

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Frères Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie - Biologie Cellulaire et Moléculaire قسم الكيمياء الحيوية - البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie (PCPP)*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Étude des facteurs de risque génétiques et environnementaux  
impliqués dans le développement du cancer du sein :  
prospection par méta-analyse de l'effet des polymorphismes  
C677T et A1298C du gène *MTHFR***

---

Présenté et soutenu par : AGGOUNE Zahra

Le 21/06/2023

BOULKARA Samia

Jury d'évaluation :

**Président :** ROUABAH Leila (PROF - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadrant :** REZGOUN Mohamed Larbi (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** DAHMANI Dahbia Ines (MC-A - Université frères Mentouri - Constantine 1).

Année universitaire  
2022 - 2023

# Remerciements

Tout d'abord nous remercions du fond du cœur **ALLAH** le tout-puissant qui nous a donné le pouvoir et la patience pour élaborer ce modeste travail.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Monsieur le Dr **REZGOUN Mohamed Larbi**, notre promoteur on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur, sa simplicité, nous le remercions profondément pour son encouragement continu et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous remercions chaleureusement Professeur **ROUABAH Leila** professeur à l'université frère Mentouri Constantine 1 responsable de la spécialité biologie moléculaire et cellulaire. On vous remercie pour cet agréable semestre, pour vos connaissances que vous avez généreusement partagées avec nous, pour votre soutien moral et gentillesse, merci à vous pour fait partie dans notre parcours universitaire.

Nous remercions Dr **DAHMANI Dahbia Ines** qui nous fait l'honneur d'examiner ce modeste travail de recherche.

Un spécial remerciement à tous nos enseignants de la spécialité physiologie cellulaire et physio pathologie.

Enfin, nous remercions les plus sincères à toutes les personnes qui ont nous apporté leur aide pour l'élaboration de ce mémoire.

# Dédicaces

*Je dédie ce travail*

*À ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :*

*Particulièrement à mon père Houcine, pour le goût à l'effort qu'il a suscité en moi, de par sa rigueur.*

*À toi ma mère, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

*À vous mon frère Houssam qui m'avait toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études, et à mon cher binôme BOULKARA Samia la plus proche et la plus gentille collègue.*

*Zahra*

# Dédicaces

*Aujourd'hui après 17 ans d'études, je suis heureuse et surtout fière de dédier ce mémoire à toutes les personnes qui m'aiment et qui m'ont aidé pour réaliser ce travail*

*À mes chers et respectueux parents Boučkara ABD EL MADJID et LANKAR FATMA EL ZOHRÀ pour l'amour dont ils m'ont toujours entouré pour l'éducation qu'ils m'ont offerte, que dieu vous garde en bonne santé pour toujours inchallah*

*À ma très chère sœur AMINA la plus forte femme du monde, merci pour vos encouragements durant ma longue session académique*

*À mon petit ange SAHAR LAYANNE la plus belle fillette du monde*

*À ma très chère amie TIET NOUR DJIHANE Mercie pour fait partie dans ma vie personnelle, Mercie d'être ma seule proche amie et Mercie d'être à mes côtés pendant toutes ces six années*

*À mon cher ami ZAKI le plus gentil*

*À mon cher binôme AGOUNE Zahra la plus gentille et patiente collègue*

*À mon encadrant Monsieur REZGOUM Mohamed Larbi pour son suivi et son encadrement exceptionnel*

*À tous qui ont participé de près ou de loin pour l'élaboration de ce mémoire*

*Samia*

# Abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribo-Nucléique

**APA** : American Psychological Association

**BMC** : Biologie Moléculaire et Cellulaire

**BRCA1** : Breast Cancer 1

**BRCA2** : Breast Cancer 2

**CCIS** : Carcinome Canalaire *In Situ*

**CLIS** : Carcinome Lobulaire *In Situ*

**CMA** : Comprehensive Meta-Analysis

**Er $\alpha$**  : Récepteur des œstrogènes alpha

**FIV** : Fécondation *In Vitro*

**HWE** : Équilibre de *Hardy-Weinberg*

**IC** : Intervalle de Confiance

**IGF** : Insulin-like Growth Factor

**IC** : Intervalle de Confiance

**IMC** : Indice de Masse Corporelle

**MTHFR** : Méthylène Tetra Hydro Folate Réductase

**NCBI** : National Center for Biotechnology Information

**OMIM** : Online Mendelian Inheritance in Man

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**OR** : Odds Ratio

**PCR-RLFP** : Polymérase Chain Réaction Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction

**PR** : Récepteur à la progestérone

**PRISMA** : Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis

**SAM** : S-Adénosyl-Méthionine

**SNP** : Single Nucleotide Polymorphism

**THS** : Traitement Hormonal Substitutif

**TNM** : Tumor Node Metastasis

# Table des matières

## Introduction

Page  
01

## Partie bibliographique

### Chapitre I : anatomie et physiopathologie du sein

|  |    |
|--|----|
| <b>1. Anatomie et histologie</b> .....                   | 03 |
| <b>2. Physiologie de la glande mammaire</b> .....        | 04 |
| <b>3. Pathologies mammaires</b> .....                    | 05 |
| 3.1. Pathologies bénignes du sein .....                  | 05 |
| 3.1.1. Kystes .....                                      | 05 |
| 3.1.2. Adénofibromes .....                               | 05 |
| 3.1.3. Mastites inflammatoires .....                     | 05 |
| 3.1.4. Autres pathologies bénignes du sein .....         | 05 |
| 3.2. Pathologies malignes du sein (cancer du sein) ..... | 06 |

### Chapitre II : le cancer du sein

|  |    |
|--|----|
| <b>1. Définition</b> .....                                     | 07 |
| <b>2. Épidémiologie</b> .....                                  | 08 |
| <b>3. Classification</b> .....                                 | 08 |
| 3.1. Classification TNM .....                                  | 08 |
| 3.2. Classification histologique .....                         | 09 |
| 3.2.1. Cancers épithéliaux .....                               | 09 |
| 3.2.2. Cancers non épithéliaux .....                           | 09 |
| 3.2.3. Cancers inflammatoires .....                            | 10 |
| 3.3. Classifications moléculaires .....                        | 10 |
| <b>4. Diagnostic et dépistage clinique et biologique</b> ..... | 10 |

### Chapitre III : facteurs de risque génétiques et environnementaux

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Facteurs de risque personnel</b> .....                    | 11 |
| 1.1. Âge .....  | 11 |
| 1.2. Sexe .....   | 11 |
| <b>2. Facteurs gynéco-obstétriques</b> .....                    | 11 |
| 2.1. Densité mammaire .....                                     | 11 |
| 2.2. Âge des ménarches .....                                    | 12 |
| 2.3. Multiparité et âge au cours de la première grossesse ..... | 12 |
| 2.4. Allaitement .....  | 12 |
| 2.5. Statut ménopausique .....                                  | 13 |
| 2.6. Qualité des menstruations .....                            | 13 |
| 2.7. Interruption de grossesse .....                            | 13 |

|  |    |
|--|----|
| <b>3. Facteurs hormonaux</b> .....                                   | 13 |
| 3.1. Prise de contraceptifs .....                                    | 13 |
| 3.2. Prise de traitements hormonaux substitutifs .....               | 13 |
| 3.3. Stimulation ovarienne .....                                     | 14 |
| 3.4. Déséquilibres hormonaux endogènes .....                         | 14 |
| <b>4. Facteurs environnementaux et de mode de vie</b> .....          | 14 |
| 4.1. IMC .....   | 14 |
| 4.2. Habitudes alimentaires .....                                    | 15 |
| 4.3. Activité physique .....   | 15 |
| 4.4. Tabagisme .....   | 15 |
| 4.5. Consommation d'alcool .....                                     | 15 |
| 4.6. Expositions aux radiations ionisantes .....                     | 16 |
| <b>5. Antécédents personnels et familiaux</b> .....                  | 16 |
| 5.1. Antécédents personnels .....                                    | 16 |
| 5.2. Antécédents familiaux .....                                     | 16 |
| <b>6. Facteurs génétiques</b> .....                                  | 16 |
| 6.1. Facteurs de prédispositions génétiques à forte pénétrance ..... | 17 |
| 6.2. Facteurs génétiques à faible pénétrance .....                   | 17 |
| <b>7. Gène d'intérêt <i>MTHFR</i></b> .....                          | 17 |

## Partie pratique

### Patientes et méthodes

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Principe</b> .....  | 20 |
| <b>2. Polymorphisme d'intérêt</b> .....                                       | 20 |
| <b>3. Réalisation de la méta-analyse</b> .....                                | 21 |
| 3.1. Méthodologie de réalisation de la méta-analyse .....                     | 21 |
| 3.2. Stratégies de recherche .....  | 22 |
| 3.3. Sélection des études .....   | 22 |
| 3.4. Extraction des données .....   | 22 |
| 3.5. Vérification et ajustement de l'équilibre de <i>Hardy-Weinberg</i> ..... | 23 |
| 3.6. Tests statistiques .....   | 23 |
| 3.7. Tests d'hétérogénéité .....  | 24 |

### Résultats et discussion

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Méta-analyse C677T et cancer du sein</b> .....                          | 25 |
| 1.1. Sélection des études .....   | 25 |
| 1.2. Caractéristique des études incluses .....                                | 26 |
| 1.3. Fréquences génotypiques et alléliques .....                              | 33 |
| 1.4. Vérification et ajustement de l'équilibre de <i>Hardy-Weinberg</i> ..... | 35 |
| 1.5. Analyse quantitative .....   | 36 |
| 1.6. Test d'hétérogénéité .....   | 43 |
| 1.7. Analyse de sensibilité et biais de publication .....                     | 45 |

|   |               |
|---|---------------|
| <b>2. Méta-analyse A1298C et cancer du sein .....</b>                         | <b>50</b>     |
| 1.1. Sélection des études .....   | 50            |
| 1.2. Caractéristique des études incluses .....                                | 51            |
| 1.3. Fréquences génotypiques et alléliques .....                              | 57            |
| 1.4. Vérification et ajustement de l'équilibre de <i>Hardy-Weinberg</i> ..... | 59            |
| 1.5. Analyse quantitative .....   | 60            |
| 1.6. Test d'hétérogénéité .....   | 66            |
| 1.7. Analyse de sensibilité et biais de publication .....                     | 67            |
| <br><b>Discussion générale .....</b>  | <br><b>71</b> |
| <br><b>Conclusion et perspectives .....</b>                                   | <br><b>74</b> |
| <br><b>Références bibliographiques .....</b>                                  | <br><b>77</b> |
| <br><b>Résumés</b>  |               |

# Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 01</b> : Anatomo-histologie du sein .....  | 03 |
| <b>02</b> : Aperçu des différents types des cancers du sein .....                                    | 07 |
| <b>03</b> : structure du gène <i>MTHFR</i> et localisation des polymorphismes les plus étudiés ..... | 18 |
| <b>04</b> : Modèle du diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses.....            | 21 |
| <b>05</b> : Diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études du polymorphisme C677T .....       | 26 |
| <b>06</b> : Représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T .....        | 29 |
| <b>07</b> : Représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme C677T .....          | 30 |
| <b>08</b> : Conclusions rapportées par les études incluses pour le C677T .....                       | 32 |
| <b>09</b> : Fréquences génotypiques additionnées des études du polymorphisme C677T .....             | 34 |
| <b>10</b> : Fréquences alléliques additionnées des études du polymorphisme C677T .....               | 34 |
| <b>11</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison allélique (C vs. T) .....                    | 37 |
| <b>12</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison récessif (TT vs. CT+CC) .....                | 38 |
| <b>13</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison dominant (TT+CT vs. CC) .....                | 38 |
| <b>14</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT) .....             | 39 |
| <b>15</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison TT vs. CC .....                              | 39 |
| <b>16</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison TT vs. CT .....                              | 40 |
| <b>17</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison CT vs. CC .....                              | 40 |

|   |    |
|---|----|
| <b>18</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison allélique (C vs. T) .....           | 46 |
| <b>19</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison récessif (TT vs. CT+CC) .....       | 46 |
| <b>20</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison dominant (TT+CT vs. CC) .....       | 47 |
| <b>21</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT) .....    | 47 |
| <b>22</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison TT vs. CC .....                     | 48 |
| <b>23</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison TT vs. CT .....                     | 48 |
| <b>24</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison CT vs. CC .....                     | 49 |
| <b>25</b> : Diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études du polymorphisme A1298C ..... | 51 |
| <b>26</b> : Représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme A1298C .....  | 54 |
| <b>27</b> : Représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme A1298C .....    | 55 |
| <b>28</b> : Conclusions rapportées par les études pour le polymorphisme A1298C .....            | 57 |
| <b>29</b> : Fréquences génotypiques additionnées des études pour le polymorphisme A1298C .....  | 58 |
| <b>30</b> : Fréquences alléliques additionnées des études pour le polymorphisme A1298C .....    | 58 |
| <b>31</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison allélique (A vs. C) .....               | 61 |
| <b>32</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison récessif (CC vs. AC+AA) .....           | 61 |
| <b>33</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison dominant (CC+AC vs. AA) .....           | 62 |
| <b>34</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison co-dominant (AC vs. AA+CC) .....        | 62 |
| <b>35</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison CC vs. AA .....                         | 63 |
| <b>36</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison CC vs. AC .....                         | 63 |

|   |    |
|---|----|
| <b>37</b> : Graphique en forêt du modèle de comparaison AC vs. AA .....                     | 64 |
| <b>38</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison allélique (A vs. C) .....       | 67 |
| <b>39</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison récessif (CC vs. AC+AA) .....   | 68 |
| <b>40</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison dominant (CC+AC vs. AA) .....   | 68 |
| <b>41</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison codominant (AC vs. AA+CC) ..... | 69 |
| <b>42</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. AA .....                 | 69 |
| <b>43</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. AC .....                 | 70 |
| <b>44</b> : Graphique en entonnoir du modèle de comparaison AC vs. AA .....                 | 70 |

# Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau I</b> : Modèles de comparaison testés dans notre méta-analyse .....                         | 23 |
| <b>II</b> : Caractéristiques des études de l'implication du polymorphisme C677T incluses .....         | 27 |
| <b>III</b> : Calcul de l'équilibre de <i>Hardy-Weinberg</i> ajusté pour le polymorphisme C677T .....   | 35 |
| <b>IV</b> : Résultats des tests d'association pour l'effet du polymorphisme C677T .....                | 36 |
| <b>V</b> : Analyse statistique par sous-groupe ethnique sur l'effet du polymorphisme C677T .....       | 41 |
| <b>VI</b> : Résultats du test d'hétérogénéité pour l'effet du polymorphisme C677T .....                | 44 |
| <b>VII</b> : Caractéristiques des études de l'implication du polymorphisme A1298C incluses .....       | 52 |
| <b>VIII</b> : Calcul de l'équilibre de <i>Hardy-Weinberg</i> ajusté pour le polymorphisme A1298C ..... | 59 |
| <b>IX</b> : Résultats des tests d'association pour l'effet du polymorphisme A1298C .....               | 60 |
| <b>X</b> : Analyse statistique par sous-groupe ethnique sur l'effet du polymorphisme A1298C .....      | 65 |
| <b>XI</b> : Résultats du test d'hétérogénéité pour l'effet du polymorphisme A1298C .....               | 66 |

L'incidence du cancer du sein a connu un net accroissement au cours des 30 dernières années, dans toutes les régions du monde, y compris dans les pays en voie de développement. Une prospection établie sur plus de 300 registres du cancer dans 187 pays a dévoilé que le nombre de cancers du sein serait passé de quelque 640 000 cas en 1980 à 1,6 million en 2010, soit une augmentation de près de 250% (Forouzanfar *et al.*, 2011). Sur les 1,6 million de cas enregistrés en 2010, la moitié l'a été dans des pays en voie de développement. Cette hausse d'incidence s'est principalement manifestée chez les femmes de 15 à 49 ans, avec deux fois plus de cas pour cette tranche d'âge dans les pays en voie de développement que dans les pays développés (Sancho-Garnier et Colonna, 2019). En raison de cette recrudescence inquiétante, le cancer du sein constitue aujourd'hui une inquiétude majeure de santé publique. Les rapports d'incidence ajustés pour l'âge varient très significativement selon les régions : les taux les plus bas sont enregistrés en Asie et en Afrique, les taux intermédiaires en Amérique du Sud et en Europe de l'Est, et les plus élevés en Europe de l'Ouest et Amérique du Nord (Veron *et al.*, 2020).

En Algérie, le cancer du sein vient en tête des cas de cancer recensés chez la femme. Son incidence connaît une progression exponentielle alarmante depuis environ 25 ans, et il est devenu à partir des années 1990 plus fréquent que le cancer du col de l'utérus. Le cancer du sein en Algérie affecte de manière relativement importante la femme jeune. En effet, l'âge médian est à 47 ans. Les premiers cas de cancer du sein surviennent dès l'âge de 15 ans. Cette caractéristique épidémiologique constitue une différence fondamentale avec le cancer du sein en occident où il survient vers 60 ans (Raiah *et al.*, 2022).

Toutes les études épidémiologiques et expérimentales ont mis en exergue l'imputation des facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux dans l'étiologie du cancer du sein. À titre d'exemple, il a été observé que les populations qui migrent d'un pays ou d'une région à faible taux vers une zone à taux élevé ont des taux de cancer du sein qui se rapprochent de ceux du pays ou de la région d'accueil, suggérant ainsi fortement l'implication de facteurs de risque environnementaux. D'autre part, la présence d'antécédents familiaux chez la mère, la sœur ou la fille multiplie par 2 à 3 le risque de cancer du sein, mettant l'accent sur l'implication de facteurs génétiques (Frikha et Chlif, 2021). L'âge précoce des premières menstruations, la ménopause tardive, la densité mammaire et les maladies bénignes du sein sont des facteurs de risque bien établis (Kashyap *et al.*, 2022). D'autres facteurs encore débattus, modifiables, sur lesquelles une action de prévention peut être orientée, sont : l'administration de traitements hormonaux, la parité, l'âge à la première grossesse, l'allaitement, certaines habitudes alimentaires, l'obésité, la pratique d'activité physique, l'exposition environnementale et professionnelle, la perturbation du rythme circadien et le tabagisme (Frikha et Chlif, 2021 ; Kashyap *et al.*, 2022).

Une part non négligeable de cancers du sein seraient liés à une prédisposition génétique. Les facteurs de risque génétique impliqués dans le développement du cancer du sein permettent la distinction aujourd'hui entre deux groupes de gènes : les gènes dits à haut risque ou à forte pénétrance et ceux dits à faible risque ou à faible pénétrance (Frikha et Chlif, 2021). Après la découverte et la caractérisation des deux gènes de susceptibilité majeurs à transmission autosomique dominante et à forte pénétrance (*BRCA1* et *BRCA2*), d'autres mutations germinales impliquées ont été décrites, par exemple celles du gène de la protéine *p53* dans le syndrome de Li-Fraumeni, de la phosphatase *PTEN* dans le syndrome de Cowden ou du gène *ATM* associé à l'ataxie-télangiectasie (Rossi *et al.*, 2022). Les femmes porteuses des mutations sur les gènes, suppresseurs de tumeur pour la plupart, ont un risque élevé de développer un cancer du sein. L'engouement pour ces gènes s'est rapidement estompé lorsqu'on s'est aperçu que leurs mutations ne sont retrouvées que dans 2 à 5% de l'ensemble des femmes atteintes d'un cancer du sein. Il en ressort que ces gènes dits à « forte pénétrance » ne recouvraient pas toute l'influence des facteurs génétiques sur le développement des cancers du sein (Kashyap *et al.*, 2022). Aujourd'hui, plus qu'à ces formes génétiques bien spécifiques, mais rares, on s'intéresse à des polymorphismes (variants géniques présents dans la population générale à une fréquence supérieure à 1%), portés le plus souvent par un seul nucléotide, au niveau de gènes qui, à première vue, n'ont pas été suspectés dans la cancérogenèse mammaire. Les études récentes d'association pangénomiques ont permis d'identifier près de 70 variants génétiques communs qui sont faiblement associés au risque de cancer du sein. Malgré le risque peu élevé associé à chacun d'eux, ils contribuent de façon importante au risque héréditaire de cancer du sein. Ces variants alléliques ont été reconnus, pour la plupart, au niveau de protéines enzymatiques, car ils étaient capables d'affecter sensiblement l'activité de ces enzymes (Zhang *et al.*, 2020 ; Roberts *et al.*, 2023 ; Tuano *et al.*, 2023). Une constante identification des facteurs de risque sur lesquels il est possible d'agir, devrait faciliter la mise en œuvre de stratégies efficaces de prévention. Dans ce sens, nous nous sommes intéressés à l'implication d'un gène particulier, répondant à ces critères, pour prospecter son éventuel rôle dans la survenue du cancer du sein.

L'objectif principal de notre étude est de prospecter par la réalisation d'une étude systématique de type méta-analyse l'implication des polymorphismes les plus communs du gène *MTHFR* (Méthylène-tetra-hydro-folates réductase) (OMIM : 607093), C677T (*rs1801133*) et A1298C (*rs1801131*) dans le risque de survenue du cancer du sein.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **CHAPITRE I**

## **ANATOMIE ET PHYSIOPATHOLOGIE DU SEIN**

## 1. Anatomie et histologie

Il s'agit une glande exocrine, paire et lobulée, de forme très variable selon le sexe et les phases de la vie génitale. Chez la femme, elle s'accroît dès le commencement de la puberté et forme une masse de tissu glandulaire grossièrement circulaire localisée à la face antérieure de la partie externe du muscle grand pectoral. Le sein est composé de 15 à 20 lobes, séparés entre eux par du tissu graisseux et des bandes de tissu conjonctif (ligaments de Cooper), qui participent au soutien du sein, avec la peau. Chaque lobe est subdivisé en lobules et alvéoles. Les alvéoles sont assemblés autour de canaux alvéolaires qui finissent au bout d'un canal lobulaire drainant un lobule. Plusieurs canaux lobulaires constituent un canal galactophore qui s'abouche dans un conduit lactifère. Les lobules drainés par un conduit lactifère forment un lobe glandulaire. Les conduits lactifères convergent pour s'ouvrir au sommet du mamelon (Eburdery *et al.*, 2012). Il subsiste à la surface du mamelon des orifices dont chacun étant enveloppé d'un épithélium pavimenteux stratifié kératinisant. Chaque orifice est responsable de l'abouchement d'un canal galactophore bordé d'un épithélium bistratifié. Chaque canal inter-lobulaire se termine par des groupes de canaux intra-lobulaire, et chaque groupe constitue un lobule mammaire de forme ovoïde assurant ainsi une fonction sécrétoire très distinctive. Le tissu de soutien des canaux intra-lobulaire est très riche en capillaires, lymphocytes et macrophages. Ce tissu est entouré d'un tissu du soutien fibro-adipeux qui comprend de nombreux faisceaux musculaires lisses longitudinaux et circulaire, et qui constitue l'unité fonctionnelle du sein (Casoli et Vacher, 2022) (figure 01).

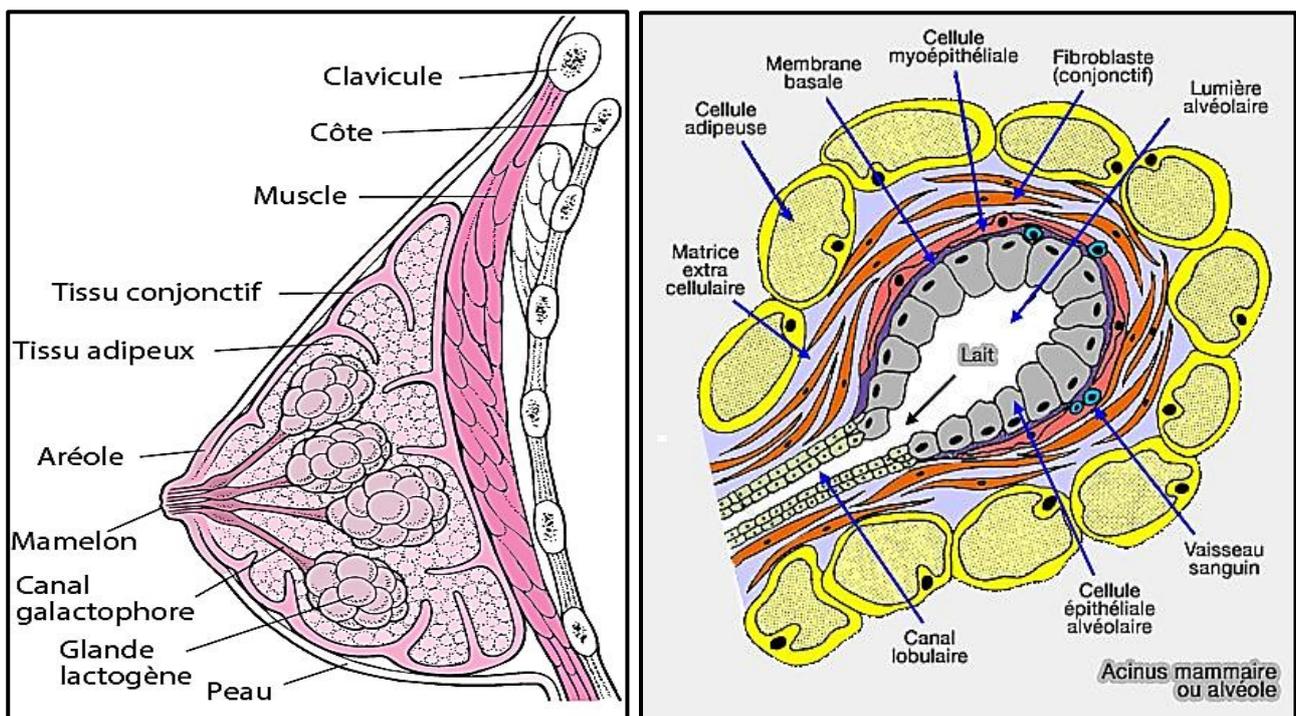


Figure 01 : anatomo-histologie du sein (Duparc *et al.*, 2022).

De la puberté à la ménopause, lors de chaque cycle menstruel de la femme, les seins réagissent aux fluctuations hormonales. La croissance finale des seins se produit lors d'une grossesse. Ce n'est qu'à ce moment-là qu'ils atteindront leur maturité. Pendant cette phase, sous l'influence des œstrogènes et de la progestérone produits par le placenta, les canaux galactophores s'allongent et se ramifient et les lobules se développent pour produire le lait, en préparation à la phase de lactation qui suit l'accouchement (Gremmo-Féger, 2015). Un développement excessif de la glande mammaire peut survenir suite à une hyper-sécrétion des œstrogènes, soit endogène (puberté), ou exogène (traitement hormonal) (Kamus *et al.*, 2019).

## 2. Physiologie de la glande mammaire

Chez la femme, le sein reste quiescent durant l'enfance et son accroissement et se limite à quelques canaux qui se terminent par des bourgeons composés de cellules épithéliales. Lors de la puberté, sous l'influence des hormones sexuelles, mais également de l'hormone de croissance et des corticostéroïdes, une période de croissance des canaux et du stroma commence. L'architecture du sein change prématurément au cours de la grossesse : maturation fonctionnelle, augmentation de la vascularisation et de la pigmentation du mamelon et de l'aréole, grossissement des lobules mammaires suite à une hyperplasie des canaux galactophores. Les œstrogènes sécrétés par l'ovaire et la progestérone sécrétée par le corps jaune, puis par le placenta, provoquent le développement ainsi que l'élargissement des mamelons. La progestérone, directement sécrétée par les ovaires, agit en inhibant l'action prolifératrice des œstrogènes sur le tissu glandulaire, mais elle est capable d'influencer directement la prolifération et la différenciation cellulaire. Dès le second trimestre, une sécrétion apparaît au niveau des seins des canaux galactophores hyperplasiques puis devient importante au troisième trimestre. Conjointement au développement des lobules, il y a une hypertrophie du tissu lâche capillaire des canaux intra-lobulaire avec une élévation du nombre des cellules inflammatoires. Pendant l'allaitement, les lobules hyperplasiques secrètent du liquide protéique riche en lipides qui est le lait. Lors du sevrage, la glande mammaire retrouve son état de repos quelques mois après, ou les cellules épithéliales recouvrent leurs tailles initiales grâce à l'apoptose, et le tissu lâche des canaux intra-lobulaire régresse vers sa taille habituelle d'avant la grossesse (Hue-Beauvais *et al.*, 2012).

L'exposition des lobules mammaires aux hormones sexuelles pendant les cycles et phases de vie chez la femme peut induire une hypertrophie tissulaire de la glande mammaire. Une adénomatoïse, une fibrose ou une dilatation des canaux mammaires les plus volumineux évoluent vers des changements sévères du sein chez la multipare et font apparaître des nodules dans le parenchyme mammaire avec parfois des formations de kystes (Moniez *et al.*, 2023).

### 3. Pathologies mammaires

Les pathologies de la glande mammaire sont diverses, elles englobent un large éventail de troubles bénins et malins dû au dysfonctionnement des cellules qui constituent son tissu. Ces troubles s'expriment cliniquement par des douleurs mammaires, un écoulement du mamelon ou l'apparition des masses cellulaires palpables. Les étiologies des pathologies mammaires sont multidisciplinaires. Les pathologies bénignes sont plus répondues chez les femmes jeunes, tandis que l'incidence des pathologies malignes augmente avec l'âge. La problématique des pathologies mammaires bénignes est l'évolution vers la malignité de certaines formes en absence de prise en charge adéquate (Chpopier *et al.*, 2014 ; Lavoué *et al.*, 2015).

#### 3.1. Pathologies bénignes du sein

Aussi appelés mastopathies, les principales maladies bénignes du sein sont : les kystes, les adénofibromes, les mastites inflammatoires (Lansac et Ouldamer, 2018).

##### 3.1.1. Kystes

Le kyste est une cavité néoformée à contenu liquidien possédant un revêtement propre (épithélium). Ce sont des tumeurs bénignes du sein dont l'évolution peut être lente, modérée ou très rapide (30 mm/an). La forme du kyste dépend du tissu dont il se développe, selon on distingue 3 types : simple, compliqué et complexe, il peut être unique ou multiple (Brémond, 2005).

##### 3.1.2. Adénofibromes

Il s'agit de tumeurs solides bénignes à prolifération intra-parenchymateuse à partir des canaux intra lobulaires et des acini. Ils sont dus à des différenciations bénignes de l'épithélium et du tissu conjonctif qui se développent aux dépens de la glande mammaire. C'est la tumeur bénigne la plus fréquente chez la femme, particulièrement pour celles âgées entre 15 et 35 ans (Brémond, 2005).

##### 3.1.3. Mastites inflammatoires

Il s'agit de maladies inflammatoires rares de la glande mammaire, d'origine infectieuse ou non infectieuse, qui se manifestent le plus souvent par une rougeur du sein plus ou moins douloureuse. Elle peut évoluer vers un abcès non infectieux (Brémond, 2005).

##### 3.1.4. Autres pathologies bénignes du sein

- **Lipomes** : tumeurs adipeuses bénignes rares, mésoenchymateuses primaires à croissance lente qui se développent à partir des cellules adipocytes, caractérisées par l'apparition d'une tuméfaction palpable associée parfois à une douleur (Lansac et Ouldamer, 2018).

- **Hamartomes** : tumeurs bénignes rares faites de tissu glandulaire, adipeux, et fibreux, elles apparaissent le plus souvent chez les femmes pré-ménopausées, suspectées sur la base d'une masse progressivement croissante, dont la texture ne se différencie pas du tissu mammaire environnant (Brémond, 2005).
- **Tumeurs papillaires** : proliférations épithéliales à point de départ intra-canalair et développées autour d'un axe conjonctivo-vasculaire, elles mesurent en moyenne de 1 à 2 cm. C'est les plus rares des lésions mammaires bénignes, mais ayant un taux important de malignité.
- **Tumeurs Phyllodes** : proliférations d'origine stromale péri-ductale du sein, assez difficiles de les distinguer des fibroadénomes. Ce sont des tumeurs fibro-épithéliales, assez rares (Brémond, 2005).
- **Cytostéatonécrose** : autodigestion du tissu adipeux par ses propres lipases adipocytaires, des tumeurs de diagnostic histologique qui se définissent comme un nodule induré, de taille variable, survenant le plus souvent comme une complication de l'allaitement (Brémond, 2005).
- **Fibromatoses mammaires ou tumeurs desmoïdes du sein** : une entité assez rare de proliférations fibroblastiques mésoenchymateuses des tumeurs primitives du sein. Bien que localement agressives, elles restent bénignes avec un risque modéré de récurrences locales (Brémond, 2005).
- **Hémangiomes mammaires** : tumeurs vasculaires très particulières se développant dans le parenchyme mammaire ou le tissu sous-cutané adjacent (Lavoué *et al.*, 2015 ; Lansac et Ouldamer, 2018).

### 3.2. Pathologies malignes du sein (cancer du sein)

Les pathologies malignes du sein ont la particularité d'être polymorphes. Parmi les différents types de cancers du sein, les adénocarcinomes sont les plus courants (95%). Les cancers du sein se développent à partir des canaux (cancers canaux) et des lobules (cancers lobulaires) de la glande mammaire. Ils sont dits « *in situ* » lorsque les cellules cancéreuses sont confinées aux canaux et lobules, et « infiltrants » lorsque les cellules cancéreuses sont présentes dans les tissus qui les entourent. Dans ce dernier cas, les cellules malignes se propagent éventuellement dans les ganglions situés sous les bras (ganglions axillaires) et dans l'organisme (Brémond, 2005 ; Lavoué *et al.*, 2015).

# CHAPITRE II

## LE CANCER DU SEIN

## 1. Définition

Les cellules épithéliales des canaux galactophores peuvent subir une évolution cancéreuse pour faire naître l'un des principaux cancers de la femme. Les cancers du sein dérivant des lobules sont nommés carcinomes lobulaires et ceux provenant des canaux galactophores sont appelés carcinomes canaux. La glande mammaire est un tissu richement vascularisé (un réseau de vaisseaux sanguins et lymphatiques), ce qui facilite la dissémination des cellules cancéreuses. En fonction du niveau d'infiltration tumorale, on différencie les carcinomes *in situ* (non-invasifs) des carcinomes infiltrant (invasifs). Les carcinomes infiltrant canaux et lobulaires, les deux sous-types histologiques les plus répandus dans les cancers du sein, représentant 75% et 5 à 15% respectivement. Dans le cas des cancers *in situ*, les cellules cancéreuses ne passent pas la membrane basale. Le cancer canalaire *in situ* est le plus fréquent des cancers non-infiltrant avec 85 à 90% des cancers, alors que le cancer lobulaire ne représente que 10 à 15% des cancers *in situ* et est souvent considéré comme une forme précancéreuse à la frontière de la « malignité ». Néanmoins, il existe de nombreux types de cancers invasifs, le plus fréquent est le cancer canalaire qui représente 75% des cancers infiltrant. Le cancer lobulaire ne représente que 5 à 10% des cancers infiltrant et d'autres formes encore plus rares existent telles que les carcinomes tubuleux, cribriformes, médullaires, mucineux ou papillaires (Baldi *et al.*, 2008 ; Lakhani *et al.*, 2012) (figure 02).

