch-Larsen, K., Gillberg, L., Andersson, M., & Schwarz, P. (2022). Influence Of The Anti-Oestrogens Tamoxifen And Letrozole On Thyroid Function In Women With Early And Advanced Breast Cancer: A Systematic Review. *Cancer Medicine*.
195. Marpeau, O., Ancel, P. Y., Antoine, M., Uzan, S., & Barranger, E. (2008). Cancers Du Sein Bilatéraux Synchrones: Facteurs De Risque, Diagnostic, Histologie, Traitement. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 36(1), 35-44.
196. Martinez-Cannon, B. A., Castro-Sanchez, A., Barragan-Carrillo, R., De La Rosa Pacheco, S., Platas, A., Fonseca, A., ... & Villarreal-Garza, C. (2021). Adherence To Adjuvant Tamoxifen In Mexican Young Women With Breast Cancer. *Patient Preference And Adherence*, 15, 1039.
197. Maschmeyer, G., De Greef, J., Mellinghoff, S. C., Nosari, A., Thiebaut-Bertrand, A., Bergeron, A., ...& Maertens, J. A. (2019). Infections Associated With Immunotherapeutic And Molecular Targeted Agents In Hematology And Oncology. A Position Paper By The European Conference On Infections In Leukemia (ECIL). *Leukemia*, 33(4), 844-862.
198. Maumy, L., Salakos, E., Rocher, G., Al Mamari, T., Bonneau, C., Elies, A., ... & Rouzier, R. (2020). Physical Activity After Breast Cancer Diagnosis And Survival: A Systematic Review. *Bulletin Du Cancer*, 107(10), 1042-1055.
199. Mavaddat, N., Michailidou, K., Dennis, J., Lush, M., Fachal, L., Lee, A., ...& Macinnis, R. J. (2019). Polygenic Risk Scores For Prediction Of Breast Cancer And Breast Cancer Subtypes. *The American Journal Of Human Genetics*, 104(1), 21-34.
200. Mbala, L. N. (2010). Profil Clinique, Histologique Et Moléculaire Du Cancer Mammaire Chez La Femme Congolaise De Kinshasa. These D'agregation En Medecine, Universite De Kinshasa.
201. Mbala, P. K., Huggins, J. W., Riu-Rovira, T., Ahuka, S. M., Mulembakani, P., Rimoin, A. W., ... & Muyembe, J. J. T. (2017). Maternal And Fetal Outcomes Among Pregnant Women With Human Monkeypox Infection In The Democratic Republic Of Congo. *The Journal Of Infectious Diseases*, 216(7), 824-828.
202. MCGowan, E. M., Lin, Y., & Hatoum, D. (2018). Good Guy Or Bad Guy? The Duality Of Wild-Type P53 In Hormone-Dependent Breast Cancer Origin, Treatment, And Recurrence. *Cancers*, 10(6), 172.

- 203.** Mckinnon, R. A., & Nebert, D. W. (1998). Cytochrome P450 Knockout Mice: New Toxicological Models. *Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology*, 25(10), 783-787.
- 204.** Merviel, P., Jouvance, O., Naepels, P., Fauvet, R., Cabry-Goubet, R., Gagneur, O., & Gondry, J. (2011). Existe-T-Il Encore Des Facteurs De Risque De Survenue D'un Cancer Du Sein?. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 39(9), 486-490.
- 205.** Michael, A., Ainsley, A., Joseph, A., & Jahan, N. (2001). First And Second Line Chemotherapeutic Regimens For Non-Small Cell Lung Carcinomas-The Efficacy Of Platinum, Non-Platinum And Combination Therapy: A Literature Review. *Cureus*, 12(11).
- 206.** Michaud, V., & Turgeon, J. (2003). L'importance Clinique Des Interactions Médicamenteuses Reliées Aux Isoenzymes Du Cytochrome P450: De La Fiction A La Réalité. *Pharmactuel*, 36(2).
- 207.** Michou, L., & Orcel, P. (2019). La Maladie De Paget Est-Elle Devenue Une Maladie Osseuse Rare?. *Revue Du Rhumatisme Monographies*, 86(2), 138-143.
- 208.** Miller Wer, S., Dykes, D., & Polesky, H. (1988). A Simple Salting Out Procedure For Extracting DNA From Human Nucleated Cells. *Nucleic Acids Res*, 16(3), 1215.
- 209.** Modi, S., Saura, C., Henderson, C., Lin, N. U., Mahtani, R., Goddard, J., ...& Baselga, J. (2013). A Multicenter Trial Evaluating Retaspimycin HCL (IPI-504) Plus Trastuzumab In Patients With Advanced Or Metastatic HER2-Positive Breast Cancer. *Breast Cancer Research And Treatment*, 139(1), 107-113.
- 210.** Mohammed S, Hamad K, Almobarak A Et Elhoweris M, Conférence Internationale Sur Le Cancer Du Sein Au Soudan,Purdue University Cancer Center For Research, West Lafayette IN, USA; 2Radiation And Isotope Center, Khartoum; 3,4University Of Medical Sciences And Technology, Sudan., Oarec Nouvelles, 2012, 21 :7- 12.
- 211.** Montagna, E., Bagnardi, V., Canello, G., Sangalli, C., Pagan, E., Iorfida, M., ... & Colleoni, M. (2018). Metronomic Chemotherapy For First-Line Treatment Of Metastatic Triple-Negative Breast Cancer: A Phase II Trial. *Breast Care*, 13(3), 177-181.
- 212.** Mortimer, H. J., Peacock, A. J., Kirk, A., & Welsh, D. J. (2007). P38 MAP Kinase: Essential Role In Hypoxia-Mediated Human Pulmonary Artery Fibroblast Proliferation. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 20(6), 718-725.
- 213.** Mulder, T. A., De With, M., Del Re, M., Danesi, R., Mathijssen, R. H., & Van Schaik, R. H. (2021). Clinical Cyp2d6 Genotyping To Personalize Adjuvant Tamoxifen Treatment In Er-Positive Breast Cancer Patients: Current Status Of A Controversy. *Cancers*, 13(4), 771.
- 214.** Mürdter, T. E., Schroth, W., Bacchus-Gerybadze, L., Winter, S., Heinkele, G., Simon, W., ...& Brauch, H. (2011). Activity Levels Of Tamoxifen Metabolites At The Estrogen Receptor And The Impact Of Genetic Polymorphisms Of Phase I And II Enzymes On Their Concentration Levels In Plasma. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 89(5), 708-717.
- 215.** Murray, G. I., Mcfadyen, M. C. E., Mitchell, R. T., Cheung, Y. L., Kerr, A. C., & Melvin, W. T. (1999). Cytochrome P450 CYP3A In Human Renal Cell Cancer. *British Journal Of Cancer*, 79(11), 1836-1842.

216. Nadaud, J. (1997). Etude De L'effet Complexant Du Tamoxifene: Influence Sur L'hormonogénèse Thyroïdienne (Doctoral Dissertation).
217. Nagy, R., Sweet, K., & Eng, C. (2004). Highly Penetrant Hereditary Cancer Syndromes. *Oncogene*, 23(38), 6445-6470.
218. Sayers, E. W. (2018). NCBI Resource Coordinators, Database Resources Of The National Center For Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res*, 46, D8-D13.
219. Neavin, D. R., Liu, D., Ray, B., & Weinshilboum, R. M. (2018). The Role Of The Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) In Immune And Inflammatory Diseases. *International Journal Of Molecular Sciences*, 19(12), 3851.
220. Necira, S., & Zemmouli, N. (2020). Etude Epidémiologique Et Histo-Pathologique Du Cancer Du Sein Dans La Région D'el-Oued.
221. Nelson, D. R., Zeldin, D. C., Hoffman, S. M., Maltais, L. J., Wain, H. M., & Nebert, D. W. (2004). Comparison Of Cytochrome P450 (CYP) Genes From The Mouse And Human Genomes, Including Nomenclature Recommendations For Genes, Pseudogenes And Alternative-Splice Variants. *Pharmacogenetics And Genomics*, 14(1), 1-18.
222. Neven, P., Jongen, L., Lintermans, A., Van Asten, K., Blomme, C., Lambrechts, D., ... & Guchelaar, H. J. (2018). Tamoxifen Metabolism And Efficacy In Breast Cancer: A Prospective Multicenter Trial. *Tamoxifen Metabolism And Efficacy In Breast Cancer. Clinical Cancer Research*, 24(10), 2312-2318.
223. Nkondjock, A. (2009). Coffee Consumption And The Risk Of Cancer: An Overview. *Cancer Letters*, 277(2), 121-125.
224. Nkondjock, A., & Ghadirian, P. (2005). Risk Factors And Risk Reduction Of Breast Cancer. *Medecine Sciences: M/S*, 21(2), 175-180.
225. Okishiro, M., Taguchi, T., Jin Kim, S., Shimazu, K., Tamaki, Y., & Noguchi, S. (2009). Genetic Polymorphisms Of CYP2D6* 10 And CYP2C19* 2,* 3 Are Not Associated With Prognosis, Endometrial Thickness, Or Bone Mineral Density In Japanese Breast Cancer Patients Treated With Adjuvant Tamoxifen. *Cancer: Interdisciplinary International Journal Of The American Cancer Society*, 115(5), 952-961.
226. Olivier, M., Langer D, A., Carrieri, P., Bergh, J., Klaar, S., Eyfjord, J., ... & Bv[] Rresen-Dale, A. L. (2006). The Clinical Value Of Somatic TP53 Gene Mutations In 1,794 Patients With Breast Cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal Of The American Association For Cancer Research*, 12(4), 1157-1167.
227. Owen, J. R., & Nemeroff, C. B. (1998). New Antidepressants And The Cytochrome P450 System: Focus On Venlafaxine, Nefazodone, And Mirtazapine. *Depression And Anxiety*, 7(S1), 24-32.
228. Pant, P., Gupta, C., Kumar, S., Grewal, A., Garg, S., & Rai, A. (2020). Curcumin Loaded Silica Nanoparticles And Their Therapeutic Applications: A Review. *Journal Of Materials Nanoscience*, 7(1), 1-18.
229. Pediconi, F., Catalano, C., Roselli, A., Padula, S., Altomari, F., Moriconi, E., ...& Passariello, R. (2007). Contrast-Enhanced MR Mammography For Evaluation Of The Contralateral Breast In Patients With Diagnosed Unilateral Breast Cancer Or High-Risk Lesions. *Radiology*, 243(3), 670-680.

230. Penault-Llorca, F. (2014). Les Signatures Moléculaires Dans Le-Cancer Du Sein: Le Point De Vue Du Pathologiste. *Mis E Au Point*, 4.
231. Peng, Y., Wu, H., Zhang, X., Zhang, F., Qi, H., Zhong, Y., ... & Sun, J. (2015). A Comprehensive Assay For Nine Major Cytochrome P450 Enzymes Activities With 16 Probe Reactions On Human Liver Microsomes By A Single LC/MS/MS Run To Support Reliable In Vitro Inhibitory Drug–Drug Interaction Evaluation. *Xenobiotica*, 45(11), 961-977.
232. Petit, T. (2019). Particularités De L'hormonothérapie Adjuvante De La Femme Jeune. *Bulletin Du Cancer*, 106(12), S24-S27.
233. Pêtre, A., Cervellera, M., Montbarbon, X., Sunyach, M. P., Beneyton, V., Carrie, C., & Racadot, S. (2017). Réirradiation Pariétale Après Une Mastectomie De Rattrapage Pour Une Récidive Locale Après Un Traitement Conservateur D'un Cancer Du Sein: Est-Ce Toujours D'actualité?. *Cancer/Radiothérapie*, 21(6-7), 702.
234. Petronis, A. (2001). Human Morbid Genetics Revisited: Relevance Of Epigenetics. *Trends In Genetics*, 17(3), 142-146.
235. Petrucelli, N., Daly, M. B., & Pal, T. (2022). BRCA1-And BRCA2-Associated Hereditary Breast And Ovarian Cancer. *Genereviews*@[Internet].
236. Peyrade, F., Taillan, B., Lebrun, C., Baron, V., & Dujardin, P. (1998). Tyrosine Kinase: Implications En Pathologie Tumorale Et Perspectives Thérapeutiques. *La Revue De Médecine Interne*, 19(5), 366-372.
237. Pibarot, M., Poggi, P., Préaubert, L., Delotte, J., Thibault, E., Saias-Magnan, J., ... & Favre, R. (2013). La Plateforme Régionale «Cancer Et Fertilité»: Un Projet Pilote Du Réseau ONCOPACA-Corse. *Oncologie*, 15(5), 212-216.
238. Poitras, E., & Houde, A. (2002). La PCR En Temps Réel: Principes Et Applications. *Reviews In Biology And Biotechnology*, 2(2), 2-11.
239. Porras, L. (2022). CAXII, Un Marqueur Membranaire Pour Isoler Et Etudier Les Cellules Tumorales Luminales Mammaires.
240. Pourquoi, H. (2000). Le Traitement Du Cancer Du Sein: Ses Progrès Et Ses Limites. *Cancer/Radiothérapie*, 4(4), 248-252.
241. Puddu, M., & Tafforeau, J. (2005). Opportunité De Dépistage Du Cancer Du Sein Chez Les Femmes De 40 A 49 Ans. *Nr*, 1, 1-267.
242. Puszkiel, A., Arellano, C., Vachoux, C., Evrard, A., Le Morvan, V., Boyer, J. C., ... & Thomas, F. (2019). Factors Affecting Tamoxifen Metabolism In Patients With Breast Cancer: Preliminary Results Of The French PHACS Study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 106(3), 585-595.

243. Rae, J. M., Drury, S., Hayes, D. F., Stearns, V., Thibert, J. N., Haynes, B. P., ... & Dowsett, M. (2012). CYP2D6 And UGT2B7 Genotype And Risk Of Recurrence In Tamoxifen-Treated Breast Cancer Patients. *Journal Of The National Cancer Institute*, 104(6), 452-460.
244. Rahman, N. (2014). Realizing The Promise Of Cancer Predisposition Genes. *Nature*, 505(7483), 302-308.
245. Raja, G., Selvaraj, V., Suk, M., Suk, K. T., & Kim, T. J. (2021). Metabolic Phenotyping Analysis Of Graphene Oxide Nanosheets Exposures In Breast Cancer Cells: Metabolomics Profiling Techniques. *Process Biochemistry*, 104, 39-45.
246. Ray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Globalcancer Statistics: GLOBOCAN Estimates Of Incidence And Mor-Tality Worldwide For 36 Cancers In 185 Countries.CA Cancer J Clin.2018;68(6):394-424.
247. Recoules-Arché, A., & Fourchette, V. (2012). Cancer Du Sein, Parité Et Allaitement. *La Lettre Du Sénologue*, (55), 8-11.
248. Redon, J., Cifkova, R., Laurent, S., Nilsson, P., Narkiewicz, K., Erdine, S., ... & Scientific Council Of The European Society Of Hypertension. (2008). The Metabolic Syndrome In Hypertension: European Society Of Hypertension Position Statement. *Journal Of Hypertension*, 26(10), 1891-1900.
249. Rehman, K. U., Akhtar, T., Sabar, M. F., & Tariq, M. A. (2015). Allele Frequency Distribution Of CYP2C19* 2 Allelic Variants Associated With Clopidogrel Resistance In Cardiac Patients. *Experimental And Therapeutic Medicine*, 10(1), 309-315.
250. Richa Chauhan, Vinita Trivedi, Ghanishkumar Panjwani, Rita Rani, Usha Singh Et Manashi Ghosh, (2017), Molecular Subtyping Of Invasive Breast Cancer And Its Relation To Common Risk Factor: A Hospital Based Study, *International Journal Of Recent Scientific Research*, 8, 3:15818-21.
251. Robert, J. (2010). Hormonothérapie Des Cancers Du Sein Et Pharmacogénétique. *La Lettre Du Pharmacologue*, 24(4), 129-133.
252. Rouba, B., & Nait-Bahloul, S. (2018). Towards Identifying Multicriteria Outliers: An Outranking Relation-Based Approach. *International Journal Of Decision Support System Technology (IJDSST)*, 10(3), 27-38.
253. Rouëssé, J. (2002). *Cancer Du Sein: Etape Pré-Thérapeutique*. John Libbey Eurotext.
254. Roux, M. (2013). *Fibroadénome Géant Chez L'adolescente Et Influence Hormonale: Analyse D'une Série De 90 Cas* (Doctoral Dissertation, Doctoral Dissertation, Université Paris 7-Paris).
255. Rubben, K., Tilleman, L., Deserranno, K., Tytgat, O., Deforce, D., & Van Nieuwerburgh, F. (2022). Cas9 Targeted Nanopore Sequencing With Enhanced Variant Calling Improves CYP2D6-CYP2D7 Hybrid Allele Genotyping. *Plos Genetics*, 18(9), E1010176.
256. Ruddy, K. J., Desantis, S. D., Gelman, R. S., Wu, A. H., Punglia, R. S., Mayer, E. L., ... & Burstein, H. J. (2013). Personalized Medicine In Breast Cancer: Tamoxifen, Endoxifen, And CYP2D6 In Clinical Practice. *Breast Cancer Research And Treatment*, 141, 421-427.
257. Sánchez-Jiménez, F., Pérez-Pérez, A., De La Cruz-Merino, L., & Sánchez-Margalet, V. (2019). Obesity And Breast Cancer: Role Of Leptin. *Frontiers In Oncology*, 9, 596.
258. Sancho-Garnier, H., & Colonna, M. (2019). *Breast Cancer Epidemiology*. Presse Medicale (Paris, France: 1983), 48(10), 1076-1084.

