



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : Sciences Biologiques**

**OPTION: Génétique**

**Thème**

Les inhibiteurs de poly(ADP)ribose polymérase  
(PARP) et leur application dans le traitement du  
cancer du sein

**Présenté par :**

*M<sup>elle</sup> : MELIAH Amina*

*M<sup>elle</sup> : MEZAACHE Nadine Aya*

**Encadré par :**

*M<sup>me</sup> : FERROUDJ.S*

*Soutenu le 17/09 /2020*

**Jury de soutenance**

**Président : Docteur ELAFRI ALI**  
**Examineur : Docteur YAHIA MASSINISSA**

**Promotion : 2020**

# *Remerciements*

*Nous sommes très reconnaissantes envers notre encadreur  
Docteur FERROUDJ Sana, qui a fait preuve de patience.*

*On tient à remercier les membres du jury d'avoir pris la peine  
de lire et de juger ce travail.*

*On tient à remercier nos professeurs qui nous ont prodigué  
Et plus précisément Mr BOUAZZA. I et  
Mme BENDJEMALA.k, et sans oublier  
Mr MAZOUZ.l.*

*On remercie aussi le chef de département Mr  
TAKOUACHET.r qui a été toujours à nos côtés et nous a  
soutenu tout au long de cette formation.*

*On remercie enfin tous ceux qui, d'une manière ou d'une  
autre, ont contribué à la réalisation de ce travail et ceux qui  
n'ont pas été cités ici.*

## **Dédicace**

*A toi ma mère, qui m'a toujours supportée dès le bas âge, qui m'a toujours encadrée par tes leçons et tes expériences, me conduit sur la bonne voie par tes leçons que je n'oublierai jamais et tes encouragements qui m'ont toujours poussée à aller.*

*A toi mon père qui as toujours cru en moi, m'as soutenu, m'as protégé et a toujours été là pour moi.*

*A mes plus belles sœurs.*

*A ma tante « HOUROUROU » qui m'a traitée comme sa fille et qui m'a accueillie quand j'étais loin de chez moi.*

*A ma meilleure amie AMINA avec qui j'ai passée mes meilleurs moments.*

*A tous ceux que j'aime.*

***MZAACHE.NADINE***

## **Dédicace**

*Je dédie ce mémoire de fin d'étude :*

*A ma chère mère qui m'a poussé qui ma encouragée*

*durant toutes ces années pour arriver où je suis*

*ainsi que mon père «que dieu le protège».*

*A mes frères et mes sœurs et sœurs et précisément mon petit*

*frère **AHMED** qui ma vraiment soutenu.*

*A ma confidente **NADINE**.*

*À tous mes enseignants.*

***MELIAH.AMINA***

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : CANCER DU SEIN .....	5
1. le sein.....	6
1.1. Anatomie du sein :.....	6
1.1. a. La peau et la plaque aérolo-mamelonnaire.....	6
1.1. b. La glande mammaire.....	7
1.1.b. L'unité de base est l'acinus ou alvéole.....	7
1.1. c. Le tissu adipeux et conjonctif.....	7
1.1. d. Les moyens de fixation du sein.....	7
1.1. e. Innervation.....	7
1.2. Physiologie du sein.....	8
1.3. Histologie du sein.....	8
2. Cancer du sein .....	9
2.1. Fréquence .....	9
2.1. a. La fréquence dans le monde : .....	9
2.1. b. Fréquence en Algérie.....	10
2.2. Facteurs de risque.....	11
2.2. a. Age .....	11
2.2. b. Sexe .....	11
2.2. c. Facteurs hormonaux .....	11
2.2. c.1. Facteurs hormonaux endogènes.....	12
2.2. c.2. Facteurs hormonaux exogènes.....	12
2.2.d. Facteurs liées à la reproduction .....	13
2.2. e. Facteurs génétiques.....	14
2.2. f. Facteurs liés au mode de vie et à l'environnement .....	14
2.3. Classification histologique .....	16
2.3. a. Carcinome <i>INSITU</i> .....	17
2.3.b. Carcinome infiltrant .....	18
2.4. Classification moléculaire .....	18
2.5. Cancérogenèse mammaire.....	19
2.5. b. Forme sporadique, Hériditaire et agrégation familiale .....	21
2.6. Dépistage.....	24
2.6. a. L'auto-examen des seins .....	24
2.6. b. L'examen médical des seins.....	24
2.6. c. La mammographie st une .....	24
Radiographie des seins à l'aide de rayons X.....	24
2.6. e. L'échographie.....	25
2.6. f. Examen d'Imagerie par Résonance Magnétique (I.R.M.) .....	25
2.7. Conseil génétique .....	25
2.8. Modalités thérapeutiques.....	26
2.8.a. Traitement locorégional.....	26
2.8.b. Traitement général.....	27
CHAPITRE II : LES POLY(ADP) RIBOSE POLYMERASE (PARPs).....	28
3. Les Poly(ADP) ribose polymérase (PARPs) .....	39
3.1. La super famille des Poly (ADP) ribose polymérase.....	39
3.2. Rôles des PARP .....	41
3.2.a. Réparation de l'ADN.....	41
3.2.b. La mort cellulaire .....	42
3.2.c Autres rôles: inflammation, métabolisme cellulaire, stabilité génétique.....	43
3.2. Les inhibiteurs des poly-ADP-ribose-polymérase (PARPs) .....	43

3.2.a. Les applications des inhibiteurs de PARP ( iPARP) .....	44
3.2. a.2 La monothérapie et la létalité synthétique .....	45
3.3. La Cytotoxicité.....	46
3.4. La résistance aux inhibiteurs de PARP. ....	47
3.5. Les données cliniques précoces : les espoirs et les déceptions.....	47
3.6. Les bios marqueurs prédictifs de la réponse aux inhibiteurs de PARP .....	49
MATERIEL ET METHODES .....	39
1. Lignées et cultures cellulaires .....	55
2. Test de cytotoxicité .....	55
2.1. Traitement des cellules par le Cisplatine.....	55
2.2. Traitement des cellules par l'Olaparib .....	56
2.3. Évaluation de la viabilité cellulaire au bleu de méthylène .....	56
RESULTATS .....	57
1. Analyse des données .....	58
1.1. Effet du Cis-platine seul et l'olaparib en association sur les différentes lignées de cancer de sein triple négatif .....	58
Discussion .....	64
Conclusion.....	66
RESUME	
BIBLIOGRAPHIE	

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique antérieure. ....	6
Figure 3: Incidence du cancer du sein et taux de mortalité par région du monde. ....	10
Figure 4: Variations du niveau de certaines protéines liées à l'action des hormones ovariennes	21
Figure 5: La superfamille de la Poly(ADP) ribose polymérase PARP. ....	39
Figure 6: Métabolisme du poly(ADP-ribose).....	40
Figure 7: structure de la PARP, poly (ADP-ribose) polymérase humaine.....	41
Figure 8: mécanisme d'action des PARPs .....	41
Figure 9: principe de l' létalité synthétique.....	45
Figure 10: mécanisme de l' létalité synthétique.....	46
Figure 11: Les essais cliniques en cours des inhibiteurs de PARP1. ....	48
Figure 12: Les biomarqueurs prédictifs de la réponse aux inhibiteurs de PARP.....	49
Figure 13: L'hyper activation de PARP.....	51
Figure 14: Effet du Cisplatine sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse <b>MDA-MB-231-1</b> . ....	58
Figure 15: Effet du <b>Olaparib (5µM)</b> + Cisplatine sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse <b>MDA-MB-231-1</b> .....	59
Figure 16: Effet du Cisplatine sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse <b>SUM1315</b> . ....	60
Figure 17: Effet du Olaparib + Cisplatine sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse <b>SUM1315</b> .....	61
Figure 18: les valeurs d'IC50 en absence et présence de l'olaparib dans les différentes souches.....	63

## **LISTE DES TABLAUX**

Tableau 1 : Tendance du cancer du sein chez les femmes Alger 2008– 2017 .....	11
Tableau 2: Classification des tumeurs malignes du sein de l'OMS .....	16
Tableau 3: Fréquence des formes histologiques du cancer du sein chez la femme – Alger 2017. .....	18
Tableau 4: Classification moléculaire du cancer du sein .....	19
Tableau 5 : Caractéristiques des familles présentant des cas de cancer du sein héréditaires, familiaux et sporadiques.....	22
Tableau 6: L'hyper activation de PARP .....	63

## Liste des abréviations

53BP1 : une protéine intranucléaire de réponse à l'endommagement de l'ADN, impliquée dans la réparation double brin  
ADN : Acide Désoxyribonucléique  
ANK : ankyrin  
BER: base excision repair  
BLM:  
BRCA : BReastCAncer gene  
BRCAness: stratégie de testing moléculaire des cancer du sein  
BRCT : le gene *BRCA1 C Terminus*  
CAPAN1:  
CCIS : carcinome canalaire *in situ*  
CDDP: cisplatine  
CGH: *Comparative Genomic Hybridization*  
CLIS : cancer lobulaire *in situ*  
DDB2: damaged DNA-binding protein  
DDR : DNA damage response  
DSBs: interruptions bicaténares  
EMSY: Transcriptional Repressor, BRCA2 Interacting  
EOC: Ensemble Orchestral Contemporain  
HER ; récepteur du facteur de croissance épidermique humain  
HR: récepteurs hormonaux  
HRR: homologous recombination repair  
I.R.M : Imagerie par Résonance Magnétique  
ICL: interstrand crosslink  
IGF : *insulin-like growth factor*  
IR: ionizing radiation  
LOH: perte d'hétérozygotie  
Mart : Mono(ADP-ribose) transférase domaine  
MDR: medical device regulation  
MMC: mitomycin C  
MMR: mismatch repair  
NAD: nicotinamide adénine dinucléotide  
NER: nucleotide excision repair  
NHEJ: recombinaison non homologue  
NLS: nuclear localization signal  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PADPr: Poly(ADP-ribose) Polymer  
PARG: la poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG)  
PARP : Les Poly(ADP) ribose polymérase  
PARPI : PARP inhibiteur  
RAD: DNA repair protein  
RE : récepteurs enzymatiques  
REG: regulatory domain  
RH : récepteurs hormonaux  
RIPK : Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase  
ROS : reactive oxygen species  
R-U : Royaume-Uni  
SAM: sterile alpha module domain

SSBR: SSB repair  
SSBs: interruptions monocatenaies  
THS :traitement hormonal substitutif  
TKIVEGFR: tyrosine kinase inhibitorreceptorsfor vascular endothelial growth factor  
TMZ: temozolomide  
TNBC: Cancer du sein triple négatif  
TOPO: topotecan  
USA: United States of America  
UTDL : unité terminale ductulo-lobulaire  
UV : rayonnement ultraviolet  
UV : ultraviolet  
VEGFR: vascular endothelial growth factor receptor  
VIT:vaultprotein inter-alpha-domain  
VWA: von willebrand factor type sin domaine  
WRN: gene responsible for Werner syndrome  
XPA:xerodermapigmentosumcomplementation group A  
XRCC: X-ray repair cross-complementing

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Le cancer du sein est un problème majeur de santé publique et est la première cause de mortalité par tumeur maligne chez la femme [1]. A l'origine de cette mortalité on observe notamment le développement de résistances aux chimiothérapies conventionnelles mais aussi le développement des métastases qui sont responsables de 90% des décès des patientes. Il est donc indispensable d'étendre l'arsenal thérapeutique à la disposition des cliniciens avec de nouvelles molécules actives sur les formes de cancers résistants aux chimiothérapies et ciblant le processus métastatique.

La majorité des traitements anticancéreux doivent leur efficacité à leur capacité d'endommager l'ADN. En effet, les cellules qui ne réparent pas efficacement ces dommages accumulent des lésions au niveau de leur ADN et meurent au moment de la division cellulaire.

Les défauts dans les voies de réparation de l'ADN sont aujourd'hui largement exploités pour le traitement du cancer. En effet, la capacité des tumeurs à réparer les lésions induites par les traitements génotoxiques (chimio- et radiothérapie) leur confère une résistance intrinsèque ou acquise à ces traitements. Développer des inhibiteurs de réparation de l'ADN permettrait de contrecarrer cette résistance et de sensibiliser les tumeurs à ces thérapies conventionnelles [2]. A Synthetic Lethal Therapeutic Approach: Poly(ADP) Ribose Polymerase Inhibitors for the Treatment of Cancers Deficient in DNA Double-Strand Break Repair. [3]

Depuis plus de 50 ans, cette caractéristique est exploitée comme opportunité thérapeutique pour le traitement du cancer, avec l'utilisation de chimiothérapies cytotoxiques conventionnelles, qui détruisent en particulier les cellules porteuses de défauts de réparation de l'ADN.

Plus récemment, la découverte d'une interaction de létalité synthétique entre les dommages à l'ADN induits par les inhibiteurs de la poly(ADP-ribose)polymérase (PARPi, *poly[ADP-ribose] polymeraseinhibitors*) et les défauts des gènes suppresseurs de tumeur *BRCA1* et *BRCA2* (*breast cancer type 1/2 susceptibilitygenes*) a permis le développement de nouvelles approches thérapeutiques ciblées destinées à des populations sélectionnées de patients présentant ces défauts, notamment dans le cadre de cancers du sein, de l'ovaire, ou de la prostate [3].

Le bénéfice clinique des inhibiteurs de la PARP est démontré pour les cancers du sein et de l'ovaire chez les patientes porteuses de mutation germinale du gène BRCA. Leur utilité dans les cancers du sein triples négatifs, qui présentent des similarités avec les cancers liés à une mutation de BRCA1, est actuellement en cours d'évaluation avec des résultats préliminaires encourageants [4]

## INTRODUCTION

Sous cette optique, on s'est intéressé dans notre travail à l'étude de l'effet de l'olaparib (premier inhibiteur de PARP) sur des lignées cellulaires de cancer du sein triple négatif qui se présente sous un profil hormono-indépendant et donc résistant aux antagonistes des hormones qui sont généralement efficaces contre les cancers qui possèdent les récepteurs).

Ce manuscrit se compose de trois parties. La première partie, composée de deux chapitres, est consacrées à l'étude bibliographique. A la suite de cette étude bibliographique et vu le contexte de pandémie de coronavirus-19, nous se contentant dans la partie matériel et méthodes par l'analyse de données fournis par notre encadreur pour l'évaluation de l'effet de l'olaparib sur la viabilité cellulaires de deux lignées de cancer du sein triple négatif. Dans la troisième partie, nous présentons les résultats obtenus et terminerons par une discussion générale et une conclusion.

## INTRODUCTION

# **CHAPITRE I :**

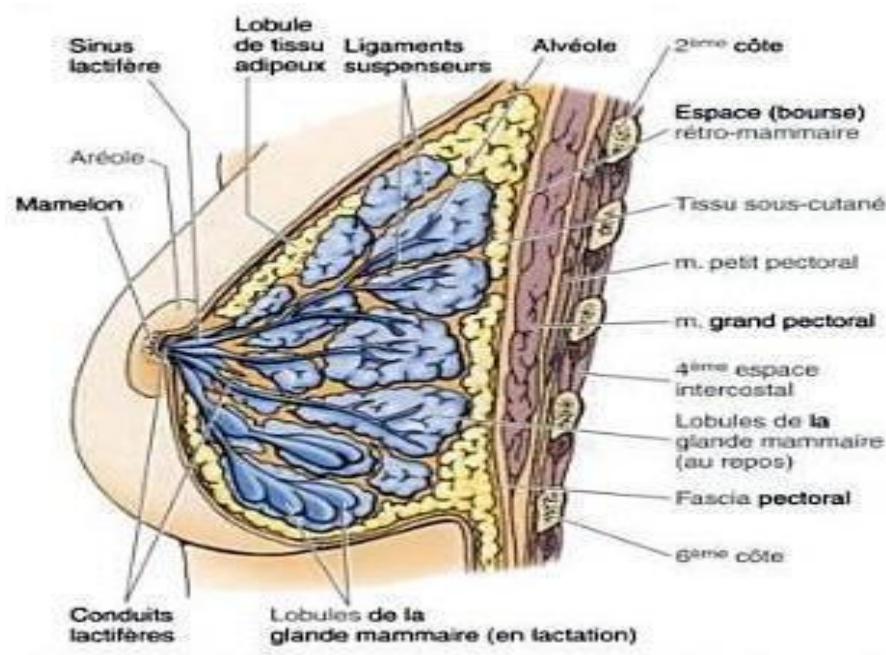
# **CANCER DU SEIN**

## 1. le sein

### 1.1. Anatomie du sein :

Le sein, l'un des organes sexuels de la femme, est situé anatomiquement entre la deuxième et la sixième côte, au niveau du sternum et au-dessus du thorax. Plus précisément, « les seins sont situés au niveau du thorax, en avant du muscle pectoral de chaque côté et s'étendent en hauteur jusqu'à la clavicule et, en largeur de l'aisselle jusqu'au milieu du sternum environ. Ils sont asymétriques et ne contiennent pas de muscle. Ils sont soutenus par des ligaments » [5].

Les seins comprennent du tissu glandulaire, des tissus fibreux et adipeux situés entre les lobes et lobules glandulaires, des vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que des nerfs [6]. (Figure 1).



**Figure 1: Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique antérieure [6].**

#### 1.1. a. La peau et la plaque aérolo-mamelonnaire

Le revêtement cutané est épais en périphérie et s'amincit au voisinage de l'aréole. Le mamelon est cylindrique, pigmenté, séparé de l'aréole par un sillon. A la surface du mamelon, les orifices d'abouchement (les pores) des canaux galactophores sont disposés de façon circonférentielle.

L'aréole est un disque cutané, de 15 à 30 mm de diamètre plus ou moins pigmenté.

Sa surface est irrégulière, on y observe de petites saillies (12 à 20) les tubercules de Morgagni (ce sont des glandes sébacées qui, pendant la grossesse sont plus volumineuses et plus nombreuses (les tubercules de Montgomery) [7].

### **1.1. b. La glande mammaire**

Dans chaque sein, la glande mammaire est une masse de densité variable, discoïde, aplatie d'avant en arrière, de contour irrégulier. Elle est organisée en une vingtaine de lobes. Chaque lobe est composé de 20 à 40 lobules Et chaque lobule contient 10 à 100 alvéoles [7].

#### **1.1.b. L'unité de base est l'acinus ou alvéole**

L'alvéole est une cavité arrondie en forme de cul de sac qui constitue la partie sécrétrice de la glande. Chaque acinus se draine par un canal intra lobulaire ou alvéolaire.

Les acini et les canaux intralobulaires forment un lobule qui se draine par un canal inter lobulaire [7].