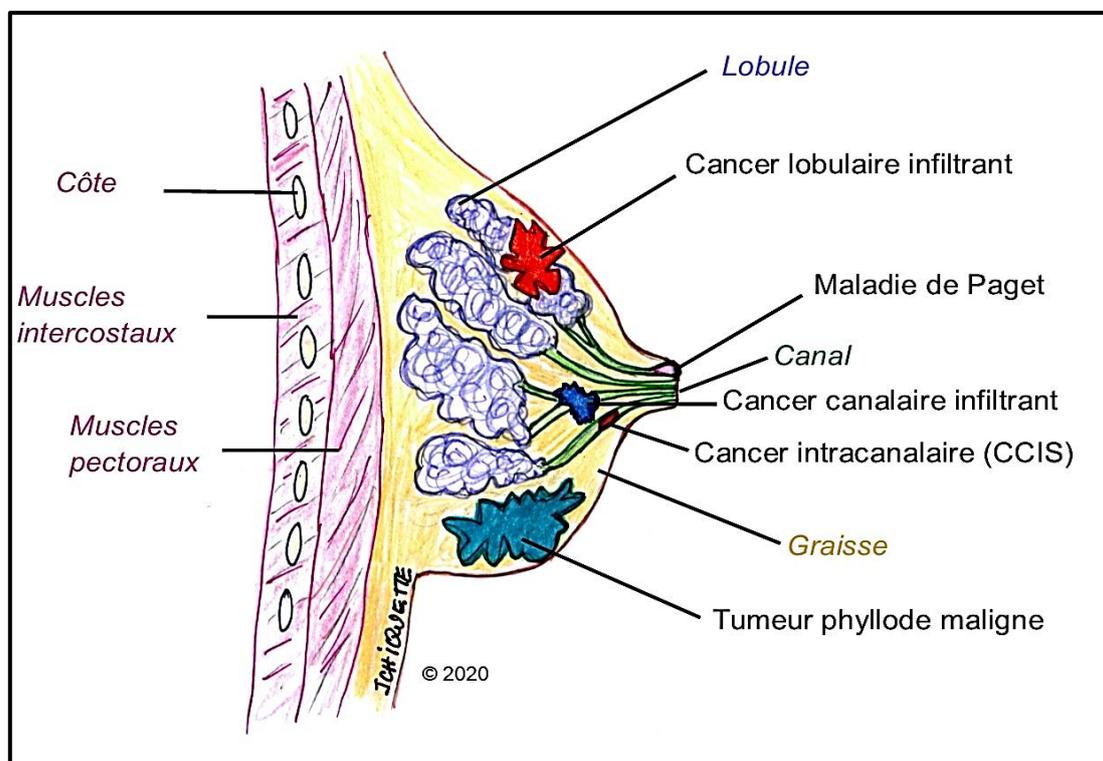


Figure 02 : aperçu des différents types des cancers du sein (Gligorov *et al.*, 2020).

## 2. Épidémiologie

Le cancer du sein est à ce jour la première pathologie cancéreuse représentée dans la population féminine mondiale. Néanmoins, son incidence varie considérablement entre pays. En effet, les taux plus élevés s'observent en Amérique du Nord et dans les pays d'Europe du Nord, et l'incidence la plus faible dans les pays d'Asie et en développement. D'après les dernières données publiées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il y a une nette élévation de l'incidence. Toutefois, la mortalité connaît une stabilité malgré l'augmentation du nombre de cas. Cela s'explique surtout par l'amélioration de la prise en charge (Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

En Algérie, le cancer du sein est le premier cancer diagnostiqué chez la femme. Son incidence connaît une progression alarmante depuis environ 25 ans. Le cancer du sein affecte de manière relativement importante la femme jeune. L'âge médian est à 47 ans, avec des cas qui surviennent même dès l'âge de 15 ans. Cette particularité épidémiologique représente une dissemblance fondamentale avec le cancer du sein en occident où il apparaît vers 60 ans (Raiah *et al.*, 2022).

## 3. Classification

Les thérapeutiques systémiques (chimiothérapie, hormonothérapie, thérapies moléculaires ciblées) du cancer du sein sont délivrées en fonction de facteurs pronostiques et prédictifs de la réponse thérapeutique. Malheureusement, ces traitements ne prennent pas assez compte de l'hétérogénéité évolutive de la maladie, conduisant trop souvent à des traitements inadaptés. Parallèlement à la classification anatomo-pathologique se profile une classification moléculaire, plus pertinente, issue de la génomique (Stevens *et al.*, 2004 ; Lamy *et al.*, 2010).

### 3.1. Classification TNM

La classification classique TNM des tumeurs définit la propagation locale T (Tumor), régionale N (Node) et générale M (Metastasis) de la tumeur. Elle permet de classer les tumeurs afin de créer des groupes homogènes sur le plan pronostique, mais aussi thérapeutique. À ces trois lettres (T, N et M) sont associés des nombres dont la valeur s'accroît en fonction de la gravité, et qui changent de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et sont soit 0 soit 1 pour le M. Ces valeurs sont fondées sur l'extension anatomique de la tumeur, et regroupe l'atteinte locale (T0 à T4), ganglionnaire (N0 à N3) et métastatique (M0 ou M1). Ces constats sont le résultat de l'examen clinique, de l'imagerie, de l'endoscopie, des biopsies, de l'exploration chirurgicale, ainsi que d'autres examens complémentaires. La combinaison des trois paramètres T, N et M permet d'établir le stade d'évolution du cancer du sein (Rubin et Hansen, 2013 ; Berghmans *et al.*, 2019).

### 3.2. Classification histologique

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

#### 3.2.1. Cancers épithéliaux

- **Carcinomes non invasifs ou non infiltrant** : ils représentent 15 à 20% des cancers du sein. Il s'agit de carcinomes canaux *in situ* (CCIS) et de carcinomes lobulaires *in situ* (CLIS). C'est une prolifération de cellules cancéreuses malignes, épithéliales, limitée à l'intérieur et le long de l'arbre canalaire dans la lumière des canaux et des lobules, sans franchir la membrane basale et sans envahir le tissu conjonctif. Cette membrane basale empêche tout contact avec les vaisseaux et le tissu conjonctif environnant, d'où un risque métastatique quasi-nul. D'autre part, un risque évolutif à terme est l'apparition d'une tumeur infiltrante est bien réel (Baldi *et al.*, 2008 ; Lakhani *et al.*, 2012).
- **Carcinomes invasifs ou infiltrant** : tumeur où la partie invasive est supérieure à 25% du volume de la tumeur. Les cellules cancéreuses envahissent les tissus conjonctifs, engendrant ainsi une menace de survenue de métastases locorégionales ou à distance. Les carcinomes évoluent vers une forme infiltrante quand les cellules cancéreuses franchissent la membrane basale et envahissent le tissu conjonctif de soutien. Elles seront alors en contact avec des vaisseaux sanguins et lymphatiques à l'origine d'une possible métastase (Berghmans *et al.*, 2019).
- **Maladie de Paget** : elle représente 1 à 3% des cancers du sein. Il s'agit d'un adénocarcinome intra-épidermique du mamelon, associé à un adénocarcinome intra-galactophoriques sous-jacent dans 82 à 100% des cas (Berrada et André, 2010).

#### 3.2.2. Cancers non-épithéliaux

Elles sont rares (moins de 1% des cancers du sein). Il s'agit d'une prolifération tumorale maligne issue des autres structures du sein (tissus conjonctifs, graisse, vaisseaux sanguins ou lymphatiques). Elles sont représentées par les sarcomes phyllades, les sarcomes mésoenchymateux ou sarcomes du stroma, les angiosarcomes, les lymphomes malins non hodgkiniens primitifs du sein, ainsi que les métastases intra-mammaires d'un autre cancer primitif : mélanome, tumeurs pulmonaires, digestives, ou urogénitales (Berrada et André, 2010).

### 3.2.3. Cancers inflammatoires

Cette entité représente 1 à 6% des cancers du sein, mais représente une forme très agressive dont l'évolution est rapide et le pronostic très sévère. Ce type de tumeurs s'accompagne des métastases à distance lors du diagnostic dans un tiers des cas (Galant *et al.*, 2010).

### 3.3. Classifications moléculaires

La classification moléculaire des cancers du sein basée sur l'expression génique, puis sur le profil protéique, a permis de différencier cinq groupes moléculaires : luminal A, luminal B, Her2/neu, basal-like et non-classées. Les deux classifications cliniques et histologiques permettent avec d'autres paramètres biologiques tels que la présence ou l'absence de récepteur des œstrogènes alpha (ER $\alpha$ ), de récepteur à la progestérone (PR), d'établir un pronostic et un traitement approprié avec l'identification de deux groupes principaux : un groupe caractérisé par une expression faible (ou nulle) du REs (tumeurs dites « RE négatives ») et l'autre par une expression plus ou moins forte de celui-ci (tumeurs dites « RE positives » ou lumbinales) (Lamy *et al.*, 2010).

## 4. Diagnostic et dépistage clinique et biologique

La symptomatologie du cancer du sein apparaît lorsque la tumeur au sein est assez volumineuse pour qu'on puisse sentir la masse au toucher (palpation), ou quand le cancer s'est déjà métastasé. Aussi, d'autres pathologies peuvent exprimer les mêmes signes que le cancer du sein. Le symptôme le plus commun du carcinome canalaire est une masse compacte et dure, sensible, mais peu douloureuse, qui est très différente du reste du tissu mammaire, et qui ne change pas de consistance au cours du cycle menstruel. Néanmoins, il est assez habituel que le carcinome lobulaire ne forme pas de masse ; c'est le tissu mammaire qui s'épaissit ou durcit. Les autres signes du cancer du sein canalaire ou lobulaire peuvent être une masse aux creux de l'aisselle, un changement dans la taille ou la forme du sein, des changements au niveau du mamelon (mamelon inversé, écoulement, etc.). Les symptômes tardifs se manifestent lorsque la masse cancéreuse a grossi ou elle s'est propagé à d'autres organes : douleur osseuse, perte de poids, nausées, perte d'appétit, jaunisse, essoufflement, toux, maux de tête, vision double et faiblesse musculaire (Bouchbika *et al.*, 2012 ; Class, 2016).

L'apparition tardive des signes d'alerte du cancer du sein met en exergue l'intérêt du dépistage qui consiste à détecter un cancer avant qu'il ne soit « palpable ». Parmi les moyens les plus efficaces pour un dépistage précoce : l'auto-examen des seins (autopalpation), une mammographie de dépistage systématique deux fois par ans pour les femmes âgées de plus de 40 ans, consultation chez un spécialiste au premier signe d'alerte (Aloulou *et al.*, 2015).

**CHAPITRE III**  
**FACTEURS DE RISQUES**  
**GÉNÉTIQUES ET**  
**ENVIRONNEMENTAUX**

## 1. Facteurs de risque personnel

### 1.1. Âge

La probabilité de développer un cancer du sein s'accroît significativement avec l'âge. Il représente l'un des facteurs de risque non modifiable les plus importants. Plus la personne vieillit, plus le risque général de cancérogenèse augmente. En effet, ce cancer touche rarement les femmes de moins de 30 ans, mais le risque augmente entre 50 et 75 ans. La forme précoce est considérée comme étant un facteur de mauvais pronostic (risque de rechute et de métastases). L'atteinte à un âge jeune caractérise des formes dites « génétiques » ou « héréditaires » avec des mutations des gènes *BRCA1* et/ou *BRCA2* (Merviel *et al.*, 2011 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

### 1.2. Sexe

Le cancer du sein est quasi-exclusivement féminin (plus de 99% des cas). Lorsqu'un homme est atteint dans des familles regroupant de nombreux cas de cancers du sein, une mutation du gène *BRCA2* qui très fréquemment observée. Un homme apparenté à une femme atteinte d'un cancer du sein voit le risque de le contracter doublé. Cependant, ce risque reste relativement faible (Bicar, 2018 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

## 2. Facteurs gynéco-obstétriques

Actuellement, le cancer du sein est considéré par la communauté scientifique comme étant une pathologie hormono-dépendante, et que son étiologie s'explique par l'imprégnation hormonale au cours de vie de la femme. La durée de cette exposition aux hormones endogènes, ovariennes en particulier, a un effet sur la probabilité de développer un cancer du sein. En effet, les œstrogènes contribuent au développement du cancer du sein, et peuvent induire des dommages sur l'ADN et avoir des effets prolifératifs directs et indirects sur les cellules cancéreuses (Merviel *et al.*, 2011).

### 2.1. Densité mammaire

La densité mammaire correspond à la quantité de tissu dense (épithéliaux et conjonctifs) par rapport à la quantité de tissu non-dense (graisseux). Les femmes avec des seins très denses à la mammographie avaient un risque beaucoup plus élevé de cancer du sein que celles avec des seins moins denses. Ce risque est 4 à 6 fois plus élevé chez les femmes avec 75% ou plus de densité mammaire comparées aux femmes qui ont en peu ou pas. C'est un indicateur à la fois du nombre de cellules mammaires à risque de cancérisation et du degré de prolifération de ces cellules qui elle-même augmente la probabilité de survenue d'altérations génétiques menant à la transformation cancéreuse (Nkondjock et Ghadirian, 2005 ; Veron *et al.*, 2022).

## **2.2. Âge des ménarches**

Plusieurs études montrent que les premières règles précoces, avant l'âge de 12 ans, accroissent le risque de cancer du sein, et qu'une année de retard par rapport à cet âge, permettrait de diminuer ce risque de 3%. L'âge des ménarches définit la période où les ovaires débutent la synthèse des hormones stéroïdiennes et ce, jusqu'à la ménopause où cette production cesse. Un âge tardif des ménarches signifie que le nombre de cycles anovulatoires où l'effet des progestatifs est réduit par rapport à l'imprégnation oestrogénique (Classe, 2016 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

## **2.3. Multiparité et âge au cours de la première grossesse**

Les femmes qui ont mené au moins une grossesse à terme avant l'âge de 30 ans ont un risque de cancer du sein diminué en comparaison avec les femmes nullipares. Cet effet protecteur s'accroît graduellement avec le nombre d'enfants, et que chaque grossesse à terme supplémentaire réduit le risque de cancer de 3% pour les cancers du sein précoces (avant la ménopause), et de 12% pour les cancers du sein tardifs (post-ménopause). Néanmoins, cet effet protecteur de la multiparité apparaît au-delà de 40 ans. La grossesse induit une différenciation rapide du tissu mammaire. Ces changements initiés au cours de la première grossesse, spécialement si elle est survenue précocement, sont accentués par chacune des grossesses suivantes, et l'évolution du cancer du sein est liée à la vitesse de prolifération des cellules épithéliales mammaires et inversement au degré de différenciation. De ce fait, plus l'âge au premier enfant est précoce, plus les femmes jouissent de la période de protection induite par la différenciation des cellules épithéliales glandulaires, qui deviennent moins sensibles à l'effet des cancérogènes. D'ailleurs, cette réduction du risque de cancer du sein plus marquée chez les femmes ayant eu leur première grossesse menée à terme avant l'âge de 20 ans (Le Corgne, 2016 ; Sancho-Garnier et Colonna, 2019).

## **2.4. Allaitement**

L'effet de l'allaitement sur le risque de cancer du sein reste controversé. Néanmoins, plusieurs études rapportent une diminution significative du risque de cancer du sein de plus de 4% pour chaque période d'allaitement de 12 mois. La lactation s'accompagne de changements hormonaux endogènes, dont une augmentation de prolactine et une réduction d'oestrogènes, ce qui diminue le niveau d'exposition totale aux œstrogènes chez la femme. L'effet protecteur de l'allaitement pourrait être attribuable aussi à son rôle dans le retardement du rétablissement de l'ovulation et donc à une reprise différée des cycles menstruels (Frikha et Chlif, 2021).

### 2.5. Statut ménopausique

La ménopause est définie par le moment où les ovaires arrêtent de fabriquer les œstrogènes. Une ménopause plus tardive expose une femme pendant une plus longue durée aux œstrogènes et accrois donc son risque de développer un cancer du sein (Gompel, 2019 ; Frikha et Chlif, 2021).

### 2.6. Qualité des menstruations

La durée des menstruations ainsi que la régularité des cycles sont des facteurs de risque. En effet, des cycles courts et réguliers pourraient augmenter le risque de cancer du sein. Ce risque pourrait être 2 fois plus élevé chez les femmes dont les cycles deviennent réguliers dans l'année suivant les premières règles par rapport aux femmes dont les cycles ne deviennent réguliers qu'après 5 ans ou plus. Des cycles courts et réguliers augmentent la durée d'exposition aux hormones sexuelles (Frikha et Chlif, 2021).

### 2.7. Interruption de grossesse

L'arrêt de la maturation des cellules mammaires lors d'une interruption de grossesse induite ou spontanée semble être associée à une augmentation du risque de cancer du sein. Toutefois, cette corrélation reste très contestée avec des résultats contradictoires (Elies *et al.*, 2019).

## 3. Facteurs hormonaux

Le cancer du sein a la particularité d'être une pathologie hormono-dépendante. De ce fait, de nombreux éléments relatifs au statut hormonal comme l'exposition aux hormones endogènes exogènes sont décrits comme des facteurs de risque (Cordina-Duverger, 2015 ; Gompel, 2019).

### 3.1. Prise de contraceptifs

La relation entre contraceptifs oraux et cancer du sein est assez débattue. Néanmoins, plusieurs études ont relevé que les femmes sous ces contraceptifs ont un risque accru comparativement aux non-utilisatrices. Cette semble décroître graduellement après l'arrêt d'utilisation et disparaît totalement 10 ans après cet arrêt (Gompel, 2019 ; Frikha et Chlif, 2021).

### 3.2. Prise de traitements hormonaux substitutifs

Les traitements hormonaux substitutifs (TSH) de la ménopause sont prescrits pour remédier à la diminution du niveau d'hormones ovariennes circulantes. Les femmes sous THS ont un risque accru de cancer du sein par rapport aux femmes qui n'en ont jamais utilisé, ce risque augmente avec la durée du traitement (Gompel, 2019).

Pour les femmes ayant suivi un TSH pendant 5 ans ou plus, ce risque de 26% à 35% comparé aux femmes ne l'ayant jamais utilisé. Néanmoins, ce risque se réduit dès l'arrêt du traitement. Un des mécanismes par lesquels le TSH modifie le risque de cancer du sein est qu'il retarde les effets protecteurs de la ménopause (Gompel, 2019 ; Frikha et Chlif, 2021).

### 3.3. Stimulation ovarienne

Selon le postulat de l'imprégnation oestrogénique, la stimulation de l'ovulation pourrait participer au développement du cancer du sein. Dans ce sens, les femmes qui subissent des traitements de l'infertilité sont plus à risque que d'autres de développer un cancer du sein. Cependant, à l'heure actuelle, aucune étude n'a établi une élévation des cas de cancer du sein après médication de l'infertilité ou réalisation d'une Fécondation *In Vitro* (FIV) (Jacquesson *et al.*, 2010 ; Elies *et al.*, 2019).

### 3.4. Déséquilibres hormonaux endogènes

Selon plusieurs études, des éléments hormonaux endogènes peuvent participer au développement d'un cancer du sein. En effet, plusieurs dysfonctionnements à caractère endocrinien comme l'hyperprolactinémie, l'hyper- ou l'hypothyroïdie, la présence de nodules thyroïdiens, thyroïdite, peuvent favoriser le développement d'un cancer mammaire (Søgaard *et al.*, 2016).

## 4. Facteurs environnementaux et de mode de vie

Ces facteurs incluent essentiellement l'alimentation, l'activité physique, le surpoids et l'obésité, le tabagisme, la consommation d'alcool et l'exposition aux radiations ionisantes (Espié *et al.*, 2012).

### 4.1. IMC

Le surpoids, comme facteur associé du risque de cancer du sein, est compromis de façon différente en fonction du statut ménopausique de la femme. En effet, il semble que le surpoids réduit le risque de cancer du sein en pré-ménopause, mais l'accroît en postménopause. Avant la ménopause, les femmes en surpoids ont un nombre plus réduit de cycle ovulatoire, et en conséquence une baisse du taux d'hormones circulantes. Inversement, à la ménopause, la synthèse d'oestrogènes est arrêtée dans les ovaires, mais se poursuit dans les tissus adipeux. Dans ce sens, une femme ménopausée avec un Indice de Masse Corporelle (IMC) élevé, en surpoids et obésité, a une production accrue d'oestrogènes en comparaison à celles ayant un IMC « normal » (Bicar, 2018 ; Lauby-Secretan *et al.*, 2019).

#### 4.2. Habitudes alimentaires

Le rôle de l'alimentation dans le développement du cancer du sein est difficile à estimer. Plusieurs facteurs alimentaires ont été mis en cause, particulièrement l'apport énergétique, les graisses alimentaires et les fibres, ainsi que d'autres éléments. De nombreuses études ont été menées sur l'association entre le risque de cancer du sein et les principales composantes de l'alimentation humaine (fruits et légumes, produits laitiers, viandes, vitamines, fibres, etc.) (Dandamudi *et al.*, 2018 ; Lauby-Secretan *et al.*, 2019).

#### 4.3. Activité physique

Une activité physique chez la femme, professionnelle ou domestique, participe à la réduction de la production d'œstrogènes, maintient l'équilibre énergétique, et prévient la prise de poids, en particulier après la ménopause. Ces éléments suggèrent un rôle protecteur important de l'activité physique. Une activité physique intense chez la jeune fille peut perturber et retarder la puberté et même diminuer le taux d'hormones circulantes (Boiron *et al.*, 2011 ; Cordina-Duverger, 2015).

#### 4.4. Tabagisme

Malgré que le tabagisme constitue une importante source de substances carcinogènes, la cigarette n'est pas considérée comme un facteur de risque établi du cancer du sein. Des études ont suggéré une augmentation du risque chez les fumeuses, en particulier si l'exposition est longue ou débute avant la première grossesse, laissant penser que l'effet du tabac pourrait varier au cours de la vie et selon le début d'exposition (Sancho-Garnier et Colonna, 2019). Des études évoquent même un risque réduit chez les fumeuses. Cet effet protecteur de la cigarette dans le cancer du sein serait dû à l'action anti-œstrogénique du tabac et à la réduction des œstrogènes circulante. En effet, il a été rapporté que les fumeuses ont une ménopause précoce et une concentration urinaire réduite d'œstrogènes pendant la phase lutéale du cycle menstruel (Frikha et Chlif, 2021).

#### 4.5. Consommation d'alcool

À l'heure actuelle, la consommation d'alcool est le seul facteur de risque nutritionnel établi pour le cancer du sein. Le risque relatif augmente d'environ 7% pour chaque 10 g supplémentaires d'alcool ingérés par jour. L'alcool provoque une augmentation du niveau d'hormones dans le sérum et une production accrue de facteurs de croissance IGF (insulin-like growth factor). Ces derniers agissent comme des mitogènes, inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes. Une synthèse accrue d'IGF accroît le risque de cancer du sein, surtout avant la ménopause (Merviel *et al.*, 2011 ; Frikha et Chlif, 2021).

#### 4.6. Expositions aux radiations ionisantes

Le sein est l'un des organes les plus radiosensibles, particulièrement avant l'âge de 40 ans. En conséquence, les expositions aux radiations ionisantes sont associées avec une augmentation du risque de cancer du sein. Des études menées sur les survivantes d'Hiroshima ou sur une population ayant subi des irradiations médicales (par imagerie ou à visée thérapeutique) dévoilent une augmentation du risque suite à une exposition comprise entre 1,0 et 4,3 par Gray. Ces études affirment que ce risque était plus important pour les femmes ayant été exposées durant l'enfance ou l'adolescence (Frikha et Chlif, 2021).

### 5. Antécédents personnels et familiaux

#### 5.1. Antécédents personnels

Des antécédents de maladies bénignes du sein, histologiquement en deux groupes (lésions prolifératives et les lésions non-prolifératives avec ou sans atypie), constituent un facteur de risque du cancer du sein. Néanmoins, il existe une variabilité extrinsèque. En effet les hyperplasies sans atypies augmentent le risque d'un facteur 2 tandis que les mastopathies bénignes non prolifératives influent peu. D'autre part, lorsque les seins de la femme ont tendance à présenter une densité mammaire plus importante que la normale (soit supérieure à 50%) le risque est multiplié par 2,42 et le risque multiplié par 4 si en plus il s'agit d'une hyperplasie atypique (Khalil *et al.*, 2016).

#### 5.2. Antécédents familiaux

La présence d'antécédents de cancer du sein dans la famille constitue un facteur de risque majeur. Il a été établi qu'un antécédent familial matri- ou patrilinéaire accroît le risque ultérieur de développer ce cancer. Ce risque est d'autant plus sérieux que si la pathologie est apparue chez une personne jeune, ou qu'elle était bilatérale. Ce risque augmente avec le nombre d'apparentés du premier degré (mère, sœur, fille) atteintes. En effet, les femmes ayant dans leur famille un, deux ou trois apparentés du I<sup>er</sup> degré atteints d'un cancer du sein, s'exposent respectivement à un risque deux, trois et quatre fois plus grand par rapport aux femmes sans antécédents. (Townend *et al.*, 2015).

### 6. Facteurs génétiques

Environ 5 à 10% des cancers du sein sont dus à des prédispositions génétiques héréditaires. Les principaux gènes incriminés sont *BRCA1* et *BRCA2*, dont l'utilité de l'identification de variants pathogènes de ces gènes est reconnue (Nkondjock et Ghadirian, 2005).

Inversement à ces gènes dits « à forte pénétrance », nombreux autres gènes de prédisposition dits « à faible pénétrance » associant un risque modéré ou faible de cancer mammaire ont été aussi identifiés. Grâce à l'utilisation à grande échelle du séquençage à haut débit dans la recherche de ces gènes, leur nombre ne cesse de croître (Zhang *et al.*, 2020 ; Tuano *et al.*, 2023).

### 6.1. Facteurs de prédisposition génétique à forte pénétrance

Les femmes porteuses de mutations sur les gènes *BRCA1* e *BRCA2*, considérés comme des gènes suppresseurs de tumeurs, ont un risque élevé de développer un cancer du sein. L'existence de mutations sur ces gènes à haut risque chez les patientes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein, reste très minoritaire, et ne sont retrouvées que dans 2 à 5% de l'ensemble des femmes atteintes d'un cancer du sein (Nkondjock et Ghadirian, 2005).

### 6.2. Facteurs génétiques à faible pénétrance

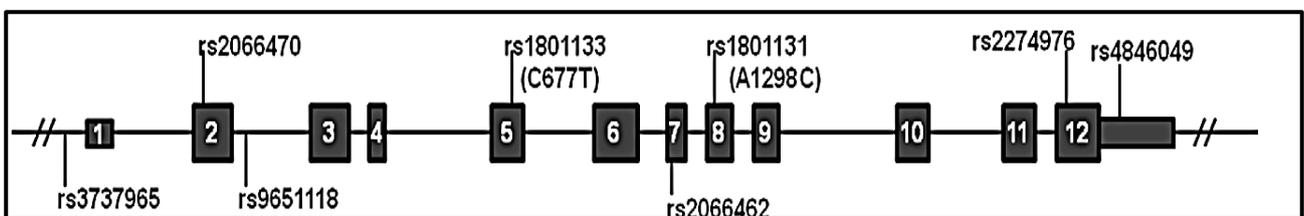
On appelle variants génétiques communs des variations de nucléotides de l'acide désoxyribonucléique (ADN) dont la fréquence est supérieure à 1% dans la population. Les études récentes d'association pangénomiques ont permis d'identifier plusieurs dizaines de variants génétiques communs qui sont faiblement associés au risque de cancer du sein. Malgré le risque peu élevé associé à chacun d'eux, ils contribuent de façon importante au risque héréditaire de cancer du sein. Ces variants se situent au niveau de gènes codants pour des protéines impliquées dans diverses voies métaboliques (Zhang *et al.*, 2020 ; Tuano *et al.*, 2023).

## 7. Gène d'intérêt : *MTHFR*

Le gène *MTHFR* code pour une enzyme clef engagée dans le métabolisme des folates (acide folique ou vitamine B9) : la 5,10 Méthylène Tétra-Hydro-Folate Réductase (MTHFR). Elle permet de maintenir le pool de folates et de méthionine circulants et d'empêcher une élévation éventuelle de la concentration de l'homocystéine circulante (hyperhomocystéinémie). Cette dernière est alors convertie en cystéine par une autre enzyme (la cystathionine-synthétase) en utilisant comme cofacteur le phosphate de pyridoxal, forme biologiquement active de la vitamine B6 (voie dite de trans-sulfuration), soit elle est reméthylée en méthionine sous l'effet d'une méthyltransférase dont le coenzyme est la méthyl-cobalamine dérivant de la vitamine B12 (voie de reméthylation). La MTHFR catalyse la conversion irréversible de la 5,10- Méthylène Tétra-Hydro-Folate (5,10-MTHF) en 5- Méthylène Tétra-Hydro-Folate (5-MTHF) qui représente la principale forme de folates circulantes (Raghubeer et Matsha, 2021).

Dans sa forme 5-MTHF, l'acide folique contribue aux transferts des molécules carbonées lors de la synthèse de nucléotides, de la synthèse de S-Adénosyl-Méthionine (SAM), principal donneur de groupement méthyle dans les systèmes biologiques, et de la reméthylation de l'homocystéine en méthionine (prévenant ainsi la survenue d'une hyper-homocystéinémie) (Raghubeer et Matsha, 2021). La MTHFR est responsable également de la synthèse des purines et pyrimidines. Dans ce sens, c'est un élément essentiel à l'approvisionnement en nucléotides essentiels à la synthèse d'ADN et sa réparation. La méthylation de l'ADN est indispensable dans la régulation de l'expression des gènes et le maintien de la stabilité génomique. Ces données présentent la *MTHFR* comme un gène potentiellement impliqué dans la cancérogenèse. Des altérations dans les profils de méthylation ont été associées à un déficit en folates qui entraîne des cassures simples ou doubles brins d'ADN, ainsi qu'une hypo-méthylation de gènes suppresseurs de tumeur (Izmirli, 2013).

Le gène *MTHFR* (OMIM : 607093), situé sur le bras court du chromosome 1 (1p36.3), est composé de 11 exons chevauchés par 10 introns. Son promoteur contient plusieurs sites de liaison pour divers facteurs de transcription. Actuellement, 41 mutations rares (observées dans une ou deux familles), mais nuisibles dans le gène *MTHFR*, ainsi que 63 polymorphismes ont été rapportées (Izmirli, 2013) (figure 03).



**Figure 03** : structure du gène *MTHFR* et localisation des polymorphismes les plus étudiés (Izmirli, 2013).

Les deux polymorphismes, les plus communs et les plus étudiés :

- **C677T** : identifié en 1995, la substitution d'une cytosine par une thymidine dans la position 677 (NCBI SNP ID: *rs1801133*), dans le quatrième exon (ENSE00001225832), aboutit à la substitution d'une alanine par une valine dans la séquence protéique au niveau de l'acide aminé N°222 (Ala222Val). Ce polymorphisme rend la MTHFR thermolabile en réduisant son activité de 50% (de l'ordre de 30 à 40% pour les hétérozygotes CT et de 60 à 70% pour les homozygotes TT). Ce polymorphisme est reconnu comme la cause génétique la plus commune d'hyper-homocystéinémie (Ergul *et al.*, 2003).

- **A1298C** : le deuxième polymorphisme le plus commun, identifié en 1998, il consiste en la substitution d'une adénine par une cytosine au niveau du nucléotide 1298 localisé dans le septième exon (ENSE00001225813) (*rs1801131*). Il entraîne le remplacement d'une glutamine par une alanine au niveau de l'enzyme (Glu429Ala). Contrairement au C677T, ce polymorphisme n'entraîne pas une thermolabilité de l'enzyme, mais diminue son activité de façon moins marquée que pour le premier (Ergul *et al.*, 2003 ; Izmirli, 2013).

La pathogénie de ces deux polymorphismes (C677T et A1298C) passe par un ou plusieurs de ces trois mécanismes :

- Une élévation des taux d'homocystéine, ce qui peut avoir des effets sur la vascularisation ou le développement embryonnaire.
- Le dérèglement du processus de synthèse de la méthionine et de la SAM, avec des répercussions graves sur la synthèse des protéines ou les réactions de méthylation. De plus, l'homocystéine peut être convertie en SAM, un inhibiteur de plusieurs méthyltransférases. Puisque des changements de méthylation de l'ADN affectent l'expression des gènes, une déficience de MTHFR peut influencer l'initiation et/ou le développement d'un processus cancéreux.
- Une redistribution des métabolites du folate peut affecter la synthèse des purines et des pyrimidines, avec des conséquences néfastes sur la synthèse ou la réparation de l'ADN (Izmirli, 2013).

De nombreuses études cas-témoins ont prospecté l'association entre cancers du sein et les polymorphismes C677T et A1298C de la *MTHFR* dans différents pays et sur différentes ethnies. Les résultats obtenus confirment, en grande partie, le statut du C677T comme facteur de risque potentiel. Néanmoins, le rôle du deuxième variant du gène, le A1298C, reste assez controversé (Wang *et al.*, 2023).

# Partie pratique

# Patientes et méthodes

### 1. Principe

La méta-analyse est une méthode analytique permettant de synthétiser selon un protocole précis, de manière exhaustive (la plus exhaustive possible), rigoureuse et reproductible, les résultats provenant de différentes études. Elle permet d'apprécier de manière quantitative le résultat global pour l'ensemble des études examinées aux conclusions parfois contradictoires. Elle permet un examen plus précis des données par l'élévation du nombre de cas étudiés (taille de la cohorte) et une généralisation plus acceptable par la prise en compte des résultats provenant de sources distinctes. Les principaux objectifs d'une méta-analyse sont :

- Accroître la puissance statistique des tests effectués, en agrandissant significativement la taille de l'échantillon par le regroupement de plusieurs études construites sur le même modèle (cas-témoins). Cela permet d'améliorer la précision de l'estimation de l'effet de taille (les études cas-témoins sont souvent menées sur des effectifs réduits).
- Lever le doute en cas de résultats apparemment discordants, entre études ou entre revues de la littérature. Dans ce cas, la méta-analyse tente d'expliquer la variabilité des résultats.
- Formuler des hypothèses pouvant aboutir à la réalisation de nouvelles études (Sarkis-Onofre *et al.*, 2021).