- 259.** Sancho-Garnier, H., & Colonna, M. (2019). *Épidémiologie Des Cancers Du Sein*. La Presse Médicale, 48(10), 1076-1084.
- 260.** Sando, Z., Fouogue, J. T., Fouelifack, F. Y., Fouedjio, J. H., Mboudou, E. T., & Essame, J. L. O. (2014). Profil Des Cancers Gynécologiques Et Mammaires A Yaoundé-Cameroun. *Pan African Medical Journal*, 17(1).
- 261.** Sanogo, B. (2022). *Adénofibrome Du Sein: Aspects Clinique Et Thérapeutique*.
- 262.** Saridakis, A., Berger, E. R., Harigopal, M., Park, T., Horowitz, N., Le Blanc, J., ...& Lannin, D. R. (2021). Apocrine Breast Cancer: Unique Features Of A Predominantly Triple-Negative Breast Cancer. *Annals Of Surgical Oncology*, 28(10), 5610-5616.
- 263.** Sarré B, Ogougbèmy M, Dotou C, Lopy J, Ndionne P, Frank K, Drave K, Diouf MB., And Epidemiological, Therapeutic And Prognostic Aspects Of Breast Cancer: About 473 Cases Collected In Hospital Principal De Dakar. *Dakar Med*. 2006; 51, 2: 92-6.
- 264.** Sayad, S., Ahmadi, S. A. Y., Moradi, M., Nekouian, R., Anbari, K., & Shahsavari, F. (2020). A Meta-Analysis On Diagnostic Accuracy Of Serum HLA-G Level In Breast Cancer. *Expert Review Of Precision Medicine And Drug Development*, 5(2), 109-114.
- 265.** Schneeweiss, A., Chia, S., Hickish, T., Harvey, V., Eniu, A., Hegg, R., ...& Cortés, J. (2013). Pertuzumab Plus Trastuzumab In Combination With Standard Neoadjuvant Anthracycline-Containing And Anthracycline-Free Chemotherapy Regimens In Patients With HER2-Positive Early Breast Cancer: A Randomized Phase II Cardiac Safety Study (TRYPHAENA). *Annals Of Oncology*, 24(9), 2278-2284.
- 266.** Schroth, W., Antoniadou, L., Fritz, P., Schwab, M., Muerdter, T., Zanger, U. M., ... & Brauch, H. (2007). Breast Cancer Treatment Outcome With Adjuvant Tamoxifen Relative To Patient CYP2D6 And CYP2C19 Genotypes. *Journal Of Clinical Oncology*, 25(33), 5187-5193.
- 267.** Schroth, W., Winter, S., Mürdter, T., Schaeffeler, E., Eccles, D., Eccles, B., ...& Brauch, H. (2017). Improved Prediction Of Endoxifen Metabolism By CYP2D6 Genotype In Breast Cancer Patients Treated With Tamoxifen. *Frontiers In Pharmacology*, 8, 582.
- 268.** Senhadji, R., & El Kébir, F. Z. (2010). Statut Hormonal, Obésité, Age Et Risque De Cancer Du Sein: Résultats D'une Etude Cas-Témoins Sur Une Population De L'ouest De l'Algérie. *Journal Africain Du Cancer/African Journal Of Cancer*, 2(2), 72-76.
- 269.** Sestak, I., Distler, W., Forbes, J. F., Dowsett, M., Howell, A., & Cuzick, J. (2010). Effect Of Body Mass Index On Recurrences In Tamoxifen And Anastrozole Treated Women: An Exploratory Analysis From The ATAC Trial. *Journal Of Clinical Oncology*, 28(21), 3411-3415.

270. Sim, S. C., Nordin, L., Andersson, T. M. L., Viriding, S., Olsson, M., Pedersen, N. L., & Ingelman-Sundberg, M. (2010). Association Between CYP2C19 Polymorphism And Depressive Symptoms. *American Journal Of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 153(6), 1160-1166.
271. Simpson, E. R., Mahendroo, M. S., Means, G. D., Kilgore, M. W., Hinshelwood, M. M., Graham- Lorence, S., ... & Bulun, S. E. (1994). Aromatase Cytochrome P450, The Enzyme Responsible For Estrogen Biosynthesis. *Endocrine Reviews*, 15(3), 342-355.
272. Singletary, S. E., Allred, C., Ashley, P., Bassett, L. W., Berry, D., Bland, K. I., ...& Greene, F. L. (2002). Revision Of The American Joint Committee On Cancer Staging System For Breast Cancer. *Journal Of Clinical Oncology*, 20(17), 3628-3636.
273. Sistonen, J., Sajantila, A., Lao, O., Corander, J., Barbujani, G., & Fuselli, S. (2007). CYP2D6 Worldwide Genetic Variation Shows High Frequency Of Altered Activity Variants And No Continental Structure. *Pharmacogenetics And Genomics*, 17(2), 93-101.
274. Slomian, J., Bruyère, O., Reginster, J. Y., & Emonts, P. (2017). The Internet As A Source Of Information Used By Women After Childbirth To Meet Their Need For Information: A Web-Based Survey. *Midwifery*, 48, 46- 52.
275. Sobin, L. H. (2010). International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification Of Malignant Tumours.
276. Solai Elango Damodaran, S. (2012). Chandra Pradhan, Gurusamy Umamaheswaran, Dharanipragada Kadambari, K. Sathyanarayana Reddy, Et Al. *Cancer Chemother Pharmacol*, 70, 75-81.
277. Stearns, V., Johnson, M. D., Rae, J. M., Morocho, A., Novielli, A., Bhargava, P., ...& Flockhart, D. A. (2003). Active Tamoxifen Metabolite Plasma Concentrations After Coadministration Of Tamoxifen And The Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Paroxetine. *Journal Of The National Cancer Institute*, 95(23), 1758-1764.
278. Stingl, J. C., Bartels, H., Viviani, R., Lehmann, M. L., & Brockmöller, J. (2014). Relevance Of UDP-Glucuronosyltransferase Polymorphisms For Drug Dosing: A Quantitative Systematic Review. *Pharmacology & Therapeutics*, 141(1), 92-116.
279. Stratton, M. R., & Rahman, N. (2008). The Emerging Landscape Of Breast Cancer Susceptibility. *Nature Genetics*, 40(1), 17-22.
280. Sugimoto, M., Hira, D., Murata, M., Kawai, T., & Terada, T. (2020). Effect Of Antibiotic Susceptibility And CYP3A4/5 And CYP2C19 Genotype On The Outcome Of Vonoprazan-Containing Helicobacter Pylori Eradication Therapy. *Antibiotics*, 9(10), 645.
281. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates Of Incidence And Mortality Worldwide For 36 Cancers In 185 Countries. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 71(3), 209-249.

- 282.** Sung, X., Liang, Y., Sang, Y., Li, Y., Zhang, H., Chen, B., ...& Yang, Q. (2020). Circhmcu Promotes Proliferation And Metastasis Of Breast Cancer By Sponging The Let-7 Family. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 20, 518-533.
- 283.** Suzuki, T., Matsuo, K., Sawaki, A., Wakai, K., Hirose, K., Ito, H., ...& Tajima, K. (2007). Influence Of Smoking And CYP2C19 Genotypes On H. Pylori Eradication Success. *Epidemiology & Infection*, 135(1), 171- 176.
- 284.** Sylla, S. (2021). Profil Evolutif Des Cancers Du Sein Traité En Radiothérapie En Fonction Des Récepteurs Hormonaux Et Du Statut HER2 (Doctoral Dissertation, USTTB).
- 285.** Sylvain, E. M. O. (2004). Thèse Pour Le Doctorat En Médecine.
- 286.** Tahari, Z. (2008). Etude Histopathologique Et Immunohistochimique Des Cancers Mammaires: A Propos De 50 Cas (Doctoral Dissertation, Université d'Oran I-Ahmed Ben Bella).
- 287.** Takaoka, M., & Miki, Y. (2018). BRCA1 Gene: Function And Deficiency. *International Journal Of Clinical Oncology*, 23(1), 36-44.
- 288.** Teunissen, S. F., Rosing, H., Seoane, M. D., Brunsveld, L., Schellens, J. H. M., Schinkel, A. H., & Beijnen, J. H. (2011). Investigational Study Of Tamoxifen Phase I Metabolites Using Chromatographic And Spectroscopic Analytical Techniques. *Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis*, 55(3), 518-526.
- 289.** Teymourzadeh, A., Mansouri, S., Farahmand, L., Hosseinzade, A., & Majidzadeh-A, K. (2017). ER-A36 Interactions With Cytosolic Molecular Network In Acquired Tamoxifen Resistance. *Clinical Breast Cancer*, 17(6), 403-407.
- 290.** Thiam, M. D., & Traoré, M. (2002). Cancer Du Sein: Etude Clinique Dans Le Service De Gynéco-Obstétrique De l'Hôpital National Du Point G: 43 Cas (Doctoral Dissertation, Doctoral Dissertation, Thèse Médecine. Faculté De Médecine, De Pharmacie Et d'Odontostomatologie. Bamako).
- 291.** Thomas, T. J., Thomas, T., John, S., Hsu, H. C., Yang, P., Keinänen, T. A., & Hyvönen, M. T. (2016). Tamoxifen Metabolite Endoxifen Interferes With The Polyamine Pathway In Breast Cancer. *Amino Acids*, 48(10), 2293-2302.
- 292.** Thum, T., Erpenbeck, V. J., Moeller, J., Hohlfeld, J. M., Krug, N., & Borlak, J. (2006). Expression Of Xenobiotic Metabolizing Enzymes In Different Lung Compartments Of Smokers And Nonsmokers. *Environmental Health Perspectives*, 114(11), 1655-1661.
- 293.** Tlemsani, C., & Delalogue, S. (2014). Identification Et Prise En Charge D'un Haut Risque De Cancer Du Sein. *État Des Lieux 2014. Oncologie*, 16(9), 413-418.
- 294.** Tonato Bagnanda, Gnagnon F., Lokossou M.S., Akouala G.P, Mehindo D.K, Olory Togbe J.L, Lokossou A., Perrin R.X., Les Cancers Du Sein Hormono – Dépendants : Aspects Epidémiologies Et Anatomocliques Au CHU-MEL Et Au CHU- HKM De Bénin, Abstract, 25ième Congrès De La SAGO, SOMAGO II, Sénégal, 2016 ,46.
- 295.** Toscano, C., Klein, K., Bliedernicht, J., Schaeffeler, E., Saussele, T., Raimundo, S., ...& Zanger, U. M. (2006). Impaired Expression Of CYP2D6 In Intermediate Metabolizers Carrying The* 41 Allele Caused By The

- Intronic SNP 2988G>A: Evidence For Modulation Of Splicing Events. *Pharmacogenetics And Genomics*, 16(10), 755-766.
- 296.** Traore, B., Diarra, A. M., & Keita, M. (2020). Complications Of Breast Cancer Surgery At Conakry Oncological Surgery Unit. *The Pan African Medical Journal*, 37(327).
- 297.** Tsang, J., & Tse, G. M. (2020). Molecular Classification Of Breast Cancer. *Advances In Anatomic Pathology*, 27(1), 27-35.
- 298.** Tucker, A. N., Tkaczuk, K. A., Lewis, L. M., Tomic, D., Lim, C. K., & Flaws, J. A. (2005). Polymorphisms In Cytochrome P4503A5 (CYP3A5) May Be Associated With Race And Tumor Characteristics, But Not Metabolism And Side Effects Of Tamoxifen In Breast Cancer Patients. *Cancer Letters*, 217(1), 61-72.
- 299.** Turcotte, R., Alcindor, T., & Roberge, D. (2006). Les Sarcomes Des Parties Molles. In *Thérapeutique Du Cancer* (Pp. 615-633).
- 300.** Turnbull, C., & Rahman, N. (2008). Genetic Predisposition To Breast Cancer: Past, Present, And Future. *Annual Review Of Genomics And Human Genetics*, 9(1), 321-345.
- 301.** Ueda, S., Takanashi, M., Sudo, K., Kanekura, K., & Kuroda, M. (2020). Mir-27a Ameliorates Chemoresistance Of Breast Cancer Cells By Disruption Of Reactive Oxygen Species Homeostasis And Impairment Of Autophagy. *Laboratory Investigation*, 100(6), 863-873.
- 302.** Vandermoere, F. (2005). Protéomique Fonctionnelle De La Signalisation De La Kinase AKT Dans Le Cancer Du Sein (Doctoral Dissertation, Université De Lille).
- 303.** Verbeke, S., Meignan, S., Lagadec, C., Germain, E., Hondermarck, H., Adriaenssens, E., & Le Bourhis, X. (2010). Overexpression Of P75^{ntr} Increases Survival Of Breast Cancer Cells Through P21^{waf1}. *Cellular Signalling*, 22(12), 1864-1873.
- 304.** Vitresia, H. (2020). Polymorphisms Of CYP1A1 Genes And Its Correlation With Clinical Variant Of Pterygium. *Borneo Epidemiology Journal*, 1(2), 116-123.
- 305.** Bouzoubaa, W., Laadioui, M., Jayi, S., Alaoui, F. Z., Bouguern, H., Chaara, H., & Melhouf, M. A. (2015). Oncoplastie With Breast Conservation In Breast Cancer Treatment: About 16 Cases. *The Pan African Medical Journal*, 20, 180-180.
- 306.** Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. *Jama*, 321(3), 288-300.
- 307.** Walshe, J. M., Denduluri, N., Berman, A. W., Rosing, D. R., & Swain, S. M. (2006). A Phase II Trial With Trastuzumab And Pertuzumab In Patients With HER2-Overexpressed Locally Advanced And Metastatic Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*, 6(6), 535-539..
- 308.** Wang, D., Poi, M. J., Sun, X., Gaedigk, A., Leeder, J. S., & Sadee, W. (2014). Common CYP2D6 Polymorphisms Affecting Alternative Splicing And Transcription: Long-Range Haplotypes With Two Regulatory Variants Modulate CYP2D6 Activity. *Human Molecular Genetics*, 23(1), 268-278.

