



Université Lille 2
Droit et Santé

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2014

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Evaluation des *Single Nucleotide Polymorphisms* comme facteurs
prédictifs de réponse histologique complète à la chimiothérapie
néoadjuvante dans le cancer du sein.**

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 7 mars 2014 à 14h
au Pôle Formation
Par Diane Pannier

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Jacques Bonneterre

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Jean Philippe Spano

Monsieur le Professeur Mohamed Hebbar

Monsieur le Professeur Jean Philippe Peyrat

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur Jacques Bonneterre

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LISTE DES ABREVIATIONS

5FU :	5 Fluoro-Uracile
AC :	Doxorubicine - cyclophosphamide
ADN :	acide désoxyribonucléique
CCI :	carcinome canalaire infiltrant
CCIS :	carcinome canalaire in situ
CLI :	carcinome lobulaire infiltrant
COL :	Centre Oscar Lambret
CT :	chimiothérapie
FEC :	Fluorouracile – Epirubicine - Cyclophosphamide
HER2 :	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i> , ERBB-2, Her2/neu (Her2+++ : Her2 surexprimé, Her2 positif)
HR :	Hazard ratio
IC95 :	intervalle de confiance à 95%
IRM :	Imagerie par résonance magnétique
NCT :	chimiothérapie néoadjuvante
OR :	<i>odds ratio</i>
pCR :	réponse histologique complète
Pts :	patientes
RCP :	réunion de concertation multidisciplinaire
RE :	récepteurs aux œstrogènes (RE+ : récepteur aux estrogènes positifs ; RE- : récepteur aux estrogène négatifs)
RH :	récepteurs hormonaux (RH+ : récepteurs hormonaux positifs ; RH- : récepteurs hormonaux négatifs)
RP :	récepteurs à la progestérone
RTK :	Récepteur tyrosine kinase
SBR :	grade histopronostique de Scarff Bloom et Richardson
SG :	Survie globale
SNP :	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>

PANNIER Diane

SSP: Survie sans progression
TDM : Tomodensitométrie (ou scanner)
TEP : Tomographie par émission de positons
TN : triple négative (tumeur)
TXT : Taxotère® = Docétaxel

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	5
TABLE DES MATIERES	7
TABLE DES ILLUSTRATIONS	10
RESUME.....	12
INTRODUCTION	14
I. Facteurs pronostiques et décision de traitement	14
A. Classifications cliniques et histologiques.....	14
B. Classifications génétiques et moléculaires.....	15
II. Evaluation de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante	18
III. Facteurs prédictifs de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante.	20
IV. La Chimiothérapie Néoadjuvante.....	21
V. Polymorphisme génétique	25
MATERIELS ET METHODES	29
I. Déroulement du traitement	30
II. Réponse tumorale.....	30
III. Caractéristiques cliniques et histologiques étudiées	31
IV. Consentement	31
V. Sérothèque.....	32
VI. Choix des SNP	32
VII. Analyse génétique	36
A. Extraction d'ADN.....	36
B. Génotypage.....	36
VIII. Analyse statistique.....	38
RESULTATS.....	40

I. Population globale	40
II. Patientes traitées par FEC 100 + Docétaxel	42
A. Chirurgie après traitement néoadjuvant.....	43
B. Réponse au traitement	43
C. Suivi des patientes	44
D. Association entre caractéristiques tumorales et réponse au traitement.....	44
1. Modèle univarié	48
2. Modèle multivarié	49
E. Association SNP et réponse au traitement : population RE+.....	50
F. Association SNP et réponse au traitement : population RE-	53
III. Patientes traitées par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab	54
A. Réponse à la chimiothérapie néoadjuvante, tumeurs HER2+++	55
B. Association entre les caractéristiques clinico-pathologiques et la réponse au traitement.....	57
C. Association SNP et réponse au traitement : population Her2+++.....	59
DISCUSSION	70
I. Caractéristiques cliniques et histologiques	70
II. Etude des SNP	73
A. Population globale traitée par FEC100 + Docétaxel	73
1. ERCC1 – rs11615	74
2. BRCA1 - rs799917	75
3. CYP1B1 - rs1056836	76
4. SLCO1B3 - rs11045585	77
B. Population traitée par FEC100 + Docetaxel : RE+	77
1. CYP2B6 - rs2279345	78
2. SHMT1 - rs1979277	78
C. Population traitée par FEC100 – TXT : RE –.....	78
1. CD24 – rs52812045	79

2. CYP2B6 – rs2279343.....	79
3. GSTP1 – rs1695.....	79
D. Population traitée par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab.....	80
1. DNASE2B – rs3738573.....	80
2. MDR1 – rs1045642	80
3. NQO2 – rs1143684	81
III. SNP et autres facteurs prédictifs de réponse à la NCT.....	81
IV. Limites et perspectives	83
CONCLUSION.....	85
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	86
ANNEXES	96
Annexe 1 : Classification TNM du cancer du sein, 6 ^e édition, révisée en 2002.....	96

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1. Classification de Chevallier	19
Tableau 2. Classification de Sataloff.....	19
Figure 1. Schéma de SNP	26
Figure 2. Influence des SNP sur la toxicité et l'efficacité des traitements adjuvants du cancer du sein.....	27
Tableau 3. Description des 46 SNP testés	33
Figure 3. Puce Dynamic Array™ 48.48	37
Figure 4. Diagramme de fluorescence d'analyse d'un SNP	38
Figure 5. Consort de l'étude	41
Tableau 4. Nombre de cures et type de NCT, patientes Her2 négatives	42
Tableau 5. Réponses à la NCT, patientes sans surexpression Her2.....	43
Tableau 6. Réponse tumorale selon Sataloff, tumeurs HER2-	44
Tableau 7. Corrélation entre pCR et caractéristiques clinico-pathologiques chez les patients en fonction du statut des récepteurs hormonaux.	46
Tableau 8. Association SNP et pCR dans la population globale.....	49
Tableau 9. Association pCR et combinaisons des polymorphismes de ERCC1 et CYP1B1	50
Tableau 10. Association SNP et pCR dans la population RE+	51
Tableau 11. Association SNP et pCR dans la population RE-	54
Tableau 12. Réponse à la CT néoadjuvante, population HER2+++	56
Tableau 13. Réponse tumorale selon Sataloff, tumeurs HER2+++	56
Tableau 14. Corrélation entre pCR et caractéristiques clinico-pathologiques chez les patientes surexprimant Her2	58
Tableau 15. Association entre SNP et pCR, population HER2+++.....	60
Figure 6. Survie globale en fonction du traitement	61
Tableau 16. Survie globale en fonction des SNP présents : Population FEC100 + Docétaxel	62

Tableau 17. Survie globale en fonction des SNP présents : Population FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab	62
Figure 7. Survie sans progression selon le traitement.....	63
Figure 8. Survie sans progression en fonction du statut Her2	64
Figure 9. Survie sans récidive selon le statut HER2 et la pCR	65
Figure 10. Survie sans progression selon la pCR dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel	66
Figure 11. Survie sans progression selon la pCR dans la population RH-	66
Figure 12. Survie sans récidive selon la pCR : population RH+	67
Figure 13. Survie sans progression en fonction du SNP de CYP1B1, population FEC100 + Docétaxel	68
Tableau 18. Survie sans progression en fonction des SNP: Population traitée par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab	68
Tableau 19. Survie sans progression en fonction des SNP, Population traitée par FEC100 + Docétaxel	69
Figure 14. Représentation de la répartition des polymorphismes de ERCC1 rs11615	74

RESUME

Contexte : La chimiothérapie néoadjuvante (NCT) à base d'anthracyclines et de taxanes est le traitement standard dans le cancer du sein localement avancé ou inflammatoire. Son efficacité est évaluée par la réponse histologique complète (pCR), élément pronostique majeur. Les variations interindividuelles de réponse au traitement peuvent être expliquées par les *single nucleotide polymorphisms* (SNP). L'objectif de notre étude était d'identifier les SNP prédictifs de pCR à la NCT dans le cancer du sein.

Méthode : Entre novembre 2007 et janvier 2012, 191 patientes (pts) suivies au Centre Oscar Lambret (COL) de Lille pour un adénocarcinome mammaire en situation néoadjuvante ont été incluses : 118 traitées par une chimiothérapie séquentielle associant FEC100 et Docétaxel (TXT), et 46 par FEC100, TXT et Trastuzumab. Les 46 SNP décrits dans la littérature comme facteurs prédictifs potentiels de réponse ont été testés. Le génotypage a été réalisé sur un prélèvement de sang total, en utilisant une discrimination allélique avec SNPTyping assays (Fluidigm) et TaqMan assays (Life Technologies) sur la plateforme BioMark™ (Fluidigm). Les caractéristiques cliniques et histologiques ont été comparées par le test du Chi². L'association entre la pCR selon Sataloff et les 3 génotypes de chaque SNP, isolés puis combinés, a été étudiée par régression logistique.

Résultats : Dans la population traitée par FEC100 - TXT, 25 pts sur 118 (21.2%) présentent une pCR. Ce taux est plus élevé parmi les tumeurs de grade III ($p=0.009$), récepteurs hormonaux négatifs ($p=0.005$) et triple négatives ($p=0.006$). 4 SNP sont associés à la pCR dans ce groupe : BRCA1-rs799917 (au moins un allèle T : OR=3.15, IC95(1.04-9.6)), CYP1B1-rs1056836 (pts homozygotes CC ou GG, $p=0.02$), ERCC1-rs11615 (au moins un allèle C : OR=3.63 ; IC95(1.15-11.5)), SLCO1B3-rs11045585 (au moins un allèle G, OR=2.77, IC95 (1.10-6.7)). L'analyse

multivariée retrouve un taux de pCR doublé pour les patients porteurs des génotypes ERCC1-CT et CYP1B1-CC (OR=8.5 (1.6-46)), résultat restant significatif après ajustement au statut RE ($p=0.05$). La pCR est liée à 4 SNP chez les pts surexprimant Her2 traités par chimiothérapie et trastuzumab.

Conclusion : Plusieurs SNP sont significativement liés à la pCR après NCT par anthracyclines et taxanes dans le cancer du sein. ERCC1 est lié à la pCR dans les tumeurs ER+, ER- et Her2 positives, même si les génotypes associés diffèrent dans chaque groupe. Enfin, la combinaison ERCC1-CT/CYP1B1-CC semble intéressante pour prédire la réponse à la NCT dans la population sans surexpression Her2.

INTRODUCTION

Le cancer du sein est une pathologie fréquente qui, avec 53000 nouveaux cas en 2011, se situe au premier rang des cancers incidents chez la femme en France. Dans les pays occidentaux, une femme sur huit sera touchée par cette pathologie au cours de sa vie. En 2011, on estimait la survenue de 11500 décès secondaires au cancer du sein en France, le plaçant ainsi au premier rang des causes de mortalité chez la femme. Ces dernières décennies, l'amélioration de la survie de cette pathologie, où les taux de survie dépassent les 80% à 5 ans, peut s'expliquer par un diagnostic plus précoce grâce au dépistage organisé en France et par l'amélioration de la prise en charge thérapeutique. (La situation du cancer en France, InVS 2011).

Parmi les cancers du sein, on distingue des entités histologiques différentes, comme les cancers in situ et les carcinomes infiltrants. Les cancers du sein in situ, représentant 20% des cancers du sein, se composent de carcinome lobulaire in situ dans 10-15% des cas et de carcinomes canaux in situ (CCIS) dans une plus grande majorité (80-85%). Le CCIS est défini par une prolifération de cellules tumorales dans les canaux galactophoriques sans franchissement de la membrane basale (cutuli 2005). Les carcinomes infiltrants représentent quant à eux 80% des cancers du sein et sont divisés en carcinomes canaux infiltrants (CCI) (64%), carcinomes lobulaires infiltrants (CLI) (10%), tubuleux (5%), mucineux (1%), les médullaires et papillaires constituant moins de 1% des cas de cancer du sein (1).

I. Facteurs pronostiques et décision de traitement

A. Classifications cliniques et histologiques

Les cancers du sein sont des maladies hétérogènes, regroupés selon des classifications cliniques, histologiques et depuis quelques années, moléculaires. A

partir de ces classifications, la décision thérapeutique est prise non seulement en fonction de la connaissance des facteurs pronostiques qui permettent d'évaluer le risque de récurrence locale ou à distance en absence de tout traitement, mais aussi sur la connaissance des facteurs prédictifs de réponse ou non réponse au traitement.

Les facteurs pronostiques sont composés de données cliniques, telles que l'âge jeune (<35 ans) de la patiente, la taille tumorale importante (2,3) et l'envahissement ganglionnaire (4) regroupés dans la classification TNM du cancer du sein (6ème édition révisée en 2002) (Annexe 1), auxquelles s'ajoutent le grade histopronostique de Scarff Bloom et Richardson (SBR) élevé (5), la présence d'embolies vasculaires, l'index de prolifération Ki67 élevé (6), l'absence de récepteurs hormonaux (RH).

Ces facteurs s'intègrent dans des modèles pronostiques, comme l'index pronostique de Nottingham (7), la classification pronostique élaborée lors de la conférence de consensus de St Gallen en 2007 (8), ou le site internet Adjuvant ! Online.

A ces facteurs pronostiques s'ajoutent des facteurs prédictifs de réponse au traitement représentés par la présence de récepteurs aux œstrogènes (RE) et progestérone (RP), la surexpression de l'oncogène Her2 (9).

B. Classifications génétiques et moléculaires

Depuis une dizaine d'années une approche génétique et moléculaire s'ajoute aux classifications clinique et histologique. Cette approche est réalisable grâce à la technique des microarrays, qui permet l'analyse simultanée de l'expression de plusieurs milliers de gènes. L'analyse des résultats regroupe ensuite les tumeurs en fonction de leur profil d'expression génique, et a permis la découverte de sous types moléculaires de cancers du sein (10).

L'étude de Pérou et al en 2000 est la première étude à identifier les différences moléculaires entre les tumeurs du sein en les regroupant en plusieurs sous-types selon leur profil d'expression génique: a) *luminal-like* (luminal A ou B)

principalement ER positives comprenant de nombreux marqueurs des cellules myoépithéliales (dites basales) ou des cellules luminales ; b) les *basal-like* principalement ER négatives ; c) les ERBB2 qui surexpriment l'oncogène Her2 ; d) les *normal-like*. Ces sous types ne sont pas seulement associés aux deux types cellulaires du sein (luminales et myoépithéliales), à l'expression des récepteurs hormonaux et Her2, mais reflètent également à une évolution clinique particulière. Cette classification a été reproduite dans de plus larges séries de différentes plateformes de *micro-array*, dans différentes histologies tumorales mammaires (cancer in situ, inflammatoire, précoces), confirmant sa reproductibilité et sa stabilité (11,12). Ces cinq sous types moléculaires ont été par la suite complétés par le sous type *claudin low*, caractérisé par un faible niveau d'expression de nombreux gènes codant pour les protéines claudines (notamment 3, 4 et 7) impliquées dans les jonctions serrées des cellules épithéliales (13). Cependant, la définition des profils d'expression géniques par technique de microarray est une méthode nécessitant des tissus frais congelés, complexe et couteux. Pour des raisons pratiques, on peut rapprocher les caractéristiques moléculaires précédemment décrites en *micro-array* par des définitions de substitutions à l'aide des caractéristiques histologiques des tumeurs en Immunohistochimie. Ces définitions s'inscrivent actuellement dans la décision de traitement et ont été adoptées par le Groupe d'experts de la 12eme Conférence Internationale de St Gallen (14). Les sous types identifiés sont : *Luminal A* (RE+ et/ou RP+, sans surexpression Her2, tumeurs de grade 1 ou 2), *Luminal B/Her2-* (RE+ et/ou RP+, Her2-, grade 3), *Luminal B/Her2+* (RE+ et/ou RP+, Her2+, quel que soit le grade tumoral), *Her2 positive (non luminal)* (RE- et RP-, Her2+, quel que soit le grade) et *Triple Négative* (RE-, RP-, Her2-, tous grade confondu) (15).

Les profils d'expression géniques ont depuis permis d'identifier plusieurs signatures prédictives et pronostiques dans le cancer du sein (16). Parmi celles-ci, une signature moléculaire pronostique de 70 gènes, appelée signature d'Amsterdam, détermine une population de patientes à faible risque de développer des métastases dans les 5 ans après traitement initial (17). A partir de cette signature analysant le transcriptome, un test permettant l'analyse simultanée des 70 gènes par la technique

de puce à ADN a été mis au point, le Mammaprint ®, qui pourrait permettre d'identifier les patientes à bas risque ne tirant pas bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante. Ce test est en cours de confirmation dans un essai prospectif randomisé international : l'étude MINDACT (*microarray for node negative disease may avoid chemotherapy*) (18). Un autre test, l'Oncotype DX™, basé sur la technique de RT-qPCR, stratifie en trois niveaux (faible, intermédiaire, élevé) le risque de récurrence à 10 ans de patients sans envahissement ganglionnaire, aux récepteurs hormonaux positifs et recevant une hormonothérapie par Tamoxifène dans le cadre du traitement adjuvant. La validité de ce test est en cours d'évaluation dans l'essai TAILORx (19). Actuellement, le développement de l'identification de signatures moléculaires de cancer du sein est une piste de recherche qui permettrait de prédire l'évolution d'une tumeur et d'identifier des groupes de patientes pouvant tirer bénéfice d'un traitement adjuvant.

En fonction de ces différents critères cliniques, histologiques et moléculaires, la décision de traitement est prise de façon multidisciplinaire et repose pour les cancers du sein localisés sur plusieurs modalités, comprenant la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie associée ou non aux thérapies ciblées, et l'hormonothérapie.

Avant toute décision, il est donc indispensable de réaliser une biopsie de la lésion tumorale afin d'obtenir un diagnostic histologique complet, incluant le type histologique, le grade, les statuts hormonaux et de Her2. Selon les caractéristiques anatomopathologiques et cliniques, la prise en charge sera alors chirurgicale d'emblée comme dans la plupart des cas, ou précédée d'une chimiothérapie dite néoadjuvante.

II. Evaluation de la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante

La chimiothérapie néoadjuvante est le premier traitement systémique reçu par les patientes dans le cadre d'un cancer du sein non métastatique, et les traitements chirurgicaux puis par radiothérapie et hormonothérapie lui font suite.

La réponse à la chimiothérapie néoadjuvante est évaluée par des examens cliniques, échographiques, anatomopathologiques. En termes de réponse clinique, on définit plusieurs items :

- La réponse clinique complète, représentée par une absence de tumeur palpable et d'adénopathie axillaire décelable.
- La réponse clinique partielle, avec une diminution de 50% ou plus de la masse tumorale.
- La non réponse et la maladie progressive, définies par une absence de réponse ou augmentation de la taille tumorale malgré le traitement.

Les taux de réponses cliniques sont souvent plus importants que ceux rapportés par l'analyse anatomopathologique. L'analyse histologique de la pièce opératoire apparaît donc plus précise dans l'évaluation de la réponse, et permet par ailleurs la détermination de facteurs prédictifs ou pronostiques de réponse à la chimiothérapie.

Afin d'apprécier la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante, de nombreuses classifications histologiques ont été créées, sans qu'un standard soit établi. L'objectif de ces classifications est d'identifier les patients bons répondeurs et d'individualiser les répondeurs partiels. Les plus couramment utilisées, notamment au Centre Oscar Lambret, sont les classifications de Chevallier et de Sataloff (Tableaux 1 et 2). La classification de Chevallier (20) ne tient compte que de la réponse histologique au niveau de la glande mammaire, sans évaluation des adénopathies axillaire, et individualise un groupe 3 de répondeurs partiels qui s'avèrent assez hétérogène. La

classification de Sataloff (21) a l'avantage d'être reproductible, de mieux différencier les réponses partielles dans la tumeur initiale et de tenir compte à la fois de la réponse au niveau de la glande mammaire et au niveau ganglionnaire axillaire (22). Dans notre étude, la classification de Sataloff a été choisie comme critère de jugement principal de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante.

Tableau 1. Classification de Chevallier (20)

Classification de Chevallier	
1	Absence de toute cellule tumorale histologiquement et pas de métastase axillaire
2	Présence de carcinome in situ dans le sein, sans cellule tumorale invasive ET pas de métastase axillaire
3	Présence de cellules carcinomateuses résiduelles avec altérations stromales comme de la sclérose ET de la fibrose
4	Peu ou pas de modification de l'apparence de la tumeur

Tableau 2. Classification de Sataloff (21)

Classification de Sataloff	
<i>Tumeur primitive mammaire</i>	
TA	Effet thérapeutique total ou presque total
TB	Effet thérapeutique de plus de 50% mais pas total
TC	Moins de 50% d'effet thérapeutique
TD	Pas d'effet thérapeutique
<i>Ganglions axillaires</i>	
NA	Evidence d'un effet thérapeutique, pas de maladie résiduelle
NB	Pas de métastase ou d'effet thérapeutique
NC	Evidence d'un effet thérapeutique mais métastase axillaire toujours présente
ND	Métastase axillaire toujours présente et viable et pas d'effet thérapeutique

Le critère principal de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante est la réponse histologique complète (pCR), définie par l'absence de cancer invasif résiduel après chimiothérapie néoadjuvante tant au niveau du sein qu'au niveau ganglionnaire. Plusieurs études ont démontré qu'il s'agissait d'un facteur pronostic essentiel (23–26). Dans deux études du NSABP (B18 et B27), les patients ayant une pCR après la chimiothérapie néoadjuvante présentaient des taux de survie globale (SG) et de survie sans progression (SSP) supérieurs par rapports aux patients sans pCR (NSABP B18 : HR = 0.47, $p < 0.0001$ pour la survie sans progression et HR=0.32, $p < 0.0001$ pour la survie globale) (NSABP B27 : HR=0.49, $p < 0.0001$ pour la survie sans progression, HR=0.36, $p < 0.0001$ pour la survie globale). Il était également montré que la réponse ganglionnaire après traitement est un marqueur prédictif fort de survie globale et sans récurrence ($p < 0.0001$) (27).

III. Facteurs prédictifs de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante.

Les caractéristiques clinico-pathologiques classiques (taille tumorale, envahissement ganglionnaire, grade SBR) sont des facteurs prédictifs de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante (28). D'autres facteurs sont importants pour prédire la réponse à la NCT : le type histologique, l'importance du marqueur de prolifération Ki67 (6), la présence de récepteurs hormonaux ou la surexpression de Her2 (Her2+++).

La taille tumorale est un premier facteur important de réponse à la NCT, et on observe pour les tumeurs de petite taille de meilleurs taux de réponses (3,29). Le type histologique participe à la modulation de la réponse : les carcinomes lobulaires infiltrants présentent moins de pCR que les carcinomes canaux infiltrants après une chimiothérapie néoadjuvante (30,31). Confirmant que la présence des récepteurs aux œstrogènes diminue la réponse à la chimiothérapie, leur absence est

liée à un meilleur taux de pCR. De même, une surexpression Her2 est liée à une meilleure pCR mais la survie est moindre dans ce groupe (32).

Les marqueurs de prolifération élevés sont liés à une meilleure réponse à la NCT. Ainsi un haut grade histopronostique à fort taux de mitoses et un index de prolifération élevé (Ki67) (5) vont être des facteurs prédictifs importants.

Enfin, on sait depuis peu que le sous-type moléculaire influence aussi la réponse. Les taux de pCR ne sont pas identiques entre les sous-groupes de cancer du sein, et les plus hauts taux de pCR sont retrouvés au sein des sous types moléculaires de type *basal like* et *erbB2* (33,34).