Il existe plusieurs étapes de la méta-analyse, ces étapes doivent être suivies pour tout protocole de méta-analyse :

- Définir l'objectif,
- Identification des études à inclure et à exclure,
- Recueil et vérification des données,
- Analyse statistique par un logiciel et génération de représentations graphiques,
- Analyse de l'hétérogénéité et des différents biais possibles
- Explication des résultats obtenus et formulation d'hypothèse (Sarkis-Onofre *et al.*, 2021).

### 2. Polymorphismes d'intérêt

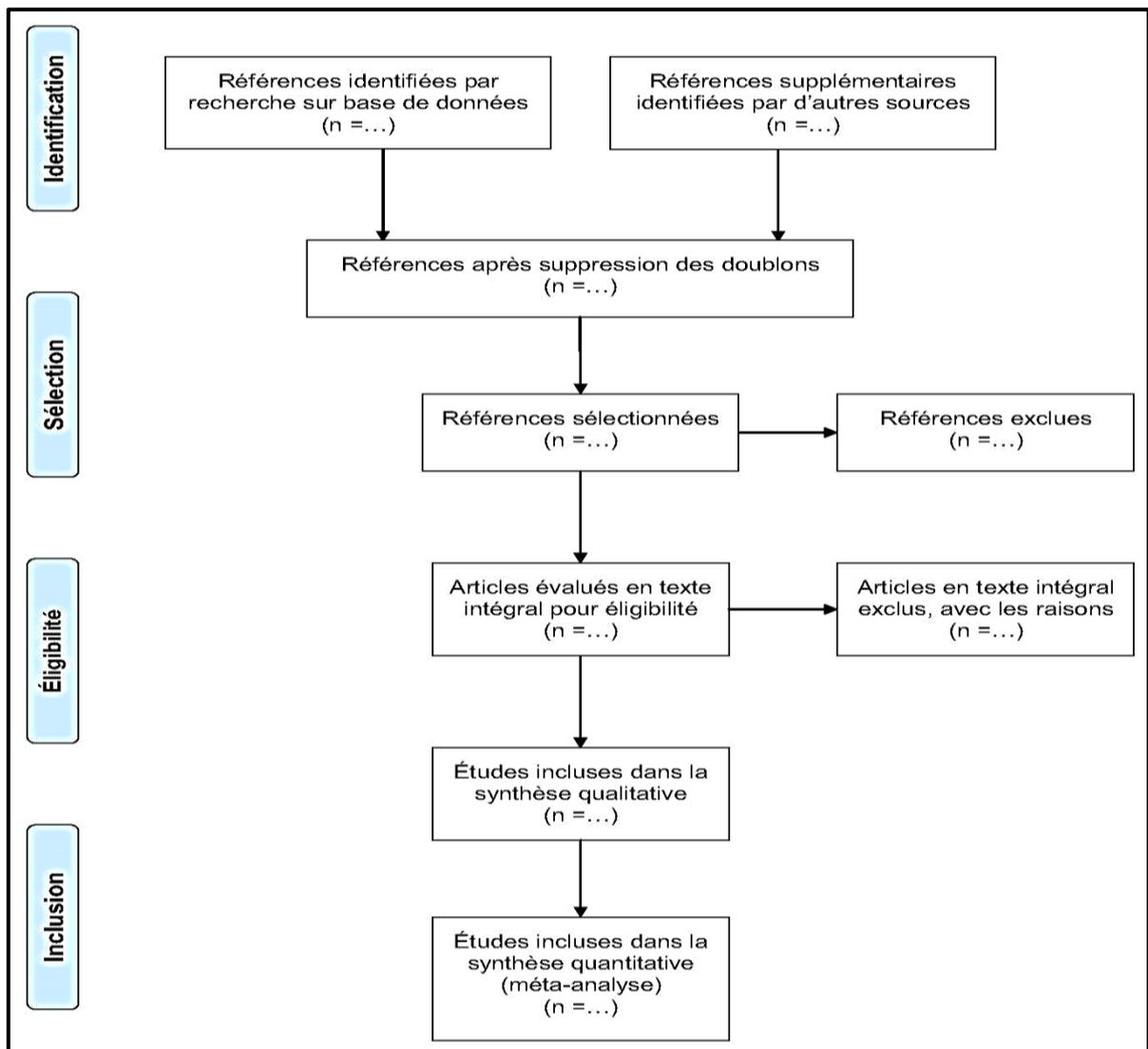
Notre choix dans cette étude a porté sur deux polymorphismes du gène *MTHFR* (OMIM : 607093) dont l'implication dans la survenue du cancer du sein a été prospectée dans de nombreuses études avec des résultats contradictoires. Il s'agit des deux polymorphismes les plus communs de ce gène : les polymorphismes C677T (*rs1801133*) et A1298C (*rs1801131*). Pour préciser cette corrélation, nous avons été amenés à la réalisation d'une étude systématique de type méta-analyse ; une méta-analyse pour évaluer l'effet de chaque variant.

### 3. Réalisation de la méta-analyse

#### 3.1. Méthodologie et réalisation de la méta-analyse

Nous avons adopté la méthodologie décrite dans les recommandations PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis) (annexe I). Celles-ci (Page *et al.*, 2021). Le diagramme de flux de PRISMA résume ces quatre étapes :

- Identification des références après interrogation d'une ou plusieurs bases de données,
- Sélection des références basée sur la lecture du titre et du résumé après suppression des doublons lorsque plusieurs bases de données ont été consultées,
- Éligibilité des articles après lecture du texte intégral,
- Inclusion des études (figure 04).



**Figure 04** : modèle du diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études incluses (Page *et al.*, 2021).

### 3.2. Stratégie de recherche

Notre méta-analyse regroupe des études trouvées dans la littérature électronique en utilisant la base de données PubMed. Pour garantir plus d'exhaustivité, nous avons également interrogé Google Scholar. En effet, toutes les publications recherchées ne se trouvent pas sur PubMed (Sarkis-Onofre *et al.*, 2021). Nous avons utilisé les mots-clefs suivants :

- Breast cancer, *MTHFR*, C677T / rs1801133,
- Breast cancer, *MTHFR*, A1298C / rs1801131.

### 3.3. Sélection des études

#### 3.3.1. Critères d'inclusion

- Études ayant procédé à l'exploration de l'association l'un (ou les deux) polymorphismes et le risque de développer un cancer du sein,
- Études cas-témoin avec deux groupes bien définis (patientes avec cancer du sein et témoins sains) indépendants (cohortes),
- La disponibilité de toutes informations sur la taille des deux cohortes (patients et témoins) ainsi que sur les fréquences génotypiques et alléliques des trois génotypes (homozygote sauvage, hétérozygote et homozygote muté),

#### 3.3.2. Critères d'exclusion

- Les études sur le cancer du sein prospectant l'effet de polymorphismes autres que ceux sélectionnés dans notre étude, et ce même s'il s'agit de ceux du même gène.
- Les études de pharmacogénétique prospectant l'effet du(des) polymorphisme(s) sélectionné(s) dans la réponse à une thérapeutique particulière du cancer du sein.
- L'indisponibilité du texte intégral de l'article ou des données indispensables mentionnées critères d'inclusions.

### 3.4. Extraction des données

Pour chaque étude incluse, nous avons extrait les informations suivantes : nom de(s) auteur(s), année de la publication (référence bibliographique selon le système de citation APA), pays, ethnie de la population d'étude (précisons de l'ethnie), la technique de génotypage utilisée, les tailles des populations de malades et de témoins, les fréquences génotypiques (homozygote sauvage, hétérozygote et homozygote muté) et alléliques (sauvage et muté). La conclusion de chaque étude concernant la présence ou non d'association statistiquement significative entre le polymorphisme et le risque de survenue du cancer du sein sera notée.

### 3.5. Vérification et ajustement de l'équilibre de *Hardy-Weinberg*

Avant de procéder à une méta-analyse d'études de type cas-témoins, il est fortement recommandé de vérifier l'*HWE*, suivie d'un éventuel ajustement par le logiciel de méta-analyse.

### 3.6. Tests statistiques

Dans le cadre de cette méta-analyse, nous avons examiné en détail l'association entre les polymorphismes sélectionnés et cancers du sein, en étudiant spécifiquement l'effet des allèles mutés chez les patients et les témoins. Cette étude statistique est basée sur le calcul de l'Odds Ratio (OR) avec un Intervalle de Confiance (IC) et la valeur  $p$ , afin de déterminer s'il existe une association significative entre les polymorphismes étudiés et le risque de développer cette pathologie. Pour ce faire, nous avons comparé le nombre de fois où l'allèle muté est présent chez les patients par rapport au nombre de fois où il est observé chez les témoins. Si la valeur de  $p$  est inférieure à 0,05 ; cela indique une différence statistiquement significative dans la distribution de l'allèle muté, entre les groupes de patients et de témoins, et suggère un lien potentiel entre cet allèle muté et l'apparition d'un cancer du sein. La méta-analyse a été faite avec le logiciel Comprehensive Meta-Analysis V3.1 (CMA<sup>®</sup>) ([www.meta-analysis.com](http://www.meta-analysis.com)) (Borenstein, 2022). Le biais des publications utilisées est déterminé par le logiciel. Selon les mêmes critères, nous allons prospecter l'effet de l'allèle récessif (C) sous les sept modèles de comparaison génétique possibles (tableau I).

**Tableau I** : modèles de comparaison testés dans notre méta-analyse.

| Modèle statistique | Comparaison (C677T) | Comparaison (A1298C) |
|--------------------|---------------------|----------------------|
| Allélique          | C vs. T             | A vs. C              |
| Récessif           | TT vs. CT + CC      | CC vs. AC + AA       |
| Dominant           | TT + CT vs. CC      | CC + AC vs. AA       |
| Hétérozygote       | CT vs. CC + TT      | AC vs. AA + CC       |
| Modèle 05          | TT vs. CC           | CC vs. AA            |
| Modèle 06          | TT vs. CT           | CC vs. AC            |
| Modèle 07          | CT vs. CC           | AC vs. AA            |

Le seuil de significativité est fixé à 0,05 (IC = 95%). Toute valeur de  $p$  est inférieure au seuil de 0,05 implique que la différence de distribution est statistiquement significative entre patients et témoins selon le modèle de comparaison étudié. Pour illustrer et interpréter les résultats de la méta-analyse deux types de représentations graphiques seront générées : graphique en forêt (*forest plot*) et graphique en entonnoir (*funnel plot*).

### 3.7. Tests d'hétérogénéité

L'estimation de l'hétérogénéité entre les études incluses dans une méta-analyse a été réalisée en partie sur la base de la valeur de  $p : < 0,05$  signifie qu'il y a de l'hétérogénéité (Page *et al.*, 2021). Cette hétérogénéité peut être statistique, avec une discordance des résultats des différentes études. Elle peut être liée à un biais de publication, ou à une méthodologie inappropriée (Sarkis-Onofre *et al.*, 2021). L'hétérogénéité statistique peut être décelée graphiquement, via le *forest plot*, avec des IC de l'effet observé dans les différentes études qui ne se chevauchent pas suffisamment. L'hétérogénéité statistique a été testée également par le Q de Cochran ou le  $I^2$  de Higgins. Ce dernier estime la non-concordance entre les études. Des seuils d'interprétation sont donnés :  $I^2 < 0,25$  = hétérogénéité faible,  $I^2$  compris entre 0,25 et 0,5 = hétérogénéité modérée, et  $I^2 > 0,5$  = hétérogénéité importante. Ces tests d'hétérogénéité étant peu puissants, il faut s'assurer, même dans le cas de résultats non significatifs, qu'aucune des études incluses ne présente de résultats extrêmes. Dans ce cas-là, un examen de sensibilité peut permettre de confirmer le résultat observé (Page *et al.*, 2021). Dans ce sens, l'approche classique recommandée est d'appliquer un modèle à effet aléatoire (en utilisant la méthode de DerSimonian et Laird). En l'absence d'hétérogénéité, on pourra utiliser un modèle à effet fixe (modèle de Mantel et Haenszel) plus robuste pour la mesure d'événements rares. Dans notre méta-analyse, les deux effets (fixe et aléatoire) ont été générés pour chaque modèle de comparaison. En présence d'hétérogénéité, il est nécessaire de l'expliquer. Les sources d'hétérogénéité peuvent être identifiées par l'analyse qualitative des résultats des études incluses dans la méta-analyse. La recherche d'études pouvant entraîner une hétérogénéité est possible en inspectant le graphique des OR (Page *et al.*, 2021 ; Sarkis-Onofre *et al.*, 2021).

|                                    |  |   |
|------------------------------------|--|---|
| <b><i>p</i> value</b>              | Association significative ( $p < 0,05$ )         |  |
|                                    | Association non-significative ( $p \geq 0,05$ )  |  |
| <b><math>I^2</math> de Higgins</b> | Hétérogénéité faible ( $I^2 < 0,25$ )            |  |
|                                    | Hétérogénéité modérée ( $I^2$ entre 0,25 et 0,5) |  |
|                                    | Hétérogénéité importante ( $I^2 > 0,5$ )         |  |

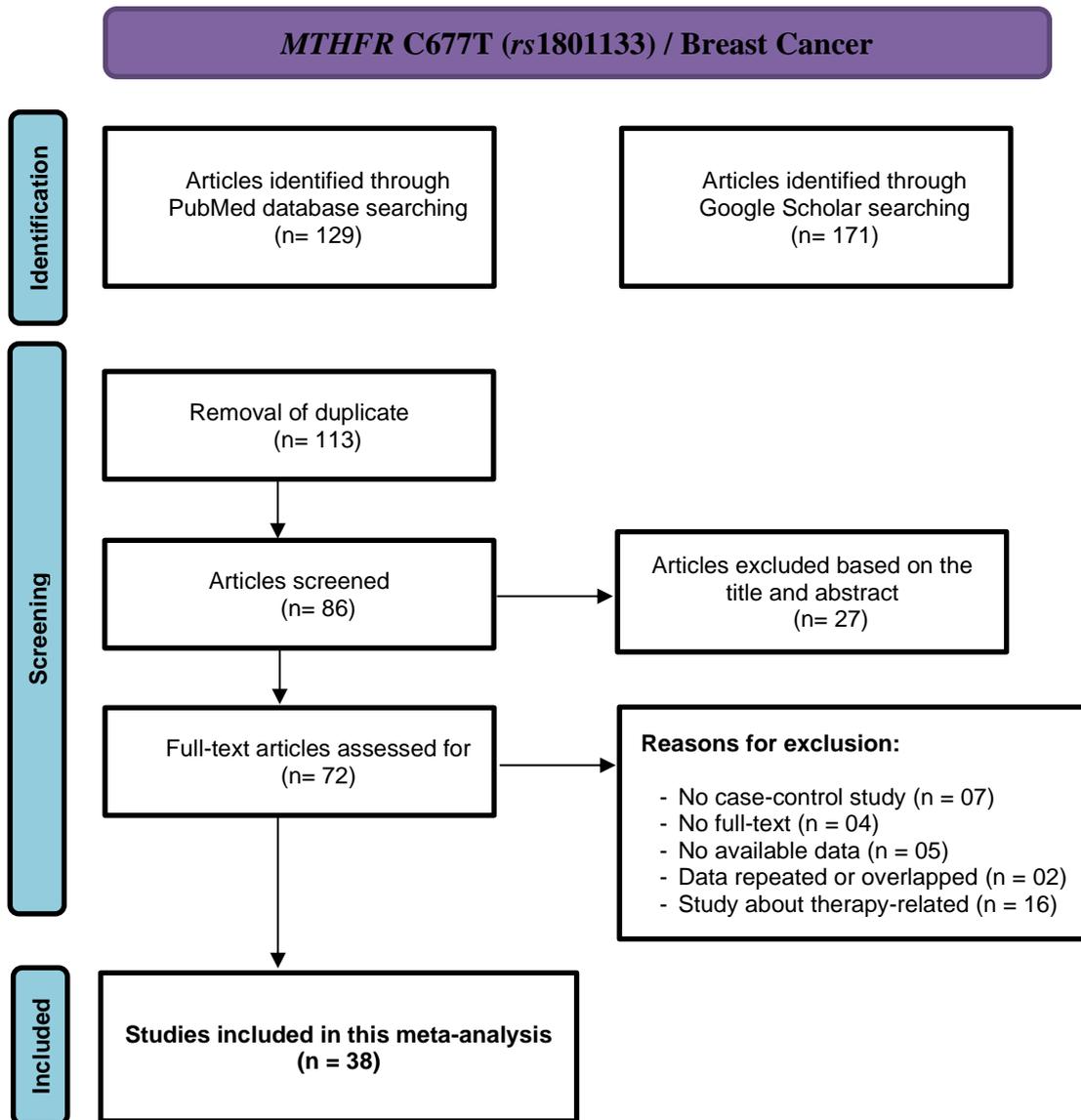
**Résultats  
et  
discussion**

Dans notre travail de recherche, nous avons réalisé une revue systématique de type méta-analyse afin de participer à la précision de la part des deux polymorphismes C677T (*rs1801133*) et A1298C (*rs1801131*), les plus répandus et étudiés du gène *MTHFR* (OMIM 607093), comme facteur de risque possible associé à la survenue du cancer du sein. Notre méta-analyse a été réalisée en suivant aux instructions de la méthodologie PRISMA. Ces instructions comprennent une liste de contrôle de 27 critères (PRISMA 2020 Checklist) qui décrivent comment chaque critère de la prospection doit être renseigné (annexe D). L'utilisation de cette liste permet aux auteurs réalisant une méta-analyse d'exposer leur travail de façon visible et claire. D'ailleurs, actuellement, tous les éditeurs de revues scientifiques exigent des auteurs de se conformer à ces critères. Dans notre approche, nous avons réalisé deux méta-analyses indépendantes, une pour chacun des polymorphismes prospectés. Par la suite, les résultats obtenus sont regroupés et discutés ensemble.

### 1. Méta-analyse C677T et cancer du sein

#### 1.1. Sélection des études

En nous appuyant sur les critères de recherche et d'éligibilité (inclusion et exclusion) cités dans la partie patientes et méthodes, selon la méthode PRISMA, nous avons débuté par la construction d'un diagramme de flux standardisé. Ce graphique fournit un aperçu schématique des résultats de la recherche menée dans le cadre de la revue systématique. Il résume le nombre d'articles identifiés, ainsi que le nombre d'articles finalement inclus dans la méta-analyse, en précisant toutes les étapes intermédiaires. Nous avons commencé par consulter les bases de données en utilisant les mots-clefs pertinents sélectionnés, à savoir « *Breast Cancer* », « *MTHFR* », « C677T » et « *rs1801133* ». Cette recherche nous a l'identification de 171 publications dans Google Scholar et 129 dans PubMed. Après avoir évincé les doublons redondants, nous avons obtenu un total de 113 articles. Nous avons ensuite exclu les articles non pertinents, pour arriver à un total de 86 articles à lire. Sur la base de l'intitulé de la publication, nous avons rejeté 27 articles, ne laissant au final que 72 articles conformes à nos critères d'éligibilité. Nous avons éliminé 34 études pour des raisons variées. Parmi lesquelles : certaines études n'étaient pas construites sur le modèle cas-témoins ( $n = 07$ ), pour d'autres, impossible d'avoir le texte intégral de la publication ( $n = 04$ ), parfois les données étaient absentes ou non exploitables ( $n = 05$ ), répétées ou superposées ( $n = 02$ ), ou il s'agit des fois d'études pharmacogénétiques ( $n = 12$ ). Au final, nous avons inclus un total de 38 études dans cette méta-analyse (figure 05).



**Figure 05 :** diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études du polymorphisme C677T incluses dans la méta-analyse.

## 1.2. Caractéristique des études incluses

Nous avons mené une recherche approfondie dans le but de réaliser une méta-analyse pour préciser l'implication du polymorphisme d'intérêt dans le développement du cancer du sein. Suite à cette recherche bibliographique, nous avons sélectionné 38 études. Nous avons procédé par la suite à l'extraction de toutes les informations nécessaires : auteur, année, pays, ethnie, technique de génotypage utilisée, taille des cohortes de patientes et des témoins, ainsi que les fréquences génotypiques et alléliques des deux cohortes (tableau II). Les fréquences génotypiques et alléliques rapportées par ces études sont représentées graphiquement dans les figures ci-après (figures 06 et 07).

**Tableau II : caractéristiques des études de l'implication du polymorphisme C677T incluses dans la méta-analyse.**

|    | Auteur et année de l'étude         | Présence ou absence d'association | Pays       | Technique utilisée | Patientes (cancer du sein) |     |        |     |        |     |        |      |       |     | Témoins |         |     |        |     |        |     |        |      |       |      |       |
|----|------------------------------------|-----------------------------------|------------|--------------------|----------------------------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|------|-------|-----|---------|---------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|------|-------|------|-------|
|    |                                    |                                   |            |                    | Cohorte                    | CC  | CC (%) | CT  | CT (%) | TT  | TT (%) | C    | C (%) | T   | T (%)   | Cohorte | CC  | CC (%) | CT  | CT (%) | TT  | TT (%) | C    | C (%) | T    | T (%) |
| 1  | Campbell <i>et al.</i> , 2002      | Oui                               | Angleterre | PCR-RFLP           | 335                        | 140 | 41,79  | 162 | 48,36  | 33  | 9,85   | 442  | 65,97 | 228 | 34,03   | 233     | 118 | 50,64  | 92  | 39,48  | 23  | 9,87   | 328  | 70,39 | 138  | 29,61 |
| 2  | Ergul <i>et al.</i> , 2003         | Oui                               | Turquie    | PCR-RFLP           | 118                        | 60  | 50,85  | 41  | 34,75  | 17  | 14,41  | 161  | 68,22 | 75  | 31,78   | 193     | 94  | 48,70  | 87  | 45,08  | 12  | 6,22   | 275  | 71,24 | 111  | 28,76 |
| 3  | Forsti <i>et al.</i> , 2004        | Oui                               | Finlande   | PCR-RFLP           | 223                        | 134 | 60,09  | 81  | 36,32  | 8   | 3,59   | 349  | 78,25 | 97  | 21,75   | 298     | 181 | 60,74  | 104 | 34,90  | 13  | 4,36   | 466  | 78,19 | 130  | 21,81 |
| 4  | Lee <i>et al.</i> , 2004           | Oui                               | Corée      | PCR-RFLP           | 186                        | 58  | 31,18  | 96  | 51,61  | 32  | 17,20  | 212  | 56,99 | 160 | 43,01   | 147     | 50  | 34,01  | 80  | 54,42  | 17  | 11,56  | 180  | 61,22 | 114  | 38,78 |
| 5  | Justenhoven <i>et al.</i> , 2005   | Non                               | Allemagne  | TaqMan             | 584                        | 249 | 42,64  | 274 | 46,92  | 61  | 10,45  | 772  | 66,10 | 396 | 33,90   | 633     | 261 | 41,23  | 279 | 44,08  | 93  | 14,69  | 801  | 63,27 | 465  | 36,73 |
| 6  | Kalemi <i>et al.</i> , 2005        | Oui                               | Grèce      | PCR-RFLP           | 42                         | 19  | 45,24  | 16  | 38,10  | 7   | 16,67  | 54   | 64,29 | 30  | 35,71   | 51      | 23  | 45,10  | 20  | 39,22  | 8   | 15,69  | 66   | 64,71 | 36   | 35,29 |
| 7  | Reljic <i>et al.</i> , 2007        | Non                               | Croatie    | PCR-RFLP           | 93                         | 40  | 43,01  | 44  | 47,31  | 9   | 9,68   | 124  | 66,67 | 62  | 33,33   | 65      | 27  | 41,54  | 34  | 52,31  | 4   | 6,15   | 88   | 67,69 | 42   | 32,31 |
| 8  | Hekim <i>et al.</i> , 2007         | Non                               | Turquie    | PCR-RFLP           | 40                         | 22  | 55,00  | 16  | 40,00  | 2   | 5,00   | 60   | 75,00 | 20  | 25,00   | 68      | 38  | 55,88  | 26  | 38,24  | 4   | 5,88   | 102  | 75,00 | 34   | 25,00 |
| 9  | Xu <i>et al.</i> , 2007            | Oui                               | USA        | Mass Array         | 1063                       | 398 | 37,44  | 476 | 44,78  | 189 | 17,78  | 1272 | 59,83 | 854 | 40,17   | 1104    | 440 | 39,86  | 509 | 46,11  | 155 | 14,04  | 1389 | 62,91 | 819  | 37,09 |
| 10 | Macis <i>et al.</i> , 2007         | Oui                               | Italie     | TaqMan             | 46                         | 14  | 30,43  | 20  | 43,48  | 12  | 26,09  | 48   | 52,17 | 44  | 47,83   | 80      | 28  | 35,00  | 41  | 51,25  | 11  | 13,75  | 97   | 60,63 | 63   | 39,38 |
| 11 | Kotsopoulos <i>et al.</i> , 2008   | Non                               | Canada     | Mass Array         | 944                        | 383 | 40,57  | 421 | 44,60  | 140 | 14,83  | 1187 | 62,87 | 701 | 37,13   | 680     | 252 | 37,06  | 341 | 50,15  | 87  | 12,79  | 845  | 62,13 | 515  | 37,87 |
| 12 | Langsenlehner <i>et al.</i> , 2008 | Oui                               | Autriche   | PCR-RFLP           | 105                        | 51  | 48,57  | 43  | 40,95  | 11  | 10,48  | 145  | 69,05 | 65  | 30,95   | 105     | 40  | 38,10  | 48  | 45,71  | 17  | 16,19  | 128  | 60,95 | 82   | 39,05 |
| 13 | Inoue <i>et al.</i> , 2008         | Non                               | Singapour  | PCR-RFLP           | 380                        | 239 | 62,89  | 120 | 31,58  | 21  | 5,53   | 598  | 78,68 | 162 | 21,32   | 662     | 393 | 59,37  | 226 | 34,14  | 43  | 6,50   | 1012 | 76,44 | 312  | 23,56 |
| 14 | Cam <i>et al.</i> , 2009           | Oui                               | Turquie    | PCR-RFLP           | 110                        | 48  | 43,64  | 49  | 44,55  | 13  | 11,82  | 145  | 65,91 | 75  | 34,09   | 95      | 47  | 49,47  | 42  | 44,21  | 6   | 6,32   | 136  | 71,58 | 54   | 28,42 |
| 15 | Hernandez <i>et al.</i> , 2009     | Non                               | Espagne    | PCR-RFLP           | 135                        | 52  | 38,52  | 65  | 48,15  | 18  | 13,33  | 169  | 62,59 | 101 | 37,41   | 292     | 107 | 36,64  | 138 | 47,26  | 47  | 16,10  | 352  | 60,27 | 232  | 39,73 |
| 16 | Maruti <i>et al.</i> , 2009        | Oui                               | USA        | PCR-RFLP           | 318                        | 133 | 41,82  | 139 | 43,71  | 46  | 14,47  | 405  | 63,68 | 231 | 36,32   | 647     | 301 | 46,52  | 284 | 43,89  | 62  | 9,58   | 886  | 68,47 | 408  | 31,53 |
| 17 | Ericson <i>et al.</i> , 2009       | Oui                               | Suède      | PCR-RFLP           | 540                        | 255 | 47,22  | 235 | 43,52  | 50  | 9,26   | 745  | 68,98 | 335 | 31,02   | 1074    | 531 | 49,44  | 452 | 42,09  | 91  | 8,47   | 1514 | 70,48 | 634  | 29,52 |
| 18 | Ma <i>et al.</i> , 2009 (a)        | Non                               | Japon      | TaqMan             | 388                        | 124 | 31,96  | 183 | 47,16  | 81  | 20,88  | 431  | 55,54 | 345 | 44,46   | 387     | 115 | 29,72  | 188 | 48,58  | 84  | 21,71  | 418  | 54,01 | 356  | 45,99 |
| 19 | Ma <i>et al.</i> , 2009 (b)        | Non                               | Brésil     | TaqMan             | 458                        | 225 | 49,13  | 188 | 41,05  | 45  | 9,83   | 638  | 69,65 | 278 | 30,35   | 458     | 222 | 48,47  | 187 | 40,83  | 49  | 10,70  | 631  | 68,89 | 285  | 31,11 |
| 20 | Bentley <i>et al.</i> , 2010       | Non                               | USA        | PCR-RFLP           | 939                        | 346 | 36,85  | 402 | 42,81  | 191 | 20,34  | 1094 | 58,25 | 784 | 41,75   | 1226    | 429 | 34,99  | 592 | 48,29  | 205 | 16,72  | 1450 | 59,14 | 1002 | 40,86 |
| 21 | Prasad et Wilkoo, 2011             | Oui                               | Inde       | PCR-RFLP           | 130                        | 124 | 95,38  | 5   | 3,85   | 1   | 0,77   | 253  | 97,31 | 7   | 2,69    | 125     | 116 | 92,80  | 8   | 6,40   | 1   | 0,80   | 240  | 96,00 | 10   | 4,00  |
| 22 | Wu <i>et al.</i> , 2012            | Oui                               | Chine      | PCR-RFLP           | 75                         | 32  | 42,67  | 30  | 40,00  | 13  | 17,33  | 94   | 62,67 | 56  | 37,33   | 75      | 37  | 49,33  | 32  | 42,67  | 6   | 8,00   | 106  | 70,67 | 44   | 29,33 |

|    |                                   |     |            |            |     |     |       |     |       |     |       |      |       |     |       |     |     |       |     |       |    |       |     |       |     |       |
|----|-----------------------------------|-----|------------|------------|-----|-----|-------|-----|-------|-----|-------|------|-------|-----|-------|-----|-----|-------|-----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 23 | <b>Akilzhanova et al., 2013</b>   | Oui | Kazakhstan | TaqMan     | 315 | 181 | 57,46 | 109 | 34,60 | 25  | 7,94  | 471  | 74,76 | 159 | 25,24 | 604 | 287 | 47,52 | 269 | 44,54 | 48 | 7,95  | 843 | 69,78 | 365 | 30,22 |
| 24 | <b>Lu et al., 2015</b>            | Oui | Chine      | TaqMan     | 560 | 170 | 30,36 | 288 | 51,43 | 102 | 18,21 | 628  | 56,07 | 492 | 43,93 | 560 | 226 | 40,36 | 250 | 44,64 | 84 | 15,00 | 702 | 62,68 | 418 | 37,32 |
| 25 | <b>Pooja et al., 2015</b>         | Non | Inde       | PCR-RFLP   | 588 | 437 | 74,32 | 134 | 22,79 | 17  | 2,89  | 1008 | 85,71 | 168 | 14,29 | 508 | 386 | 75,98 | 111 | 21,85 | 11 | 2,17  | 883 | 86,91 | 133 | 13,09 |
| 26 | <b>Awwad et al., 2015</b>         | Oui | Jordanie   | PCR-RFLP   | 150 | 66  | 44,00 | 69  | 46,00 | 15  | 10,00 | 201  | 67,00 | 99  | 33,00 | 146 | 79  | 54,11 | 51  | 34,93 | 16 | 10,96 | 209 | 71,58 | 83  | 28,42 |
| 27 | <b>Zhang et al., 2015</b>         | Oui | Chine      | PCR-RFLP   | 216 | 114 | 52,78 | 83  | 38,43 | 19  | 8,80  | 311  | 71,99 | 121 | 28,01 | 216 | 128 | 59,26 | 81  | 37,50 | 7  | 3,24  | 337 | 78,01 | 95  | 21,99 |
| 28 | <b>Zadeh et al., 2016</b>         | Oui | Iran       | PCR-RFLP   | 123 | 68  | 55,28 | 48  | 39,02 | 7   | 5,69  | 184  | 74,80 | 62  | 25,20 | 110 | 57  | 51,82 | 49  | 44,55 | 4  | 3,64  | 163 | 74,09 | 57  | 25,91 |
| 39 | <b>Waseem et al., 2016</b>        | Oui | Inde       | PCR-RFLP   | 275 | 178 | 64,73 | 91  | 33,09 | 6   | 2,18  | 447  | 81,27 | 103 | 18,73 | 275 | 217 | 78,91 | 55  | 20,00 | 3  | 1,09  | 489 | 88,91 | 61  | 11,09 |
| 30 | <b>Kaya et al., 2016</b>          | Oui | Turquie    | PCR-RFLP   | 199 | 102 | 51,26 | 75  | 37,69 | 22  | 11,06 | 279  | 70,10 | 119 | 29,90 | 195 | 101 | 51,79 | 81  | 41,54 | 13 | 6,67  | 283 | 72,56 | 107 | 27,44 |
| 31 | <b>Song et al., 2016</b>          | Oui | Chine      | Séquençage | 381 | 173 | 45,41 | 155 | 40,68 | 53  | 13,91 | 501  | 65,75 | 261 | 34,25 | 487 | 165 | 33,88 | 226 | 46,41 | 96 | 19,71 | 556 | 57,08 | 418 | 42,92 |
| 32 | <b>Zara et al., 2016</b>          | Oui | Brésil     | PCR-RFLP   | 100 | 35  | 35,00 | 48  | 48,00 | 17  | 17,00 | 118  | 59,00 | 82  | 41,00 | 144 | 66  | 45,83 | 65  | 45,14 | 13 | 9,03  | 197 | 68,40 | 91  | 31,60 |
| 33 | <b>Niw et al., 2017</b>           | Oui | Chine      | PCR-RFLP   | 466 | 235 | 50,43 | 172 | 36,91 | 59  | 12,66 | 642  | 68,88 | 290 | 31,12 | 470 | 274 | 58,30 | 168 | 35,74 | 28 | 5,96  | 716 | 76,17 | 224 | 23,83 |
| 34 | <b>Hedayat Zadeh et al., 2017</b> | Oui | Iran       | PCR-RFLP   | 54  | 38  | 70,37 | 13  | 24,07 | 3   | 5,56  | 89   | 82,41 | 19  | 17,59 | 60  | 38  | 63,33 | 18  | 30,00 | 4  | 6,67  | 94  | 78,33 | 26  | 21,67 |
| 35 | <b>Calderon et al., 2017</b>      | Oui | Mexique    | Mass Array | 234 | 70  | 29,91 | 113 | 48,29 | 51  | 21,79 | 253  | 54,06 | 215 | 45,94 | 118 | 37  | 31,36 | 60  | 50,85 | 21 | 17,80 | 134 | 56,78 | 102 | 43,22 |
| 36 | <b>Hesari et al., 2018</b>        | Oui | Iran       | TaqMan     | 100 | 40  | 40,00 | 27  | 27,00 | 33  | 33,00 | 107  | 53,50 | 93  | 46,50 | 142 | 126 | 88,73 | 15  | 10,56 | 1  | 0,70  | 267 | 94,01 | 17  | 5,99  |
| 37 | <b>Rahimi et al., 2019</b>        | Oui | Iran       | PCR-RFLP   | 100 | 50  | 50,00 | 40  | 40,00 | 10  | 10,00 | 140  | 70,00 | 60  | 30,00 | 197 | 117 | 59,39 | 74  | 37,56 | 6  | 3,05  | 308 | 78,17 | 86  | 21,83 |
| 38 | <b>Lal et al., 2022</b>           | Non | Inde       | PCR-RFLP   | 247 | 169 | 68,42 | 71  | 28,74 | 7   | 2,83  | 409  | 82,79 | 85  | 17,21 | 247 | 184 | 74,49 | 58  | 23,48 | 5  | 2,02  | 426 | 86,23 | 68  | 13,77 |

11360

13177

- Pour Ma et al., 2009 qui est répété deux fois dans le tableau, il s'agit de deux études complètement différentes : la première (a) réalisée au Japon (asiatique), alors que la deuxième (b) a été réalisée la même année au Brésil (mixte).

