



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2018

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Etude de la relation entre le polymorphisme génétique  
du cytochrome P450 2D6 et la réponse clinique au citrate de  
clomiphène chez des femmes infertiles dysovulantes.**

Présentée et soutenue publiquement le 3 avril 2018 à 14h  
Au Pôle Formation  
**Par Camille Robin**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Didier Dewailly**

**Asseseurs :**

**Monsieur le Professeur Franck Broly**

**Monsieur le Docteur Jean-Marc Rigot**

**Monsieur le Docteur Benjamin Hennart**

**Directeur de Thèse :**

**Madame le Professeur Sophie Catteau-Jonard**

---

## **Avertissement**

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

## Liste des abréviations

SOPK	Syndrome des Ovaires Polykystiques
CYP 2D6	Cytochrome P450 2D6
PM	Métaboliseur faible
UM	Métaboliseur ultra-rapide
IM	Métaboliseur intermédiaire
EM	Métaboliseur extensif
ASCO	American Society of Clinical Oncology
NCCN Guidelines	National Comprehensive Clinical Practice Guidelines in Oncology
KNMP	Association Royale Néerlandaise pour l'avancement de la Pharmacie
E-clomiphène	Citrate d'enclomiphène
Z-clomiphène	Citrate de zuclomiphène
(E)-4-OH-DE-CLOM	E-4-hydroxy-N-desethylclomiphène
(E)-4-OH-CLOM	E-4-hydroxyclophène
CYP3A4	Cytochrome P450 3A4
CYP3A5	Cytochrome P450 3A5
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
AMH	Hormone Anti-Müllérienne
BMI	Body Mass Index
CFA	Compte des Follicules Antraux
NS	Non Significatif

## Table des matières

<b>Résumé .....</b>	<b>1</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>2</b>
<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>8</b>
I. Design de l'étude .....	8
II. Population .....	8
III. Protocole de l'étude.....	8
IV. Génotypage CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 .....	9
V. Prédiction des réponses selon les génotypes CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5.....	10
VI. Analyse statistique .....	12
<b>Résultats .....</b>	<b>13</b>
<b>Discussion .....</b>	<b>19</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>22</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>23</b>
<b>Annexe : Consentement pour analyse génétique signé par les patientes incluses .....</b>	<b>28</b>

## RESUME

**Contexte :** Le cytochrome P450 2D6 participe au métabolisme de nombreux médicaments. Il présente un polymorphisme génétique responsable de quatre phénotypes de métabolisme différents. Le génotype de cette protéine est utilisé pour prédire l'efficacité et/ou adapter les posologies de certains médicaments, notamment le tamoxifène, dont la structure est proche de celle du citrate de clomiphène, utilisé dans l'induction de l'ovulation. La réponse à ce traitement proposé très fréquemment dans la prise en charge de la dysovulation du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est variable et aucun facteur prédictif n'a été mis en évidence à l'heure actuelle. Le but de ce travail est d'évaluer un éventuel lien entre le génotype du cytochrome et la réponse au citrate de clomiphène.

**Méthodes :** Soixante-dix-sept patientes infertiles dysovulantes traitées par citrate de clomiphène ont bénéficié de l'étude du génotype des cytochromes P450 2D6, 3A4 et 3A5. Des prédictions de réponse ont été établies en fonction de ces examens génétiques. La réponse ovarienne a été évaluée échographiquement entre le dixième et le douzième jour du cycle, et biologiquement par une progestéronémie 8 à 10 jours après la date supposée d'ovulation. Les prédictions de réponse selon le statut génétique des cytochromes ont été comparées aux réponses cliniques observées.

**Résultats :** Concernant les prédictions de réponse selon la combinaison des trois cytochromes, la concordance entre les prédictions de réponse et les réponses réelles étaient de 36,71%, avec un coefficient Kappa négatif ( $K = -0,0240$ ), ce qui correspond à un grand désaccord. De même, pour les prédictions selon le statut génétique du cytochrome P450 2D6 seul, seules 39,24% des prédictions ont été vérifiées (coefficient  $K = -0.0609$ ).

**Conclusion :** Le polymorphisme génétique des cytochromes P450 2D6, 3A4 et 3A5 n'influence pas la réponse clinique au citrate de clomiphène utilisé dans l'induction de l'ovulation des femmes infertiles dysovulantes.

## INTRODUCTION

Les cytochromes P450 sont des hémoprotéines qui participent au métabolisme de nombreux médicaments, principalement au niveau hépatique. Cinquante-sept gènes codant pour plus de 21 000 cytochromes P450 ont été identifiés (1).

Le cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) ne représente qu'un faible pourcentage (< 2% (2)) de tous les cytochromes P450, mais son rôle dans le métabolisme des médicaments est largement prédominant puisqu'il est impliqué dans le métabolisme de 20 à 25% d'entre eux (3,4). Il présente un grand polymorphisme génétique (4–9), responsable de quatre phénotypes différents, du métaboliseur ultra-rapide au métaboliseur limité en passant par les métaboliseurs extensif et intermédiaire (**Tableau 1**) (4,6,10). Il existe une variabilité interethnique des différents phénotypes du CYP2D6, comme le résume le **Tableau 2** (11–14).

**Tableau 1 : Polymorphisme génétique du CYP 2D6 et phénotypes résultants (4–9) :**

Allèle 1 \ Allèle 2	Délétion <sup>1</sup>	Mutation inactivatrice <sup>2</sup>	Normal <sup>3</sup>	Mutation activatrice <sup>4</sup>	Duplication
Délétion <sup>1</sup>	PM	PM	IM	Non connu	Non connu
Mutation inactivatrice <sup>2</sup>	PM	PM	IM	Non connu	Non connu
Normal <sup>3</sup>	IM	IM	EM	UM	UM
Mutation activatrice <sup>4</sup>	Non connu	Non connu	UM	UM	UM
Duplication	Non connu	Non connu	UM	UM	UM

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

EM = Métaboliseur extensif

<sup>1</sup>: Allèle délété : CYP2D6\*5<sup>2</sup>: Allèles mutés responsables d'une diminution ou suppression d'activité :

CYP2D6\*3A, CYP2D6\*4A, CYP2D6\*4B, CYP2D6\*4C, CYP2D6\*4D, CYP2D6\*4K,  
 CYP2D6\*4X2, CYP2D6\*6A, CYP2D6\*6B, CYP2D6\*6C, CYP2D6\*7, CYP2D6\*8, CYP2D6\*9,  
 CYP2D6\*10A, CYP2D6\*10B, CYP2D6\*10X2, CYP2D6\*11, CYP2D6\*12, CYP2D6\*13,  
 CYP2D6\*14A, CYP2D6\*14B, CYP2D6\*15, CYP2D6\*17, CYP2D6\*18, CYP2D6\*19,  
 CYP2D6\*20, CYP2D6\*21A, CYP2D6\*21B, CYP2D6\*29, CYP2D6\*31, CYP2D6\*36,  
 CYP2D6\*38, CYP2D6\*40, CYP2D6\*41, CYP2D6\*42, CYP2D6\*44, CYP2D6\*45A,  
 CYP2D6\*45B, CYP2D6\*46, CYP2D6\*47, CYP2D6\*49, CYP2D6\*50, CYP2D6\*51,  
 CYP2D6\*54, CYP2D6\*55, CYP2D6\*56A, CYP2D6\*57, CYP2D6\*59, CYP2D6\*62,  
 CYP2D6\*68A, CYP2D6\*68B, CYP2D6\*69, CYP2D6\*72, CYP2D6\*92, CYP2D6\*100,  
 CYP2D6\*101.