IV. La Chimiothérapie Néoadjuvante

Le cancer du sein est une maladie systémique, ce qui rend l'enjeu des traitements par chimiothérapie ou hormonothérapie important. En éliminant les éventuelles micrométastases, on recherche une augmentation de la survie en évitant l'évolution à distance de la maladie. Le modèle Gompertzien décrit la vitesse de prolifération tumorale et le pouvoir cytotoxique des cycles de chimiothérapie comme d'autant plus forts que la taille tumorale est réduite. Une autre hypothèse élaborée par Goldie et Coldman (35) explique que le risque de résistance, lié au nombre de divisions cellulaires, est plus élevé en cas de tumeur volumineuse avec une cinétique de prolifération importante.

De ces rationnels découle le développement à partir des années 70 d'un traitement préopératoire ou néoadjuvant dans le cancer du sein, déterminé sur la base des résultats observés en situation adjuvante pour les tumeurs de mauvais pronostic (29,36).

L'objectif principal de la chimiothérapie néoadjuvante est l'obtention d'une diminution tumorale importante et l'augmentation de la proportion de chirurgies conservatrices mammaires (37). La comparaison de l'efficacité des protocoles de chimiothérapie administrés en préopératoire ou postopératoire a fait l'objet de

nombreuses études. L'étude randomisée la plus importante est celle du *National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B18* qui comparait une chimiothérapie par 4 cycles de doxorubicine et cyclophosphamide (AC) donnée soit en néoadjuvant, soit en adjuvant. Les résultats retrouvaient une augmentation de la proportion de traitements conservateurs et de réponse pathologique complète dans le groupe de traitement néoadjuvant (avec une diminution de taille tumorale observée dans 78% des cas, dont 36% de réponse clinique complète) sans différence significative en termes de survie globale et de survie sans récurrence dans les deux groupes (27,38). L'étude EORTC 10902 retrouvait des résultats similaires chez des patientes traitées par 4 cycles de FEC administrés en pré ou post opératoire, sans différence entre les groupes au niveau de la survie globale, survie sans progression ou rechute locale (39). La méta-analyse de Mauri en 2005 venait confirmer ces résultats, en comparant la chimiothérapie néoadjuvante à un traitement adjuvant en reprenant 9 études randomisées pour un total de près de 4000 patients. Aucune différence significative en termes de survie globale ou sans progression n'était rapportée entre les deux stratégies (40). Seul le risque de rechute était augmenté après chimiothérapie néoadjuvante si la radiothérapie seule était effectuée en cas de réponse clinique complète, ce qui a renforcé la stratégie chirurgicale après la chimiothérapie néoadjuvante. Pour une efficacité identique, la NCT permet donc une augmentation des taux de chirurgie mammaire conservatrice.

Classiquement composée d'anthracyclines (38), la stratégie de la chimiothérapie néoadjuvante s'est progressivement modifiée, permettant une amélioration constante de la réponse au traitement. L'ajout des taxanes aux protocoles à base d'anthracyclines a permis un gain en termes de réponse clinique avec un doublement du taux de réponse histologique complète. Dans l'étude Aberdeen en 2002, le taux de pCR passait de 16 à 34% ($p=0.04$) dans le groupe traité par cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisolone (CVAP) suivi de docétaxel par rapport au traitement par CVAP seul (41). Dans l'étude du NSABP B27, le taux de pCR était augmenté de 25.6% dans le groupe AC- Docétaxel versus 13.7% dans le groupe AC, sans modification de la survie globale (42).

L'évolution des protocoles de chimiothérapie néoadjuvante s'est vue également au niveau de la séquence de traitement, avec une supériorité des schémas séquentiels par rapport aux concomitants (43), et dans le nombre de cycles, où six sont montrés préférables à 4 (44,45).

L'apparition du Trastuzumab dans l'arsenal thérapeutique du cancer du sein a entraîné son introduction dans les schémas de traitement en néoadjuvant. L'association du Trastuzumab avec les taxanes dans les tumeurs surexprimant Her2 a permis l'augmentation du nombre de réponses histologiques complètes. Ainsi dans l'étude de Buzdar, le bras traité par FEC associé au trastuzumab avait un taux de pCR de 66.7% contre 26% dans le groupe contrôle sans trastuzumab (46), faisant arrêter prématurément l'essai. L'étude NOAH confirmait ces résultats avec une augmentation significative de la survie sans progression à 3 ans (70.1% versus 53.3%, $p=0.006$ avec des taux de pCR de 43% contre 22% $p=0.0007$) (47).

D'autres drogues ont également été testées sans résultat significatif en néoadjuvant : le cisplatine (essai TOPIC) (48) , la gemcitabine (NSABP B40) (49), la vinorelbine (GEPARTRIO) (44) ou la capécitabine (49,50) pour laquelle les données récentes de survie de l'étude GBG40 - GeparQuattro confirme sa non indication en néoadjuvant (51).

Depuis, avec l'avènement des nouvelles thérapies ciblées, de nombreux essais tentent d'améliorer ces résultats. La voie anti-angiogénique a ainsi été testée en néoadjuvant au travers du bevacizumab dans deux études de phase III (49,52), montrant des résultats positifs significatifs pour le bevacizumab. Celle du NSABP B-40 (49), rapportait une augmentation significative du taux de pCR avec l'ajout de bevacizumab dans les tumeurs avec présence de récepteurs hormonaux (34.5% versus 28.2%, $p = 0.02$) tandis que dans celle de Von Minckwitz (52), le bevacizumab permettait d'augmenter le taux de pCR (OR 1.29, IC95% 1.02-1.65, $p = 0.04$) dans le sous-groupe des tumeurs triple négatives. Cependant, devant les résultats contradictoires de ces 2 études au sein des sous-groupes, le bevacizumab n'a pas prouvé son intérêt en néoadjuvant. Jusqu'à présent, l'indication de ce dernier n'est donc pas retenue en situation néoadjuvante.

L'essai NEO-ALTTO comparait de son côté l'utilisation du lapatinib au trastuzumab en néoadjuvant. L'association de ces deux anti ErbB2 obtenait un taux de pCR de 51.3% contre 24.7% et 29.5% respectivement dans les groupes lapatinib seuls et trastuzumab seuls (Essai NEO-ALTTO) (53). Autre anticorps anti Her2, le pertuzumab qui empêche la dimérisation de Her2, a été testé en néoadjuvant dans une phase II (NEOSPHERE) (54) où le plus haut taux de pCR était atteint dans le bras associant Docétaxel, Trastuzumab et pertuzumab. Une étude de phase III est maintenant en attente.

Dans l'essai GEPARQUINTO (55), l'inhibiteur de mTOR Everolimus associé au paclitaxel était évalué chez des tumeurs Her2 négatives et non répondeuses au traitement néoadjuvant (associant epirubicine, cyclophosphamide plus ou moins bevacizumab) et ne permettait pas d'augmentation des taux de pCR. Enfin, l'association trastuzumab - Mertansine (TDM-1) est actuellement en cours d'évaluation dans l'essai NeoSTEP.

A ses débuts, les indications de la chimiothérapie néoadjuvante relevaient de tumeurs inflammatoires ou localement avancées non opérables d'emblée. Progressivement, elle a vu ses indications s'étendre aux tumeurs volumineuses, opérables d'emblée mais requérant une mastectomie totale, afin d'obtenir une réduction tumorale permettant une chirurgie conservatrice, ainsi qu'aux tumeurs très prolifératives définies selon un index mitotique, un taux Ki67 élevés, et un faible taux de RE (27,56). La chimiothérapie néoadjuvante permet également l'évaluation de la chimiosensibilité tumorale in vivo.

Cependant, la connaissance des différents éléments pronostics et prédictifs ne permet pas d'expliquer les hétérogénéités de réponse des patients au traitement néoadjuvant, et un certain nombre de patients reçoivent une polychimiothérapie lourde sans en retirer de bénéfice important. Au contraire, la résistance d'un patient à un traitement donné, autant que l'apparition d'une toxicité importante au traitement exposent celui-ci à des thérapies inutiles voire délétères. Il est donc essentiel de

disposer de critères prédictifs sûrs de la réponse thérapeutique afin de proposer une prise en charge personnalisée qui permettrait de limiter les indications aux individus répondeurs au traitement et identifier ceux pour qui celui-ci serait néfaste.

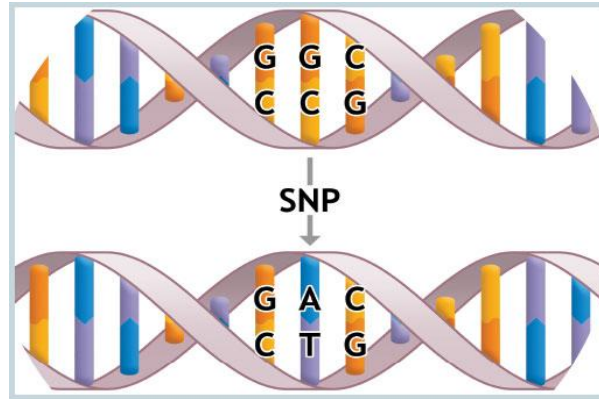
Depuis quelques années, la recherche de marqueurs moléculaires a permis des progrès importants en biologie moléculaire, ouvrant une nouvelle voie de recherche en oncologie. La pharmacogénomique, étudiant les effets des traitements sur le génome, est ainsi utilisée couramment en pratique clinique, avec par exemple la recherche d'une mutation de l'oncogène KRAS avant la prescription d'anti EGFR dans le cadre des cancers colorectaux (57).

La compréhension des mécanismes d'action des médicaments et de leur résistance ont entraîné la recherche de cibles capables de moduler l'efficacité de ces thérapeutiques. Les variations interindividuelles peuvent ainsi être rapportées à des modifications individuelles de gènes, ou polymorphismes.

V. Polymorphisme génétique

Les variations individuelles mineures du génome au sein d'une population sont appelées polymorphismes. La modification d'un seul nucléotide (A, T, C ou G) au sein de l'ADN, constitue un polymorphisme nucléotidique simple, ou *Single Nucleotide Polymorphism*, dit SNP (Fig 1). Ceux-ci sont les variations les plus fréquentes dans le génome avec une altération toutes les 1000 paires de bases. Si le génome de deux personnes est identique à 99.9%, 90% de leur différence est constituée par les SNP, soit en moyenne 3 millions de SNP dénombrés entre deux individus donnés. Ils participent donc à la diversité génétique humaine.

Figure 1. Schéma de SNP : le premier ADN diffère du second par un seul nucléotide (polymorphisme G>A)



Le séquençage du génome humain a permis l'identification des polymorphismes génétiques, et leur recensement est effectué dans des bases de données internationales (dbSNP database). En 2012, on compte près de 10 millions de SNP identifiés notamment par l'intermédiaire du HapMap Project qui répertorie les variations génétiques humaines fréquentes en les classant par nom, emplacement dans le génome et distribution dans la population (58). Mais si l'identification de variants génétiques est bien avancée, on est loin de connaître toutes les conséquences fonctionnelles de celles-ci. Les SNP peuvent toucher les exons comme les introns, avec une plus forte proportion observée dans ces derniers, qui représentent les parties non codantes du génome. La présence d'un SNP dans un exon, partie codante, peut ainsi entraîner plusieurs types d'altérations génétiques:

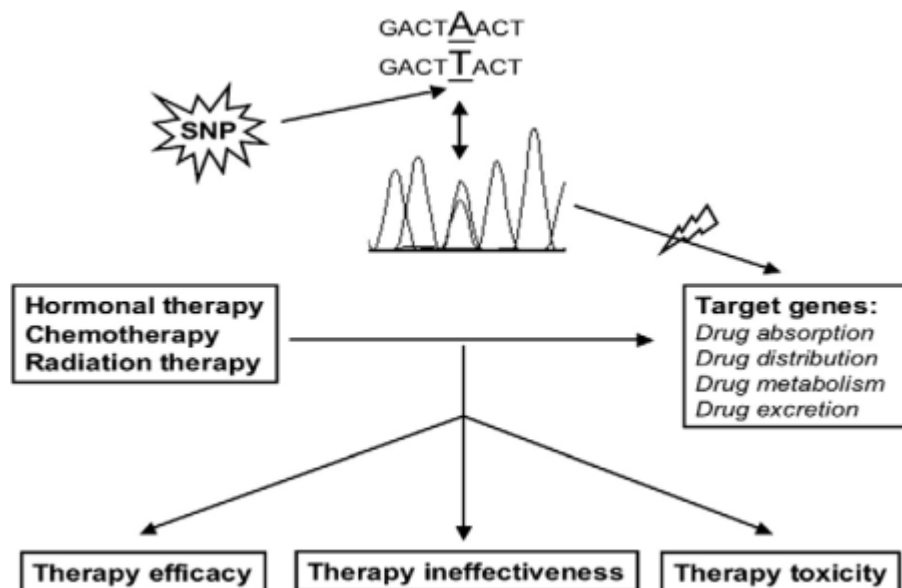
- Les altérations silencieuses, sans conséquence protéique, survenant lors du remplacement d'une base par une autre grâce à dégénérescence du code génétique.
- Les altérations majeures, entraînées par la formation d'une mutation non-sens ou faux sens dans une séquence codante ou l'apparition d'une mutation au niveau d'une partie nécessaire à l'épissage. Ces modifications ont pour conséquence une composition en acide aminés différente de la séquence initiale, donc une fonction protéique modifiée.

- Les altérations mineures, induites par des mutations au niveau d'une séquence régulatrice, du promoteur du gène ou dépendant de sa position dans la séquence codante.

Une grande partie des SNP sont bialléliques mais des formes tri ou quadri alléliques peuvent être observées (59).

Les polymorphismes observés au niveau des gènes codant pour des éléments essentiels de la pharmacologie anti cancéreuse peuvent expliquer en partie la variabilité de la réponse aux chimiothérapies. Une modification dans une séquence codante pour des transporteurs des médicaments, des enzymes qui les activent, de leurs cibles protéiques ou pour des protéines de réparation de l'ADN, sont associés à des pertes ou variations de fonction et influent sur la réponse de l'individu à la chimiothérapie (Fig 2.).

Figure 2. Influence des SNP sur la toxicité et l'efficacité des traitements adjuvants du cancer du sein. (60)



De ces interrogations sur les modifications phénotypiques, conséquences des SNP, découle la pharmacogénétique qui étudie la variabilité interindividuelle de la séquence d'ADN responsable d'une hétérogénéité de réponse dans une population.

En cherchant à répertorier les SNP présents dans le génome, on peut identifier ceux dont la présence est liée à des changements dans la pharmacocinétique ou la pharmacodynamie des médicaments. Les SNP présents dans les gènes codant pour les protéines régulant les concentrations de médicament dans l'organisme peuvent avoir pour conséquences une augmentation de la réponse au traitement, ou inversement une résistance accentuée, voire l'apparition d'une toxicité accrue.

Ces gènes essentiels à la pharmacologie codent pour des protéines contrôlant l'absorption et la diffusion des traitements (transporteurs), les enzymes du métabolisme du médicament, ou les cibles des médicaments, récepteurs ou voies de transduction du signal, dans lesquels peuvent survenir les polymorphismes et entraîner des modifications de réponse.

L'identification de ces variations individuelles, la détermination de nouveaux gènes de susceptibilité au cancer et des marqueurs prédictifs de réponse ou de résistance à la chimiothérapie prend donc une place importante dans la recherche actuelle. Cartographier les variétés épigénétiques et les altérations dans le génome des tumeurs, corrélés ces facteurs aux caractéristiques tumorales, au pronostic et à la réponse à la chimiothérapie sont une étape importante vers l'accessibilité à une médecine personnalisée.

C'est dans ce contexte spécifique de recherche qu'intervient l'étude GENEOM-0708 (N°IDRCB : 2007-A00908-45). Cette étude de recherche biomédicale, interventionnelle, génétique, ouverte et monocentrique présente comme objectif principal l'identification de variants constitutionnels de gènes associés à une modification de la réponse à la première ligne de chimiothérapie par taxanes ou par anthracyclines en situation néoadjuvante, adjuvante, ou métastatique chez des patientes atteintes d'un adénocarcinome mammaire. Mon travail de thèse présenté ici correspond à la partie néoadjuvante de l'étude.

MATERIELS ET METHODES

Entre le 29/11/2007 et le 06/01/2012, 191 patientes suivies au Centre Oscar Lambret (Lille) sont incluses dans notre étude.

Les patientes devaient répondre aux critères d'inclusion suivants:

- Etre des femmes âgées de plus de 18ans
- Ayant un adénocarcinome mammaire histologiquement prouvé
- Relevant d'une chimiothérapie néoadjuvante à base d'anthracyclines et/ou de taxanes, dont l'indication a été retenue en réunion de concertation multidisciplinaire (RCP)
- Ou ayant reçu une chimiothérapie néoadjuvante à base d'anthracyclines et/ou de taxanes dont l'indication avait été retenue en RCP
- Et ayant reçu une information claire et signé le consentement écrit.

Elles ne pouvaient participer en présence d'un des critères de non inclusion suivants :

- Autre type histologique retrouvé
- Patiente refusant la conservation des prélèvements
- Contre-indication ou non-indication à une chimiothérapie à base d'anthracyclines et/ou de taxanes

Les patientes sont incluses au moment du diagnostic, en cours de traitement ou au cours de la surveillance post traitement. Une fois le consentement signé, le prélèvement sanguin recueilli, les données des patientes sont recherchées d'après le dossier informatique (WEBDCR®) et le dossier papier et insérées dans une base de données spécifique à l'étude développée à l'aide de Capture System (CLINSIGHT®). La saisie des données est vérifiée par une personne différente de celle les ayant

recueillies, et faisant partie de l'Unité de Biostatistique du Centre Oscar Lambret. La base de données est gelée après un contrôle de qualité final puis exportée vers le logiciel de statistique SPSS selon une procédure automatisée et validée.

I. Déroulement du traitement

Après une réunion de concertation pluridisciplinaire, l'indication d'un traitement néoadjuvant est posée. Les patientes reçoivent donc une chimiothérapie néoadjuvante séquentielle associant en grande majorité 3 cures d'anthracyclines (5FU 500mg/m², Epirubicine 100mg/m², Cyclophosphamide 500mg/m²) suivies de 3 cures de taxanes (Docétaxel 100mg/m²), tous les 21 jours. Aux Taxanes s'ajoute le trastuzumab en cas de surexpression Her2 (8mg/m² en dose de charge puis 6mg/m², tous les 21 jours, 3 cures réalisées en néoadjuvant en association avec le Docétaxel puis 15 cures en adjuvant). Ce traitement néoadjuvant est suivi de la prise en charge chirurgicale, puis de la radiothérapie et enfin de l'hormonothérapie, indiquée en cas de récepteurs hormonaux positifs.

II. Réponse tumorale

Un bilan de réévaluation clinique et par échographie mammaire a lieu à la fin de la chimiothérapie néoadjuvante.

Après réalisation de la chirurgie, la réponse histologique de la tumeur et des ganglions axillaires selon la classification de Sataloff est évaluée sur pièce opératoire (Tableau 2).

Le critère d'évaluation principal de l'étude est la réponse histologique complète (pCR) selon le score de Sataloff après une chimiothérapie néoadjuvante.

III. Caractéristiques cliniques et histologiques étudiées

Une fois les patientes incluses dans l'étude, les dossiers cliniques, d'imagerie, histologiques sont étudiés. Les paramètres pris en compte concernent l'histologie initiale de la tumeur, le type de chimiothérapie, le nombre de cures, les dates de début et fin de chimiothérapie, la chirurgie, la réponse au traitement néoadjuvant, la date de progression éventuelle, le site de récurrence / progression, la date de décès et sa cause.

D'un point de vue histologique, les caractéristiques relevées sont le taux des récepteurs hormonaux, considérés positifs si RE > 10%, RP > 10%, le Ki67, positif si plus de 15% de cellules sont marquées, la présence d'embolies. La surexpression Her2 est quant à elle définie en immunohistochimie (IHC) par un score 3+ (ou ++++) de la protéine Her2 au niveau de la membrane des cellules tumorales. En cas de score 2+, la positivité est confirmée par une amplification en FISH ou CISH avec la réalisation du rapport HER2/Centromère 17. Ce rapport doit être supérieur à 2,2 pour caractériser l'amplification (61).

Les tumeurs triple négatives de notre étude sont définies par une association de RE < 10%, RP < 10%, et Her2 non surexprimée, soit un score Her2 égal à 0, à 1 ou à 2 avec une CISH ou FISH négative.

IV. Consentement

Le projet GENEOM-0708 est conduit conformément aux principes éthiques de la déclaration d'Helsinki de 1964 révisée à Edimbourg en 2000 ; à la loi n°2004-801 du 6 août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel et modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers, aux libertés ; à la loi n°2004-800 du 9 août 2004 relative à la Bioéthique ; à la loi de Santé Publique (lois n°2004-806 du 9 août 2004 et 2006-450 du 18 avril 2006). Le Comité de Protection des Personnes Nord-

Ouest IV a donné un avis favorable à ce projet le 11 septembre 2007 et la Direction Générale de la Santé a autorisé celui-ci le 28 septembre 2007.

Les patientes sont informées du déroulement et des objectifs de l'étude par les médecins qui les prennent en charge à l'hôpital de jour ou en consultation puis signent le formulaire de consentement au protocole de recherche biomédicale GENEOM-0708. A tout moment, la possibilité est donnée aux patientes de retirer leur consentement et de refuser l'utilisation des prélèvements sanguin.

V. Sérothèque

Le prélèvement sanguin pouvait être réalisé à tout moment de la prise en charge, c'est-à-dire en cours de chimiothérapie néoadjuvante, lors des consultations de surveillance ou au moment de la chimiothérapie dans le cadre d'une récurrence métastatique.

Une fois le consentement signé, les patientes donnaient leur accord pour un prélèvement de sang total de 5ml dans un tube EDTA, étiqueté puis conservé dans un réfrigérateur à l'Unité Intégrée de Recherche Clinique dans un récipient dédié. Une fiche de traçabilité sérothèque était établie pour chacun des prélèvements. Tous les prélèvements d'une même journée étaient acheminés le jour même au Laboratoire d'Oncologie Moléculaire Humaine du Pr Peyrat (Lille), conservés à -80°C jusqu'à l'analyse de génotypage.

VI. Choix des SNP

La sélection des SNP à tester dans l'étude est essentielle. Le choix des SNP devait porter sur des variants génétiques susceptibles d'entraîner des modulations de réponse à la chimiothérapie utilisée dans le traitement néoadjuvant du cancer du sein (5FU, épiprubine, cyclophosphamide, docetaxel, trastuzumab).

A partir d'une analyse de la littérature, 53 SNPs décrits comme probables facteurs prédictifs de réponse à la chimiothérapie sont sélectionnés et testés. Ces SNP concernent des gènes impliqués dans le transport ou le métabolisme du médicament, la synthèse ou la réparation de l'ADN. Ils sont décrits dans la réponse à la chimiothérapie dans le cancer du sein, mais aussi dans d'autres types tumoraux tels que les cancers colorectaux, gastriques ou pulmonaires.

Parmi les 53 SNPs testés, 4 sondes n'ont pas fonctionné (pour les SNP rs1801274, rs1042858, rs1570360) et pour 3 autres SNP, les sondes ont été invalidées (rs 2333227, rs3746083, rs7439366).

Nous disposons donc des résultats pour 46 SNP (Tableau 3). Dans notre population, les résultats montrent l'existence d'un aspect monomorphique pour 3 de ces SNP (en italique dans le tableau 3): HTR1E rs3828741 (CC), MDR1 rs2229109 (GG) et PARP1 rs1136471 (AA), rendant leur analyse impossible.

Au total, 43 SNP sont étudiés, avec une association entre pCR et SNP évaluable pour 114 patientes.

Tableau 3. Description des 46 SNP testés.