### **1.1. c. Le tissu adipeux et conjonctif**

Etroitement liée au tissu glandulaire, la quantité de tissu adipeux est en grande partie responsable du volume des seins, lequel n'a aucun effet sur la production et la qualité du lait

### **1.1. d. Les moyens de fixation du sein**

Les moyens de fixation du sein sont peu développés et ne suffisent pas à maintenir la position des seins. Aucun muscle n'existe à cet effet.

Les moyens sont les attaches cutanées au niveau de la plaque aréolomamelonnaire, le sillon sous-mamelonnaire, les travées conjonctives (les ligaments de Cooper) [7].

### **1.1. e. Innervation**

Les nerfs du sein proviennent des rameaux (perforants) cutanés antérieurs et latéraux du quatrième et sixième nerf intercostal, tous ces nerfs envoient de nombreuses ramifications vers l'aréole et le mamelon, zones extrêmement sensibles [6].

## 1.2. Physiologie du sein

Toute au long de leurs vies, les femmes observeront des changements au niveau de leurs seins. En effet, la glande mammaire, l'élément constitutif majeur du sein, est soumise à un contrôle hormonal qui provoque des modifications au niveau des seins. Nous observons ces modifications au cours des trois périodes de la vie d'une femme.

La première période se situe entre la naissance et la puberté. La seconde correspond à la puberté et la troisième période correspond à la ménopause.

En effet, si nous reprenons les grandes périodes de la vie d'une femme, nous observerons globalement des changements :

- **À la puberté:** sous l'influence des estrogènes qui accélèrent la croissance des seins d'une femme. En effet, la taille, la densité et le volume des seins sont étroitement liés au cycle menstruel.

- **Pendant les grossesses:** la glande mammaire se développe énormément pour accéder à une capacité maximale de production du lait.

- **Pendant l'allaitement,** les seins augmentent de volume en raison d'une grande production du lait par les cellules laticifères.

- **À la ménopause :** les seins deviennent moins fermes et les grossesses passées provoquent un affaissement des seins accentué par un relâchement musculaire.

Il est important de savoir que ces changements physiologiques sont normaux afin de les distinguer et pouvoir détecter des changements pathologiques tels que des cancers.

Nous savons maintenant qu'un grand nombre d'hormones interviennent dans le développement des seins mais celles qui ont vraiment un rôle décisif sont les hormones sexuelles telles que les estrogènes et la progestérone produites par les ovaires à partir de la période de puberté jusqu'à la ménopause [8].

## 1.3. Histologie du sein

Le sein est une glande tubulo-alvéolaire ramifiée comportant quinze à vingt lobes.

Ces unités glandulaires lobaires sont délimitées par des cloisons conjonctives denses issues de tissu sous cutané d'où se détachent des travées conjonctives individualisant des lobules au sein de chaque lobe. Ces quinzaines d'unités glandulaires sont drainées chacune par un canal

galactophore s'abouchant au mamelon. Ces canaux galactophores sont ramifiés et drainent des canaux de plus en plus fins.

La petite portion du canal terminal est les canalicules constituant le lobule est appelée : unité terminale ductulo-lobulaire (UTDL).

Le tissu conjonctif intra-lobulaire qui entoure les canalicules au sein du lobule appelé encore tissu palléal est lâche, plus cellulaire que celui des travées inter-lobulaires et sensibles aux influences hormonales. Le système canalaire représente la composante fonctionnelle du sein même si le tissu fibro- adipeux environnant forme la masse principale de la glande.

Le système canalaire quelque soit son niveau au niveau de l'arbre galactophorique est tapissé par une double assise cellulaire comportant une couche épithéliale interne doublée par une couche discontinue de cellules myoépithéliales. Les cellules épithéliales cylindriques sont disposées perpendiculairement aux cellules myoépithéliales qui ont une forme allongée. Ces deux couches cellulaires reposent sur une membrane basale.

Le tissu mammaire est donc caractérisé par sa grande hétérogénéité histologique, son taux de réplication peu actif, une prédominance du tissu adipeux et du tissu conjonctif par rapport aux structures épithéliales qui sont minoritaires, mais d'où émergent les cancers. En effet la bonne connaissance de l'histologie normale du sein permet de déceler les aspects pathogènes et d'en déterminer la gravité [9,10].

## **2. Cancer du sein**

### **2.1. Fréquence**

#### **2.1. a. La fréquence dans le monde :**

Tout autour du monde l'incidence de ce cancer montre des régimes divers. Les régimes sont inférieurs dans les pays moins développés et les plus grands dans les pays plus-établis. Le cancer du sein est liée à l'âge avec seulement 5% de tous les cancers du sein se produisent chez les femmes au-dessous de 40 années [11].

Dans les douze régions du monde, l'annuaire des taux d'incidence âge-normalisés selon 100.000 femmes sont comme suit [12] :

- L'Asie orientale - 18 selon 100.000 femmes
- L'Asie centrale du sud - 22 selon 100.000 femmes
- Afrique Subsaharienne - 22 selon 100.000 femmes
- L'Asie du sud-est - 26 selon 100.000 femmes

- L'Afrique du Nord - 28 selon 100.000 femmes
- L'Asie occidentale - 28 selon 100.000 femmes
- Sud et l'Amérique Centrale - 42 selon 100.000 femmes
- L'Europe de l'Est - 49 selon 100.000 femmes
- L'Europe du Sud - 56 selon 100.000 femmes
- L'Europe du Nord - 73 selon 100.000 femmes
- Océanie - 74 selon 100.000 femmes
- Europe occidentale - 78 selon 100.000 femmes
- L'Amérique du Nord - 90 selon 100.000 femmes

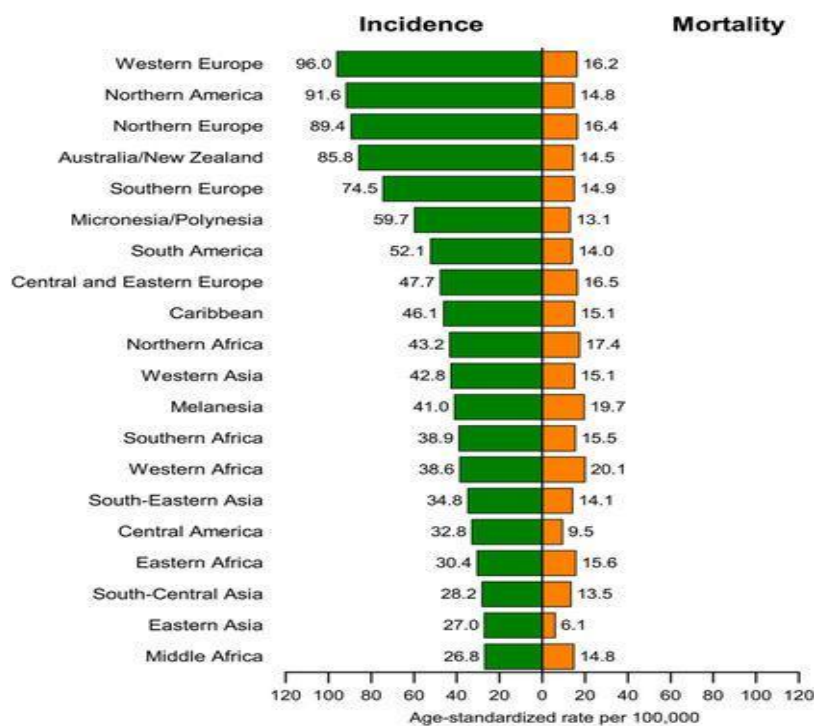


Figure 2: Incidence du cancer du sein et taux de mortalité par région du monde. [14]

### 2.1. b. Fréquence en Algérie

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers de la femme non seulement dans les pays occidentaux mais également en Algérie. Malgré les progrès thérapeutiques, il reste un cancer grave avec de graves séquelles tant physiques que psychiatriques.

Le taux d'incidence du cancer du sein est de 14,5 cas pour 100.000 habitants par an à Alger (Registre du Cancer d'Alger). Selon ce taux, il y a 2.000 nouveaux cas chaque année ; les deux tiers survenant après l'âge de 45 ans.

Tous stades confondus, les taux de survie à dix ans sont de 50%. Pour l'année 1993, le service d'Oncologie Médicale du Professeur BOUZID (CPMC) prendre en charge près de 500 patientes atteintes de cancer du sein dont 120 nouvelles malades [13].

**Tableau 1 : Tendances du cancer du sein chez les femmes Alger 2008– 2017 [11]**

<b>Années</b>	2008	2009	2010	011	012	013	014	015	016	017
<b>Incidence /100000</b>	62.4	84.3	65.3	70.7	70.2	9	75.7	79.7	79.7	88.4

Le cancer du sein continue à avoir des taux d'incidences élevées pour atteindre une incidence de 88.4 en 2017.

## **2.2. Facteurs de risque**

Le cancer du sein est le résultat final de plusieurs événements complexes ; ces événements peuvent être provoqués par des facteurs génétiques, environnementaux ou bien par l'interaction de ces deux facteurs.

### **2.2. a. Age**

L'âge est le facteur de risque le plus important vis-à-vis du cancer du sein. La maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans. Le risque augmente entre 50 et 75 ans (près des deux tiers des cancers du sein) [17].

L'âge moyen des sujets atteints de cancer du sein est de  $51.4 \pm 12.5$  ans et un âge médian de 50 ans [16].

### **2.2. b. Sexe**

Le cancer du sein touche essentiellement les femmes mais peut également toucher les hommes. Le cancer du sein chez l'homme est rare. Moins de 1 % de tous les cancers du sein affectent les hommes [18].

### **2.2. c. Facteurs hormonaux**

Sont classés en 2 catégories endogène et exogène :

### **2.2. c.1. Facteurs hormonaux endogènes**

#### **- Age précoce des premières menstruations et ménopause tardive:**

De nombreuses études montrent que la survenue des premières règles avant l'âge de 12ans augmente le risque de cancer du sein. Le fondement biologique de cette association correspond à l'exposition précoce et prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité des ovaires. Cette exposition est considérable lorsque les cycles menstruels sont réguliers. Une telle hypothèse concorde avec les taux d'œstrogènes élevés après les règles, que l'on observe chez les femmes qui ont eu leurs menstruations précocement [17].

D'une manière générale, les femmes qui ont leur ménopause après 50 ans environ présentent un risque accru de cancer du sein par rapport à celles dont les menstruations sont précoces. Le risque augmente d'environ 3% pour chaque année supplémentaire, à partir de l'âge présumé de la ménopause. Le mécanisme par lequel la ménopause tardive augmente le risque de cancer du sein semble le fait d'une production prolongée des hormones ovariennes [17].

### **2.2. c.2. Facteurs hormonaux exogènes**

#### **- Traitement hormonal substitutif (THS) :**

Le traitement hormonal substitutif (THS) est utilisé pour pallier à la diminution du niveau des hormones ovariennes. En retardant les effets de la ménopause, le THS augmente le risque de développer un cancer du sein. Le centre international de recherche sur le cancer a établi que le risque de développer un cancer du sein sous THS est d'autant plus important que sa durée d'utilisation est longue. Les femmes qui utilisent ces médicaments pendant plus de cinq ans, ont un risque de développer un cancer du sein augmenté de 26 à 35%. Ce risque diminue à l'arrêt du traitement et disparaît après cinq ans [19;20].

#### **- Contraceptifs oraux**

L'utilisation de contraceptifs oraux œstroprogestatifs est considérée comme ayant un effet cancérigène surtout lorsqu'ils sont utilisés sur une longue période (dix ans). Les femmes âgées de quinze à quarante-cinq ans qui utilisent un contraceptif oral œstroprogestatif ont un risque

augmenté de 24%. Cet accroissement est modéré et disparaît dix ans après l'arrêt du contraceptif.

Chez les jeunes femmes en âge de procréer qui utilisent un contraceptif oral, le risque de cancer du sein est rare. En revanche, l'utilisation de tels contraceptifs tard dans la vie reproductive augmente le risque de cancer du sein. C'est également à cette période que le risque naturel d'avoir un cancer du sein devient plus important (17; 21).

### **2.2.d. Facteurs liées à la reproduction**

#### **- Grossesse et parité :**

Généralement, les femmes qui ont mené au moins une 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. La multiparité a un effet protecteur sur le risque de cancer du sein sporadique et cet effet semble augmenter proportionnellement au nombre d'accouchement.

La grossesse provoque une différenciation accélérée du tissu mammaire et une prolifération rapide de l'épithélium. Les changements amorcés au cours de la première grossesse en particulier si elle est survenue précocement, sont accentués par chacune des

grossesses ultérieures et le développement du cancer du sein est lié à la vitesse de prolifération des cellules épithéliales mammaires et inversement au degré de différenciation[17].

#### **- Allaitement maternel :**

L'effet de l'allaitement sur le risque de cancer du sein est controversé, probablement parce que la modification du risque, compte tenu de la durée moyenne de l'allaitement, est faible. Les femmes qui ont allaité pendant une durée totale d'au moins 25 mois présentent un risque réduit de 33 %, par rapport à celles qui n'ont jamais allaité.

Une diminution significative du risque de cancer du sein de plus de 4 % a été rapportée pour chaque période d'allaitement de 12 mois. L'effet protecteur de l'allaitement sur le risque de cancer du sein semble plus important chez les femmes jeunes que chez les femmes plus âgées.

D'une manière générale, plus la durée de l'allaitement est longue, plus les femmes sont protégées contre le cancer du sein.

Le mécanisme par lequel l'allaitement diminue le risque de cancer du sein semble résulter des changements hormonaux endogènes. La lactation entraîne la diminution du niveau d'exposition cumulative aux œstrogènes chez la femme. La lactation réprimerait ainsi l'apparition et le développement des cancers du sein [17].

### **2.2. e. Facteurs génétiques**

Environ 5% des cancers du sein sont d'origine génétique. Il existe principalement deux gènes de prédisposition au cancer du sein : le gène BRCA1, gène de grande taille, localisé au niveau du chromosome 17 qui code une protéine de 1863 acides aminés et le gène BRCA2 présent sur le chromosome 13 qui code lui une protéine de 3418 acides aminés [22]. Ces deux gènes sont dits suppresseurs de tumeurs : leur mutation (un seul allèle suffit) peut augmenter le risque de cancer du sein. BRCA2 semble en plus favoriser les cancers de la prostate et du pancréas, par rapport au risque de la population globale [23].

Avec les mutations de BRCA1, le risque de développer un cancer du sein avant 70 ans est de 65% alors que pour BRCA2, il est de 35%. Ces mutations sont héréditaires [23].

### **2.2. f. Facteurs liés au mode de vie et à l'environnement**

#### **- Radiations ionisantes :**

Un suivi intensif de plusieurs groupes de population a montré que le sein est l'un des organes les plus sensibles aux effets des radiations. 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. Les radiations ionisantes augmentent le risque de cancer du sein dans la mesure où elles endommagent l'ADN et ses constituants [17].

### - **Agents chimiques :**

Les xénoestrogènes 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 [24].

### - **Obésité et prise de poids :**

L'obésité est associée à un profil hormonal soupçonné de favoriser le développement du cancer du sein. L'obésité augmente d'environ 50 % le risque de cancer du sein chez les femmes ménopausées, probablement en raison de l'augmentation des concentrations sériques d'œstradiol libre [26].

Cependant, parce qu'elle donne souvent lieu à des cycles menstruels anovulatoires, l'obésité n'augmente pas le risque chez les femmes avant la ménopause[25] . Toutefois, l'obésité apparaît comme un facteur de risque important après la ménopause. Par ailleurs, les femmes ayant un surpoids de plus de 20 kg à partir de l'âge de 18 ans, présentent, après la Ménopause, un risque de cancer du sein multiplié par deux [27].

### - **Cigarette :**

La fumée du tabac est une importante source de substances carcinogènes. Pourtant, la cigarette n'est pas considérée comme un facteur de risque établi du cancer du sein. Certains investigateurs ont trouvé que les fumeuses présentent un risque réduit, d'autres aucun risque, d'autres ont rapporté une augmentation de risque associé au tabagisme. Le tabagisme passif semble associé à un risque augmenté d'environ 60 % ; ce risque est multiplié par trois chez les femmes après la ménopause [28].

### - **Alcool :**

L'alcool est le seul facteur nutritionnel établi de risque de cancer du sein. Ce risque augmente d'environ 7 % pour une consommation moyenne d'une boisson alcoolique par

jour[29].

Les femmes ayant un cancer du sein, et consommant au moins une boisson alcoolique par jour, ont une durée de survie diminuée de 15 % à 40 %, comparativement à celles qui ne boivent pas d'alcool [30], car l'alcool provoque une augmentation du niveau des hormones dans le sérum et une production accrue de facteurs de croissance IGF (*insulin-like growth factor*).

Les IGF agissent comme des mitogènes, inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes. Une production accrue d'IGF augmente le risque de cancer du sein, surtout avant la ménopause[31].

### 2.3. Classification histologique

La classification histologique actuellement utilisée est celle de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la presque totalité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non carcinomateuses (sarcomes, métastases intramammaires) sont rares (moins de 1% des cancers du sein) [32].

**Tableau 2: Classification des tumeurs malignes du sein de l'OMS**

<b>Tumeurs épithéliales malignes</b>
<p><b>Carcinomes non infiltrants (<i>IN SITU</i>)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome intracanaire sans autre indication (SAI)</li> <li>• Carcinome lobulaire <i>in situ</i></li> </ul> <p><b>Carcinomes infiltrants</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Carcinome canalaire infiltrant de forme commune</li> <li>• Carcinome canalaire infiltrant avec composante intracanaire prédominant</li> <li>• Carcinome lobulaire infiltrant</li> </ul> <p>Autres carcinomes : mucineux (colloïde), médullaire, papillaire, tubuleux, adénoïde kystique, sécrétant (juvénile), apocrine, métoplasiques, riche en glycogène, à cellules en bague à chatons, à cellules riches en lipides, à différenciation neuro-endocrine,</p>

maladie de Paget du mamelon.
<b>Tumeurs malignes mixtes épithéliales et conjonctives</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sarcome phyllode</li> <li>• Carcinosarcome</li> </ul>
<b>Autres Tumeurs malignes</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mélanome</li> <li>• Angiosarcome</li> <li>• Autres sarcomes (<i>sans autre indication</i>)</li> <li>Lymphomes</li> </ul>
<b>Métastases intra mammaires</b>
?

### 2.3. a. Carcinome *INSITU*

Il s'agit comme pour les autres organes, d'une prolifération tumorale maligne épithéliale limitée à cet épithélium et n'ayant donc pas encore franchi la membrane basale, par opposition au carcinome infiltrant. D'une part il n'existe théoriquement pas de risque métastatique et d'autre part le risque évolutif à terme est l'apparition d'une tumeur Infiltrant, le diagnostic de ce carcinome peut être difficile [33].