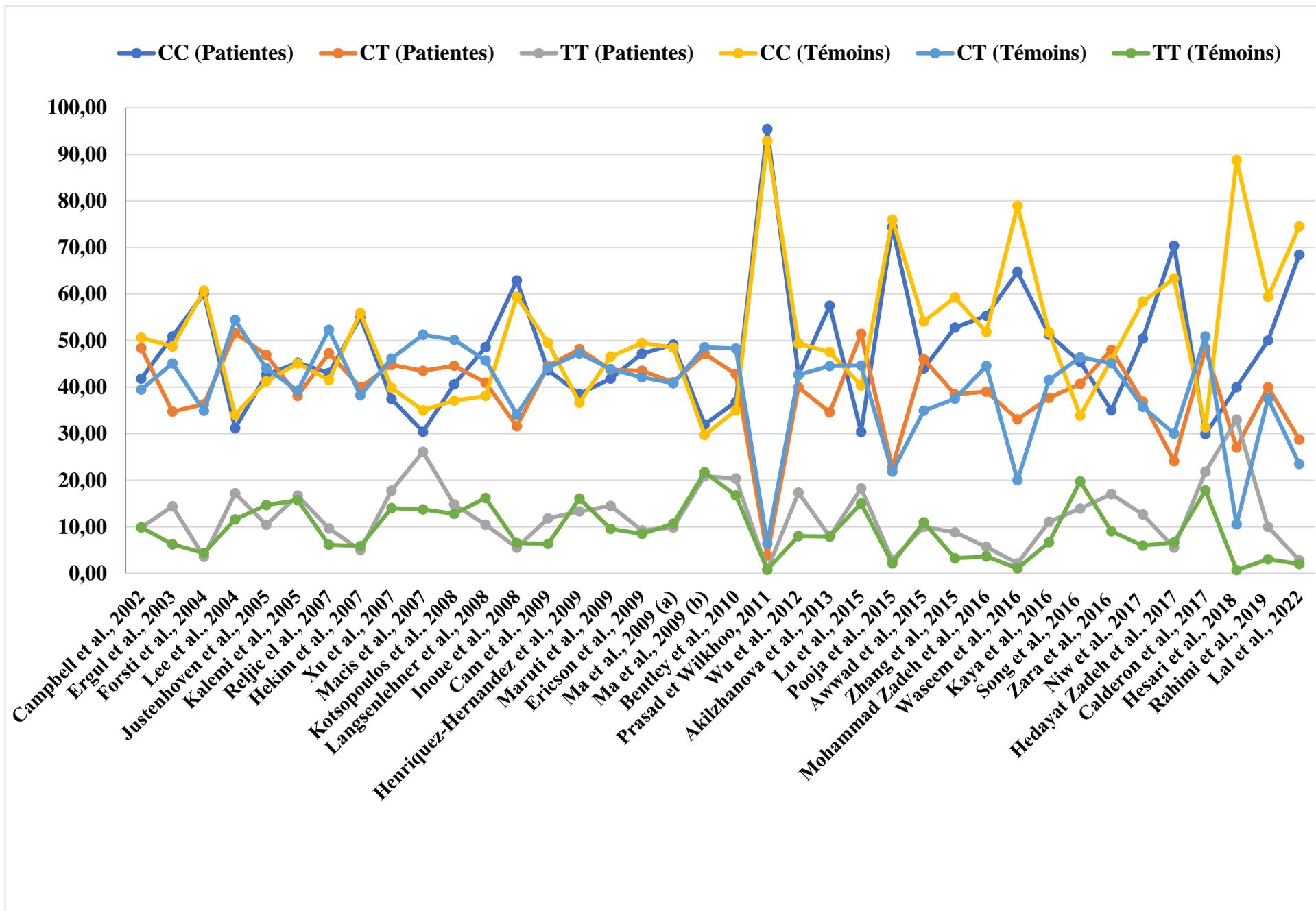


Figure 06 : représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme C677T des études incluses dans la méta-analyse.

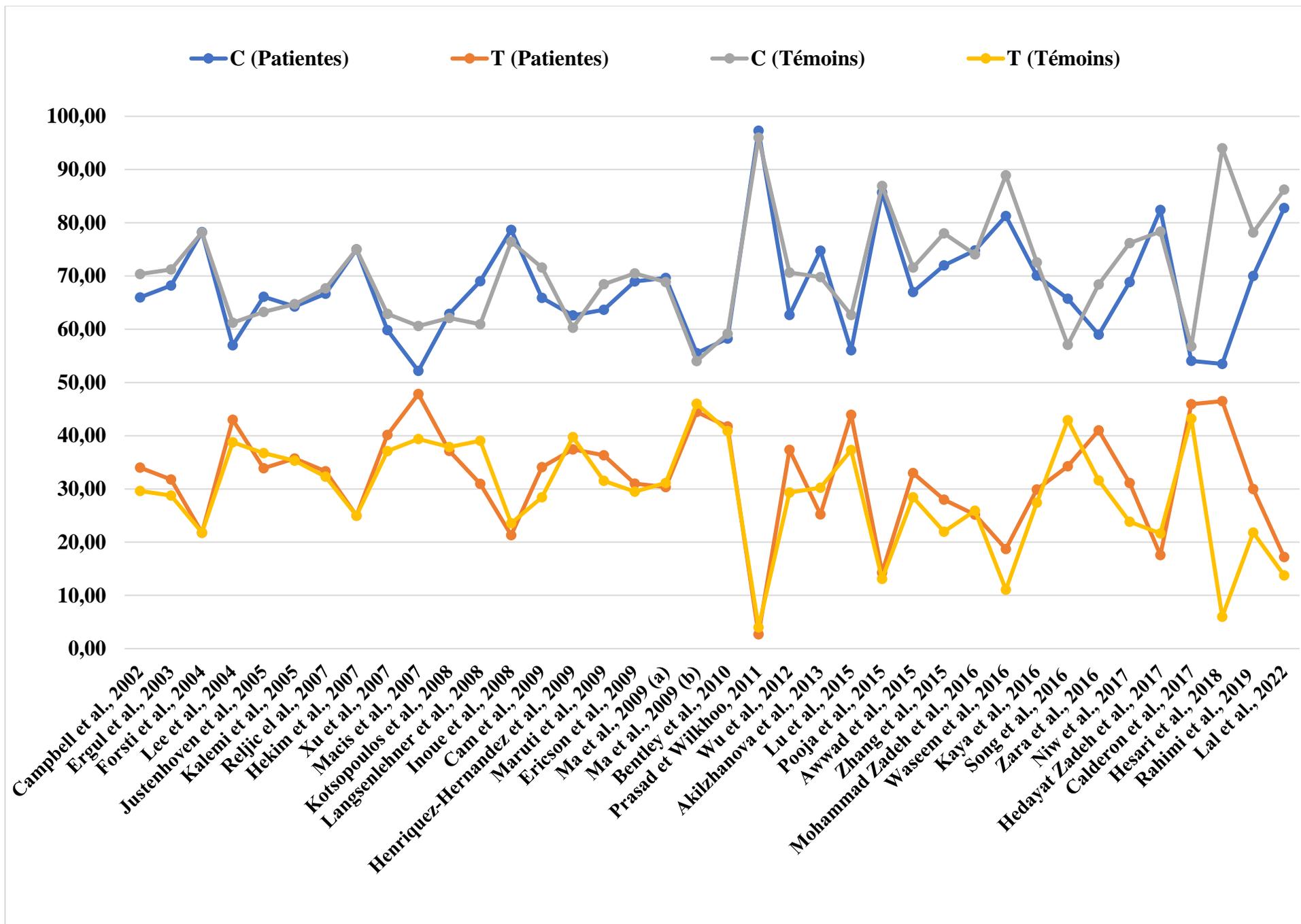


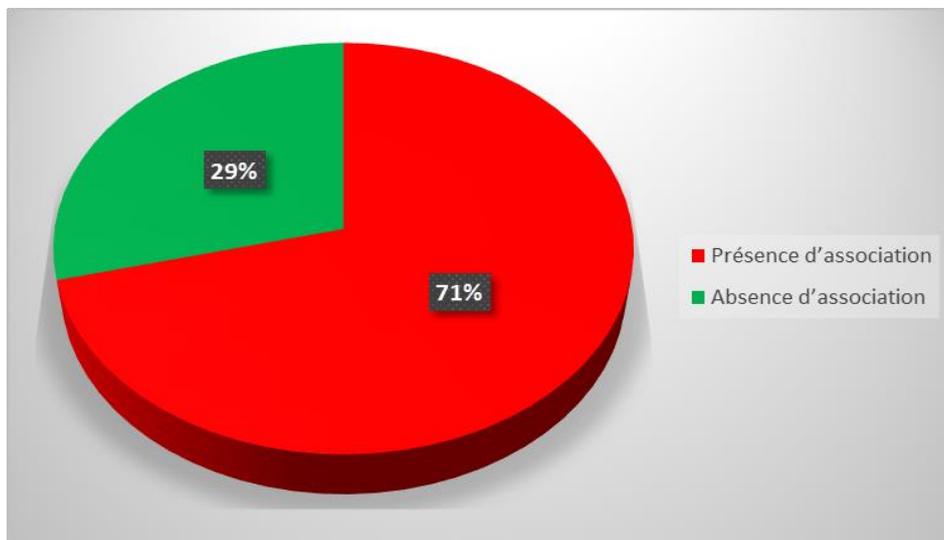
Figure 07 : représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme C677T indiquées des études incluses dans la méta-analyse.

Les 38 études incluses dans notre méta-analyse sont toutes des études construites selon le modèle cas-témoins, publiées de 2002 à 2022, ayant prospecté l'implication du polymorphisme C677T du gène *MTHFR* comme facteur de risque supposé dans la survenue de cancer du sein. Ces études ont été classées par ordre chronologique, de la plus ancienne (2002) à la plus récente (2022) et sont présentées ainsi comme suit : Campbell *et al.*, 2002 ; Ergul *et al.*, 2003 ; Forsti *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2004 ; Justenhoven *et al.*, 2005 ; Kalemi *et al.*, 2005 ; Reljic *et al.*, 2007 ; Hekim *et al.*, 2007 ; Xu *et al.*, 2007 ; Macis *et al.*, 2007 ; Kotsopoulos *et al.*, 2008 ; Langsenlehner *et al.*, 2008 ; Inoue *et al.*, 2008 ; Cam *et al.*, 2009 ; Henriquez-Hernandez *et al.*, 2009 ; Maruti *et al.*, 2009 ; Ericson *et al.*, 2009 ; Ma *et al.*, 2009 (a) ; Ma *et al.*, 2009 (b) ; Bentley *et al.*, 2010 ; Prasad et Wilkhoo, 2011 ; Wu *et al.*, 2012 ; Akilzhanova *et al.*, 2013 ; Lu *et al.*, 2015 ; Pooja *et al.*, 2015 ; Awwad *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2015 ; Mohammad Zadeh *et al.*, 2016 ; Waseem *et al.*, 2016 ; Kaya *et al.*, 2016 ; Song *et al.*, 2016 ; Zara *et al.*, 2016 ; Niw *et al.*, 2017 ; Hedayat Zadeh *et al.*, 2017 ; Calderon *et al.*, 2017 ; Hesari *et al.*, 2018 ; Rahimi *et al.*, 2019 ; Lal *et al.*, 2022. Il est à préciser que pour la référence Ma *et al.*, il s'agit en fait d'homonyme de deux auteurs différents, qui ont réalisé la même année (2009), deux études indépendantes, sur la thématique, mais sur deux séries différentes ; la première (a) au Japon et la deuxième (b) au Brésil.

Les études incluses dans cette méta-analyse ont été réalisées dans des pays différents (Allemagne, Brésil, Chine, Corée du Sud, Croatie, Espagne, États-Unis, Iran, Inde, Jordanie, Suède, Angleterre, Singapour, Finlande, Canada, Kazakhstan, Mexique, Italie et Turquie), et sur différentes ethnies (asiatique, caucasienne et mixte). Il est à préciser que plusieurs études ont été réalisées dans le même pays, mais sur des cohortes différentes : 5 en Chine, 4 en Iran, 4 en Inde, 4 en Turquie, 3 aux États-Unis et 2 au Brésil. Il est à signaler aussi que l'étude de Xu *et al.*, 2007, l'une des plus larges en terme taille de cohorte dans notre méta-analyse et qui a porté sur 1063 patientes atteintes d'un cancer du sein et 1104 témoins présumés sains, a été menée aux États-Unis sans que l'origine ethnique des participants soit prise en considération. Sachant la démographie particulière de ce pays composée de caucasiens, afro-américains, asiatiques, hispaniques et amérindiens, nous avons considéré l'ethnie dans cette étude comme étant mixte. De même, nous avons considéré l'ethnie comme étant mixte, l'étude de Maruti *et al.*, 2009 (États-Unis), les 4 études turques (Ergul *et al.*, 2003 ; Hekim *et al.*, 2007 ; Cam *et al.*, 2009 ; Kaya *et al.*, 2016), ainsi que les 2 études brésiliennes (Ma *et al.*, 2009 ; Zara *et al.*, 2016).

Les auteurs de ces études ont utilisé diverses techniques de biologie moléculaire pour le génotypage et la mise en évidence du polymorphisme d'intérêt. Pour la plupart, ces auteurs ont réalisé une PCR-RFLP (27 études), dans 7 d'entre elles, il a été procédé à une PCR quantitative en temps réel (TaqMan). Pour deux études, celles de Xu *et al.*, 2007 (États-Unis) et Calderon *et al.*, 2017 (Mexique), les auteurs ont procédé à l'utilisation du système de puces à ADN MassARRAY®. Dans l'étude de Song *et al.*, 2016 (Chine), un séquençage classique en Sanger a été utilisé pour le génotypage.

Ces 38 études ayant examiné l'association entre le polymorphisme C677T du gène *MTHFR* et le risque de survenue d'un cancer du sein ont rapporté des résultats assez contradictoires (figure 08).



**Figure 08 :** conclusions des études incluses dans notre méta-analyse pour le variant C677T.

Sur ces études, 27 d'entre elles (71,05%) ont rapporté une association statistiquement positive et suggèrent que l'allèle T, présent en une seule copie chez les hétérozygotes CT et en deux copies chez les homozygotes TT, constitue bien un facteur de risque probable de cette pathologie cancéreuse (Campbell *et al.*, 2002 ; Ergul *et al.*, 2003 ; Forsti *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2004 ; Kalemi *et al.*, 2005 ; Xu *et al.*, 2007 ; Macis *et al.*, 2007 ; Langsenlehner *et al.*, 2008 ; Cam *et al.*, 2009 ; Maruti *et al.*, 2009 ; Ericson *et al.*, 2009 ; Prasad et Wilkhoo, 2011 ; Wu *et al.*, 2012 ; Akilzhanova *et al.*, 2013 ; Lu *et al.*, 2015 ; Awwad *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2015 ; Mohammad Zadeh *et al.*, 2016 ; Waseem *et al.*, 2016 ; Kaya *et al.*, 2016 ; Song *et al.*, 2016 ; Zara *et al.*, 2016 ; Niw *et al.*, 2017 ; Hedayat Zadeh *et al.*, 2017 ; Calderon *et al.*, 2017 ; Hesari *et al.*, 2018 ; Rahimi *et al.*, 2019).

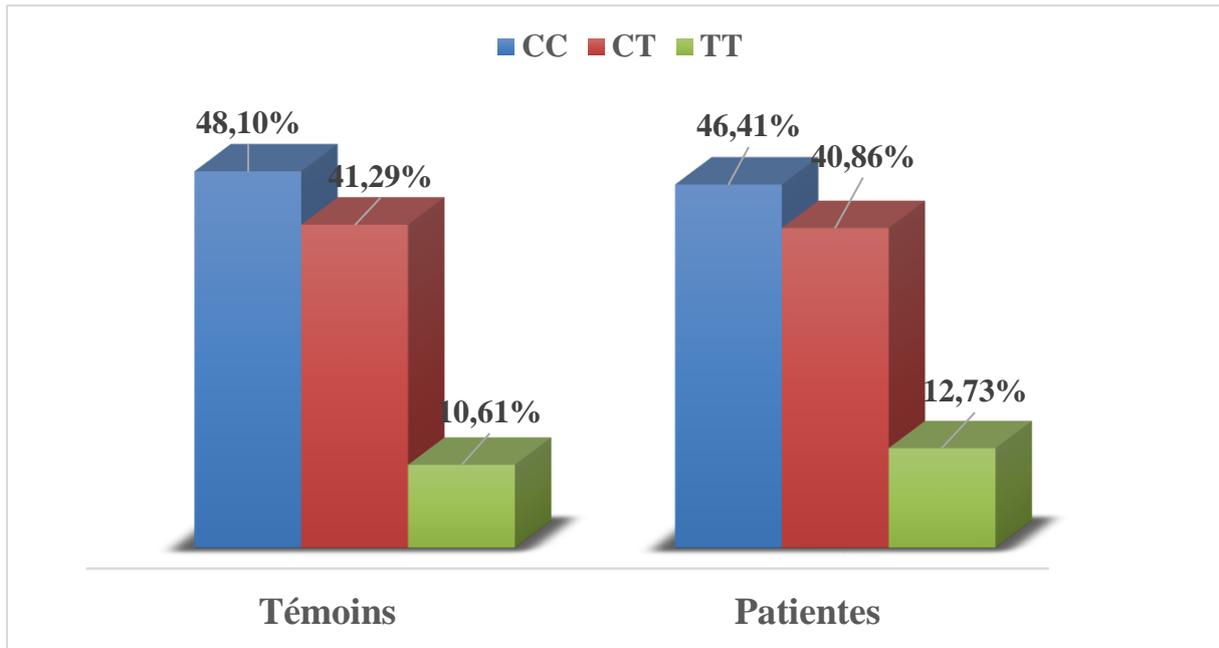
Au contraire, 11 études seulement (28,94%), ont conclu à l'absence d'une telle association et rapportent qu'il n'y a aucune différence statistiquement significative dans la distribution des fréquences génotypiques et alléliques entre les patientes et les témoins saines (Justenhoven *et al.*, 2005 ; Reljic *et al.*, 2007 ; Hekim *et al.*, 2007 ; Kotsopoulos *et al.*, 2008 ; Inoue *et al.*, 2008 ; Henriquez-Hernandez *et al.*, 2009 ; Ma *et al.*, 2009 (a) ; Ma *et al.*, 2009 (b) ; Bentley *et al.*, 2010 ; Pooja *et al.*, 2015 ; Lal *et al.*, 2022). Il est surprenant de constater que des études provenant du même pays ont conclu à des résultats contradictoires. À titre d'exemple, sur les 4 études menées en Turquie, 3 d'entre elles rapportent une association positive, alors qu'une indique le résultat contraire. Néanmoins, pour les 4 études menées en Iran, elles concluent toutes à l'incrimination de ce polymorphisme comme étant un facteur de risque du cancer du sein.

En ce qui concerne les critères de diagnostic utilisés pour définir la population des patientes, dans cette série, et pour toutes les études incluses dans cette méta-analyse, les auteurs ont inclus des patientes atteintes d'un cancer du sein, sans prendre en considération les paramètres clinco-biologiques tels que la localisation, le type histologique, la classification moléculaire, et de l'aspect héréditaire ou non de la pathologie.

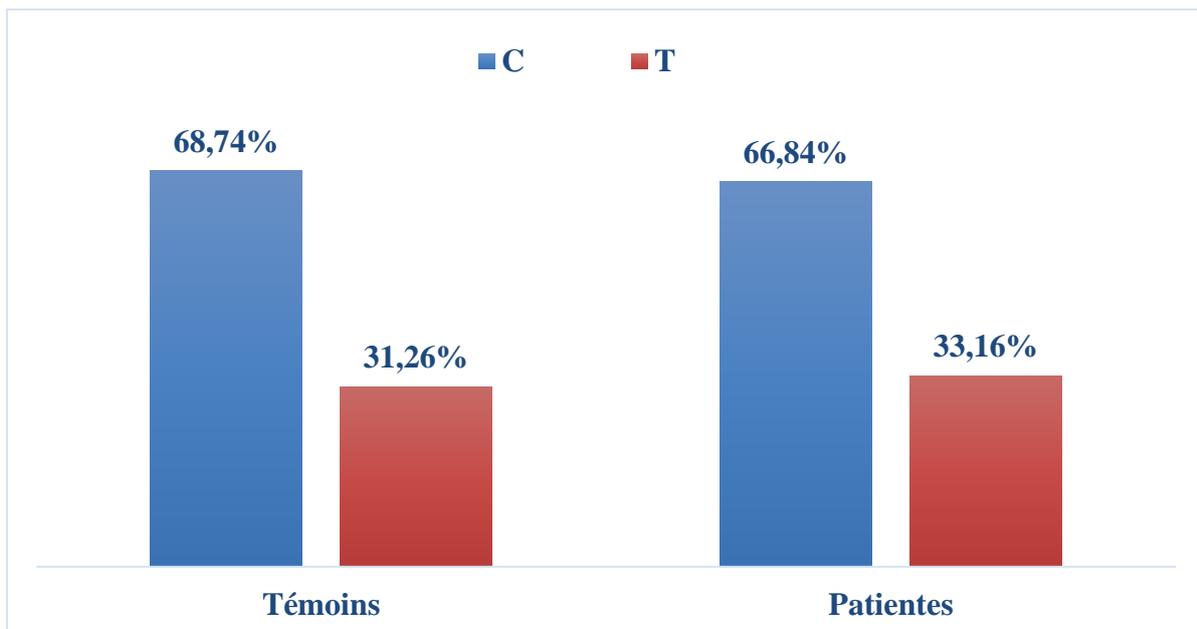
### 1.3. Fréquences génotypiques et alléliques

Notre méta-analyse englobe 11360 patientes et 13177 témoins supposés sains en bonne santé apparente. Cet effectif assez consistant dans les deux cohortes de patientes et de témoins est garant de la fiabilité des résultats qui seront obtenus à l'issue de cette méta-analyse.

Dans la population des patientes, l'assemblage des résultats rapportés par les 38 études incluses dans notre méta-analyse indique des fréquences des génotypes CC, CT et TT qui sont respectivement de 46,41%, 40,86% et 12,73%, alors que pour les témoins ces fréquences sont de 48,10%, 41,29% et 10,61%. Il est remarquable d'observer de fortes analogies dans la répartition des fréquences génotypiques entre les deux séries. En effet, pour les patientes et pour les témoins, le génotype homozygote sauvage (CC) était le plus fréquent, suivi par l'hétérozygote (CT) et l'homozygote muté (TT). Les écarts de fréquences observés entre les deux groupes sont assez réduits. Pour les allèles, les fréquences alléliques relevées pour l'allèle sauvage (C) et l'allèle muté (T) sont respectivement de 66,84% et 33,16% pour les patientes, et de 68,74% et 31,26% pour les témoins. De même que pour les fréquences génotypiques, les fréquences alléliques paraissent assez proches entre patientes et témoins. Les fréquences génotypiques et alléliques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse sont résumées dans les figures ci-dessous (figures 09 et 10).



**Figure 09 :** fréquences génotypiques additionnées pour le polymorphisme C677T.



**Figure 10 :** fréquences alléliques additionnées pour le polymorphisme C677T.

Face à ces données assez confuses qui ne permettent pas de tirer des conclusions claires quant à l'implication du polymorphisme C677T de la *MTHFR* dans la genèse des cancers du sein, la réalisation d'une étude systématique de type méta-analyse est l'approche idéale pour trancher la question de la présence ou l'absence de risque potentiel conféré par l'allèle délétère T. Dans ce sens, nous avons entrepris la réalisation d'une méta-analyse incluant toutes les études sélectionnées précédemment selon les critères du guide PRISMA. Ces données ont été traitées avec le logiciel utilisé à cette fin (CMA software 3.1).

1.4. Vérification et ajustement de l'équilibre de *Hardy-Weinberg*

Nous avons procédé à une vérification, suivie d'un ajustement par le logiciel, de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* des études incluses dans notre méta-analyse (tableau III).

Tableau III : calcul de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* ajusté pour les études du C677T.

| Auteur                             | Ethnicité                | TT Cas | CT Cas | CC Cas | TT Témoins | CT Témoins | CC Témoins | HW <i>p</i> -value | HW <i>p</i> -value Ajustée |
|------------------------------------|--------------------------|--------|--------|--------|------------|------------|------------|--------------------|----------------------------|
| Campbell <i>et al.</i> , 2002      | Angleterre (Caucasienne) | 33     | 162    | 140    | 23         | 92         | 118        | 0,419              | 0,7978                     |
| Ergul <i>et al.</i> , 2003         | Turquie (mixe)           | 17     | 41     | 60     | 12         | 87         | 94         | 0,164              | 0,6128                     |
| Forsti <i>et al.</i> , 2004        | Finlande (Caucasienne)   | 8      | 81     | 134    | 13         | 104        | 181        | 0,689              | 0,8663                     |
| Lee <i>et al.</i> , 2004           | Corée du Sud (Asiatique) | 32     | 96     | 58     | 17         | 80         | 50         | 0,076              | 0,6128                     |
| Justenhoven <i>et al.</i> , 2005   | Allemagne (Caucasienne)  | 61     | 274    | 249    | 93         | 279        | 261        | 0,193              | 0,6128                     |
| Kalemi <i>et al.</i> , 2005        | Grèce (Caucasienne)      | 7      | 16     | 19     | 8          | 20         | 23         | 0,312              | 0,7422                     |
| Reljic <i>et al.</i> , 2007        | Croatie (Caucasienne)    | 9      | 44     | 40     | 4          | 34         | 27         | 0,114              | 0,6128                     |
| Hekim <i>et al.</i> , 2007         | Turquie (mixe)           | 2      | 16     | 22     | 4          | 26         | 38         | 0,871              | 0,8951                     |
| Xu <i>et al.</i> , 2007            | États-Unis (mixe)        | 189    | 476    | 398    | 155        | 509        | 440        | 0,688              | 0,8663                     |
| Macis <i>et al.</i> , 2007         | Italie (Caucasienne)     | 12     | 20     | 14     | 11         | 41         | 28         | 0,511              | 0,8663                     |
| Kotsopoulos <i>et al.</i> , 2008   | Canada (Caucasienne)     | 140    | 421    | 383    | 87         | 341        | 252        | 0,086              | 0,6128                     |
| Langsenlehner <i>et al.</i> , 2008 | Autriche (Caucasienne)   | 11     | 43     | 51     | 17         | 48         | 40         | 0,684              | 0,8663                     |
| Inoue <i>et al.</i> , 2008         | Singapore (Asiatique)    | 21     | 120    | 239    | 43         | 226        | 393        | 0,178              | 0,6128                     |
| Cam <i>et al.</i> , 2009           | Turquie (mixe)           | 13     | 49     | 48     | 6          | 42         | 47         | 0,398              | 0,7972                     |
| Hernandez <i>et al.</i> , 2009     | Espagne (Caucasienne)    | 18     | 65     | 52     | 47         | 138        | 107        | 0,822              | 0,8930                     |
| Maruti <i>et al.</i> , 2009        | États-Unis (mixe)        | 46     | 139    | 133    | 62         | 284        | 301        | 0,672              | 0,8663                     |
| Ericson <i>et al.</i> , 2009       | Suède (Caucasienne)      | 50     | 235    | 255    | 91         | 452        | 531        | 0,706              | 0,8663                     |
| Ma <i>et al.</i> , 2009            | Brésil (mixe)            | 45     | 188    | 225    | 49         | 187        | 222        | 0,309              | 0,7422                     |
| Ma <i>et al.</i> , 2009            | Japon (Asiatique)        | 81     | 183    | 124    | 84         | 188        | 115        | 0,663              | 0,8663                     |
| Bentley <i>et al.</i> , 2010       | États-Unis (Caucasienne) | 191    | 402    | 346    | 205        | 592        | 429        | 0,974              | 0,9747                     |
| Prasad et Wilkhoo, 2011            | Inde (Asiatique)         | 1      | 5      | 124    | 1          | 8          | 116        | 0,062              | 0,6128                     |
| Wu <i>et al.</i> , 2012            | Chine (Asiatique)        | 13     | 30     | 32     | 6          | 32         | 37         | 0,800              | 0,8930                     |
| Akilzhanova <i>et al.</i> , 2013   | Kazakhstan (Asiatique)   | 25     | 109    | 181    | 48         | 269        | 287        | 0,168              | 0,6128                     |
| Lu <i>et al.</i> , 2015            | Chine (Asiatique)        | 102    | 288    | 170    | 84         | 250        | 226        | 0,278              | 0,7422                     |
| Pooja <i>et al.</i> , 2015         | Inde (Asiatique)         | 17     | 134    | 437    | 11         | 111        | 386        | 0,370              | 0,7828                     |
| Awwad <i>et al.</i> , 2015         | Jordanie (Caucasienne)   | 15     | 69     | 66     | 16         | 51         | 79         | 0,087              | 0,6128                     |
| Zhang <i>et al.</i> , 2015         | Chine (Asiatique)        | 19     | 83     | 114    | 7          | 81         | 128        | 0,171              | 0,6128                     |
| Zadeh <i>et al.</i> , 2016         | Iran (Asiatique)         | 7      | 48     | 68     | 4          | 49         | 57         | 0,092              | 0,6128                     |
| Waseem <i>et al.</i> , 2016        | Inde (Asiatique)         | 6      | 91     | 178    | 3          | 55         | 217        | 0,814              | 0,8930                     |
| Kaya <i>et al.</i> , 2016          | Turquie (mixe)           | 22     | 75     | 102    | 13         | 81         | 101        | 0,546              | 0,8663                     |
| Song <i>et al.</i> , 2016          | Chine (Asiatique)        | 53     | 155    | 173    | 96         | 226        | 165        | 0,243              | 0,7115                     |
| Zara <i>et al.</i> , 2016          | Brésil (mixe)            | 17     | 48     | 35     | 13         | 65         | 66         | 0,595              | 0,8663                     |
| Niw <i>et al.</i> , 2017           | Chine (Asiatique)        | 59     | 172    | 235    | 28         | 168        | 274        | 0,739              | 0,8777                     |
| Hedayat Zadeh <i>et al.</i> , 2017 | Iran (Asiatique)         | 3      | 13     | 38     | 4          | 18         | 38         | 0,368              | 0,7828                     |
| Calderon <i>et al.</i> , 2017      | Mexique (mixte)          | 51     | 113    | 70     | 21         | 60         | 37         | 0,695              | 0,8663                     |
| Hesari <i>et al.</i> , 2018        | Iran (Asiatique)         | 33     | 27     | 40     | 1          | 15         | 126        | 0,463              | 0,8394                     |
| Rahimi <i>et al.</i> , 2019        | Iran (Asiatique)         | 10     | 40     | 50     | 6          | 74         | 117        | 0,157              | 0,6128                     |
| Lal <i>et al.</i> , 2022           | Inde (Asiatique)         | 7      | 71     | 169    | 5          | 58         | 184        | 0,863              | 0,8951                     |

Les études d'association de type cas-témoins sont fondées sur une analyse directe d'un variant allélique en confrontant les fréquences génotypiques des patients atteints de la pathologie avec celles des témoins appariés. Pour apprécier cette association, des calculs sont réalisés en utilisant le test du  $\chi^2$ , qui repose sur la loi du  $\chi^2$ . Néanmoins, ce test ne peut être réalisé que dans des populations dites : « en équilibre *Hardy-Weinberg* », ce qui indique que les génotypes doivent être distribués de manière complètement aléatoire dans la population. Cette loi permet de confronter les valeurs observées avec les valeurs attendues. Le résultat de ce test donne une *p-value* qui indique la probabilité d'obtenir le même résultat par pur hasard et ce en supposant que l'hypothèse nulle soit vraie. Un résultat est considéré comme significatif si la *p-value* est inférieure à 5% (0,05), avec un intervalle de confiance défini à 95% et un degré de liberté égal à 1.

Les résultats obtenus par le logiciel indiquent que la totalité (38) des études incluses dans cette méta-analyse sont en équilibre de *HWE*. Il s'agit là aussi d'un résultat garantissant la fiabilité des résultats qui seront obtenus.

### 1.5. Analyse quantitative

Les résultats principaux de cette méta-analyse sont regroupés dans le tableau IV, qui présente les résultats des tests d'association selon les 7 modèles de comparaison prospectés. Les diagrammes en forêt (*forest plots*) de tous les modèles de comparaisons utilisés dans notre méta-analyse sont présentés dans les figures correspondantes (figures 11, 12, 13, 14, 15, 16 et 17).

**Tableau IV** : résultats des tests d'association pour l'effet du polymorphisme C677T.

| Modèle de comparaison              |               | OR    | 95%-CI         | p-value |
|------------------------------------|---------------|-------|----------------|---------|
| Modèle allélique (C vs. T)         | Fixed effect  | 1,077 | [1,036; 1,121] | 0,0001  |
|                                    | Random effect | 1,135 | [1,035; 1,245] | 0,0067  |
| Modèle récessif (TT vs. CT+CC)     | Fixed effect  | 1,186 | [1,093; 1,287] | 0,0001  |
|                                    | Random effect | 1,244 | [1,082; 1,431] | 0,0021  |
| Modèle dominant (TT+CT vs. CC)     | Fixed effect  | 1,058 | [1,004; 1,116] | 0,0339  |
|                                    | Random effect | 1,108 | [0,993; 1,236] | 0,0657  |
| Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT) | Fixed effect  | 0,978 | [0,928; 1,031] | 0,4162  |
|                                    | Random effect | 0,997 | [0,920; 1,080] | 0,9477  |
| TT vs. CC                          | Fixed effect  | 1,179 | [1,079; 1,287] | 0,0002  |
|                                    | Random effect | 1,269 | [1,079; 1,492] | 0,0039  |
| TT vs. CT                          | Fixed effect  | 1,194 | [1,095; 1,302] | 0,0001  |
|                                    | Random effect | 1,213 | [1,072; 1,373] | 0,0020  |
| CT vs. CC                          | Fixed effect  | 1,017 | [0,961; 1,075] | 0,5491  |
|                                    | Random effect | 1,045 | [0,949; 1,151] | 0,3630  |

Les résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison, avec la méthode d'estimation à effet fixe (variance inverse) ainsi que celle des effets aléatoires (méthode de DerSimonian-Laird), ont mis évidence, selon plusieurs modèles, des associations significatives avec des valeurs inférieures au seuil de significativité fixé à 0,05. En effet, nous avons relevé des associations positives selon le modèle allélique à effet fixe ( $p = 0,0001$ ) et aléatoire ( $p = 0,006$ ), le modèle récessif à effet fixe ( $p = 0,0001$ ) et aléatoire ( $p = 0,002$ ), le modèle dominant à effet fixe ( $p = 0,0339$ ), ainsi que les modèles TT vs. CC et TT vs. CT selon les deux effets testés. Néanmoins, aucune association statistiquement significative n'a été constatée, selon les deux effets testés, avec le modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT) et le modèle CT vs. CC.