Gène	SNP	Voie d'action	Polymorphisme	Chimiothérapie	Bibliographie
ABCC4	rs9561778	Transport	NC	Cyclophosphamide	Low et al, 2009
BRCA1	rs799917	Réparation de l'ADN	Prp871Leu	Paclitaxel	Lee et al, 2013
CCND1	rs9344	Cycle Cellulaire	Pro241Pro	5FU	Absenger et al, 2013
CD24	rs52812045	Adhésion cellulaire	Ala57Val	Docetaxel, Anthracyclines	Marmé et al, 2012
CES2	rs11075646	Métabolisme	-823 C>G	Capecitabine, 5FU	Ribelles et al, 2008
CYP1B1	rs1056836	Métabolisme	Val432Leu	Paclitaxel	Marsh et al, 2007
CYP2B6*4	rs2279343	Métabolisme	Lys262Arg	Cyclophosphamide	Bray et al, 2010
CYP2B6	rs2279345	Métabolisme	18492 T>C	Cyclophosphamide	Nakajima et al, 2007

CYP2B6*9	rs3745274	Métabolisme	Gln172His	Cyclophosphamide	Bray et al, 2010
CYP2B6	rs4802101	Métabolisme	-750 T>C	Cyclophosphamide	Nakajima et al, 2007
CYP2B6	rs4803419	Métabolisme	15582 C>T	Cyclophosphamide	Nakajima et al, 2007
CYP2B6	rs7254579	Métabolisme	-2320 T>C	Cyclophosphamide	Nakajima et al, 2007
CYP2B6*2	rs8192709	Métabolisme	Arg22Cys	Cyclophosphamide	Bray et al, 2010
CYP2B6*8	rs12721655	Métabolisme	Lys139Glu	Cyclophosphamide	Bray et al, 2010
CYP2D6*4	rs3892097	Métabolisme	G>A	Cyclophosphamide	Gor et al, 2010
CYP3A4*1 B	rs2740574	Métabolisme	NC	Cyclophosphamide	Gor et al, 2010
DNASE2B	rs3738573	Immunité	Gln3His	Docetaxel	Ha et al, 2011
DPD	rs2297595	Synthèse de l'ADN	Met166Val	5FU	Gross et al, 2008
ERCC1	rs11615	Réparation de l'ADN	Asn118Asn	Docetaxel	Isla et al, 2004
FCGR3A	rs11557632	Immunité	Val158Phe	Trastuzumab	Musolino et al, 2008
FGFR4	rs351855	RTK	Gly388Arg	Cyclophosphamide 5FU	Thussbas et al, 2006
GSTP1	rs1695	Métabolisme	Ile105Val	Epirubicine, Doxorubicine, Cyclophosphamide	Yao et al, 2010 Tulsyan et al, 2013
HER2	rs1136201	RTK	Ile655Val	Trastuzumab	Beauclair et al, 2007
HTR1E	rs3828741	Métabolisme	Ala208Thr	Paclitaxel	Ha et al, 2011
IL6	rs1800795	Immunité	-174 G>C	Cyclophosphamide	DeMichele et al, 2009
IL6	rs1800797	Immunité	-597 G>A	Cyclophosphamide	DeMichele et al, 2009
MDR1	rs1045642	Transport	Ile1145Ile C3435T	Anthracyclines	Cizmarikova et al, 2010
MDR1	rs2032582	Transport	Ala893Thr G2677T	Docetaxel	Chew et al, 2011
MDR1	rs2229109	Transport	Ser400Asn	Doxorubicine	Woodahl et al,

			<i>G1199A</i>	<i>Paclitaxel</i>	2009
MTHFR	rs1801131	Métabolisme / synthèse de l'ADN	Glu429Ala A1298C	Anthracyclines	Zarate et al, 2007
MTHFR	rs1801133	Métabolisme / synthèse de l'ADN	Ala222Val	Cyclophosphamide, 5FU	Henriquez- Hernandez et al, 2010
NOS3	rs1799983	Métabolisme	Glu298Asp	Cyclophosphamide	Choi et al, 2009
NOS3	rs2070744	Métabolisme	-786 T>C	Cyclophosphamide	Choi et al, 2009
NQO1	rs1800566	Métabolisme	Pro149Ser	Anthracyclines	Fagerholm et al, 2008
NQO2	rs1143684	Métabolisme	Leu47Phe	Doxorubicine	Jamieson et al, 2011
p53	rs1042522	Réparation de l'ADN	Arg72Pro	Anthracyclines	Xu et al, 2005
<i>PARP1</i>	<i>rs1136471</i>	<i>Réparation de l'ADN</i>	<i>Lys940Arg</i>	<i>Paclitaxel</i>	<i>Shiraishi et al, 2010</i>
SHMT1	rs1979277	Synthèse de l'ADN	C1420T	5FU, Bevacizumab	Budai et al, 2012
SLCO1B3	rs11045585	Transport	-567 A>G	Docetaxel	Chew et al, 2011
SOD2	rs4880	Métabolisme	Val16Ala	Cyclophosphamide	Glynn et al, 2009
VEGFA	rs699947	RTK	-2578 C>A	Bevacizumab	Schneider et al, 2008
VEGFA	rs833061	RTK	-1498 C>T	Bevacizumab	Loupakis et al, 2011
VEGFA	rs2010963	RTK	-634 G>C	Bevacizumab	Etienne-Grimaldi et al, 2011
VEGFA	rs3025039	RTK	-936 C>T	Bevacizumab	Etienne-Grimaldi et al, 2011
XPC	rs228001	Réparation de l'ADN	Lys939Gln A>C	Anthracyclines	Yang et al, 2012
XRCC1	rs25487	Réparation de l'ADN	Gln399Arg	Anthracyclines Cyclophosphamide 5FU	Jaremko et al, 2007

VII. Analyse génétique

A. Extraction d'ADN

L'ADN génomique est extrait à partir d'un échantillon de sang total (300µl), contenu dans un tube EDTA. L'extraction est réalisée à l'aide de billes magnétiques avec le système MagNA Pure Compact (Roche diagnostics, Meylan, France) et le *MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit* conformément aux recommandations du fournisseur. La quantité et la qualité de l'ADN extrait est ensuite déterminée par spectrophotométrie, et est ensuite conservé à 4°C.

B. Génotypage

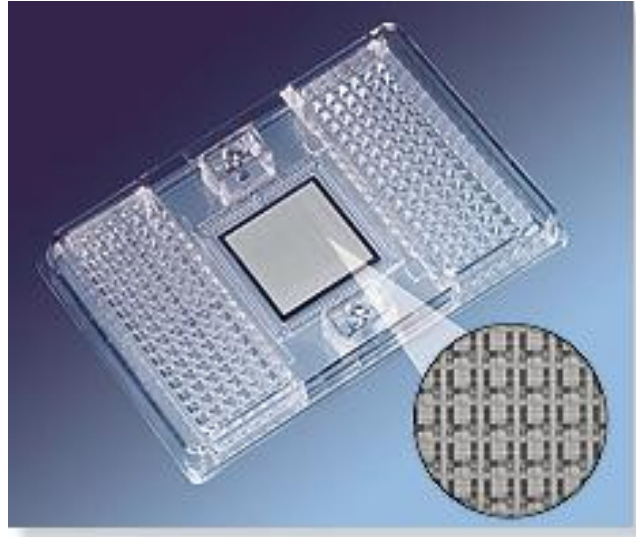
La technologie retenue pour le génotypage des SNP est le Système BioMark (société Fluidigm). Cet appareil utilise la technique de la PCR en temps réel et le principe de la discrimination allélique. On utilise pour cela un couple de 2 sondes, chacune des sondes étant spécifique d'un allèle (l'une de l'allèle sauvage, l'autre de l'allèle muté) et couplée à un fluorophore différent. Au cours des cycles de PCR, l'allèle en présence est amplifié, les amplicons générés sont détectés tout au long de la réaction par mesure de la fluorescence émise.

La quantité d'ADN disponible étant inférieure à celle recommandée par le fournisseur (30ng), une étape de pré-amplification a été réalisée pour enrichir les séquences SNP ciblées. Lors de l'étude, deux types de sondes ont été utilisées : SNPTyping (Fluidigm) et TaqMan (Life Technologies).

Les puces Dynamic Array™ au format 48.48 utilisées sont des microcircuits intégrés de Fluidique (IFC) permettant d'analyser 48 SNP et 48 échantillons (Fig 3). Après avoir réparti les sondes et les échantillons d'ADN, la puce est insérée dans le contrôleur IFC Nanoflex MX qui assure le mélange des échantillons et des sondes dans des chambres réactionnelles individuelles. Au total, 2304 réactions sont générées sur ce support. La puce est ensuite introduite dans l'appareil BioMark pour

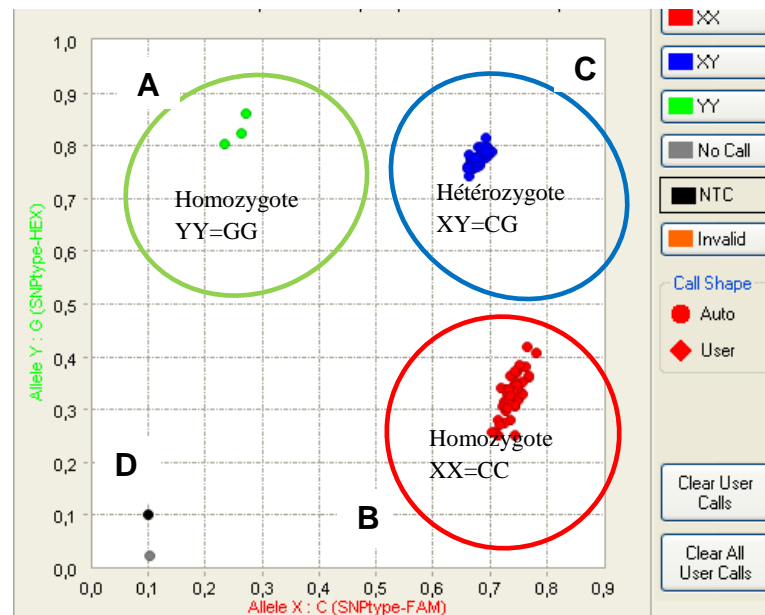
l'amplification. La fluorescence émise au cours des cycles est mesurée en temps réel.

Figure 3. Puce Dynamic Array™ 48.48



Les données sont ensuite analysées avec le logiciel BioMark SNP Genotyping Analysis version 3.1.2. Le logiciel calcule les intensités de fluorescence émises (FAM, VIC ou HEX) et classe les échantillons en trois génotypes distincts: homozygotes allèle 1 (XX) ou allèle 2 (YY), hétérozygotes allèle 1-allèle 2 (XY) (Fig 4). La fréquence de chaque génotype est ensuite déterminée dans la population. L'analyse statistique intervient après cette dernière étape.

Figure 4. Diagramme de fluorescence résultant de l'analyse d'un SNP dans la population. A. Homozygotes YY ; B. Homozygotes XX ; C. Hétérozygotes XY ; D. Contrôle NTC (no template control)



VIII. Analyse statistique

Les caractéristiques des patientes sont présentées avec les méthodes classiques de la statistique descriptive : fréquences et pourcentages pour les variables catégorielles ; médianes, valeurs extrêmes, moyennes et écart-type pour les variables continues. L'association entre la pCR et les caractéristiques cliniques et histopathologiques est évaluée à l'aide d'un test du Chi-2 pour les variables qualitatives ou du test exact de Fisher dans le cas de petits effectifs. Pour les variables continues, la relation avec la pCR est analysée à l'aide du test de Wilcoxon Mann-Whitney. Le seuil de significativité choisi est $p = 0.05$.

Après s'être assuré que l'équilibre de Hardy-Weinberg était respecté, la corrélation entre SNP et pCR est analysée à l'aide de régression logistique univariée (R SNPassoc package). Pour chaque SNP, l'analyse a été réalisée en considérant les 3 génotypes, séparément ou combinés entre eux, de façon à comparer chaque génotype homozygote ou hétérozygote au reste de la population. Cette analyse a été

renouvelée dans les sous-populations RE+ et RE-. Prenant l'exemple d'un SNP de génotype AA / AC / CC, l'association entre la pCR et les SNP est étudiée en modèle univarié selon l'analyse :

- parmi les 3 groupes AA vs AC vs CC
- parmi les 2 groupes AA vs (AC + CC)
- parmi les 2 groupes AC vs (AA + CC)
- parmi les 2 groupes CC vs (AA + AC)

Pour chaque « génotype X » *versus* « génotype Y », il s'agit de l'OR associé à X en prenant comme référence Y. Par exemple pour XY vs XX-YY, l'OR = Z correspond au risque de pCR associé au génotype XY par rapport aux XX-YY. L'OR < 1 signifie que les XY ont un risque de pCR moins élevé que les XX-YY.

Les SNP associés significativement à la pCR en analyse univariée dans la population globale ont été inclus dans une analyse de régression logistique multivariée avec procédure de sélection des variables descendantes basée sur l'AIC (Akaike Information Criterion). L'analyse a été réalisée par bootstrap sur 1000 rééchantillonnages en notant pour chaque échantillon les variables sélectionnées ; seules les variables retenues dans plus de 80% des cas ont été retenues dans le modèle final.

Le seuil de significativité est fixé à 5%. Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Stata v11.2 (StataCorp. 2009. Stata Statistical Software: Release 11. College Station, TX) et R v2.15.2 (R Core Team (2012)).

La survie globale et la survie sans récurrence sont estimées par la méthode de Kaplan-Meier en tenant compte des délais depuis la date de chirurgie. La survie globale est calculée en considérant le temps jusqu'au décès quelle qu'en soit la cause, les patients en vie sont censurés à la date des dernières nouvelles. La survie sans récurrence est calculée en considérant le temps jusqu'à la récurrence ou jusqu'au décès par cancer, les patients vivants sans récurrence sont censurés à la date des dernières nouvelles. La survie globale et la survie sans récurrence sont comparées parmi les groupes à l'aide du test du Logrank.

RESULTATS

Entre novembre 2007 et janvier 2012, 191 patientes traitées ou ayant été traitées par chimiothérapie néoadjuvante ont été incluses dans l'étude (Fig 5).

I. Population globale

Sur l'ensemble des patientes incluses en situation néoadjuvante (N = 191), 118 ont reçu une chimiothérapie associant FEC100 et Docétaxel (Taxotère®) (61.8%), 46 une association de FEC100, Docétaxel et Trastuzumab (Herceptin®) (24%) et 16 patientes ont été traitées par FEC100 (8.4%).

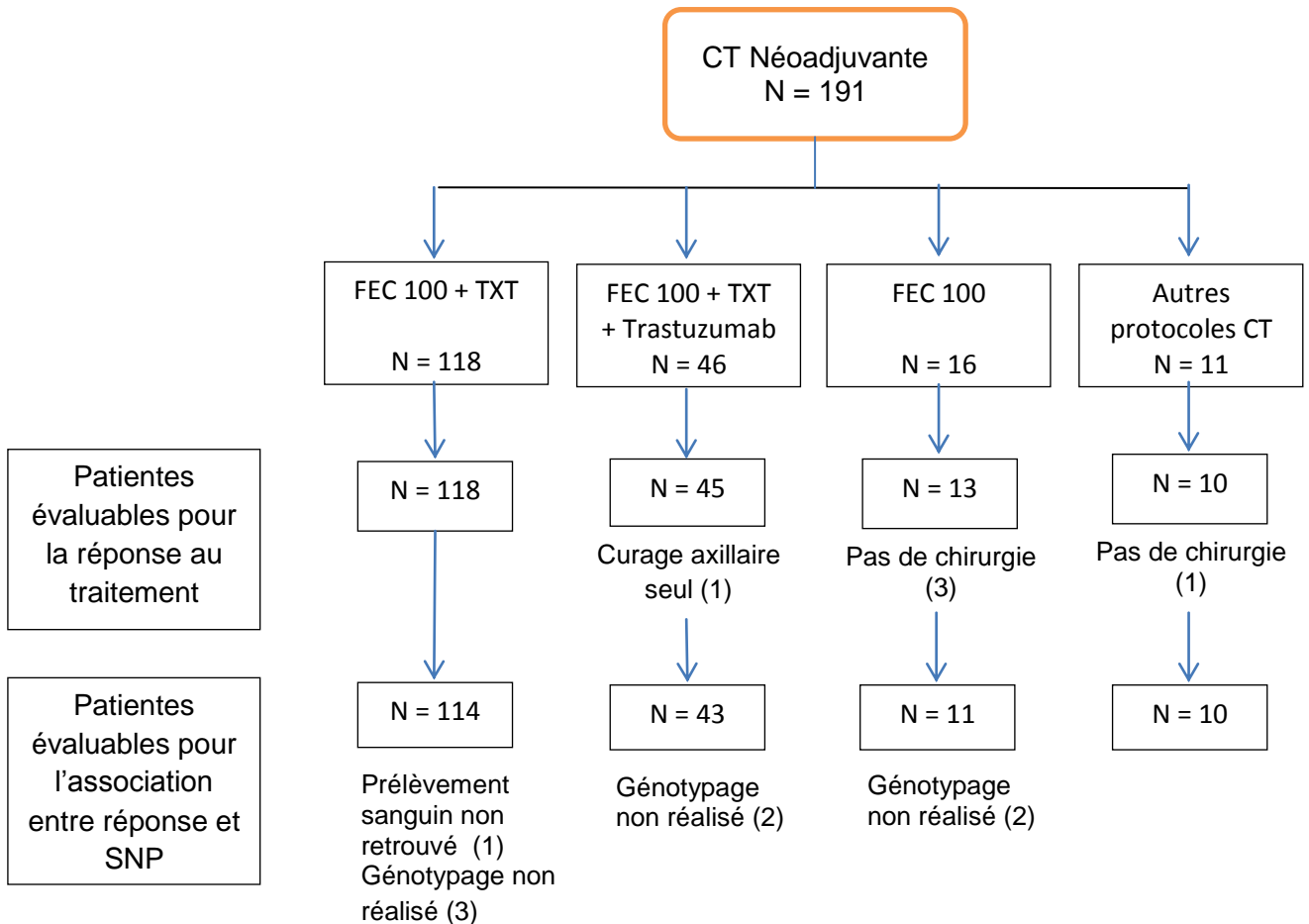
Pour 11 d'entre elles (5.8%), le traitement se composait d'une chimiothérapie alternative : FEC50 (2 patientes), FEC60 (1 patiente), FEC75 (1 patient), FEC100 et FEC50 (1 patiente), FEC75 Docétaxel et Trastuzumab (1 patiente), FEC100, Docétaxel, Paclitaxel (Taxol®) et Trastuzumab (1 patiente), Docétaxel et Trastuzumab (1 patiente).

Parmi les 191 patientes incluses, 4 n'ont pas été opérées après le traitement néoadjuvant : 3 en raison d'une réponse complète clinique et échographique après CT par FEC100, 1 patiente par refus de chirurgie (classée dans les autres protocoles de chimiothérapie).

L'analyse génomique n'a pu être effectuée pour une patiente car son prélèvement sanguin a été égaré (traitée par FEC100 + Docétaxel). 6 patientes (1 FEC100, 3 FEC100-Docétaxel, 1 FEC100-Docétaxel-Trastuzumab), initialement classées en situation métastatique, ont été classées après vérification des dossiers en situation néoadjuvante mais le génotypage était alors terminé. Le coût de la

technique ne permettant pas sa réalisation pour un petit nombre de patient, le génotypage n'a donc pas été réalisé (Fig 5).

Figure 5. Consort de l'étude. (TXT = Docétaxel ; CT = chimiothérapie)



Les résultats de ce travail concernent les patientes ayant reçu l'association de chimiothérapie FEC100 et Docétaxel (118 patientes) et celles atteintes d'une tumeur surexprimant Her2 traitées par FEC100, Docétaxel et Trastuzumab (46 patientes). Les autres groupes de patientes, traités par différents protocoles (FEC100 seul et autres protocoles de chimiothérapie), représentent de trop faibles effectifs pour obtenir des résultats statistiquement satisfaisants. Ils n'ont donc pas été pris en compte dans les résultats exposés ici.

Dans la suite de mon travail, je présenterai les résultats des différentes populations : population globale (traitée par FEC100 et Docétaxel), se divisant en

sous populations RE+ (73 patientes) et RE- (45 patientes), et la population surexprimant Her2 (traitée par FEC100, Docétaxel, Trastuzumab).

II. Patientes traitées par FEC 100 + Docétaxel

118 patientes ont été traitées par anthracyclines suivies de taxanes, avec un délai médian entre le diagnostic et l'inclusion de 3.2 mois (0 – 7.8ans). Les caractéristiques cliniques et histologiques de la tumeur initiale déterminées sur la biopsie sont regroupées dans le tableau 7. Le nombre de cures s'échelonne entre 4 et 8 cures (médiane de 6 cures). Pour une majorité des patientes (82.2%), la chimiothérapie était composée de 3 FEC100 puis 3 Docétaxel (tableau 4).

Tableau 4. Nombre de cures et type de NCT, patientes Her2 négatives.

Nombre de cycles de CT (FEC100-TXT)	N = 118
médiane (rang)	6 (4-8)
n (%)	
< 6 cycles	6 (5,1)
> 6 cycles	12 (10,2)
6 cycles	97 (84,7)
Type de CT	
3 FEC 100 + 3 TXT	97 (82,2)
4 FEC 100 + 4 TXT	9 (7,6)
3 FEC 100 + 2 TXT	5 (4,2)
Autres	7 (6,0)

*Autres :

4 FEC 100 + 2 TXT (2 patientes) ;

3 FEC 100 + 1 TXT (1) ;

3 FEC 100 + 4 TXT (1) ;

4 FEC 100 + 3 TXT (1) ;

5 FEC 100 + 1 TXT (1) ;

5 FEC 100 + 3 TXT (1)

A. Chirurgie après traitement néoadjuvant

Le délai médian entre la dernière cure de chimiothérapie et la prise en charge chirurgicale a été de 34 jours (de 16 jours à 4 mois). Pour 63 patientes (53.4%), une mastectomie partielle a été effectuée, associée à la technique du ganglion sentinelle pour 7 patientes (5.9%) et à un curage axillaire chez 56 patientes (47.4%). Une mastectomie totale a été réalisée chez 55 patientes (46.6%), associée à la technique du ganglion sentinelle chez 1 patiente (0.9%) et à un curage axillaire chez 54 patientes (45.7%).

B. Réponse au traitement

Après la chimiothérapie néoadjuvante, le bilan de réévaluation clinique et échographique retrouve un taux de réponse complète globale (clinique et échographique) de 9.3% (IC95% 4.7 – 16.1). Le taux de réponse (complète et partielle) est de 61.9% (IC95% 52.5 – 70.6) (Tableau 5).

Tableau 5. Réponses à la NCT, patientes sans surexpression Her2 (N=118)
(CT : chimiothérapie, RC : réponse complète, RP : réponse partielle)

Réponse à la CT Néo-adjuvante	Réponse clinique	Réponse échographique	Réponse globale
RC	33 (28%)	13 (11%)	11 (9,3%)
RP	57 (48,3%)	60 (50,9%)	62 (52,5%)
Non réponse	-	-	-
Stable	18 (15,3%)	16 (13,6%)	15 (12,7%)
Progression	2 (1,7%)	1 (0,9%)	2 (1,7%)
Non évaluable	8 (6,8%)	28 (23,7%)	28 (23,7%)

Au niveau histologique, **25 patientes sur 118 présentent une réponse histologique complète selon Sataloff (21.2% ; IC95% (14.2-29.7))**, 10 patientes (8.5% ; IC95% (4.1-15)) présentent une absence de réponse histologique au niveau

tumoral (Sataloff TD) et 7 patientes ne présentent aucune réponse ni au niveau de la tumeur, ni au niveau ganglionnaire (TD-ND) (5.9% ; IC95% (2.4 – 11.8)) (Tableau 6).

Tableau 6. Réponse tumorale selon Sataloff, tumeurs HER2-.