<sup>3</sup>: Allèles responsables d'une activité normale :

CYP2D6\*1A, CYP2D6\*1B, CYP2D6\*1C, CYP2D6\*2A, CYP2D6\*27, CYP2D6\*33,  
 CYP2D6\*35A, CYP2D6\*39, CYP2D6\*45A, CYP2D6\*45B, CYP2D6\*46, CYP2D6\*48.

<sup>4</sup>: Allèles mutés responsables d'une augmentation d'activité :

CYP2D6\*1XN, CYP2D6\*2XN (N= 2,3,4,5 ou 13), CYP2D6\*35X2, CYP2D6\*53

**Tableau 2 : Répartition interethnique des différents phénotypes du CYP 2D6 (11–14):**

Phénotype CYP2D6 Origine géographique	PM	UM	IM
Europe	7%	4%	10-15%
Asie	<1%	2%	Pas de donnée
Afrique	3%	28%	Pas de donnée
Moyen-Orient	Pas de donnée	10%	Pas de donnée

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

Différentes études ont prouvé que les méthodes de génotypage étaient fiables et permettaient de prédire correctement les différents phénotypes et l'activité du CYP2D6 (4,15–18). Par ailleurs, l'activité du CYP2D6 dépend uniquement du génotypage et de la structure du locus du CYP2D6, ainsi que des éventuelles interactions médicamenteuses. Elle n'est pas influencée par des facteurs tels que le tabagisme, la consommation de caféine, l'âge ou le sexe (11,19). Connaître les capacités d'action de ce cytochrome impliqué dans le métabolisme de nombreux médicaments s'avère utile pour prédire l'efficacité de ces traitements et adapter les doses. En effet, pour les médicaments métabolisés par le CYP2D6, il semble que les quantités de molécule-mère et de métabolites soient dépendantes de la quantité et de la capacité d'action du CYP2D6 (5). Ainsi, pour des médicaments métabolisés par le CYP2D6 et dont la molécule-mère est active, les métaboliseurs ultrarapides (UM) métabolisent trop rapidement la principale substance active, les taux thérapeutiques ne sont pas atteints, d'où une diminution de l'efficacité du traitement. Le raisonnement inverse s'applique pour les métaboliseurs limités (PM) chez lesquels la molécule-mère est peu transformée en métabolites, ce qui entraîne une augmentation de l'efficacité thérapeutique. En revanche, les pro-médicaments nécessitant une activation par le CYP2D6 pour être actifs voient leur efficacité diminuée chez les individus PM et augmentée chez les individus UM.

Parmi les médicaments métabolisés au moins partiellement par le CYP2D6, 50% ont leur métabolisme significativement affecté par le polymorphisme génétique de ce



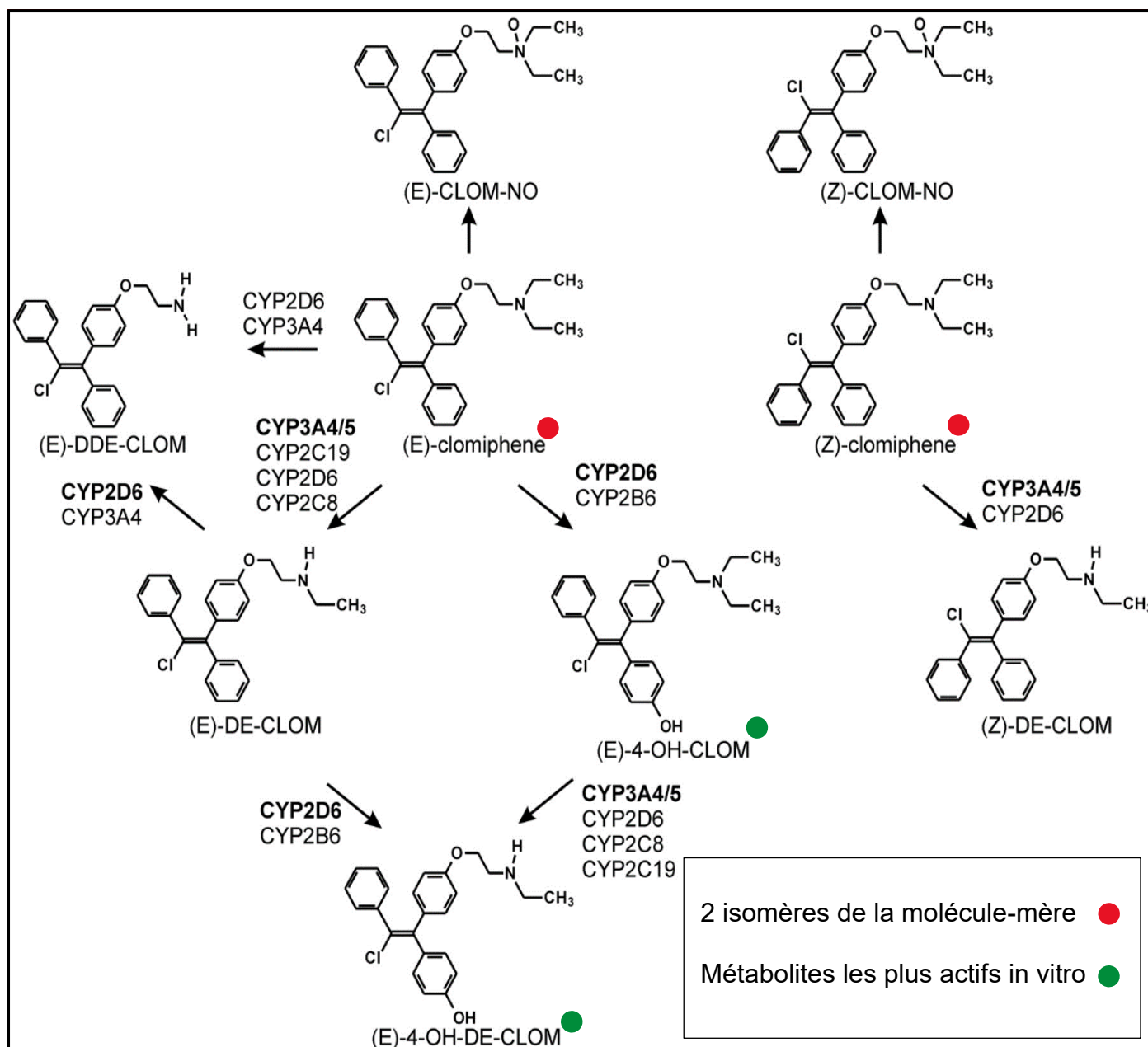
cytochrome. Cela concerne un grand nombre d'antidépresseurs, antipsychotiques, antiarythmiques et antalgiques (4–6,13,20). Par exemple, la codéine possède une action antalgique du fait de sa transformation en morphine par le CYP2D6. Ainsi, pour un même niveau d'antalgie, les individus PM nécessitent une dose plus élevée que les individus UM, et ces derniers présentent plus d'effets indésirables et de dépendance (7,14,21). De même, le CYP2D6 est impliqué dans le métabolisme de nombreux psychotropes. Contrairement à la codéine, l'action de ces traitements est principalement dû aux molécules-mères, ce qui induit une diminution d'efficacité chez les individus UM par rapport aux PM (5–8,14,20,22,23). Pour ces thérapeutiques il existe d'ailleurs des schémas précis d'adaptation de doses en fonction des molécules, de l'implication du CYP2D6 dans leur métabolisme et du phénotype CYP2D6 des patients (20,21,23).