Ces résultats suggèrent fortement que l'allèle T, récessif, supposé délétère, constitue un facteur de risque probable dans la survenue des cancers du sein chez les individus qui en sont porteur ; les individus avec le génotype homozygote muté TT et à un moindre degré celles avec le génotype hétérozygote CT. L'analyse des représentations graphiques en forêt confirme cette observation (figures 11, 12, 13, 14, 15, 16 et 17).

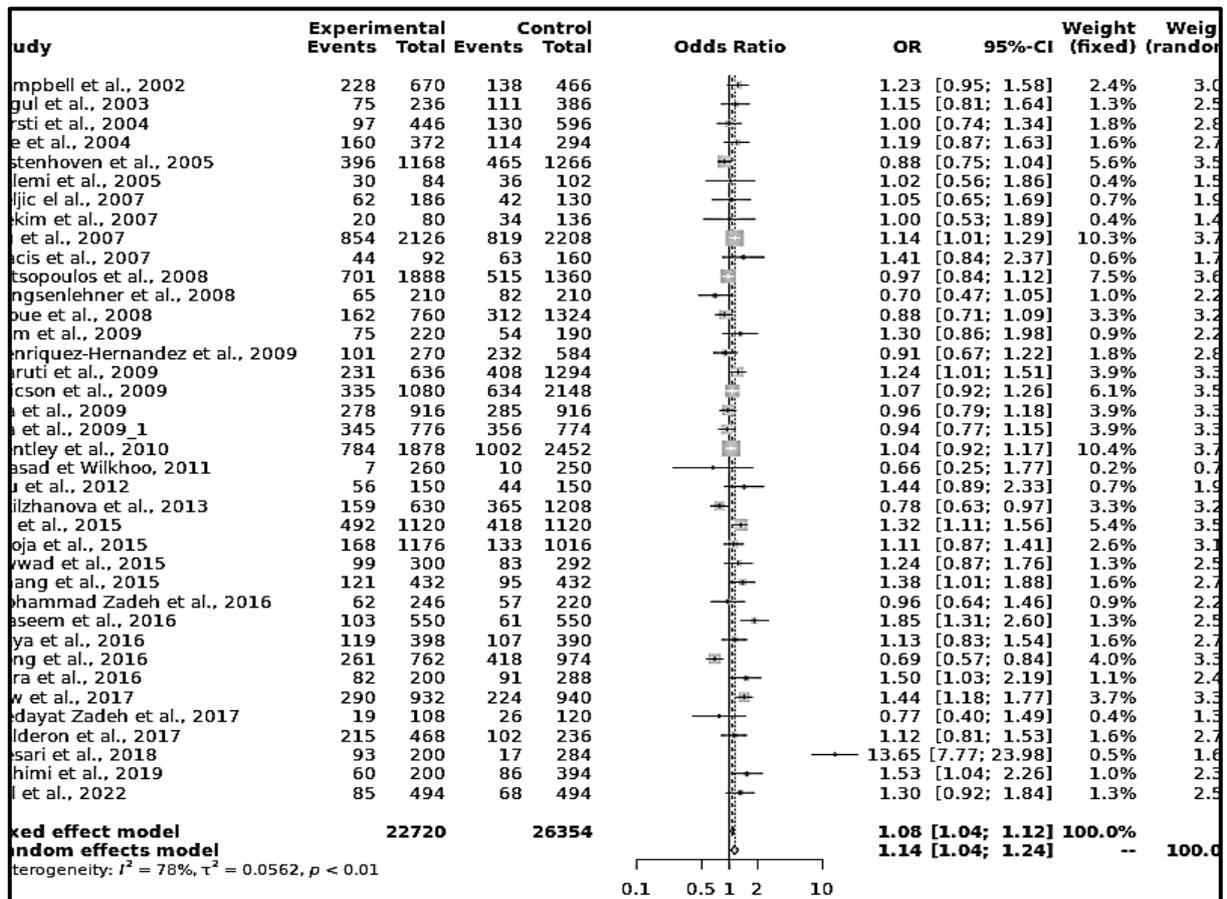


Figure 11 : graphique en forêt du modèle de comparaison allélique (C vs. T).

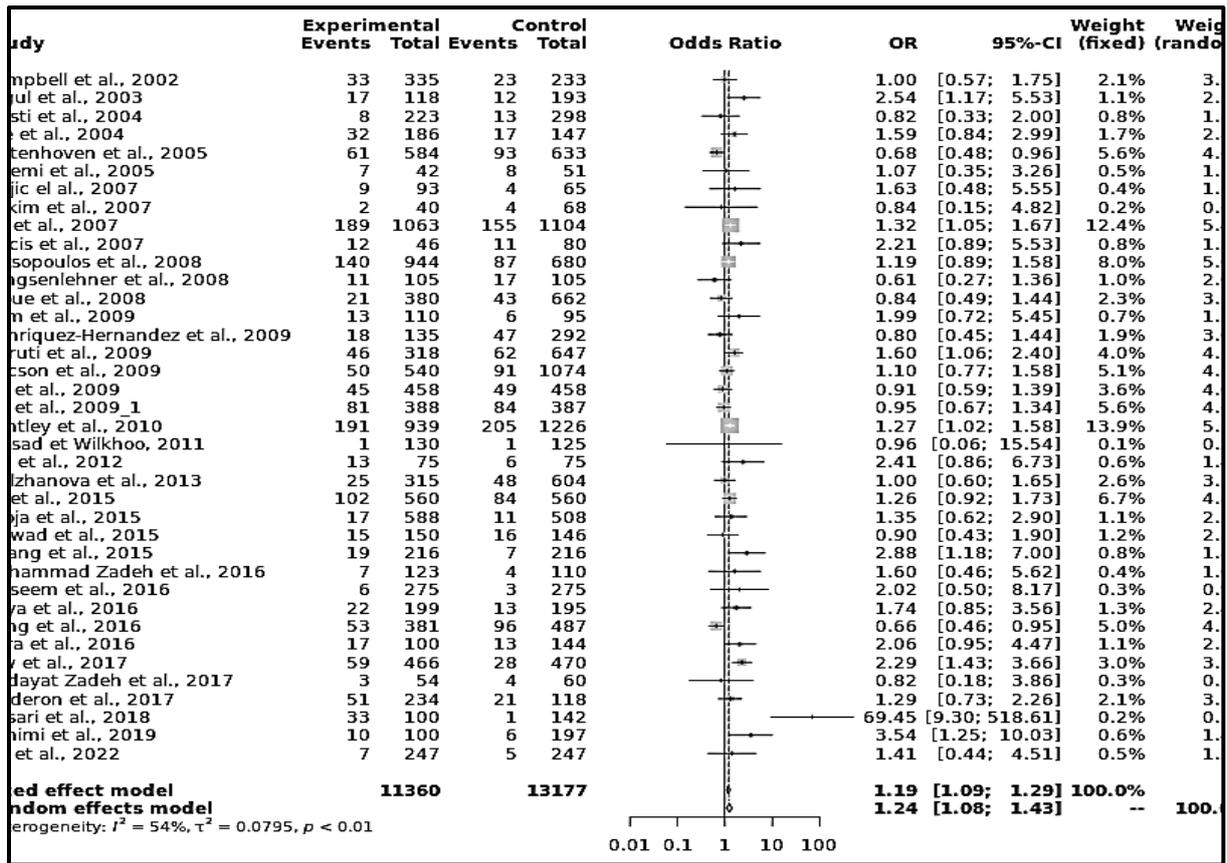


Figure 12 : graphique en forêt du modèle de comparaison récessif (TT vs. CT+CC).

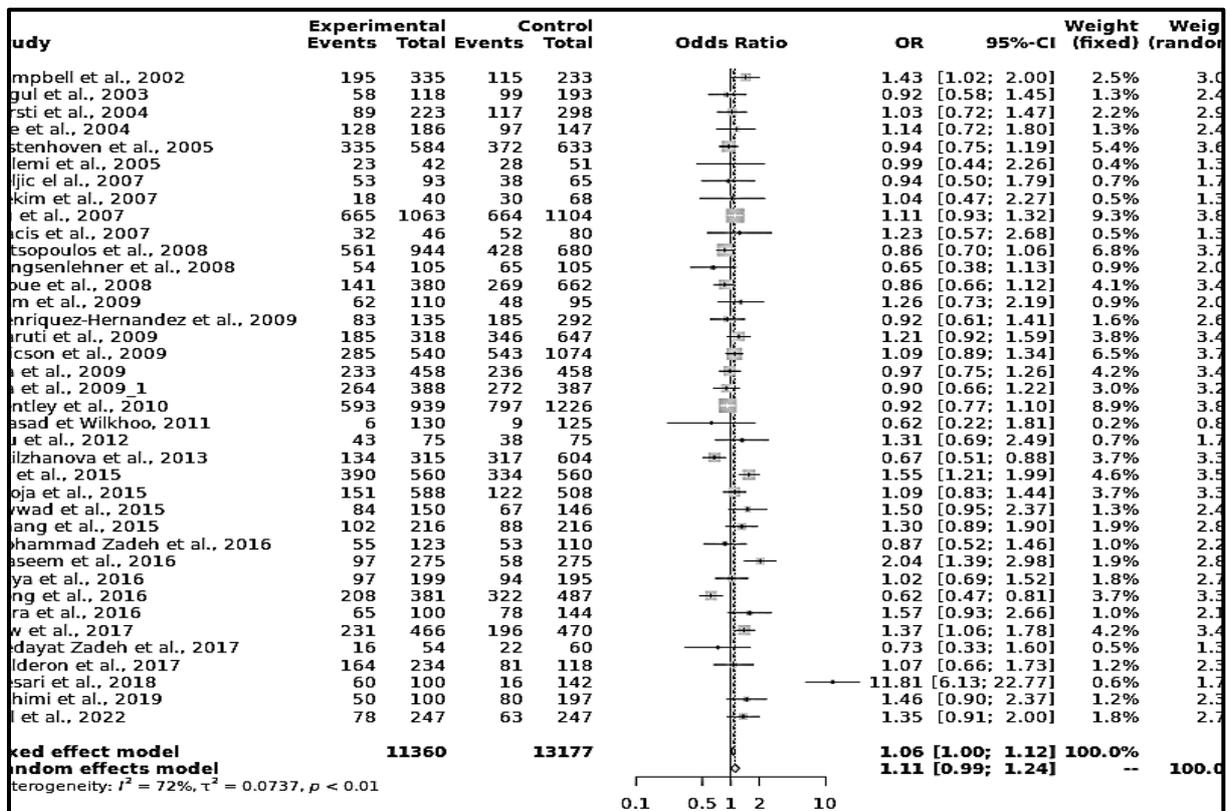


Figure 13 : graphique en forêt du modèle de comparaison dominant (TT+CT vs. CC).

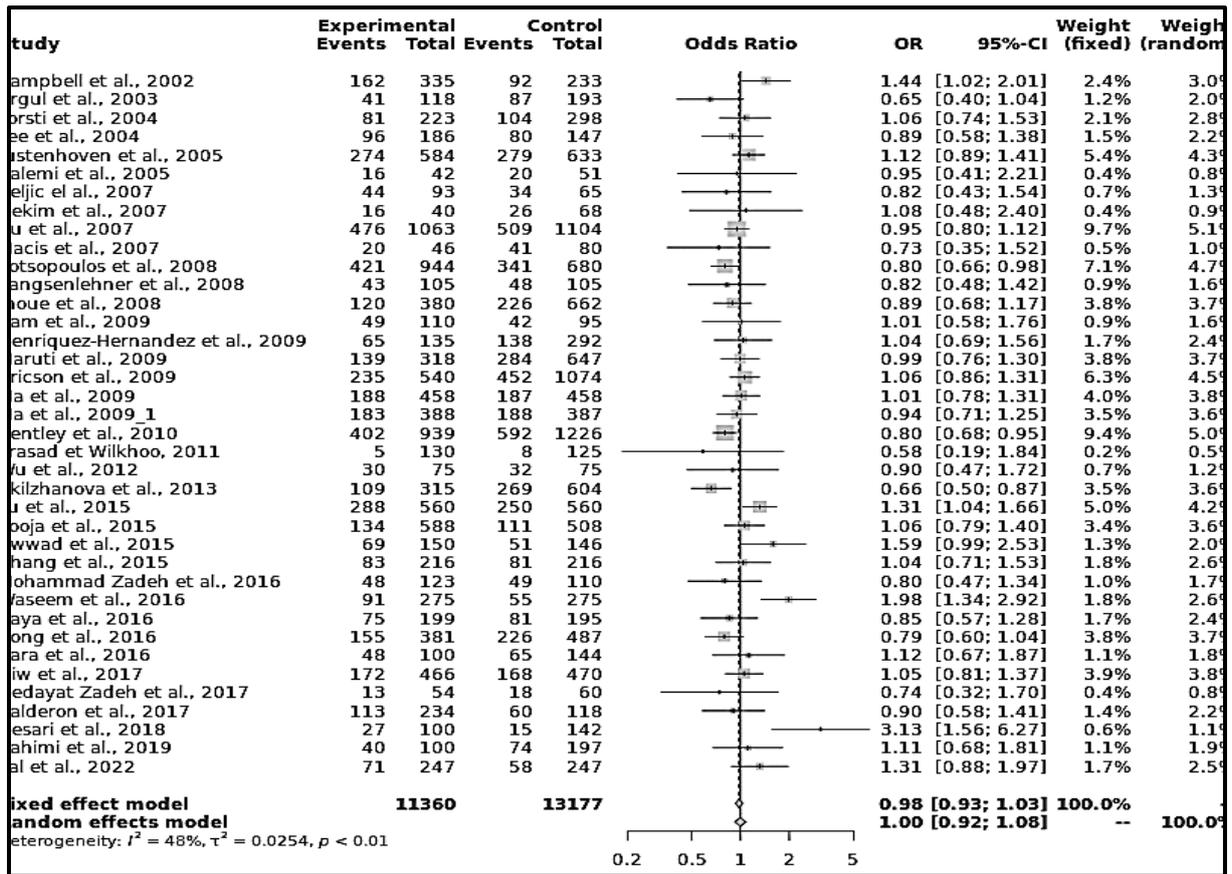


Figure 14 : graphique en forêt du modèle de comparaison co-dominant (CT vs. CC+TT).

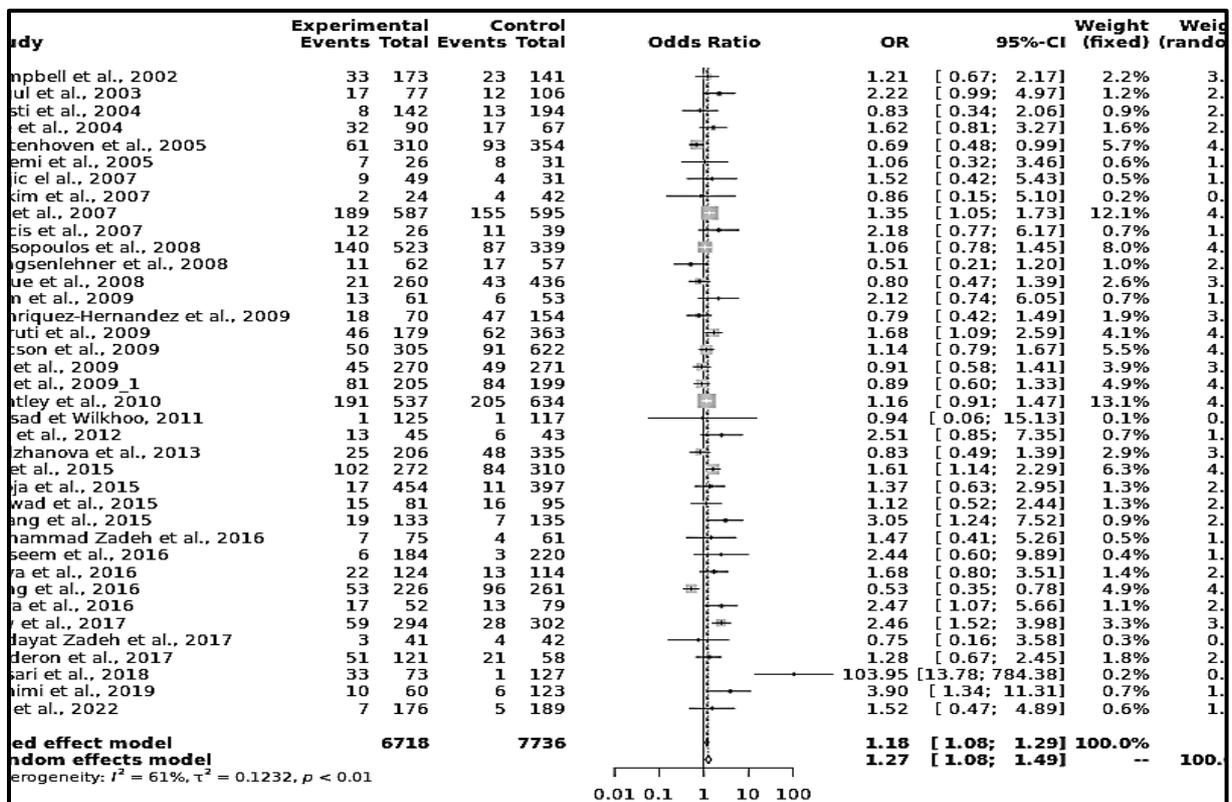


Figure 15 : graphique en forêt du modèle de comparaison TT vs. CC.

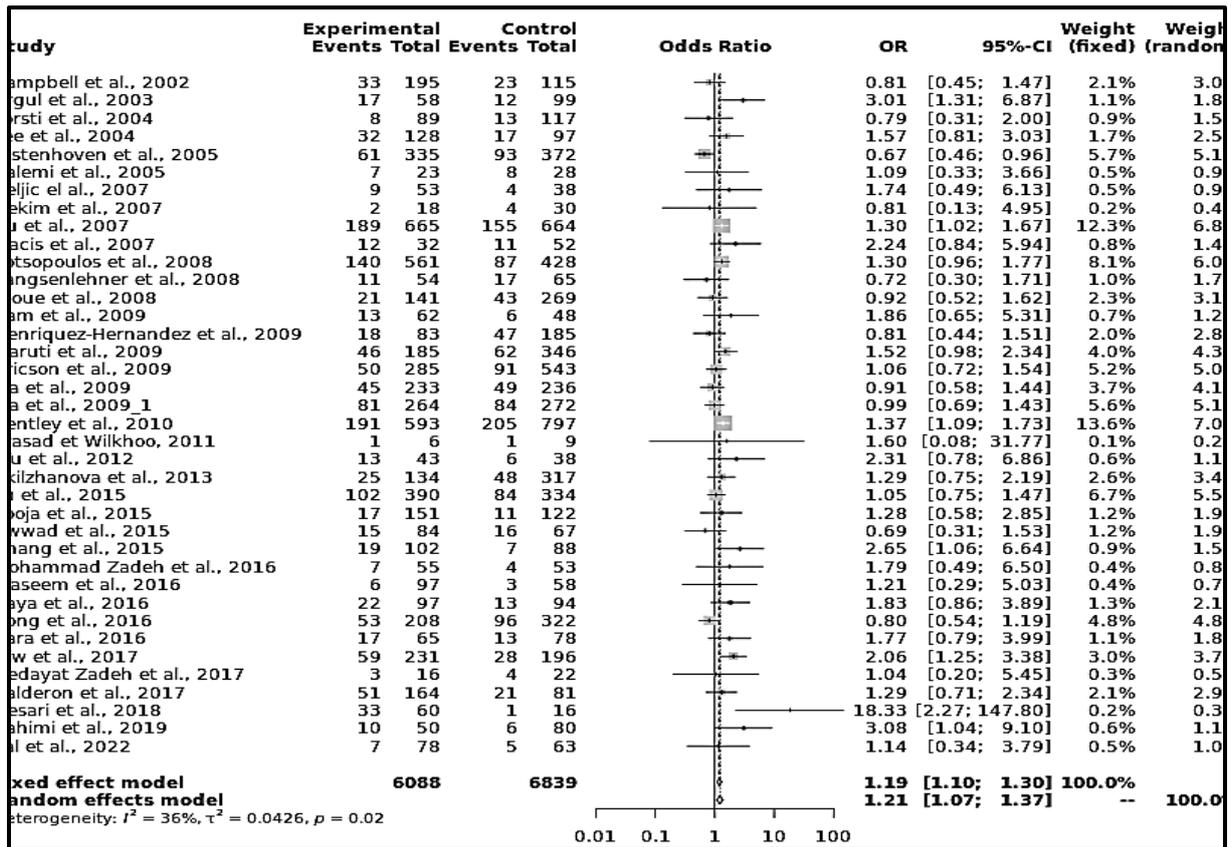


Figure 16 : graphique en forêt du modèle de comparaison TT vs. CT.

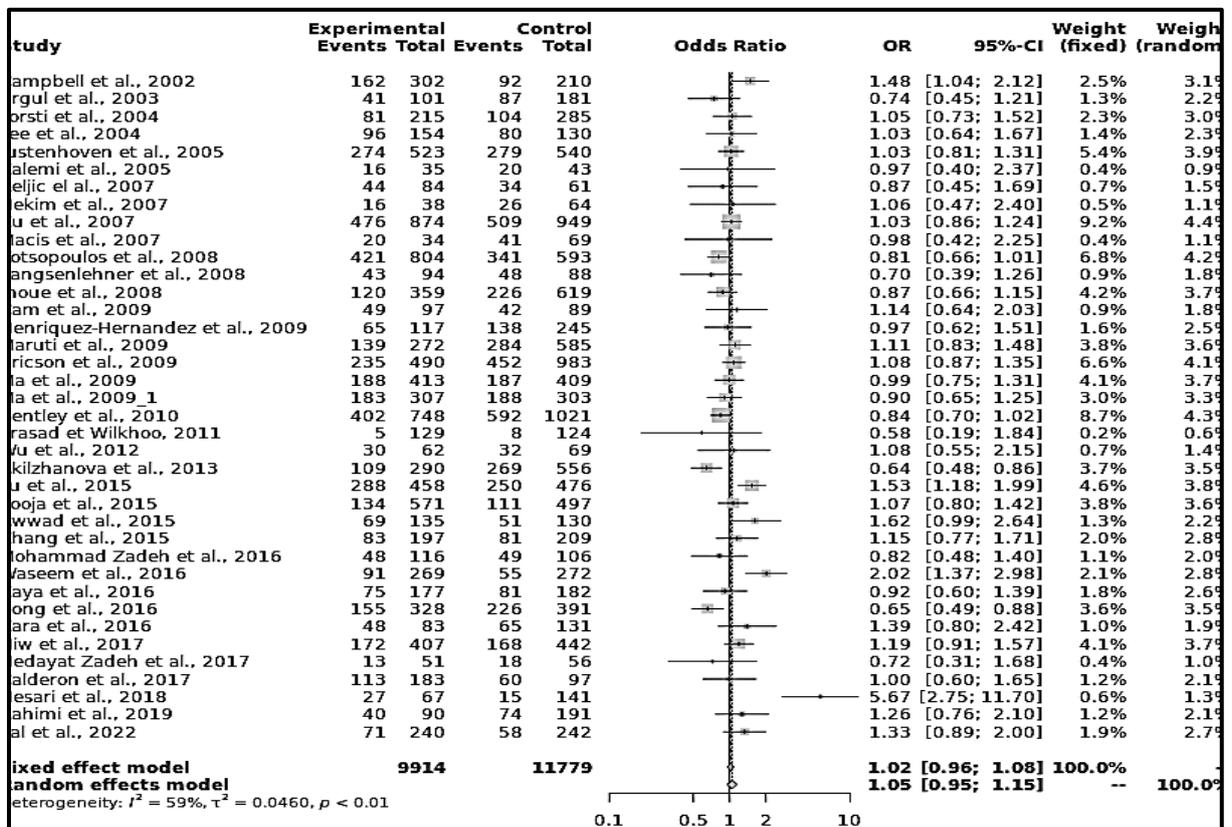


Figure 17 : graphique en forêt du modèle de comparaison CT vs. CC.

Dans cette méta-analyse, nous avons également entrepris d'examiner l'effet de l'origine ethnique, en analysant les populations d'origine caucasienne, asiatique et celles dites « mixte » de manière distincte. Effectivement, pour la plupart des variants alléliques de type SNP, il existe une grande variabilité dans la distribution du polymorphisme au sein de la population mondiale. Il en est de même pour le variant C677T de la *MTHFR*. Cette observation suggère probablement un effet qu'exerce l'origine ethnique de la population étudiée, ce qui doit être pris en compte lors de la réalisation d'études systématiques de type cas-témoins. Étant donné que les études incluses dans notre méta-analyse ont été menées dans différents pays et sur différentes ethnies, l'analyse statistique par sous-groupe de l'effet de l'origine ethnique a été réalisée pour les trois ethnies définies dans notre méta-analyse (tableau V).

**Tableau V** : analyse statistique par sous-groupe ethnique de l'effet du polymorphisme C677T

| Modèle de comparaison              | Ethnicité   | N études | Test d'association |                |         | Test d'hétérogénéité |         |                | Biais de publication |
|------------------------------------|-------------|----------|--------------------|----------------|---------|----------------------|---------|----------------|----------------------|
|                                    |             |          | OR                 | 95% CI         | p-value | Modèle               | p-value | I <sup>2</sup> | p-value (Egger)      |
| Modèle allélique (C vs. T)         | Global      | 38       | 1,135              | [1.035; 1.245] | 0,006   | Random               | 0       | 0,781          | 0,1115               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1,240              | [1.017; 1.513] | 0,033   | Random               | 0       | 0,881          | 0,1543               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 1,009              | [0.948; 1.074] | 0,771   | Fixed                | 0,333   | 0,113          | 0,7384               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1,141              | [1.052; 1.237] | 0,001   | Fixed                | 0,536   | 0              | 0,5716               |
| Modèle récessif (TT vs. CT+CC)     | Global      | 38       | 1,244              | [1.082; 1.431] | 0,002   | Random               | 0,000   | 0,536          | 0,0748               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1.431              | [1.086; 1.885] | 0,010   | Random               | 0,000   | 0,652          | 0,0263               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 1,067              | [0.940; 1.211] | 0,314   | Fixed                | 0,141   | 0,312          | 0,5172               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1,385              | [1.174; 1.633] | 0,000   | Fixed                | 0,261   | 0,212          | 0,3522               |
| Modèle dominant (TT+CT vs. CC)     | Global      | 38       | 1,108              | [0.993; 1.236] | 0,065   | Random               | 0       | 0,722          | 0,1797               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1,195              | [0.952; 1.500] | 0,124   | Random               | 0       | 0,847          | 0,3065               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 0,988              | [0.906; 1.077] | 0,788   | Fixed                | 0,239   | 0,207          | 0,4986               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1,100              | [0.985; 1.229] | 0,090   | Fixed                | 0,768   | 0              | 0,7257               |
| Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT) | Global      | 38       | 0,997              | [0.920; 1.080] | 0,947   | Random               | 0,000   | 0,476          | 0,3834               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1,027              | [0.887; 1.188] | 0,716   | Random               | 0,000   | 0,616          | 0,7361               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 0,997              | [0.871; 1.142] | 0,975   | Random               | 0,028   | 0,49           | 0,4048               |
|                                    | Mixte       | 8        | 0,950              | [0.851; 1.061] | 0,368   | Fixed                | 0,820   | 0              | 0,8207               |
| TT vs. CC                          | Global      | 38       | 1,269              | [1.079; 1.492] | 0,003   | Random               | 0       | 0,609          | 0,0602               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1.506              | [1.075; 2.108] | 0,017   | Random               | 0       | 0,740          | 0,0615               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 1,023              | [0.892; 1.173] | 0,738   | Fixed                | 0,362   | 0,084          | 0,8659               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1,411              | [1.183; 1.683] | 0,000   | Fixed                | 0,284   | 0,184          | 0,3611               |
| TT vs. CT                          | Global      | 38       | 1,213              | [1.072; 1.373] | 0,002   | Random               | 0,017   | 0,356          | 0,1366               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1,309              | [1.065; 1.609] | 0,010   | Random               | 0,076   | 0,343          | 0,0120               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 1,021              | [0.830; 1.256] | 0,841   | Random               | 0,060   | 0,422          | 0,3584               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1,366              | [1.146; 1.627] | 0,000   | Fixed                | 0,290   | 0,176          | 0,3521               |
| CT vs. CC                          | Global      | 38       | 1,045              | [0.949; 1.151] | 0,363   | Random               | 0       | 0,593          | 0,2855               |
|                                    | Asiatique   | 18       | 1,094              | [0.905; 1.323] | 0,350   | Random               | 0       | 0,752          | 0,5060               |
|                                    | Caucasienne | 12       | 0,974              | [0.889; 1.067] | 0,572   | Fixed                | 0,101   | 0,361          | 0,4430               |
|                                    | Mixte       | 8        | 1.027              | [0.913; 1.155] | 0,656   | Fixed                | 0,820   | 0              | 0,9893               |

Pareillement que pour tous les variants alléliques de type SNP, il existe une très grande hétérogénéité dans la distribution du polymorphisme C677T de la *MTHFR* dans la population générale à travers le monde, suggérant ainsi un effet plausible de l'origine ethnique de la population d'étude qui doit être pris en considération dans la réalisation de toute étude systématique de type cas-témoins, car les études incluses ont été effectuées dans des pays différents et des ethnies différentes.

Les 38 études incluses dans notre méta-analyse ont été réalisées, pour la plupart, sur des populations asiatiques (18 ce qui fait un taux de 47,36%) et caucasiennes (12 ce qui fait un taux de 31,57%). Nous étions aussi face à un dilemme concernant les quatre études menées en Turquie incluses dans notre méta-analyse, et précisément sur la considération pour ce paramètre comme étant menée sur la population caucasienne ou asiatique, ce qui est souvent un sujet de discordance dans de nombreuses études cas-témoins. Les Turques ont une structure génétique unique, combinant à la fois des éléments d'Asie de l'Est, d'Asie centrale, du Moyen-Orient et d'Europe. Ils sont aujourd'hui principalement le fruit d'un métissage entre deux populations primaires, les Turcs Oghouzes de phénotype asiatique et d'ascendance principalement de l'Est asiatique, et les habitants locaux (principalement des Grecs d'Anatolie) de phénotype caucasien et d'ascendance ouest-urasienne (Hodoğlugil et Mahley, 2012). De ce fait, nous avons considéré les Turques comme étant d'ethnie « mixte ».

Les résultats obtenus à partir de notre méta-analyse ont dévoilé plusieurs associations positives, suggérant que l'allèle T peut être un facteur de risque significatif pour le cancer du sein, particulièrement pour les populations asiatiques, plus que pour les populations caucasiennes, ainsi que les populations dites « mixtes ». Il est remarquable de distinguer que, selon les modèles statistiques, la stratification par groupe ethnique a révélé certaines particularités. En effet, pour les asiatiques, nous avons relevé des associations positives selon le modèle allélique ( $p = 0,033$ ), le modèle récessif ( $p = 0,010$ ), le modèle TT vs. CC ( $p = 0,017$ ), ainsi que le modèle TT vs. CT ( $p = 0,010$ ). Néanmoins, lorsque nous avons considéré l'ethnie caucasienne séparément (représentée par 12 études dans notre méta-analyse), aucune association statistiquement significative n'a été constatée, et ce selon les sept modèles de comparaison testés. Il est à signaler également que pour l'ethnie dite « mixte » (représentée par 08 études), nous avons relevé une association positive selon le modèle allélique ( $p = 0,001$ ), ainsi que pour les modèles TT vs. CC et TT vs. CT.

Ces résultats suggèrent fortement que l'allèle T, récessif, supposé délétère, constitue un facteur de risque probable dans la survenue des cancers du sein chez les femmes asiatiques qui en sont porteuses ; celles avec le génotype TT et à un moindre degré celles avec le génotype CT. L'analyse des représentations graphiques en forêt affirme cette observation (figures 11, 12, 13, 14, 15, 16 et 17). D'ailleurs, lorsque nous avons sélectionné les 18 études cas-témoins menées en Asie, ayant prospecté l'implication de ce polymorphisme comme facteur de risque du cancer du sein, nous avons constaté que 14 d'entre elles (77,78%) confirment cette corrélation.

Il est à préciser également que sur les 38 études incluses dans notre méta-analyse, aucune n'a été réalisée spécifiquement sur des populations afro-américaines.

### 1.6. Test d'hétérogénéité

Les résultats du test d'hétérogénéité selon les sept modèles génétiques de comparaison sont tous très significatifs, avec des valeurs largement inférieures au seuil de 0,05. Il est intéressant de souligner que, pour tous les modèles de comparaison, la valeur de  $p$  est même inférieure à 0,01, ce qui indique une grande hétérogénéité dans les fréquences génotypiques et alléliques rapportées par les études incluses dans notre méta-analyse. Les observations des valeurs de  $p$  sont confirmées par les valeurs du  $I^2$  du test d'Higgins qui indiquent des valeurs supérieures à 0,50 (hétérogénéité importante) pour cinq modèles de comparaison (allélique, récessif, dominant, TT vs. CC et CT vs. CC), ainsi que des valeurs comprises entre 0,25 et 0,50 (hétérogénéité modérée) pour les deux autres modèles comparaisons restants (hétérozygote et TT vs. CT) (tableau VI)

En raison de la forte hétérogénéité observée, nous avons entrepris une méta-régression logistique et une analyse de sous-groupes afin d'explorer les sources potentielles de cette hétérogénéité. Deux covariables ont été prises en compte : l'origine ethnique (asiatique, caucasienne et mixte), et les différentes approches de génotypage utilisées (PCR-RFLP, PCR quantitative en temps réel, MassARRAY® ou séquençage).