Effet thérapeutique selon Sataloff	Ganglions axillaires				
	A	B	C	D	Total
Tumeur primaire mammaire					
A	<u>13</u>	<u>12</u>	7	2	34
B	3	13	18	3	37
C	1	10	17	9	37
D	0	2	1	<u>7</u>	10
Total	17	37	43	21	118

C. Suivi des patientes

Parmi les 118 patientes, 44 ont présenté une progression tumorale (37.3%), 12 patientes sont décédées (10.2%) et 3 ont été perdues de vue (2.5%).

Les types de progression sont divers. On relève 30 patientes (25.4%) présentant des métastases à distance dont les sites les plus fréquents étaient au niveau osseux (15.3%), pulmonaire (9.3%) et hépatique (8.5%). 15 patientes ont présenté une récurrence locale (12.7%), 7 une contralatéralisation (5.9%), 4 une récurrence ganglionnaire (3.4%).

D. Association entre caractéristiques tumorales et réponse au traitement

L'association entre les caractéristiques clinico-histologiques et la pCR est calculée à l'aide du test de Chi2 et les résultats sont présentés dans le tableau 7.

Cette première analyse retrouve une **association significative entre la pCR et le grade tumoral élevé ainsi qu'avec la négativité des récepteurs hormonaux.**

En effet, on observe que la pCR est associée de façon significative au grade SBR élevé (égal à 3) avec 14.8% de pCR chez les tumeurs SBR I / II et 37.2% chez les tumeurs de grade SBR III ($p = 0.009$).

Le statut des récepteurs hormonaux négatifs est également retrouvé associé de façon significative (33.3% de pCR dans le groupe RH-, contre 15.6% en cas de RH+, $p = 0.003$).

Dans notre population, 77 tumeurs ont des récepteurs hormonaux positifs (66.4%), dont 54 tumeurs RE+RP+ (46.6%) et 19 RE+RP- (16.4%). Le reste des tumeurs RH positives se compose de 3 tumeurs RE négatifs et RP positifs, et d'une tumeur RE positifs avec un statut RP non connu.

Dans la population de 118 patientes traitées par FEC100 + Docétaxel, les statuts RE, RP et HER2 sont connus pour 107 d'entre elles. Parmi celles-ci, 32 sont porteuses de tumeurs triple négatives (RE<10%, RP<10%, Her2 négative), soit 29.9% d'entre elles. La fréquence de ce type de tumeur est supérieure aux taux connus dans une population de cancer du sein (15%), s'expliquant par le fait d'une sélection de tumeurs plus sensibles et nécessitant une chimiothérapie néoadjuvante. L'association entre la réponse histologique complète et les tumeurs triple négatives est significative avec 13 TN sur 32 en pCR contre 12 sur 75, $p = 0.006$. Cependant, dans le groupe de tumeurs associant RE 0%, RP 0%, et un score en IHC de HER2 égal à 0, l'association n'est pas significative ($p = 0.053$) mais on retrouve 7 tumeurs TN sur 16 en pCR contre 18 sur 91 dans le reste de la population. Ce résultat tend à se rapprocher d'une significativité et le faible nombre de tumeurs RE 0% RP0% Her2 0 semble l'expliquer.

De la même façon, nous ne retrouvons pas d'association significative entre Ki67 et la pCR dans notre population, malgré la valeur prédictive de réponse à la

chimiothérapie néoadjuvante du Ki67. Cependant, ce résultat négatif peut être rapporté à un manque de puissance du fait du faible effectif de ce sous-groupe (N = 48). Il serait intéressant de réévaluer ce paramètre dans une population possédant un taux de Ki67 connu supérieur.

En revanche, l'âge des patientes au diagnostic, la taille tumorale, l'envahissement ganglionnaire, la différenciation tumorale, le statut des récepteurs à la progestérone ne sont pas associés de façon significative à la pCR.

Dans cette population de patientes n'ayant pas reçu de traitement par trastuzumab, on remarque que 5 patientes présentent une surexpression Her2. Ces 5 patientes, malgré leur statut Her2, restent classées dans ce groupe car aucune n'a reçu de traitement par thérapie ciblée en situation néoadjuvante : 1 patiente a reçu son traitement néoadjuvant en 2004 quand l'utilisation du Trastuzumab n'a débutée qu'à partir de 2005 ; 1 patiente pour laquelle le statut Her2 n'a été obtenu qu'en fin de chimiothérapie néoadjuvante, il lui a donc été administré en adjuvant ; 1 patiente pour laquelle la CISH réalisée devant un statut Her2 positif s'est révélée négative ; 1 patiente pour laquelle la CISH était négative sur les biopsies initiales ; 1 patiente ayant présenté en cours de CT néoadjuvante une probable myocardite faisant contre indiquer la suite du traitement de chimiothérapie (cette patiente n'a reçu que 4 cures de chimiothérapie en néoadjuvant, et après normalisation de la fonction cardiaque, a reçu le trastuzumab en adjuvant).

Tableau 7. Corrélation entre pCR et caractéristiques clinico-pathologiques chez les patients en fonction du statut des récepteurs hormonaux.

Caractéristiques tumorales (Biopsie avant CT)	N (%)	pCR, n (%)	pCR (p)
Age au diagnostic (N = 118)	NS		
médiane (étendue)	46.5 (25-72)	46 (25-67)	
≤ 40 ans	34 (28,8)	10 (29,4)	
> 40 ans	84 (71,2)	15 (17,9)	
Taille tumorale (mm) (N=116)	30 (10-120)	29 (10-80)	NS
Classification TNM (N=116)	NS		
T, n (%)	NS		
T0 – T1	5 (4,3)	1 (20)	
T2	60 (50,8)	16 (26,7)	
T3	24 (20,3)	3 (12,5)	
T4	27 (22,9)	4 (14,8)	
TX	2 (1,7)	0	
N, n (%)	NS		
N0	53 (44,9)	12 (22,6)	
N1	59 (50,0)	12 (20,3)	
N2	3 (2,5)	0	
N3	1 (0,8)	0	
Différenciation (N = 97)	NS		
Bonne ou moyenne	26 (26,8)	3 (11,5)	
faible ou indifférenciée	71 (73,2)	18 (25,4)	
Histologie (N=118)	NS		
Carcinome canalaire infiltrant	106 (89,9)	22 (20,8)	
Carcinome lobulaire infiltrant	7 (5,9)	1 (14,3)	
autres	5 (4,2)	2 (40)	
Classification SBR (N=104)	P = 0,009		
SBRI	7 (6,7)	9 (14,8)	
SBRII	54 (51,9)		
SBRIII	43 (41,3)	16 (37,2)	
Récepteurs Hormonaux (N=116)	P = 0,003		
RH -	39 (33,6)	13 (33,3)	P = 0,003
RH +	77 (66,5)	12 (15,6)	
RE+ RP+	54 (46,6)	8 (14,8)	NS
RE+ RP-	19 (16,4)	2 (10,5)	
RP +	57 (49,6)	12 (15,6)	NS
RP -	58 (50,4)	13 (33,3)	
HER2 Status (N=107)	NS		
HER2 sureprimé	5 (4,7)	1 (20)	
HER2 non surexprimé	102 (95,3)	24 (23,5)	
Triple Négative (N=107)	P = 0,006		
oui	32 (29,9)	13 (40,6)	
non	75 (71)	12 (16)	
KI67 (N=48)	NS		
<15%	6 (12,5)	0	
>15%	42 (87,5)	12 (28,6)	
Emboles péritumoraux (N=115)	NS		
Oui	4 (3,5)	0	
Non	111 (96,5)	25 (22,5)	

* Autres histologies:

Adénocarcinome apocrine et micro papillaire

Adénocarcinome infiltrant à composante mucineuse

Cancer apocrine infiltrant

Carcinome métaplasique

Carcinome papillaire infiltrant

En analysant la réponse histologique dans la population globale traitée par FEC100 + Docétaxel, **25 patientes sur 118 ont une pCR selon Sataloff (21.2%, IC95 (14.2-29.7))**, soit 25 patientes sur 114 ayant eu un génotypage.

1. **Modèle univarié**

Dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel, la pCR est associée significativement au génotype de 4 SNP (Tableau 8) :

- **BRCA1 – rs799917** : au moins un allèle T (OR = 3.15, IC95 (1.04-9.2))
- **CYP1B1 – rs1056836** : patientes homozygotes CC ou GG (pCR = 29% pour CC-GG vs 11.1% pour CG, p=0.02 ; OR (CG vs CC-GG) = 0.31 (0.11-0.89))
- **ERCC1 – rs11615** : au moins un allèle C (OR = 3.63 ; IC95 (1.15-11.5)), avec une réponse diminuée chez les patients homozygotes TT (pCR = 10% vs 28.8% pour CT-CC, p=0.016)
- **SLCO1B3 – rs11045585** : au moins un allèle G (OR = 2.77, IC95 (1.10-6.7))

Tableau 8. Association SNP et pCR dans la population globale

	SNP	Genotype	N	pCR, N (%)	Groupe	p	OR (IC95%)
FEC100 + TXT N = 118 pCR = 25/118 (21,2%)	BRCA1 - RS799917	CC	44	5 (11,4)	CC vs CT vs TT	0,08	1
		CT	52	15 (28,8)			3,16 (1,04-9,6)
		TT	14	4 (28,6)			3,12 (0,71-13,8)
		CT-TT	66	19 (28,8)	CT-TT vs CC	0,025	3,15 (1,08-9,2)
		CC-CT	96	20 (20,8)	TT vs CT-CC	0,52	1,52 (0,43-5,4)
		CC-TT	58	9 (15,5)	CT vs CC-TT	0,09	2,21 (0,87-5,6)
	CYP1B1 - rs1056836	CC	48	14 (29,2)	CC vs CG vs GG	0,06	1
		CG	45	5 (11,1)			0,30 (0,10-0,93)
		GG	21	6 (28,6)			0,97 (0,21-3,02)
		CG-GG	66	11 (16,7)	CG-GG vs CC	0,11	0,49 (0,2-1,19)
		CC-CG	93	19 (20,4)	GG vs CG-CC	0,42	1,56 (0,53-4,6)
		CC-GG	69	20 (29)	CG vs CC-GG	0,02	0,31 (0,11-0,89)
	ERCC1 – rs 11615	TT	40	4 (10)	TT vs CT vs CC	0,036	1
		CT	50	16 (32)			4,24 (1,29-13,9)
		CC	23	5 (21,7)			2,5 (0,6-10,5)
		CT-CC	73	21 (28,8)	CT-CC vs TT	0,016	3,63 (1,15-11,5)
		TT-CT	90	20 (22,2)	CC vs CT-TT	0,96	0,97 (0,32-2,95)
		CC-TT	9	9 (14,3)	CT vs TT-CC	0,024	2,82 (1,12-7,1)
	SLCO1B3 - RS11045585	AA	79	13 (16,5)	AA vs AG vs GG	-	1
		AG	32	11 (34,4)			2,66 (1,04-6,8)
GG		2	1 (50)	5,08 (,03-86,5)			
AG-GG		34	12 (35,3)	AG-GG vs AA	0,031	2,77 (1,10-6,7)	
AA-GG		81	14 (17,3)	AG vs AA-GG	0,055	2,51 (0,99-6,4)	

2. Modèle multivarié

Les 4 SNP associés à la pCR de manière significative en analyse univariée dans la population traitée par FEC100-Docétaxel sont inclus dans une analyse de régression logistique multivariée. A partir du modèle prenant en compte BRCA1, CYP1B1, ERCC1 et SLCO1B3, des procédures de sélections sont appliquées afin d'identifier les SNP les plus fortement associés à la pCR. La régression logistique avec procédure descendante basée sur l'AIC retient le modèle incluant ERCC1 et CYP1B1 avec une sélection dans respectivement 80.8% et 81% des échantillonnages (contre 69.2% pour BRCA1 et 72.3% pour SLCO1B3).

Le tableau suivant présente les différentes combinaisons possibles de ces génotypes (Tableau 9). **La combinaison des génotypes CC de CYP1B1 et CT de ERCC1** apparaît comme étant fortement associée à la pCR (OR = 8.5 (1.6-46),

p=0.013) avec un taux de pCR de 50% chez les patientes porteuses de ces génotypes tandis que le taux de PCR est de 21,2% dans l'ensemble de la population.

Tableau 9. Association pCR et combinaisons des polymorphismes de ERCC1 et CYP1B1

CYP1B1 rs2279343	ERCC1 rs 11615	N	pCR, n (%)	OR (IC95%)	IC95%	p
CC	TT	19	2 (10,5)	1	-	-
CC	CT	22	11 (50)	8,5	(1,6-46)	0,013
CC	CC	6	1 (16,7)	1,7	(0,13-23)	0,69
CG	TT	15	1 (6,7)	0,61	(0,05-7,4)	0,7
CG	CT	20	2 (10)	0,94	(0,12-7,5)	0,96
CG	CC	10	2 (20)	2,1	(0,25-18)	0,49
GG	TT	6	1 (16,7)	1,7	(0,13-23)	0,69
GG	CT	8	3 (37,5)	5,1	(0,66-39)	0,12
GG	CC	7	2 (28,6)	3,4	(0,38-31)	0,28

E. Association SNP et réponse au traitement : population RE+

Parmi les **patientes traitées par FEC100 + Docétaxel**, porteuses d'une tumeur sans surexpression Her2 avec récepteurs aux œstrogènes positifs, **10 sur 74 ont une pCR après le traitement néoadjuvant (13.5%, IC95% 6.7-23.4%)**, soit 10 sur 71 patientes génotypées.

On obtient alors les résultats représentant les associations entre la pCR et les SNP dans la population RE+ (Tableau 10) et la population RE- (Tableau 11).

Tableau 10. Association SNP et pCR dans la population RE+

	SNPs	Genotype	N	pCR (%)	Groupe	p	OR (CI95%)
ER + N = 71 pCR = 10/74 (13,5%)	SNP						
	ERCC1 - rs11615	TT	22	1 (4,5%)	TT vs CT vs CC	0,055	1
		<u>CT</u>	32	8 (25%)			7 (0,81-60,7)
		CC	16	1 (6,3%)			1,4 (0,08-24,2)
		CC-TT	38	2 (5,3%)	CT vs TT-CC	0,016	6,0 (1,17-30,7)
		CC-CT	48	9 (18,8%)	CT-CC vs TT	0,08	4,85 (0,57-40,9)
		CT-TT	54	9 (16,7%)	CC vs CT-TT	0,25	0,33 (0,04-2,85)
	BRCA1 - rs799917	CC	26	0	CC vs CT vs TT	0,014	1
		CT	35	7 (20%)			-
		TT	7	2 (28,6%)			-
		<u>CT-TT</u>	42	9 (21,4%)	CT-TT vs CC	0,01	-
		CC-CT	61	7 (11,5%)	TT vs CT-CC	0,25	3,09 (0,5-19)
		CC-TT	33	2 (6,1%)	CT vs TT-CC	0,08	3,87 (0,74-20,2)
	CYP1B1 - rs1056836	CC	35	9 (25,7%)	CC vs CG vs GG	0,009	1
		CG	26	0			-
		GG	10	1 (10%)			0,32 (0,04-2,9)
		<u>CC-GG</u>	45	10 (22,2%)	CG vs CC-GG	0,01	-
		CC-CG	61	9 (14,8%)	GG vs CG-CC	0,68	0,64 (0,07-5,7)
		CG-GG	36	1 (2,8%)	CG-GG vs CC	0,003	0,08 (0,01-0,69)
	SLCO1B3 - rs11045585	AA	49	4 (8,2%)	AA vs AG vs GG	-	1
		AG	19	5 (26,3%)			4,02 (0,95-17)
		GG	2	1 (50%)			11,2 (0,59-215)
		<u>AG-GG</u>	21	6 (28,6%)	AG-GG vs AA	0,032	4,5 (1,1-18,1)
		AA-GG	51	5 (9,8%)	AG vs AA-GG	0,094	3,29 (0,83-13,0)
		-					
	CYP2B6 - rs2279345	CC	36	3 (8,3%)	CC vs CT vs TT	0,046	1
		<u>CT</u>	25	7 (28%)			4,28 (0,98-18,6)
		TT	10	0			-
		CC-TT	46	3 (6,5%)	CT vs CC-TT	0,016	5,6 (1,3-24)
		CC-CT	61	10 (16,4%)	TT vs CT-CC	0,34	-
		CT-TT	35	7 (20%)	CT-TT vs CC	0,15	2,75 (0,65-11,6)
	CYP2D6 - rs3892097	<u>GG</u>	46	9 (19,6%)	GG vs AG vs AA	-	1
AG		24	1 (4,2%)	0,18 (0,02-1,5)			
AA		1	0	-			
AG-AA		25	1 (4%)	AG-AA vs GG	0,049	0,17 (0,02-1,44)	
AA-GG		47	9 (19,1%)	AG vs AA-GG	0,06	0,18 (0,02-1,54)	
SHMT1 - rs1979277	<u>GG</u>	37	9 (24,3%)	GG vs AG vs AA	0,043	1	
	AG	25	1 (4%)			0,13 (0,02-1,1)	
	AA	8	0			-	
	AG-AA	33	1 (3%)	GG vs AG-AA	0,006	10,3 (1,2-86)	
	GG-AG	62	10 (16,1%)	AA vs AG-GG	0,59	-	
	AA-GG	45	9 (20%)	AG vs AA-GG	0,046	0,17 (0,02-1,4)	

Ainsi, dans la population de patientes sans surexpression Her2 et avec des récepteurs aux œstrogènes positifs, 7 SNP sont associés significativement en analyse univariée à la pCR :

- **ERCC1 - rs11615** : patientes hétérozygotes CT (OR = 6 (1.17-30.7), p=0.016)
- **BRCA1 - rs799917** : au moins un allèle T (pCR = 21.4%, p=0.01)
- **CYP1B1 - rs1056836** : patientes homozygotes CC ou GG (pCR = 22.2%, p=0.01)
- **SLCO1B3 - rs11045585** : au moins un allèle G (pCR = 28.6%, p=0.032 ; OR = 4.5 (1.1-18.1))
- **CYP2B6 - rs2279345** : patientes hétérozygotes CT (OR = 5.6 (1.3-24), p=0.016)
- **CYP2D6 - rs3892097** : patientes homozygotes GG (pCR = 19.6%)
- **SHMT1 - rs1979277** : patientes homozygotes GG (OR = 10.3 (1.2-86), p=0.006)

En prenant l'exemple de BRCA1 – rs799917, gène impliqué dans la réparation de l'ADN, les polymorphismes se répartissent selon les proportions suivantes : 26 CC (36.6%), 35 CT (49.3%), 7 TT (9.8%), 3 manquants (4.3%). La pCR diffère significativement entre les trois groupes CC, CT et TT (0%, 20% et 28.6% ; p = 0.014), et cette différence est également significative dans le groupe CT-TT vs CC (21.4% ; p = 0.01). On observe donc qu'en présence d'au moins un allèle T, il semble y avoir une augmentation du nombre de pCR (20% chez les CT et 28.6% chez les TT contre 0% chez les CC), ce que confirme l'analyse combinée avec CT-TT 21.4% de pCR contre 11.5% et 6.1% dans les groupes CC-CT et CC-TT respectivement.

De même, pour ERCC1 – rs11615, qui présente une répartition de 22 pts TT, 32 pts CT et 16 pts CC, la première partie de l'analyse semble associer l'allèle CT avec la pCR (25%) contre 4.5% pour TT et 6.3% pour CC. La deuxième partie confirme l'association significative avec seulement 5.3% de pCR dans le groupe CC-TT (p = 0.016) contre 18.8% chez les CT-CC et 16.7% chez les TT-CT, soit un Odds Ratio de 6 (IC95% 1.17-30.7) pour CT.

F. Association SNP et réponse au traitement : population RE-

Parmi les patientes traitées par FEC100 + Docétaxel, porteuses de tumeur **sans surexpression Her2 ni présence de récepteurs hormonaux, 15 patientes sur 42 ont une pCR (35.7%, IC95% 21.6-52%),** soit 15 patientes sur 41 génotypées.

La pCR est retrouvée associée significativement au génotype de 4 SNP (Tableau 11) :

- **ERCC1 – rs11615** : au moins un allèle C (OR = 4.7 (1.06-20), p = 0.03)
- **CD24 – rs52812045** : patients homozygotes pour CC (OR = 4.4 (1.07-17.8), p=0.03)
- **CYP2B6 – rs2279343** : patients porteurs d'au moins un allèle G (OR = 3.8 (1.0-14), p=0.046)
- **GSTP1 – rs1695** : au moins un allèle G (OR = 4 (0.9-17), p=0.05). Ce résultat est à la limite de la significativité, avec p = 0.05 mais associé à un intervalle de confiance comprenant la valeur 1.

Tableau 11. Association SNP et pCR dans la population RE-

	SNPs	Genotype	N	pCR (%)		p	OR (CI95%)	
ER – N = 41 pCR = 15/42 (35,7%)	SNP							
	ERCC1 - rs11615	TT	17	3 (17,6%)	TT vs CT vs CC	0,08	1	
		CT	17	8 (47,1%)			4,15 (0,86-19,9)	
		CC	7	4 (57,1%)			6,2 (0,73-57,8)	
		CT-CC	24	12 (50%)	CT-CC vs TT		0,03	4,7 (1,06-20)
		TT-CT	34	11 (32,4%)	CC vs CT-TT		0,22	2,79 (0,53-14,7)
		CC-TT	24	7 (29,2%)	CT vs CC-TT		0,24	2,16 (0,59-7,9)
	CD24 - rs52812045	CC	16	9 (56,3%)	CC vs CT vs TT	0,1	1	
		CT	18	4 (22,2%)			0,22 (0,05-0,98)	
		TT	4	1 (25%)			0,26 (0,02-3,06)	
		CT-TT	20	5 (22,7%)	CC vs CT-TT		0,033	4,4 (1,07-17,8)
		CC-CT	34	13 (38,2%)	TT vs CT-CC		0,59	0,54 (0,05-5,7)
		CC-TT	20	10 (50%)	CT vs TT-CC		0,057	0,29 (0,07-1,18)
	CYP2B6 - rs2279343	AA	22	5 (22,7%)	AA vs AG vs GG	-	1	
		AG	18	9 (50%)			3,4 (0,87-13,2)	
		GG	1	1 (100%)			-	
		AG-GG	19	10 (52,6%)	AG-GG vs AA		0,046	3,8 (1,0-14)
		AA-GG	23	6 (26,1%)	AG vs AA-GG	0,11	2,83 (0,76-10,5)	
	GSTP1 - rs1695	AA	16	3 (18,8%)	AA vs AG vs GG	0,13	1	
		AG	20	9 (45%)			3,55 (0,76-16,4)	
		GG	5	3 (60%)			6,5 (0,73-57,8)	
		AG-GG	25	12 (48%)	AG-GG vs AA		0,05	4,0 (0,91-17)
		AA-AG	36	12 (33,3%)	GG vs AG-AA		0,26	3,0 (0,44-20,4)
		AA-GG	21	6 (28,6%)	AG vs AA-GG		0,27	2,05 (0,56-7,9)

III. Patientes traitées par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab

46 patientes porteuses de tumeurs surexprimant HER2 et ayant reçu un traitement par Trastuzumab associé à la chimiothérapie, sont incluses dans l'étude (46 sur 191 patientes, 24%). Tout comme pour le nombre élevé de tumeurs triple négatives, le fort taux de tumeurs surexprimant HER2 s'explique par une sélection de tumeurs plus sensibles à la chimiothérapie néoadjuvante.

L'âge médian au diagnostic est de 45.5 ans (29 – 68 ans), et le délai médian entre le diagnostic et l'inclusion est de 4 mois (0 – 4.6 ans). Les caractéristiques des patientes et des tumeurs sont regroupées dans le tableau 14.