Le cancer canalaire *in situ* ou carcinome canalaire *in situ* (CCIS) est le plus fréquent :

huit à neuf cancers *in situ* sur dix sont des cancers canauxaires *in situ* [33].

Le cancer lobulaire *in situ* ou néoplasie lobulaire *in situ* ou carcinome lobulaire *in situ* (CLIS) est plus rare, il représente 10 à 15% des cancers du sein *in situ*.

Il est considéré comme un facteur de risque de développer un cancer du sein et non comme un précurseur direct de cancer [34].

### 2.3.b. Carcinome infiltrant

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[35].

- Le carcinome canalaire infiltrant est le plus fréquent (80% des cas).

Il se présente le plus souvent selon l'aspect classique d'une lésion stellaire et dure [35].

- Le carcinome lobulaire infiltrant est moins fréquent (environ 10%) et se définit par l'absence d'architecture glandulaire et par des cellules rondes et régulières [33].

**Tableau 3: Fréquence des formes histologiques du cancer du sein chez la femme – Alger 2017 [17].**

Type histologique	Fréquence %
Carcinome canalaire infiltrant	71,9
Carcinome SAI	9,3
Carcinome lobulaire infiltrant	8,8
Carcinome canalaire lobulaire	3
Adénocarcinome colloïde	1,4
Tumeur sans précision	1,1
Carcinome mucineux	0,8
Autres formes morphologiques	3,7

### 2.4. Classification moléculaire

**C'est une nouvelle taxonomie qui subdivise le cancer du sein en tumeurs dites :**

Luminales qui expriment les récepteurs hormonaux. Ils se subdivisent en luminal A et B, selon leur index de prolifération

**Sous-type Luminal A** : caractérisé par une très forte expression des gènes associés aux Récepteur aux Œstrogènes (RO ) et une stabilité du génome, ils sont associés à des cancers de bas grade et sont d'évolution plutôt favorable.

Un traitement par hormonothérapie est souvent prescrit.

Sous-type Luminal B : caractérisé par une expression plus faibles des gènes associés aux RO et un génome plus instable, ils sont associés à des cancers moins différenciés de plus haut grade histologique, et plus prolifératifs que les luminal A

**Sous-type HER2** : caractérisé par une forte expression de HumanEpidermalGrowth Factor (HER), ils sont associés à des cancers plutôt agressif mais sensible à la chimiothérapie.[36]

### **Triples négatifs n'exprimant ni RE, ni RP, ni HER2**

Il est caractérisé par l'absence d'expression des récepteurs hormonaux (œstrogène, progestérone) ni le récepteur HER2.

Ce cancer se manifeste souvent sous la forme d'une tumeur agressive de haut grade, et beaucoup de ces tumeurs sont diagnostiquées à un stade avancé [37].

**Tableau 4: Classification moléculaire du cancer du sein [38]**

	RH	HER2	KI67
<b>Luminal A</b>	Positif (Score élevé)	Négatif	<14% <sup>11</sup>
<b>Luminal B</b>	Positif	Négatif	>14% <sup>11</sup>
<b>HER2</b>	Négatif	Positif	Taux élevé
<b>HER2/Luminal</b>	Positif	Positif	
<b>Triple négatif</b>	Négatif	Négatif	Taux élevé

## **2.5. Cancérogenèse mammaire**

La cancérogenèse est un processus qui conduit à la transformation progressive de cellules normales en cellules malignes.

L'étude du développement des glandes mammaires chez la souris a permis de montrer l'existence de cellules souches conduisant à des précurseurs de la série épithéliale, qui ont conservé la possibilité de former une glande mammaire constituée de canaux et d'alvéoles après stimulation hormonale. Ces cellules, localisées dans l'unité ductulo-lobulaire terminale considérée comme le lieu de départ de la cancérogenèse, se divisent très lentement, mais, du fait de leur immortalité, elles sont exposées à l'accumulation de mutations au cours d'une vie entière. Certaines cellules souches expriment également des récepteurs des estrogènes et de la progestérone, suggérant que les hormones ovariennes, en amplifiant cette population au cours des cycles menstruels, pourraient favoriser le développement de cancers hormonodépendants.

Deux types de cellules précurseurs contenant ou non des RE seraient à l'origine des deux voies principales de la cancérogenèse mammaire, aboutissant aux cancers hormono-dépendants ou hormono-indépendants de grade histopronostique plus élevé [39]

Dans la plupart des tissus épithéliaux, la cancérogenèse est un phénomène de longue durée passant par plusieurs étapes avant de devenir une tumeur invasive et/ou métastatique (le cancer fait intervenir de multiples changements que ce soit au niveau de l'expression des gènes ou au niveau de la physiologie cellulaire. [40]

Chez la femme, le début du processus cancérigène est silencieux ; il peut avoir été initié 10 à 15 ans avant le diagnostic si l'on tient compte du temps de doublement d'une cellule et des périodes de quiescence) [39]

Il y a peu de modèles satisfaisants permettant d'étudier la cancérogenèse humaine.

Les modèles de rongeurs sont différents, avec prédominance des sarcomes et non des épithéliomas, vie plus courte et cancer d'apparition plus rapide, faisant intervenir des oncogènes dominants et des régulations hormonales différentes . Cependant, les systèmes chimériques constitués de greffe de tissu mammaire humain dans des souris immunodéprimées sont des approches prometteuses .

Les cellules mammaires humaines précancéreuses sont peu accessibles et nécessitent des méthodes effractives, telles que les biopsies mammaires, plus difficiles à mettre en œuvre que pour d'autres cancers .

Enfin, le rôle cancérigène de l'apport extérieur de molécules à activité estrogénique dans l'environnement ou l'alimentation (xénoestrogènes, phytoestrogènes, etc.) n'est pas démontré. [41]

### **Étapes de la cancérogenèse :**

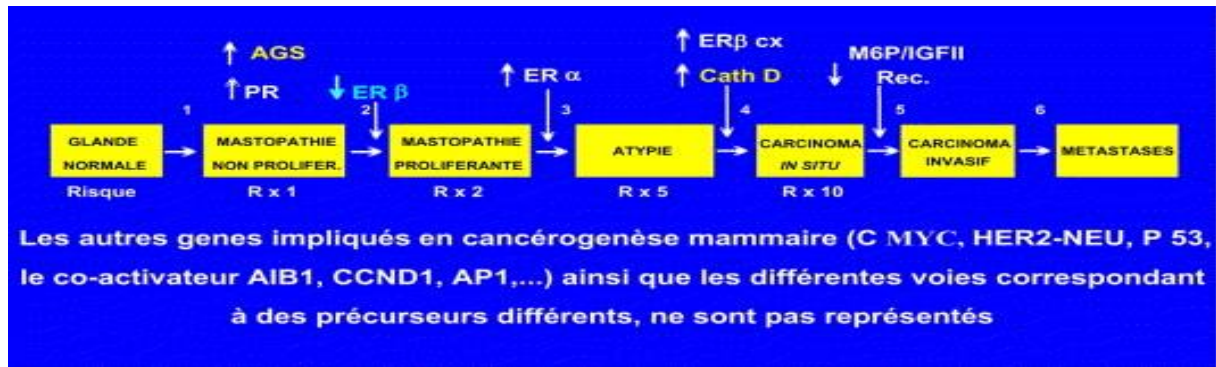
' Phase d'initiation: apparition de cellules qui se transforment et qui possèdent des capacités cancéreuses.

' Phase de promotion : prolifération anormale La multiplication des cellules va en augmentant parallèlement aux mutations de l'ADN du noyau.

'l'angiogenèse : la néovascularisation cellulaire.

'stade du stroma-réaction.

' La phase de formation des métastases [41]



**Figure 3: Variations du niveau de certaines protéines liées à l'action des hormones ovariennes**

Au cours de la cancérogenèse mammaire. Les variations d'expression des récepteurs des hormones stéroïdes ovariennes et, en particulier, une diminution du rapport  $RE\beta/RE\alpha$  et une augmentation des récepteurs de la progestérone (RP) dans les hyperplasies mammaires suggèrent fortement une hypersensibilité précoce aux estrogènes et aux progestatifs. La surexpression de deux enzymes induites par les facteurs de croissance, l'AGS également induite par la progestérone et la cathepsine D, également induite par les estrogènes, est en accord avec le rôle synergique de ces hormones en cancérogenèse mammaire.

## 2.5. b. Forme sporadique, Hériditaire et agrégation familiale

### 2.5. b.1. Le cancer héréditaire et le cancer familial :

Pour les cancérologues, le terme « cancer familial » se réfère habituellement à un cancer qui frappe plusieurs membres de la famille sans pour autant être héréditaire ; alors qu'un « cancer héréditaire » décrit les cancers qui sont transmissibles et, dans certaines cas, familiaux, dans la plupart des syndromes de cancers héréditaire et dans la quasi-totalité des formes sporadiques, plusieurs mutations dans une cellule somatique sont nécessaires pour le démarrage et le développement d'un cancer [42].

Le terme « familial » est quant à lui utilisé lorsque le cancer est retrouvé chez au moins deux parentes au premier et/ou au second degré, sans que la transmission mendélienne d'une susceptibilité soit apparentée.

Parmi ces cancers survenant à l'intérieur d'une même famille, on considère comme héréditaire ceux pour lesquels une mutation d'un gène de susceptibilité est connue, ou qu'une telle mutation est suspectée sur la base du risque élevé retrouvé dans la famille.

Le reste des cas de cancers apparaît en l'absence d'une histoire familiale de cancer du sein et sont habituellement appelées des cas « sporadique ».

Cependant, la découverte de nouveaux allèles de susceptibilité et l'étude exhaustive des antécédents familiaux liées à certain cas pourraient permettre de reclassifier une partie des cancers familiaux (et même certains cancers sporadiques) en tant que cancer héréditaires [43]. La comparaison entre les formes héréditaires familiale et les formes sporadiques révèle deux différences importantes :

- Les formes familiales se manifestent à un âge plus jeune.
- Les formes familiales sont souvent multifocales.

Les études de liaison ont permis l'identification des gènes de susceptibilités impliquées dans de nombreux syndromes de cancers familiaux [44].

Une fois le gène responsable identifié, des mutations de ses gènes peuvent être recherchées dans les tumeurs sporadiques ; dans ce contexte un nombre significatif de gènes suppresseurs de tumeur a été identifiée [44].

Le tableau suivant range les cancers en trois classes différentes : cancer héréditaire, cancer familial, et cancer sporadique et explique les caractéristiques spécifiques pour chacun (Tableau5).

**Tableau 5 : Caractéristiques des familles présentant des cas de cancer du sein héréditaires, familiaux et sporadiques [44].**

Classification des familles	Caractéristiques
Cancer héréditaire	Transmission autosomique dominante apparente de type spécifique de cancer <ul style="list-style-type: none"> <li>• Âge plus jeune au diagnostic du cancer que ce qui est attendu</li> <li>• Multiples cancers primaires chez un même individu</li> <li>• Regroupement de cancers rares</li> <li>• Cancer bilatéral ou multifocal</li> </ul> Parents au premier degré des individus atteints ont un risque de 50% d'être porteurs de la même mutation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pénétrance incomplète et expression variable, de telle façon que les porteurs</li> <li>• obligatoires de la mutation familiale</li> </ul>

	<p>peuvent ne pas être affectés par le cancer et que l'âge au diagnostic du cancer parmi les parents sera variable Les individus qui n'ont pas la mutation familiale ont le même risque que la population générale de développer un cancer</p>
Cancer familial	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plus de cas d'un ou plusieurs type(s) de cancer(s) à l'intérieur d'une même famille que ce qui est statistiquement attendu, mais pas de patron d'héritabilité clair Âge variable au diagnostic Peut résulter du regroupement par chance de cas sporadiques</li> <li>• Peut résulter de facteurs génétiques communs, d'un environnement et/ou d'habitudes de vie similaires ne présente pas habituellement les caractéristiques classiques des syndromes de cancers héréditaires</li> </ul>
Cancer sporadique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les cancers dans la famille sont probablement dus à des causes non héréditaires Âge du diagnostic typique</li> <li>• Même s'il y a plus d'un cas dans la famille, il n'y a pas de patron de transmission héréditaire clair La probabilité est très basse que la recherche de mutations de gènes de susceptibilité sera positive, le test génétique n'offrira pas d'information supplémentaire sur le risque de cancer.</li> </ul>

## 2.6. Dépistage

La seule stratégie de prévention du cancer du sein dont l'efficacité a été prouvée est le dépistage.

Comme l'évolution d'un cancer du sein et les chances de le guérir dépendent en partie de la précocité avec laquelle la tumeur a été identifiée, l'objectif du dépistage est d'intervenir précocement dans l'histoire naturelle du cancer (détection d'une tumeur encore inapparente et muette, à un stade limité, si possible avant le développement de métastases, qui pourra probablement être guérie) pour éviter qu'il n'évolue vers un stade plus avancé [45].

Le dépistage consiste :

### 2.6. a. L'auto-examen des seins

Il est possible d'examiner soi-même ses seins pour détecter des modifications ou une grosseur qui pourraient faire penser à un cancer. Cela s'appelle, autopalpation.

Toute femme peut le faire si elle le souhaite. L'auto-examen des seins a pour but de mieux connaître et surveiller ses seins. Les femmes qui souhaitent effectuer une autopalpation doivent apprendre à le faire correctement auprès de leur médecin.

### 2.6. b. L'examen médical des seins

Même si vous surveillez vous-même vos seins, il est conseillé de les faire examiner à intervalles réguliers par un médecin de votre choix. Celui-ci regarde et palpe vos seins à la recherche d'une anomalie éventuelle [46].

### 2.6. c. La mammographie et une

Radiographie des seins à l'aide de rayons X.

La mammographie peut déceler de très petits cancers, à un stade où ils ne sont pas palpables et ne provoquent aucun signe. Leurs chances de guérison sont alors maximales. – La mammographie permet de découvrir des modifications du sein qui pourraient devenir ultérieurement cancéreuses si elles n'étaient pas traitées [46].

### **2.6. e. L'échographie**

Est un examen d'imagerie qui à l'aide d'ultrasons (sons inaudibles pour l'oreille humaine), permet d'obtenir des images en temps réel d'une partie du corps ou de certains organes. Il est possible de répéter cet examen autant de fois que nécessaire sans risque.

Une échographie peut être réalisée quand une mammographie est jugée insuffisante ou pour vérifier l'existence d'une anomalie. Complément utile de la mammographie, l'échographie présente l'avantage de ne pas délivrer de rayons [46].

### **2.6. f. Examen d'Imagerie par Résonance Magnétique (I.R.M.)**

L'Imagerie par Résonance Magnétique, ou I.R.M. en abrégé est une technique d'examen qui permet d'obtenir des images d'une partie du corps ou de certains organes [46].

## **2.7. Conseil génétique**

Le conseil génétique est défini comme un processus de communication qui s'occupe des problèmes humains associés à la présence ou au risque d'une maladie génétique dans une famille, il permet d'aider les patients à comprendre les données médicales, l'hérédité, les risques de récurrence et les options disponibles, à choisir le plan d'action qui leur convient le plus et à gérer du mieux possible la présence de la maladie et/ou le risque de récurrence [47].

L'évaluation de l'utilité d'une analyse génétique se base en première instance sur l'analyse des antécédents familiaux de la patiente mais les antécédents familiaux ne sont pas seulement la base sur laquelle on décide ou non de pratiquer une analyse génétique moléculaire, ils servent aussi à estimer le risque de cancer du sein des autres femmes appartenant à la famille, ce qui est particulièrement important lorsque l'analyse génétique ne permet pas de déceler une mutation.

S'il existe un soupçon d'hérédité dans une famille, 2 examens vont être menés :

- L'examen génétique prédictif et l'analyse diagnostique des mutations.

L'analyse diagnostique des mutations est proposée en premier lieu aux personnes ayant déjà souffert d'un cancer de l'ovaire ou du sein.

Elle permet de découvrir une mutation sur les gènes BRCA1 ou BRCA2.

- L'analyse génétique prédictive est ensuite proposée à toutes les parentes au sens large de la patiente concernée, parce qu'une femme non porteuse de la mutation peut elle aussi

développer un cancer de l'ovaire ou du sein sans qu'il s'agisse d'un problème héréditaire. Le nom scientifique de ce phénomène est la phénocopie.

Si on ne faisait l'analyse génétique que pour cette femme-là, on parviendrait bien évidemment à une fausse conclusion pour la famille entière. Pour éviter cela, il vaut mieux soumettre tous les parents concernés à un examen intégral.

L'analyse génétique menée chez une personne ayant déjà souffert d'un cancer s'appelle analyse génétique diagnostique.

Cette analyse vise à dépister l'anomalie génétique sur les gènes BRCA1 ou BRCA2.

Malgré les récents progrès techniques, cette analyse prend environ six mois [48].

## **2.8. Modalités thérapeutiques**

### **2.8.a. Traitement locorégional**

Repose essentiellement sur la chirurgie et la radiothérapie

#### **- Chirurgie :**

Concernant le traitement chirurgical, la conservation mammaire est privilégiée : le choix entre une mastectomie partielle ou totale étant fait en fonction des possibilités d'exérèse en berges saines.

En cas de mastectomie totale, la reconstruction mammaire immédiate n'est pas recommandée si une radiothérapie ou une chimiothérapie postopératoire est prescrite.

L'exploration chirurgicale des ganglions axillaires est systématique en cas de cancer invasif

(en premier lieu selon la technique de recherche du ganglion sentinelle, complétée si nécessaire par un curage). [49].

#### **- Radiothérapie :**

En cas de traitement conservateur, une irradiation postopératoire de la glande mammaire est systématiquement indiquée.

Selon les situations, une irradiation complémentaire de certaines aires ganglionnaires de drainage peut également être proposée. En cas de mastectomie totale, une radiothérapie peut être indiquée.

Un traitement systémique postopératoire (par chimiothérapie et/ou hormonothérapie) peut être indiqué selon les facteurs pronostiques associés et les facteurs prédictifs de réponse au traitement. [49]

### **8.2.b. Traitement général**

#### **Envisage la chimiothérapie et l'hormonothérapie**

##### **- Chimiothérapie :**

La chimiothérapie adjuvante n'est indiquée qu'en cas de facteurs de mauvais pronostic Identifiés [49].

##### **- Hormonothérapie :**

L'hormonothérapie ne peut être prescrite qu'en cas de tumeur hormono-sensible (expression de récepteurs hormonaux, situation la plus fréquente) .

On distingue deux types d'hormonothérapie :

- Les traitements médicamenteux, qui agissent par voie générale, c'est-à-dire dans l'ensemble du corps, sur toutes les cellules sensibles aux hormones. On parle de traitement systémique ;
- Les traitements non médicamenteux, qui consistent à stopper la production d'œstrogènes par les ovaires en les retirant par une intervention chirurgicale (ovariectomie) [49].