D'autre part, de nombreuses publications ont étudié le lien entre le CYP2D6 et le tamoxifène, un anti-oestrogène utilisé chez les patientes non ménopausées atteintes de cancer du sein afin de réduire le risque de récurrence. La majorité de ces études et les méta-analyses récentes affirment qu'il existe un risque de récurrence et une survie sans maladie plus faible chez les patientes présentant un phénotype du CYP2D6 de type PM (5,7,14,24–28). Le tamoxifène est en effet actif via son métabolite principal, l'endoxifène, et la conversion du tamoxifène en endoxifène est réalisée par le CYP2D6. Les recommandations concernant le génotypage du CYP2D6 avant traitement par tamoxifène varient selon les pays (29). Aux Etats-Unis, l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) en 2010 (30) et les National Comprehensive Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) (31) en 2014 expliquaient que les preuves étaient encore insuffisantes pour modifier les conduites à tenir en fonction du phénotype 2D6, mais précisait qu'il fallait éviter l'association de médicaments métabolisés par le CYP2D6 pour ne pas diminuer l'efficacité du tamoxifène. A l'inverse, le résumé des recommandations du groupe de travail pharmacogénétique de l'association royale néerlandaise pour l'avancement de la pharmacie (KNMP) publié en 2011 par Swen et al préconisait le remplacement du tamoxifène par un anti-aromatase chez les métaboliseurs limités ou intermédiaires (32).

La structure du tamoxifène et son métabolisme sont très proches de ceux du citrate de clomiphène, un traitement appartenant à la même classe pharmacologique et fréquemment utilisé dans la prise en charge des infertilités liées à une dysovulation. Toutefois peu d'études ont été publiées concernant la possibilité de prédiction de réponse à ce traitement selon le statut du CYP2D6.

La réponse au citrate de clomiphène est variable selon les patientes, avec une ovulation obtenue dans 73% des cas à des doses variant de 1 à 3 comprimés (33). Les facteurs prédictifs de résistance au citrate de clomiphène sont mal définis, les résultats des différentes études sont contradictoires et il n'est actuellement pas possible de prédire la réussite ou non d'induction de l'ovulation (34–38).

Le citrate de clomiphène est un mélange de deux isomères géométriques : le citrate d'enclomiphène (E-clomiphène) et le citrate de zuclomiphène (Z-clomiphène) avec un ratio 62% / 38% (39). Le citrate d'enclomiphène est métabolisé principalement par le CYP2D6, et le Z-clomiphène par les CYP3A4 et CYP3A5 (40–42). Mürdter et al en 2012, à l'aide d'études dans des microsomes hépatiques poolés, a décrit 9 métabolites du citrate de clomiphène. Deux d'entre eux étaient très actifs in vitro dans l'antagonisme des récepteurs à oestrogènes : le E-4-hydroxy-N-desethylclomiphene ((E)-4-OH-DE-CLOM) et le E-4-hydroxyclophène ((E)-4-OH-CLOM), tous deux dérivés du E-clomiphène (42) (**Figure 1**).



**Figure 1 : Métabolisme du citrate de clomiphène et intervention des différents cytochromes d'après Mürdter et al, 2012 (42)**

A l'heure actuelle, seules 3 équipes ont étudié le lien entre la réponse au citrate de clomiphène et le statut génétique du CYP2D6, avec des résultats contradictoires (40,42,43). L'objectif de cette étude est d'évaluer le lien entre le statut génétique vis-à-vis du CYP2D6 et la réponse clinique au citrate de clomiphène chez des patientes infertiles dysovulantes. Notre but est de savoir si la variabilité de réponse clinique à ce traitement peut être liée au statut génétique de ce cytochrome.

## MATERIELS ET METHODES

### I. Design de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective, observationnelle, unicentrique, réalisée dans le service de gynécologie endocrinienne du CHRU de Lille, de juillet 2005 à janvier 2018, concernant 77 patientes âgées de 20 à 39 ans. Toutes les patientes ont signé un consentement éclairé pour l'étude génétique et l'analyse des données (**Annexe 1**).

### II. Population :

Toutes les patientes incluses dans l'étude ont bénéficié d'au moins un cycle de stimulation de l'ovulation par citrate de clomiphène suivi dans le service de gynécologie endocrinienne du CHRU de Lille. Les patientes souhaitaient une grossesse et présentaient une dysovulation normogonadotrope normoprolactinémique (type II de l'OMS, le plus souvent en lien avec un syndrome des ovaires polykystiques (SOPK)) bien déterminée après bilan clinique, hormonal et échographique. Les autres facteurs d'infertilité (tubaire ou masculine) étaient éliminés.

Le bilan hormonal comprenait notamment le dosage de l'AMH (kit de deuxième génération immuno-enzymatique AMH-EIA de Beckman Coulter Immunotech (Villepinte, France)). L'échographie pelvienne était réalisée par voie vaginale à l'aide d'une sonde de 5-9 Mhz, sur un appareil Voluson E8 Expert (General Electric systems, Velizy, France).

### III. Protocole de l'étude :

Pour le premier cycle d'induction de l'ovulation, les patientes recevaient 50 mg/jour (soit 1 comprimé) de citrate de clomiphène du deuxième au sixième jour du cycle menstruel. Une échographie pelvienne était réalisée entre le dixième et le douzième jour du cycle, afin de mesurer le diamètre du ou des follicules dominants. En cas de croissance de plus de deux follicules dominants, la réponse était considérée comme trop forte et des rapports protégés étaient préconisés. Un dosage de progestéronémie était effectué 8 à 10 jours après la date supposée d'ovulation. Les patientes qui présentaient un dosage de progestérone supérieur à 5 ng/ml avec croissance d'un ou deux follicules étaient considérées comme répondeuses à 1 comprimé de citrate de clomiphène, et restaient à cette dose pour les cycles suivants en

l'absence de grossesse, en effectuant la même surveillance. En cas de progestéronémie inférieure à 5 ng/ml, la dose de citrate de clomiphène était augmentée à 100 mg/jour au cycle suivant, jusque 150 mg/jour en cas de non réponse. Les patientes ont toutes reçues un à six cycles d'induction de l'ovulation par citrate de clomiphène.

Quatre groupes de réponses cliniques observées ont été réalisés : augmentée en cas de réponse à moins de 50 mg/j, normale en cas de réponse mono ou bifolliculaire à 50 ou 100 mg/j, faible/diminuée en cas de réponse à 150 mg/j, nulle/quasi-nulle si absence de réponse à 150 mg/j.

Un prélèvement de deux tubes EDTA de 5 ml de sang périphérique était réalisé chez toutes les patientes lors d'un de leur passage dans le service, pour l'analyse génétique.

#### **IV. Génotypage CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 :**

L'extraction d'ADN a été réalisée sur automate CheMagic Star (Hamilton Robotics) selon les instructions du fournisseur. Le séquençage du gène CYP2D6 a été effectué à l'aide du kit de séquençage BigDye Terminator Kit (Applied Biosystems SARL), l'électrophorèse et l'analyse des produits de réaction ont été réalisées sur un séquenceur automatique Applied Biosystems 3130 XL 48 capillaires. Les séquences ont été analysées avec le logiciel SeqScape Software v2.5.6. L'identité de la séquence cDNA de référence utilisée est NM\_000106.5, le A de l'ATG d'initiation de la traduction étant numéroté 1. La recherche des réarrangements de structure du locus du gène CYP2D6, à type de délétion et d'amplification, a été effectuée à l'aide du kit TaqMan Copy Number Assay ID Hs00010001\_cn commercialisé par la société Applied Biosystems (Applied Biosystems, Foster City, California, USA), et un automate à haut débit (TaqMan 7900, Applied Biosystems), selon les instructions des fournisseurs.