- 309.** Wang, G., Platt-Higgins, A., Carroll, J., De Silva Rudland, S., Winstanley, J., Barraclough, R., & Rudland, P. S. (2006). Induction Of Metastasis By S100P In A Rat Mammary Model And Its Association With Poor Survival Of Breast Cancer Patients. *Cancer Research*, 66(2), 1199-1207.
- 310.** Wegman, P., Vainikka, L., Stål, O., Nordenskjöld, B., Skoog, L., Rutqvist, L. E., & Wingren, S. (2005). Genotype Of Metabolic Enzymes And The Benefit Of Tamoxifen In Postmenopausal Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Research*, 7(3), 1-7.
- 311.** Whirl-Carrillo, M., Huddart, R., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Whaley, R., & Klein, T. E. (2021). An Evidence-Based Framework For Evaluating Pharmacogenomics Knowledge For Personalized Medicine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 110(3), 563-572.
- 312.** Whirl-Carrillo, M., Huddart, R., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Whaley, R., & Klein, T. E. (2021). An Evidence-Based Framework For Evaluating Pharmacogenomics Knowledge For Personalized Medicine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 110(3), 563-572.
- 313.** White, C., Scott, R., Paul, C. L., & Ackland, S. P. (2022). Pharmacogenomics In The Era Of Personalised Medicine. *Medical Journal Of Australia*.
- 314.** Woo, J. C., Yu, T., & Hurd, T. C. (2003). Breast Cancer In Pregnancy: A Literature Review. *Archives Of Surgery*, 138(1), 91-98.
- 315.** World Cancer Research Fund, & American Institute For Cancer Research. (2007). Food, Nutrition, Physical Activity, And The Prevention Of Cancer: A Global Perspective (Vol. 1). Amer Inst For Cancer Research.
- 316.** Ximenez, J. P. B., De Andrade, J. M., Marques, M. P., Coelho, E. B., Suarez-Kurtz, G., & Lanchote, V. L. (2019). Hormonal Status Affects Plasma Exposure Of Tamoxifen And Its Main Metabolites In Tamoxifen-Treated Breast Cancer Patients. *BMC Pharmacology And Toxicology*, 20, 1-10.
- 317.** Xu Y., Sun Y., Yao L., Shi L., Wu Y., Ouyang T., Et Al. Association Between CYP2D6 *10 Genotype And Survival Of Breast Cancer Patients Receiving Tamoxifen Treatment. *Annals Of Oncology*, 2008;19(8):1423–1429.
- 318.** Yager, J. D., & Davidson, N. E. (2006). Estrogen Carcinogenesis In Breast Cancer. *New England Journal Of Medicine*, 354(3), 270-282.
- 319.** Yakhni, M., Briat, A., El Guerrab, A., Furtado, L., Kwiatkowski, F., Miot-Noirault, E., ... & Radosevic-Robin, N. (2019). Homoharringtonine, An Approved Anti-Leukemia Drug, Suppresses Triple Negative Breast Cancer Growth Through A Rapid Reduction Of Anti-Apoptotic Protein Abundance. *American Journal Of Cancer Research*, 9(5), 1043.
- 320.** Yang, L., Price, E. T., Chang, C. W., Li, Y., Huang, Y., Guo, L. W., ... & Ning, B. (2013). Gene Expression Variability In Human Hepatic Drug Metabolizing Enzymes And Transporters. *Plos One*, 8(4), E60368.
- 321.** Young, J. W., & Juurlink, D. N. (2013). Tramadol. *Cmaj*, 185(8), E352-E352.
- 322.** Zekri, A. (2021). Une Etude Computationnelle Des Relations Structureactivité D'un Ensemble De Composés A Visées Thérapeutiques (Doctoral Dissertation, Université De Mohamed Kheider Biskra).

323. Zhan, C., Shen, S., Yang, C., Liu, Z., Fernie, A. R., Graham, I. A., & Luo, J. (2022). Plant Metabolic Gene Clusters In The Multi-Omics Era. *Trends In Plant Science*.
324. Zhao, K., Singh, S., & Singh, J. (2001). Effect Of Menthone On The In Vitro Percutaneous Absorption Of Tamoxifen And Skin Reversibility. *International Journal Of Pharmaceutics*, 219(1-2), 177-181.
325. Zoure, A. A. (2017). Etude De Facteurs De Risques Génétiques Du Cancer Du Sein Chez Des Femmes Burkinab.

Annexes

Annexe I : classifications des cancers du sein

Tableau I : classification histologique des carcinomes mammaires selon l’OMS
(Tavassoli *et al.*, 2003).

Tumeurs épithéliales non infiltrantes
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome canalaire <i>in situ</i> (intra-canalaire) (CCIS)• Carcinome lobulaire <i>in situ</i> (CLIS)
Tumeurs épithéliales infiltrantes
<ul style="list-style-type: none">• Carcinome canalaire infiltrant de forme commune• Carcinome canalaire infiltrant avec composante intra-canalaire prédominante• Carcinome lobulaire infiltrant• Carcinome mucineux• Carcinome médullaire• Carcinome papillaire• Carcinome tubuleux• Carcinome adénoïde kystique• Carcinome sécrétant juvénile• Carcinome apocrine• Carcinome métaplasique de type épidermoïde• Carcinome métaplasique de type à cellules fusiformes• Carcinome métaplasique de type chondroïde et osseux• Carcinome métaplasique de type mixte• Maladie de Paget du mamelon

Tableau II : classification TNM des cancers du sein (Franchet *et al.*, 2015).

T – tumeur primitive	
TX	Tumeur ne peut être évaluée ou est démontrée par la présence de cellules malignes dans les expectorations ou un lavage bronchique sans visualisation de la tumeur par des examens d'endoscopie ou d'imagerie
T0	Pas d'évidence de tumeur primitive
Tis	Carcinome <i>in situ</i>
T1	Tumeur de 3 cm ou moins dans sa plus grande dimension, entourée par le poumon ou la plèvre viscérale, sans évidence bronchoscopique d'invasion plus proximale que la bronche lobaire (c.à.d. pas la bronche souche)
T1a	Tumeur de 2 cm ou moins dans sa plus grande dimension
T1b	Tumeur de plus de 2 cm sans dépasser 3 cm dans sa plus grande dimension
T2	Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension ou présentant des caractéristiques suivantes* : <ul style="list-style-type: none"> - atteinte de bronche souche à 2 cm ou plus de la carène - invasion de la plèvre viscérale - présence d'une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive s'étendant à la région hilare sans atteindre l'ensemble du poumon
T2a	Tumeur de plus de 3 cm sans dépasser 5 cm dans sa plus grande dimension
T2b	Tumeur de plus de 5 cm sans dépasser 7 cm dans sa plus grande dimension
	* les tumeurs avec ces caractéristiques sont classées T2a si leur dimension est de 5 cm ou moins
T3	Tumeur de plus de 7 cm ; ou envahissant directement une des structures suivantes : paroi thoracique (y compris la tumeur de Pancoast), diaphragme, nerf phrénique, plèvre médiastinale, péricarde ; ou une tumeur dans la bronche souche à moins de 2 cm de la carène sans l'envahir ; ou associée à une atélectasie ou une pneumopathie obstructive du poumon entier ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans le même lobe
T4	Tumeur de toute taille envahissant directement une des structures suivantes : médiastin, cœur, grands vaisseaux, trachée, nerf laryngé récurrent, œsophage, corps vertébral, carène ; nodule tumoral distinct dans un autre lobe ipsilatéral

N – ganglions lymphatiques régionaux	
NX	Ganglions ne peuvent être évalués
N0	Pas de métastase ganglionnaire lymphatique régionale
N1	Métastase dans les ganglions lymphatiques péribronchiques, hilaires et/ou intrapulmonaires du côté du poumon atteint, y compris par envahissement direct
N2	Métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux et/ou sous-carénaux du côté du poumon atteint
N3	Métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux ou hilaires contralatéraux, scalènes ou sus-claviculaires ipsilatéraux ou contralatéraux
M – métastase à distance	
MX	Métastase à distance ne peut être évaluée
M0	Pas de métastase à distance
M1	Métastase à distance
M1a	Nodule(s) tumoral distinct dans un lobe contralatéral ; tumeur avec nodules pleuraux ou épanchement pleural malin (ou péricarde)
M1b	Métastases extrathoraciques

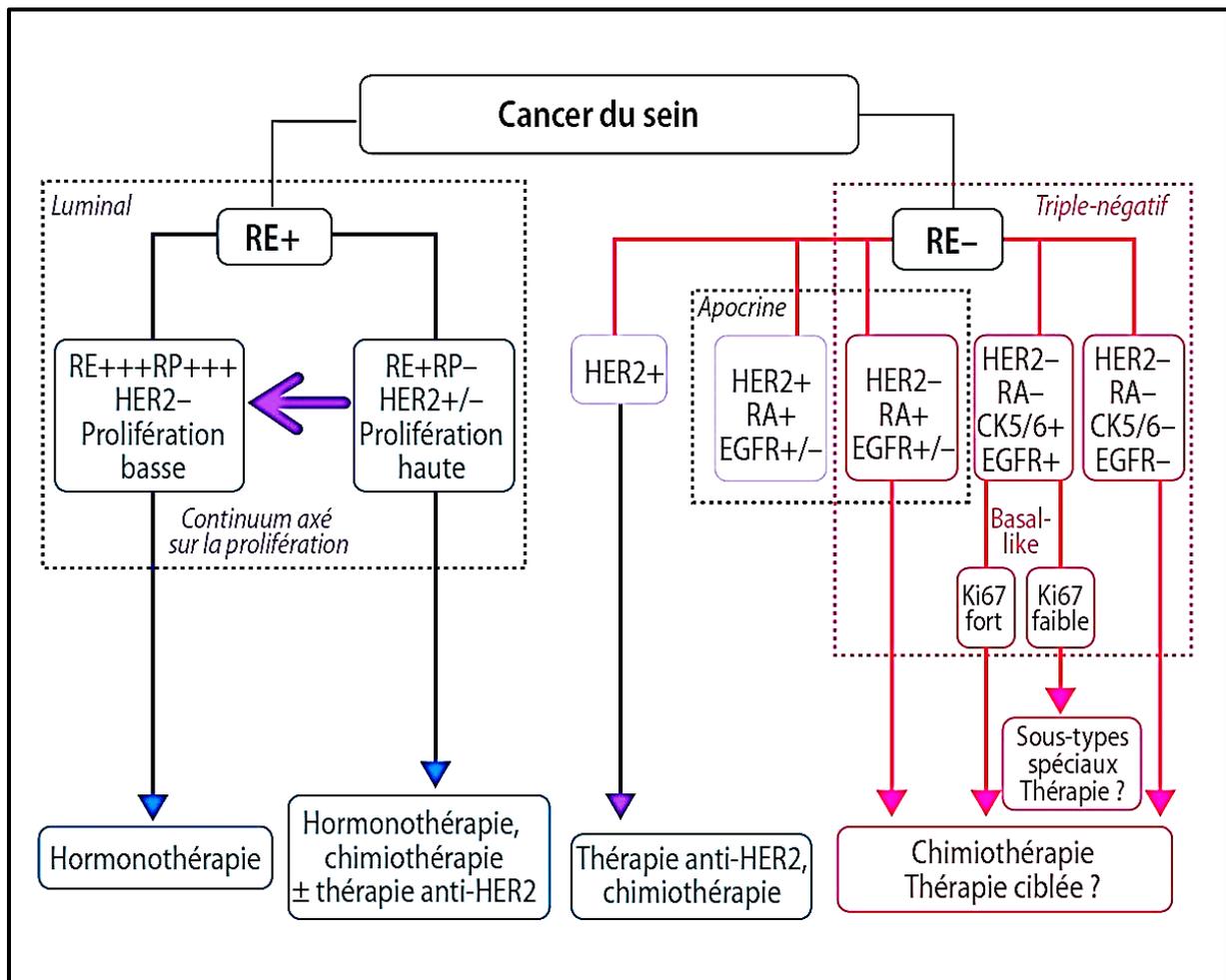
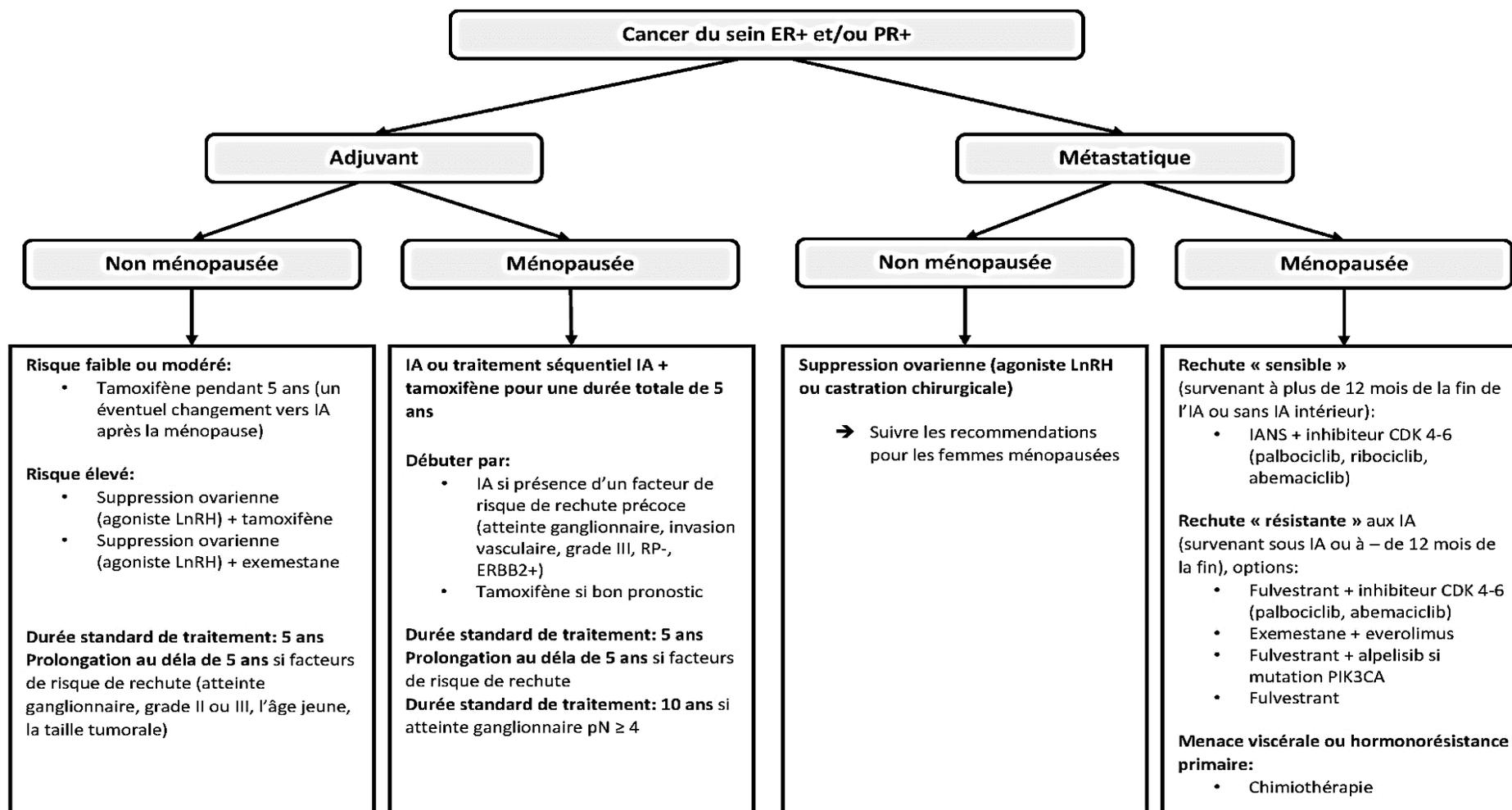


Figure 01 : classification moléculaire des cancer du sein (Lamy *et al.*, 2010).