**CHAPITRE II : LES  
POLY(ADP) RIBOSE  
POLYMERASE  
(PARPs)**

### 3. Les Poly(ADP) ribose polyméras (PARPs)

Les PARPs est un ensemble d'enzymes ubiquitaire dans les différentes espèces (sauf pour la levure où elle n'est pas retrouvée) et présente dans les différents compartiments cellulaires (i.e. nucléaire, cytoplasmique et mitochondriale) [50].

#### 3.1. La super famille des Poly (ADP) ribose polyméras

Regroupant 17 membres (Figure 6) qui sont impliqués dans différentes fonctions cellulaires.

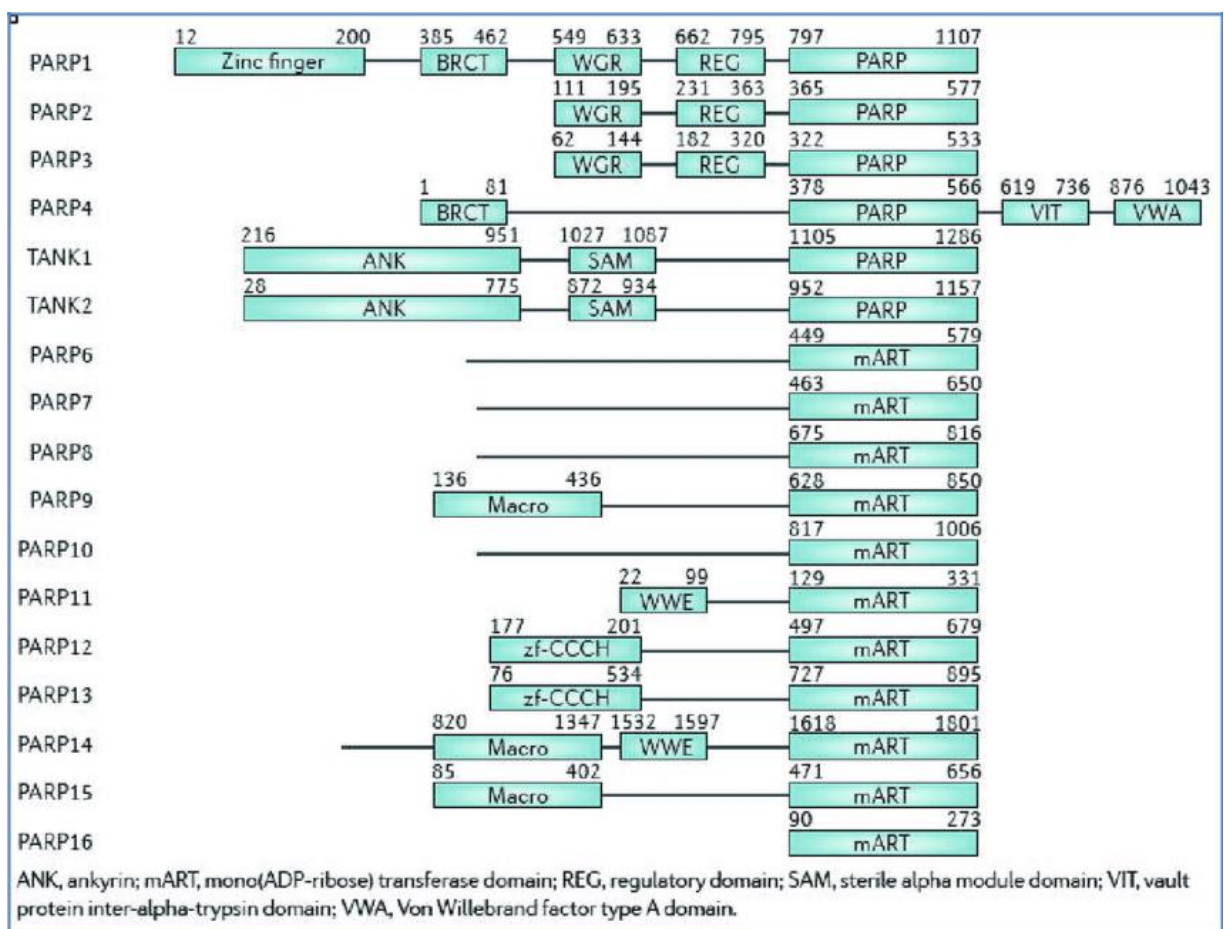
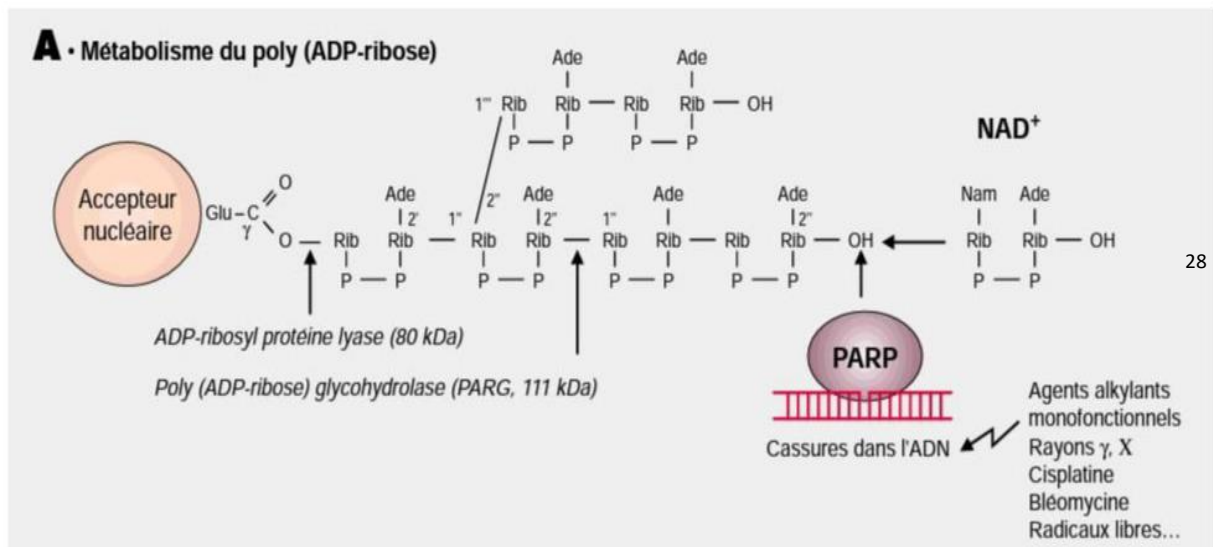


Figure 4: La superfamille de la Poly(ADP) ribose polymérase PARP.

La famille PARP contient 17 membres dont 6 ont une fonction de Poly(ADP) ribosylation (PARP1-4, PARP5A et B aussi connus comme Tankyrase1-2), les autres membres ont une fonction de mono(ADP) ribose [51].



**Figure 5: Métabolisme du poly(ADP-ribose) [56].**

A. Synthèse et dégradation du poly (ADP-ribose) respectivement par la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) et la poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG), en réponse à l'introduction de cassures dans le génome par des agents génotoxiques .poly(ADP-ribose)1 (PARP1), une enzyme multifonctionnelle de 113 kDa, est le membre le plus abondant, exprimé de manière ubiquitaire et le mieux caractérisé de la superfamille, elle a une organisation structurale et fonctionnelle hautement conservée comprenant: un domaine de liaison à l'ADN à double doigt de zinc N-terminal, un domaine d'autorégulation central et un domaine catalytique C-terminal qui lie le nicotinamide adénine dinucléotide oxydé (NAD<sup>+</sup>).

PARP1 est un capteur de coupure d'ADN qui utilise NAD<sup>+</sup> comme substrat pour catalyser l'attachement covalent des unités ADP-ribose au groupe  $\gamma$ -carboxyle des résidus Glu d'un large éventail de protéines cibles, cette modification post-traductionnelle connue sous le nom de poly-ADP-ribosylation ou PARYlation augmente de plus de 500 fois en présence de cassures de brins d'ADN.

Est connue aussi comme un capteur d'entailles d'ADN, contribuant à la réparation de rupture simple brin, à l'orchestration de la réponse aux dommages à l'ADN (DDR) et au maintien de la stabilité génomique.

Bien que PARP1 représente la grande majorité (~ 85%) de la synthèse des polymères [53]. PARP cinq, autres membres ont une activité catalytique de PARYlation, à savoir PARP2,

PARP3, PARP4 et PARP5A / B (également connu sous le nom de tankyrase1 / 2).

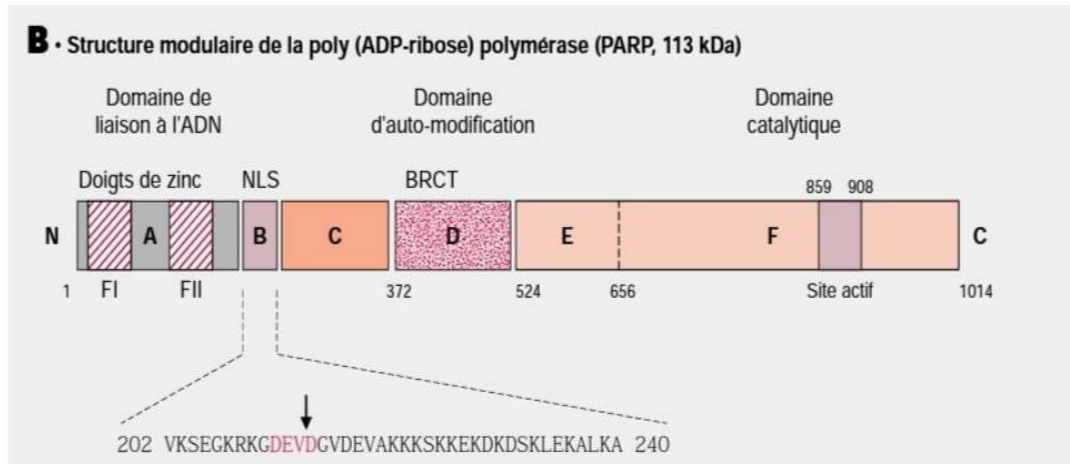


Figure 6: structure de la PARP, poly (ADP-ribose) polymérase humaine [52].

B. Représentation schématique des différents modules fonctionnels de la PARP humaine.

Le signal de localisation nucléaire bipartite (acides aminés 202-240) contient le site de clivage 211DEVD214 de la PARP par la caspase-3[56].

### 3.2. Rôles des PARP

Les poly (ADP-ribose) polymérase (PARPs) impliquer dans la réparation de l'ADN, la transcription, la régulation de la fourche de réplication, la stabilité génomique, la mort cellulaire mais aussi l'inflammation et la réponse immunitaire ainsi que le métabolisme cellulaire [54].

#### 3.2.a. Réparation de l'ADN

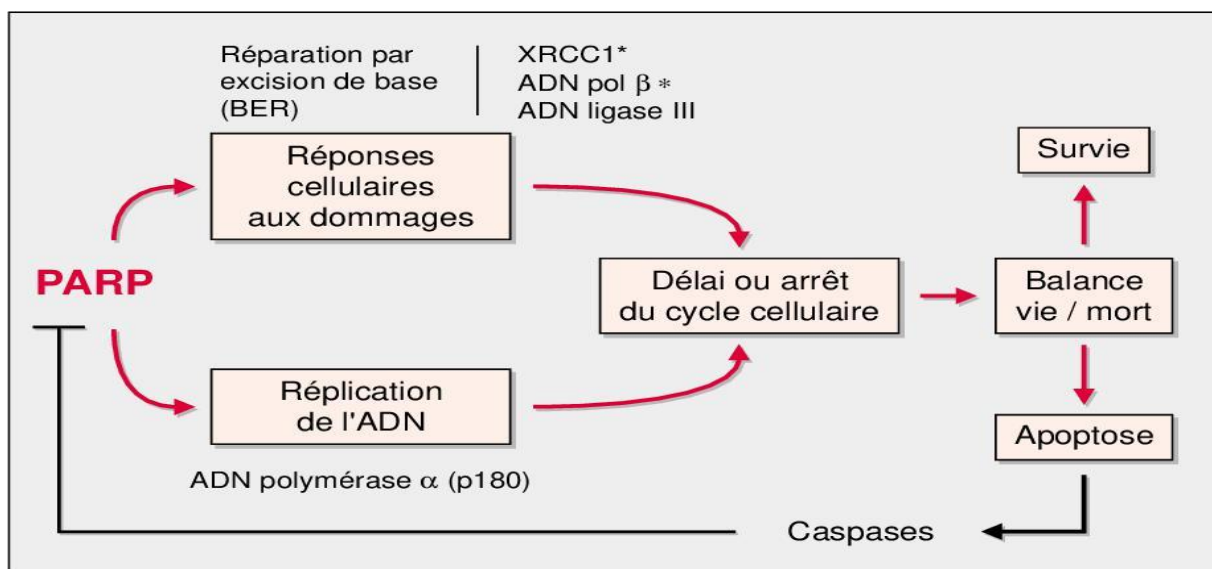


Figure 7: mécanisme d'action des PARPs [52]

Les poly (ADP-ribose) polymérase relie le réseau de surveillance du génome à l'appareil répliatif, la connexion des PARPs avec les enzymes de la voie de réparation par excision de bases (BER), d'une part, et avec l'appareil répliatif (ADN polymérase  $\alpha$ -primase), d'autre part, fait dépendre l'avancement de la fourche de répliation de la résolution des dommages présents dans la matrice.

Un délai ou un arrêt prolongé de la répliation va affecter la progression dans le cycle cellulaire qui à son tour va influencer le devenir de la cellule :

- (1) la survie est possible après que le génome a été réparé
- (2) la cellule étant trop endommagée, l'option qui s'impose alors est l'apoptose, elle s'accompagne du clivage par les caspases, des PARPs et d'autres enzymes de réparation, empêchant ainsi toute réparation futile et rendant irréversible la phase d'exécution de

### **3.2.b. La mort cellulaire**

L'activation incontrôlée de PARP1 peut entraîner l'induction de la mort cellulaire. En cas de dommages importants à l'ADN qui sature la machinerie de réparation de l'ADN, une activation prolongée de PARP peut entraîner l'épuisement du  $\text{NAD}^+$  et par la suite des pools d'ATP, induisant ainsi la mort cellulaire nécrotique.

En outre, PARP1 peut agir en aval des kinases RIPK1 et RIPK3 dans la nécroptose induite par TRAIL.

Bien que le clivage et l'inactivation de PARP1 par les caspases soit un sous-produit bien connu de l'apoptose, l'implication de PARP1 dans la mort cellulaire est controversée et limitée.

Néanmoins, la suractivation du PARP semble déclencher une forme particulière de mort cellulaire appelée «parthanatos» qui dépend du facteur induisant l'apoptose mais indépendante des caspases.

Selon un modèle proposé, l'activation de PARP1 et la translocation des polymères PAR du noyau vers les mitochondries conduiraient à la libération mitochondriale du facteur induisant l'apoptose, qui se déplace ensuite vers le noyau et participe à la dégradation de la chromatine.

La liaison du facteur induisant l'apoptose au PAR peut être importante pour l'activation des parthanatos [53].

### 3.2.c Autres rôles: inflammation, métabolisme cellulaire, stabilité génétique

PARP joue un rôle aussi dans divers processus inflammatoire et dans le syndrome péri-lésionnel ischémique [57].

PARP1 intervient dans les réactions inflammatoires aiguës et chroniques :

- en stimulant la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires (e.g.  $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ , HMGB1)
- en régulant la différenciation des lymphocytes T et (iii) en contrôlant la maturation des lymphocytes B [58].

PARP1 et PARP2 sont impliquées dans la régulation du métabolisme cellulaire selon probablement 3 mécanismes différents :

- la consommation des réserves de  $\text{NAD}^+$
- la modulation de l'activité des différents acteurs du métabolisme par PARylation directe
- la modulation de la transcription de ces acteurs .

La déplétion du  $\text{NAD}^+$  implique l'inhibition d'autres protéines  $\text{NAD}^+$  dépendantes comme la sirtuine qui induit une diminution de la respiration mitochondriale et du métabolisme oxydatif.

PARP1 a un rôle essentiel dans la stabilité génétique de part son rôle impliqué dans la réparation de l'ADN [59].

### 3.2. Les inhibiteurs des poly-ADP-ribose-polymérase (PARPs)

Les inhibiteurs de la poly-ADP-ribose-polymérase-1 (PARP1) sont des molécules actuellement en développement en oncologie, en particulier dans les cancers du sein et de l'ovaire.

Ils agissent sur le système de réparation de l'ADN en synergie avec la perte de la fonction de BRCA par les cellules tumorales, provoquant une importante instabilité génétique qui amène à la mort de la cellule. Le bénéfice clinique des inhibiteurs de la PARP est démontré pour les cancers du sein et de l'ovaire chez les patientes porteuses de mutation germinale du gène BRCA.

Leur utilité dans les cancers du sein triples négatifs, qui présentent des similarités avec les cancers liés à une mutation de BRCA1, est actuellement en cours d'évaluation avec des résultats préliminaires encourageants [60].

### 3.2.a. Les applications des inhibiteurs de PARP ( iPARP)

Les inhibiteurs de la PARP sont une nouvelle classe de molécules prometteuse en oncologie, en monothérapie ou en association avec la chimiothérapie et la radiothérapie [60]

#### 3.2. a.1 Association à la chimio- et à la radiothérapie :

Un effet synergique avec plusieurs chimiothérapies ainsi qu'avec la radiothérapie a été obtenu pour différents inhibiteurs de PARPs.

Les inhibiteurs E7016 et l'olaparib permettent de potentialiser les lésions d'ADN double brins induites par la radiothérapie dans le glioblastome [61]

Les chimiothérapies décrites comme pouvant induire une synergie avec les inhibiteurs de PARP sont les alkylants (e.g. temozolomide (TMZ) et cisplatine (CDDP), les inhibiteurs de topoisomérase I (e.g. camptothecin, topotecan) et topoisomérase II, ainsi que l'antimétabolite doxorubicine (gemcitabine).

L'effet cytotoxique du TMZ est secondaire à des adduits de groupements méthyles (i.e. O-méthyl, N-méthyl) au niveau de l'ADN.

Les groupements N-méthyl sont réparés par le BER qui est compromis par l'inhibition de PARP.

La synergie est ainsi décrite pour GPI 15427, AG014699 et ABT888 en association au TMZ dans de nombreux modèles précliniques comme le mélanome, le cancer du col utérin, le neuroblastome et la leucémie.

Un effet synergique avec le CDDP a été décrit en préclinique dans le carcinome hépatocellulaire, le cancer du col de l'utérus, les cancers testiculaire et mammaire BRCA1/2 muté.

Les adduits intra ou inter brin de l'ADN induits par le CDDP sont réparés par le NER.