Le traitement reçu par ces patientes se compose en majorité de 3 cures de FEC100, suivies de 3 cures de Docétaxel auxquelles est associé le trastuzumab (43 patientes, 93.4%). Les autres patientes ont reçu 4 FEC100 + 4 Docétaxel (2 patientes, 4.3%), 5 FEC100 + 3 Docétaxel (1 patiente, 2.2%). Après la chirurgie, le trastuzumab est poursuivi seul en adjuvant toutes les trois semaines, pour un total de 18 cures.

A. Réponse à la chimiothérapie néoadjuvante, tumeurs

HER2+++

L'évaluation clinique après traitement néoadjuvant retrouve 16 patientes en réponse complète clinique (34.8%), 8 en réponse complète échographique (17.4%). Le taux de réponse (complète et partielle) s'élève à 65.2% (IC95% 49.8-78.6) (Tableau 12).

Le traitement chirurgical après la chimiothérapie survient après un délai médian de 32 jours (17 à 58 jours). Il se compose en majorité de mastectomie partielle (24 patientes, 52.2%) associé à un curage axillaire dans 84.8% des cas. Des mastectomies totales ont été réalisées chez 21 patientes (45.7%) avec un curage axillaire pour 19 d'entre elles. La prise en charge ayant consisté pour une patiente en un curage axillaire sans geste mammaire associé, l'effet du traitement sur la tumeur n'a pu être évalué.

Tableau 12. Réponse à la CT néoadjuvante, population HER2+++ (N=46)
(CT : chimiothérapie, RC : réponse complète, RP : réponse partielle)

Réponse à la CT Néoadjuvante	Réponse clinique	Réponse échographique	Réponse globale	Réponse histologique
RC	16 (34,8%)	8 (17,4%)	7 (15,2%)	18 (39,1%)
RP	26 (56,5%)	22 (47,8%)	23 (50%)	16 (34,8%)
Non réponse	-	-	-	0
Stable	1 (2,2%)	2 (4,3%)	2 (4,3%)	-
Progression	0	0	0	-
Non évaluable	3 (6,5%)	14 (30,4%)	14 (30,4%)	1 (2,2%)

Parmi les 46 patientes, 45 ont eu une analyse histologique de la tumeur et des ganglions. **18 patientes sur 45 présentent une réponse histologique complète selon Sataloff (40%)**. Seulement deux d'entre elles ont une réponse classée TD, sans effet histologique au niveau de la tumeur, mais aucune n'est classée TD/ND (Tableau 13).

Tableau 13. Réponse tumorale selon Sataloff, tumeurs HER2+++

Effet thérapeutique selon Sataloff	Ganglions axillaires				
	A	B	C	D	Total
Tumeur primaire mammaire					
A	<u>13</u>	<u>5</u>	2	0	20
B	15	5	6	0	16
C	2	1	3	1	7
D	0	2	0	<u>0</u>	2
ND	1	-	-	-	1
Total	21	13	11	1	46

Au cours du suivi, 7 patientes ont présenté une progression (15.2%), dont 6 sont décédées (13%). Les sites métastatiques les plus fréquemment retrouvés sont

le foie (57.1%) et le poumon (42.9%). 3 patientes ont présenté une récurrence locale (6.5%), 1 patiente s'est vu découvrir une tumeur controlatérale.

B. Association entre les caractéristiques clinico-pathologiques et la réponse au traitement

Les tumeurs qui surexpriment Her2 incluses dans l'étude sont majoritairement les CCI (91.3%), de grade SBR 3 (50%) et la répartition entre récepteurs hormonaux positifs et négatifs est identique (50% - 50%). Pour la quasi-totalité des tumeurs dont la valeur est connue, le Ki67 est >15% (23 tumeurs versus 1).

La pCR est significativement associée au statut hormonal dans les tumeurs traitées par trastuzumab (Tableau 14). On retrouve une pCR pour 4 tumeurs RH+ sur 22 (18.2%) contre 14 sur 23 (61%) pour les tumeurs RH- ($p = 0.004$). A noter que toutes les patientes RH+ sont RE+, on ne compte aucune tumeur RE-RP+.

Cependant, une différence significative est notée entre les tumeurs RP+ et RP- avec 16 patientes porteuses de tumeurs RP- en pCR sur 30 (35.5%) contre 2 tumeurs RP- en pCR sur 15 (4.4%), $p=0.01$.

Tableau 14. Corrélation entre pCR et caractéristiques clinico-pathologiques chez les patientes surexprimant Her2.

Caractéristiques tumorales (Biopsie avant CT)	N (%)	pCR, n (%)	pCR (p)
Age au diagnostic (N = 118)	NS		
médiane (étendue)	53 (31-67)	45,5 (29-68)	
≤40 ans	14 (31,1)	4 (28,6)	
> 40 ans	31 (68,9)	14 (45,2)	
Taille tumorale (mm), médiane	30,5 (10-120)		ND
Classification TNM	NS		
T, n (%) (N = 43)	NS		
T1 - T2	22 (48,9)	7 (31,8)	
T3	11 (24)	6 (54,5)	
T4	10 (21,8)	5 (50)	
Tx	3 (6,5)	ND	
N, n (%) (N = 45)	NS		
N0	16 (35,5)	6 (37,5)	
N1	29 (64,5)	12 (41,4)	
N2 - N3	0 (0)	-	
Histologie (n=46)	NS		
CCI	44 (95,6)	ND	
CLI	1 (2,2)	ND	
autres	1 (2,2)	ND	
Grade SBR (n=40)	NS		
SBR I	1 (2,5)	7 (35)	
SBR II	19 (47,5)	8 (40)	
SBR III	20 (50)		
Statut RH (n=45)	NS		
RH -	23 (51,1%)	14 (60,9)	
RH +	22 (48,9%)	4 (18,2)	0,004
RE + : RE+ RP+	16 (35,5)	2 (4,4)	
RE+ RP-	7 (15,5)	2 (4,4)	
RE -	23 (51,1)	14 (31,1)	0,004
RP +	15 (33,3)	2 (4,4)	
RP -	30 (66,6)	16 (35,5)	0,01
Ki67 (n=24)	ND		
< 15%	1 (4,2)	1 (100)	
> 15%	23 (95,8)	10 (45,5)	
Emboles péri-tumoraux (n=46)	ND		
oui	4 (8,7)	ND	
non	42 (91,3)	ND	

C. Association SNP et réponse au traitement : population Her2+++

45 patientes sur 46 ont une réponse histologique analysable (une patiente n'ayant eu qu'un curage axillaire). **Parmi ces 45 patientes, 18 (40%) sont en réponse histologique complète selon Sataloff (IC95% (25.7-55.7)).** Deux échantillons n'ont pu être génotypés, nous disposons donc de l'association entre pCR et SNP pour 43 patientes.

Le génotype de quatre polymorphismes apparaît comme associé significativement à la pCR (Tableau 15) :

- **DNASE2B – rs3738573** : patients porteurs d'au moins un allèle C (50%, $p=0.025$)
- **ERCC1 – rs11615** : patients homozygotes CC ($p=0.024$)
- **MDR1 – rs1045642** : patients porteurs d'au moins un allèle C (OR 9.6, IC95 (1.09-84.2))
- **NQO2 – rs1143684** : Patients homozygotes TT ($p=0.018$)

Tableau 15. Association entre SNP et pCR, population HER2+++

	SNP	Genotype	N	pCR, N (%)	Groupe	p	OR (IC95%)
HER2+++ N = 45 pCR = 18/43 (41,9%)	DNASE2B- rs 3738573	CC	16	10 (62,5)	CC vs CG vs GG	0.031	1
		CG	18	7 (38,9)			0,38 (0,10-1,53)
		GG	9	1 (11,1)			0,08 (0,01-0,76)
		CG-GG	27	8 (29,6)	CG-GG vs CC	0.034	0,25 (0,07-0,93)
		CC-CG	34	17 (50)	GG vs CG-CC	0.025	0,13 (0,01-1,11)
		CC-GG	25	11 (44)	CG vs CC-GG	0.74	0,81 (0,24-2,78)
	ERCC1 – rs 11615	TT	14	4 (28,6)	TT vs CT vs CC	0.041	1
		CT	25	10 (40)			1,67 (0,41-6,82)
		CC	4	4 (100)			-
		CT-CC	29	14 (48,3)	CT-CC vs TT	0.22	2,33 (0,59-9,18)
		TT-CT	39	14 (35,9)	CC vs CT-TT	0.024	-
		CC-TT	18	8 (44,4)	CT vs TT-CC	0.77	0,83 (0,24-2,84)
	MDR1 – rs 1045642	TT	10	1 (10)	TT vs CT vs CC	0.025	1
		CT	24	11 (45,8)			7,62 (0,83-69,9)
		CC	9	6 (66,7)			18 (1,5-216)
		CT-CC	33	17 (51,5)	CT-CC vs TT	0.012	9,6 (1,09-84,2)
		TT-CT	34	12 (35,3)	CC vs CT-TT	0.09	3,7 (0,77-17,4)
		CC-TT	19	7 (36,8)	CT vs TT-CC	0.55	1,45 (0,42-5)
	NQO2 – rs 1143684	TT	22	13 (59,1)	TT vs CT vs CC	-	1
		CT	19	4 (21,1)			0,18 (0,05-0,74)
CC		2	1 (50)	0,69 (0,04-12,6)			
CT-CC		21	5 (23,8)	CT-CC vs TT	0.018	0,22 (0,06-0,81)	
		CC-TT	24	14 (58,3)	CT vs TT-CC	0.012	0,19 (0,05-0,75)

IV. Données de survie

A. Survie Globale

Dans la population globale composée de 164 patientes, 51 ont présenté une progression (31.1%), dont 18 sont décédées. La cause du décès était la progression tumorale pour toutes ces patientes (11%).

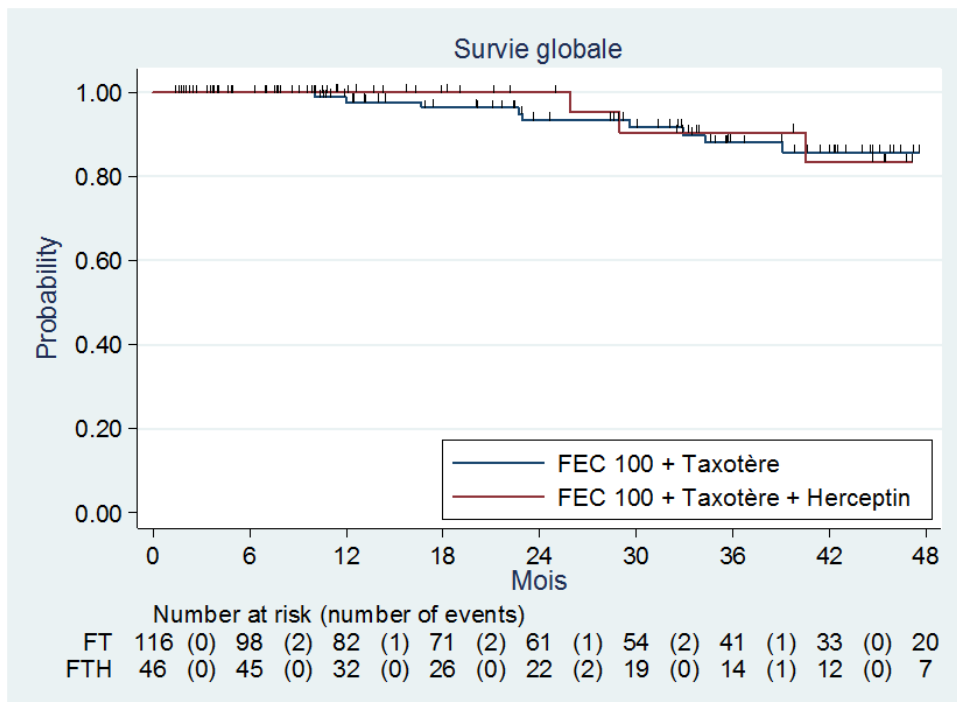
Dans la population de 118 patientes traitées par FEC100 + Docétaxel, 12 patientes (10.2%) sont décédées parmi les 44 ayant présenté une progression. Enfin, dans la population surexprimant Her2 et traitée par Trastuzumab, 6 patientes sur 46 sont décédées (13%), et 7 ont présenté une progression tumorale.

Les analyses de survie globale ne retrouvent pas de différence significative entre les groupes étudiés. Plus particulièrement, le taux de survie

globale dans la population totale (N = 164) n'est pas différente significativement en fonction du type de traitement reçu (FEC100 + Docétaxel ± Trastuzumab) (p = 0.24), du statut hormonal (p = 0.27), du statut Her2 (p = 0.38) et de la pCR (p = 0.23) (Fig. 6).

De plus, la survie globale à 1, 2, 3 et 4 ans n'est pas différente en fonction des SNP présents, que ce soit dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel (N = 118) (Tableau 16) ou dans la population FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab (N=46) (Tableau 17).

**Figure 6. Survie globale en fonction du traitement :
FEC100 + Docétaxel (courbe bleue), FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab
(courbe rouge), p = 0.24**



**Tableau 16. Survie globale en fonction des SNP présents :
Population FEC100 + Docétaxel**

Survie globale	N	Evènements (N)	Survie à 4 ans (IC 95%)	p-value
Population	118	12	85.7% (73.8-92.5%)	
Statut RH				NS
RH -	39	5	83.0% (60.1-93.4%)	0.41
RH +	77	6	89.9% (75.2-96.1%)	
pCR				NS
Oui	25	0	100.0%	0.17
Non	93	12	82.9% (69.2-90.9%)	
BRCA1				NS
CT-TT	66	8	84.1% (67.2-92.7%)	0.35
CC	44	3	87.8% (54.9-97.2%)	
CYP1B1				NS
CC-GG	69	6	84.4% (65.5-93.4%)	0.88
CG	45	6	85.0% (64.5-94.2%)	
ERCC1				NS
CC-CT	73	5	93.0% (79.5-97.7%)	0.13
TT	40	7	70.0% (43.7-85.8%)	
SLCO1B3				NS
AG-GG	34	4	90.8% (67.7-97.6%)	0.78
AA	79	8	81.3% (63.7-91.0%)	

**Tableau 17. Survie globale en fonction des SNP présents :
Population FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab**

Survie globale	N	Evènements (N)	Taux de survie à 4 ans (IC 95%)	p-value
Population	46	6	83.5% (56.2-94.5%)	
Statut RH				NS
RH -	23	3	77.8% (36.5-93.9%)	0.10
RH +	23	3	88.9% (43.3-98.4%)	
pCR				NS
Oui	18	1	100.0%	0.18
Non	27	5	77.0% (43.2-92.2%)	
DNASE2B				NS
CC-CG	34	4	94.1% (65.0-99.1%)	0.29
GG	10	2	50.0% (5.8-84.5%)	
ERCC1				NS
CT-TT	40	6	81.5% (52.3-93.7%)	0.51
CC	4	0	100.0%	
MDR1 rs1045642				NS
CT-CC	34	6	78.8% (46.6-92.8%)	0.29
TT	10	0	100.0%	
NQO2				NS
CT-CC	21	4	84.6% (51.2-95.9%)	0.29
TT	23	2	80.0% (20.4-96.9%)	

B. Survie sans progression

Contrairement aux données de survie globale, la **survie sans progression est significativement supérieure dans le groupe traité par Chimiothérapie + Trastuzumab** par rapport à la population ayant reçu FEC100 + Docétaxel seuls ($p = 0.012$; HR = 2.7 (IC95% 1.20-5.95)) (Fig. 7). De la même façon, la **survie sans progression est supérieure chez les patientes Her2 positif** par rapport aux patientes dont la tumeur ne surexprime pas Her2 ($p = 0.042$; HR = 2.1 (IC 95% 1.01-4.42)) (Fig. 8).

Figure 7. Survie sans progression selon le traitement : FEC100+Docétaxel (courbe bleue), FEC100+Docétaxel+Trastuzumab (courbe rouge), $p = 0.012$

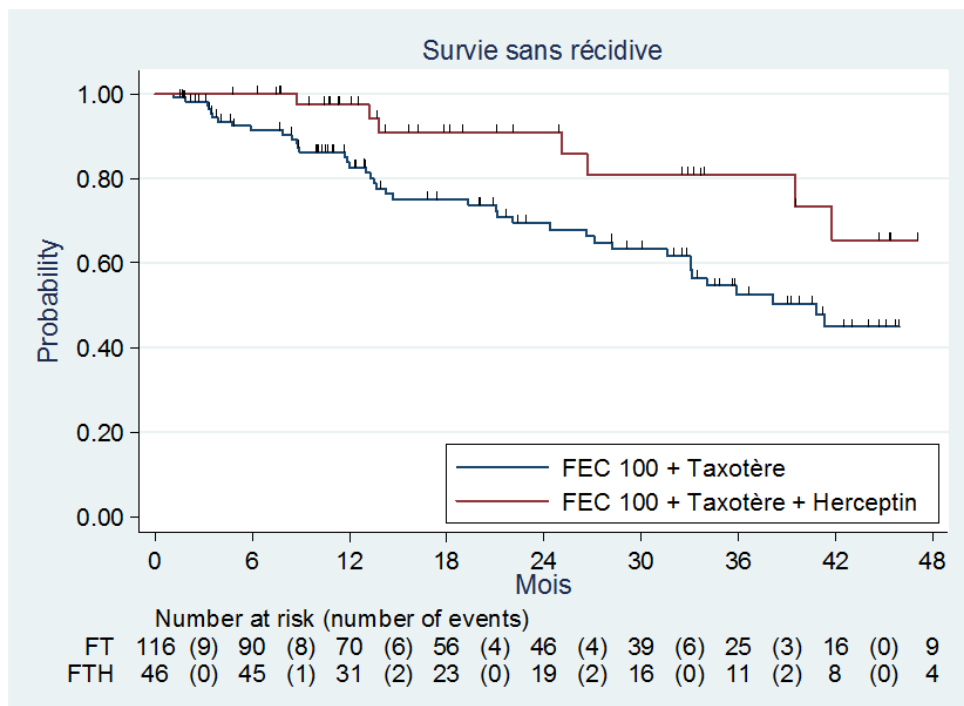
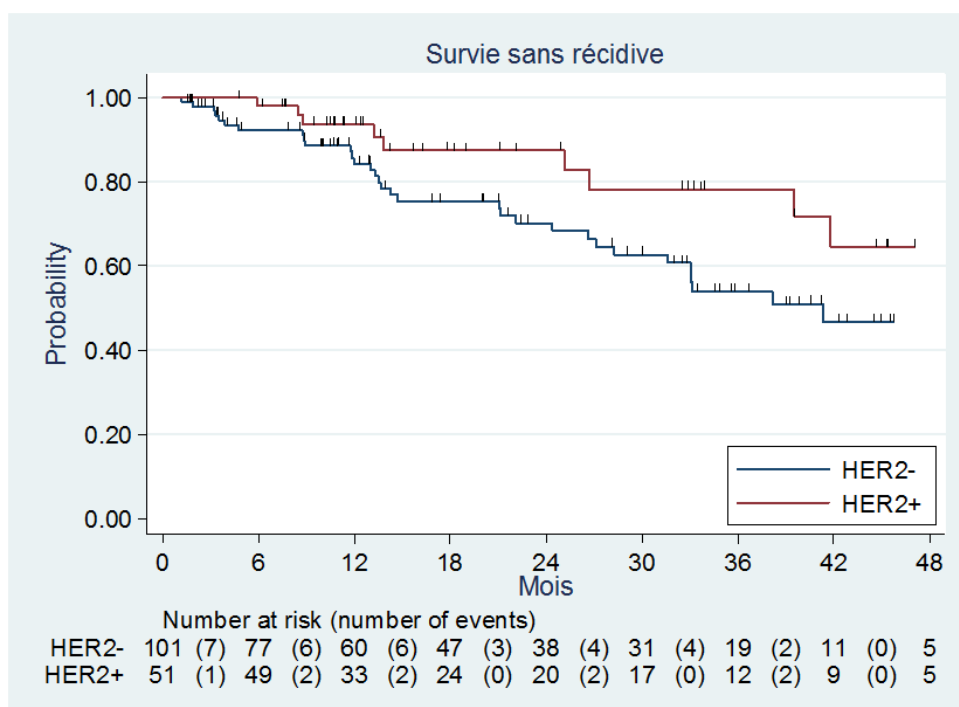


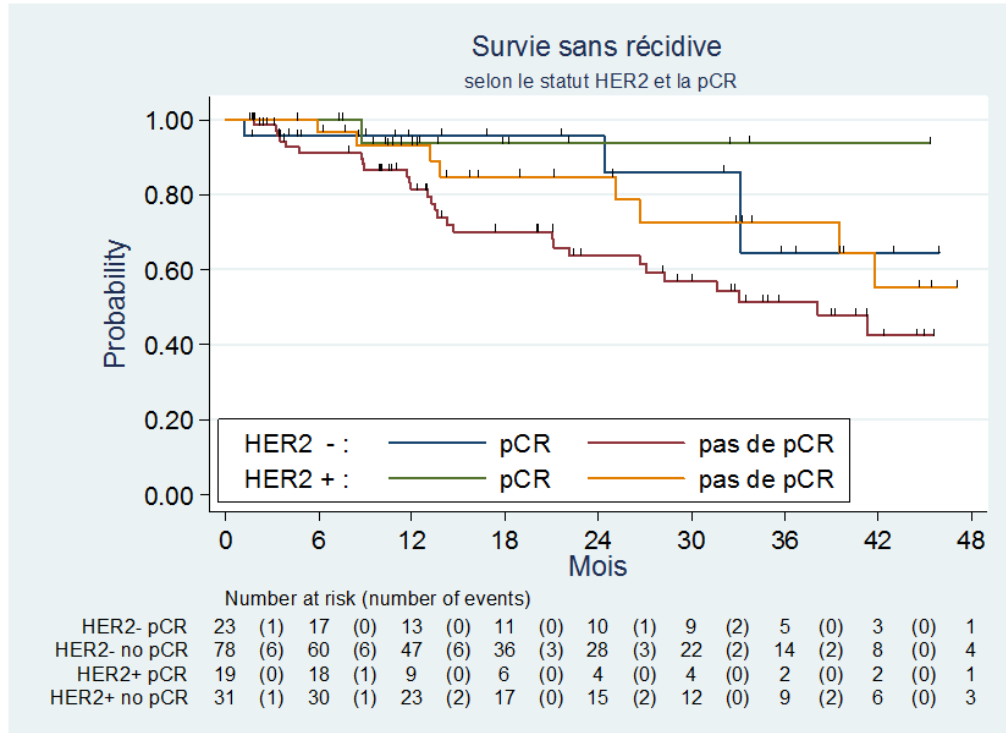
Figure 8. Survie sans progression en fonction du statut Her2 : Her2 non surexprimé (courbe bleue), Her2 positif (courbe rouge), p = 0.042



Au niveau de la réponse histologique, la survie sans progression dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab obtenant une pCR selon Sataloff tend à être supérieure à celle traitée par FEC100 + Docétaxel en pCR, sans significativité retrouvée ($p = 0.47$). Cependant, peu d'événements sont observés (c'est-à-dire peu de progression dans ces populations), il est donc difficile de mettre en évidence une quelconque différence.

Chez les patientes HER2 positif, la survie sans récidive ne diffère pas significativement selon la pCR ($p=0.27$). De même, chez les patientes sans surexpression HER2, la survie sans récidive n'est pas différente en fonction de la pCR ($p=0.11$).