En ce qui concerne les génotypages des CYP3A4 et CYP3A5, la recherche des mutations (NM\_017460.5 :c522-191C>T (rs35599367) pour le gène CYP3A4 et NM\_000777.4 :c219-237A>G (rs776746) pour le gène CYP3A5) a été effectuée à l'aide d'une méthode basée sur la PCR en temps réel, d'un automate à haut débit (TaqMan 7900, Applied Biosystems) et l'utilisation d'un kit TaqMan SNP Genotyping Assay (Assay ID : C\_59013445\_10, Applied Biosystems pour CYP3A4 et Assay ID : C\_26201809\_30, Applied Biosystems pour CYP3A5). Nous avons considéré arbitrairement qu'un allèle du gène ne portant pas la mutation est fonctionnel (CYP3A4\*1, CYP3A5\*1).

## V. Prédiction des réponses selon les génotypes CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5 :

Pour la voie métabolique médiée par le CYP2D6, permettant la synthèse des métabolites les plus actifs (42) :

Les patientes étaient classées en 4 groupes : PM/UM/IM/EM selon la combinaison d'allèles fonctionnels, non fonctionnels, dupliqués ou délétés, conformément aux références précédemment citées et résumées dans le **Tableau 1** (4,6,10).

Pour l'analyse de la concordance des prédictions de réponse entre le génotype du CYP2D6 et la réponse réelle, les individus PM étaient considérés comme ayant une réponse attendue nulle ou quasi-nulle, les IM une réponse faible ou diminuée, les EM une réponse normale, et les UM une réponse augmentée.

Pour la voie métabolique médiée par CYP3A4 et CYP3A5, aboutissant à la synthèse de (Z)-DE-CLOM :

Quatre groupes d'activité ont été créés :

- Limitée en cas de génotype responsable d'un déficit en CYP3A4 et CYP3A5,
- Intermédiaire1 en cas de génotype responsable d'un déficit en CYP3A5 avec activité normale du CYP3A4,
- Intermédiaire 2 en cas de génotype responsable d'un déficit en CYP3A4 avec activité normale du CYP3A5,
- Extensive en cas de génotype responsable de CYP3A4 et CYP3A5 fonctionnels.

La combinaison des prédictions d'activité des deux voies métaboliques nous permettait de prédire la réponse globale au citrate de clomiphène, comme le résume le **tableau 3**.

**Tableau 3 : Hypothèse de prédiction de réponse au citrate de clomiphène selon les phénotypes CYP 2D6, CYP 3A4 et CYP 3A5 :**

Phénotype 2D6 \ Phénotype 3A4 + 3A5	EM : Normal sans mutation ni duplication	IM : muté sur 1 allèle	UM : Duplication	PM: muté sur les 2 allèles / délétion
Extensif : fonctionnel + fonctionnel	Faible	Faible	Normale ou augmentée	Quasi nulle
Intermédiaire1 Fonctionnel+ Déficitaire	Normale	Possiblement diminuée	Augmentée	Faible
Intermédiaire2 Déficitaire + Fonctionnel	Normale	Possiblement diminuée	Augmentée	Faible
Limité : Déficitaire + Déficitaire	Augmentée	Normale	Augmentée	Faible

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

EM = Métaboliseur extensif

## VI. Analyse statistique :

Les caractéristiques des patientes selon la réponse clinique observée et selon le statut CYP2D6 ont été comparées à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis et du logiciel Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago II USA version 22.0). Le calcul d'un coefficient Kappa pondéré a permis d'évaluer la corrélation entre les réponses cliniques observées et les prédictions de réponse selon le génotype CYP2D6 uniquement d'une part, et la combinaison des statuts génétiques des CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5 d'autre part. Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Un coefficient Kappa supérieur à 0.8 correspond à un accord fort entre les deux paramètres, un coefficient entre 0.8 et 0.4 correspond à un accord modéré et un coefficient inférieur à 0.4 correspond à un accord faible. Un coefficient Kappa négatif correspond à un grand désaccord. Le calcul de ces coefficients a été réalisé par l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille, en utilisant le logiciel SAS (SAS Institute version 9.4). Dans un deuxième temps, un test ANOVA post hoc de Bonferroni a été réalisé afin de comparer les AMH des différents groupes de réponse clinique, à l'aide du logiciel SPSS (Chicago II USA version 22.0).



## RESULTATS

Soixante-dix-sept patientes ont été incluses, deux d'entre elles ont été prise en charge dans notre service pour une deuxième grossesse, il y a de ce fait 79 profils de réponse clinique observée.

Les caractéristiques générales des patientes sont présentées dans le **Tableau 4**.

**Tableau 4 : Caractéristiques des patientes incluses**

Caractéristiques	Médianes [5 <sup>ème</sup> -95 <sup>ème</sup> percentiles]
Age (ans)	28 [21-36]
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25 [18,5-35,4]
AMH (pmol/L)	72,8 [26-190]
CFA	55,5 [25-135]

Concernant leur génotype, 4 patientes métaboliseurs limités (PM) ont été détectées, dont 1 patiente présentant une délétion homozygote du gène du CYP2D6. A l'inverse, 5 patientes métaboliseurs ultrarapides (UM) ont été incluses, ainsi que 41 patientes métaboliseurs normaux (EM) et 27 métaboliseurs intermédiaires (IM). La répartition interethnique des phénotypes CYP2D6 dans notre population est résumée dans le **Tableau 5**.

**Tableau 5 : Répartition inter-ethnique des phénotypes CYP2D6 dans notre population**

		Statut CYP2D6				
		PM	UM	IM	EM	Total
Origine	Europe	4 (6,3%)	3 (4,7%)	26 (41,2%)	30	<b>63</b>
	Moyen-Orient	0	2 (1,6%)	1	9	<b>12</b>
	Afrique	0	0	0	1	<b>1</b>
	Asie	0	0	0	1	<b>1</b>
						<b>77</b>

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

EM = Métaboliseur extensif

En ce qui concerne les réponses cliniques, il y a eu 8 réponses nulles ou quasi-nulles, 11 réponses faibles ou diminuées, 47 réponses normales et 13 réponses augmentées. Les **Tableaux 6 et 7** présentent les caractéristiques des patientes selon le groupe de réponse clinique auquel elles appartiennent et selon le statut CYP2D6, respectivement. Le test de Kruskal-Wallis ne retrouve pas de différence significative concernant l'âge ( $p=0,900$ ), le BMI ( $p=0,715$ ) ou le CFA ( $p=0,051$ ), en revanche les réponses étaient meilleures quand l'AMH diminuait ( $p=0,020$ ). Parallèlement, il n'existe pas de différence statistique entre les phénotypes CYP2D6 pour les quatre caractéristiques étudiées.