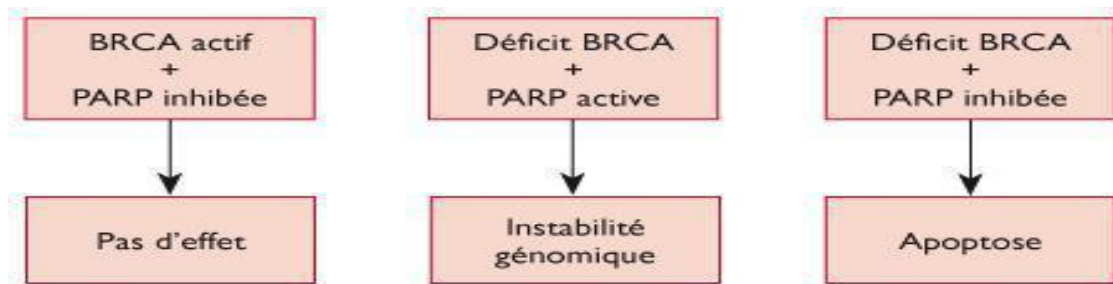
Récemment l'inhibiteur des PARPs a été reconnu comme ayant un rôle dans la phase initiale (i.e. par interaction avec le damaged DNA-binding protein 2 (DDB2)) et exécutive (i.e. par activation du xerodermapigmentosum complementation group A (XPA)) du NER. En effet les lésions induites par les ultraviolets, classiquement réparées par le NER sont amplifiées par l'inhibition de PARP [53].

La synergie avec les inhibiteurs de topoisomérase I (e.g. camptothécine, topotecan) était retrouvé dans le neuroblastome, les cancers colorectaux, mammaires et ovariens, les

topoisomérases I et II induisent une relaxation et un déroulement de la double hélice de l'ADN, permettant un accès aux enzymes de réplication et de transcription [63].

Les inhibiteurs des topoisomérases I et II stabilisent ce déroulement ce qui pérennise les lésions simples et doubles brins induites dont la réparation sera compromise par les inhibiteurs de PARP [53].

### 3.2. a.2 La monothérapie et la létalité synthétique.



**Figure 8: principe de l' létalité synthétique**

Pour les cellules tumorales présentant une mutation des gènes BRCA1 ou BRCA2 ...

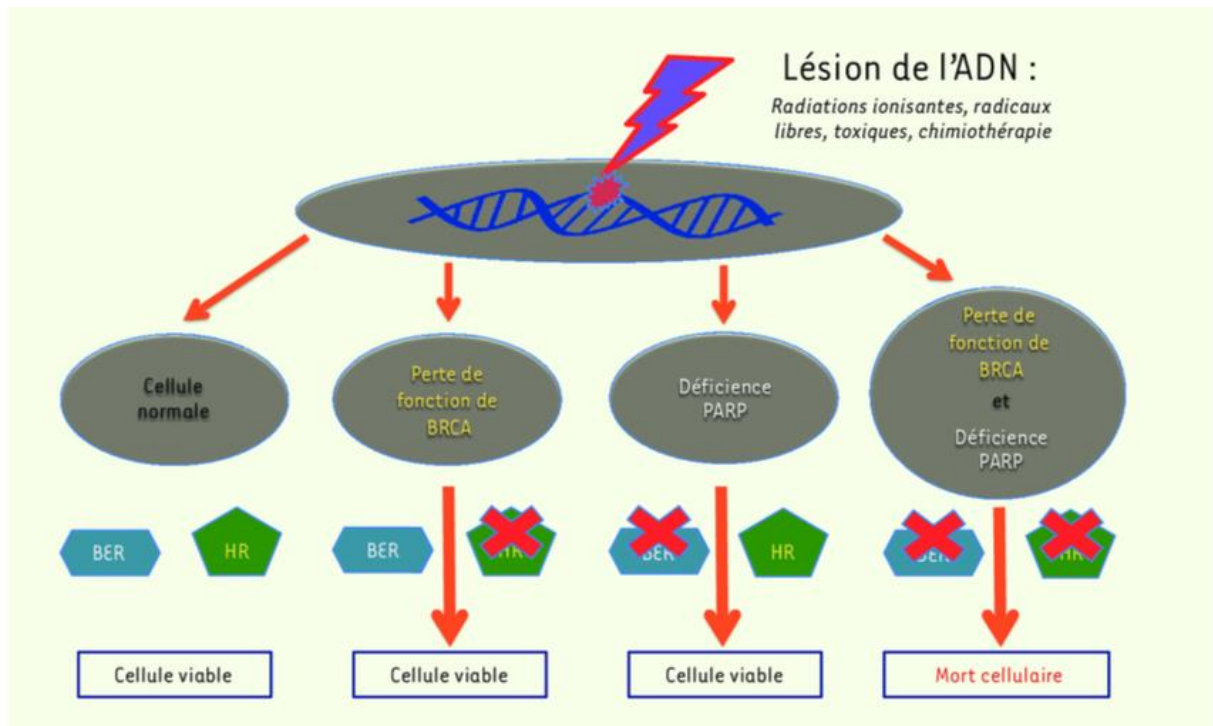
Les cassures simple-brin non réparées du fait de l'inhibition de PARP1 se transforment en cassures double-brin au cours de la réplication de l'ADN, la voie HRR étant inopérante. Cela entraîne un arrêt du cycle cellulaire en G2/M conduisant à l'apoptose de la cellule [62]

La létalité synthétique est un cas de mort cellulaire résultant de la déficience simultanée de deux ou plusieurs gènes, cette approche est prometteuse en cancérologie pour rechercher des thérapies ciblent des cellules cancéreuses, donc limite des effets secondaires sur les cellules saines.

L'efficacité des inhibiteurs des poly-ADP-ribose-polymérase (PARP) sur les cellules tumorales déficitaires pour BRCA, alors qu'ils restent sans effet sur les cellules tumorales sans déficit.

Les PARPs sont des enzymes impliquées dans les mécanismes de réparation de cassures simple brin. Leurs inhibitions provoquent la persistance de ces cassures qui, lors de la phase de réplication, seront transformées en cassures double brin.

Dans le cas d'une cellule normale, la réparation s'effectuera par le mécanisme Spécifique ; la recombinaison homologue (HRR) et restera sans conséquence. Par contre, en cas de déficit en BRCA, les mécanismes alternes seront impliqués avec pour conséquence une telle augmentation des anomalies génomiques que la cellule ne sera plus viable [64]



**Figure 9: mécanisme de l létalité synthétique**

Mécanisme dual de « létalité synthétique ». Est ici précisé le mécanisme de mort cellulaire (à droite) induit pour une cellule affectée à la fois par une déficience de la recombinaison homologue (HRR) -par exemple à travers l'absence de fonctionnalité des gènes BRCA1 ou BRCA2 -et par le blocage de la voie de secours de la réparation de l'ADN par le système :

BER : base excision repair

HRR : homologous recombination [65].

### 3.3. La Cytotoxicité.

La cytotoxicité induite par les inhibiteurs PARP dans les cellules cancéreuses est probablement liée au rôle des PARPs dans la réparation de l'ADN.

En effet il a été décrit que l'action des I PARP est de prendre au piège la protéine PARP au niveau du site de lésion de l'ADN empêchant ainsi la progression et le redémarrage de la fourche de réplication [66].

D'autre part, l'hypersensibilité aux inhibiteurs des PARPs des cellules tumorales BRCA mutées déficientes en HRR, serait liée à une hyperactivation de la voie de réparation NHEJ induisant une instabilité génétique [67].

En effet, cette cytotoxicité est inhibée par des inhibiteurs spécifiques de la recombinaison non homologue (NHEJ), de plus les inhibiteurs de PARP activent la HRR impliquant une cytotoxicité lorsque cette voie est déficiente [68].

### **3.4. La résistance aux inhibiteurs de PARP.**

Plusieurs mécanisme de résistance ont été identifiés par des approches in vitro et in vivo.

Ces mécanismes peuvent mettre en jeu des mutations secondaires des gènes BRCA 1 et 2, la perte d'expression de la protéine PARP, ou bien la surexpression des protéine MDR, en effet, dans ce dernier cas et comme dit précédemment, les protéine MDR, et notamment la BCRP (Protéine de résistance au cancer du sein), sont l'une des cause majeurs des résistance des cellules tumorales aux traitement [69].

Cependant, il existe des causes majeures de résistance des cellules tumorales aux traitements. Cependant, il existe à ce jour peu de données la littérature sur l'implication des protéines MDR chez les tumeurs triple négatives.

par ailleurs, concernant l'anti-PARP olaparib, il a déjà été démontré, qu'il est reconnu par des lignée de cancer du sein portant une mutation sur les gènes BRCA.

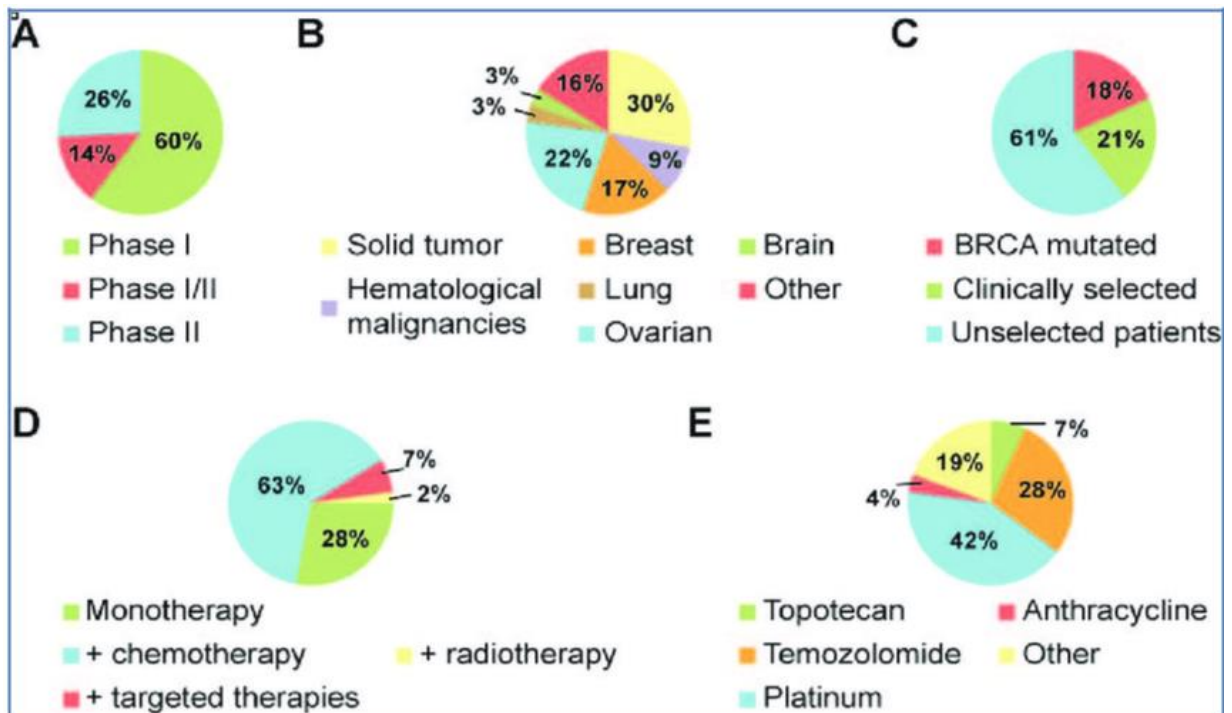
Elles peuvent récupérer une fonction de HRR par délétion intragénique et devenir résistantes aux I PARP et au CDDP [84] Un autre mécanisme est la perte de 53BP1 (une protéine intranucléaire de réponse à l'endommagement de l'ADN, impliquée dans la réparation double brin) dans les tumeurs BRCA1 mutées [70].

### **3.5. Les données cliniques précoces : les espoirs et les déceptions.**

Plusieurs inhibiteurs sont en cours de développement clinique en oncologie, et pour certains des données de phases précoces I et II sont disponibles.

A noter que le seul agent ayant atteint la phase III aujourd'hui (i.e. l'iniparib, connu également sous BSI-201 ou SAR240550 de BiPar/Sanofi-Aventis) dans toutes les études

précoce de monothérapie la tolérance de l'olaparib est excellente avec des effets secondaires mineurs de grade 1/2 (fatigue, symptômes gastro-intestinaux et anémie).



**Figure 10: Les essais cliniques en cours des inhibiteurs de PARP1 [71].**

La figure illustre un total de 93 essais cliniques listés dans le registre national du NIH.

**A.** La distribution selon le stade de l'essai. Il existe une majorité de phases I dont le but est d'étudier la dose maximale tolérée.

**B.** Les essais selon les types tumoraux : tumeurs solides (30%), les cancers de l'ovaire (22%), du sein (17%), les maladies hématologiques (9%), les cancers du poumon (3%), les tumeurs cérébrales (3%) ou autres (16%).

**C.** Dans la majorité des cas les patients inclus dans les essais ne sont pas sélectionnés (61%) pour des critères de réponses aux inhibiteurs de PARP, comme la mutation de BRCA (18%) ou des critères cliniques de 'BRCAness' (21%) (e.g. cancer épithéliaux de l'ovaire de type séreux de haut grade, cancer du sein triple négatif).

**D.** Les stratégies thérapeutiques des essais cliniques des inhibiteurs PARP, en traitement monothérapeutique (28%) ou en association à la chimiothérapie (63%), à d'autres thérapies ciblées (7%) ou à la radiothérapie (2%).

**E.** Les essais évaluant le traitement combinatoire avec la chimiothérapie incluent les sels de platine (42%), le temozolomide (28%), le topotecan (7%), les anthracyclines (4%) et d'autres (19%) [71].

Pour les essais évaluant la combinaison des I PARP à la chimiothérapie, la limite majeure est la myélotoxicité nécessitant une adaptation de doses de la chimiothérapie [72].

Des données de phase I et II de l'association du rucaparib ou veliparib avec letemozolomide notamment dans le traitement du mélanome métastatique en première ligne sont tout à fait encourageant.

L'association du veliparib à l'endoxan métronomique est bien tolérée en phase I et est actuellement testée dans un essai de phase II pour des EOC mutés BRCA, des TNBC et des lymphomes de bas grade [53].

Pour ce qui est de l'association avec les thérapies ciblées nous avons des données de phase I pour l'avastin (bevacizumab), anticorps monoclonal ciblant le VEGFR qui ne rapportent pas de toxicités limitantes, par ailleurs, d'autres phases I sont en cours testant l'association des inhibiteurs des PARPs avec les TNBC (NCT01623349), le cediranib, un TKI VEGFR, dans le cancer du sein.

Malgré les espoirs certains suscités par les inhibiteurs de PARP, leur développement n'est qu'à ses débuts. Le design des essais futurs est essentiel pour le succès de cette classe thérapeutique en oncologie [72].

### 3.6. Les bios marqueurs prédictifs de la réponse aux inhibiteurs de PARP

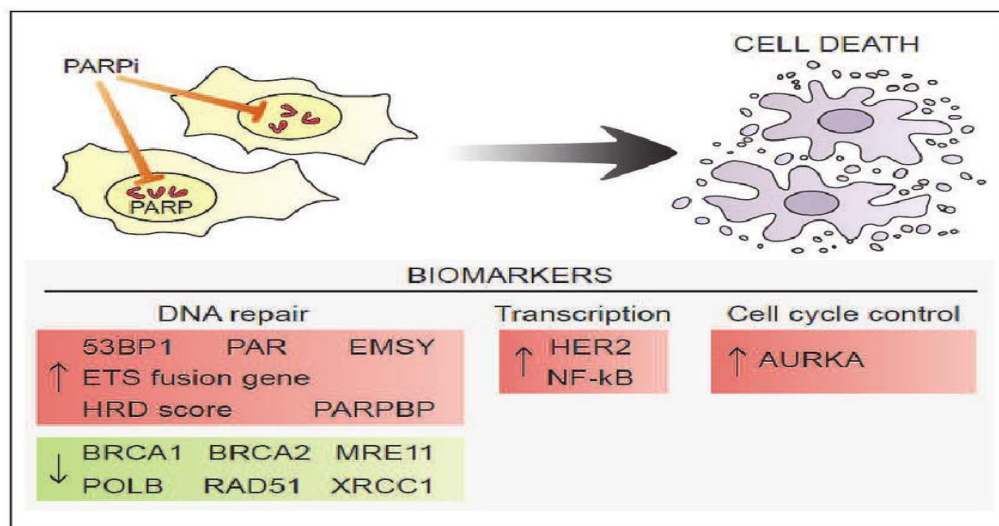


Figure 11: Les biomarqueurs prédictifs de la réponse aux inhibiteurs de PARP [53]

Plusieurs bios marqueurs de la fonctionnalité de la recombinaison homologue (HRR) ont été rapportés.

La limite pour certains est qu'ils nécessitent un essai fonctionnel, c'est-à-dire qu'ils nécessitent une induction de dommage à l'ADN. Ainsi la formation de foci nucléaires RAD51 a été étudiée *in vitro* après traitement par le rucaparib sur des cellules d'EOC (epithelialovarian cancer) obtenues à partir de culture primaires d'ascite [73].

La présence de RAD51, étant le reflet du déclenchement de la HRR, elle anti-corrélaait avec la réponse cytotoxique *in vitro* à l'inhibition de PARP. Cependant, aucune corrélation avec le devenir clinique des patientes n'a été établie, ce même marqueur a été analysé sur des tissus de cancers du sein en immunofluorescence après traitement néo-adjuvant des patients par les anthracyclines [74].

La réponse pathologique complète corrélait avec la fonctionnalité de la HRR. L'autre limite du marqueur est qu'il est cycle dépendant et survient uniquement en phases S et G2 de cellules proliférantes [53].

Par ailleurs, des données *in vitro* rapportent une hyperactivation de PARP1 dans des lignées HRR déficientes (e.g. les lignées de hamster V-C8 et humaine CAPAN1) [57].

De plus le knockdown de protéines essentielles de la HRR (e.g., RAD54, RAD52, BLM, WRN, XRCC3) dans des lignées humaines d'ostéosarcome induisent une déficience de la HRR, une hyperactivation de PARP exprimée par PAR et une sensibilisation aux inhibiteurs de PARP.