Figure 9. Survie sans récurrence selon le statut HER2 et la pCR
 (Her2 négatives : avec pCR = courbe bleue, sans pCR = courbe rouge ; Her2 positives : avec pCR = courbe verte, sans pCR = courbe jaune)



Après chimiothérapie néoadjuvante par **FEC100 + Docétaxel**, la survie sans progression est significativement supérieure en cas de pCR comparativement aux patientes n'ayant pas de réponse complète ($p = 0.034$; HR = 1.6, IC 95% (1.02-2.57)). (Fig.10). Plus particulièrement, on observe que dans la population de tumeurs avec RH négatifs, la survie sans progression est augmentée chez les patientes en pCR (Fig.11) : $p = 0.004$; HR = 6.6, IC95% (1.53-29).

Figure 10. Survie sans progression selon la pCR dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel : avec pCR (courbe bleue), sans pCR (courbe rouge), p=0.034

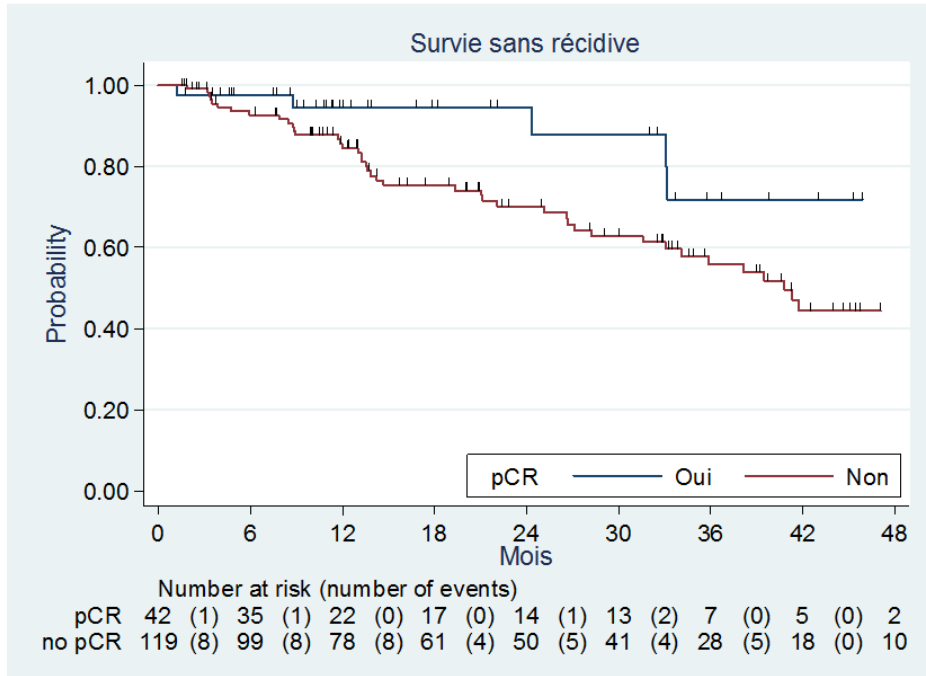
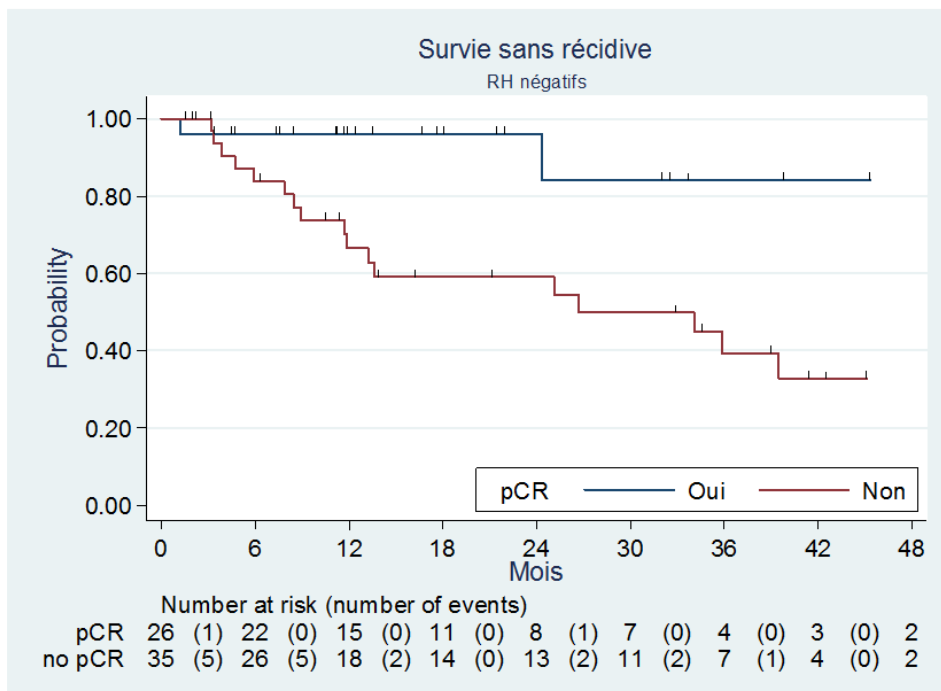
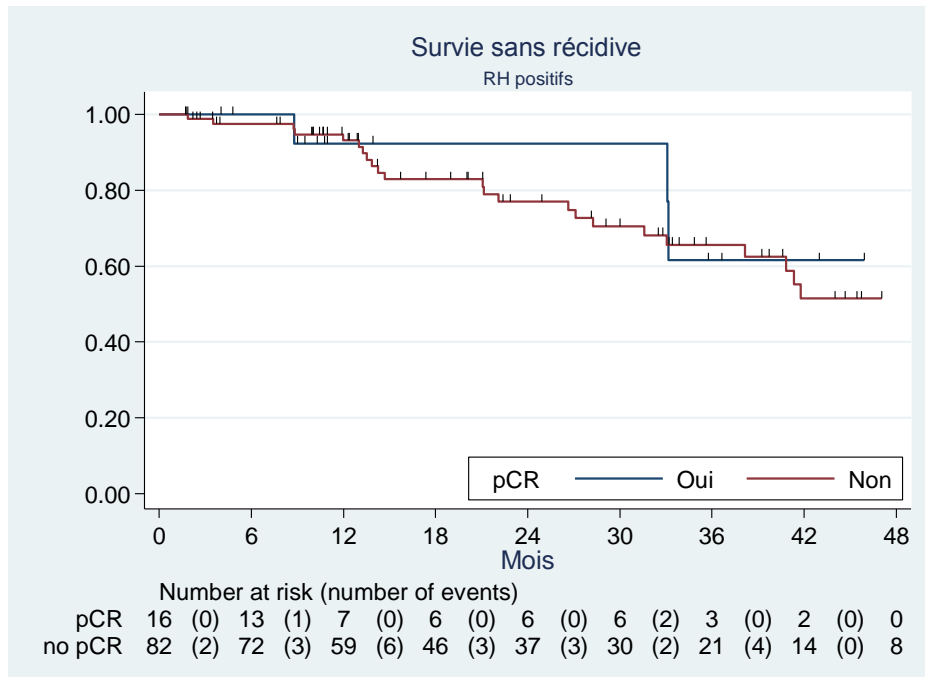


Figure 11. Survie sans progression selon la pCR dans la population RH- : Avec pCR (courbe bleue), sans pCR (courbe rouge), p = 0.004



En revanche, il n'existe pas de différence significative dans la survie sans progression en fonction de la pCR dans la population aux RH positifs, $p = 0.77$ (Fig. 12).

Figure 12. Survie sans récurrence selon la pCR : population RH+



Lorsqu'on analyse la survie sans progression dans la population traitée par Trastuzumab, on n'observe pas de différence significative selon les SNP (Tableau 18). Cependant, **dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel, la survie sans progression est significativement supérieure avec le SNP CYP1B1 versus CG** ($p = 0.04$; HR = 1.92 (IC95% 1.01-3.63)) (Fig. 13). Le reste des SNP n'est pas significatif (Tableau 19).

Figure 13. Survie sans progression en fonction du SNP de CYP1B1, population FEC100 + Docétaxel. CC-GG (bleu), CG (rouge), p = 0.04

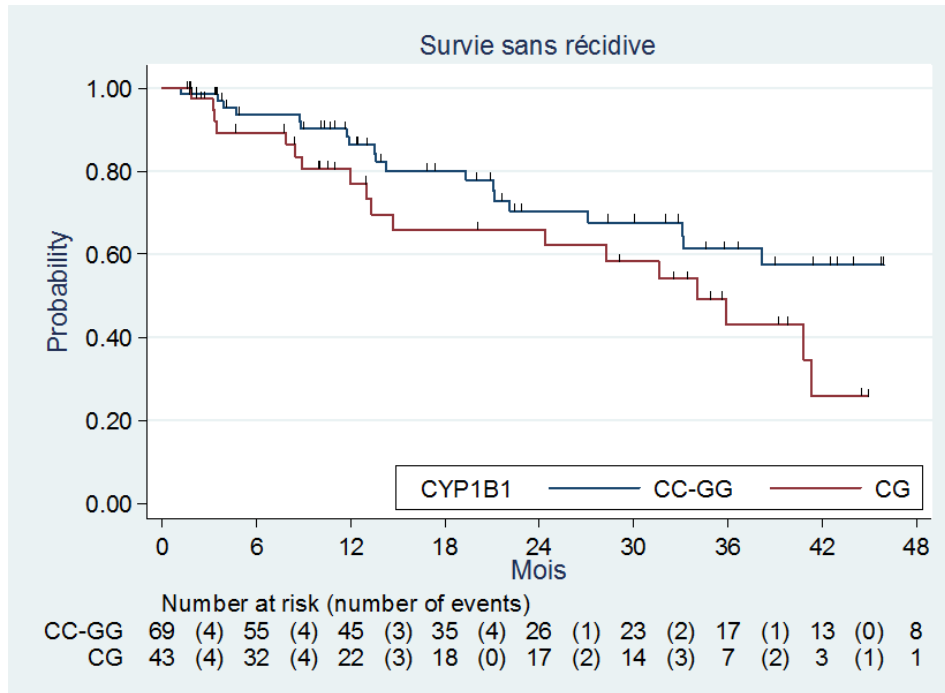


Tableau 18. Survie sans progression en fonction des SNP, Population traitée par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab.

Survie sans progression	N	Evènements (N)	Médiane (IC95%)	Taux de survie à 4 ans(IC 95%)	p-value
	46	7	Non atteinte	65.3% (37.4- 83.1%)	
Statut RH					
RH -	23	4	3.3 ans (2.1-...)	46.7% (8.2-79.3%)	0.35
RH +	23	3	Non atteinte	76.2% (38.0-92.6%)	
pCR					
Oui	18	1	Non atteinte	93.3% (61.3-99.0%)	0.47
Non	27	5	Non atteinte	55.8% (24.2-78.7%)	
DNASE2B					
CC-CG	34	5	Non atteinte	64.5% (31.2-84.8%)	0.50
GG	10	2	Non atteinte	71.4% (25.8-92.0%)	
ERCC1					
CT-TT	40	7	Non atteinte	61.3% (32.5-80.9%)	0.32
CC	4	0	Non atteinte	100.0%	
MDR1 rs1045642					
CT-CC	34	7	Non atteinte	54.3% (23.9-77.1%)	0.11
TT	10	0	Non atteinte	100.0%	
NQO2					
CT-CC	21	5	Non atteinte	57.2% (24.0-80.4%)	0.58
TT	23	2	Non atteinte	87.5% (56.6-96.9%)	

**Tableau 19. Survie sans progression en fonction des SNP,
Population traitée par FEC100 + Docétaxel.**

Survie sans progression	N	Evènements (N)	Médiane (IC95%)	Survie à 4 ans (IC 95%)	p-value
Population	118	44	3,4ans (2,6-4,9)	44.9% (31.7- 57.2%)	
Statut RH					NS
RH -	39	17	3,0ans (1,0-...)	45.1% (24.8-63.5%)	0,16
RH +	77	25	3,4ans (2,8-...)	46.2% (29.0-61.8%)	
pCR					NS
Oui	25	4	Non atteinte	64.7% (28.8-85.9%)	0,086
Non	93	40	3,0ans (2,2-4,5)	41.3% (27.4-54.6%)	
BRCA1					NS
CT-TT	66	25	4,1ans (2,4-...)	52.8% (36.7-66.5%)	0,36
CC	44	14	3,4ans (3,0-...)	26.8% (5.4-55.2%)	
CYP1B1					NS
CC-GG	69	22	4,9ans (2,8-...)	57.5% (40.3-71.3%)	0,04
CG	45	19	2,8ans (1,2-3,4)	25.8% (7.8-48.7%)	
ERCC1					NS
CC-CT	73	25	3,2ans (2,6-4,9)	43.8% (26.0-60.3%)	0,69
TT	40	16	3,4ans (1,1-...)	48.3% (26.7-66.9%)	
SLCO1B3					NS
AG-GG	34	11	4,9ans (2,0-...)	61.0% (37.5-77.9%)	0,18
AA	79	30	3,2ans (1,8-4,1)	38.1% (22.0-54.2%)	

DISCUSSION

L'étude GENEOM cherche à identifier les SNP comme marqueurs prédictifs à la chimiothérapie néoadjuvante à base d'anthracyclines et de taxanes dans le cancer du sein humain. L'association entre la réponse histologique complète selon Sataloff et les 46 SNP décrits comme probables marqueurs prédictifs est étudiée dans une population composée de 118 patientes traitées au Centre Oscar Lambret de Lille par FEC100 + Docétaxel et de 46 patientes traitées par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab.

I. Caractéristiques cliniques et histologiques

Dans la population porteuse de tumeurs ne surexprimant pas Her2, 21.2% des patientes présentent une pCR. En fonction du statut hormonal, la proportion de patientes en pCR passe de 13.5% en cas de tumeurs RH+ à 35.7% chez les tumeurs RH-. Ces données correspondent à celles retrouvées dans les études portant sur la chimiothérapie néoadjuvante, notamment dans l'étude GEPARTRIO (44) avec un taux de pCR chez les RH+ de 8.2% et de 33.2% chez les RH-. Dans le groupe de patientes traitées par trastuzumab, le taux de pCR est plus élevé (41.9%), en accord avec la sélection des patientes éligibles pour la NCT, porteuses de tumeurs plus sensibles à ce traitement.

Le critère principal choisi dans notre étude est la pCR, décrite dans la NCT comme facteur pronostic majeur. En France, notamment au Centre Oscar Lambret de Lille, les classifications les plus utilisées pour évaluer la réponse histologique dans le cancer du sein sont celles de Chevallier et de Sataloff. Bien que considérant la pCR selon $ypT \leq 1mic$ $ypN0/is$, la classification de Sataloff que nous avons utilisé

dans l'étude présente l'avantage de tenir compte à la fois du site mammaire mais également du statut des ganglions axillaires après le traitement néoadjuvant (62).

Cependant, la définition même de la réponse pathologique complète diffère selon les études et les comités experts. Ainsi, la pCR peut se définir par : $ypT0ypN0$, soit une absence de résidu invasif et *in situ* au niveau du sein et des ganglions (56); $ypT0/is\ ypN0$, soit une absence de résidu invasif dans le sein et dans les ganglions, résidu *in situ* mammaire possibles (53); $ypT0/is\ ypN0/+$, soit une absence de résidu invasif mammaire, résidus et infiltration ganglionnaire possible (23); $ypT\leq 1mic\ ypN0/is$, soit une présence possible de résidu invasif focalisé ou de carcinome *in situ* au niveau mammaire et un résidu ganglionnaire permis (21).

L'étude de Von Minckwitz (63) étudie ces différentes définitions de pCR et leur impact sur la survie chez des patients traités en situation néoadjuvante par une chimiothérapie associant anthracyclines et taxanes. Les résultats montrent que les patients dont la tumeur est classée $ypT0\ ypN0$ ont une meilleure survie globale et sans récurrence en comparaison de toutes les autres définitions, à l'exception des tumeurs $ypTis\ ypN0$ chez lesquelles seule la survie sans progression est inférieure (HR=1.74, IC95% (1.28-2.36), $p<0.001$) avec seulement une tendance pour la survie globale ($p=0.166$).

En revanche, deux études (64,65) mettent en évidence que la présence de carcinome *in situ* résiduel ne modifie pas le pronostic du patient tant en survie globale qu'en survie sans récurrence. Sur la base de ces études, la présence de carcinome *in situ* est incluse dans la définition de la pCR du Consensus International d'experts en 2010 (66). Actuellement, les deux définitions possibles de la pCR sont : 1) Absence de cancer invasif résiduel au niveau mammaire et axillaire, ou 2) Absence de tumeur invasive résiduelle au niveau mammaire et axillaire, mais présence d'un carcinome *in situ* du sein (29).

Si les consensus s'accordent à dire que la pCR est un facteur pronostic majeur, on sait depuis peu que la valeur pronostique de celle-ci est différente en fonction des sous types de cancer du sein. La méta analyse de Von Minckwitz (63)

analyse la pCR en fonction de ces sous-groupes en reprenant 7 essais de 1998 à 2006 portant sur des chimiothérapies néoadjuvantes. Il est observé que l'absence de pCR n'est pas péjoratif dans les tumeurs *Luminal A* (HR 1.305 IC95% (0.71-2.39)) ou les tumeurs *Luminal B/Her2+*. Cependant, dans le cadre des tumeurs *triple négative* (HR 6.0, IC 95% (3.92-9.25)), des tumeurs *Luminal B/Her2-* (HR 5.95, IC95 (1.46-24.25)) et des tumeurs *Her2+ (non luminal)* (HR 8.7, IC95% (3.17-24.1)), la pCR conserve son importante valeur pronostique. Ainsi, même si au départ ces sous types sont considérés comme plus agressifs, ils présentent une meilleure évolution en cas de pCR après NCT. Le traitement par trastuzumab dans les tumeurs surexprimant Her2 ne modifiait pas ces résultats. Une deuxième étude réunissant les données de plus de 12000 patients vient confirmer ces résultats avec cette fois une amélioration dans le sous-groupe *Her2+(non luminal)* en cas de traitement reçu par trastuzumab.

Dans notre étude, nous observons tout d'abord que la pCR est liée à certaines caractéristiques clinico-histologiques des patientes et de leur tumeur. Ainsi, le grade SBR élevé et la négativité des récepteurs hormonaux augmentent le taux de pCR dans le groupe de patientes traitées par FEC100 + Docétaxel tandis que seule la négativité des récepteurs hormonaux favorise la pCR chez les patientes HER2positives traitées par Chimiothérapie + Trastuzumab. Dans la littérature, l'âge jeune, le type histologique CCI, le stade tumoral T3 T4, le grade SBR 3, le statut RH négatif, la surexpression Her2 sont identifiés comme des facteurs pronostiques de pCR (56). Ces différences peuvent s'expliquer d'une part par le faible nombre de CLI par rapport aux CCI dans notre étude, et d'autre part par la taille de l'échantillon de population insuffisante pour mettre en évidence une significativité au niveau d'une différence de pCR en fonction de l'âge, malgré la tendance observée en ce sens.

Dans l'étude récente de Von Minckwitz (67), la survie des patients est indépendante de la réponse histologique complète chez les tumeurs RH+, tandis qu'elle est significativement liée à la pCR pour les patients RH- . Dans notre étude, on retrouve des résultats analogues avec une différence significative de survie sans

progression dans la population RH- en cas de pCR par rapport à la non obtention de pCR, alors que cette différence est non significative dans la population RH+.

II. Etude des SNP

Dans un deuxième temps, nos résultats reconnaissent plusieurs SNP liés à la présence d'une pCR. Nous avons étudiés ces SNP dans plusieurs groupes de population, comprenant la population globale traitée par FEC100 + Docétaxel, la population FEC100 + Docétaxel dont les tumeurs expriment les RE (RE+), celle n'exprimant pas les RE (RE-) et la population Her2+ traitée par chimiothérapie + Trastuzumab. Certains SNP sont retrouvés en communs, notamment ERCC1 qui est identifié dans chaque groupe.

En analyse multivariée, une combinaison de 2 SNP est identifiée comme particulièrement intéressante pour prédire la réponse aux taxanes et aux anthracyclines dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel. En effet, les patientes porteuses du génotype ERCC1 CT associé à CYP1B1 CC ont un taux de pCR doublé par rapport au reste des patientes.

A. Population globale traitée par FEC100 + Docétaxel

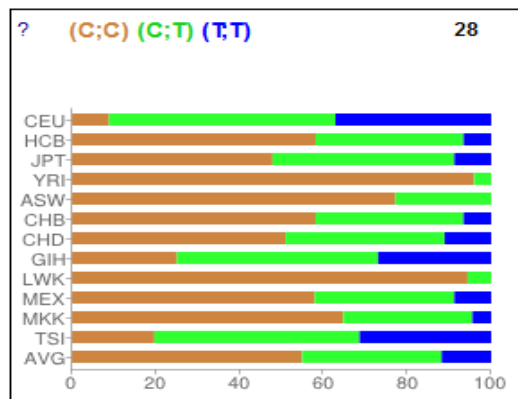
Dans la population de 118 patientes non traitées par trastuzumab, 4 SNP sont mis en évidence : **ERCC1 – rs11615**, **CYP1B1 – rs1056836** : patientes homozygotes CC ou GG (pCR=29% pour CC-GG vs 11.1% pour CG, p=0.02), **BRCA1 – rs799917** : au moins un allèle T (OR 3.15, IC95 (1.04-9.6)), **SLCO1B3 – rs11045585** : au moins un allèle G (OR 2.77, IC95 (1.10-6.7)).

1. ERCC1 – rs11615

ERCC1 est un gène impliqué dans la réparation de l'ADN, dont l'allèle ancestral est l'allèle T. Le polymorphisme ERCC1-rs11615 (C>T) est un polymorphisme silencieux Asn118Asn de la transcription et de l'expression d'ERCC1. D'après les données du projet HapMap, le polymorphisme le plus souvent rencontré dans la population européenne est CT (58), ce que reflète également notre population (Fig 14).

Figure 14. Représentation de la répartition des polymorphismes de ERCC1 rs11615. (CC (droite), CT (milieu), TT (gauche)) par le HapMap Project.

CEU : European, HCB : Han Chinese, ASW : Ancestral African, USA



On remarque de façon intéressante dans notre population que le polymorphisme ERCC1 est significativement lié à la pCR dans les différents groupes de patients étudiés : dans la population globale, non traitée par Trastuzumab, en analyse univariée (au moins un allèle C) comme en multivariée (patientes hétérozygotes CT), ainsi que chez les patientes RE+ (patientes hétérozygotes CT), RE- (au moins un allèle C) et HER2 positives (patientes homozygotes CC).

On observe cependant que dans chaque groupe, le polymorphisme significatif est différent même si l'allèle C est systématiquement associé à une meilleure réponse à la chimiothérapie par anthracyclines et taxanes. Ces données sont en accord avec celles de la littérature, où les patients atteints d'un carcinome bronchique non à petites cellules et porteurs de génotype CC ont une meilleure

survie globale et sans récurrence dans le cadre d'une chimiothérapie à base de Docétaxel et de Cisplatine (53) Une explication à ces observations peut être apportée par les données obtenues sur les lymphocytes de patients atteints de cancer de la prostate. Celles-ci ont révélé que les porteurs de génotype CC présentent des niveaux d'ARNm ERCC1 diminués (68) . Ainsi, en réduisant les niveaux d'ARNm ERCC1, le génotype C pourrait diminuer la réparation de l'ADN médiée par ERCC1 et contribuer à potentialiser l'efficacité des médicaments endommageant l'ADN. Cette hypothèse est soutenue par les données cliniques qui montrent que de faibles niveaux de ERCC1 sont favorables à la sensibilité des drogues composées de sels de platine (69–71).

D'autre part dans la population générale (FEC100 + Docétaxel) de notre étude, les patientes homozygotes TT présentent une réponse diminuée. Cette observation est identique dans l'étude de Yin M et al en réponse à la chimiothérapie à base d'oxaliplatine dans les cancers gastrique et colorectal (72).