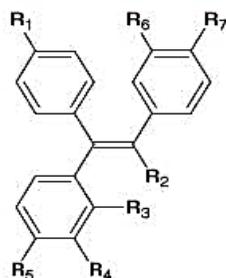
Annexe II : stratégie thérapeutiques recommandées en France pour la prise en charge des cancers du sein ER+ et/ou PR+ (Penault-Llorca, 2014)



CDK 4-6 : kinases 4 et 6 dépendantes des cyclines. **IA** : inhibiteur de l'aromatase. **IANS** : inhibiteur de l'aromatase non-stéroïdien. **LnRH** : hormone de libération de la lutéino-stimuline. **PIK3Ca** : unité α de la phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate kinase.

Annexe III : structure, métabolisme et caractéristiques pharmacologiques des métabolites majeurs du tamoxifène

Tableau 01 : structures chimiques du tamoxifène et ses métabolites majeurs de phase I (d'après Teunissen *et al.*, 2011).



Composé	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Formule chimique	Masse molaire
Tamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ NO	371.5
<i>N</i> -desmethyltamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -NH-CH ₃	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	H	C ₂₅ H ₂₇ NO	357.5
<i>NN</i> -didesmethyltamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	H	C ₂₄ H ₂₅ NO	343.5
4-hydroxytamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	OH	H	H	C ₂₆ H ₂₉ NO ₂	387.5
4'-hydroxytamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	OH	C ₂₆ H ₂₉ NO ₂	387.5
<i>N</i> -desmethyl-4-hydroxytamoxifène (endoxifène)	O-CH ₂ -CH ₂ -NH-CH ₃	CH ₂ -CH ₃	H	H	OH	H	H	C ₂₅ H ₂₇ NO ₂	373.5
<i>N</i> -desmethyl-4'-hydroxytamoxifène (<i>Z'</i> -endoxifène)	O-CH ₂ -CH ₂ -NH-CH ₃	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	OH	C ₂₅ H ₂₇ NO ₂	373.5
<i>NN</i> -didesmethyl-4- hydroxytamoxifène (norendoxifène)	O-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	OH	H	H	C ₂₄ H ₂₅ NO ₂	359.5
α -hydroxytamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	CH(OH)-CH ₃	H	H	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ NO ₂	387.5
3-hydroxytamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	CH ₂ -CH ₃	H	OH	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ NO ₂	387.5
<i>N</i> -oxyde tamoxifène	O-CH ₂ -CH ₂ -NO(CH ₃) ₂	CH ₂ -CH ₃	H	H	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ NO ₂	387.5

Tableau 02 : caractéristiques pharmacologiques des métabolites majeurs du tamoxifène (d'après Brauch *et al.*, 2009).

Composé	C_{ss} (nmol/L) ^a	Activité anti-ER	Affinité envers les ER ^b
Tamoxifène	428.3 ± 157.3	+	+ (2%)
<i>N</i> -desmethyltamoxifène	762.8 ± 297.5	+	+ (1%)
<i>N,N</i> -didesmethyltamoxifène	98.0 ± 42.1	+	Faible
4-hydroxytamoxifène	5.81 ± 2.17	+++	+++
4'-hydroxytamoxifène	9.12 ± 3.53	+	---
Endoxifène	29.1 ± 14.4	+++	+++
<i>Z'</i> -endoxifène	21.3 ± 8.0	+	---
α -hydroxytamoxifène	1.03 ± 0.59	-	-
3-hydroxytamoxifène	0.72 ± 0.33	+	---
<i>N</i> -oxyde tamoxifène	31.2 ± 16.1	+	+

+ faible, +++ forte, - absente, - - - inconnue

a concentrations plasmatiques à l'état d'équilibre chez les patientes traitées par une dose de 20 mg/jour,

b estradiol = 100%

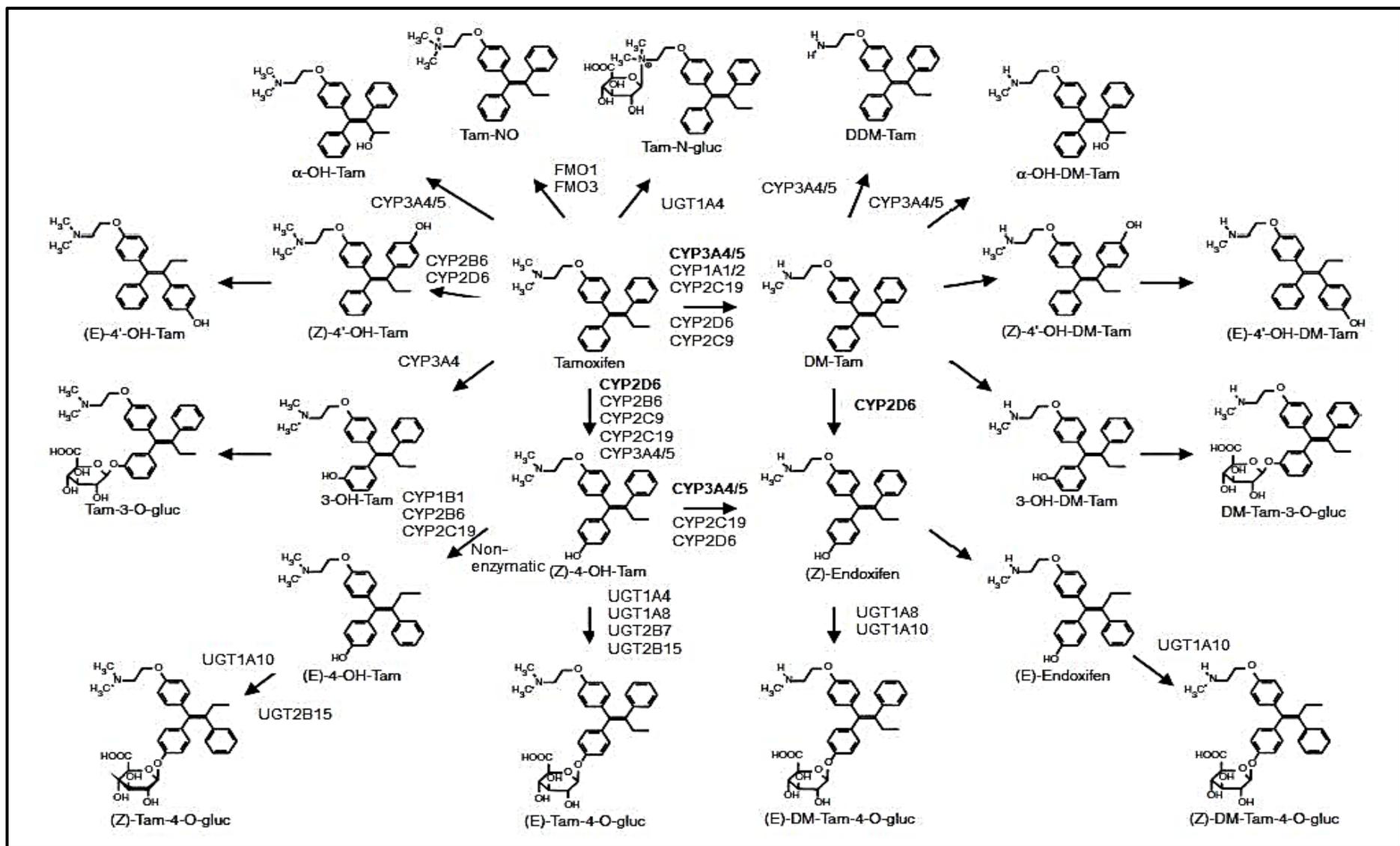


Figure 01 : schéma de la métabolisation du tamoxifène (d'après Murdter *et al.*, 2011).

Fiche de prise en charge

Patientes sous tamoxifène

Date du questionnaire

Service

OM

RT

Numéro du dossier

Initiales de la patiente

Age

poids

taille

Profession

lieu de naissance

Adresse

Tel :

Situation familiale

M

C

D

V

Date de la consultation

ATCD personnel

HTA

DID

DNID

Autres

ATCD familiaux

Activité génital	AG+	<input type="checkbox"/>	AG-	<input type="checkbox"/>	
Age Ménarche	Age de mariage		Age 1ere grossesse		
Nbre d'enfants vivants	Nbre de gestes		Nbre ABRT		
Contraception	Oui	<input type="checkbox"/>	Non	<input type="checkbox"/>	Type
Tabac	Passif	<input type="checkbox"/>	Actif	<input type="checkbox"/>	
Statut socioéconomique	Haut	<input type="checkbox"/>	Moyen	<input type="checkbox"/>	Bas <input type="checkbox"/>
Evolution de la maladie	Mois				
CDD de la maladie					
Type du cancer					
Date de l'hormonothérapie					<input type="text"/>
Date de la rechute					<input type="text"/>
Date du prélèvement biochimique					<input type="text"/>
Date du prélèvement d'ADN					<input type="text"/>
Type de la rechute	locale	<input type="checkbox"/>	GGaire	<input type="checkbox"/>	distance <input type="checkbox"/>
Date dernière consultation					<input type="text"/>
Etat dernière consultation	sans maladie	<input type="checkbox"/>	avec maladie	<input type="checkbox"/>	
Date du décès					<input type="text"/>

Annexe V : consentement pour utilisation de données biologiques

Melle BOUCENNA Amira

Doctorante en génétique moléculaire

Département de Biologie Animale - Faculté SNV

Université des frères Mentouri - Constantine I

Tel : 07 76 75 67 10 / Courriel : boucenna.amira@umc.edu.dz

Je soussigné : née le/...../..... à

Certifie avoir reçu de **Mrs BOUCENNA Amira** une information exhaustive et compréhensible concernant les causes possibles de mon problème de santé. J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais.

J'ai compris qu'une analyse génétique m'est proposée à partir d'un prélèvement sanguin duquel mon ADN sera extrait. Cette analyse a pour but de déterminer si mon génome présente une anomalie ou une variation en rapport avec mon problème de santé. J'ai bien compris les implications possibles de cette étude et je pourrais obtenir, si je le souhaitais, toute information complémentaire. Il m'a été précisé qu'une partie de cette analyse génétique se fera à l'étranger.

Les résultats de ces analyses me seront transmis si je le désire. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'avec mon autorisation exclusive.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande.

J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale et/ou biologique sans restriction sous couvert d'anonymat.

Fait à le/...../.....

Signature de l'intéressé

Signature du Médecin

Consentement établi selon la déclaration d'Helsinki : Principes éthiques applicables aux recherches médicales sur des sujets humains. 1964.

En accord avec les recommandations du Conseil national de l'éthique des sciences de la santé Algérien.

En accord avec les recommandations décrites dans l'article R1131-4 du code de santé publique Français.

RESEARCH

Open Access



Influence of CYP2D6, CYP2C19 and CYP3A5 polymorphisms on plasma levels of tamoxifen metabolites in Algerian women with ER⁺ breast cancer

Amira Boucenna^{1,2*} , Khadidja Boudaoud³, Ahmed Hireche⁴, Mohamed Larbi Rezgoune¹, Nouredine Abadi², Taha Filali⁵ and Dalila Satta¹

Abstract

Background: Tamoxifen, a selective estrogen receptor modulator, is indicated for breast cancer developed in response to estrogen.

Findings: In the current study we explored the relationship between the different variants of *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP3A5* and plasma Endoxifen levels in Algerian patients with ER⁺ breast cancer. We further conducted the relationship between the candidate genes and the recurrences rate. Endoxifen levels differed significantly ($p < .005$) between carriers of two functional alleles and patients genotyped as *CYP2D6*10*, *CYP2D6*17*, *CYP2D6*41* or *CYP2D6*5/*5*. Patients with elevated Endoxifen concentrations were significantly more likely to not report recurrences than patients with reduced or nul alleles. Such nul/nul, red/red, and red/nul diplotypes have been associated with a higher rate of recurrences than other genotypes during treatment.

Conclusion: Our findings suggest that the *CYP2D6* genotype should be considered in tamoxifen-treated women. While quantitatively, *CYP2D6* represents only a minor fraction of the total drug metabolizing capacity of the liver, it is polymorphic and, therefore, may alter the balance of metabolism of tamoxifen toward the activation pathways. Breast cancer patients with the *CYP2D6* nul/nul or red/nul diplotype may benefit less from Tamoxifen treatment and are more likely to develop recurrences. Comprehensive *CYP2D6* genotyping has a good predictive value for *CYP2D6* activity. Common variants in *CYP2C19* and *CYP3A5* did not have a significant impact on the recurrences in this cohort of patients with ER⁺ breast cancer.

Keywords: Breast cancer, Tamoxifen, Endoxifen, CYP2D6, Pharmacogenetics

Introduction

Breast cancer is a multidisciplinary disease that is the leading cause of death in women globally in 2018. Breast cancer will be diagnosed in over 3 million women by

2040, according to projections [1–5]. In Algeria, the incidence rate was 12,536 new cases in 2020 [5].

Tamoxifen, a Selective Estrogen Receptor Modulator (SERM), is recommended for breast cancer patients that are classified as Estrogen Receptor Positive Breast Cancer (ER⁺) [6–9], as it greatly reduces the risk of recurrence up to 15 years with 12% and the mortality risk by 9% [10, 11]. It is known as one of the drugs that revealed germline pharmacogenomics (PGx) level association of interest [12–14]. A person who inherited PGx variants

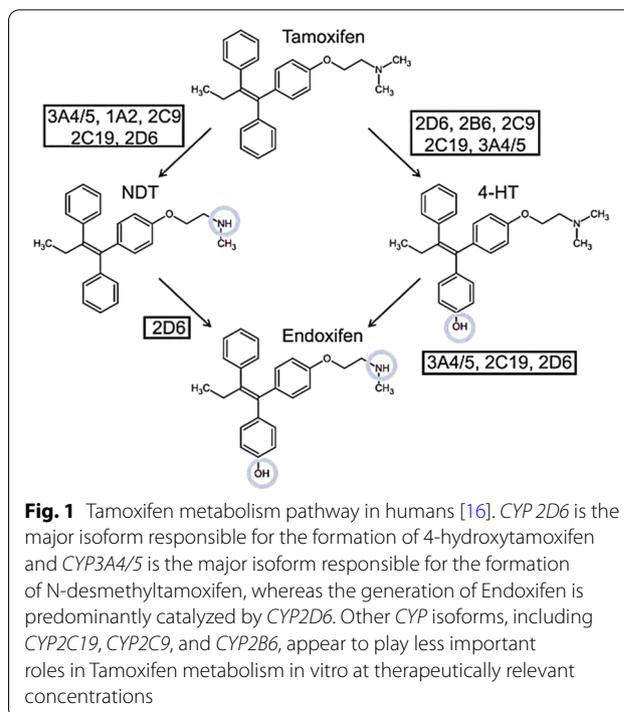
*Correspondence: boucenna.amira@umc.edu.dz

¹ Department of Animal Biology, Laboratory of Molecular and Cellular Biology, University Constantine 1, 25000 Constantine, Algeria
Full list of author information is available at the end of the article

associated with decreased enzyme activity may require nonstandard dosing or may benefit from avoiding certain drugs [15]. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) has recently published a level of evidence for PGx drug–gene combinations' clinical actionability, where the highest levels are A and B, displaying that nonstandard doses or alternative therapies are crucial in the administration of drugs (<https://cpic.org/genes-drugs/>) (accessed on May 1, 2022). However, levels C and D are not linked with any genetically based prescribing changes. Moreover, three degrees of extent have been published by the US Food and Drug Administration (FDA's) recently, reporting that degree 1 is most clinically actionable (<https://www.fda.gov/medwatch/precision-medicine/tablepharmacogenetic-associations>) (accessed on May 1, 2022). More than 87 drugs metabolized involve *CYP2C9*, *CYP2C19*, and/or *CYP2D6*. Their significance is the consequence of the high genetic variations that impact drug metabolism. The overall prevalence of inter-variability of *CYP* genes leads to 5 different categories of metabolic phenotype, ranging from no enzyme activity to increased enzyme activity: Poor Metabolizer (PM), Intermediate Metabolizer (IM), Normal Metabolizer (NM), Rapid Metabolizer (RM), and Ultra Rapid Metabolizer (URM) [16, 17].