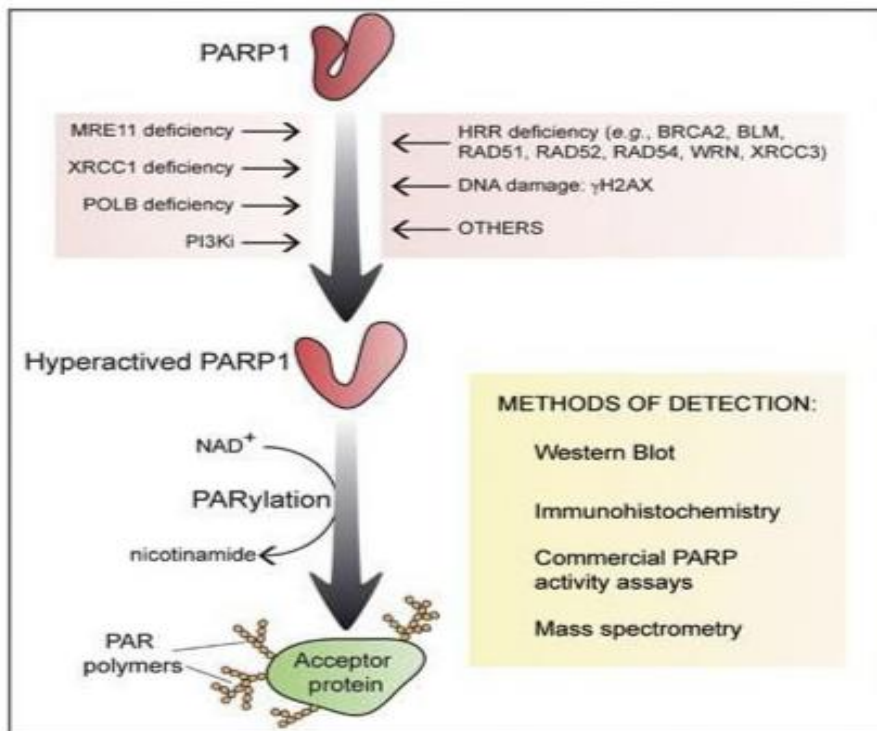


Figure 12: L'hyper activation de PARP [53].

Les données précliniques rapportent que l'abondance de PAR peut refléter des déficiences de réparation de l'ADN cellulaire ou DDR (boîte rouge), constituant ainsi un biomarqueur prédictif universel pour la réponse aux inhibiteurs de PARP. Le PAR est détectable par différentes méthodes répertoriées dans la figure.

*BRCA*, gène du cancer du sein; DDR, réponse aux dommages à l'ADN; HRR, réparation par recombinaison homologue; MRE11, protéine de recombinaison méiotique 11;  $NAD^+$ , dinucléotide nicotinamide; PAR, poly- (ADP-ribose); PI3K, phosphoinositide 3-kinase; POLB, polymérase  $\beta$ ; XRCC1, complémentation croisée de réparation aux rayons X 1 [53].

Finalement, L'instabilité génomique des tumeurs déficientes en HRR pourrait être utilisée comme biomarqueur prédictif de la réponse aux inhibiteurs de PARP. Un score HRD a été défini en évaluant les mutations de *BRCA1* et *BRCA2*, la méthylation de leurs promoteurs, le niveau d'expression de *BRCA1* au niveau de l'ARNm, ainsi que la LOH affectant les loci codant pour *BRCA1* et *BRCA2*.

Cela pourrait être validé dans deux cohortes EOC humaines indépendantes. Cependant, mis à part la méthylation du promoteur *BRCA*, ces analyses ne permettent pas de détecter des

déficiences HRR qui entrent dans la catégorie de «BRCAness» et doivent donc être considérées comme intrinsèquement sous-optimales.

En conclusion, il y a une grande prise de conscience du besoin urgent de définir des biomarqueurs fiables qui prédisent l'efficacité clinique des inhibiteurs de PARP. La définition et la mise en œuvre pratique de ces biomarqueurs en sont encore à leurs balbutiements. Cependant, nous espérons que des progrès constants dans la compréhension de la complexité des DDR conduiront à terme au développement de tests simples et reproductibles qui facilitent l'application clinique des inhibiteurs de PARP [53].

# **MATERIEL ET METHODES**

**Vu le contexte de la pandémie à Covid-19 et suite aux restrictions imposées par le confinement, l'accès au laboratoire pour la réalisation de la partie pratique au sein de la salle de la culture cellulaire été impossible. Cause pour laquelle on s'est limité dans notre travail pratique à l'analyse de données fournies par notre encadreur. Nous présentons ici juste le protocole d'obtention de ces données.**

## **1. Lignées et cultures cellulaires**

Deux lignées de cancer du sein triple négative MDA-MB-231 et SUM1315 disponibles et stockées d'une manière régulière dans de l'azote liquide ont fait l'objet de notre étude. Ces lignées cellulaires sont toutes commercialisées chez American Type Culture Collection (ATCC).

Les cellules des deux lignées MDA-MB-231 et SUM1315 sont cultivées dans le milieu RPMI 1640. Le milieu est supplémenté de 10 % (v/v) de sérum de veau fœtal (SVF) décomplémenté, 1 % d'acides aminés non essentiels et 1 % d'antibiotiques (pénicilline, streptomycine).

Les cellules de toutes les lignées sont cultivées sur plastique à 37°C dans une étuve saturée en humidité sous une atmosphère contenant 5 % de CO<sub>2</sub>. Toutes les lignées cellulaires étaient régulièrement testées pour la contamination par les mycoplasmes.

## **2. Test de cytotoxicité**

### **2.1. Traitement des cellules par le Cisplatine**

Sachant que la majorité des cellules tumorales se multiplient plus rapidement que les cellules saines, les molécules impliquées directement ou indirectement dans les mécanismes de prolifération cellulaire et plus particulièrement l'ADN nucléaire et les protéines nucléaires associées, représentent de multiples cibles privilégiées des traitements anti tumoraux classiques. La toxicité cellulaires du Cis-platine, largement utilisées en chimiothérapie et affectant la structure de l'ADN a été évaluée par le test de cytotoxicité.

Cette molécule qualifiée d'agent intercalant forme des ponts inter-brins (également dénommés « adduits » ou « Interstrand-Crosslinks », ICL) qui consistent en un lien covalent entre les deux brins de l'ADN, générant des distorsions prononcées de la double hélice. La conséquence directe est que la réplication est rendue impossible : le « réplisome » ne peut plus progresser, car les brins ne peuvent plus être séparés, ce qui engendre un blocage de la fourche et des cassures d'ADN double brin [75].

Les cellules ont étéensemencées dans des plaques 96 puits à des densités relatives au pouvoir prolifératif de chaque lignée.

Après 24h d'incubation à 37°C (5 % de CO<sub>2</sub>) les cellules de chacune des lignées ont été traitées à des concentrations croissantes, obtenues par des dilutions en cascade, par les différentes drogues. Les plaques sont ensuite mises en culture à 37°C pendant 96h. Pour chaque lignée un ensemble de trois expériences indépendantes et des triplicats de chaque concentration ont été réalisés.

## **2.2. Traitement des cellules par l'Olaparib**

**L'olaparib (Carbosynth®) a été solubilisé dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à une concentration de 100 mM. Pour toutes les expériences, l'olaparib solubilisé a été dilué dans le milieu de culture. L'olaparib (5 µM) a été ajouté une fois, trois heures avant le traitement des cellules par des concentrations croissantes de Cis-platine.**

## **2.3. Évaluation de la viabilité cellulaire au bleu de méthylène**

Après 96 heures de traitement des cellules en plaque 96 puits, les surnageants de culture sont éliminés et les cellules sont rincées avec du PBS 1X puis fixées à l'éthanol absolu froid (-20°C) pendant 15 minutes à température ambiante. Après élimination de l'éthanol et séchage des puits 20 mn à 37°C les cellules sont colorées pendant 10 minutes par une solution de bleu de méthylène à 5% en tampon borate. Le bleu de méthylène en être dans les cellules fixées et n'est pas éliminé par les rinçages à l'eau successifs.

Une fois les plaques séchées 1heure à 37°C, les cellules fixées et colorées en bleu sont lysées par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 M. Ainsi, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de cellules vivantes dans chaque puits. La mesure de l'absorbance à 570nm a été réalisée par un lecteur de microplaque. une valeur de 100% a été affectée aux puits témoin sans traitement.

Les moyennes des DO obtenues et la normalisation du pourcentage de vie sont calculées par Excel et la concentration de drogue qui réduit le nombre de cellules de 50% après 96h de traitement (IC<sub>50</sub>) a été calculée par le GraphPadPrism.

# **RESULTATS**

## RESULTATS

### 1. Analyse des données

#### 1.1. Effet du Cis-platine seul et l'olaparib en association sur les différentes lignées de cancer de sein triple négatif

**La lignée MDA-MB-231**

**Sans Olaparib**

*Cisplatine (μM)*

	0.1	0.5	1	2.5	5	10	20	40
	1.00E-03	5.00E-01	1.00E+00	2.50E+00	5.00E+00	1.00E+01	2.00E+01	4.00E+01
<b>MDA-MB-231-1</b>	2.501	2.215	1.889	1.238	0.770	0.653	0.500	0.398
8000cell/pt	2.520	2.270	1.943	1.125	0.781	0.614	0.567	0.398
	2.180	2.099	1.655	1.089	0.751	0.661	0.582	0.300
<b>MDA-MB-231-2</b>	3.022	2.748	2.345	1.309	0.997	0.723	0.589	0.470
8000cell/pt	3.110	2.849	2.136	1.408	0.961	0.720	0.592	0.484
	3.235	2.628	2.216	1.364	0.951	0.721	0.584	0.353
<b>MDA-MB-231-3</b>	2.905	2.461	2.162	1.269	0.984	0.799	0.673	0.399
8000cell/pt	2.825	2.661	2.178	1.269	0.950	0.720	0.631	0.335
	2.854	2.400	2.042	1.201	0.960	0.719	0.669	0.310
<b>Moy-1</b>	2.400	2.195	1.829	1.151	0.767	0.643	0.550	0.365
<b>Moy-2</b>	3.122	2.742	2.232	1.360	0.970	0.721	0.588	0.436
<b>Moy-3</b>	2.861	2.507	2.127	1.246	0.965	0.746	0.658	0.348
<b>MoyTot</b>	2.795	2.308	1.966	1.252	0.901	0.703	0.585	0.383
<b>Noml-1</b>	100.00	91.43	76.20	47.94	31.97	26.77	22.90	15.22
<b>Noml-2</b>	100.00	87.81	71.50	43.57	31.06	23.10	18.84	13.95
<b>Noml-3</b>	100.00	87.63	74.35	43.56	33.71	26.07	22.98	12.16
<b>Nomltot</b>	100.00	82.56	70.33	44.81	32.22	25.16	20.91	13.7

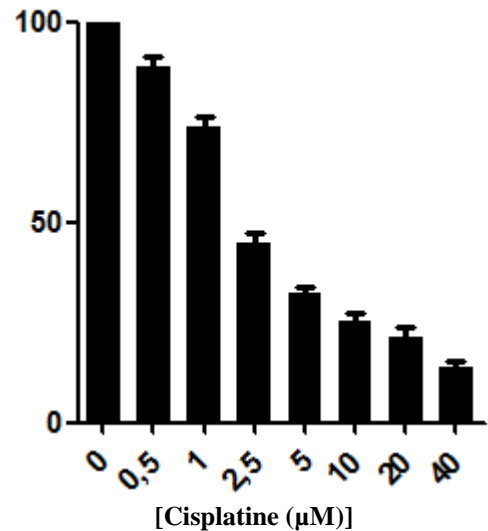
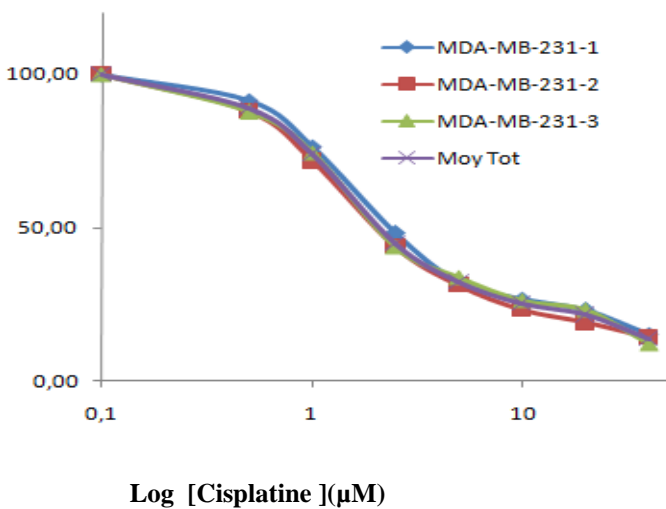


Figure 14: Effet du Cisplatine sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse **MDA-MB-231-1**.

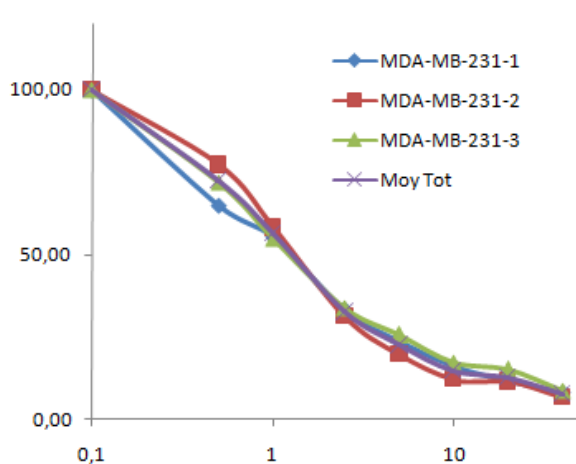
## RESULTATS

**La lignée MDA-MB-231**

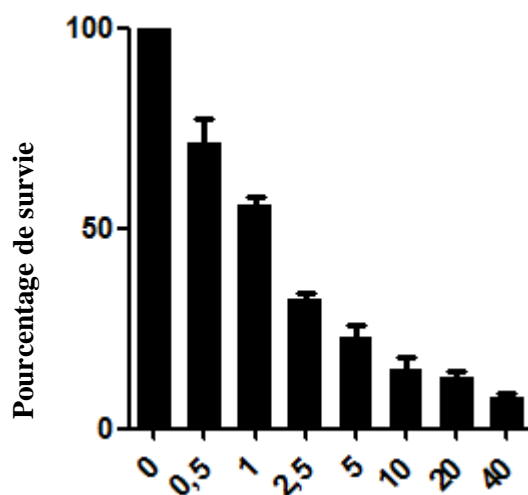
**Avec Olaparib**

**Olaparib (5 $\mu$ M)+Cisplatine( $\mu$ M)**

	0,1	0,5	1	2,5	5	10	20	40
	1,00E-03	5,00E-01	1,00E+00	2,50E+00	5,00E+00	1,00E+01	2,00E+01	4,00E+01
<b>MDA-MB-231-1</b> <b>10000cell/pt</b>	0,877	0,607	0,513	0,303	0,230	0,213	0,110	0,089
	0,856	0,614	0,519	0,309	0,219	0,125	0,109	0,085
	1,086	0,609	0,518	0,316	0,215	0,113	0,111	0,055
<b>MDA-MB-231-2</b> <b>10000cell/pt</b>	0,951	1,215	0,940	0,499	0,319	0,191	0,182	0,109
	1,890	1,248	0,944	0,488	0,318	0,183	0,181	0,100
	1,952	1,228	0,900	0,498	0,300	0,197	0,177	0,100
<b>MDA-MB-231-3</b> <b>10000cell/pt</b>	1,025	0,937	0,601	0,453	0,314	0,201	0,154	0,102
	1,006	0,873	0,697	0,374	0,302	0,208	0,199	0,101
	1,607	0,797	0,690	0,403	0,307	0,218	0,188	0,109
<b>Moy -1</b>	0,940	0,610	0,517	0,309	0,221	0,150	0,110	0,076
<b>Moy -2</b>	1,598	1,230	0,928	0,495	0,312	0,190	0,180	0,103
<b>Moy -3</b>	1,213	0,869	0,663	0,410	0,308	0,209	0,180	0,104
<b>MoyTot</b>	1,250	0,702	0,602	0,353	0,280	0,216	0,149	0,099
<b>Noml-1</b>	100,00	64,92	54,98	32,92	23,55	16,00	11,71	8,12
<b>Noml-2</b>	100,00	77,01	58,08	30,98	19,55	11,91	11,27	6,45
<b>Noml-3</b>	100,00	71,66	54,65	33,81	25,37	17,23	14,87	8,58
<b>NomlTot</b>	100,0	56,20	48,10	28,20	22,40	17,20	11,90	7,90



Log [Olaparib (5 $\mu$ M)+ Cisplatin ( $\mu$ M)]



[Cisplatin + Olaparib (5 $\mu$ M) ( $\mu$ M)]

Figure15 : Effet du **Olaparib (5 $\mu$ M) + Cisplatin** sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse **MDA-MB-231-1**.