**Tableau 6 : Caractéristiques des patientes selon les réponses cliniques observées**

		Réponses cliniques observées				Valeur de $p$
		Nulle/ Quasi-nulle (n=8)	Faible/ Diminuée (n=11)	Normale (n=47)	Augmen- tée (n=13)	
Caractéristiques (exprimées en médianes [5 <sup>ème</sup> -95 <sup>ème</sup> percentiles])	Age (ans)	27,5 [21-32]	28 [22-34]	28 [20,4-36]	29 [23-35,6]	<b>0,900</b>
	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,8 [18,4-35,7]	27 [19-33,4]	25,2 [19-35,85]	24 [18,5-32,1]	<b>0,715</b>
	AMH (pmol/L)	130,15 [63-115,2]	84,8 [35-111,8]	2,15 [22,4-185]	51,25 [35,8-118,5]	<b>0,020</b>
	CFA	81,5 [33-115,2]	75 [29-114,1]	54 [17,8-93]	47 [30-136,2]	<b>0,051</b>

Tableau 7 : Caractéristiques des patientes selon le statut 2D6

		Statut 2D6				Valeur de <i>p</i>
		PM	IM	EM	UM	
Caractéristiques (exprimées en médianes [5 <sup>ème</sup> -95 <sup>ème</sup> percentiles])	Age (ans)	25 [20-32]	29 [22,45- 35,55]	28 [21-37,7]	26 [24-27]	<b>0,083</b>
	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,25 [19-30]	25,4 [18,5-35,7]	24,6 [18,49- 36,36]	30,8 [22,8-34]	<b>0,521</b>
	AMH (pmol/L)	59,75 [40,6-170]	84,45 [19,33-190]	67,5 [29,18- 198,5]	84,8 [72,8-126]	<b>0,743</b>
	CFA	65,5 [47-82]	59,5 [13,9-135]	54 [26-167]	57,5 [38-66]	<b>0,872</b>

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

EM = Métaboliseur extensif

Pour l'analyse de concordance entre les réponses attendues selon le génotype du CYP2D6 et les réponses observées, le coefficient Kappa est négatif ( $K = -0,0609$ ), ce qui correspond à un grand désaccord entre les réponses cliniques observées et les réponses attendues selon le statut CYP2D6 (**Tableau 8**). En effet seules 39,24% des réponses prédites ont été vérifiées cliniquement.

De même le test de concordance entre les réponses attendues selon la combinaison des génotypes des 3 cytochromes et les réponses observées retrouve un coefficient négatif ( $K = -0,0240$ ) (**Tableau 9**), avec 36,71% de concordance entre les prédictions et les réponses réelles.

**Tableau 8 : Réponses cliniques observées en fonction du statut CYP2D6**

		Phénotype CYP2D6 (Prédiction de réponse)				Total
		PM (Nulle/ Quasi-nulle)	IM (Faible/ Diminuée)	EM (Normale)	UM (Augmentée)	
Réponses cliniques observées	Nulle/Quasi-nulle	0 0.00 %	1 1.27 %	7 8.86 %	0 0.00 %	<b>8</b> <b>10.13</b> %
	Faible/Diminuée	0 0.00 %	6 7.59 %	4 5.06 %	1 1.27 %	<b>11</b> <b>13.92</b> %
	Normale	2 2.53 %	16 20.25 %	25 31.65 %	4 5.06 %	<b>47</b> <b>59.49</b> %
	Augmentée	2 2.53 %	5 6.33 %	6 7.59 %	0 0.00 %	<b>13</b> <b>16.46</b> %
Total		4 5.06 %	28 35.44 %	42 53.16 %	5 6.33 %	<b>79</b> <b>100.00</b> %
<b>Coefficient Kappa de concordance : <math>K = -0.0609</math></b>						

PM = Métaboliseur faible

UM = Métaboliseur ultra-rapide

IM = Métaboliseur intermédiaire

EM = Métaboliseur extensif

**Tableau 9 : Réponses cliniques observées en fonction des prédictions de réponse selon la combinaison des statuts CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5**

		Réponses attendues				Total
		Nulle/ Quasi-Nulle	Faible/ diminuée	Normale	Augmentée	
Réponses cliniques observées	Nulle/Quasi-Nulle	0 0.00 %	2 2.53 %	6 7.59 %	0 0.00 %	<b>8</b> <b>10.13</b> %
	Faible/diminuée	0 0.00 %	8 10.13 %	2 2.53 %	1 1.27 %	<b>11</b> <b>13.92</b> %
	Normale	0 0.00 %	22 27.85 %	21 26.58 %	4 5.06 %	<b>47</b> <b>59.49</b> %
	Augmentée	1 1.27 %	8 10.13 %	4 5.06 %	0 0.00 %	<b>13</b> <b>16.46</b> %
Total		<b>1</b> <b>1.27 %</b>	<b>40</b> <b>50.63 %</b>	<b>33</b> <b>41.77 %</b>	<b>5</b> <b>6.33 %</b>	<b>79</b> <b>100.00</b> %
<b>Kappa de concordance : K= -0.0240</b>						

Enfin, le test ANOVA post hoc de Bonferroni a été réalisé dans le but de déterminer si l'AMH était prédictif de la réponse clinique au citrate de clomiphène. L'absence de réponse clinique est associée significativement à des taux d'AMH supérieures par rapport à ceux des patientes ayant répondu faiblement, normalement ou de façon excessive ( $p=0,040$ ,  $p=0,06$ ,  $p=0,02$  respectivement). Pour les autres catégories de réponse clinique, les résultats n'étaient pas significatifs (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Comparaison des taux d'AMH selon les groupes de réponse clinique

Réponse clinique comparée	Autres réponses cliniques	Valeur de $p$ [IC 95%]
<b>Nulle/Quasi-Nulle</b>	Faible/Diminuée	<b>0,040</b> [1,710 - 116,0,99]
	Normale	<b>0,006</b> [12,313 - 102,794]
	Augmentée	<b>0,002</b> [22,438 - 129,887]
<b>Faible/Diminuée</b>	Nulle/Quasi-Nulle	<b>0,040</b> [(-116,099) - (-1,710)]
	Normale	1,000 [(-44,412) - 41,710]
	Augmentée	1,000 [(-34,645) - 69,161]
<b>Normale</b>	Nulle/Quasi-Nulle	<b>0,006</b> [(-102,794) - (-12,313)]
	Faible/Diminuée	1,000 [(-41,710) - 44,412]
	Augmentée	1,000 [(-19,724) - 56,942]
<b>Augmentée</b>	Nulle/Quasi-Nulle	<b>0,002</b> [(-129,887) - (-22,438)]
	Faible/Diminuée	1,000 [(-69,161) - 34,645]
	Normale	1,000 [(-56,942) - 19,724]

## DISCUSSION

Cette étude montre que le phénotype CYP2D6 n'est pas corrélé à la réponse clinique au citrate de clomiphène chez la femme infertile dysovulante.

D'après la littérature disponible, il s'agit de la deuxième étude comparant la réponse clinique au citrate de clomiphène et le statut génétique du cytochrome P450 2D6. Nos résultats sont en accord avec ceux de l'équipe de Ji et al en 2016 qui ne mettait pas en évidence de corrélation entre le génotype CYP2D6 et la réponse clinique, ni entre le génotype CYP2D6 et les concentrations en métabolites actifs (43). Par ailleurs, leur étude montrait une corrélation entre la réponse clinique au citrate de clomiphène et les concentrations plasmatiques en molécule mère et métabolites actifs. En effet, dans le groupe de patientes « répondeuses », les concentrations plasmatiques en E-clomiphène étaient significativement supérieures. Il y avait une tendance à une augmentation des métabolites actifs (E)-4-OH-Clom et (E)-4-OH-DE-Clom (NS), par rapport aux patientes « non-répondeuses », qui avaient quant à elles des concentrations en (Z)-clomiphène-NO significativement supérieures.

Leurs résultats n'étaient pas en accord avec ceux de Mürdter et al en 2012 qui retrouvaient une corrélation entre génotype et concentrations plasmatiques. Les taux plasmatiques de métabolites actifs (E)-4-OH-Clom et (E)-4-OH-DE-Clom étaient en effet 8 à 50 fois supérieurs chez leurs quatre patientes métaboliseur extensif (EM) en comparaison aux concentrations observées chez les deux patientes métaboliseur faible (PM) incluses chez lesquelles on observait des concentrations en molécule-mère (E-clomiphène) 6 fois supérieures (42). Ces résultats confortaient ceux de Ghobadi et al en 2008, qui affirmaient que l'étendue du métabolisme du E-clomiphène était corrélée à la quantité de CYP2D6 présente (40). Néanmoins ces deux études n'évaluaient pas la réponse clinique dans l'induction de l'ovulation.