Tamoxifen metabolism occurs via two pathways: 4-hydroxylation and N-demethylation (Fig. 1). The 4-hydroxylation pathway leads to the production of 4-hydroxytamoxifen, which is approximately 30–100 fold more potent in the suppression of tumor cells than tamoxifen itself [16]. It is catalyzed by multiple *CYPs*, including *CYP2D6*. However, this pathway accounts for about 7% of tamoxifen metabolism. On the other hand, the N-demethylation pathway leads to the formation of N-desmethyltamoxifen, considered the most potent metabolite since its concentration in plasma is 6 to 12 times higher if compared with 4-hydroxytamoxifen. Furthermore, it has the lowest IC₅₀ (inhibitor concentration) at the ERs (estrogen receptor) [18]. It is essentially catalyzed by *CYP3A4* and *CYP3A5*; and contributes for nearly 92% of tamoxifen's metabolism [16].

CYP2D6/tamoxifen has been rated as the most important gene/drug-type pair as surveyed by the American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics members in 2010 [19]. Currently, approximately 150 single nucleotide polymorphisms (SNPs) and 100 allelic variants are described [13], resulting in increased to nonfunctional alleles. The most important intermediate metabolizer (IM) alleles are *CYP2D6**10 (100C>T), *CYP2D6**17 (1022C>A), (1022C>T), *CYP2D6**35 (31G>A), *CYP2D6**39 (4181G>C), and *CYP2D6**41 (1662G>); (2851C>T); (2989G>A); (4181G>C). The allele *CYP2D6**5, consisting of a gene deletion, is representative of a missing enzymatic



activity [20]. Following the Activity Scores (AS) results, in which NM are assigned a value of 2, with decreased activity alleles ranging from 0.25 to 1.5, no enzymatic activity assigned a score of 0.0 [16], in 2019, it was internationally agreed to harmonize the *CYP2D6**1/*4 interpretation from an extensive/normal metabolizer phenotype (CPIC definition until 2017, mostly used in the US) to an intermediate metabolizer phenotype (the definition used by the Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG), mostly used in Europe). The second important change is concerning the *CYP2D6**10 allele, which was downgraded from AS=0.5, comparable to other decreased activity alleles such as *9 and *41, to AS=0.25 [18, 21].

Among the other *CYP* enzymes involved in the biochemical pathway, the influence of *CYP2C19* activity on the disposition of tamoxifen and its metabolites has generated considerable interest [22–25]. Cytochrome P450 2C19 (*CYP2C19*) is located within a cluster of cytochrome P450 genes on chromosome 10 (10q24.1–q24.3) and encodes a 490-amino-acid protein. *CYP2C19* is involved in metabolizing several important therapeutic drugs. Common variants of the *CYP2C19* gene are associated with impaired drug metabolism. Therefore, *CYP2C19**2 (681G>A) and *CYP2C19**3 (636G>A) are the most common alleles, encoding enzymes with decreased activity. However, *CYP2C19**17 alleles (806C>T) and (340C>T) result in increased gene transcription and high enzyme activity [16].

A comprehensive kinetic characterization of tamoxifen sequential metabolism in vitro demonstrated that CYP3A is the major CYP isoform responsible for the formation of N-desmethyltamoxifen [26]. *Cytochrome P450* family 3 subfamily A member 5 is localized on chromosome 7: q22.q22.1. The protein expression is largely attributed to four alleles: *CYP3A5*1*, *CYP3A5*3* (6981A>G), *CYP3A5*6* (624G>A) and *CYP3A5*7* (27126_27127insT), of which only *CYP3A5*1* is associated with CYP3A5 expression; the other three are non-expressed [16].

Although given the lack of clinical trials where patients are receiving Tamoxifen as a part of their adjuvant therapy for hormone receptor-positive breast cancer, according to Algerians population the current data is the first reference to serve for future large-scale PGx studies that improve prescribing decisions before the administration of Tamoxifen, resulting in reducing drug-related adverse events and achieving optimal treatment response. Patients with ER+ breast cancer are analyzed for *CYP2D6*, *CYP2C19*, and *CYP3A5* to test the association with plasma concentrations of tamoxifen and its principal metabolites. Likewise, here we report preliminary data addressing associations of disease recurrence with *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP3A5* genotypes and Endoxifen plasma concentrations in Algerian subjects we have studied in the trial.

Methodology

Study design and patients recruitment

A total of 97 Algerian females with ER+ Breast Cancer (mean age 44, 65±6, 38) were included in the present study between February 2014 and December 2017. All of these patients underwent mastectomy and lumpectomy at the University Hospital Center of Constantine department of Oncology and Radiotherapy and were treated with Tamoxifen (20 mg per day), were recruited between February 2014 and December 2017. Tamoxifen was considered for an average of 30 months (range: 12–77 months), with a median follow-up of 46 months. Our study has been approved by the local Ethics Committee. The use of human blood samples and protocols in this research strictly adheres to the principles expressed in the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all participants or from their family members. The age of the patients ranged between 30 and 60 years old. Patients treated concomitantly with drugs that could act as *CYP2D6* inhibitors were excluded. All patients complete a full course of chemotherapy either during primary surgical treatment or as an adjunct (adjuvant). The clinical characteristics of ER+ breast cancer patients are displayed in Table 1.

Table 1 Relevant Clinico-pathological features of the assessed ER+ Breast cancer patients (n = 97)

Characteristic	Value
Age at breast cancer diagnosis (y), median (range)	44.65 ± 6.38
Age at menarche	12.80 ± 1.82
<i>Family status</i>	
Single	17 (17.5%)
Married	80 (82.5%)
<i>Surgery</i>	
Breast conserving, n (%)	87 (89.7%)
Mastectomy, n (%)	10 (10.3%)
<i>Chemotherapy, n (%)</i>	
Adjuvant	77 (79.3%)
Neo adjuvant	20 (20.7%)
<i>Tumor size</i>	
≤ 2 cm	29 (29.9%)
2 < size ≤ 5 cm	58 (59.8%)
> 5 cm	10 (10.3%)
<i>Grade</i>	
I	8 (8.3%)
II	62 (63.9%)
III	27 (27.8%)
<i>Node status</i>	
pN+, n (%)	90 (92.78%)
pN0, n (%)	7 (7.22%)
<i>HER2 status</i>	
HER2+, n (%)	31 (32%)
HER2-, n (%)	66 (68%)
<i>Histologic type of tumor</i>	
Ductal	2.8%
Lobular	6.9%
Other types	90.3%
<i>Distant metastatic site</i>	
No recurrence	80 (82.5%)
Locally	11 (11.3%)
Metastatic	6 (6.2%)

Tumor size extracted from pathological report, or for neoadjuvant treated patients, the largest size recorded including clinical measurement. Tumors considered ER+ if ≥ 10% of the cells stained positive for the receptor by immunohistochemistry, Grade classified according to the Nottingham histologic grade N+ = regional lymph node metastasis; N0 = no regional lymph node metastasis. RLR relapse loco-region

Sample collection and preparation

Blood samples of each participant were collected into a tube containing ethylenediamine-tetra acetic acid (EDTA). Genomic DNA was extracted from 6-8 mL of peripheral venous blood using the salting out method according to the protocol suggested by Miller and co-workers [27]. Samples had been suspended in 15 ml polypropylene centrifugation tubes with 3 ml of nucleic lysis buffer (10 mM Tris-HCl, 400 mM NaCl, and 2 mM Na²

EDTA, pH 8.2). The cell lysates were digested overnight at 37 °C with 0.2 ml of 10Z SDS and 0.5 ml of a protease K solution (1 mg protease K in 1Z SDS and 2 mM Na²EDTA). After digestion, 1 ml of saturated NaCl (approximately 6 M) was added to each tube and shaken vigorously for 15 s, followed by centrifugation at 2500 rpm for 15 min. The precipitated protein pellet was left at the bottom of the tube and the supernatant containing the DNA was transferred to another 15 ml polypropylene tube. Two volumes of room temperature absolute ethanol were added and the tubes inverted several times until the DNA precipitated. The obtained DNA strands were transferred to a 1.5 ml microcentrifuge tube containing 100–200 µl TE buffer (10 mM Tris–HCl, 0.2 mM Na₂EDTA, pH 7.5). The DNA was allowed to dissolve for 2 h at 37 °C before being quantified. The concentration and purity of DNA samples were measured using a NanoDrop 1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE).

SNP selection and genotype

Because the majority of the subjects enrolled in this study were white and given the lack of data on the *CYPs* in our population, we analyzed the alleles that are common in this population, taking into consideration their positive correlation with plasma concentrations of Tamoxifen and its metabolites in hormone receptor-positive women who were taking Tamoxifen as adjuvant treatment for newly diagnosed breast cancer. SNPs and *indels* were analyzed for the *CYP2D6*, *CYP2C19*, and *CYP3A5* genes. We screened the following alleles for the *CYP2D6* gene: rs35742686 (*3), rs1065852 (*4), rs3892097 (*5), rs5030655 (*6), rs5030656 (*9), rs1065852 (*10), rs28371706 (*17), rs59421388 (*29), rs769258, rs1080985, rs16947, rs1135840 (*35), and rs28371725 (*41) alleles. Variation in the number of copies (CNV) for this gene was also analyzed. According to CNVs for *CYP2D6*, three different regions were interrogated: intron 2, intron 6, and exon 9, together with an internal 2-copy control (RNAse P). Reference (*1), rs10264272 (*6), rs41303343 (*7), and rs776746 (*3) variant alleles for *CYP3A5*; and reference (*1), rs4244285 (*2), rs4986893 (*3), and rs12248560 (*17) alleles for *CYP2C19*. Single Nucleotide Variants (SNVs) were chosen because they are representative of crucial haplotypes associated with altered enzyme activity. The genotyping of SNV was performed by allelic discrimination using TaqMan OpenArray Genotyping with a customized panel on the Quant Studio TM 12 K Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Life Technologies, Carlsbad, USA) according to the protocol recommended. To ensure the genotyping results were analyzed in the ThermoFisher Cloud application. Samples were clustered according to alleles identified with a threshold of 95% confidence. Copy number

variation for *CYP2D6* was analyzed by using TaqMan commercial probes according to the TaqMan Copy Number assay protocol recommended by Applied Biosystems. The data was analyzed using CopyCaller[®] software v.2 and a two-copy as a positive control. The predicted copy number was assessed for the three probes, and the average and standard deviation were also calculated. In order to transform the SNP and CNV results into a concrete genotype, Allele Typer[™] Software was employed with predesigned tables for every gene. Information about the different alleles of different genes was selected from the PharmGKB website [17]. All genotyped analysis were carried out in collaboration with the pharmacogenetics laboratory Research Center in Molecular Medicine and Chronic Disease Cimus (Santiago, Spain).

HPLC measurement

We used the method described in the article of Bobin et al. [28] to separate and quantify Tamoxifen and its metabolites in plasma. Blood samples were collected in heparin tube, centrifuged at 2500 g for 10 min, and the separated plasma was stored at –80 °C until analysis. Tamoxifen and its major metabolites N-desmethyltamoxifen, 4-hydroxytamoxifen, and Endoxifen were quantified in Molecular Medicine and Chronic Diseases center (Cimus), Santiago de Compostela, Spain, Department of Pharmacology, by ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC) followed by electrospray tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). Briefly standard solutions of analysis and internal standards were prepared at 1 mg/ml of Z-isomer, in methanol. To solubilize the analyt, the stock solution was diluted from 10 to 5000 ng/ml for Tamoxifen and N-desmethyltamoxifen, from 2 to 1000 ng/ml for Endoxifen and from 1 to 500 ng/ml for 4-hydroxytamoxifen in water/Methanol (30/70) mixed with formic acid 0.1% in order to solubilize the analyt. The diluted solution were diluted in blank plasma to generate the calibrate solutions from 1.5, 20, 100, 250 and 500 ng/ml for both Tamoxifen and N-desmethyltamoxifen; from 0.2, 1, 4, 20, 50 and 100 ng/ml and from 0.1, 0.5, 2, 10, 25 and 50 ng/ml for Endoxifen and 4-hydroxytamoxifen. Internal standard solutions were diluted in Acetonotril: formic acide 0.1%, for final concentration 5 and 20 ng/ml for Endoxifen, 4-hydroxytamoxifen, for Tamoxifen and N-desmethyltamoxifen, respectively. For the Quality Control (QC) samples, stock solution was prepared to produce the following concentrations in plasma: 1, 2.5, 40 and 400 ng/ml; 0.2, 0.5, 8 and 80 ng/ml and 0.1, 0.25, 4 and 40 ng/ml, for both Tamoxifen, N-desmethyltamoxifen, Endoxifen and 4-hydroxytamoxifen, respectively. All stock solutions stored at –80 °C until analysis, a total of 100 µl of water: formic acid 100:1 (v:v) was added to 100 µl of plasma samples in 1.5 ml

micro centrifuge tubes, and vigorously vortexed during 30 s in order to remove protein interaction with plasma. Methanol (100 µl) was added and the aliquots were transversely agitated during 10 min at room temperature. The samples (300 µl) were again vortexed after the addition of 400 µl of internal standard solution and then centrifuged at 18000 g for 10 min at 4°C. Finally, 300 µl of supernatant was mixed with 300 µl of water: formic acid (100:0.2, v: v) ammonium format 2 mM directly in the vials.

Statistical analysis

Tamoxifen and its major metabolite concentrations were described as median with an interquartile range (IQR). ANOVA test was used to determine the relationship between Tamoxifen and its metabolites and candidate genes. The Pearson correlation analysis was performed to assess the magnitude of the association between Tamoxifen and its active metabolites. The Kruskal–Wallis test was used to compare differences in Endoxifen levels between homozygous for *CYP2D6* carries of nonfunctional allele and patients homozygous for *CYP2D6* carries of reduced functional allele *red/red* or *CYP2D6 red/null nul* genotypes. Finally, the Fisher's exact test was used to determine the proportion of patients who developed recurrence disease. All the data were analyzed by IBM SPSS Statistics 22 for Windows.