**Tableau VI** : résultats du test d'hétérogénéité pour l'effet du polymorphisme C677T.

| Modèle de comparaison              | tau^2 | H    | I^2  | Q      | p-value |
|------------------------------------|-------|------|------|--------|---------|
| Modèle allélique (C vs. T)         | 0,06  | 2,14 | 0,78 | 169,39 | 0.00    |
| Modèle récessif (TT vs. CT+CC)     | 0,08  | 1,47 | 0,54 | 79,90  | 0.00    |
| Modèle dominant (TT+CT vs. CC)     | 0,07  | 1,90 | 0,72 | 133,55 | 0.00    |
| Modèle hétérozygote (CT vs. CC+TT) | 0,03  | 1,38 | 0,48 | 70,64  | 0.00    |
| TT vs. CC                          | 0,12  | 1,60 | 0,61 | 94,63  | 0.00    |
| TT vs. CT                          | 0,04  | 1,25 | 0,36 | 57,49  | 0.02    |
| CT vs. CC                          | 0,05  | 1,57 | 0,59 | 91,00  | 0.00    |

**Détails de la méthode méta-analytique :**

- tau^2 : écart-type estimé des effets sous-jacents entre les études,
- H : Hétérogénéité,
- I^2 : la mesure d'Higgins de l'hétérogénéité indique le pourcentage de variation entre les études dues à l'hétérogénéité plutôt qu'au hasard,
- Q : la mesure de Cochran de l'hétérogénéité est, qui est calculée comme la somme pondérée des différences au carré entre les effets des études individuelles et l'effet groupé entre les études, les pondérations étant celles utilisées dans la méthode de regroupement.

Après avoir effectué une méta-régression logistique pour estimer la contribution potentielle de chaque co-variable à l'hétérogénéité, nous avons constaté que toutes les valeurs de  $p$  étaient très inférieures au seuil de 0,05. Cela suggère que l'hétérogénéité observée pourrait être attribuée à l'une ou plusieurs des covariables mentionnées. Il est remarquable de constater que la stratification par groupe ethnique a mis en exergue une très forte hétérogénéité pour les études menées sur les populations asiatiques incluses dans notre méta-analyse. Les observations des valeurs de  $p$  du test d'hétérogénéité, confirmées par les valeurs du  $I^2$  du test d'Higgins, indiquent toutes des valeurs statistiquement significatives. Cette observation n'a pas été reproduite pour l'ethnie caucasienne (hétérogénéité faible), ni pour l'ethnie mixte (hétérogénéité modérée ou faible selon le modèle de comparaison).

Ces observations suggèrent que l'origine ethnique pourrait être la principale source de l'hétérogénéité élevée observée (global), suggérant une réelle différence dans la distribution de ce polymorphisme entre les populations asiatiques et caucasiennes (population générale), et un effet plus marqué comme facteur de risque potentiel chez les femmes asiatiques de ce variant génique de la *MTHFR*.

### 1.7. Analyse de sensibilité et biais de publication

Les graphiques en entonnoir de Begg, également connus sous le nom de « *funnel plot* », ont été générés à l'aide du logiciel utilisé (figures 18, 19, 20, 21, 22, 23 et 24). De plus, le test d' Egger a été effectué selon les recommandations de l'approche PRISMA pour évaluer l'effet du biais de publication. Les résultats de ces analyses sont présentés dans les tableaux V et VI, permettant d'évaluer l'impact potentiel du biais de publication dans la littérature étudiée.

L'examen des graphiques en entonnoir générés par le logiciel de méta-analyse utilisé a révélé la présence d'un biais statistique dans plusieurs publications incluses dans cette étude, dans un ou plusieurs modèles de comparaison. Cela indique une asymétrie dans la distribution des résultats, ce qui suggère la possibilité d'un biais de publication ou d'autres biais systématiques dans les études incluses. Ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte ces biais potentiels lors de l'interprétation des résultats de la méta-analyse. En effet, l'étude de Hesari *et al.*, 2018 menée en Iran sur une série de 100 patientes et de 142 témoins, et qui a conclu à la présence d'une association significative entre la présence de l'allèle T et le risque de développer un cancer du sein, a démontré un biais statistique très important par rapport aux autres études incluses dans la méta-analyse, et ce selon les sept modèles génétiques de comparaison. Après vérification, il s'avère que les fréquences génotypiques et alléliques mentionnées par cette étude sont trop éloignées de la tendance générale concernant cette répartition et qui a été relevés dans les autres études cas-témoins incluses dans notre méta-analyse. Ni la taille de l'échantillon (d'autres études non biaisées ont travaillé sur des échantillons de plus faibles effectifs), ni la technique utilisée (d'autres études non biaisées ont eu recours à la même technique) ne peuvent expliquer ces observations. Il est probable que le biais de publication relevé par le test d' Egger avec des valeurs statistiquement significatives pour le modèle récessif (TT vs. CT+CC) ( $p = 0,0263$ ) et le modèle TT vs. CT ( $p = 0,0120$ ) est probablement dû, en grande partie, à cette étude incluse dans notre méta-analyse.



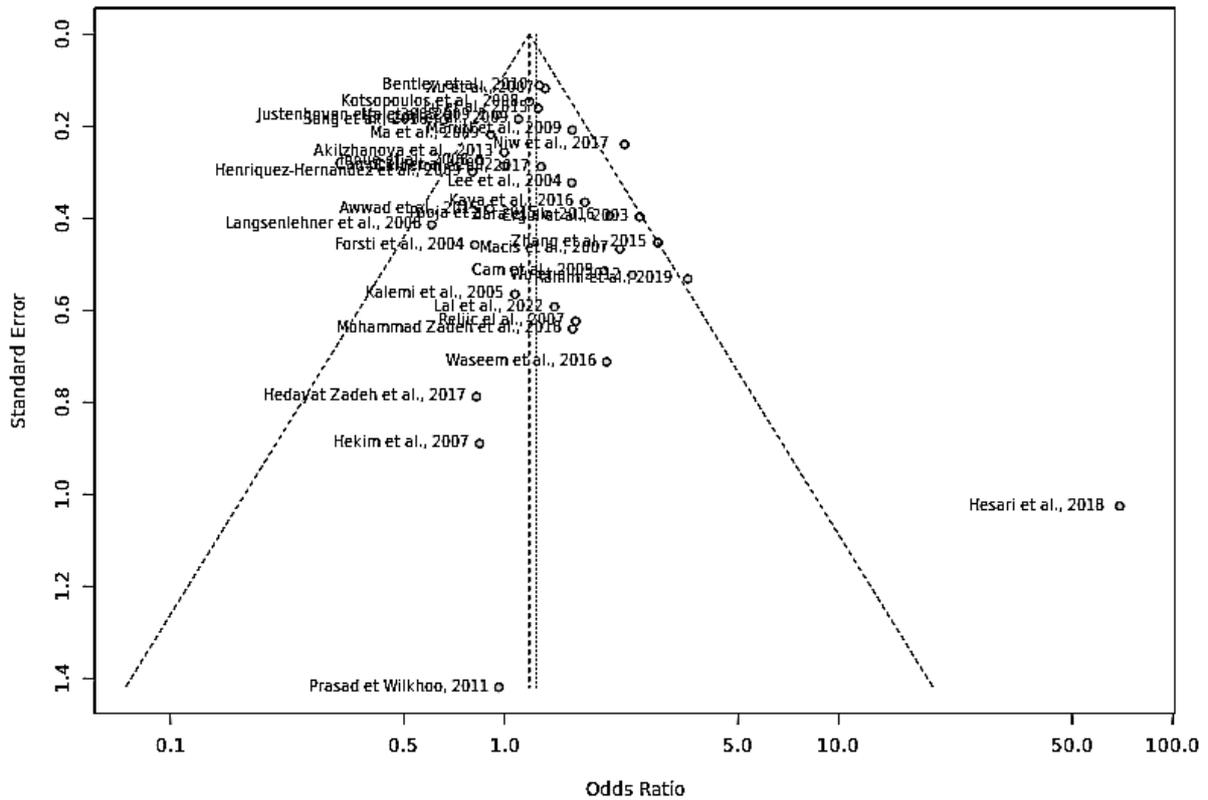


Figure 20 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison dominant (CC+CT vs.TT).

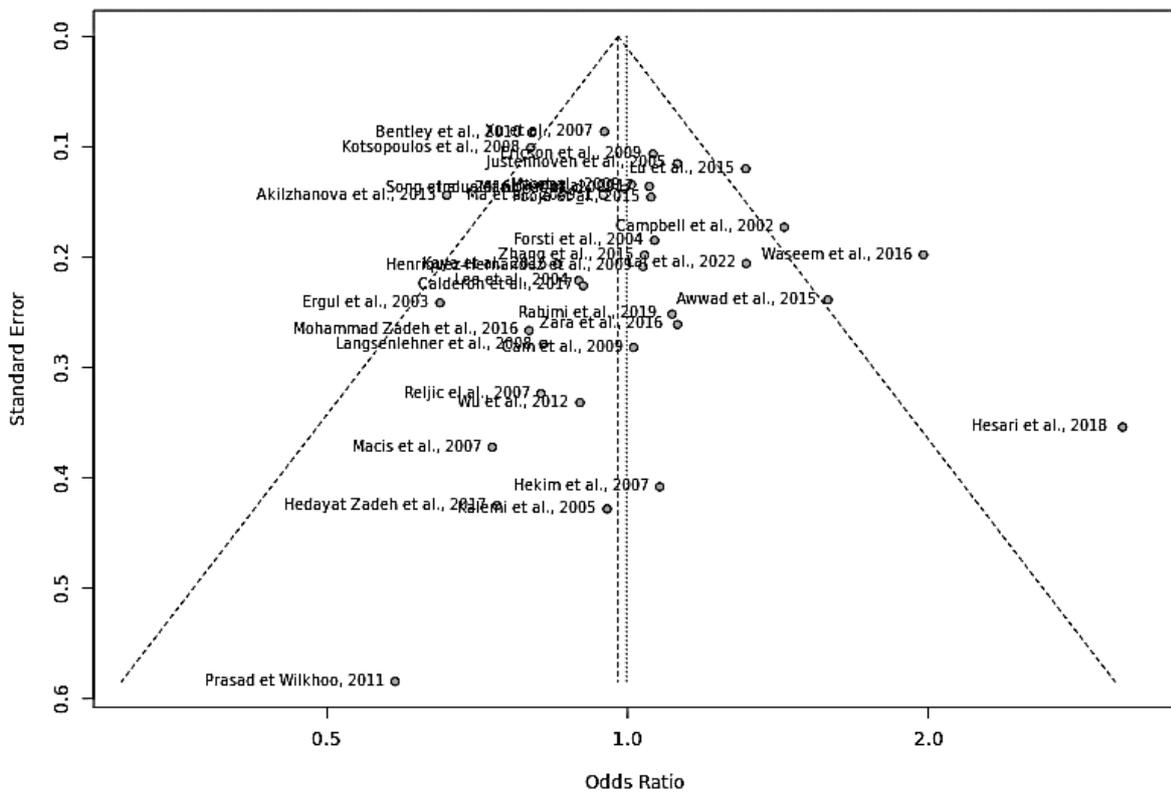


Figure 21 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison codominant (CT vs. CC+TT).

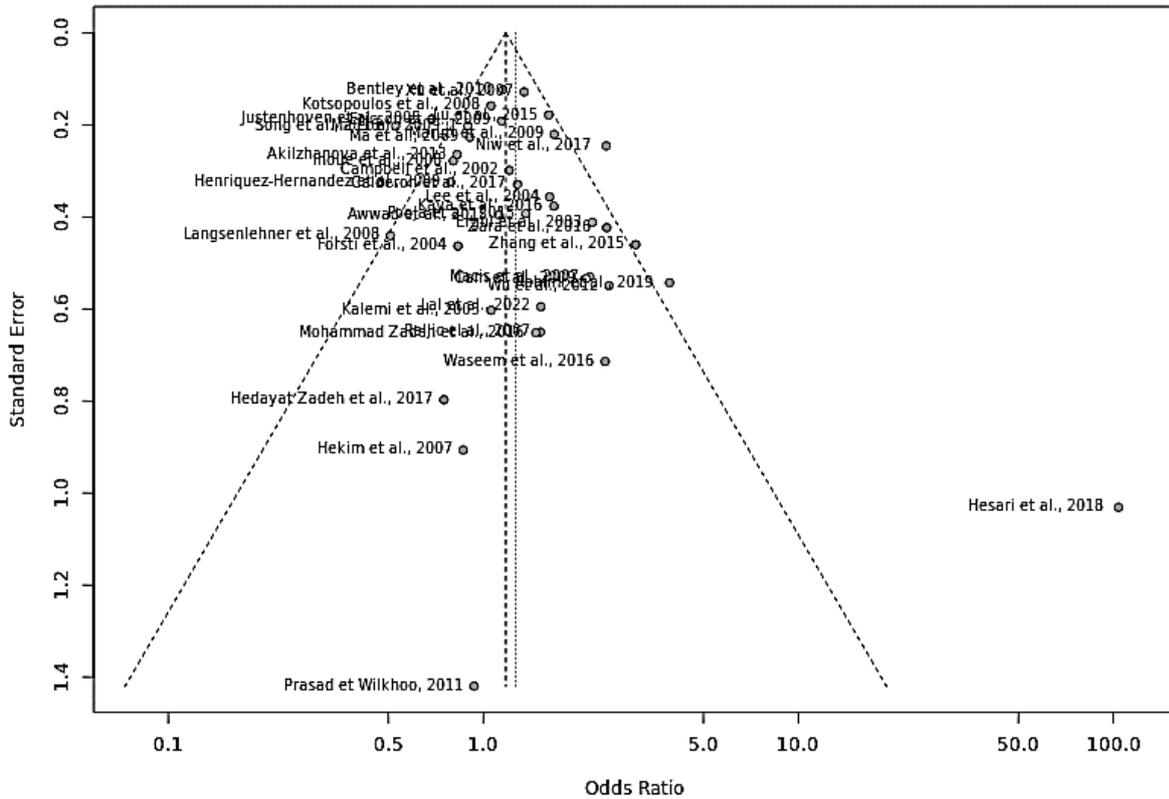


Figure 22 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. TT.

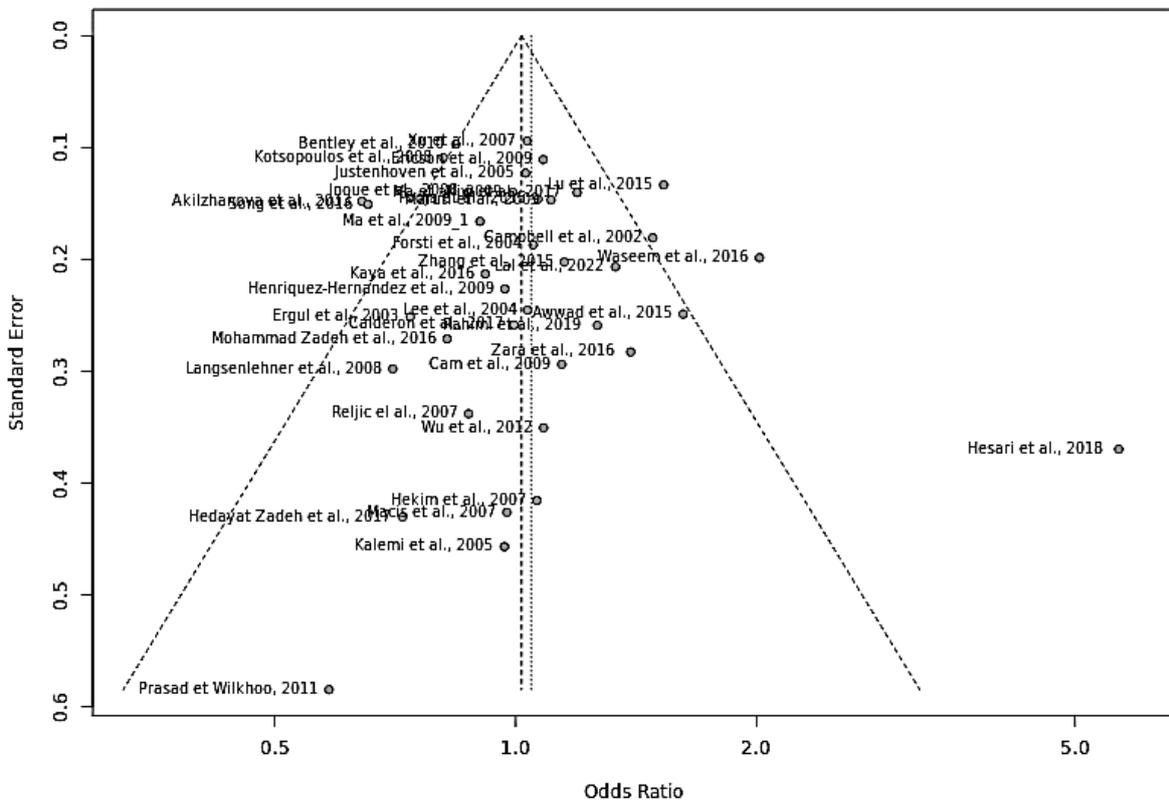


Figure 23 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. CT.

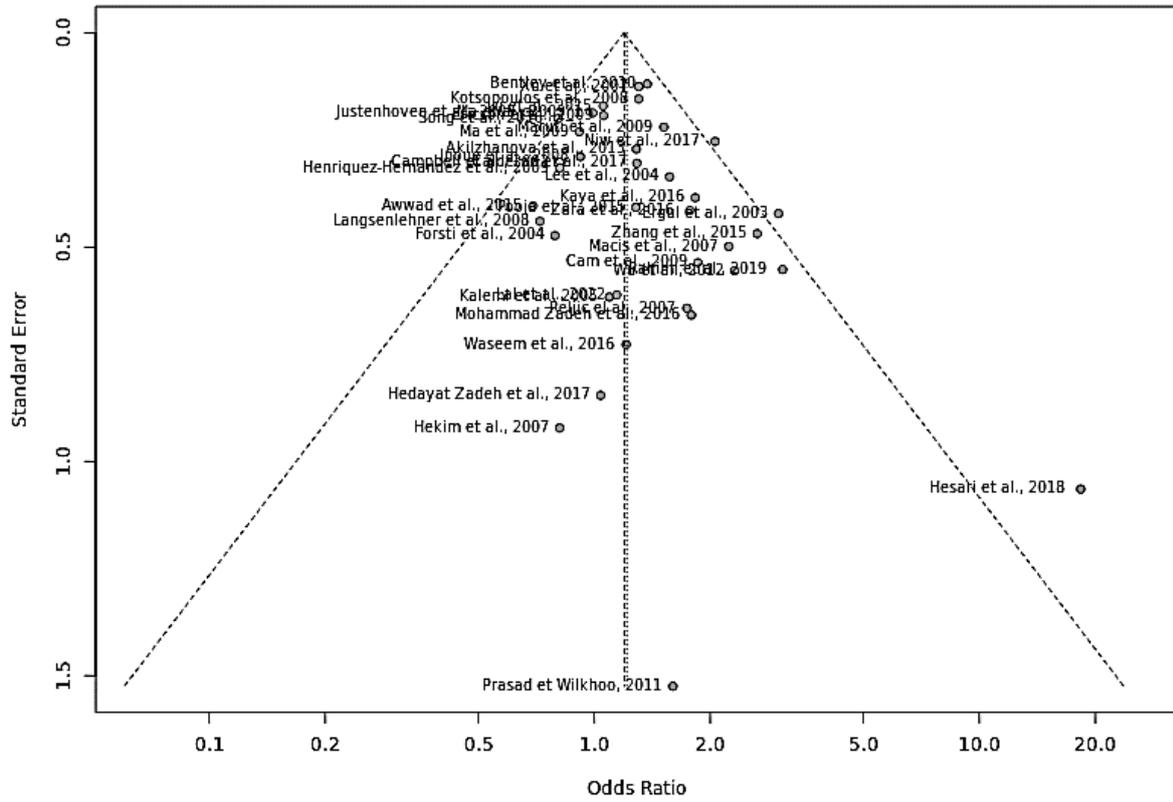


Figure 24 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison CT vs. TT.

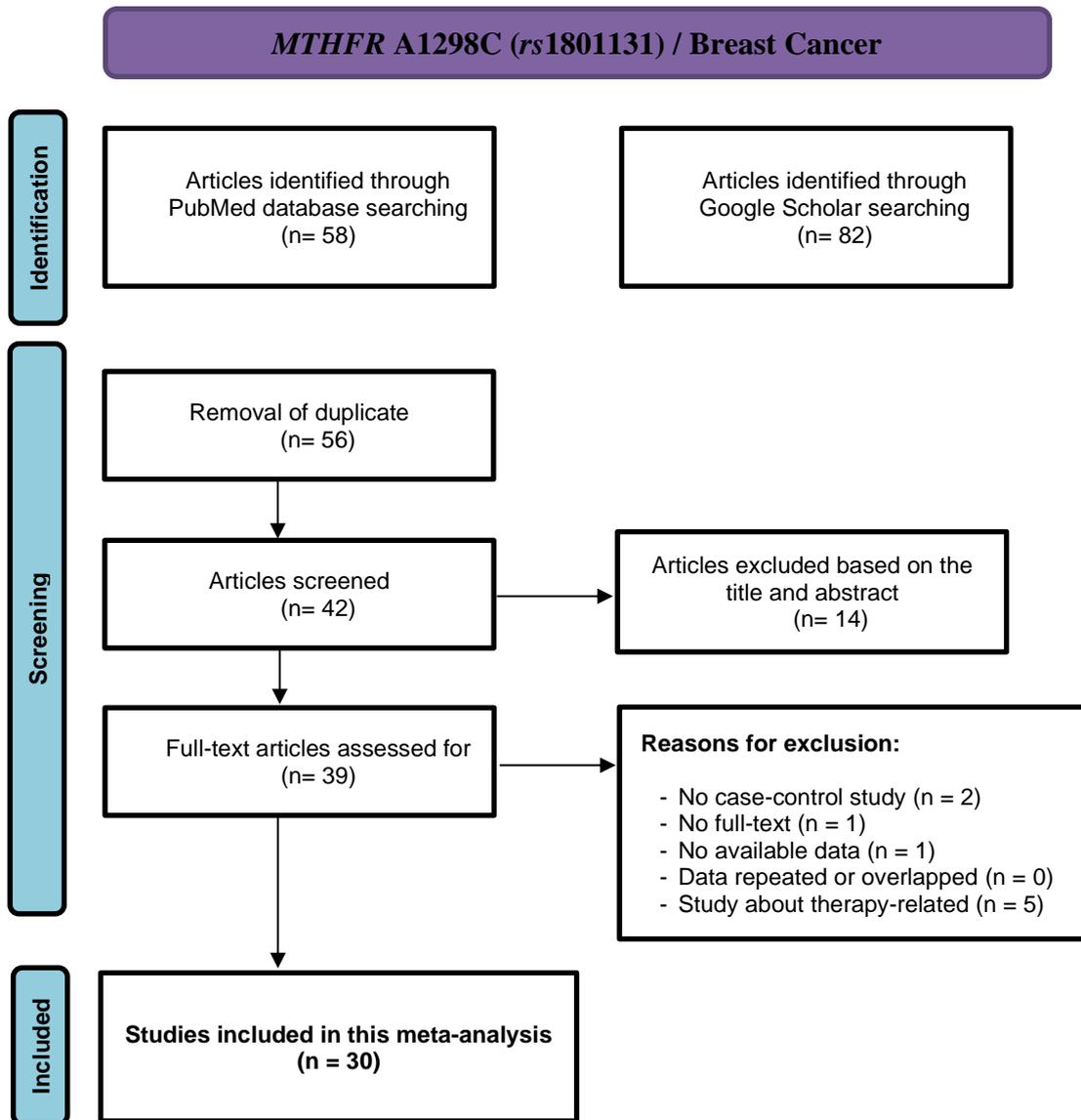
### 2. Méta-analyse A1298C et cancer du sein

Pareillement que pour le C677T, nous avons entrepris une méta-analyse pour préciser l'effet d'un autre polymorphisme du gène *MTHFR*, le A1298C, comme facteur de risque probable impliqué dans la survenue du cancer du sein, et ce selon la même méthodologie.

#### 2.1. Sélection des études

Une recherche dans les bases de données avec des mots-clefs bien spécifiques tels que « *Breast Cancer* », « *MTHFR* », « A1298C » et « rs1801133 » a été effectuée. Cette prospection nous a permis d'identifier 82 articles dans Google Scholar et 58 articles dans PubMed. Après avoir supprimé les répétitions, nous avons obtenu un total de 56 articles. Nous avons par la suite exclu les publications non pertinentes, pour arriver à un total de 42 articles à consulter. Sur la base du titre de l'article, nous avons rejeté 14 publications, ne laissant finalement que 39 articles conformes à nos critères d'éligibilité. Nous avons par la suite éliminé 09 études pour des motifs divers : certaines études n'étaient pas construites sur le modèle cas-témoins (n = 02), absence (ou l'impossibilité d'avoir) du texte intégral (n = 01) ou l'impossibilité d'avoir les données nécessaires à notre méta-analyse (n = 01), études liées à la thérapie (n = 05). Au final, nous avons inclus 30 études (figure 27).

Il est tout à fait normal de remarquer que le nombre d'études menées sur la corrélation polymorphisme A1298C/Cancer du sein est plus réduit que celles ayant exploré l'effet de l'autre polymorphisme C677T comme facteur de risque de ce cancer. En effet, connaissant que les effets du variant allélique C677T (thermolabilité accrue de l'enzyme) sont plus importantes que celles du A1298C (activité réduite de la *MTHFR in vitro*, mais pas à la thermolabilité), le nombre des études consacrées à l'effet du C677T est plus important que ceux consacrés au deuxième variant. Dans notre étude, 38 articles sur la relation C677T/Cancer du sein ont été retenus, alors que pour le A1298C/Cancer du sein le nombre de publications incluses dans notre prospection est de 30. Aussi, il est habituel de trouver des études cas-témoins sur l'effet des variations du gène *MTHFR* en rapport avec une pathologie ou un dysfonctionnement donné qui explore à la fois l'effet des deux polymorphismes les plus communs (C677T et A1298C) de ce gène. Dans cette méta-analyse, 12 études sélectionnées pour le A1298C ont examiné également l'effet du variant C677T dans la survenue d'un cancer mammaire : Ergul *et al.*, 2003 ; Forsti *et al.*, 2004 ; Justenhoven *et al.*, 2005 ; Inoue *et al.*, 2008 ; Kotsopoulos *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2009 (a) ; Ma *et al.*, 2009 (b) ; Ericson *et al.*, 2009 ; Wu *et al.*, 2012 ; Akilzhanova *et al.*, 2013 ; Lu *et al.*, 2015 ; Rezende *et al.*, 2017.



**Figure 25 :** diagramme de flux PRISMA pour la sélection des études du polymorphisme A1298C incluses dans la méta-analyse.

## 2.2. Caractéristique des études incluses

Suite à notre recherche bibliographique, nous avons sélectionné 30 études répondant à nos critères d'éligibilité. Par la suite, l'extraction de toutes les informations essentielles pour les deux cohortes de patientes avec un cancer du sein et de témoins a été réalisée (tableau VII). De même que pour la méta-analyse de l'effet du C677T, les fréquences génotypiques et alléliques rapportées par ces études sur le rôle prétendu du variant A1298C comme facteur de risque potentiel du cancer du sein sont représentées graphiquement dans les figures ci-après (figures 26 et 27).

**Tableau VII : caractéristiques des études de l'implication du polymorphisme A1298C incluses dans la méta-analyse.**

|    | Auteur et année de l' étude          | Présence ou absence d' association | Pays       | Technique utilisée | Patientes (cancer du sein) |     |        |     |        |     |        |      |       |     | Témoins |         |     |        |     |        |     |        |      |       |     |       |
|----|--------------------------------------|------------------------------------|------------|--------------------|----------------------------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|------|-------|-----|---------|---------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|------|-------|-----|-------|
|    |                                      |                                    |            |                    | Cohorte                    | AA  | AA (%) | AC  | AC (%) | CC  | CC (%) | A    | A (%) | C   | C (%)   | Cohorte | AA  | AA (%) | AC  | AC (%) | CC  | CC (%) | A    | A (%) | C   | C (%) |
| 1  | Sharp <i>et al.</i> , 2002           | Non                                | Angleterre | PCR-RFLP           | 55                         | 27  | 49,09  | 25  | 45,45  | 3   | 5,45   | 79   | 71,82 | 31  | 28,18   | 60      | 24  | 40,00  | 25  | 41,67  | 11  | 18,33  | 73   | 60,83 | 47  | 39,17 |
| 2  | Ergul <i>et al.</i> , 2003           | Non                                | Turquie    | PCR-RFLP           | 118                        | 50  | 42,37  | 48  | 40,68  | 20  | 16,95  | 148  | 62,71 | 88  | 37,29   | 193     | 90  | 46,63  | 85  | 44,04  | 18  | 9,33   | 265  | 68,65 | 121 | 31,35 |
| 3  | Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (a) | Non                                | USA*       | TaqMan             | 246                        | 171 | 69,51  | 68  | 27,64  | 7   | 2,85   | 410  | 83,33 | 82  | 16,67   | 639     | 433 | 67,76  | 187 | 29,26  | 19  | 2,97   | 1053 | 82,39 | 225 | 17,61 |
| 4  | Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (b) | Non                                | USA**      | TaqMan             | 320                        | 160 | 50,00  | 118 | 36,88  | 42  | 13,13  | 438  | 68,44 | 202 | 31,56   | 415     | 211 | 50,84  | 166 | 40,00  | 38  | 9,16   | 588  | 70,84 | 242 | 29,16 |
| 5  | Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (c) | Non                                | USA***     | TaqMan             | 318                        | 224 | 70,44  | 83  | 26,10  | 11  | 3,46   | 531  | 83,49 | 105 | 16,51   | 410     | 271 | 66,10  | 126 | 30,73  | 13  | 3,17   | 668  | 81,46 | 152 | 18,54 |
| 6  | Forsti <i>et al.</i> , 2004          | Non                                | Finlande   | PCR-RFLP           | 223                        | 94  | 42,15  | 102 | 45,74  | 27  | 12,11  | 290  | 65,02 | 156 | 34,98   | 298     | 133 | 44,63  | 127 | 42,62  | 38  | 12,75  | 393  | 65,94 | 203 | 34,06 |
| 7  | Justenhoven <i>et al.</i> , 2005     | Non                                | Allemagne  | PCR-RFLP           | 582                        | 273 | 46,91  | 256 | 43,99  | 53  | 9,11   | 802  | 68,90 | 362 | 31,10   | 634     | 295 | 46,53  | 266 | 41,96  | 73  | 11,51  | 856  | 67,51 | 412 | 32,49 |
| 8  | Chou <i>et al.</i> , 2006            | Non                                | Chine      | PCR-RFLP           | 142                        | 104 | 73,24  | 30  | 21,13  | 8   | 5,63   | 238  | 83,80 | 46  | 16,20   | 285     | 172 | 60,35  | 95  | 33,33  | 18  | 6,32   | 439  | 77,02 | 131 | 22,98 |
| 9  | Kalyankumar <i>et al.</i> , 2006     | Non                                | Inde       | PCR-RFLP           | 88                         | 49  | 55,68  | 33  | 37,50  | 6   | 6,82   | 131  | 74,43 | 45  | 25,57   | 95      | 65  | 68,42  | 26  | 27,37  | 4   | 4,21   | 156  | 82,11 | 34  | 17,89 |
| 10 | Stevens <i>et al.</i> , 2007         | Non                                | USA        | PCR-RFLP           | 494                        | 224 | 45,34  | 228 | 46,15  | 42  | 8,50   | 676  | 68,42 | 312 | 31,58   | 493     | 252 | 51,12  | 201 | 40,77  | 40  | 8,11   | 705  | 71,50 | 281 | 28,50 |
| 11 | Kan <i>et al.</i> , 2007             | Non                                | Chine      | PCR-RFLP           | 125                        | 70  | 56,00  | 41  | 32,80  | 14  | 11,20  | 181  | 72,40 | 69  | 27,60   | 101     | 61  | 60,40  | 32  | 31,68  | 8   | 7,92   | 154  | 76,24 | 48  | 23,76 |
| 12 | Inoue <i>et al.</i> , 2008           | Non                                | Singapore  | PCR-RFLP           | 380                        | 225 | 59,21  | 139 | 36,58  | 16  | 4,21   | 589  | 77,50 | 171 | 22,50   | 662     | 387 | 58,46  | 234 | 35,35  | 41  | 6,19   | 1008 | 76,13 | 316 | 23,87 |
| 13 | Kotsopoulos <i>et al.</i> , 2008     | Non                                | Canada     | Mass Array         | 941                        | 466 | 49,52  | 390 | 41,45  | 85  | 9,03   | 1322 | 70,24 | 560 | 29,76   | 780     | 398 | 51,03  | 309 | 39,62  | 73  | 9,36   | 1105 | 70,83 | 455 | 29,17 |
| 14 | Ma <i>et al.</i> , 2009 (a)          | Non                                | Japan      | PCR-RFLP           | 388                        | 254 | 65,46  | 119 | 30,67  | 15  | 3,87   | 627  | 80,80 | 149 | 19,20   | 387     | 256 | 66,15  | 116 | 29,97  | 15  | 3,88   | 628  | 81,14 | 146 | 18,86 |
| 15 | Ericson <i>et al.</i> , 2009         | Non                                | Suède      | Séquençage         | 541                        | 242 | 44,73  | 242 | 44,73  | 57  | 10,54  | 726  | 67,10 | 356 | 32,90   | 1072    | 487 | 45,43  | 480 | 44,78  | 105 | 9,79   | 1454 | 67,82 | 690 | 32,18 |
| 16 | Ma <i>et al.</i> , 2009 (b)          | Non                                | Brésil     | TaqMan             | 458                        | 269 | 58,73  | 168 | 36,68  | 21  | 4,59   | 706  | 77,07 | 210 | 22,93   | 458     | 279 | 60,92  | 157 | 34,28  | 22  | 4,80   | 715  | 78,06 | 201 | 21,94 |
| 17 | Weiner <i>et al.</i> , 2010          | Non                                | Russie     | PCR-RFLP           | 831                        | 398 | 47,89  | 353 | 42,48  | 80  | 9,63   | 1149 | 69,13 | 513 | 30,87   | 785     | 379 | 48,28  | 330 | 42,04  | 76  | 9,68   | 1088 | 69,30 | 482 | 30,70 |
| 18 | Cerne <i>et al.</i> , 2011           | Non                                | Slovénie   | TaqMan             | 524                        | 258 | 49,24  | 219 | 41,79  | 47  | 8,97   | 735  | 70,13 | 313 | 29,87   | 269     | 131 | 48,70  | 117 | 43,49  | 21  | 7,81   | 379  | 70,45 | 159 | 29,55 |
| 19 | Hosseini <i>et al.</i> , 2011        | Non                                | Iran       | PCR-RFLP           | 294                        | 36  | 12,24  | 96  | 32,65  | 162 | 55,10  | 168  | 28,57 | 420 | 71,43   | 300     | 60  | 20,00  | 135 | 45,00  | 105 | 35,00  | 255  | 42,50 | 345 | 57,50 |
| 20 | Papandreou <i>et al.</i> , 2011      | Non                                | Grèce      | PCR-RFLP           | 300                        | 129 | 43,00  | 135 | 45,00  | 36  | 12,00  | 393  | 65,50 | 207 | 34,50   | 283     | 136 | 48,06  | 116 | 40,99  | 31  | 10,95  | 388  | 68,55 | 178 | 31,45 |
| 21 | Lajin <i>et al.</i> , 2012           | Non                                | Syrie      | PCR-RFLP           | 119                        | 44  | 36,97  | 52  | 43,70  | 23  | 19,33  | 140  | 58,82 | 98  | 41,18   | 126     | 65  | 51,59  | 48  | 38,10  | 13  | 10,32  | 178  | 70,63 | 74  | 29,37 |
| 22 | Wu <i>et al.</i> , 2012              | Non                                | Chine      | PCR-RFLP           | 75                         | 37  | 49,33  | 32  | 42,67  | 6   | 8,00   | 106  | 70,67 | 44  | 29,33   | 75      | 42  | 56,00  | 28  | 37,33  | 5   | 6,67   | 112  | 74,67 | 38  | 25,33 |

|    |   |     |            |          |     |     |       |     |       |    |       |     |       |     |       |     |     |       |     |       |    |       |     |       |     |       |
|----|---|-----|------------|----------|-----|-----|-------|-----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-----|-------|-----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|
| 23 | <b>Liu <i>et al.</i>, 2013</b>          | Oui | Chine      | PCR-RFLP | 435 | 206 | 47,36 | 176 | 40,46 | 53 | 12,18 | 588 | 67,59 | 282 | 32,41 | 435 | 214 | 49,20 | 172 | 39,54 | 49 | 11,26 | 600 | 68,97 | 270 | 31,03 |
| 24 | <b>Akilzhanova <i>et al.</i>, 2013</b>  | Non | Kazakhstan | TaqMan   | 315 | 138 | 43,81 | 142 | 45,08 | 35 | 11,11 | 418 | 66,35 | 212 | 33,65 | 604 | 318 | 52,65 | 242 | 40,07 | 44 | 7,28  | 878 | 72,68 | 330 | 27,32 |
| 25 | <b>Lopez-cortes <i>et al.</i>, 2014</b> | Oui | Équateur   | PCR-RFLP | 195 | 191 | 97,95 | 3   | 1,54  | 1  | 0,51  | 385 | 98,72 | 5   | 1,28  | 114 | 110 | 96,49 | 3   | 2,63  | 1  | 0,88  | 223 | 97,81 | 5   | 2,19  |
| 26 | <b>Wang <i>et al.</i>, 2014</b>         | Non | Chine      | PCR-RFLP | 435 | 206 | 47,36 | 176 | 40,46 | 53 | 12,18 | 588 | 67,59 | 282 | 32,41 | 435 | 214 | 49,20 | 172 | 39,54 | 49 | 11,26 | 600 | 68,97 | 270 | 31,03 |
| 27 | <b>He <i>et al.</i>, 2014</b>           | Non | Chine      | PCR-RFLP | 310 | 138 | 44,52 | 132 | 42,58 | 40 | 12,90 | 408 | 65,81 | 212 | 34,19 | 381 | 173 | 45,41 | 155 | 40,68 | 53 | 13,91 | 501 | 65,75 | 261 | 34,25 |
| 28 | <b>Lu <i>et al.</i>, 2015</b>           | Non | Chine      | TaqMan   | 560 | 369 | 65,89 | 172 | 30,71 | 19 | 3,39  | 910 | 81,25 | 210 | 18,75 | 560 | 352 | 62,86 | 185 | 33,04 | 23 | 4,11  | 889 | 79,38 | 231 | 20,63 |
| 39 | <b>Zhang <i>et al.</i>, 2016</b>        | Non | Chine      | PCR-RFLP | 216 | 98  | 45,37 | 87  | 40,28 | 31 | 14,35 | 283 | 65,51 | 149 | 34,49 | 196 | 105 | 53,57 | 84  | 42,86 | 7  | 3,57  | 294 | 75,00 | 98  | 25,00 |
| 30 | <b>Rezende <i>et al.</i>, 2017</b>      | Non | Brésil     | PCR-RFLP | 257 | 133 | 51,75 | 112 | 43,58 | 12 | 4,67  | 378 | 73,54 | 136 | 26,46 | 252 | 135 | 53,57 | 104 | 41,27 | 13 | 5,16  | 374 | 74,21 | 130 | 25,79 |

**8193**

**8768**

- L'étude de Le marchand *et al.*, 2004 a été menée aux États-Unis sur trois populations dont l'origine ethnique est différente : (a) afro-américains, (b) caucasiens et (c) asiatiques.
- Pour Ma *et al.*, 2009 qui est répété deux fois dans le tableau, il s'agit de deux études complètement différentes : la première (a) réalisée au Japon (asiatique), alors que la deuxième (b) a été réalisée la même année au Brésil (mixte).