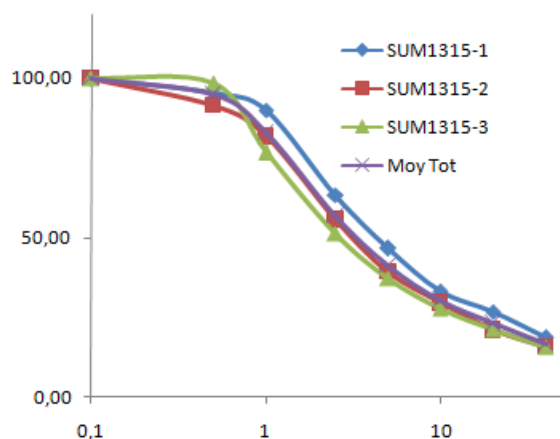
## RESULTATS

**La lignée SUM1315**

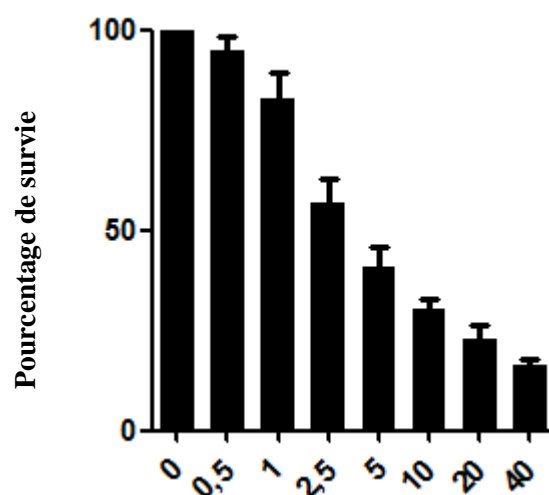
**Sans Olaparib**

*Cisplatine (μM)*

	0,1	0,5	1	2,5	5	10	20	40
	1,00E-03	5,00E-01	1,00E+00	2,50E+00	5,00E+00	1,00E+01	2,00E+01	4,00E+01
<b>SUM1315-1</b>	0,800	0,811	0,771	0,537	0,374	0,269	0,198	0,150
4000cell/pt	0,854	0,817	0,770	0,569	0,397	0,300	0,219	0,154
	0,926	0,832	0,775	0,526	0,429	0,287	0,272	0,169
<b>SUM1315-2</b>	0,791	0,737	0,681	0,493	0,329	0,260	0,172	0,130
4000cell/pt	0,823	0,762	0,680	0,431	0,323	0,237	0,172	0,120
	0,826	0,728	0,629	0,431	0,306	0,221	0,163	0,127
<b>SUM1315-3</b>	0,828	0,709	0,633	0,369	0,268	0,213	0,173	0,125
4000cell/pt	0,789	0,745	0,578	0,425	0,314	0,218	0,160	0,120
	0,723	0,848	0,582	0,408	0,289	0,216	0,157	0,119
<b>Moy-1</b>	0,860	0,820	0,772	0,544	0,400	0,285	0,230	0,158
<b>Moy-2</b>	0,813	0,742	0,663	0,452	0,319	0,239	0,169	0,126
<b>Moy-3</b>	0,780	0,767	0,598	0,401	0,290	0,216	0,163	0,121
<b>MoyTot</b>	0,818	0,777	0,677	0,473	0,332	0,247	0,178	0,135
<b>Noml-1</b>	100,00	95,35	89,77	63,26	46,51	33,18	26,71	18,33
<b>Noml-2</b>	100,00	91,27	81,56	55,53	39,26	29,43	20,78	15,45
<b>Noml-3</b>	100,00	98,38	76,62	51,37	37,22	27,65	20,94	15,56
<b>Nomltot</b>	100,00	94,95	82,72	57,77	40,53	30,17	21,70	16,49



Log [Cisplatin](μM)



Cisplatin (μM)

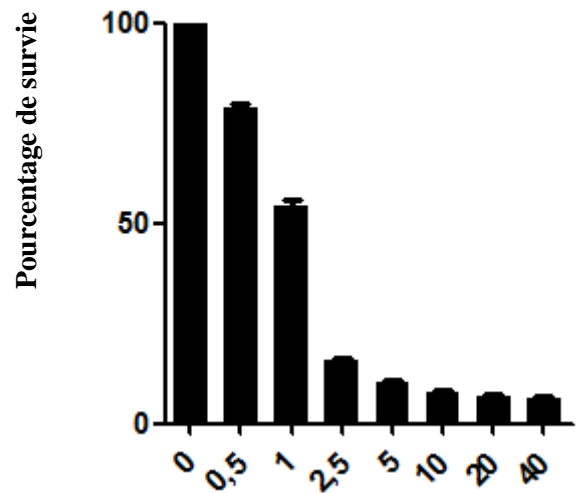
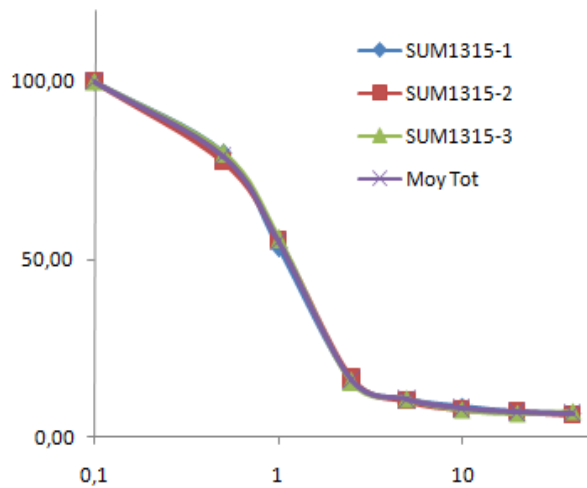
Figure16 : Effet du Cisplatin sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse SUM1315.

**La lignée SUM1315Olaparib +Cis-platine**

## RESULTATS

### Olaparib (5µM) + Cisplatine(µM)

	0,1	0,5	1	2,5	5	10	20	40
	1,00E-03	5,00E-01	1,00E+00	2,50E+00	5,00E+00	1,00E+01	2,00E+01	4,00E+01
<b>SUM1315-1</b>	1,411	1,077	0,799	0,218	0,150	0,126	0,100	0,091
<b>4000cell/pt</b>	1,388	1,157	0,757	0,243	0,148	0,114	0,096	0,091
	1,369	1,082	0,655	0,199	0,140	0,110	0,095	0,090
<b>SUM1315-2</b>	1,476	1,103	0,806	0,256	0,141	0,108	0,108	0,090
<b>4000cell/pt</b>	1,426	1,152	0,821	0,241	0,160	0,116	0,100	0,090
	1,450	1,116	0,772	0,213	0,137	0,109	0,102	0,090
<b>SUM1315-3</b>	1,470	1,168	0,828	0,242	0,153	0,115	0,092	0,088
<b>4000cell/pt</b>	1,423	1,117	0,832	0,227	0,147	0,110	0,092	0,126
	1,402	1,130	0,724	0,186	0,155	0,098	0,092	0,086
<b>Moy -1</b>	1,389	1,105	0,737	0,220	0,146	0,117	0,097	0,091
<b>Moy -2</b>	1,451	1,124	0,800	0,237	0,146	0,111	0,103	0,090
<b>Moy -3</b>	1,432	1,138	0,795	0,218	0,152	0,108	0,092	0,100
<b>MoyTot</b>	1,407	1,104	0,762	0,202	0,153	0,112	0,097	0,094
<b>Noml-1</b>	100,00	79,56	53,05	15,83	10,51	8,40	6,98	6,53
<b>Noml-2</b>	100,00	77,46	55,12	16,31	10,06	7,65	7,12	6,20
<b>Noml-3</b>	100,00	79,51	55,51	15,25	10,59	7,52	6,43	6,98
<b>NomlTot</b>	100,00	78,45	54,14	14,36	10,84	7,96	6,92	6,65



Log [Olaparib (5µM)+ Cisplatin (µM)]

[Olaparib (5µM)+ Cisplatin (µM)]

Figure17 : Effet du Olaparib + Cisplatin sur la prolifération des cellules de la lignée cancéreuse SUM1315

#### 1.1-a Profil de résistance des cellules du cancer du sein triple négatif au Cis-platin

## RESULTATS

La réponse de deux lignées cellulaires du cancer du sein triple négatif à un agent alkylant a été évaluée par leur viabilité cellulaire. Le choix du Cis-platine a été basé sur sa capacité à engendrer, par liaison covalente, des pontages interbrins au niveau de la molécule d'ADN empêchant sa réplication et sa transcription [76]. De plus, ces lésions induisent souvent des cassures simple- ou double-brin de l'ADN ce qui conduit à l'apoptose de la cellule ou à la mise en exécution des systèmes de réparation pour le maintien de la prolifération des cellules tumorales (phénomène de résistance).

Le bleu de méthylène a été utilisé afin d'évaluer l'effet cytotoxique du Cisplatine envers les deux lignées de cellules étudiées. Chaque test de cytotoxicité a été réalisé au moins trois fois en triplicats et la concentration pour laquelle 50 % des cellules sont vivantes après traitement (IC50) a été déterminée.

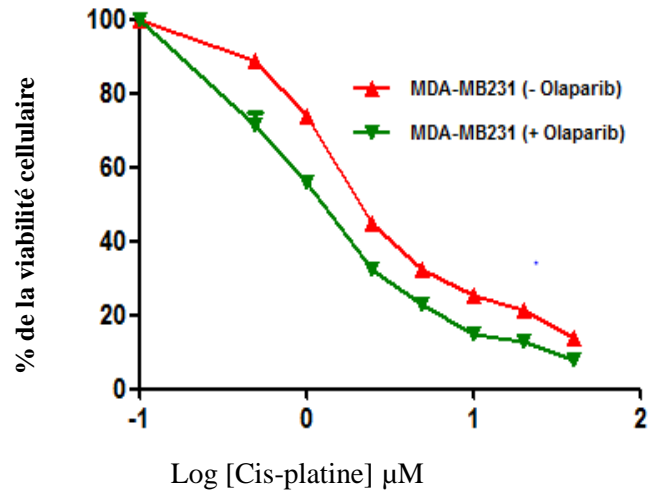
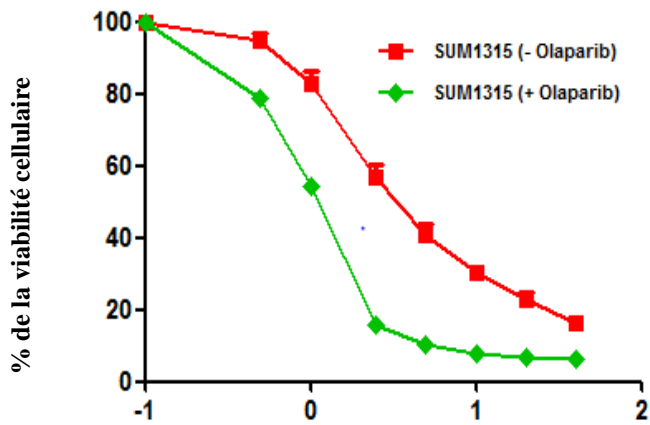
Après 96 heures de traitement, les résultats obtenus ont montré, pour les deux lignées MDA-MB-231 et SUM1315 une diminution de la viabilité cellulaire proportionnelle à l'augmentation de la concentration du cisplatine. Les concentrations croissantes du Cis-platine de 0,5 à 40 $\mu$ M n'ont pas exercé le même effet sur les trois lignées des cellules dont la réduction du nombre cellulaire diffère d'une lignée à une autre. Toutefois, il est intéressant de noter que la moyenne de plus de 50% de survie cellulaire des lignées MDA-MB-231 et SUM1315 est inhibée à des concentrations de 2  $\mu$ M et 2,5 $\mu$ M respectivement.

### 1.1-b Sensibilisation des cellules du cancer du sein triple négatif par l'Olaparib

Plusieurs inhibiteurs de PARP ont été développés, le plus avancé étant l'AZD2281 (olaparib) a obtenu l'autorisation de mise sur le marché en 2014 pour la prise en charge des carcinomes séreux de haut grade de l'ovaire, présentant une mutation *BRCA*. Plusieurs autres essais cliniques sont en cours avec cet inhibiteur, et plusieurs autres agents ciblant PARP sont en cours d'évaluation pour le traitement de divers cancers solides et hématologiques [77]

Afin d'évaluer l'effet de l'olaparib sur les deux lignées de cancer du sein triple négatif étudié, les cellules des deux lignées ont été traitées dans un premier temps par 5  $\mu$ M d'olaparib. Après trois heures d'incubation les mêmes cellules des deux lignées sont traitées par des concentrations croissantes de Cis-platine. Les figures 14, 15, 16 et 17 montrent une diminution de la viabilité cellulaire des cellules des deux lignées.

## RESULTATS



Les IC<sub>50</sub> ont été moyennées sur les deux lignées testées. Le tableau 06 et la figure 18 résument les valeurs des IC<sub>50</sub> calculées en présence et en absence de l'Olaparib.

Lignée	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )
SUM1315 (- Olaparib)	2,5
SUM1315 (+ Olaparib)	0,7
MDA-MB231 (- Olaparib)	1,6
MDA-MB231 (+ Olaparib)	0,8

Tableau 6: L'hyper activation de PARP

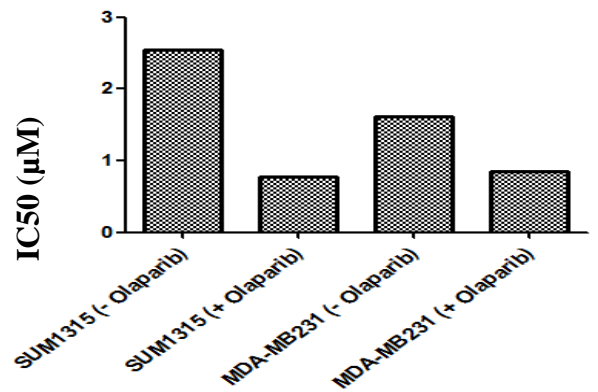


Figure18 : les valeurs d'IC<sub>50</sub> en absence et présence de l'olaparib dans les différentes souches

L'analyse de ces valeurs montrent que l'olaparib sensibilise les deux lignées SUM1315 et MDA-MB231 trois fois et deux fois de plus au traitement par le Cis-platine.

### Discussion

Durant le fonctionnement cellulaire, des cassures simple-brins spontanées peuvent parvenir, et sont prises en charge rapidement par la voie de réparation SSBR/BER.

Une inhibition ou une déficience dans la protéine PARP1 induit l'accumulation des ces cassures simple-brins qui se transforment en cassures double-brins durant la réplication de l'ADN. Ces cassures double-brins sont réparées par la voie de réparation par recombinaison homologue (RH), très active durant la phase S du cycle cellulaire. Plusieurs groupes ont montré que les cellules ayant des défauts dans la protéine BRCA1 ou BRCA2, membres de la voie RH, sont déficientes en cette voie, et sont par conséquent hypersensibles aux inhibiteurs de PARP (PARPi), en comparaison aux cellules ayant des protéines BRCA1 ou BRCA2 fonctionnelles [78].

Les cancers du sein triple négatifs (TNBC) sont très agressifs et ont un mauvais pronostic.

Les cellules cancéreuses des lignées du TNBC présentent plusieurs déficiences de la voie de réparation de l'ADN, telles que des mutations délétères sur le Gènes BRCA1 / 2 ou des phénotypes assimilés «BRCAness». Ainsi, pour ce sous-type de tumeur, l'utilisation des inhibiteurs de PARP, exploitant le concept de létalité synthétique, semblent très prometteurs [79].

De plus, l'inhibition de PARP a été décrite pour augmenter la radio-sensibilité de la des cellules tumorales présentant un phénotype BRCAness [80].

Ainsi, les inhibiteurs de PARP pourraient être administré en association avec la chimiothérapie ciblant l'ADN tel que le Cis-platine. En effet, inhibiteurs de PARP induit une augmentation de taux de cassures simple brin d'ADN non réparédans les cellules en prolifération, ce qui entraîne apparition de cassures double brin d'ADN mortelles. De même, la cytotoxicité des agents alkylants est principalement liée au taux de cassures double brin de l'ADN, en raison de l'accumulation de lésions mortelles [81].

Dans ce contexte, notre étude visait à modéliser la capacité d'un co-traitement anti-PARP (Olaparib) et chimiothérapie à base de Cis-platine, en utilisant deux modèles de lignée cellulaire du cancer du sein triple négatif, d'origine métastatique tel que MDA-MB-231 (Hautement proliférative, BRCA1-sauvage avec profil BRCAness) et SUM1315 (Faible proliférative avec phénotype de type cellule souche, mutée BRCA1).

La réponse cellulaire suite au traitement avec du Cis-platine seul et le co-traitement Olaparib Cis-platine a été étudié sur les deux modèles cellulaires cultivés en monocouche par des tests de survie cellulaire. Cette étude a mis en évidence l'efficacité à faible dose d'Olaparib (5µM) associée à des concentrations croissantes du Cis-platine par rapport à une monothérapie avec les

## DISCUSSION

mêmes doses croissantes du Cis-platine seul. En effet, l'utilisation de l'Olaparib a réduit les IC50 d'une manière très significative des deux lignées MDA-MB-231 et SUM1315 d'un rapport de 2 et 3 fois respectivement. De ce fait, notre étude montre l'efficacité et l'intérêt de l'utilisation des inhibiteurs de PARP en association avec la chimiothérapie génotoxique dans le traitement des formes agressives du cancer du sein triple négatif.

### Conclusion

Le cancer du sein occupe chez la femme la première place en termes d'incidence et de mortalité dans le monde. Malgré les progrès thérapeutiques en oncologie mammaire, le cancer du sein reste encore un cancer grave avec de lourdes séquelles tant physiques que psychiques.

Les cancers du sein triple négatifs (TNBC) sont très agressifs et ont un mauvais pronostic. Ces tumeurs présentent plusieurs déficiences de la voie de réparation de l'ADN, telles que des mutations délétères sur le Gènes BRCA1 / 2 ou assimilés au phénotypes «BRCAness». Ainsi, pour ce sous-type de tumeur, l'utilisation des inhibiteurs de PARP, exploitant le concept de létalité synthétique, semble très prometteuse.

Étant donné l'importance clinique de ces molécules, il semblerait intéressant d'investiguer d'une manière plus profonde leur mode d'action afin de pouvoir évaluer leur toxicité au long cours et leur place en prévention.

## Résumé

Le cancer du sein est une maladie hétérogène tant du point de vue biologique que clinique. Cependant, les techniques d'immunohistochimie ont permis au clinicien de distinguer trois principaux types de cancer du sein : ceux qui expriment les récepteurs aux œstrogènes (70 % des cas); ceux qui expriment le facteur de croissance HER-2 (20 % des cas); et les cancers du sein «triple négatifs» (10 % des cas) qui ne bénéficie actuellement d'aucun traitement ciblé et la seule thérapeutique systémique validée est la chimiothérapie. Les inhibiteurs de la PARP sont une nouvelle classe de molécules prometteuse en oncologie, en monothérapie ou en association avec la chimiothérapie et la radiothérapie. Le bénéfice dans le traitement des cancers du sein et de l'ovaire chez les patientes porteuses de mutations BRCA1 et BRCA2 est avéré. Il y a de plus en plus de preuves qu'il existe un lien entre le cancer du sein «triple négatif» et le cancer du sein lié à une mutation BRCA-1. Dans ce travail on a évalué l'effet de l'olaparib en association avec le Cis-platine sur deux lignées de cancer du sein triple négatif. Les résultats ont montré que l'olaparib augmente la sensibilité des deux lignées d'une manière significative.

Mots clés: cancer du sein, inhibiteur de PARP, olaparib, triple négatif, sensibilisation.

## ABSTRACT

If we take it from a biological perspective more than a chemical, we can see that breast Cancer is a heterogeneous disease the techniques immunohistochemistry made us distinguish 3 main type of this disease, which are the first one is breast cancer hormone receptor status and it represent 70% it means the type most common the second one is HER- 2 status, and it represent 20% of all breast cancer and the third one which is represent 10%

is: Triple- negative breast cancer it is a difficult cancer to treat and the only treatment for now is Chemotherapy.

But we still hoping that the inhibitors of PARP are and will be a promising solution as an only therapy accompanied by chemotherapy.

in our project we all also touched, how the research find out that there is a relationship or a link between triple-negative breast cancer and the breast cancer which is related to mutation BRCA1 in our work, we did evaluate /rate the effect of AZD-2281 known by lynparaza or "olaparib" in association with Cisplatin on two lines of triple negative breast cancer and the results shows that Olaparib increases the sensitivity of the 2 lines in a significant way

keywords: breast cancer, inhibition of PARP triple-negative.