Results

Patient characteristics

Table 2 shows the allele frequency distribution of the Tamoxifen metabolizing enzyme and 15 different polymorphisms in the genes encoding *CYP2D6*, *CYP2C19*, and *CYP3A5*. Complete genotypes for *CYP2D6* and *CYP3A5* were obtained for 97 samples. For *CYP2C19*, 5 samples were discarded from the analysis because of the impossibility of obtaining genotypes for the different haplotypes analyzed, mainly for two reasons: low Nanodrop concentration and/or low purity, since they interfered in the final results. All genotype frequencies were in Hardy–Weinberg Equilibrium ($p > 0.05$). A total of 33.03% of patients had 3 or more *CYP2D6* CNVs. The allele frequencies of *CYP2D6*5* (gene deletion), **1* and **2* were 1.03%, 14.40%, and 33.03%, respectively. Following CPIC phenotype assignment, 49.49% and 33.03% of the patients are predicted to be NM (*CYP2D6*1*, *CYP2D6*2*, *CYP2D9*35*, and *CYP2D6*39*) and URM (*CYP2D6*1*, *CYP2D6*2* > 2 copies), respectively. PM (*CYP2D6*5*) and IM (*CYP2D6*10*, *CYP2D6*17*, and *CYP2D9*41*) were responsible for 2.06% and 8.25% of the cases, respectively. For *CYP2C19*, phenotype frequencies were 1.03% and 93.40% for the *CYP2C19*17* and *CYP2C19*1* alleles, respectively, and 5.52% for the *CYP2C19*2* allele. However, for *CYP3A5* frequencies and distribution in the

Table 2 Alleles frequency distribution of Tamoxifen metabolizing enzyme

<i>CYP2D6</i>	Frequency	Value (%)
<i>CYP2D6*1</i> , <i>CYP2D6*2</i> > 2 copies	32	33.03
<i>CYP2D6*1</i>	14	14.40
<i>CYP2D6*2</i>	32	33.03
<i>CYP2D6*5</i>	1	1.03
<i>CYP2D6*10</i>	2	2.06
<i>CYP2D6*17</i>	6	6.18
<i>CYP2D6*35</i>	1	1.03
<i>CYP2D6*39</i>	1	1.03
<i>CYP2D6*41</i>	8	8.25
<i>CYP2C19</i> / <i>CYP2C19</i>		Value
<i>CYP2C19*1</i>	86	93.40
<i>CYP2C19*2</i>	5	5.52
<i>CYP2C19*17</i>	1	1.08
<i>CYP3A5</i> / <i>CYP3A5</i>		Value
<i>CYP3A5*1</i>	22	22.68
<i>CYP3A5*3</i>	74	76.29
<i>CYP3A5*6</i>	1	1.03

population, the most frequent allele was *CYP3A5*3*, followed by *CYP3A5*1* and *CYP3A5*6*, consisting of 76.29%, 22.68%, and 1.03%, respectively.

Clinical characteristics of patients in association with different CYPs

Significant differences were shown in clinical characteristics between different *CYP2D6* phenotype groups in grade, tumor size ($p < 0.05$), and recurrence ($p < 0.05$) (Table 3). However, there were no statistically significant differences in demographic characteristics between different *CYP2C19* and *CYP3A5* phenotype groups or tumor size grade and recurrence (Table 4).

Association between plasma endoxifen concentration and *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP3A5* phenotypes

According to HPLC results, the limit of detection (LOD) was 0.1, 0.2, and 0.5 ng/ml for 4-hydroxytamoxifen, Endoxifen, Tamoxifen, and N-desmethyltamoxifen. (Table 5) demonstrates the plasma concentrations of Tamoxifen and its metabolites. Endoxifen has a higher median (34.4 ng/mL) compared to 4-hydroxytamoxifen (4.6 ng/mL). Significant variations in Endoxifen concentrations between individuals (coefficient of variation: 145.79%). A Pearson correlation analysis between Tamoxifen and its metabolites revealed a strong positive association between Tamoxifen and the formation of N-desmethyltamoxifen and between Tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen ($R = 0.97$) (Fig. 2). Thus, an increased concentration of Tamoxifen is associated with

Table 3 Clinical characteristics of patients in association with *CYP2D6*

Characteristics	CYP2D6 Phenotype			
	NM (48)	URM (32)	IM (16)	PM (1)
N (97)				
<i>Tumor seize</i>				
≤ 2 cm	20 (20.61%)	3 (3.09%)	9 (8.57%)	0 (00%)
2 < size ≤ 5 cm	25 (25.77%)	25 (25.77%)	7 (6.66%)	0 (00%)
> 5 cm	3 (3.09%)	4 (4.23%)	0 (00%)	1 (1.03%)
p-value	Ref	0.02	0.02	0.04
<i>Grade</i>				
I	5 (4.76%)	1 (1.03%)	2 (2.06%)	0 (00%)
II	26 (26.80%)	30 (30.92%)	6 (6.18%)	0 (00%)
III	17 (17.52%)	1 (1.03%)	8 (7.61%)	1 (1.03%)
p-value	Ref	0.02	0.02	0.03
<i>Recurrence</i>				
No recurrence	43 (44.32%)	31 (31.95%)	6 (6.18%)	0 (00%)
Locally	3 (2.85%)	0 (00%)	7 (6.66%)	1 (1.03%)
Metastatic	2 (1.90%)	1 (1.03%)	3 (2.85%)	0 (0%)
p-value	Ref	0.00	0.00	0.00

CYP_ Cytochrome P450; URM_ ultra rapid metabolizer (CYP2D6); NM_ normal metabolizer (CYP2D6); IM_ intermediate metabolizer (CYP2D6); PM_ poor metabolizer (CYP2D6); Ref_ reference gene

Table 4 Clinical characteristics of patients in association with *CYP2C19*

Characteristics	CYP2C19 Phenotype				
	NM (49)	URM (1)	RM (30)	IM (10)	PM (2)
N (92)					
<i>Tumor seize</i>					
≤ 2 cm	17 (17.52%)	0 (00%)	10 (10.30%)	2 (2.06%)	1 (1.03%)
2 < size ≤ 5 cm	26 (26.80%)	1 (1.03%)	17 (17.52%)	7 (7.21%)	1 (1.03%)
> 5 cm	6 (6.18%)	0 (00%)	3 (3.09%)	1 (1.03%)	0 (00%)
p-value	Ref	0.68	0.90	0.25	0.82
<i>Grade</i>					
I	0 (00%)	0 (00%)	6 (6.18%)	0 (00%)	0 (00%)
II	36 (37.11%)	0 (00%)	18 (18.55%)	7 (7.21%)	1 (1.03%)
III	13 (13.40%)	1 (1.03%)	6 (6.18%)	3 (3.09%)	1 (1.03%)
p-value	Ref	0.15	0.87	0.44	0.35
<i>Recurrence</i>					
No recurrence	46 (47.42%)	0 (00%)	24 (24.74%)	7 (7.21%)	2 (2.06%)
Locally	2 (2.06%)	1 (1.03%)	3 (3.09%)	2 (2.06%)	0 (00%)
Metastatic	1 (1.03%)	0 (00%)	3 (3.09%)	1 (1.03%)	0 (00%)
p-value	Ref	0.27	0.22	0.17	0.46

CYP_ Cytochrome P450; URM_ ultrarapid metabolizer (CYP2C19); RM_ rapid metabolizer allele (CYP2C19); NM_ normal metabolizer (CYP2C19); IM_ intermediate metabolizer (CYP2C19); PM_ poor metabolizer (CYP2C19); Ref_ reference gene

Table 5 Plasma concentrations of Tamoxifen and its metabolites

Plasma concentration	Values	CV (%)
Tamoxifen (median + IQR)	226.98 (108.8, 273.9)	139.24
N-Desmethyl Tamoxifen (median + IQR)	597.44 (282.5, 658.6)	138.61
4-HydroxyTamoxifen (median + IQR)	9.16 (4.6, 11.3)	151.66
Endoxifen (median + IQR)	70.00 (34.4, 81.9)	145.79

CV coefficient of variation; IQR interquartile range

a corresponding increase in N-desmethyltamoxifen or 4-hydroxytamoxifen levels, as well as Tamoxifen or Endoxifen ($R=0.96$).

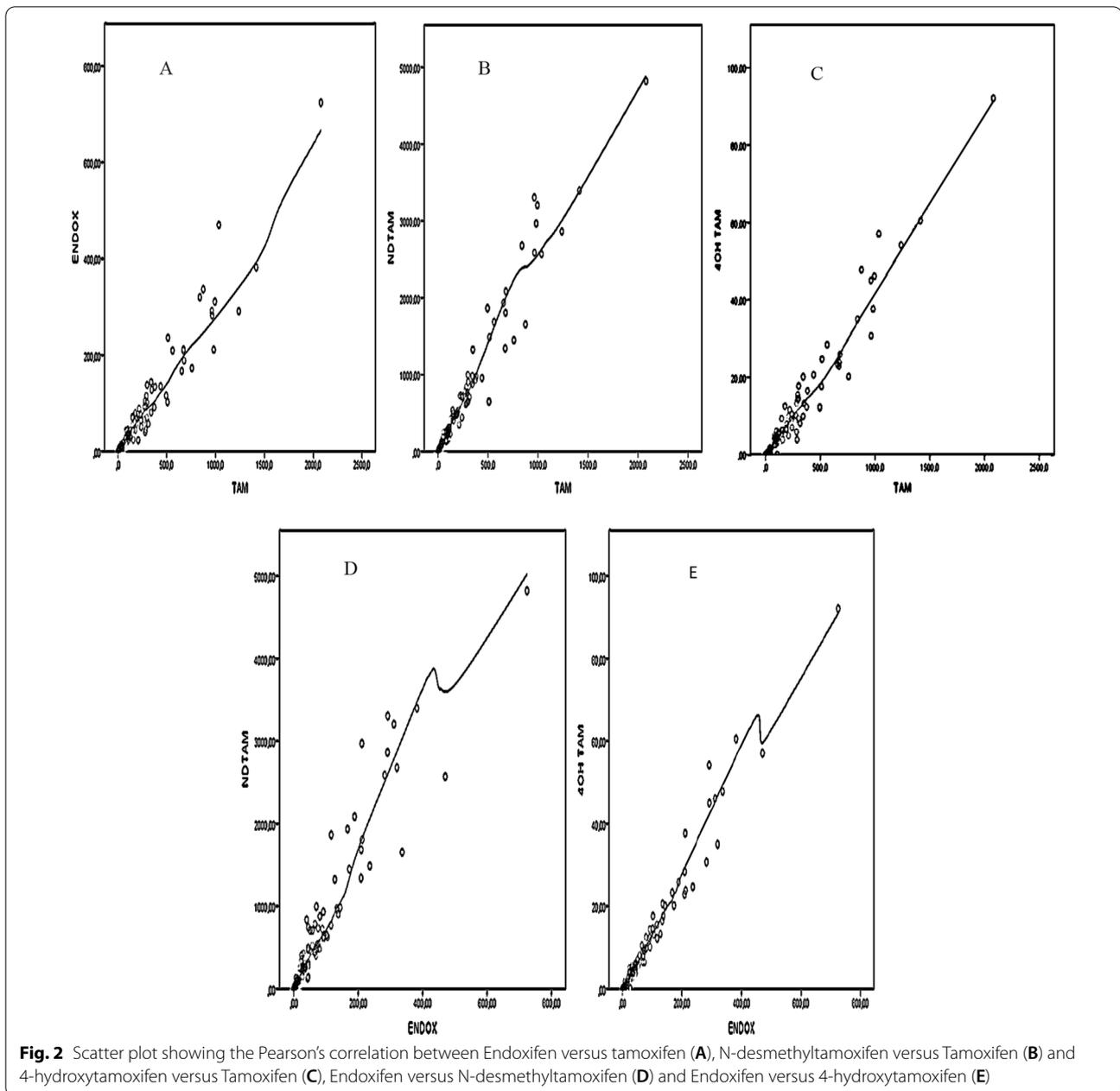
The relationship between major groups of *CYP2D6* diplotypes and plasma Endoxifen levels is predicted in Fig. 3. Here, it is evident that subjects carrying the *CYP2D6*1* allele showed plasma Endoxifen levels higher (Table 6) than the suggested threshold by 12 times [29]. However, 1.03% of all patients in the study had low Endoxifen levels under the proposed threshold. Patients with two null alleles (*CYP2D6*5/*5*) had lower Endoxifen levels than those with URM and NM phenotypes, as did those with two reduced functional alleles (*CYP2D6*10/*10*, *CYP2D6*17*17*, *CYP2D6*4/*10*, *CYP2D6*4/*41*, and *CYP2D6*5/*41*). Endoxifen levels differed statistically significantly ($p < 0.05$) between carriers of the *CYP2D6*1* allele (median 69.13 ng/mL) and patients genotyped as *CYP2D6*10*, *CYP2D6*17*, *CYP2D6*41*, or *CYP2D6*5/*5* (median 29.40 ng/mL and 4.40 ng/mL, respectively). For *CYP3A5* and *CYP2C19* phenotypes, lower plasma concentration in patients categorized as PM, but the results didn't reach significant differences (Fig. 4).

Patients' recurrence rate in relation to endoxifen plasma levels

Data on patients who experienced recurrences was obtained retrospectively from medical records. In our cohort, 8 patients were in stage I, 62 were in stage II, and 27 were in stage III. There were 90 nodes that were positive. 17 of the population had disease relapse. One patient was nul/nul (*CYP2D6*5/*5*), 16 patients were red/red or red/nul, and 8 of 16 were *CYP2D6*41/*41*. For these analyses, we use NM carriers of the functional allele *CYP2D6*1* as a reference group. We realized that the combination genotype red/nul with nul/nul was more strongly associated with disease recurrence than NM carries the *CYP2D6*1* allele ($p < 0.05$).

Discussion

Tamoxifen is widely used in the treatment of all stages of ER⁺ breast cancer. *CYP2D6* is a key enzyme involved in the metabolism of tamoxifen into its relevant metabolites



[30]. In the current study, we explored the relationship between the different variants of *CYP2D6*, *CYP2C19*, and *CYP3A5* and ER positive breast cancer patients. To our knowledge, our study is the first in Algeria looking at the impact of pharmacogenetics of *CYP450* in patients with ER⁺ breast cancer.

It is well known that variation in *CYP2D6* is higher in different populations and individuals in the same population. Hence, the prevalence of PM in our population is 1.03%, with a predominance of *CYP2D6**5, which is comparable to Sistonen J et al. and Fuselli S et al., who

found a prevalence of 0.98% in Syrians and 3.3% in Algerians [31, 32]. The functional *CYP2D6**2 allele had the highest frequency of 33.03%, which is similar to a study by Alali, M et al. that found a frequency of 28.3% [33]. Moreover, our population has a high frequency distribution of duplication and multiplication of the functional *CYP2D6**2xN allele being the most prevalent with a frequency of 33.03% URM, which is in agreement with the predictions of Alali, M et al., who noticed that the frequency of duplications ranged between 7.6% and 31.3% among Arabs [33–35]. This inter-variability in different

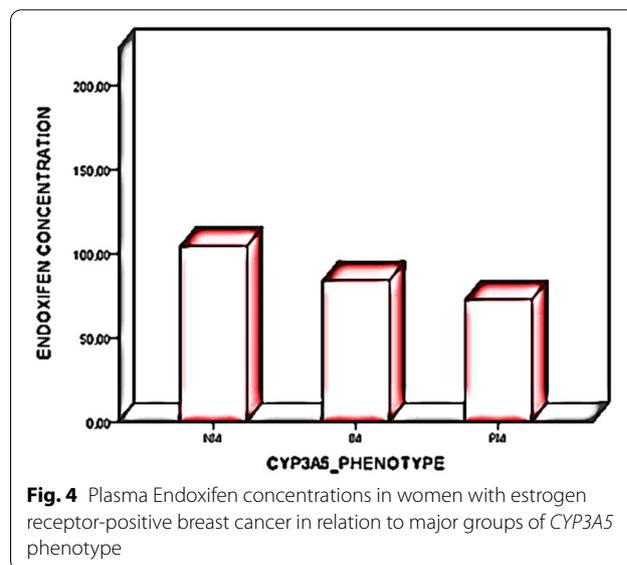
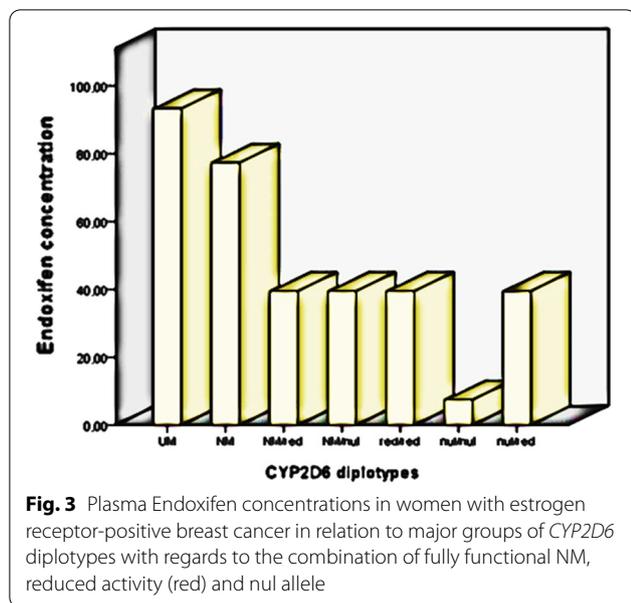


Table 6 Plasma concentrations of Endoxifen in subjects with *CYP2D6*, *CYP2C19* and *CYP3A5* genotype

<i>CYP2D6</i> CPIC phenotype	(N=97)	Endoxifen (ng/mL) median
URM	32	94.19
NM	48	69.13
IM	16	29.40
PM	1	4.40
<i>CYP3A5</i> CPIC phenotype	(N=97)	Endoxifen (ng/mL) median
NM	3	114.31
IM	24	90.92
PM	70	70.88
<i>CYP2C19</i> CPIC phenotype	(N=97)	Endoxifen (ng/mL) median
URM	1	88.70
RM	30	60.53
NM	49	71.77
IM	10	47.34
PM	2	45.60

phenotype groups could be explained by the higher heterogeneity in the Algerian population, which may explain the lower frequency of PM too.