De plus, Ghobadi et al en 2009 affirmaient que les concentrations en E-clomiphène et Z-clomiphène n'étaient pas prédictives de la réponse clinique au citrate de clomiphène dans l'induction de l'ovulation (39), ce qui était contradictoire aux prédictions des deux études précédentes, et n'a pas été retrouvé par Ji et al en 2016 (43).

Dans notre étude, nous n'avons pas pu doser les concentrations plasmatiques des différents métabolites pour des raisons techniques, les poudres pures des métabolites du citrate de clomiphène n'étant pas commercialisées.

L'un des points forts de notre population est la présence de phénotypes « extrêmes », avec 4 patientes métaboliseurs faibles pour le CYP2D6 (PM), 5 patientes métaboliseurs ultra-rapides (UM), et 4 patientes ayant une augmentation d'activité des CYP3A4 et CYP3A5, ce qui n'était pas le cas dans la population coréenne étudiée par l'équipe de Ji en 2016 où aucun phénotype PM ni UM n'avait été recruté (43). Par rapport aux données de la littérature indiquant la présence de 10 à 15% de métaboliseurs intermédiaires (IM) dans la population caucasienne (11–14), notre cohorte retrouvait une prévalence plus importante de ce phénotype (41,2% des patientes caucasiennes incluses). Néanmoins, ces effectifs restent faibles et il en découle un manque de puissance de notre étude. Il s'agit donc d'une étude princeps, dont les résultats sont à confirmer par d'autres études aux effectifs supérieurs.

L'une des hypothèses permettant d'expliquer nos résultats serait la prise d'autres médicaments métabolisés par le CYP2D6, pouvant provoquer une compétition au niveau de l'activité du CYP2D6 et modifier les métabolismes et donc les réponses cliniques aux thérapeutiques, mais l'interrogatoire ne retrouvait aucune prise de médicament autre que l'acide folique et le citrate de clomiphène.

La réponse clinique au citrate de clomiphène ne semble donc pas être directement corrélée au statut génétique des CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5. L'observation de deux réponses cliniques totalement différentes pour une même patiente vient conforter cette affirmation. En effet, parmi les 2 patientes ayant été stimulées à deux périodes différentes en vue d'une deuxième grossesse, l'une d'entre elles a répondu normalement pour la première stimulation, et n'a pas du tout répondu la deuxième fois. Les seuls facteurs ayant été modifiés entre ses deux stimulations étant l'âge (+4 ans) et la prise de 10 kg entre les deux stimulations (BMI passant de 28 à 31,4), mais l'âge et le BMI ne sont pas significativement associés à une moins bonne réponse au citrate de clomiphène dans notre étude ( $p=0,900$  et  $p=0,715$ , respectivement). Il existe probablement d'autres facteurs interagissant et permettant d'expliquer les différences de réponse clinique à ce traitement. Comme le précisent Meyer et al en 2004 (44), la plupart des effets thérapeutiques des médicaments est liée à des interactions complexes entre des facteurs génétiques, cliniques, biologiques et environnementaux. Pour le moment, malgré de nombreuses études recherchant des facteurs prédictifs de la réponse au citrate de clomiphène (34–38), il n'a pas été retrouvé de facteurs permettant de prédire précisément la capacité de réponse des patientes au citrate de clomiphène. Nos résultats sont concordants avec ces études pour ce qui concerne l'âge, le



BMI et le CFA, cependant dans notre cohorte la réponse clinique au citrate de clomiphène semblait être meilleure lorsque l'AMH n'était pas trop augmentée ( $p=0,020$ ). L'analyse ANOVA post hoc de Bonferroni a mis en évidence que les taux d'AMH étaient significativement plus élevés dans le groupe de patientes n'ayant pas répondu cliniquement au citrate de clomiphène, toutefois les résultats n'étaient pas significatifs pour les autres catégories de réponse clinique. De plus, la patiente ayant été stimulée à 4 ans d'intervalle et n'ayant pas répondu lors de la deuxième stimulation n'avait pas eu de modification significative de son taux d'AMH (63 pmol/L contre 68 pmol/L lors de la première stimulation). Ces observations nous ont fait rechercher une éventuelle différence de taux d'AMH selon les phénotypes CYP2D6, et aucune différence n'a été retrouvée ( $p=0,743$ ). Le statut CYP2D6 ne semble donc pas déterminer l'AMH.

D'autres mécanismes peuvent également expliquer nos résultats. L'activité du citrate de clomiphène est peut-être médiée non seulement par les métabolites, mais aussi par la molécule-mère. Il existe probablement d'autres mutations des CYP2D6, CYP3A4 et CYP3A5, non connues à l'heure actuelle, modifiant ainsi les phénotypes prédits, comme le précise Zhou et al en 2009 (7). En effet, pour les CYP3A4 et CYP3A5, nous n'avons recherché qu'une seule mutation pour chaque cytochrome par la technique TaqMan. En revanche pour ce qui est du CYP2D6, la technique de séquençage Sanger utilisée dans notre étude permet de détecter un très grand nombre de mutations, et il semble peu probable que des mutations n'aient pas été détectées. Le métabolisme du citrate de clomiphène est possiblement différent de celui supposé par la publication de Mürdter en 2012 (42). En effet Mazzarino et al ont décrit en 2013 (41) un métabolite du citrate de clomiphène différent de celui défini par Mürdter l'année précédente (42). L'équipe y décrit 22 métabolites au lieu de 9, et ne retrouve que 4 des 9 métabolites précédemment cités. De plus, elle ne retrouve pas la même action du CYP2D6 dans ce métabolisme, ce qui pourrait modifier les prédictions de réponse. Il paraît donc nécessaire, avant d'entreprendre une étude sur la réponse clinique de plus grande puissance, de mieux comprendre le métabolisme du citrate de clomiphène et l'action des différents cytochromes dans celui-ci.

## CONCLUSION

Le polymorphisme génétique des cytochromes P450 2D6, 3A4 et 3A5 n'est pas prédictif de la réponse clinique au citrate de clomiphène dans notre population de 75 patientes infertiles dysovulantes. Cependant, la puissance faible de notre étude nécessite une confirmation des résultats par des études plus larges afin de définir les facteurs prédictifs de réponse à ce traitement fréquemment utilisé en gynécologie. Une connaissance plus précise du métabolisme de cette molécule et de l'intervention des cytochromes P450 dans celui-ci est nécessaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Cytochrome P450 Homepage [Internet]. [cité 7 janv 2018]. Disponible sur: <http://drnelson.uthsc.edu/CytochromeP450.html>
2. Bradford LD. CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*. mars 2002;3(2):229-43.
3. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*. 15 oct 1999;286(5439):487-91.
4. Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. janv 2004;369(1):23-37.
5. Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J*. 2005;5(1):6-13.
6. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. *Pharmacol Ther*. déc 2007;116(3):496-526.
7. Zhou S-F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(12):761-804.
8. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol Sci*. avr 2004;25(4):193-200.
9. CYP2D6 [Internet]. [cité 25 janv 2018]. Disponible sur: <https://www.pharmvar.org/htdocs/archive/cyp2d6.htm>
10. Bertilsson L, Dahl ML, Sjöqvist F, Aberg-Wistedt A, Humble M, Johansson I, et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet Lond Engl*. 2 janv 1993;341(8836):63.
11. Bock KW, Schrenk D, Forster A, Griese EU, Mörike K, Brockmeier D, et al. The influence of environmental and genetic factors on CYP2D6, CYP1A2 and UDP-glucuronosyltransferases in man using sparteine, caffeine, and paracetamol as probes. *Pharmacogenetics*. août 1994;4(4):209-18.