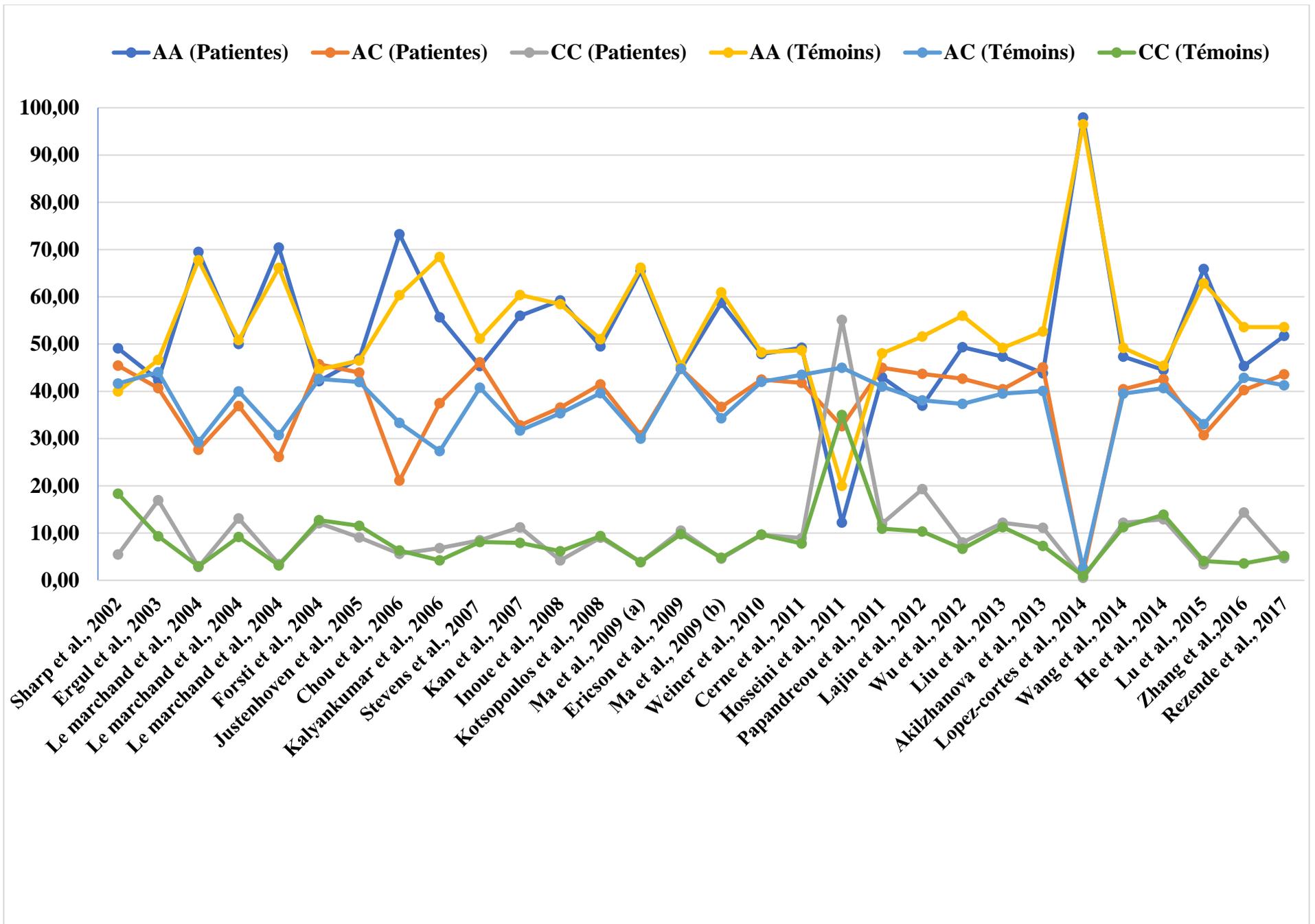


Figure 26 : représentation graphique des fréquences génotypiques du polymorphisme A1298C des études incluses dans la méta-analyse.

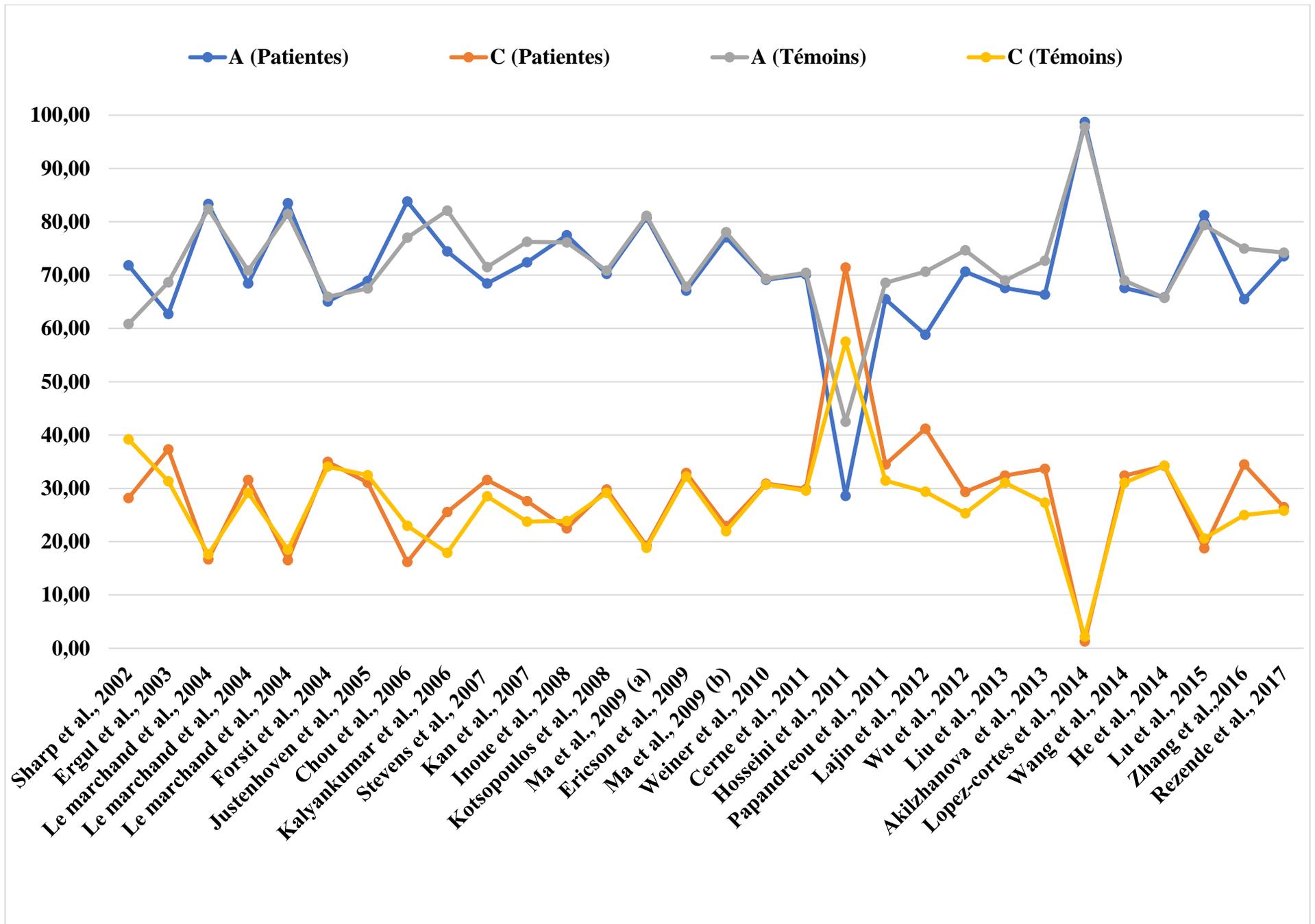


Figure 27 : représentation graphique des fréquences alléliques du polymorphisme A1298C des études incluses dans la méta-analyse.

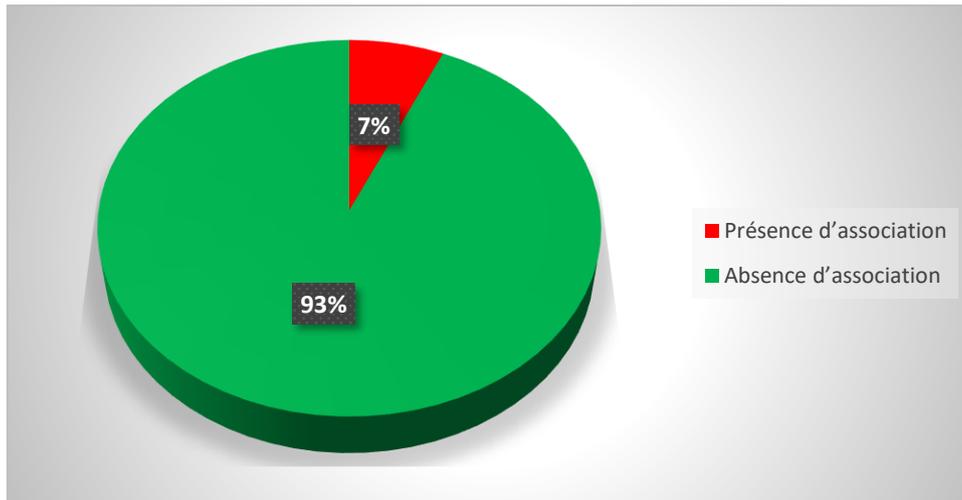
Les 30 études incluses dans notre méta-analyse ont toutes utilisé une méthode de cas-témoins et ont examiné le rôle du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* en tant que facteur de risque suspecté comme étant associé au développement du cancer du sein. Ces études ont été classées dans l'ordre chronologique, de la plus ancienne (2002) à la plus récente (2017) : Sharp *et al.*, 2002 ; Ergul *et al.*, 2003 ; Le marchand *et al.*, 2004 (a) ; Le marchand *et al.*, 2004 (b) ; Le marchand *et al.*, 2004 (c) ; Forsti *et al.*, 2004 ; Justenhoven *et al.*, 2005 Chou *et al.*, 2006 ; Kalyankumar *et al.*, 2006 ; Stevens *et al.*, 2007 ; Kan *et al.*, 2007 ; Inoue *et al.*, 2008 ; Kotsopoulos *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2009 (a) ; Ma *et al.*, 2009 (b) ; Ericson *et al.*, 2009 ; Cerne *et al.*, 2011 ; Hosseini *et al.*, 2011 ; Papandreou *et al.*, 2011 ; Lajin *et al.*, 2012 ; Wu *et al.*, 2012 ; Akilzhanova *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2014 ; He *et al.*, 2014 ; Lu *et al.*, 2015 ; Zhang *et al.*, 2016 ; Rezende *et al.*, 2017.

De même que pour le C677T, la référence Ma *et al.*, 2009 correspond à deux études indépendantes réalisées respectivement au Japon (a) et au Brésil. Il est à préciser également que l'équipe de Le marchand *et al* ont réalisé aux États-Unis d'Amérique trois études indépendantes sur la thématique, la même année (2004), mais sur trois séries différentes par rapport à l'origine ethnique : afro-américains (a), caucasiennes (b) et asiatique (c).

Les études incluses ont été réalisées dans des pays différents (Allemagne, Brésil, Chine, Corée du Sud, Croatie, Espagne, Hongrie, Iran, Islande, Jordanie, Tchèque, Thaïlande, et Turquie), et sur différentes ethnies (afro-américains, asiatiques, caucasienne et mixte).

De même que pour le C677T, les auteurs de ces études ont utilisé diverses techniques de biologie moléculaire pour le génotypage et la mise en évidence du polymorphisme d'intérêt ; essentiellement une PCR-RFLP (21 études), ou une PCR quantitative en temps réel (TaqMan) (07 études), un système de puces à ADN MassARRAY® (01 étude), et un séquençage classique en Sanger (01 étude).

Là aussi, les 30 études ayant examiné l'association entre le polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* et le risque de survenue d'un cancer du sein ont rapporté des résultats assez contradictoires (figure 28).



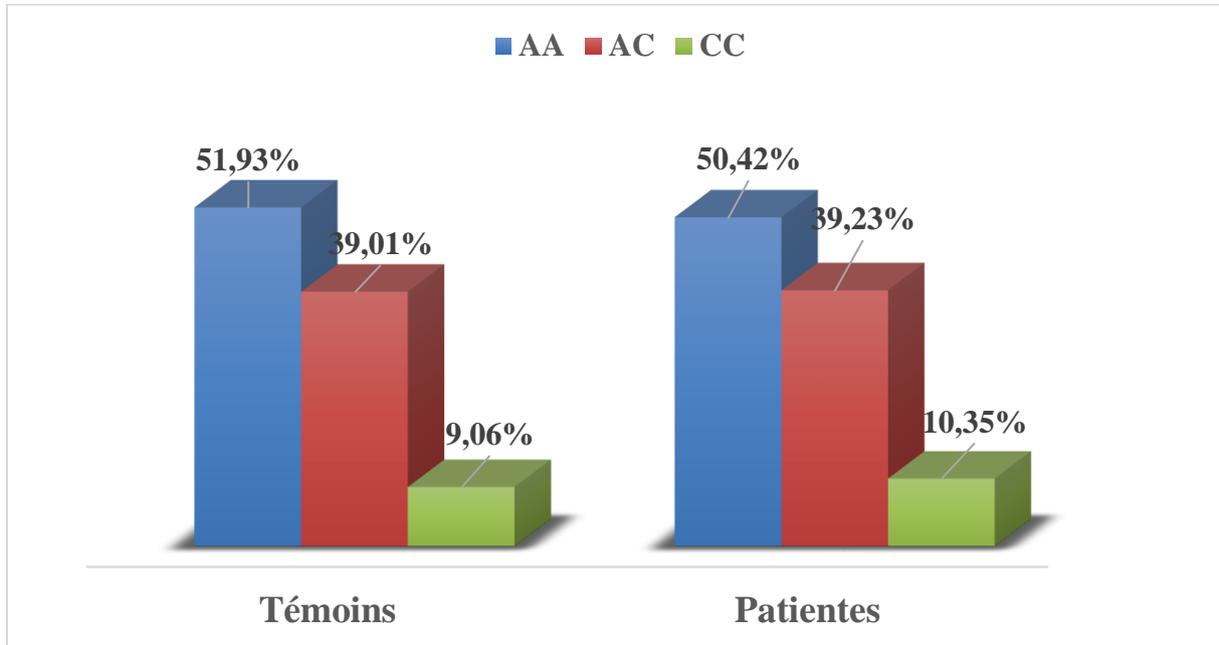
**Figure 28** : conclusions rapportées par les études incluses dans notre méta-analyse pour le polymorphisme A1298C.

Les 30 études examinant l'association entre le polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* et le risque de cancer du sein ont présenté des résultats contradictoires. Néanmoins, la plus grande majorité ces études, 28 d'entre elles (93,33%) ont rapporté une absence d'association statistiquement significative, suggérant que l'allèle C, présent en une copie chez les hétérozygotes AC et en deux copies chez les homozygotes mutés CC, ne représente pas un facteur de risque pour la pathologie étudiée. En revanche, deux auteurs (6,66%) ; Liu *et al.*, 2013 (Chine) et Lopez-cortes *et al.*, 2014 (Équateur) ont affirmé la présence d'une cette association statistiquement significative dans la distribution des fréquences génétiques et alléliques entre les patientes et les témoins sains.

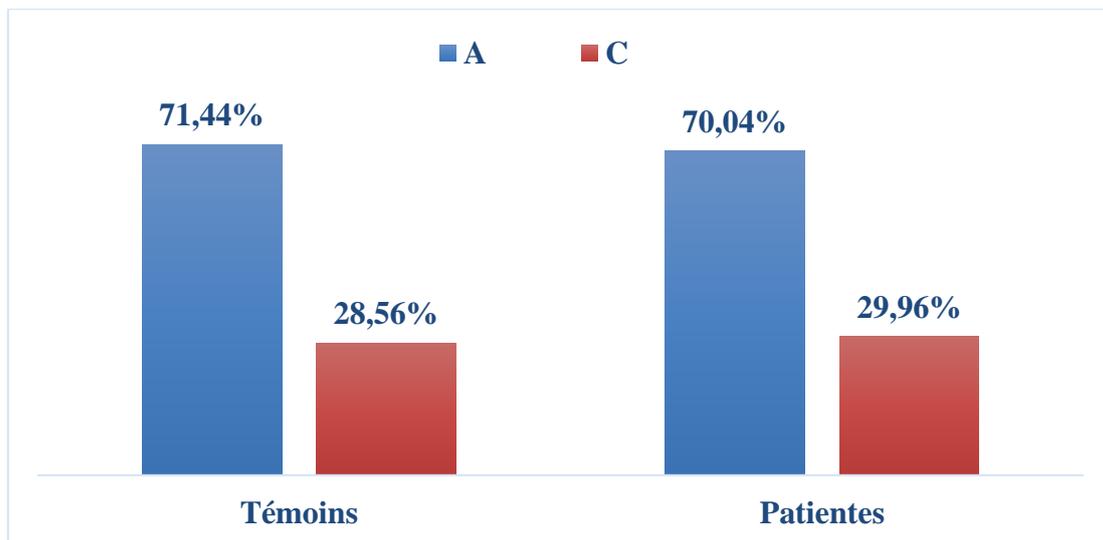
### 2.3. Fréquences génotypiques et alléliques

Dans notre méta-analyse, nous avons inclus un total de 10285 patientes avec un cancer du sein ainsi que 8768 témoins considérés comme étant en bonne santé apparente. La taille substantielle de ces deux groupes, à la fois pour les patientes et les témoins, garantit la fiabilité des résultats obtenus à partir de cette méta-analyse. Les fréquences génotypiques et alléliques additionnées sont très proches entre patientes et témoins. Dans la population des patientes, les résultats combinés des 30 études incluses dans notre méta-analyse indiquent les fréquences suivantes pour les génotypes du polymorphisme A1298C : 50,42% pour le génotype AA, 39,23% pour le génotype AC et 10,35% pour le génotype CC. En ce qui concerne les fréquences alléliques, elles sont de 70,04% pour l'allèle A et 29,96% pour l'allèle C. Pour les populations témoins, les fréquences génotypiques obtenues après combinaison des données étaient de 51,93% pour le génotype AA, 39,01% pour le génotype AC et 09,06% pour le génotype CC.

Pour les fréquences alléliques, elles sont de 71,44% pour l'allèle A et 28,56% pour l'allèle C. Les figures ci-dessous résument et donnent une illustration graphique des fréquences génotypiques et alléliques combinées des études incluses dans notre méta-analyse (figure 29 et 30).



**Figure 29** : fréquences génotypiques additionnées des études incluses dans la méta-analyse pour le polymorphisme A1298C.



**Figure 30** : fréquences alléliques additionnées des études incluses dans notre méta-analyse pour le polymorphisme A1298C.

De même que pour le polymorphisme C677T, nous avons entrepris cette méta-analyse pour le variant A1298C en suivant la même approche méthodologique.

1.4. Vérification et ajustement de l'équilibre de *Hardy-Weinberg*

Nous avons procédé à une vérification, suivie d'un ajustement par le logiciel, de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* des études incluses dans notre méta-analyse (tableau VIII).

Tableau VIII : calcul de l'équilibre de *Hardy-Weinberg* ajusté pour les études du A1298C.

| Auteur                               | Ethnicité                    | CC Cas | AC Cas | AA Cas | CC Témoins | AC Témoins | AA Témoins | HW <i>p</i> -value | HW <i>p</i> -value Ajustée |
|--------------------------------------|------------------------------|--------|--------|--------|------------|------------|------------|--------------------|----------------------------|
| Sharp <i>et al.</i> , 2002           | Angleterre (Caucasienne)     | 3      | 25     | 27     | 11         | 25         | 24         | 0,3305             | 0,7622                     |
| Ergul <i>et al.</i> , 2003           | Turquie (Caucasienne)        | 20     | 48     | 50     | 18         | 85         | 90         | 0,7469             | 0,9244                     |
| Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (a) | États-Unis (Afro-Américains) | 7      | 68     | 171    | 19         | 187        | 433        | 0,8260             | 0,9244                     |
| Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (b) | États-Unis (Caucasienne)     | 42     | 118    | 160    | 38         | 166        | 211        | 0,5179             | 0,7768                     |
| Le marchand <i>et al.</i> , 2004 (c) | États-Unis (Asiatique)       | 11     | 83     | 224    | 13         | 126        | 271        | 0,7220             | 0,9244                     |
| Forsti <i>et al.</i> , 2004          | Finlande (Caucasienne)       | 27     | 102    | 94     | 38         | 127        | 133        | 0,3765             | 0,7622                     |
| Justenhoven <i>et al.</i> , 2005     | Allemagne (Caucasienne)      | 53     | 256    | 273    | 73         | 266        | 295        | 0,2720             | 0,7622                     |
| Chou <i>et al.</i> , 2006            | Chine (Asiatique)            | 8      | 30     | 104    | 18         | 95         | 172        | 0,3241             | 0,7622                     |
| Kalyankumar <i>et al.</i> , 2006     | Inde (Caucasienne)           | 6      | 33     | 49     | 4          | 26         | 65         | 0,5036             | 0,7768                     |
| Stevens <i>et al.</i> , 2007         | États-Unis (mixe)            | 42     | 228    | 224    | 40         | 201        | 252        | 0,9928             | 0,9928                     |
| Kan <i>et al.</i> , 2007             | Chine (Asiatique)            | 14     | 41     | 70     | 8          | 32         | 61         | 0,2071             | 0,7622                     |
| Inoue <i>et al.</i> , 2008           | Singapore (Asiatique)        | 16     | 139    | 225    | 41         | 234        | 387        | 0,4816             | 0,7768                     |
| Kotsopoulos <i>et al.</i> , 2008     | Canada (Caucasienne)         | 85     | 390    | 466    | 73         | 309        | 398        | 0,2494             | 0,7622                     |
| Ma <i>et al.</i> , 2009 (a)          | Japan (Asiatique)            | 15     | 119    | 254    | 15         | 116        | 256        | 0,6829             | 0,9244                     |
| Ericson <i>et al.</i> , 2009         | Suède (Caucasienne)          | 57     | 242    | 242    | 105        | 480        | 487        | 0,3987             | 0,7622                     |
| Ma <i>et al.</i> , 2009 (b)          | Brésil (mixe)                | 21     | 168    | 269    | 22         | 157        | 279        | 0,9885             | 0,9928                     |
| Weiner <i>et al.</i> , 2010          | Russie (Caucasienne)         | 80     | 353    | 398    | 76         | 330        | 379        | 0,7358             | 0,9244                     |
| Cerne <i>et al.</i> , 2011           | Slovénie (Caucasienne)       | 47     | 219    | 258    | 21         | 117        | 131        | 0,4649             | 0,7768                     |
| Hosseini <i>et al.</i> , 2011        | Iran (Caucasienne)           | 162    | 96     | 36     | 105        | 135        | 60         | 0,1697             | 0,7622                     |
| Papandreou <i>et al.</i> , 2011      | Grèce (Caucasienne)          | 36     | 135    | 129    | 31         | 116        | 136        | 0,4065             | 0,7622                     |
| Lajin <i>et al.</i> , 2012           | Syrie (Asiatique)            | 23     | 52     | 44     | 13         | 48         | 65         | 0,3592             | 0,7622                     |
| Wu <i>et al.</i> , 2012              | Chine (Asiatique)            | 6      | 32     | 37     | 5          | 28         | 42         | 0,9093             | 0,9742                     |
| Liu <i>et al.</i> , 2013             | Chine (Asiatique)            | 53     | 176    | 206    | 49         | 172        | 214        | 0,1115             | 0,6690                     |
| Akilzhanova <i>et al.</i> , 2013     | Kazakhstan (Asiatique)       | 35     | 142    | 138    | 44         | 242        | 318        | 0,8257             | 0,9244                     |
| Lopez-cortes <i>et al.</i> , 2014    | Équateur (mixe)              | 1      | 3      | 191    | 1          | 3          | 110        | 0,0000             | 0,0000                     |
| Wang <i>et al.</i> , 2014            | Chine (Asiatique)            | 53     | 176    | 206    | 49         | 172        | 214        | 0,1115             | 0,669                      |
| He <i>et al.</i> , 2014              | Chine (Asiatique)            | 40     | 132    | 138    | 53         | 155        | 173        | 0,0590             | 0,5900                     |
| Lu <i>et al.</i> , 2015              | Chine (Asiatique)            | 19     | 172    | 369    | 23         | 185        | 352        | 0,8320             | 0,9244                     |
| Zhang <i>et al.</i> , 2016           | Chine (Asiatique)            | 31     | 87     | 98     | 7          | 84         | 105        | 0,0455             | 0,5900                     |
| Rezende <i>et al.</i> , 2017         | Brésil (mixe)                | 12     | 112    | 133    | 13         | 104        | 135        | 0,2152             | 0,7622                     |

Il en ressort de cette analyse que les études Lopez-cortes *et al.*, 2014, ainsi que celle de Zhang *et al.*, 2016 ne sont pas en équilibre. Néanmoins, avec le logiciel de méta-analyse utilisé, nous avons pu ajuster la valeur de *HWE* pour l'étude de Zhang *et al.*, 2016. Pour l'étude de Lopez-cortes *et al.*, 2014 menée en équateur sur 195 patientes et 114 témoins, la valeur de l'*HWE* était en déséquilibre et n'a pas pu être ajustée. Cela pourrait induire en biais à prendre en considération lors de l'interprétation des résultats de la méta-analyse.

2.5. Analyse quantitative

Les résultats des tests d'association selon les sept modèles de comparaison prospectés sont présentés dans le tableau IX. Les diagrammes en forêt (*forest plots*) de tous les modèles de comparaisons utilisés dans notre méta-analyse sont présentés dans les figures correspondantes (figures 31, 32, 33, 34, 35, 36 et 37).

**Tableau IX** : résultats des tests d'association selon les différents modèles de comparaison pour l'effet du polymorphisme A1298C.

| Modèle de comparaison              |               | OR    | 95%-CI         | p-value |
|------------------------------------|---------------|-------|----------------|---------|
| Modèle allélique (A vs. C)         | Fixed effect  | 1,066 | [1,021; 1,113] | 0,0032  |
|                                    | Random effect | 1,077 | [1,006; 1,153] | 0,0327  |
| Modèle récessif (CC vs. AC+AA)     | Fixed effect  | 1,141 | [1,037; 1,255] | 0,0067  |
|                                    | Random effect | 1,139 | [0,989; 1,312] | 0,0697  |
| Modèle dominant (CC+AC vs. AA)     | Fixed effect  | 1,062 | [1,005; 1,123] | 0,0308  |
|                                    | Random effect | 1,068 | [0,999; 1,142] | 0,0534  |
| Modèle hétérozygote (AC vs. AA+CC) | Fixed effect  | 1,016 | [0,961; 1,074] | 0,5732  |
|                                    | Random effect | 1,013 | [0,953; 1,077] | 0,6601  |
| CC vs. AA                          | Fixed effect  | 1,145 | [1,034; 1,267] | 0,0088  |
|                                    | Random effect | 1,166 | [1,010; 1,346] | 0,0353  |
| CC vs. AC                          | Fixed effect  | 1,100 | [0,995; 1,217] | 0,0622  |
|                                    | Random effect | 1,104 | [0,965; 1,262] | 0,1470  |
| AC vs. AA                          | Fixed effect  | 1,048 | [0,989; 1,111] | 0,1103  |
|                                    | Random effect | 1,048 | [0,989; 1,111] | 0,1103  |

Les résultats obtenus indiquent des associations statistiquement significatives selon plusieurs modèles : allélique (A vs. C), récessif (CC vs. AC+AA), CC vs. AA, ainsi que le modèle dominant à effet fixe.

Ces résultats suggèrent que l'allèle C du polymorphisme A1298C du gène *MTHFR*, qui est récessif, pourrait être un facteur de risque probable dans le développement du cancer du sein chez les individus porteurs de cet allèle. Il semble que les femmes ayant le génotype CC semblent présenter un risque plus élevé de développer un cancer du sein, suivi des individus ayant le génotype AC, bien que dans une moindre mesure. L'analyse des représentations graphiques en forêt confirme cette observation.

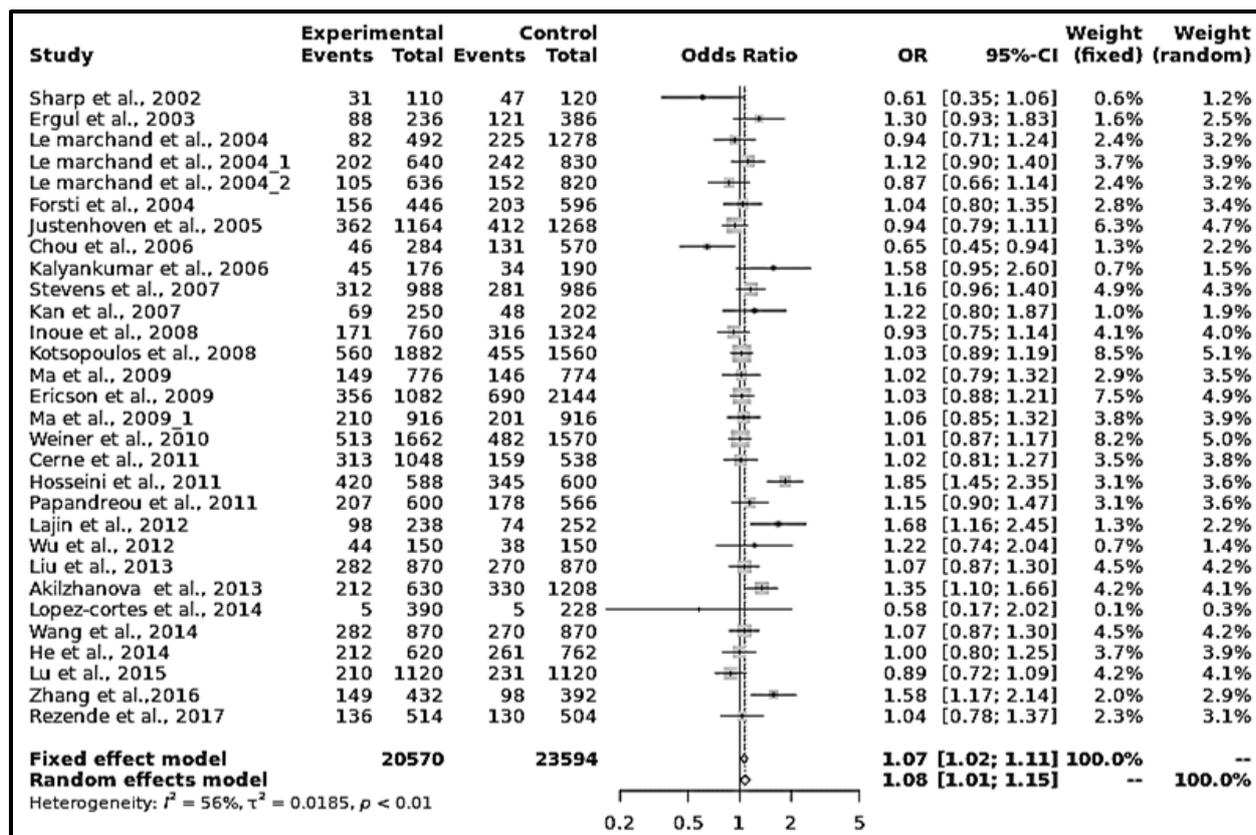


Figure 31 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison allélique (A vs. C).