Key findings include a strong relationship between *CYP2D6* and plasma Endoxifen levels; patients with the nul/nul, red/red, and nul/red diplotypes have Endoxifen concentrations below the proposed threshold, but not in the other candidate genes we tested. Accordingly, our results highlight the role of *CYP2D6* in Tamoxifen metabolism, we recognized that low plasma Endoxifen levels in this cohort were observed in patients with two nul alleles of *CYP2D6* diplotypes but also in patients with two

reduced functional alleles or patients with one reduced functional allele in combination with a nul allele, implying that the absence of enzyme activity is closely linked to potentially sub therapeutic Endoxifen levels. More specifically, the findings show that breast cancer patients with the *CYP2D6* nul/nul, red/red, or red/nul genotypes might indeed benefit less from Tamoxifen treatment. We could show, in concordance with previous studies [36–38], that the efficacy of Tamoxifen is related to normal and increased *CYP2D6* activity, leading to a favorable treatment outcome. Borges et al. [39] investigated this quantitative relationship between *CYP2D6* variants and Endoxifen plasma concentrations in an updated analysis of 158 patients after 4 months of treatment with 20 mg of daily Tamoxifen. This included variants known to cause a loss of protein (e.g., *4) or exert decreased function (e.g., *10), i.e., PM and IM genotypes, as well as variants known to increase enzyme function, i.e., URM genotypes. The mean Endoxifen/N-Desmethyltamoxifen ratio was low (0.04 +/– 0.02) in patients lacking any functional alleles, intermediate (0.08 +/– 0.04) in patients with 1 active allele, and high (0.15 +/– 0.09) in patients with 2 or more functional alleles. Hence, *CYP2D6* genotypes are highly associated with Endoxifen plasma concentrations and, moreover, account for their variability. In contrast, the American Society of Clinical Oncology (ASCO) reported that mutated *CYP2D6* was associated with increased plasma levels. The investigators concerned significantly higher plasma levels of N-DesmethylTamoxifen in mutation carriers compared to heterozygous or wildtype genotype carriers after 1 year of Tamoxifen (n = 118; p = 0.001), indicating that conversion into the clinically relevant Endoxifen may be impaired [40].

Therefore, in this pilot we aimed to investigate the relationship between Endoxifen plasma levels and developing recurrences. We realized that subjects with IM and PM phenotype for *CYP2D6* were highly correlated with developing recurrences. Patients with increased plasma Endoxifen concentrations were considerably more likely than patients with reduced or nul alleles to not report recurrences ($p < 0.05$); such nul/nul, red/red, and red/nul diplotypes have been associated with increased rates of recurrences than other genotypes throughout treatment. These findings confirmed that Tamoxifen efficacy is related to attaining a certain level of Endoxifen concentration in plasma patients. The large-scale production of the potent metabolites Endoxifen can explain this trend toward lower recurrences rates as we determined that the mean concentration of Endoxifen was higher than 4-Hydroxytamoxifen, this partly clarify the major role of Endoxifen in the suppression of tumor cells. Our results are in agreement with a study of Chinese women treated with Tamoxifen implying that, patients with an IM phenotype had reduced disease-free survival [37]. Similarly, Madlensky et al. suggests that women in higher quintiles of Endoxifen levels had lower recurrence and side effect in comparison with those with lower quintiles of Endoxifen [29]. Thus, a case control study including 46 women with breast cancer and 136 controls, the frequency of *CYP2D6**4 was higher in patients developing breast cancer than in controls 9vs1% ($p = 0.015$) within Tamoxifen treatment [41]. Contradictory results from Japanese study of patients with primary breast cancer who had ER+ or PR+ tumors and were treated with Tamoxifen as adjuvant showing that subjects with IM/IM genotype were not predictive of recurrence free survival [42]. In the other hand; Swedish study of post-menopausal women with ER+ and ER- breast cancer revealed no significant differences in distance recurrence free survival between patients with PM/PM and EM/EM [43]. It should be noted that all data indicated that *CYP2D6* is not involved in Tamoxifen activation, yet none of them analyses the relationship between *CYP2D6*/Endoxifen/clinical outcomes at the same time.

We also confirmed in this prospective case study that Tamoxifen metabolite stable states took longer to reach than prodrug stable states. Because no systematic pharmacokinetics trials after the administration of these metabolites have been published, the validity of this report is not well established [44]. However, these differences could mainly be explained by the half-life elimination of the tamoxifen metabolites. Likewise, the Pearson correlation coefficient between Endoxifen and Tamoxifen ($R = 0.96$), Endoxifen and N-Desmethyltamoxifen ($R = 0.93$) revealed that Endoxifen levels may

be predicted from Tamoxifen. This might be explained by the magnitude of absorption of Tamoxifen, genetic variation between subjects, and also the quality and food association, which could potentially be factors impacting Tamoxifen bioavailability, hence influencing Endoxifene plasma levels.

Regarding non-*CYP2D6* genes, subjects who carried at least one functional allele for *CYP3A5* and *CYP2C19* had higher plasma Endoxifen levels than those who did not carry any functional allele, but the differences were not statistically significant. However, no significant differences in *CYP3A5*, *CYP2C19*, and clinical factors were determined, regardless of the fact that many studies agree with our findings [45–50]. Nevertheless, the different genotypes of *CYP2C19* or *CYP3A5* did not enhance the risk of recurrences in breast cancer while on Tamoxifen treatment, emphasizing the stronger impact of *CYP2D6* on Tamoxifen pharmacokinetics. Our research suggests that pre-treatment *CYP2D6* genotyping from blood samples could predict Tamoxifen clinical outcomes and aid oncologists in treatment decision-making. However, our study has some limitations. First, our sample size was effective to generate significant differences, but the results needed to be confirmed on a large scale to avoid some bias in the results, leading to significant findings interpreted with vigilance. Secondly, N-Desmethyltamoxifen is converted into two isomers, Z-endoxifen and Z'-endoxifen, with different levels of anti-estrogenic activity [51]. It would be worthwhile to explore the relationship between *CYP2D6* genotype and the isomer levels as they are major metabolites of Tamoxifen. Additionally, the alteration of phase II of metabolism may also explain the differences in the response variability. We also obtained evidence of medication use via patients' reports. However, this seems to be an imperfect approach, but it was the only practical way for us to obtain this information. We believe this is preliminary research and encourage replication; our group is currently conducting additional research to develop drug dosage guidelines based on major *CYP450* genotypes.

Conclusion

Our findings suggest that the *CYP2D6* genotype should be considered in Tamoxifen-treated women. While quantitatively, *CYP2D6* represents only a minor fraction of the total drug metabolizing capacity of the liver, it is polymorphic and, therefore, may alter the balance of metabolism of tamoxifen toward the activation pathways. Breast cancer patients with the *CYP2D6* nul/nul or red/nul diplotype may benefit less from Tamoxifen treatment and are more likely to develop recurrences. Comprehensive *CYP2D6* genotyping has a good predictive value for *CYP2D6* activity.

Common variants in *CYP2C19* and *CYP3A5* did not have a significant impact on the recurrences in this cohort of patients with ER + breast cancer.

Abbreviations

CYP: Cytochrome P450; URM: Ultra; RM: Rapid; NM: Normal; IM: Intermediate; PM: Poor metabolizer; SNP: Single-nucleotide polymorphism; CNV: Copy number variation; LC–MS/MS: Liquid chromatography-mass spectrometry; SERM: Selective estrogen receptor modulator; AS: Activity score.

Acknowledgements

We would like to extend our sincere appreciations to all the staff of Molecular Medicine and Chronic Diseases center (CiMUS), Santiago de Compostela, Spain, especially Olalla Maroñas and Almudena Gil for their help and assistance and hardwork in this study and to Medical Oncology and Radiotherapy Services, University Hospital Center, Benbadis, Constantine, Algeria, for their help.

Author contributions

All of the authors mentioned in the article have contributed to this research work. AB protocol/project development, data collection or management, data analysis, and manuscript writing/editing; KB gave idea, helped in protocol/project development and final correction of manuscript; AH helped in data analysis; RML helped in editing manuscript; NA helped in protocol/project development; TF helped in collection data and DS in protocol/project development and final correction of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This study had no funding from any resource.

Availability of data and materials

The data sets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

All procedures performed were in accordance with the ethical standards of the ethics committee of Dr BENBADIS-Constantine University Hospital Centre in accordance with the recommendations of the Algerian national council for ethics in health sciences and with the Declaration of Helsinki (1964). The study was approved by the local ethical committee of Dr BENBADIS-Constantine University Hospital Centre.

Informed consent

Informed consent (written) was obtained from all participants or their family members.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

All authors declare that there is no conflict of interests. The manuscript has not been published, or submitted for publication elsewhere.

Author details

¹Department of Animal Biology, Laboratory of Molecular and Cellular Biology, University Constantine 1, 25000 Constantine, Algeria. ²Laboratory of Biology and Molecular Genetics, University Constantine 3, 25000 Constantine, Algeria. ³Laboratory of Biotechnology and Genomics in Medical Sciences UFA Setif 1, University Ferhat Abbas Setif 01, Setif, Algeria. ⁴University Ahmed Draia Adrar, Adrar, Algeria. ⁵Medical Oncology Service, University Hospital Center, Benbadis, Constantine, Algeria.

Received: 10 May 2022 Accepted: 5 August 2022

Published online: 14 August 2022

References

- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (1997) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. *Lancet* 350(9084):1047–1059
- Jung S, Wang M, Anderson K et al (2016) Alcohol consumption and breast cancer risk by estrogen receptor status: in a pooled analysis of 20 studies. *Int J Epidemiol* 45:916–928
- World Cancer Research Fund International/American Institute for Cancer Research. Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity and Breast Cancer, London: WCRF, 2017
- Ray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A (2018) Global cancer statistics: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 68(6):394–424
- Sung H et al (2021) Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 71(3):209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Kim MK, Shin HC (2020) Risk factors for Tamoxifen-induced ovarian hyperstimulation in breast cancer patients. *Clin Breast Cancer* 20(5):408–412. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2020.01.003>
- Haldosén L-A, Zhao C, Dahlman-Wright K (2014) Estrogen receptor beta in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* 382(1):665–672
- Omoto Y, Iwase H (2015) Clinical significance of estrogen receptor α in breast and prostate cancer from biological aspects. *Cancer Sci* 106:337–343
- Teymourzadeh Azin et al (2017) ER- α 36 interactions with cytosolic molecular network in acquired tamoxifen resistance. *Clin Breast Cancer* 17(6):403–407. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2017.03.013>
- van Eenbergen MC, Vromans RD, Boll D, Kil PJ, Vos CM, Kraemer EJ, van de Poll-Franse LV (2020) Changes in internet use and wishes of cancer survivors: a comparison between 2005 and 2017. *Cancer* 126(2):408–415
- Schuurman TN et al (2019) Tamoxifen and pregnancy: an absolute contraindication? *Breast Cancer Res Treat* 175(1):17–25
- Sanchez-Spitman A, Dezentjé V et al (2019) Tamoxifen pharmacogenetics and metabolism: results from the prospective CYP2D6 study. *J Clin Oncol* 37(8):636–646. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00307>
- Cronin-Fenton DP, Damkier P (2018) Tamoxifen and CYP2D6: a controversy in pharmacogenetics. *Adv Pharmacol* 83:65–91
- Nardin JM et al (2020) The Influences of adherence to tamoxifen and CYP2D6 pharmacogenetics on plasma concentrations of the active metabolite (Z)-endoxifen in breast cancer. *Clin Transl Sci* 13(2):284–92
- Tornio A, Backman JT (2018) Cytochrome P450 in pharmacogenetics: an update. *Adv Pharmacol* 83:3–32
- Whirl-Carrillo M, Huddart R, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, Whaley R, Klein TE (2021) An evidence-based framework for evaluating pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Therap* 110(3):563–72
- Caudle KE, Dunnenberger HM, Freimuth RR, Peterson JF, Burlison JD, Whirl-Carrillo M, Scott SA, Rehm HL, Williams MS, Klein TE et al (2017) Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC). *Genet Med* 19:215–223
- Mulder TAM et al (2021) Clinical CYP2D6 genotyping to personalize adjuvant tamoxifen treatment in ER-positive breast cancer patients: current status of a controversy. *Cancers* 13(4):771. <https://doi.org/10.3390/cancers13040771>
- Moriya T et al (1991) Potent inhibitory effect of a series of modified cyclodextrin sulfates on the replication of hiv-1 in vitro. *J Med Chem* 34(7):2301–2304. <https://doi.org/10.1021/jm00111a055>
- Goetz MP, Sangkuhl K, Guchelaar HJ, Schwab M, Province M, Whirl-Carrillo M, Symmans WF, McLeod HL, Ratain MJ, Zembutsu H et al (2018) Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for CYP2D6 and tamoxifen therapy. *Clin Pharmacol Ther* 103:770–777
- Caudle KE, Sangkuhl K, Whirl-Carrillo M, Swen JJ, Haidar CE, Klein TE, Gammal RS, Relling MV, Scott SA, Hertz DL, Guchelaar HJ et al (2020) Standardizing CYP 2D6 genotype to phenotype translation: consensus