12. LLerena A, Naranjo MEG, Rodrigues-Soares F, Penas-LLedó EM, Fariñas H, Tarazona-Santos E. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* nov 2014;10(11):1569-83.
13. Bernard S, Neville KA, Nguyen AT, Flockhart DA. Interethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6 in the U.S. population: clinical implications. *The Oncologist.* févr 2006;11(2):126-35.
14. Zhou S-F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(11):689-723.
15. Griesse EU, Zanger UM, Brudermanns U, Gaedigk A, Mikus G, Mörike K, et al. Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics.* févr 1998;8(1):15-26.
16. Gaedigk A, Gotschall RR, Forbes NS, Simon SD, Kearns GL, Leeder JS. Optimization of cytochrome P4502D6 (CYP2D6) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data. *Pharmacogenetics.* déc 1999;9(6):669-82.
17. Gibbs JP, Hyland R, Youdim K. Minimizing polymorphic metabolism in drug discovery: evaluation of the utility of in vitro methods for predicting pharmacokinetic consequences associated with CYP2D6 metabolism. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* sept 2006;34(9):1516-22.
18. Sachse C, Brockmöller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet.* févr 1997;60(2):284-95.
19. Steiner E, Iselius L, Alván G, Lindsten J, Sjöqvist F. A family study of genetic and environmental factors determining polymorphic hydroxylation of debrisoquin. *Clin Pharmacol Ther.* oct 1985;38(4):394-401.
20. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong M-L, Licinio J, Roots I, et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry.* mai 2004;9(5):442-73.
21. Crews KR, Gaedigk A, Dunnenberger HM, Klein TE, Shen DD, Callaghan JT, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for codeine therapy in the context of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) genotype. *Clin Pharmacol Ther.* févr 2012;91(2):321-6.

22. Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, Stüven T, Evert BO, Schwab M, et al. Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics*. oct 2001;11(7):573-85.
23. Hicks JK, Sangkuhl K, Swen JJ, Ellingrod VL, Müller DJ, Shimoda K, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline (CPIC) for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants: 2016 update. *Clin Pharmacol Ther*. 20 déc 2016;
24. Lu J, Li H, Guo P, Shen R, Luo Y, Ge Q, et al. The effect of CYP2D6 \*10 polymorphism on adjuvant tamoxifen in Asian breast cancer patients: a meta-analysis. *OncoTargets Ther*. 2017;10:5429-37.
25. Zembutsu H, Nakamura S, Akashi-Tanaka S, Kuwayama T, Watanabe C, Takamaru T, et al. Significant Effect of Polymorphisms in CYP2D6 on Response to Tamoxifen Therapy for Breast Cancer: A Prospective Multicenter Study. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 2017;23(8):2019-26.
26. Zeng Z, Liu Y, Liu Z, You J, Chen Z, Wang J, et al. CYP2D6 polymorphisms influence tamoxifen treatment outcomes in breast cancer patients: a meta-analysis. *Cancer Chemother Pharmacol*. août 2013;72(2):287-303.
27. Stingl JC, Parmar S, Huber-Wechselberger A, Kainz A, Renner W, Seeringer A, et al. Impact of CYP2D6\*4 genotype on progression free survival in tamoxifen breast cancer treatment. *Curr Med Res Opin*. nov 2010;26(11):2535-42.
28. Stearns V, Rae JM. Pharmacogenetics and breast cancer endocrine therapy: CYP2D6 as a predictive factor for tamoxifen metabolism and drug response? *Expert Rev Mol Med*. 20 nov 2008;10:e34.
29. Dean L. Tamoxifen Therapy and CYP2D6 Genotype. In: Pratt V, McLeod H, Dean L, Malheiro A, Rubinstein W, éditeurs. *Medical Genetics Summaries* [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012 [cité 21 déc 2017]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK247013/>
30. Burstein HJ, Griggs JJ, Prestrud AA, Temin S. American society of clinical oncology clinical practice guideline update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer. *J Oncol Pract*. sept 2010;6(5):243-6.
31. National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines): Breast Cancer Version 3.2014. [Consulté le 25/01/2018]. Disponible sur: <http://www.nccn.org/>.

32. Swen JJ, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee AH, Mulder H, et al. Pharmacogenetics: from bench to byte--an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* mai 2011;89(5):662-73.
33. Homburg R. Clomiphene citrate--end of an era? A mini-review. *Hum Reprod Oxf Engl.* août 2005;20(8):2043-51.
34. Lobo RA, Gysler M, March CM, Goebelsmann U, Mishell DR. Clinical and laboratory predictors of clomiphene response. *Fertil Steril.* févr 1982;37(2):168-74.
35. Ghobadi C, Nguyen TH, Lennard MS, Amer S, Rostami-Hodjegan A, Ledger WL. Evaluation of an existing nomogram for predicting the response to clomiphene citrate. *Fertil Steril.* mars 2007;87(3):597-602.
36. Imani B, Eijkemans MJ, de Jong FH, Payne NN, Bouchard P, Giudice LC, et al. Free androgen index and leptin are the most prominent endocrine predictors of ovarian response during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* févr 2000;85(2):676-82.
37. Imani B, Eijkemans MJ, te Velde ER, Habbema JD, Fauser BC. Predictors of patients remaining anovulatory during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* juill 1998;83(7):2361-5.
38. Kurabayashi T, Suzuki M, Fujita K, Murakawa H, Hasegawa I, Tanaka K. Prognostic factors for ovulatory response with clomiphene citrate in polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1 juin 2006;126(2):201-5.
39. Ghobadi C, Amer S, Lashen H, Lennard MS, Ledger WL, Rostami-Hodjegan A. Evaluation of the relationship between plasma concentrations of en- and zuclophene and induction of ovulation in anovulatory women being treated with clomiphene citrate. *Fertil Steril.* avr 2009;91(4):1135-40.
40. Ghobadi C, Gregory A, Crewe HK, Rostami-Hodjegan A, Lennard MS. CYP2D6 is primarily responsible for the metabolism of clomiphene. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2008;23(2):101-5.
41. Mazzarino M, Biava M, de la Torre X, Fiacco I, Botrè F. Characterization of the biotransformation pathways of clomiphene, tamoxifen and toremifene as assessed by LC-MS/(MS) following in vitro and excretion studies. *Anal Bioanal Chem.* juin 2013;405(16):5467-87.

42. Mürdter TE, Kerb R, Turpeinen M, Schroth W, Ganchev B, Böhmer GM, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2D6 determines oestrogen receptor activity of the major infertility drug clomiphene via its active metabolites. *Hum Mol Genet.* 1 mars 2012;21(5):1145-54.
43. Ji M, Kim K-R, Lee W, Choe W, Chun S, Min W-K. Genetic Polymorphism of CYP2D6 and Clomiphene Concentrations in Infertile Patients with Ovulatory Dysfunction Treated with Clomiphene Citrate. *J Korean Med Sci.* févr 2016;31(2):310-4.
44. Meyer UA. Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet.* sept 2004;5(9):669-76.