2. BRCA1 - rs799917

BRCA1 – rs799917 entraîne le remplacement d'une Proline par une Leucine dans le codon 871 (C>T) du gène impliqué dans la réparation de l'ADN. Ce polymorphisme est retrouvé lié à une meilleure pCR dans notre population de patientes traitées par FEC100 + Docétaxel (OR = 3.15, IC95 (1.04-9.6)) ainsi que dans le sous-groupe RH+ (pCR = 21.4%, p = 0.001) lorsqu'au moins un allèle T est présent, par rapport aux patients homozygotes pour l'allèle référent (CC). Il est à noter que dans la population européenne, les polymorphismes le plus souvent rencontrés sont CC et CT en proportion à peu près égale, alors que TT n'est présent que dans une petite partie de cette population (58).

Dans l'article de Lee (73), les effets sur l'efficacité de la chimiothérapie et la survie globale de patients traités dans le cadre d'un carcinome bronchique non à petites cellules sont étudiés en fonction de la présence du polymorphisme de BRCA1 rs799917C> T. La présence d'au moins un allèle T (groupe CT-TT) était

significativement associée à la fois à une meilleure réponse à la chimiothérapie et à une survie globale augmentée (OR = 0,59, IC95 (0,39-0,90), P = 0,02).

Dans le cancer gastrique traité par une association cisplatine – taxanes, l'allèle T est associé à une meilleure survie globale et survie sans progression par rapport à CC (74).

BRCA1 joue un rôle essentiel dans le maintien de l'intégrité du génome en participant à la réparation des dommages à l'ADN (75). Dans des études précédentes, il a été montré que la faible expression de BRCA1 est associée à une augmentation de sensibilité aux sels de platine, alors que le faible niveau d'expression de BRCA1 est associé à une résistance aux taxanes. En revanche, le rôle fonctionnel de Pro871Leu n'est pas élucidé. Pro871Leu pourrait nuire à la fonction de BRCA1 dans la réparation de l'ADN et contribuer ainsi à potentialiser l'efficacité des agents endommageant l'ADN.

3. CYP1B1 - rs1056836

CYP1B1 – rs1056836, aussi connu comme Val432Leu, est un SNP dans le gène du Cytochrome P450 1B1. Ce gène est un membre de la famille du gène CYP1 et l'une des principale enzyme impliquées dans l'hydroxylation des œstrogènes, il est impliqué dans le métabolisme de nombreux médicaments (76).

La littérature rapporte à plusieurs reprises le rôle de Val432Leu dans la résistance aux taxanes (77) avec le génotype G (Val) associé à un plus faible taux de réponse, les durée de survie sans progression plus courtes et des survies globales diminuées chez des patients atteints de cancer du sein et de la prostate traités par une chimiothérapie comportant des taxanes (78–80). Dans nos résultats, les patients hétérozygotes CG pour CYP1B1 – rs1056836 présentent des réponses complètes moindres par rapport aux patients homozygotes CC ou GG, que ce soit dans la population globale ou dans le sous-groupe RE+. CYP1B1 CC-GG est même le seul polymorphisme sortant significatif dans les analyses de survie, une meilleure

survie sans progression dans la population traitée par FEC100 + Docétaxel par rapport au polymorphisme CG.

Une hypothèse pour expliquer ces observations propose l'existence d'une activité enzymatique plus élevée chez les hétérozygotes par rapport aux homozygotes, entraînant une modification de l'activité du Docétaxel. CYP1B1 agirait en liant et séquestrant le Docétaxel en réduisant sa concentration disponible (81). La production de métabolites d'œstrogènes par CYP1B1 limite l'efficacité du Docétaxel par inhibition de la polymérisation de la tubuline (79). Ainsi, en augmentant l'expression de l'ARNm CYP1B1 et son activité catalytique (82–84), la substitution Leu432Val semble moduler la réponse aux taxanes.

4. SLCO1B3 - rs11045585

Nos résultats montrent une augmentation de la pCR dans la population générale et dans le sous-groupe RE+ chez les patients porteurs d'au moins un allèle G de SLCO1B3 – rs11045585. Ceci rejoint les constatations de Chew et al (85), qui ont montré dans le cancer nasopharyngé l'implication probable de SLCO1B3-rs11045585 dans les variations interindividuelles et réponse à la chimiothérapie par Docétaxel, avec une réponse plus élevée en présence d'au moins un allèle G. Ce polymorphisme remplace un A par un G dans le gène SLCO1B3 qui joue un rôle dans le transport du Docétaxel depuis le sang contenu dans les capillaires sinusoides jusqu'aux hépatocytes mais le rôle fonctionnel du polymorphisme reste inconnu.

B. Population traitée par FEC100 + Docetaxel : RE+

Dans le groupe de patientes traitées par FEC100 + Docétaxel et ayant une tumeur exprimant les RE, 7 SNP sont liés à la pCR. Parmi ceux-ci, quatre sont communs avec la population globale précédemment citée et un cinquième, **SHMT1** -

rs1979277, n'a à notre connaissance jamais été décrit comme marqueur potentiel dans la chimiothérapie néoadjuvante du cancer du sein.

1. **CYP2B6 - rs2279345**

CYP2B6 – rs2279345, ou 18492 T>C, est lié à la pCR dans la population RE+, chez les patients hétérozygotes (CT). Peu d'informations sont disponibles sur ce polymorphisme, qui remplace un T par un C dans l'intron d'un gène impliqué dans le métabolisme des drogues. Une piste réside dans une étude japonaise (86) qui indique une diminution de l'hydroxylation du cyclophosphamide en 4-hydroxycyclophosphamide en présence de ce polymorphisme.

2. **SHMT1 - rs1979277**

SHMT1 est un gène impliqué dans la synthèse de l'ADN, dont le polymorphisme rs1979277 entraîne la substitution d'une Leucine par une Phénylalanine (Leu474Phe). Ce polymorphisme est précédemment décrit dans le cancer colorectal métastatique traité par une chimiothérapie comportant du 5FU, associé à une augmentation de la survie globale, de la survie sans progression et de la réponse clinique (87) mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre son implication dans la chimiothérapie du cancer du sein.

C. Population traitée par FEC100 – TXT : RE –

Dans la population de tumeurs non traitées par trastuzumab et avec une absence de récepteurs hormonaux, 4 SNP sont liées à une augmentation de réponse histologique complète, dont ERCC1, mentionné plus haut.

1. **CD24 – rs52812045**

CD24, ligand de la P-sélectine et impliqué dans l'adhésion cellulaire (88), est associé dans notre étude à une augmentation de la pCR pour les patientes homozygotes CC dans le groupe RH négatifs. Ce résultat est différent celui observé dans la littérature. En effet, CD24-rs5282045, bien que décrit comme un potentiel facteur prédictif de pCR dans la NCT du cancer du sein (89), ne l'est statistiquement que pour les patientes homozygotes TT dans la population globale et la population RH+, avec une tendance non significative dans le groupe de tumeurs RH négatifs. Pour comprendre cette discordance de résultats, des informations supplémentaires sur les conséquences précises du polymorphisme Ala57Val sur la fonction de CD24 expression ou la fonction sont nécessaires.

2. **CYP2B6 – rs2279343**

Plus d'une centaine de SNP ont été décrits pour ce gène, en faisant un des gènes du cytochrome p450 les plus polymorphiques chez les humains. Le gène CYP2B6 est impliqué dans le métabolisme de nombreux médicaments, notamment dans le métabolisme du cyclophosphamide (90). Dans notre étude, une meilleure pCR est obtenue chez les patientes avec au moins un allèle G.

3. **GSTP1 – rs1695**

Dans notre étude, les patientes porteuses d'au moins un allèle G dans le gène GSTP1-rs1695 ont une probabilité augmentée d'avoir une pCR. La substitution d'une Isoleucine par une Valine dans le gène GSTP1 joue un rôle dans le métabolisme, en diminuant l'activité enzymatique de l'enzyme de détoxification (91), ce qui suggère que les patients porteurs de l'allèle variant sont exposés à des doses plus élevées de médicaments comparativement aux patients de type sauvage. On

retrouve un résultat en accord avec le nôtre dans l'étude de Romero and al (92) qui a montré que les patients atteints de cancer du sein homozygotes Val / Val pour GSTP1 avaient un risque plus faible de résistance lorsqu'ils sont traités par anthracyclines.

D. Population traitée par FEC100 + Docétaxel + Trastuzumab

Dans la population de patientes surexprimant Her2 et traitées par Trastuzumab associé à la chimiothérapie, 4 polymorphismes sont associés à la pCR. Parmi ceux-ci, on retrouve ERCC 1-rs11615 précédemment décrit dans les autres groupes de patientes de notre étude, mais DNASE2B-rs3738573, MDR1-rs1045642 et NQO2-rs1143684 sont mis en évidence.

1. DNASE2B – rs3738573

DNASE2B-rs3738573 entraîne une substitution de Glutamine en Histamine (Gln3His). Ce gène intervient dans les processus immunitaires et une étude retrouve dans le cancer gastrique une sensibilité au Docétaxel accrue en cas de présence d'un allèle G (93), contrairement à notre étude qui observe plus de pCR en présence d'au moins un allèle C. Trop peu d'études sur les implications fonctionnelles de ce polymorphisme existent pour comprendre ces différences.

2. MDR1 – rs1045642

MDR1-rs1045642, aussi connu comme C3435T, est un polymorphisme situé dans le gène ABCB1, codant pour une glycoprotéine P. Cette protéine est une pompe active transmembranaire permettant le transport de nombreux médicaments. Nos résultats retrouvent une pCR augmentée en présence d'au moins un allèle C, ce

qui ne contredit pas les conclusions de l'étude de Cizmarikova et al (94) qui observent de meilleurs résultats cliniques après NCT dans le cancer du sein chez les patients homozygotes CC, mais dont l'interprétation demande un approfondissement des connaissances fonctionnelles de ce SNP.

3. NQO2 – rs1143684

NQO2-rs1143684 remplace une Leucine par une Phénylalanine dans un gène essentiel au métabolisme des médicaments. Nous observons des pCR augmentées chez les patientes homozygotes TT, résultats en accord avec ceux de la littérature (95).

III. SNP et autres facteurs prédictifs de réponse à la NCT

Les indications de chimiothérapie néoadjuvante dans le cancer du sein ne permettent pas à l'heure actuelle de prédire les hétérogénéités observées dans la réponse au traitement. Le bénéfice incertain et la toxicité de la chimiothérapie pousse les acteurs en oncologie à rechercher des outils permettant d'identifier les sous-groupes de patients qui tireront réellement bénéfice de ce traitement. De même, l'évaluation de la réponse précoce à la NCT, composée généralement de six cycles de chimiothérapie, est difficile. Le plus souvent, les patients non répondeurs sont identifiés en fonction de la réponse clinique, lors de l'évaluation à 3 ou 6 cures, ou à l'imagerie par examen mammographique et échographique en fin de NCT. Or, l'objectif est d'identifier le plus tôt possible les patients non répondeurs, afin de modifier au plus vite la prise en charge. Cet enjeu a entraîné ces dernières années l'avènement de recherches permettant d'étudier différentes modalités d'identification de facteurs prédictifs de réponse à la NCT. Ainsi, les progrès en imagerie et l'évaluation de l'IRM (96) ou du TEPscanner (97) dans la prédiction de la réponse, le développement de marqueurs biologiques (98) et de profils moléculaires (99) en sont

des exemples récents. Je m'arrêterai sur deux études, réalisées au Centre Oscar Lambret de Lille, portant sur la même population que notre travail et utilisant les mêmes critères de réponse, c'est-à-dire la réponse histologique complète selon la classification de Sataloff.

La première étude (100) évalue la valeur prédictive de la non-réponse à la NCT dans le cancer du sein en utilisant la TEP-FDG, effectuée après le premier cycle de FEC100. Ce travail regroupe 63 patientes porteuses d'un cancer du sein localisé et non inflammatoire pour lesquelles une NCT séquentielle est préconisée (3 FEC100 + 3 Docétaxel). La non réponse à la chimiothérapie, définie par la diminution d'au moins 15% de la SUVmax dans le site tumoral primitif, était évaluée par la réalisation d'un TEPscanner avant la première cure et renouvelé 3 semaines plus tard. La réponse métabolique était également corrélée aux critères WHO, à la pCR selon Sataloff et à la survie sans progression à 4 ans. Les résultats retrouvaient une diminution de la SUVmax liée à la pCR ($-52\pm 21\%$ en cas de pCR contre $25\pm 34\%$ pour les autres cas (Sataloff B+C+D)). La survie sans progression à 4 ans était significativement plus longue chez patientes en réponse métabolique complète ($p = 0.01$), sans effet sur la survie globale. Malgré la réalisation de 3 cures de Docétaxel après les cures de FEC100, cette étude montre la valeur prédictive de la non réponse à la NCT par la diminution de la SUVmax par TEPscanner après seulement un cycle de chimiothérapie. Cependant, cette étude n'entraîne pas de modification de thérapeutique, les patientes poursuivant de façon identique le traitement par chimiothérapie après la réalisation de l'évaluation.

La deuxième étude identifie une signature protéomique capable de différencier les patients répondeurs des non répondeurs après NCT (101). Une analyse du plasma était effectuée chez 149 patientes atteintes d'un cancer du sein éligible à la chimiothérapie néoadjuvante, dont l'efficacité histologique était évaluée selon la classification de Sataloff. Des signatures protéomiques du plasma des patientes et de leur tumeur étaient générées en utilisant des critères de ROC et une validation croisée. Les résultats montraient que l'analyse protéomique dans le plasma et dans la tumeur ainsi qu'une combinaison de ceux-ci pourrait différencier les patients avec

des réponses pathologiques complètes et les non-répondeurs. Deux protéines plasmatiques et deux protéines cytoplasmiques étaient sélectionnées et une signature combinant le plasma et la tumeur était générée. Cette signature restait statistiquement significative après ajustement au statut des récepteurs hormonaux et chez les patients avec un Ki67 positif. Ici encore, les enjeux dans la pratique clinique de cette étude sont limités par la difficulté de réalisation en pratique courante.

Ces deux études, portant sur la même population que notre travail, identifient des pistes différentes de réflexion dans la recherche de facteurs prédictifs à la chimiothérapie néoadjuvante à base de taxanes et d'anthracyclines dans le cancer du sein localement avancé ou inflammatoire.

IV. Limites et perspectives

Il existe un nombre considérable de SNP, au sein d'un gène et donc dans le génome en général, et tous ne peuvent être étudiés au sein d'une même étude. Devant leur nombre conséquent, un choix est nécessaire dans leur sélection. Nous avons choisi de sélectionner les SNP décrits comme étant associés à la réponse au traitement.

Dans la littérature, les SNP potentiellement prédictifs de réponse sont le plus souvent étudiés seuls, alors que l'originalité de notre étude était de les associer. L'ensemble de ces SNP a été sélectionné par rapport au traitement administré (anthracyclines et taxanes) et sont ensuite filtrés selon certains critères (association à la réponse, notamment la survie globale, fréquence dans la population européenne, *impact factor* du journal de publication). Cette méthode reste assez exhaustive dans le choix des SNP.

Une autre méthode de sélection aurait pu être la sélection d'un (ou plusieurs) gène(s) candidat(s) et l'exploration de tous les SNP de ce(s) gène(s). Il faut alors partir en aveugle sur une voie donnée. Une telle étude se fait sur des populations beaucoup plus importantes et il n'est pas évident d'obtenir un résultat. Dans ce

contexte, de nombreux SNP peuvent ne pas avoir été pris en compte dans notre étude.

D'une façon surprenante, on observe dans notre étude que le pronostic des patientes porteuses d'un cancer du sein HER2 positif et traitées par trastuzumab est meilleur que celui des patientes avec un cancer Her2 négatif ($p=0.042$). Une raison à ce résultat peut être retrouvée dans la littérature. En effet, le traitement par trastuzumab permet aux patientes ayant une tumeur surexprimant Her2 de rattraper les taux de survie des patientes aux tumeurs HER2 négatif. L'efficacité du traitement associant Trastuzumab et chimiothérapie permettrait donc d'expliquer notre résultat.

Si le statut hormonal et l'expression Her2 sont actuellement les facteurs prédictifs de réponse, les polymorphismes génétiques pourraient représenter des marqueurs utiles pour prédire la réponse à la chimiothérapie néoadjuvante par anthracyclines et taxanes dans le cancer du sein. Un intérêt important de leur utilisation pourrait être la sélection de patientes avec des tumeurs ayant des récepteurs hormonaux positifs. En effet, il est difficile d'estimer la part de patientes avec récepteurs hormonaux positifs tirant un important bénéfice du traitement par chimiothérapie, pour lesquelles l'hormonothérapie est un traitement de choix. La présence de SNP liés à une meilleure réponse à la chimiothérapie néoadjuvante chez ces patientes avec récepteurs hormonaux positifs pourraient permettre de sélectionner celles qui auraient une meilleure probabilité de répondre au traitement, et ne pas sur-traiter les autres.

Une autre perspective serait l'identification des patientes répondeuses à la chimiothérapie au sein des sous-groupes de mauvais pronostic tels les cancers triple négatifs, aux récepteurs hormonaux négatifs ou surexprimant Her2. Ainsi, l'absence de polymorphismes associés à une bonne réponse chez des patientes de ces sous-groupes pourrait entraîner de moindres chances d'obtenir une réponse à la chimiothérapie chez celles-ci.

CONCLUSION

Actuellement, le facteur pronostique majeur de réponse à la NCT dans le cancer du sein est l'obtention d'une réponse histologique complète, tant au niveau du site mammaire initial qu'au niveau ganglionnaire. La pCR, dont la définition n'est pas consensuelle, est augmentée en fonction du grade tumoral élevé et du statut hormonal, mais aussi des sous-types moléculaires de cancer du sein. L'importance de l'identification de facteurs prédictifs de pCR, et donc de patients répondeurs et non répondeurs précoces à la NCT, a conduit à la réalisation du travail présenté ici.

Dans notre étude, plusieurs SNP apparaissent significativement liés à la pCR après NCT : 4 sont retrouvés dans la population globale traitée par FEC100-Docétaxel, 7 dans la population RE+, 4 chez les RE- et 4 dans les tumeurs Her2 positives traitées par chimiothérapie et Trastuzumab. Parmi ceux-ci, ERCC1-rs11615, SLCO1B3-rs11045585 et SHTM1-rs1979277 dans les tumeurs RE+, DNASE2B-rs3738573 et ERCC1-rs11615 dans les tumeurs surexprimant Her2, n'ont jamais été décrits comme marqueurs de pCR après NCT par anthracyclines et taxanes dans le cancer du sein. ERCC1 semble par ailleurs être un intéressant potentiel marqueur de réponse. De plus, l'analyse multivariée de la population globale sans surexpression HER2 identifie un modèle associant les génotypes de ERCC1-CT et CYP1B1-CC permettant le doublement du taux de pCR.

Sélectionner efficacement les patientes grâce aux SNP, et spécifiquement parmi les patientes porteuses de tumeurs RE+, celles qui tireraient bénéfice de la chimiothérapie, présente un enjeu important dans l'accessibilité à une médecine personnalisée.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Penault-Llorca F, Arnould L. [Adjuvant breast cancer: which clinical and pathological characteristics in 2007?]. *Bull Cancer (Paris)*. déc 2010;97(12):1421- 1426.
2. Kuerer HM, Newman LA, Buzdar AU, Dhingra K, Hunt KK, Buchholz TA, et al. Pathologic tumor response in the breast following neoadjuvant chemotherapy predicts axillary lymph node status. *Cancer J Sci Am*. août 1998;4(4):230- 236.
3. Pierga J-Y, Mouret E, Laurence V, Diéras V, Savigioni A, Beuzeboc P, et al. Prognostic factors for survival after neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. the role of clinical response. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. mai 2003;39(8):1089- 1096.
4. Fisher B, Bauer M, Wickerham DL, Redmond CK, Fisher ER, Cruz AB, et al. Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update. *Cancer*. 1 nov 1983;52(9):1551- 1557.
5. Amat S, Penault-Llorca F, Cure H, Le Bouedéc G, Achard J-L, Van Praagh I, et al. Scarff-Bloom-Richardson (SBR) grading: a pleiotropic marker of chemosensitivity in invasive ductal breast carcinomas treated by neoadjuvant chemotherapy. *Int J Oncol*. avr 2002;20(4):791- 796.
6. Tanei T, Shimomura A, Shimazu K, Nakayama T, Kim SJ, Iwamoto T, et al. Prognostic significance of Ki67 index after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol*. févr 2011;37(2):155- 161.
7. Galea MH, Blamey RW, Elston CE, Ellis IO. The Nottingham Prognostic Index in primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;22(3):207- 219.
8. Rabaglio M, Aebi S, Castiglione-Gertsch M. Controversies of adjuvant endocrine treatment for breast cancer and recommendations of the 2007 St Gallen conference. *Lancet Oncol*. oct 2007;8(10):940- 949.
9. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn H-J. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009. *Ann Oncol*. 1 août 2009;20(8):1319- 1329.
10. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 17 août 2000;406(6797):747- 752.

11. Hannemann J, Velds A, Halfwerk JBG, Kreike B, Peterse JL, van de Vijver MJ. Classification of ductal carcinoma in situ by gene expression profiling. *Breast Cancer Res BCR*. 2006;8(5):R61.
12. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006;7:96.
13. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res BCR*. 2010;12(5):R68.
14. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 8 janv 2011;22(8):1736- 1747.
15. Guiu S, Michiels S, André F, Cortes J, Denkert C, Leo AD, et al. Molecular subclasses of breast cancer: how do we define them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement. *Ann Oncol*. 12 janv 2012;23(12):2997- 3006.
16. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med*. 19 févr 2009;360(8):790- 800.
17. Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AAM, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 31 janv 2002;415(6871):530- 536.
18. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, Braga S, Loi S, Harrison JA, et al. Gene signature evaluation as a prognostic tool: challenges in the design of the MINDACT trial. *Nat Clin Pract Oncol*. oct 2006;3(10):540- 551.
19. Sparano JA. TAILORx: trial assigning individualized options for treatment (Rx). *Clin Breast Cancer*. oct 2006;7(4):347- 350.
20. Chevallier B, Chollet P, Merrouche Y, Roche H, Fumoleau P, Kerbrat P, et al. Lenograstim prevents morbidity from intensive induction chemotherapy in the treatment of inflammatory breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. juill 1995;13(7):1564- 1571.
21. Sataloff DM, Mason BA, Prestipino AJ, Seinige UL, Lieber CP, Baloch Z. Pathologic response to induction chemotherapy in locally advanced carcinoma of the breast: a determinant of outcome. *J Am Coll Surg*. mars 1995;180(3):297- 306.
22. Penault-Llorca F, Abrial C, Raoelfils I, Cayre A, Mouret-Reynier M-A, Leheurteur M, et al. Comparison of the prognostic significance of Chevallier and Sataloff's pathologic classifications after neoadjuvant chemotherapy of operable breast cancer. *Hum Pathol*. août 2008;39(8):1221- 1228.
23. Fisher B, Bryant J, Wolmark N, Mamounas E, Brown A, Fisher ER, et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. août 1998;16(8):2672- 2685.