- recommendations from the clinical pharmacogenetics implementation consortium and dutch pharmacogenetics working group. *Clin Transl Sci* 13(1):116–124
22. Lim JSL, Chen XA, Singh O, Yap YS, Ng RCH, Wong NS, Wong M, Lee EJD, Chowbay B (2011) Impact of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tamoxifen pharmacokinetics in Asian breast cancer patients. *Br J Clin Pharmacol* 71:737–750
 23. Mürdter TE, Schroth W, Bacchus-Gerybadze L, Winter S, Heinkle G, Simon W, Fasching PA, Fehm T, Tamoxifen G (2011) Activity levels of tamoxifen metabolites at the estrogen receptor and the impact of genetic polymorphisms of phase I and II enzymes on their concentration levels in plasma. *Clin Pharmacol Therap* 89(5):708–717
 24. Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, Schwab M, Muerdter T, Zanger UM, Simon W, Eichelbaum M, Brauch H (2007) Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J Clin Oncol* 25:5187–5193
 25. van Schaik RHN, Kok M, Sweep FCGJ, van Vliet M, van Fessem M, Meijer-van ME, Gelder CS, Lindemans J, Wesseling J, Laura J (2011) The CYP2C19*2 genotype predicts tamoxifen treatment outcome in advanced breast cancer patients. *Pharmacogenomics* 12(8):1137–1146. <https://doi.org/10.2217/pgs.11.54>
 26. Dehbozorgi M, Kamalidehghan B, Hosseini I, Dehghanfarid Z, Sangtarash M, Firooz M, Ahmadipour F, Meng G, Houshmand M (2018) Prevalence of the CYP2C19*2 (681 G>A), *3 (636 G>A) and *17 (-806 C>T) alleles among an Iranian population of different ethnicities. *Mol Med Rep*. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8377>
 27. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3):1215–1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>
 28. Bobin-Dubigeon C et al (2019) New UPLC–MS/MS assay for the determination of tamoxifen and its metabolites in human plasma, application to patients. *Future Sci OA*. <https://doi.org/10.2144/fsoa-2018-0113>
 29. Madlensky L, Natarajan L, Tchu S et al (2011) Tamoxifen metabolite concentrations, CYP2D6 genotype, and breast cancer outcomes. *Clin Pharmacol Ther* 89(5):718–725
 30. Bradbury M et al. "Time to update evidence-based guideline recommendations about Concurrent tamoxifen and antidepressant use? A systematic review." *Clinical Breast Cancer* (2021)
 31. Sistonen J et al (2007) CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogen Genom* 17(2):93–101. <https://doi.org/10.1097/01.fpc.0000239974.69464.f2>
 32. Fuselli S et al (2004) Molecular diversity at the CYP2D6 locus in the Mediterranean region. *Eur J Human Genet* 12(11):916–924. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201243>
 33. Alali M et al (2022) Frequencies of CYP2D6 genetic polymorphisms in Arab populations. *Human Genom*. <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00378-z>
 34. Gaedigk A, Riffel AK, Steven Leeder J (2015) CYP2D6 haplotype determination using long range allele-specific amplification. *J Mol Diagn* 17(6):740–748. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.06.007>
 35. Aklillu E et al (1996) Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an ethiopian population carrying duplicated and multi-duplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Experiment Therap* 278(1):441–446
 36. Schroth W (2009) Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* 302(13):1429. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1420>
 37. Schroth W et al (2007) Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *J Clin Oncol* 25(33):5187–5193. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.2705>
 38. Schroth W, Goetz MP, Hamann U, Fasching PA, Schmidt M, Winter S, Brauch H (2009) Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* 302(13):1429–1436
 39. Borges S, Desta Z, Li L, Skaar TC, Ward BA, Nguyen A, Flockhart DA (2006) Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin Pharmacol Ther* 80(1):61–74
 40. Wang H, Ma X, Zhang B, Zhang Y, Han N, Wei L, Zhang N (2022) Chinese breast cancer patients with CYP2D6* 10 mutant genotypes have a better prognosis with toremifene than with tamoxifen. *Asia Pac J Clin Oncol* 18(2):e148–e153
 41. Brauch H, Schroth W, Eichelbaum M, Schwab M, Harbeck N (2008) Clinical relevance of CYP2D6 genetics for tamoxifen response in breast cancer. *Breast Care* 3(1):43–50
 42. Hoskins JM, Carey LA, McLeod HL (2009) CYP2D6 and tamoxifen: DNA matters in breast cancer. *Nat Rev Cancer* 9(8):576–586
 43. Nowell SA et al (2005) Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 91(3):249–258. <https://doi.org/10.1007/s10549-004-7751-x>
 44. Lien EA, Anker G, Ueland PM (1995) Pharmacokinetics of tamoxifen in premenopausal and postmenopausal women with breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 55(2):229–231
 45. Goetz MP et al (2005) Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 23(36):9312–9318. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.03.3266>
 46. Stearns V (2003) Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *Cancer Spectrum Knowl Environ* 95(23):1758–1764. <https://doi.org/10.1093/jnci/djg108>
 47. Mortimer JE et al (2008) Tamoxifen, hot flashes and recurrence in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 108(3):421–426. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9612-x>
 48. Lim JSL et al (2011) Impact of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tamoxifen pharmacokinetics in Asian breast cancer patients: pharmacogenetics of tamoxifen in Asian breast cancer patients. *British J Clin Pharmacol* 71(5):737–750. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.03905.x>
 49. Mohr CJ et al (2020) Subunits of BK channels promote breast cancer development and modulate responses to endocrine treatment in preclinical models. *Br J Pharmacol* 179(12):2906–2924. <https://doi.org/10.1111/bph.15147>
 50. Okishiro M et al (2009) Genetic polymorphisms of CYP2D6*10 and CYP2C19*2,*3 are not associated with prognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer* 115(5):952–961. <https://doi.org/10.1002/cncr.24111>
 51. Barginear MF et al (2011) Increasing tamoxifen dose in breast cancer patients based on CYP2D6 genotypes and endoxifen levels: effect on active metabolite isomers and the antiestrogenic activity score. *Clin Pharmacol Ther* 90(4):605–611

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Submit your manuscript to a SpringerOpen® journal and benefit from:

- Convenient online submission
- Rigorous peer review
- Open access: articles freely available online
- High visibility within the field
- Retaining the copyright to your article

Submit your next manuscript at ► [springeropen.com](https://www.springeropen.com)

Résumés

التأثير المتبادل بين جينات CYP450 والاستجابة للعلاج الهرموني المساعد لدى النساء في فترة ما قبل انقطاع الطمث في سرطان الثدي

الملخص:

تاموكسيفين (Tamoxifène) عبارة عن مُعدِّل انتقائي لمستقبلات الاستروجين يعمل عن طريق التثبيط التنافسي لربط الاستراديول بمستقبلاته. يعتبر العقار الرئيسي المستخدم في علاج سرطان الثدي الهرموني. يعتمد نشاطه على نشاط مستقبلاته وخاصة الإندوكسيفان، الناتج بوساطة عائلة السيتوكرومات P450؛ وبشكل أساسي CYP2D6 و CYP3A5 و CYP2C19. تعدد الأشكال الجينية يؤدي إلى تباين في النشاط الإنزيمي، مما يؤثر على تركيزات بلازما المستقبلات النشطة لتاموكسيفين، وبالتالي فعالية العلاج وسميته. أسفرت العديد من الدراسات عن نتائج متناقضة لا تسمح باستخلاص أهمية التحديد المنهجي للنمط الجيني للمورثات CYP2D6 و CYP3A5 و CYP2C19 قبل أي وصفة طبية لتاموكسيفين.

في هذا العمل البحثي، وضعنا الهدف الرئيسي تقييم الارتباط الديناميكي الدوائي بين المستقبلات الرئيسية لتاموكسيفين و حدوث الانتكاسات بعد 5 سنوات من العلاج باستخدام عقار تاموكسيفين كمساعد، على مجموعة من النساء الجزائريات في مرحلة - ما قبل انقطاع الطمث - مصابات بسرطان الثدي الهرموني.

في هذا الصدد، أجريت دراسة جزيئية تهدف إلى تحليل نتائج الحرائك الدوائية ل تاموكسيفين ومستقبلاته الرئيسية فيما يتعلق بتعدد أشكال الجينات CYP2D6 و CYP3A5 و CYP2C19 حيث كشفت التحليلات للحرائك الدوائية عن تباين كبير في تركيزات بلازما تاموكسيفين ومستقبلاته عند 143 حالة مدرجين ضمن الدراسة. في 100 عينة تم استخلاص النمط الجيني كاملاً ل CYP2D6 و CYP3A5 و CYP2C19 عن طريق تقنية OpenArray® Technology التي تعتمد على تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) في الوقت الحيني والتي تتيح تحليل جيني عالي الإنتاجية، حيث لوحظ وجود ارتباط نسبي بين المتغيرات الجينية المختلفة لـ CYP2D6 ومستويات اندوكسيفان البلازمية عند الأشخاص ذوي أليلات مخفضة (red / red) وأليات غير نشطة (nul / nul) إذ انهم يعانون من مستويات اندوكسيفان منخفضة أقل من المؤشر العلاجي ($C < 5.9$ نانوجرام / مل).

يقدم موضوع البحث، وهو الأول الذي أجري في الجزائر، معلومات مهمة عن تأثير العوامل الوراثية (بشكل رئيسي الأنماط الجينية لـ CYP2D6، وبدرجة أقل تلك الخاصة بـ CYP3A5 و CYP2C19) على العوامل غير الوراثية (العمر، عوامل إكلينيكية باثولوجية مثل حجم الورم ودرجته ومرحلته)، الحرائك الدوائية لتاموكسيفين و حدوث الانتكاسات في سياق العلاج المساعد لسرطان الثدي الهرموني، حيث يمكن أخذها في الحسبان أثناء العلاج الهرموني المساعد. في ضوء نتائجنا، يبدو واضحاً أن أفضل استراتيجية لتحسين علاج تاموكسيفين هي تعديل الجرعة الأولية وفقاً للنمط الجيني لـ CYP2D6 مصحوباً بـ TDM للاندوكسيفان بمجرد وصول مستوياته البلازمية إلى حالة التوازن.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي، تاموكسيفين، علم الوراثة الدوائية، الديناميكا الدوائية، الحركية الدوائية.

Interrelation between CYP450 genes and response to adjuvant hormonal therapy in premenopausal women with breast cancer

Abstract:

Tamoxifen, a selective estrogen receptor modulator acts as an anti-estrogen in ER+ breast cancer. It inhibits competitively the binding of estradiol to their receptors, the efficacy depends on its active metabolites, particularly endoxifen that is metabolized primarily by CYP2D6, CYP3A5, and CYP2C19 enzymes. The variability in the enzyme activity related to genetic polymorphisms that affect plasma concentrations of the metabolites, thus the efficacy and toxicity of the treatment. Nevertheless, contradictory results provided by many studies which do not currently allow predicting the relevance of *CYP450* genotyping before prescription of tamoxifen.

In our study, we evaluated the correlation between the main metabolites of tamoxifen and the incidence of relapses after 5 years of tamoxifen treatment as adjuvant, in a cohort of premenopausal Algerian patients with ER+ breast cancer. In addition, a molecular study is conducted to test the impact of pharmacogenetics of *CYP2D6*, *CYP2C19* and *CYP3A5* on the pharmacokinetics of tamoxifen.

The analyzes revealed significant variability in plasma concentrations of tamoxifen and its metabolites in 143 patients that were included in our series. The genotyping of the *CYP2D6*, *CYP2C19* and *CYP3A5* genes was established for 100 samples by OpenArray[®] technique, based on real-time PCR that allows a high throughput genotyping. In this study we also highlighted the role of *CYP2D6*, thus plasma endoxifen levels under therapeutic threshold ($C < 5.9$ ng/ml) was observed in homozygous subjects with reduced alleles (red/red), nul alleles (nul/nul) or heterozygous subjects for the altered alleles (red/nul). In the pharmacodynamics study, our results indicate that patients with PM and IM phenotypes for the *CYP2D6* gene are more likely to developed relapses during or post treatment with tamoxifen.

Our research, the first performed in Algeria, provides crucial results on the influence of genetic factors, mainly *CYP2D6* and to a minor degree *CYP3A5* and *CYP2C19*, on non-genetic parameters (age, as well as clinical and pathological parameters such as tumor size, grade and stage), on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tamoxifen in the context of adjuvant treatment of hormone-positive breast cancer, and thus can be provided as support when introducing hormone therapy in ER+ breast cancer protocol. The best strategy to optimize tamoxifen treatment would consist of an adaptation of doses according to the *CYP2D6* genotype accompanied by a TDM of endoxifen once the state of equilibrium reached.

Keywords: breast cancer, tamoxifen, pharmacogenetics, pharmacokinetics, pharmacodynamic.

Interrelations entre les gènes *CYP450* et la réponse à l'hormonothérapie adjuvante chez la femme en pré-ménopause dans le cancer du sein**Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle LMD en Génétique Moléculaire**

Le tamoxifène est un modulateur sélectif des récepteurs des œstrogènes qui agit par inhibition compétitive de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs. Il représente le principal médicament utilisé en hormonothérapie dans le traitement adjuvant des cancers du sein hormono-dépendants. Son activité pharmacologique est dépendante de la formation de métabolites actifs, notamment de l'endoxifène, par l'intermédiaire des cytochromes de la famille P450 ; principalement *CYP2D6*, *CYP3A5* et *CYP2C19*. La variabilité de l'activité de ces enzymes, due particulièrement aux polymorphismes génétiques, pourrait avoir un impact sur les concentrations plasmatiques des métabolites actifs du tamoxifène, et ainsi sur l'efficacité et la toxicité du traitement. Néanmoins, plusieurs études ont produit des résultats contradictoires ne permettant pas actuellement suggérer la pertinence de la détermination systématique des génotypes du *CYP2D6*, *CYP3A5* et *CYP2C19* avant toute prescription de tamoxifène.

Dans le présent travail de recherche, nous nous sommes assignés comme objectif principal d'évaluer la corrélation pharmacodynamique entre les principaux métabolites du tamoxifène et l'incidence des récurrences après 5 ans d'un traitement par le tamoxifène en adjuvant, et ce chez une cohorte de patientes algériennes pré-ménopausées atteintes d'un cancer du sein hormono-dépendant. En complément, une étude moléculaire visant à analyser les résultats de la pharmacocinétique du tamoxifène et de ses principaux métabolites en rapport avec des polymorphismes des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* a été conduite.

Les analyses pharmacocinétiques-pharmacogénétiques ont mis en évidence une variabilité importante des concentrations plasmatiques du tamoxifène et de ses métabolites chez les 143 patientes incluses dans notre série. Pour 100 de ces patientes pour lesquelles le génotypage des gènes *CYP2D6*, *CYP2C19* et *CYP3A5* a été établi par OpenArray[®] Technology, une technique basée sur la PCR en temps réel qui permet un génotypage à très haut débit, nous avons mis en exergue des différences significatives en corrélation avec les différents variants du *CYP2D6* et les taux plasmatiques d'endoxifène faibles ou sous l'index thérapeutique ($C < 5,9$ ng/ml) chez les sujets homozygotes mutés en allèles réduits (red/red), allèles inactifs (nul/nul) ou les sujets hétérozygotes mutés (red/nul). Dans le volet pharmacodynamique de cette étude, nos résultats indiquent que les patientes avec les phénotypes PM et IM pour le gène *CYP2D6* sont plus à risque de développer des récurrences pendant ou post-traitement par le tamoxifène en adjuvant.

Nos travaux de thèse, les premiers réalisés sur cette thématique en Algérie, apportent des informations importantes sur l'influence des facteurs génétiques, principalement les génotypes du *CYP2D6*, et à moindre degré ceux du *CYP3A5* et *CYP2C19*, sur des paramètres clinico-pathologiques tels que la taille et le grade tumoral, ainsi que sur la pharmacocinétique et la pharmacodynamique du tamoxifène dans le cadre du traitement adjuvant du cancer du sein hormono-dépendant, et qui peuvent ainsi être pris en compte lors d'hormonothérapie adjuvante. À la lumière de nos résultats, il nous paraît évident que la meilleure stratégie pour optimiser le traitement par le tamoxifène consisterait en une adaptation de la dose initiale en fonction du génotype *CYP2D6* accompagnée d'un TDM de l'endoxifène une fois l'état d'équilibre atteint.

Mots-clefs : cancer du sein, tamoxifène, pharmacogénétique, pharmacocinétique pharmacodynamique.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université Constantine 1),
Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (Université Constantine 3).

Président : LALAOUI Korichi - Professeur - Université Mentouri Constantine 1
Directrice : BOUDAUD Khadidja – Professeur- Université Ferhat Abbas Sétif 1.
Co-Directrice : SATTA Dalila – Professeur- Université Mentouri Constantine 1.
Examineurs : FILALI Taha - Professeur - Université Salah Boubnidar Constantine 3.
 REZGOUNE Mohamed Larbi –MCA- Université Mentouri Constantine 1.
 SEMMAM Ouarda –MCA- Université Mentouri Constantine 1.