## ANNEXE

## Consentement pour analyse génétique signé par les patientes incluses

Pôle de Biologie Pathologie Génétique – Laboratoire du CHRU de Lille- CS70001 - 59037 Lille CEDEX

V.15-06.2015

**CONSENTEMENT EN VUE D'UN EXAMEN DES CARACTERISTIQUES GENETIQUES A DES FINS MEDICALES ET LA CONSERVATION DES ECHANTILLONS DANS UNE BANQUE D'ADN OU UN CENTRE DE RESSOURCES BIOLOGIQUES**

IDENTIFICATION DU PATIENT	IDENTITE DU REPRESENTANT LEGAL
NOM .....	<input type="checkbox"/> Titulaire de l'autorité parentale <input type="checkbox"/> Tuteur
Prénom .....	NOM : .....
Nom de jeune fille : .....	Prénom : .....
Date de naissance : .....	Date de naissance : .....

Je soussigné(e), Mme, Mr ..... déclare avoir bénéficié d'une consultation auprès du Dr ..... et avoir été informé(e) de la nature des examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisés :

Chez moi-même

Chez mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur : NOM..... Prénom : .....

Les examens génétiques demandés concernent la maladie (ou groupe de maladies) suivante(s):

**Je reconnais** avoir reçu l'ensemble des informations me permettant la compréhension des conditions de réalisation, des limites et de la finalité de cet acte biologique et des conséquences des résultats pour moi-même, mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur et éventuellement la famille.

**Je donne mon consentement** pour la réalisation de ces analyses mais à tout moment, je peux demander que l'étude génétique soit interrompue ou que les résultats ne me soient pas communiqués.

**J'autorise** le recueil, la saisie et le traitement informatique des données médicales nécessaires à cet examen.

**J'autorise** la conservation au laboratoire du matériel biologique issu du prélèvement mais à tout moment, je peux en demander la destruction. Dans ce cas, j'en informerai le médecin désigné ci-dessus.

**Le résultat est confidentiel.** Il me sera rendu et expliqué en consultation par le médecin qui l'a prescrit.

**J'ai compris** que si une anomalie génétique responsable d'une prédisposition ou d'une affection grave était mise en évidence, je devrai permettre la transmission de cette information aux apparentés potentiellement concernés. J'ai été averti que mon silence pouvait leur faire courir des risques ainsi qu'à leur descendance, dès lors que des mesures de prévention, y compris de conseil génétique ou de soins peuvent être proposées. Ainsi, lors du rendu de résultat, je devrai choisir entre : 1) Assurer moi-même la diffusion de l'information 2) Autoriser le médecin prescripteur à diffuser l'information génétique aux membres de la famille potentiellement concernés.

<b>J'accepte</b> , si mes résultats, ceux de mon enfant mineur ou de la personne dont je suis tuteur apparaissent médicalement essentiels pour les apparentés, qu'ils puissent être utilisés dans leur intérêt, y compris après mon décès, celui de mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur.	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
<b>J'accepte</b> , si le diagnostic restait en suspens, l'utilisation ultérieure des échantillons biologiques pour d'autres analyses génétiques à visée diagnostique en fonction des progrès et des connaissances.	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
Au cas où l'analyse réalisée révélerait une caractéristique génétique sans lien avec la raison pour laquelle elle est prescrite, <b>je souhaite</b> en être informé, si en l'état actuel des connaissances, ces résultats peuvent avoir une conséquence pour ma santé, celle de mon enfant mineur ou la personne dont je suis tuteur.	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON
<b>J'autorise</b> le stockage et l'utilisation pour la recherche scientifique, du prélèvement après la réalisation des analyses à visée diagnostique, sans que l'on doive me recontacter.	<input type="checkbox"/> OUI <input type="checkbox"/> NON

Fait à ..... le ..... SIGNATURE du patient ou de son représentant légal

**ATTESTATION DE CONSULTATION MEDICALE INDIVIDUELLE**

ATTESTATION DU MEDECIN PRESCRIPTEUR	Signature et cachet :
Nom, Prénom du médecin prescripteur : .....	
certifie avoir informé le patient sus nommé sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du patient dans les conditions du code de la santé publique (article n°R1131-4 et 5).	

**Rappel concernant la législation** fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne : Le médecin prescripteur doit conserver le consentement écrit, les doubles de la prescription et de l'attestation et les comptes rendus d'analyses de biologie médicale commentés et signés. Le laboratoire agréé réalisant les examens doit disposer de la prescription et de l'attestation du prescripteur, adresser le compte rendu d'analyse de biologie médicale commenté et signé par un praticien responsable agréé, exclusivement au médecin prescripteur des examens génétiques.

Loi n°2011-814 du 7/07/2011 relative à la bioéthique ; décret 2013-527 du 20 juin 2013 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques à des fins médicales ; loi 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique et aux libertés. Arrêté du 27 mai 2013 définissant les règles de bonnes pratiques applicables à l'examen des caractéristiques génétiques d'une personne à des fins médicales.

Les règles de bonnes pratiques de prescription d'une analyse génétique sont consultables sur le site du PBPG :

<http://biologiepathologie.chru-lille.fr/documents/127870.html>



**AUTEUR : Nom : ROBIN**

**Prénom : Camille**

**Date de Soutenance : 03 avril 2018**

**Titre de la Thèse : Etude de la relation entre le polymorphisme génétique du cytochrome P450 2D6 et la réponse clinique au citrate de clomiphène chez des femmes infertiles dysovulantes**

**Thèse - Médecine - Lille 2018**

**Cadre de classement : Gynécologie Médicale**

**DES + spécialité : DES de Gynécologie Médicale**

**Mots-clés** : citrate de clomiphène, cytochrome P450 2D6, dysovulation, hormone anti-müllérienne, induction de l'ovulation, syndrome des ovaires polykystiques.

**Contexte** : Le cytochrome P450 2D6 participe au métabolisme de nombreux médicaments. Il présente un polymorphisme génétique responsable de quatre phénotypes de métabolisme différents. Le génotype de cette protéine est utilisé pour prédire l'efficacité et/ou adapter les posologies de certains médicaments, notamment le tamoxifène, dont la structure est proche de celle du citrate de clomiphène, utilisé dans l'induction de l'ovulation. La réponse à ce traitement proposé très fréquemment dans la prise en charge de la dysovulation du syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est variable et aucun facteur prédictif n'a été mis en évidence à l'heure actuelle. Le but de ce travail est d'évaluer un éventuel lien entre le génotype du cytochrome et la réponse au citrate de clomiphène.

**Méthodes** : Soixante-dix-sept patientes infertiles dysovulantes traitées par citrate de clomiphène ont bénéficié de l'étude du génotype des cytochromes P450 2D6, 3A4 et 3A5. Des prédictions de réponse ont été établies en fonction de ces examens génétiques. La réponse ovarienne a été évaluée échographiquement entre le dixième et le douzième jour du cycle, et biologiquement par une progestéronémie 8 à 10 jours après la date supposée d'ovulation. Les prédictions de réponse selon le statut génétique des cytochromes ont été comparées aux réponses cliniques observées.

**Résultats** : Concernant les prédictions de réponse selon la combinaison des trois cytochromes, la concordance entre les prédictions de réponse et les réponses réelles étaient de 36,71%, avec un coefficient Kappa négatif ( $K = -0,0240$ ), ce qui correspond à un grand désaccord. De même, pour les prédictions selon le statut génétique du cytochrome P450 2D6 seul, seules 39,24% des prédictions ont été vérifiées (coefficient  $K = -0.0609$ ).

**Conclusion** : Le polymorphisme génétique des cytochromes P450 2D6, 3A4 et 3A5 n'influence pas la réponse clinique au citrate de clomiphène utilisé dans l'induction de l'ovulation des femmes infertiles dysovulantes.

**Composition du Jury :**

**Président : Pr D. Dewailly**

**Assesseurs : Pr F. Broly, Pr S. Catteau-Jonard, Dr J-M. Rigot, Dr B. Hennart**