سرطان الثدي هو مرض غير متجانس من وجهة نظر بيولوجية أكثر منها سريرية، ومع ذلك، فقد التقنيات الكيميائية الأطباء من تصنيف ثلاثة أنواع رئيسية لسرطان الثدي؛ الأول، متعلق بتلك التي تتمظهر عبر مستقبلات هرمون البروجستيرون، وتشكل 70% من الحالات، الثاني يخص تلك التي تعبر عن عامل النمو/ التطور HER-20 وتشكل 20 %، أما الثالث فهو سرطان الثدي "الثلاثي السلبي" والذي لا يستفيد حالياً من أي علاج محدد/ موجه، نظامياً، العلاج الوحيد المصادق عليه في الفترة الراهنة هو العلاج الكيميائي

تشكل مثبطات " PARP " فئة جديدة واعدة/ مبشرة من المركبات/ الجزيئات في علم الأورام / السرطانات، كعلاج وحيد أو مصحوب بالعلاج الكيميائي أو الإشعاعي، تتزايد الأدلة يوماً بعد يوم على وجود علاقة بين سرطان الثدي "الثلاثي السلبي" وسرطان الثدي المتعلق بالطفرة BRCA-1

في هذا البحث، بتقييم أثر olaparib بالاشتراك مع Cis-platine على (نوعين وراثيين) من سرطان الثدي "الثلاثي السلبي"، النتائج أسفرت عن ارتفاع نسبة الحساسية/ الاستجابة لل(النوعين الوراثيين) جراء olaparib.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي ، مثبط PARP ، olaparib ، ثلاثي السلبي ، حساسية

# **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

### Bibliographie

1. sources, methods and major patterns in Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... & Bray, F. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
2. Ashworth, A. (2008). A synthetic lethal therapeutic approach: poly (ADP) ribose polymerase inhibitors for the treatment of cancers deficient in DNA double-strand break repair. *Journal of Clinical Oncology*, 26(22), 3785-3790.
3. Lord, C. J., & Ashworth, A. (2017). PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic. *Science*, 355(6330), 1152-1158.
4. Farmer, H., McCabe, N., Lord, C. J., Tutt, A. N. J., & Johnson, D. a, Richardson TB, Santarosa M, Dillon KJ, Hickson I, Knights C, Martin NMB, Jackson SP, Smith GCM, Ashworth A (2005) Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 434, 917-921.
5. Moore, K. L., Dalley, A. F., & Agur, A. M. (2017). *Anatomie médicale: aspects fondamentaux et applications cliniques*. De Boeck Supérieur.
6. Marieb, E., & Hoehn, K. (2014). *Anatomie et physiologie humaines: Livre+ eText+ plateforme numérique MonLab-Licence étudiant 60 mois*. Pearson Education France.
7. Netter, F. H., & SCOTT, J. (2019). *Atlas d'anatomie humaine*. Elsevier Health Sciences.
8. Cancer, I., n.d. *Institut National Du Cancer - Accueil*. [online] E-cancer.fr. Available at: <<https://www.e-cancer.fr/>> [Accessed 20 March 2020].
9. Welsch, U., et Sobotta, J. (2004). *Précis d'histologie: cytologie, histologie, anatomie microscopique*. Éditions médicales internationales.
10. Vogel, P. M., Georgiade, N. G., Fetter, B. F., Vogel, F. S., & McCarty Jr, K. S. (1981). The correlation of histologic changes in the human breast with the menstrual cycle. *The American journal of pathology*, 104(1), 23.
11. Dr. Ananya Mandal, M., n.d. *Épidémiologie De Cancer Du Sein*. [online] News-Medical.net. Available at: <[https://www.news-medical.net/health/Breast-Cancer-Epidemiology-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Breast-Cancer-Epidemiology-(French).aspx)> [Accessed 15 July 2020].
12. Lamy, P. J., Romieu, G., & Jacot, W. (2010). uPA/PAI-1: un outil d'individualisation de la prise en charge des cancers du sein. Biologie, implications cliniques et méthodes de dosage. *Bulletin du Cancer*, 97(3), 341-348.
13. TRISTANT, H. (1998). Un dépistage de masse du cancer du sein est-il réalisable?. *Contraception, fertilité, sexualité (1991)*, 26(6), 417-419.

## BIBLIOGRAPHIE

14. Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, 65(2), 87-108.
165. Belkacemi, Y., Tsoutsou, P. G., Boussen, H., Geara, F., Bounedjar, A., & Benider, A. (2017). Epidemiology of Breast Cancer in Young Women in the Southern part of the Mediterranean Area. *J Can Epi Treat*, 1(4), 1-7.
16. Bounar, M., Bousri, A., & Rechreche, H. E. (2018). *Profils épidémiologique, clinique, para-clinique et anatomopathologique du cancer du sein dans la wilaya de Jijel* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
17. Nkondjock, A., & Ghadirian, P. (2005). Facteurs de risque du cancer du sein. *médecine/sciences*, 21(2), 175-180.
18. Cancer, I., n.d. *Cancer Du Sein Chez L'homme - Cancer Du Sein*. [online] E-cancer.fr. Available at: <<https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Cancer-du-sein-chez-l-homme>> [Accessed 1 August 2020].
19. BRETTE, J., MATHELIN, C., & GAIRARD, B. (2007). al. Cancer du sein. Issy-les-Moulineaux.
20. Togo, A., Traore, A., Traore, C., Dembele, B. T., Kante, L., Diakite, I., ... & Diallo, G. (2010). Cancer du sein dans deux centres hospitaliers de Bamako (Mali): aspects diagnostiques et thérapeutiques. *Journal africain du cancer/African Journal of Cancer*, 2(2), 88-91.
21. Lion, M. (2015). *Biomarqueurs prédictifs de la réponse aux traitements par thérapies ciblées dans le cancer du sein* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
22. Rosen, E. M., Fan, S., & Ma, Y. (2006). BRCA1 regulation of transcription. *Cancer letters*, 236(2), 175-185.
23. Le Caignec, C. (2000). *Prédispositions héréditaires 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).
24. Fénichel, P., & Brucker-Davis, F. (2008). Perturbateurs endocriniens environnementaux et cancer du sein: de nouveaux facteurs de risque?. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 36(10), 969-977.
25. Clinton, S. K., Giovannucci, E. L., & Hursting, S. D. (2020). The World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Third Expert Report on Diet, Nutrition, Physical Activity, and Cancer: Impact and Future Directions. *The Journal of Nutrition*, 150(4), 663-671.

## BIBLIOGRAPHIE

26. Key, T. J., Verkasalo, P. K., & Banks, E. (2001). Epidemiology of breast cancer. *The lancet oncology*, 2(3), 133-140.
27. Wenten, M., Gilliland, F. D., Baumgartner, K., & Samet, J. M. (2002). Associations of weight, weight change, and body mass with breast cancer risk in Hispanic and non-Hispanic white women. *Annals of epidemiology*, 12(6), 435-444.
28. Johnson, K. C. (2000). National Enhanced Cancer Surveillance System: a federal-provincial collaboration to examine environmental cancer risks [Status report]. *Chronic Diseases and Injuries in Canada*, 21(1), 34.
29. Hamajima, N., Hirose, K., Tajima, K., Rohan, T., Calle, E. E., Heath Jr, C. W., ... & Koetsawang, S. (2002). Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer Alcohol, tobacco and breast cancer—collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer*, 87(11), 1234-1245.
30. Feigelson, H. S., Calle, E. E., Robertson, A. S., Wingo, P. A., & Thun, M. J. (2001). Alcohol consumption increases the risk of fatal breast cancer (United States). *Cancer Causes & Control*, 12(10), 895-902.
31. Smith-Warner, S. A., Spiegelman, D., Willett, W. C., & Hunter, D. J. (1998). Alcohol Consumption and Breast Cancer Risk—Reply. *Jama*, 280(13), 1138-1139.
32. Rouëssé, J. (2002). *Cancer du sein: étape pré-thérapeutique*. John Libbey Eurotext.
33. Saglier, J., Beuzeboc, P., Pommeyrol, A., & Toledano, A. (2011). *Cancer du sein: questions et réponses au quotidien*. Elsevier Masson.
34. Cancer, I., 2015. *Cancers Du Sein - Les Maladies Du Sein*. [online] E-cancer.fr. Available at: <<http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-maladies-du-sein/Cancers-du-sein>> [Accessed 6 July 2020].
35. Aude, L. C. (1991). *à la Faculté de Pharmacie de Dijon* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).
36. Arsenault, D., & Richard Le Blanc, M. D. (2016). *Cellules tumorales circulantes dans les cas de cancer du sein: utilisation clinique du test CellSearch*. Institut national d'excellence en santé et services sociaux.
37. Freres, P., Collignon, J., Gennigens, C., Scagnol, I., Rorive, A., Barbeaux, A., ... & Jerusalem, G. (2010). Le cancer du sein" triple négatif". *Revue Médicale de Liège*, 65(3), 120-126.

## BIBLIOGRAPHIE

38. Siegrist, S., & Etienne, A. (2016). PPAC (programme personnalisé de l'après-cancer): qu'en pensent les médecins traitants?. *Oncologie*, 18(2-3), 160-166.
39. Rochefort, H. (2008). Cancérogène hormonale chez la femme: des mécanismes à la prévention. *Comptes Rendus Biologies*, 331(2), 104-113.
40. Desmetz, C., Maudelonde, T., & Solassol, J. (2008). Aspects biologiques de la cancérogène: quelles cibles pour la prévention?. 30<sup>e</sup> Journées de la Société Française de Sénologie et de Pathologie Mammaire. Journées, La Baule, FRA, 2008-11-05: Prévention du cancer du sein (mythe ou réalité?)/Breast cancer prevention (Myth or reality?).
41. MASSE, R. Cancérogène et rayonnements ionisants: remise en question d'idées reçues et importance des découvertes récentes en radiobiologie. In *Exposition au radon dans les habitations: évaluation et gestion du risque* (p. 35)
42. Pasternak, J. J. (2003). *Génétique moléculaire humaine: une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires*. De Boeck Supérieur.
43. Desjardins, S. (2010). Analyse de gènes candidats au cancer du sein impliqués dans les interactions avec BRCA1 et BRCA2.
44. Read, A., & Donnai, D. (2008). *Génétique médicale: de la biologie à la pratique clinique*. De Boeck Supérieur.
45. Puddu, M., & Tafforeau, J. (2005). Opportunité de dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49 ans. *Nr*, 1, 1-267.
46. Leichtnam-Dugarin, L., Carretier, J., Delavigne, V., & Brusco, S. (2003). Le projet SOR SAVOIR Patient, un projet d'éducation et d'information du patient. *Cancer/Radiothérapie*, 7(3), 210-212.
47. Resta, R., Biesecker, B. B., Bennett, R. L., Blum, S., Hahn, S. E., Strecker, M. N., & Williams, J. L. (2006). A new definition of genetic counseling: National Society of Genetic Counselors' task force report. *Journal of genetic counseling*, 15(2), 77-83.
48. Beautifulabc.com. n.d. *Le Conseil Génétique Concernant Le Cancer Du Sein Dans La Pratique | BeautifulA.B.C.*[online] Available at: <<http://www.beautifulabc.com/fr/le-conseil-genetique-concernant-le-cancer-du-sein-dans-la-pratique>> [Accessed 1 August 2020].

## BIBLIOGRAPHIE

49. de Bels, F., & Viguier, J. (2014). Cancer du sein et cancer colorectal: proposer à chaque personne la modalité de dépistage ou de suivi adaptée à son niveau de risque (in partie III: Les nouveaux enjeux de la prévention et du dépistage). *Oncologie*, *16*(1), 45-47.
50. Hassa, P. O., Haenni, S. S., Elser, M., & Hottiger, M. O. (2006). Nuclear ADP-ribosylation reactions in mammalian cells: where are we today and where are we going?. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *70*(3), 789-829.
51. Riffell, J. L., Lord, C. J., & Ashworth, A. (2012). Tankyrase-targeted therapeutics: expanding opportunities in the PARP family. *Nature reviews Drug discovery*, *11*(12), 923-936.
52. Pozo, F. J. O., De la Rubia Sanchez, G., Ménissier-de Murcia, J., & de Murcia, G. (1998). La poly (ADP-ribose) polymérase: un facteur de survie.
53. Michels, J., Vitale, I., Saparbaev, M., Castedo, M., & Kroemer, G. (2014). Predictive biomarkers for cancer therapy with PARP inhibitors. *Oncogene*, *33*(30), 3894-3907.
54. Krishnakumar, R., & Kraus, W. L. (2010). The PARP side of the nucleus: molecular actions, physiological outcomes, and clinical targets. *Molecular cell*, *39*(1), 8-24.
55. Curtin, N. J. (2012). DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. *Nature Reviews Cancer*, *12*(12), 801-817.
56. Gonçalves, A. (2012). Inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymerase et cancer du sein: bilan et perspectives. *Bulletin du cancer*, *99*(4), 441-451.
57. Ba, X., & Garg, N. J. (2011). Signaling mechanism of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) in inflammatory diseases. *The American journal of pathology*, *178*(3), 946-955.
58. Rosado, M. M., Bennici, E., Novelli, F., & Pioli, C. (2013). Beyond DNA repair, the immunological role of PARP-1 and its siblings. *Immunology*, *139*(4), 428-437.
59. Houtkooper, R. H., Pirinen, E., & Auwerx, J. (2012). Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature reviews Molecular cell biology*, *13*(4), 225-238.
60. Retrieved 23 August 2020, from <https://www.revmed.ch/RMS/2019/RMS-N-651/Nouvelles-strategies-therapeutiques-dans-les-cancers-mammaire-et-tubo-ovarien-de-stade-avance>
61. Dungey, F. A., Caldecott, K. W., & Chalmers, A. J. (2009). Enhanced radiosensitization of human glioma cells by combining inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase with inhibition of heat shock protein 90. *Molecular cancer therapeutics*, *8*(8), 2243-2254.

## BIBLIOGRAPHIE

62. Park, S. Y., & Cheng, Y. C. (2005). Poly (ADP-ribose) polymerase-1 could facilitate the religation of topoisomerase I-linked DNA inhibited by camptothecin. *Cancer research*, 65(9), 3894-3902.
63. Magan, N., Isaacs, R. J., & Stowell, K. M. (2012). Treatment with the PARP-inhibitor PJ34 causes enhanced doxorubicin-mediated cell death in HeLa cells. *Anti-cancer drugs*, 23(6), 627-637.
64. Cohen-Haguenaer, O. (2019). Prédiposition héréditaire au cancer du sein (2)-Risques et prise en charge. *médecine/sciences*, 35(4), 332-345.
65. Pines, A., Mullenders, L. H., van Attikum, H., & Luijsterburg, M. S. (2013). Touching base with PARPs: moonlighting in the repair of UV lesions and double-strand breaks. *Trends in biochemical sciences*, 38(6), 321-330.
66. King, B. S., Cooper, K. L., Liu, K. J., & Hudson, L. G. (2012). Poly (ADP-ribose) contributes to an association between poly (ADP-ribose) polymerase-1 and xeroderma pigmentosum complementation group A in nucleotide excision repair. *Journal of Biological Chemistry*, 287(47), 39824-39833.
67. Vodenicharov, M. D., Ghodgaonkar, M. M., Halappanavar, S. S., Shah, R. G., & Shah, G. M. (2005). Mechanism of early biphasic activation of poly (ADP-ribose) polymerase-1 in response to ultraviolet B radiation. *Journal of cell science*, 118(3), 589-599.
68. Daniel, R. A., Rozanska, A. L., Thomas, H. D., Mulligan, E. A., Drew, Y., Castelbuono, D. J., ... & Curtin, N. J. (2009). Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase-1 enhances temozolomide and topotecan activity against childhood neuroblastoma. *Clinical Cancer Research*, 15(4), 1241-1249.
69. Wang, J. C. (2002). Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3(6), 430-440.
70. Rajan, R., Varghese, SC, Kurup, R., Gopalakrishnan, R., Venkataraman, R., Satheeshkumar, K., et Baby, S. (2016). Quantification par HPTLC de la camptothécine chez les espèces *Ophiorrhiza* du sud des Ghâts occidentaux en Inde. *CogentChemistry* , 2 (1), 1275408.

## BIBLIOGRAPHIE

71. Liu, L. F., Desai, S. D., LI, T. K., Mao, Y., Sun, M. E. I., & SIM, S. P. (2000). Mechanism of action of camptothecin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 922(1), 1-10.
72. Mercier-Vogel, L., Bodmer, A., & Castiglione, M. (2011). Inhibiteurs de la PARP: nouvelle arme thérapeutique pour les cancers du sein et de l'ovaire: CANCER. *Revue médicale suisse*, 7(296), 1137-1140.
73. Eisinger, F., & Lefranc, J. P. (2005). *Identification et prise en charge des prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire*. John Libbey Eurotext.
74. Helleday, T. (2011). The underlying mechanism for the PARP and BRCA synthetic lethality: clearing up the misunderstandings. *Molecular oncology*, 5(4), 387-393.
75. Abdullah, U. B., McGouran, J. F., Brolih, S., Ptchelkine, D., El-Sagheer, A. H., Brown, T., & McHugh, P. J. (2017). RPA activates the XPF-ERCC 1 endonuclease to initiate processing of DNA interstrand crosslinks. *The EMBO journal*, 36(14), 2047-2060.
76. Verkerk, G. J., Wolf, M. J. M., Louwers, A. M., Meester-Delver, A., & Nollet, F. (2006). The reproducibility and validity of the Canadian Occupational Performance Measure in parents of children with disabilities. *Clinical Rehabilitation*, 20(11), 980-988.
77. Drew, Y., Ledermann, J., Hall, G., Rea, D., Glasspool, R., Highley, M., ... & Halford, S. (2016). Phase 2 multicentre trial investigating intermittent and continuous dosing schedules of the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor rucaparib in germline BRCA mutation carriers with advanced ovarian and breast cancer. *British journal of cancer*, 114(7), 723-730.
78. Bryant, H. E., Schultz, N., Thomas, H. D., Parker, K. M., Flower, D., Lopez, E., ... & Helleday, T. (2005). Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. *Nature*, 434(7035), 913-917.
79. Dhillon, K. K., Bajrami, I., Taniguchi, T., & Lord, C. J. (2016). Synthetic lethality: the road to novel therapies for breast cancer. *Endocrine-related cancer*, 23(10), T39-T55.
80. Pernin, V., Mégnin-Chanet, F., Pennaneach, V., Fourquet, A., Kirova, Y., & Hall, J. (2014). PARP inhibitors and radiotherapy: rational and prospects for a clinical use. *Cancer radiotherapie: journal de la Societe francaise de radiotherapie oncologique*, 18(8), 790-8.

## BIBLIOGRAPHIE

81. Chalmers, A. J., Lakshman, M., Chan, N., & Bristow, R. G. (2010, October). Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition as a model for synthetic lethality in developing radiation oncology targets. In *Seminars in radiation oncology* (Vol. 20, No. 4, pp. 274-281). WB Saunders.