24. Kuerer HM, Newman LA, Smith TL, Ames FC, Hunt KK, Dhingra K, et al. Clinical course of breast cancer patients with complete pathologic primary tumor and axillary lymph node response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* févr 1999;17(2):460- 469.
25. Pierga JY, Mouret E, Diéras V, Laurence V, Beuzeboc P, Dorval T, et al. Prognostic value of persistent node involvement after neoadjuvant chemotherapy in patients with operable breast cancer. *Br J Cancer.* déc 2000;83(11):1480- 1487.
26. Ring AE, Smith IE, Ashley S, Fulford LG, Lakhani SR. Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer. *Br J Cancer.* 13 déc 2004;91(12):2012- 2017.
27. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, et al. Preoperative chemotherapy: updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 févr 2008;26(5):778- 785.
28. Guarneri V, Broglio K, Kau S-W, Cristofanilli M, Buzdar AU, Valero V, et al. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 mars 2006;24(7):1037- 1044.
29. Kaufmann M, von Minckwitz G, Smith R, Valero V, Gianni L, Eiermann W, et al. International expert panel on the use of primary (preoperative) systemic treatment of operable breast cancer: review and recommendations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 juill 2003;21(13):2600- 2608.
30. Wenzel C, Bartsch R, Hussian D, Pluschnig U, Altorjai G, Zielinski CC, et al. Invasive ductal carcinoma and invasive lobular carcinoma of breast differ in response following neoadjuvant therapy with epidoxorubicin and docetaxel + G-CSF. *Breast Cancer Res Treat.* juill 2007;104(1):109- 114.
31. Petrelli F, Barni S. Response to neoadjuvant chemotherapy in ductal compared to lobular carcinoma of the breast: a meta-analysis of published trials including 1,764 lobular breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* nov 2013;142(2):227- 235.
32. Penault-Llorca F, Cayre A, Bouchet Mishellany F, Amat S, Feillel V, Le Bouedec G, et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int J Oncol.* juin 2003;22(6):1319- 1325.
33. Houssami N, Macaskill P, von Minckwitz G, Marinovich ML, Mamounas E. Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* déc 2012;48(18):3342- 3354.
34. Natoli C, Vici P, Sperduti I, Grassadonia A, Bisagni G, Tinari N, et al. Effectiveness of neoadjuvant trastuzumab and chemotherapy in HER2-overexpressing breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* juill 2013;139(7):1229- 1240.

35. Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate. *Cancer Treat Rep.* déc 1979;63(11-12):1727- 1733.
36. Levine MN, Bramwell VH, Pritchard KI, Norris BD, Shepherd LE, Abu-Zahra H, et al. Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* août 1998;16(8):2651- 2658.
37. Bonadonna G, Veronesi U, Brambilla C, Ferrari L, Luini A, Greco M, et al. Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more. *J Natl Cancer Inst.* 3 oct 1990;82(19):1539- 1545.
38. Fisher B, Brown A, Mamounas E, Wieand S, Robidoux A, Margolese RG, et al. Effect of preoperative chemotherapy on local-regional disease in women with operable breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* juill 1997;15(7):2483- 2493.
39. Van der Hage JA, van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 15 nov 2001;19(22):4224- 4237.
40. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JPA. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2 févr 2005;97(3):188- 194.
41. Smith IC, Heys SD, Hutcheon AW, Miller ID, Payne S, Gilbert FJ, et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: significantly enhanced response with docetaxel. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 15 mars 2002;20(6):1456- 1466.
42. Bear HD, Anderson S, Smith RE, Geyer CE Jr, Mamounas EP, Fisher B, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 mai 2006;24(13):2019- 2027.
43. Cuppone F, Bria E, Carlini P, Milella M, Felici A, Sperduti I, et al. Taxanes as primary chemotherapy for early breast cancer: meta-analysis of randomized trials. *Cancer.* 15 juill 2008;113(2):238- 246.
44. Von Minckwitz G, Blohmer J-U, Raab G, Löhner A, Gerber B, Heinrich G, et al. In vivo chemosensitivity-adapted preoperative chemotherapy in patients with early-stage breast cancer: the GEPARTRIO pilot study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* janv 2005;16(1):56- 63.
45. Steger GG, Galid A, Gnant M, Mlineritsch B, Lang A, Tausch C, et al. Pathologic complete response with six compared with three cycles of neoadjuvant

- epirubicin plus docetaxel and granulocyte colony-stimulating factor in operable breast cancer: results of ABCSG-14. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 mai 2007;25(15):2012- 2018.
46. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, Booser DJ, Thomas ES, Theriault RL, et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juin 2005;23(16):3676- 3685.
 47. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet*. 30 janv 2010;375(9712):377- 384.
 48. Smith IE, A'Hern RP, Coombes GA, Howell A, Ebbs SR, Hickish TF, et al. A novel continuous infusion 5-fluorouracil-based chemotherapy regimen compared with conventional chemotherapy in the neo-adjuvant treatment of early breast cancer: 5 year results of the TOPIC trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. mai 2004;15(5):751- 758.
 49. Bear HD, Tang G, Rastogi P, Geyer CE Jr, Robidoux A, Atkins JN, et al. Bevacizumab added to neoadjuvant chemotherapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 26 janv 2012;366(4):310- 320.
 50. Von Minckwitz G, Rezai M, Loibl S, Fasching PA, Huober J, Tesch H, et al. Capecitabine in addition to anthracycline- and taxane-based neoadjuvant treatment in patients with primary breast cancer: phase III GeparQuattro study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 avr 2010;28(12):2015- 2023.
 51. Von Minckwitz G, Rezai M, Fasching PA, Huober J, Tesch H, Bauerfeind I, et al. Survival after adding capecitabine and trastuzumab to neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy for primary breast cancer (GBG 40--GeparQuattro). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO*. 21 nov 2013;
 52. Von Minckwitz G, Eidtmann H, Rezai M, Fasching PA, Tesch H, Eggemann H, et al. Neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab for HER2-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 26 janv 2012;366(4):299- 309.
 53. Baselga J, Bradbury I, Eidtmann H, Di Cosimo S, de Azambuja E, Aura C, et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet*. 18 févr 2012;379(9816):633- 640.
 54. Gianni L, Pienkowski T, Im Y-H, Roman L, Tseng L-M, Liu M-C, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. janv 2012;13(1):25- 32.

55. Huober J, Fasching PA, Hanusch C, Rezai M, Eidtmann H, Kittel K, et al. Neoadjuvant chemotherapy with paclitaxel and everolimus in breast cancer patients with non-responsive tumours to epirubicin/cyclophosphamide (EC)±bevacizumab - Results of the randomised GeparQuinto study (GBG 44). *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. juill 2013;49(10):2284- 2293.
56. Von Minckwitz G, Untch M, Nüesch E, Loibl S, Kaufmann M, Kümmel S, et al. Impact of treatment characteristics on response of different breast cancer phenotypes: pooled analysis of the German neo-adjuvant chemotherapy trials. *Breast Cancer Res Treat*. janv 2011;125(1):145- 156.
57. Lièvre A, Bachet J-B, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile J-F, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res*. 15 avr 2006;66(8):3992- 3995.
58. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature*. 18 déc 2003;426(6968):789- 796.
59. Hübner C, Petermann I, Browning BL, Shelling AN, Ferguson LR. Triallelic single nucleotide polymorphisms and genotyping error in genetic epidemiology studies: MDR1 (ABCB1) G2677/T/A as an example. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. juin 2007;16(6):1185- 1192.
60. Wiechec E, Hansen LL. The effect of genetic variability on drug response in conventional breast cancer treatment. *Eur J Pharmacol*. 25 déc 2009;625(1-3):122- 130.
61. Penault-Llorca F, Cayre A. Actualité des tests HER2 dans le cancer du sein. *Bull Cancer (Paris)*. 1 févr 2004;91(2):211- 215.
62. Corben AD, Abi-Raad R, Popa I, Teo CHY, Macklin EA, Koerner FC, et al. Pathologic Response and Long-Term Follow-up in Breast Cancer Patients Treated With Neoadjuvant Chemotherapy: A Comparison Between Classifications and Their Practical Application. *Arch Pathol Lab Med*. août 2013;137(8):1074- 1082.
63. Minckwitz G von, Untch M, Blohmer J-U, Costa SD, Eidtmann H, Fasching PA, et al. Definition and Impact of Pathologic Complete Response on Prognosis After Neoadjuvant Chemotherapy in Various Intrinsic Breast Cancer Subtypes. *J Clin Oncol*. 20 mai 2012;30(15):1796- 1804.
64. Jones RL, Lakhani SR, Ring AE, Ashley S, Walsh G, Smith IE. Pathological complete response and residual DCIS following neoadjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Br J Cancer*. 13 févr 2006;94(3):358- 362.
65. Mazouni C, Peintinger F, Wan-Kau S, Andre F, Gonzalez-Angulo AM, Symmans WF, et al. Residual ductal carcinoma in situ in patients with complete eradication of invasive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy does not adversely affect patient outcome. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juill 2007;25(19):2650- 2655.

66. Berruti A, Generali D, Kaufmann M, Puztai L, Curigliano G, Aglietta M, et al. International expert consensus on primary systemic therapy in the management of early breast cancer: highlights of the Fourth Symposium on Primary Systemic Therapy in the Management of Operable Breast Cancer, Cremona, Italy (2010). *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2011;2011(43):147- 151.
67. Von Minckwitz G, Blohmer JU, Costa SD, Denkert C, Eidtmann H, Eiermann W, et al. Response-Guided Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 oct 2013;31(29):3623- 3630.
68. Woelfelschneider A, Popanda O, Lilla C, Linseisen J, Mayer C, Celebi O, et al. A distinct ERCC1 haplotype is associated with mRNA expression levels in prostate cancer patients. *Carcinogenesis.* sept 2008;29(9):1758- 1764.
69. Li Q, Yu JJ, Mu C, Yunmbam MK, Slavsky D, Cross CL, et al. Association between the level of ERCC-1 expression and the repair of cisplatin-induced DNA damage in human ovarian cancer cells. *Anticancer Res.* avr 2000;20(2A):645- 652.
70. Shiota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 déc 2001;19(23):4298- 4304.
71. Wang L, Wei J, Qian X, Yin H, Zhao Y, Yu L, et al. ERCC1 and BRCA1 mRNA expression levels in metastatic malignant effusions is associated with chemosensitivity to cisplatin and/or docetaxel. *BMC Cancer.* 2008;8:97.
72. Yin M, Yan J, Martinez-Balibrea E, Graziano F, Lenz H-J, Kim H-J, et al. ERCC1 and ERCC2 polymorphisms predict clinical outcomes of oxaliplatin-based chemotherapies in gastric and colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 mars 2011;17(6):1632- 1640.
73. Lee SY, Kang H-G, Yoo SS, Kang YR, Choi YY, Lee WK, et al. Polymorphisms in DNA repair and apoptosis-related genes and clinical outcomes of patients with non-small cell lung cancer treated with first-line paclitaxel-cisplatin chemotherapy. *Lung Cancer Amst Neth.* 8 août 2013;
74. Shim HJ, Yun JY, Hwang JE, Bae WK, Cho SH, Lee JH, et al. BRCA1 and XRCC1 polymorphisms associated with survival in advanced gastric cancer treated with taxane and cisplatin. *Cancer Sci.* mai 2010;101(5):1247- 1254.
75. Wu J, Lu L-Y, Yu X. The role of BRCA1 in DNA damage response. *Protein Cell.* févr 2010;1(2):117- 123.
76. Laroche-Clary A, Le Morvan V, Yamori T, Robert J. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms as predictors of anticancer drug activity: studies with in vitro models. *Mol Cancer Ther.* déc 2010;9(12):3315- 3321.
77. Gehrman M, Schmidt M, Brase JC, Roos P, Hengstler JG. Prediction of paclitaxel resistance in breast cancer: is CYP1B1*3 a new factor of influence? *Pharmacogenomics.* juill 2008;9(7):969- 974.

78. Marsh S, Somlo G, Li X, Frankel P, King CR, Shannon WD, et al. Pharmacogenetic analysis of paclitaxel transport and metabolism genes in breast cancer. *Pharmacogenomics J.* oct 2007;7(5):362- 365.
79. Sissung TM, Danesi R, Price DK, Steinberg SM, de Wit R, Zahid M, et al. Association of the CYP1B1*3 allele with survival in patients with prostate cancer receiving docetaxel. *Mol Cancer Ther.* janv 2008;7(1):19- 26.
80. Pastina I, Giovannetti E, Chioni A, Sissung TM, Crea F, Orlandini C, et al. Cytochrome 450 1B1 (CYP1B1) polymorphisms associated with response to docetaxel in Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC) patients. *BMC Cancer.* 2010;10:511.
81. McFadyen MC, McLeod HL, Jackson FC, Melvin WT, Doehmer J, Murray GI. Cytochrome P450 CYP1B1 protein expression: a novel mechanism of anticancer drug resistance. *Biochem Pharmacol.* 15 juill 2001;62(2):207- 212.
82. Shimada T, Watanabe J, Kawajiri K, Sutter TR, Guengerich FP, Gillam EM, et al. Catalytic properties of polymorphic human cytochrome P450 1B1 variants. *Carcinogenesis.* août 1999;20(8):1607- 1613.
83. Hanna IH, Dawling S, Roodi N, Guengerich FP, Parl FF. Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. *Cancer Res.* 1 juill 2000;60(13):3440- 3444.
84. Li DN, Seidel A, Pritchard MP, Wolf CR, Friedberg T. Polymorphisms in P450 CYP1B1 affect the conversion of estradiol to the potentially carcinogenic metabolite 4-hydroxyestradiol. *Pharmacogenetics.* juin 2000;10(4):343- 353.
85. Chew S-C, Singh O, Chen X, Ramasamy RD, Kulkarni T, Lee EJD, et al. The effects of CYP3A4, CYP3A5, ABCB1, ABCC2, ABCG2 and SLCO1B3 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of docetaxel in nasopharyngeal carcinoma patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* juin 2011;67(6):1471- 1478.
86. Nakajima M, Komagata S, Fujiki Y, Kanada Y, Ebi H, Itoh K, et al. Genetic polymorphisms of CYP2B6 affect the pharmacokinetics/pharmacodynamics of cyclophosphamide in Japanese cancer patients. *Pharmacogenet Genomics.* juin 2007;17(6):431- 445.
87. Budai B, Komlósi V, Adleff V, Pap É, Réti A, Nagy T, et al. Impact of SHMT1 polymorphism on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line FOLFIRI+bevacizumab. *Pharmacogenet Genomics.* janv 2012;22(1):69- 72.
88. Aigner S, Stoeber ZM, Fogel M, Weber E, Zarn J, Ruppert M, et al. CD24, a mucin-type glycoprotein, is a ligand for P-selectin on human tumor cells. *Blood.* 1 mai 1997;89(9):3385- 3395.
89. Marmé F, Werft W, Walter A, Keller S, Wang X, Benner A, et al. CD24 Ala57Val polymorphism predicts pathologic complete response to sequential

- anthracycline- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* avr 2012;132(3):819- 831.
90. Gor PP, Su HI, Gray RJ, Gimotty PA, Horn M, Aplenc R, et al. Cyclophosphamide-metabolizing enzyme polymorphisms and survival outcomes after adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: a retrospective cohort study. *Breast Cancer Res BCR.* 2010;12(3):R26.
 91. Srivastava SK, Singhal SS, Hu X, Awasthi YC, Zimniak P, Singh SV. Differential catalytic efficiency of allelic variants of human glutathione S-transferase Pi in catalyzing the glutathione conjugation of thiotepa. *Arch Biochem Biophys.* 1 juin 1999;366(1):89- 94.
 92. Romero A, Martín M, Oliva B, de la Torre J, Furio V, de la Hoya M, et al. Glutathione S-transferase P1 c.313A > G polymorphism could be useful in the prediction of doxorubicin response in breast cancer patients. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO.* juill 2012;23(7):1750- 1756.
 93. Ha YJ, Yoon SN, Jeon YJ, Cho DH, Roh SA, Kim BS, et al. Genome-wide identification of chemosensitive single nucleotide polymorphism markers in gastric cancer. *Anticancer Res.* déc 2011;31(12):4329- 4338.
 94. Cizmarikova M, Wagnerova M, Schonova L, Habalova V, Kohut A, Linkova A, et al. MDR1 (C3435T) polymorphism: relation to the risk of breast cancer and therapeutic outcome. *Pharmacogenomics J.* févr 2010;10(1):62- 69.
 95. Jamieson D, Cresti N, Bray J, Sludden J, Griffin MJ, Hawsawi NM, et al. Two minor NQO1 and NQO2 alleles predict poor response of breast cancer patients to adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide therapy. *Pharmacogenet Genomics.* déc 2011;21(12):808- 819.
 96. Hylton NM, Blume JD, Bernreuter WK, Pisano ED, Rosen MA, Morris EA, et al. Locally advanced breast cancer: MR imaging for prediction of response to neoadjuvant chemotherapy--results from ACRIN 6657/I-SPY TRIAL. *Radiology.* juin 2012;263(3):663- 672.
 97. Andrade WP, Lima ENP, Osório CABT, do Socorro Maciel M, Baiocchi G, Bitencourt AGV, et al. Can FDG-PET/CT predict early response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer? *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* 2 oct 2013;
 98. Hilvo M, Gade S, Hyötyläinen T, Nekljudova V, Seppänen-Laakso T, Sysi-Aho M, et al. Monounsaturated fatty acids in serum triacylglycerols are associated with response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Int J Cancer J Int Cancer.* 30 sept 2013;
 99. Esserman LJ, Berry DA, Cheang MCU, Yau C, Perou CM, Carey L, et al. Chemotherapy response and recurrence-free survival in neoadjuvant breast cancer depends on biomarker profiles: results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657). *Breast Cancer Res Treat.* avr 2012;132(3):1049- 1062.

100. Kolesnikov-Gauthier H, Vanlemmens L, Baranzelli M-C, Vennin P, Servent V, Fournier C, et al. Predictive value of neoadjuvant chemotherapy failure in breast cancer using FDG-PET after the first course. *Breast Cancer Res Treat.* janv 2012;131(2):517- 525.
101. Bonnetterre J, Révillion F, Desauw C, Blot E, Kramar A, Fournier C, et al. Plasma and tissue proteomic prognostic factors of response in primary breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Oncol Rep.* janv 2013;29(1):355- 361.

ANNEXES

Annexe 1 : Classification TNM du cancer du sein, 6^e édition, révisée en 2002

Tumeur primaire T

Tx : La tumeur primitive ne peut pas être évaluée

T0 : La tumeur primitive n'est pas palpable

- Tis : carcinome in situ
- Tis (DCIS) : carcinome canalaire in situ
- Tis (CLIS) : carcinome lobulaire in situ
- Tis (Paget) : Maladie de Paget du mamelon sans tumeur sous- jacente

T1 : tumeur \leq 2 cm dans sa plus grande dimension

- T1 mic : micro invasion \leq 1 mm dans sa plus grande dimension
- T1a : 1 mm < tumeur \leq 5 mm dans sa plus grande dimension
- T1b : 5 mm < tumeur \leq 1 cm dans sa plus grande dimension
- T1c : 1 cm < tumeur \leq 2 cm dans sa plus grande dimension

T2 : 2 cm < tumeur \leq 5 cm dans sa plus grande dimension

T3 : tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension

T4 : tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b)

- T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral
- T4b : œdème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein
- T4c : T4a + T4b
- T4d : cancer inflammatoire

Ganglions lymphatiques régionaux pN

Nx : l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué

N0 : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées

- N0(i-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, étude immunohistochimique négative (IHC)
- N0(i+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, IHC positive, avec des amas cellulaires \square 0,2 mm (considéré comme sans métastase ganglionnaire)
- N0(mol-) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique, biologie moléculaire négative (RTPCR : *reverse transcriptase polymerase chain reaction*)
- N0(mol+) : absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique,

biologie moléculaire positive (RTPCR)

N1mi : micrométastases > 0.2 mm et ≤ 2 mm

N1 : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique

- N1a : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires
 - N1b : envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique
 - N1c : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique (pN1a + pN1b)
-

N2 : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects en absence d'envahissement ganglionnaire axillaire

- N2a : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires avec au moins un amas cellulaire > 2 mm
 - N2b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en absence d'envahissement ganglionnaire axillaire
-

N3 : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous claviculaires (niveau III axillaire) ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ou envahissement des ganglions sus claviculaires homolatéraux

- N3a : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous claviculaires
 - N3b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique
 - N3c : envahissement des ganglions sus claviculaires homolatéraux
-

AUTEUR : Nom : PANNIER	Prénom : Diane
Date de Soutenance : Vendredi 7 mars 2014	
Titre de la Thèse : Evaluation des <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> comme facteurs prédictifs de réponse histologique complète à la chimiothérapie néoadjuvante dans le cancer du sein.	
Thèse - Médecine - Lille 2014	
Cadre de classement : Oncologie Médicale	
DES + spécialité : Oncologie médicale	
Mots-clés : SNP, marqueurs prédictifs, réponse histologique complète, chimiothérapie néoadjuvante, cancer du sein	
Résumé :	
Titre de la thèse : Evaluation des <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> comme facteurs prédictifs de réponse histologique complète à la chimiothérapie néoadjuvante dans le cancer du sein.	
Contexte : La chimiothérapie néoadjuvante (NCT) à base d'anthracyclines et de taxanes est le traitement standard dans le cancer du sein localement avancé ou inflammatoire. Son efficacité est évaluée par la réponse histologique complète (pCR), élément pronostique majeur. Les variations interindividuelles de réponse au traitement peuvent être expliquées par les <i>single nucleotide polymorphisms</i> (SNP). L'objectif de notre étude était d'identifier les SNP prédictifs de pCR à la NCT dans le cancer du sein.	
Méthode : Entre novembre 2007 et janvier 2012, 191 patientes (pts) suivies au Centre Oscar Lambret (COL) de Lille pour un adénocarcinome mammaire en situation néoadjuvante ont été incluses : 118 traitées par une chimiothérapie séquentielle associant FEC100 et Docétaxel (TXT), et 46 par FEC100, TXT et Trastuzumab. Les 46 SNP décrits dans la littérature comme facteurs prédictifs potentiels de réponse ont été testés. Le génotypage a été réalisé sur un prélèvement de sang total, en utilisant une discrimination allélique avec SNPTyping assays (Fluidigm) et TaqMan assays (Life Technologies) sur la plateforme BioMark™ (Fluidigm). Les caractéristiques cliniques et histologiques ont été comparées par le test du Chi2. L'association entre la pCR selon Sataloff et les 3 génotypes de chaque SNP, isolés puis combinés, a été étudiée par régression logistique.	
Résultats : Dans la population traitée par FEC100 - TXT, 25 pts sur 118 (21.2%) présentent une pCR. Ce taux est plus élevé parmi les tumeurs de grade III (p=0.009), récepteurs hormonaux négatifs (p=0.005) et triple négatives (p=0.006). 4 SNP sont associés à la pCR dans ce groupe : BRCA1-rs799917 (au moins un allèle T : OR=3.15, IC95(1.04-9.6)), CYP1B1-rs1056836 (pts homozygotes CC ou GG, p=0.02), ERCC1-rs11615 (au moins un allèle C : OR=3.63 ; IC95(1.15-11.5)), SLCO1B3-rs11045585 (au moins un allèle G, OR=2.77, IC95 (1.10-6.7)). L'analyse multivariée retrouve un taux de pCR doublé pour les patients porteurs des génotypes ERCC1-CT et CYP1B1-CC (OR=8.5 (1.6-46)), résultat restant significatif après ajustement au statut RE (p=0.05). La pCR est liée à 4 SNP chez les pts surexprimant Her2 traités par chimiothérapie et trastuzumab.	
Conclusion : Plusieurs SNP sont significativement liés à la pCR après NCT par anthracyclines et taxanes dans le cancer du sein. ERCC1 est lié à la pCR dans les tumeurs ER+, ER- et Her2 positives, même si les génotypes associés diffèrent dans chaque groupe. Enfin, la combinaison ERCC1-CT/CYP1B1-CC semble intéressante pour prédire la réponse à la NCT dans la population sans surexpression Her2.	
Composition du Jury :	
Président : Pr Jacques Bonnetterre	
Assesseurs : Pr Jean Philippe Spano, Pr Mohamed Hebbar, Pr Jean Philippe Peyrat	