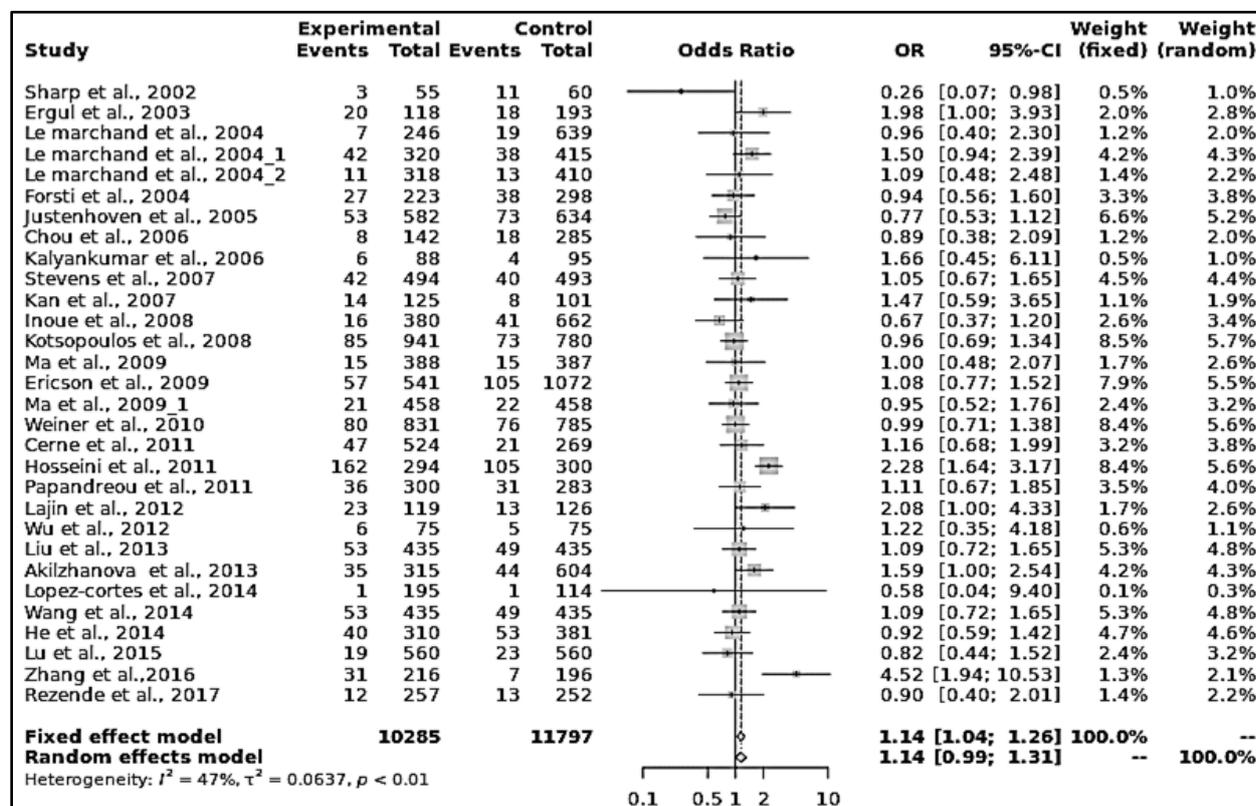


Figure 32 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison récessif (CC vs. AC+AA).

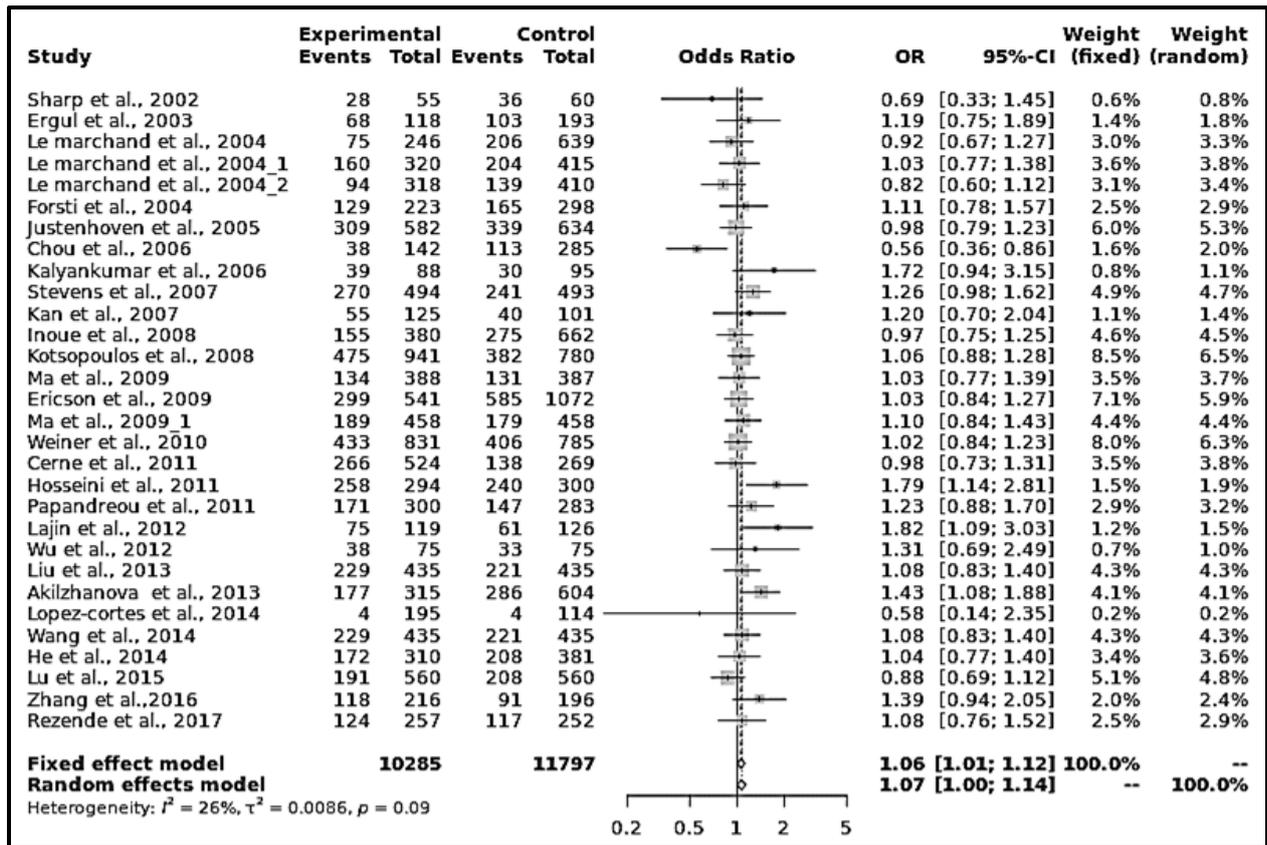


Figure 33 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison dominant (CC+AC vs. AA).

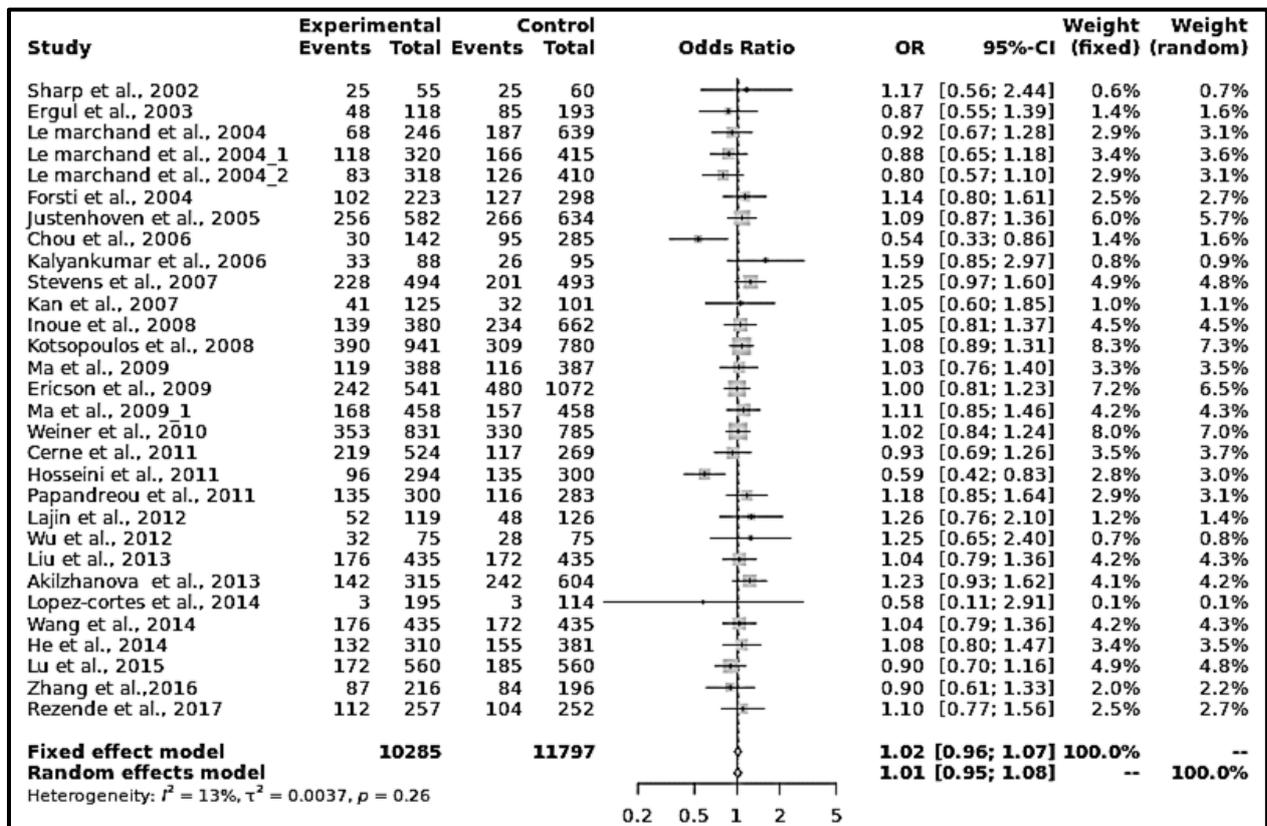


Figure 34 : graphique en forêt du modèle de comparaison co-dominant (AC vs. AA+CC).

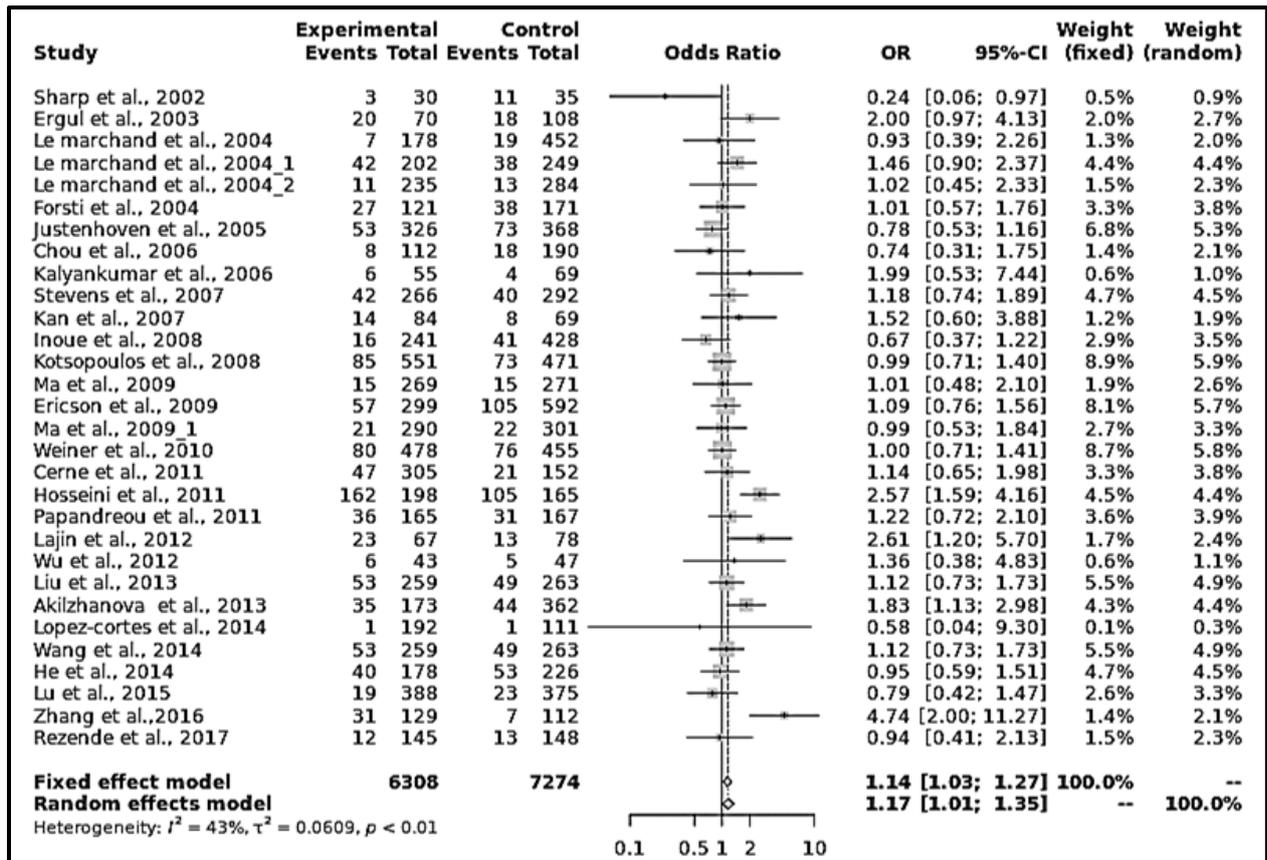


Figure 35 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. AA.

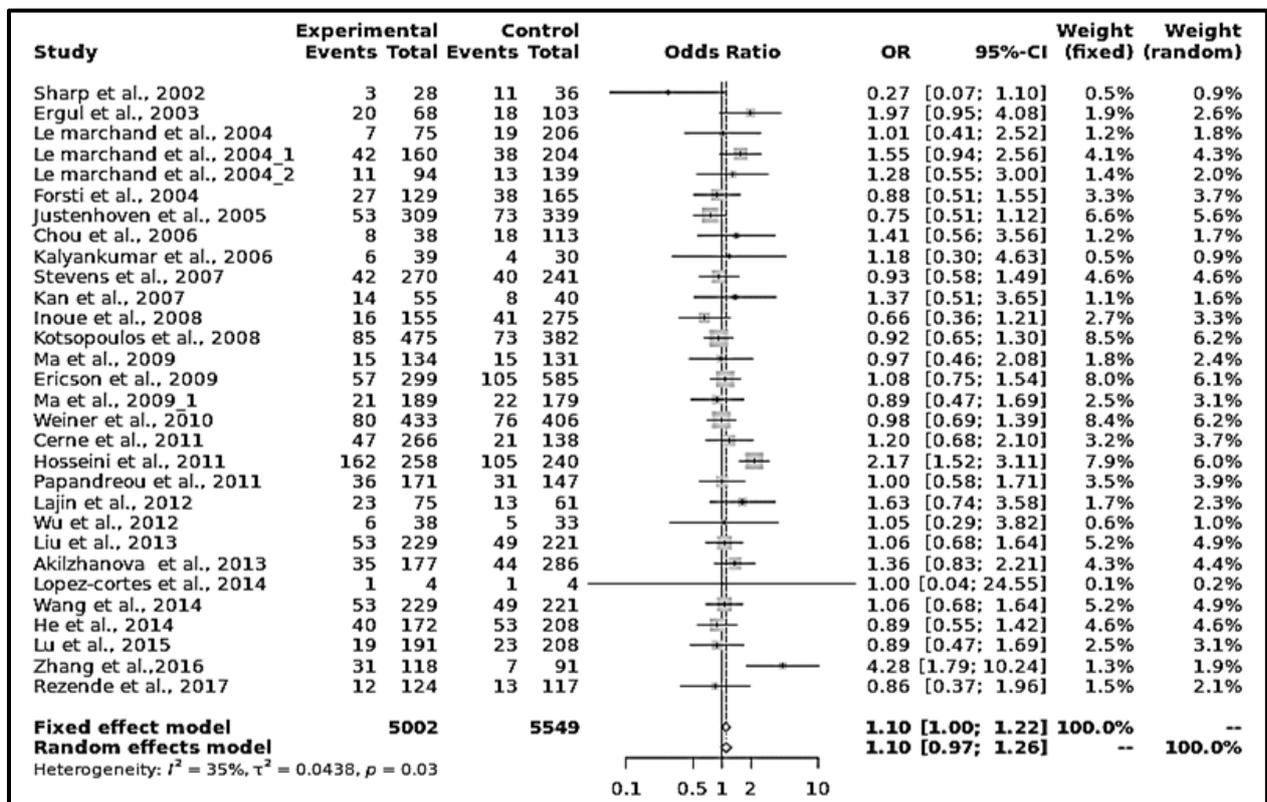


Figure 36 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison CC vs. AC.

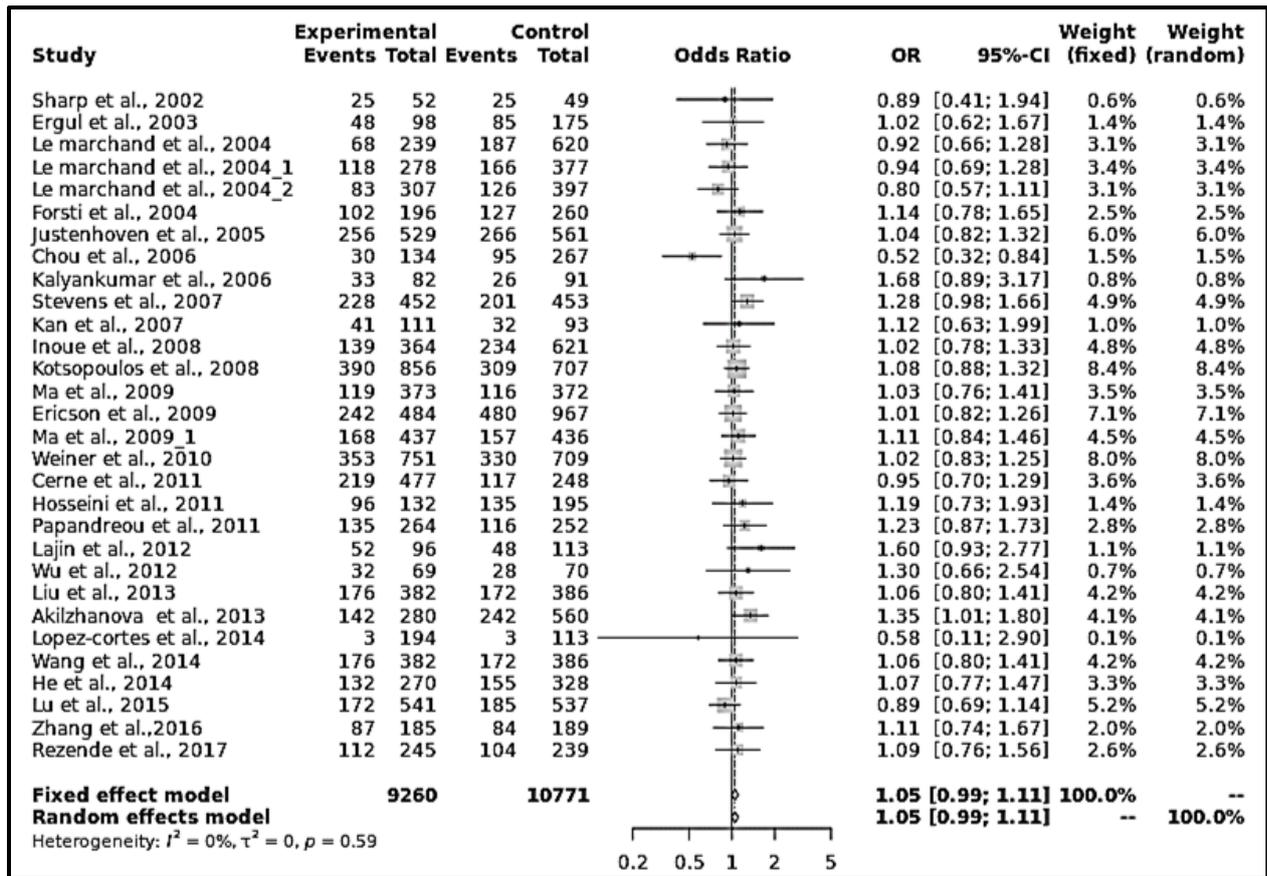


Figure 37 : graphique en forêt selon le modèle de comparaison AC vs. AA.

De même que pour le variant C677T, nous avons effectué une analyse approfondie de l'effet de l'origine ethnique sur l'association entre le polymorphisme A1298C du gène *MTHFR* et le risque de cancer du sein. Ainsi, nous avons réalisé une analyse statistique en séparant nos études en fonction de l'origine ethnique en 4 sous-groupes : afro-américaine (1), asiatique (14), caucasienne (9) et mixte (6). Les résultats de cette analyse sont résumés dans le tableau X, qui présente l'association entre le polymorphisme A1298C et le cancer du sein pour chaque groupe ethnique.

Les résultats d'association par sous-groupe ethnique indiquent des valeurs statistiquement significatives pour une seule ethnie, mixte, et sous deux modèles de comparaison : le modèle allélique ( $p = 0,0122$ ), ainsi que le modèle dominant ( $p = 0,0167$ ). Ces résultats indiquent que l'allèle C supposé délétère ne constitue pas un facteur de risque pour la survenue du cancer du sein dans les populations asiatiques et caucasiennes, et qu'il n'a qu'un effet probable que dans les populations dites mixtes. En revanche, l'inclusion dans cette méta-analyse d'une seule étude réalisée sur une population afro-américaine, ne permet pas de tirer des conclusions concernant l'implication du variant étudié dans cette ethnie.

**Tableau X** : analyse statistique par sous-groupe ethnique sur l'effet du polymorphisme A1298C.

| Modèle de comparaison              | Ethnicité       | Nombre d' études | Test d'association |                |         | Test d'hétérogénéité |         |                | Biais de publication |
|------------------------------------|-----------------|------------------|--------------------|----------------|---------|----------------------|---------|----------------|----------------------|
|                                    |                 |                  | OR                 | 95% CI         | p-value | Modèle               | p-value | I <sup>2</sup> | p-value Egger        |
| Modèle allélique (A vs. C)         | Global          | 30               | 1,077              | [1.006; 1.153] | 0,0327  | Random               | 0,0001  | 0,559          | 0,6193               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,936              | [0.709; 1.235] | 0,6402  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,109              | [0.968; 1.271] | 0,1353  | Random               | 0       | 0,728          | 0,6859               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,019              | [0.955; 1.087] | 0,5552  | Fixed                | 0,6568  | 0              | 0,3708               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,157              | [1.032; 1.296] | 0,0122  | Fixed                | 0,2404  | 0,258          | 0,9945               |
| Modèle récessif (CC vs. AC+AA)     | Global          | 30               | 1,139              | [0.989; 1.312] | 0,0697  | Random               | 0,0029  | 0,467          | 0,8631               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,955              | [0.396; 2.302] | 0,9196  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,245              | [0.961; 1.612] | 0,0959  | Random               | 0,0019  | 0,601          | 0,6301               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,004              | [0.872; 1.156] | 0,9520  | Fixed                | 0,2978  | 0,162          | 0,3896               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,228              | [0.933; 1.617] | 0,1423  | Fixed                | 0,3212  | 0,145          | 0,9859               |
| Modèle dominant (CC+AC vs. AA)     | Global          | 30               | 1,068              | [0.999; 1.142] | 0,0534  | Random               | 0,0947  | 0,263          | 0,4409               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,921              | [0.670; 1.267] | 0,6163  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,079              | [0.943; 1.235] | 0,2656  | Random               | 0,0079  | 0,542          | 0,3082               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,033              | [0.949; 1.125] | 0,4415  | Fixed                | 0,9488  | 0              | 0,5010               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,193              | [1.032; 1.379] | 0,0167  | Fixed                | 0,4714  | 0              | 0,8422               |
| Over-dominant model (AC vs. AA+CC) | Global          | 30               | 1,016              | [0.961; 1.074] | 0,5732  | Fixed                | 0,2642  | 0,130          | 0,5170               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,923              | [0.665; 1.280] | 0,6331  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 0,959              | [0.847; 1.086] | 0,5134  | Random               | 0,0330  | 0,453          | 0,8803               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,034              | [0.949; 1.127] | 0,4365  | Fixed                | 0,9272  | 0              | 0,7523               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,130              | [0.976; 1.309] | 0,1013  | Fixed                | 0,7536  | 0              | 0,1744               |
| CC vs. AA                          | Global          | 30               | 1,166              | [1.010; 1.346] | 0,0353  | Random               | 0,0078  | 0,426          | 0,6406               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,932              | [0.385; 2.259] | 0,8776  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,270              | [0.971; 1.661] | 0,0799  | Random               | 0,0035  | 0,578          | 0,8064               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,023              | [0.883; 1.185] | 0,7568  | Fixed                | 0,3690  | 0,079          | 0,3706               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,324              | [0.996; 1.762] | 0,0530  | Fixed                | 0,2819  | 0,201          | 0,9959               |
| CC vs. AC                          | Global          | 30               | 1,104              | [0.965; 1.262] | 0,1470  | Random               | 0,0321  | 0,349          | 0,9065               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 1,013              | [0.407; 2.516] | 0,9775  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,225              | [0.961; 1.562] | 0,1006  | Random               | 0,0180  | 0,496          | 0,7833               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 0,983              | [0.847; 1.140] | 0,8211  | Fixed                | 0,3224  | 0,134          | 0,4405               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,106              | [0.829; 1.477] | 0,4905  | Fixed                | 0,4537  | 0              | 0,6732               |
| AC vs. AA                          | Global          | 30               | 1,048              | [0.989; 1.111] | 0,1103  | Fixed                | 0,5940  | 0              | 0,8988               |
|                                    | Afro-Américaine | 1                | 0,920              | [0.662; 1.279] | 0,6231  | Fixed                | NA      | NA             | NA                   |
|                                    | Asiatique       | 14               | 1,027              | [0.936; 1.126] | 0,5682  | Fixed                | 0,1461  | 0,29           | 0,6555               |
|                                    | Caucasienne     | 9                | 1,037              | [0.948; 1.133] | 0,4255  | Fixed                | 0,9738  | 0              | 0,8492               |
|                                    | Mixte           | 6                | 1,176              | [1.010; 1.369] | 0,0357  | Fixed                | 0,6997  | 0              | 0,5417               |

## 2.6. Test d'hétérogénéité

Pour quatre des modèles génétiques de comparaison sont tous très significatifs, avec des valeurs inférieures au seuil de 0,05 : allélique ( $p = 0,0000$ ), récessif ( $p = 0,0000$ ), CC vs. AA ( $p = 0,01$ ) et CC vs. AC ( $p = 0,03$ ). Ces observations des valeurs de  $p$  sont confirmées par les valeurs du  $I^2$  du test d'Higgins qui indiquent des valeurs supérieures à 0,50 (hétérogénéité importante) pour le modèle allélique, ainsi que des valeurs comprises entre 0,25 et 0,50 (hétérogénéité modérée) pour quatre modèles (récessif, dominant, CC vs. AA et CC vs. AC). Il est à signaler qu'aucune hétérogénéité n'a été relevée sous les modèles hétérozygote et AC vs. AA, et ce en se référant à la valeur de  $p$  ainsi que les valeurs  $I^2$  du test d'Higgins.

**Tableau XI :** résultats du test d'hétérogénéité pour l'effet du polymorphisme A1298C.

| Modèle de comparaison              | tau^2 | H    | I^2  | Q     | p-value |
|------------------------------------|-------|------|------|-------|---------|
| Modèle allélique (A vs. C)         | 0,02  | 1,51 | 0,56 | 65,85 | 0,00    |
| Modèle récessif (CC vs. AC+AA)     | 0,06  | 1,37 | 0,47 | 54,41 | 0,00    |
| Modèle dominant (CC+AC vs. AA)     | 0,01  | 1,17 | 0,26 | 39,38 | 0,09    |
| Modèle hétérozygote (AC vs. AA+CC) | 0,00  | 1,07 | 0,13 | 33,34 | 0,26    |
| CC vs. AA                          | 0,06  | 1,32 | 0,43 | 50,60 | 0,01    |
| CC vs. AC                          | 0,04  | 1,24 | 0,35 | 44,61 | 0,03    |
| AC vs. AA                          | 0,00  | 1,00 | 0,00 | 26,59 | 0,59    |

De même que pour le C677T, et en raison de l'hétérogénéité importante observée, nous avons mené une méta-régression logistique et une analyse de sous-groupes afin d'en identifier les sources potentielles. La répartition par sous-groupe ethnique nous a permis de constater que la forte hétérogénéité relevée dans notre méta-analyse est due essentiellement aux études qui ont porté sur les populations asiatiques. En effet, la valeur de  $p$  pour ce test indique des résultats statistiquement significatives pour pratiquement tous les modèles comparaison (excepté le modèle AC vs. AA). Ces observations sont confirmées par le test d'Higgins qui indique une très faible hétérogénéité dans les données pour les études menées sur des populations caucasiennes et mixtes, contrairement aux études réalisées sur des populations asiatiques où une forte hétérogénéité est constatée.

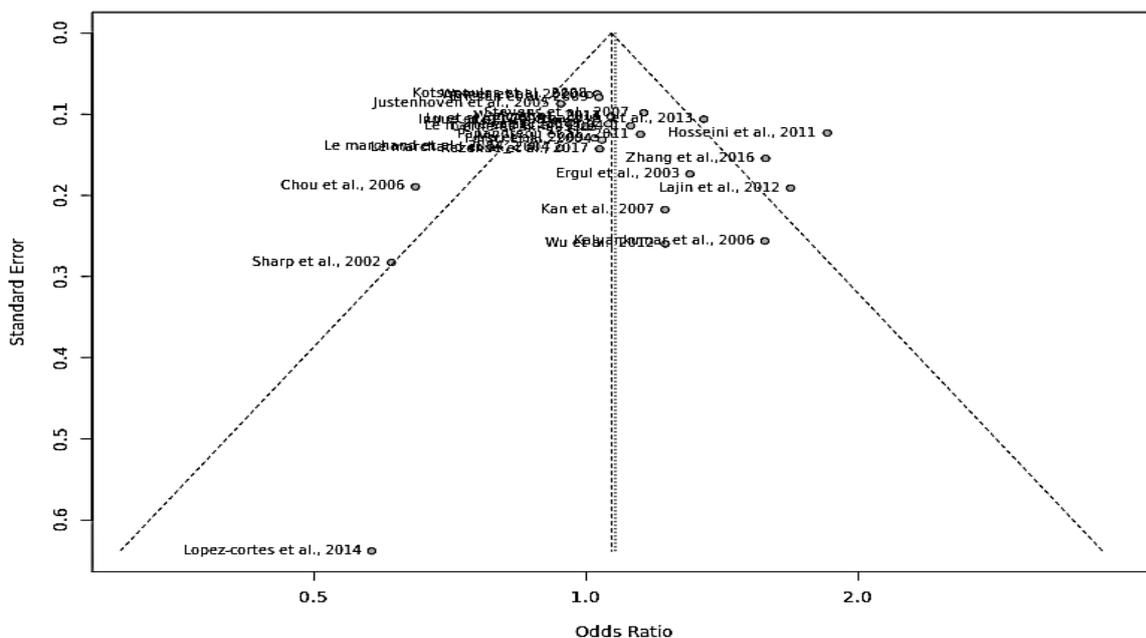
Il est à signaler que pour l'ethnie afro-américaine la valeur du test d'hétérogénéité ne peut être calculée du fait qu'une seule étude réalisée sur cette ethnie est incluse dans notre méta-analyse.

En plus des différences entre ethnies et techniques de génotypage utilisées, dans ce type de méta-analyse, d'autres facteurs de confusion existent tels que la taille des cohortes des patients et des témoins, qui, pour les études incluses dans notre méta-analyse, sont extrêmement hétérogènes, avec des extrêmes allant de 55 (Sharp *et al.*, 2002) à 941 (Kotsopoulos *et al.*, 2008) pour la cohorte des patientes, et des extrêmes allant de 60 (Sharp *et al.*, 2002) à 1072 (Ericson *et al.*, 2010) pour la population des témoins.

### 2.7. Analyse de sensibilité et biais de publication

Une analyse de la sensibilité, ainsi que la recherche d'un possible biais de publication ont été effectuées. Des « funnel plot », ont été générées (figures 38, 39, 40, 41, 42, 43 et 44). De plus, le test d'Egger a été réalisé.

L'analyse des graphiques en entonnoir générés par le logiciel de méta-analyse utilisé a mis en évidence la présence d'un biais statistique dans plusieurs publications incluses dans cette étude, dans un ou plusieurs modèles de comparaison. En effet, l'étude de Sharp *et al.*, 2002, la première ayant examiné la relation entre polymorphisme A1298C de la *MTHFR* et le risque de cancer du sein, est biaisée selon plusieurs modèles de comparaison (allélique, récessif, CC vs. AA et CC vs. AC). De même, les études de Chou *et al.*, 2006, ainsi que celle de Zhang *et al.*, 2016 présentent un biais selon plusieurs modèles. Néanmoins, les valeurs de p générées par le test d'Egger sont toutes significatives (tableau XI), ce qui indique le biais de publication est négligeable dans notre méta-analyse.



**Figure 38** : graphique en entonnoir du modèle de comparaison allélique (A vs. C).

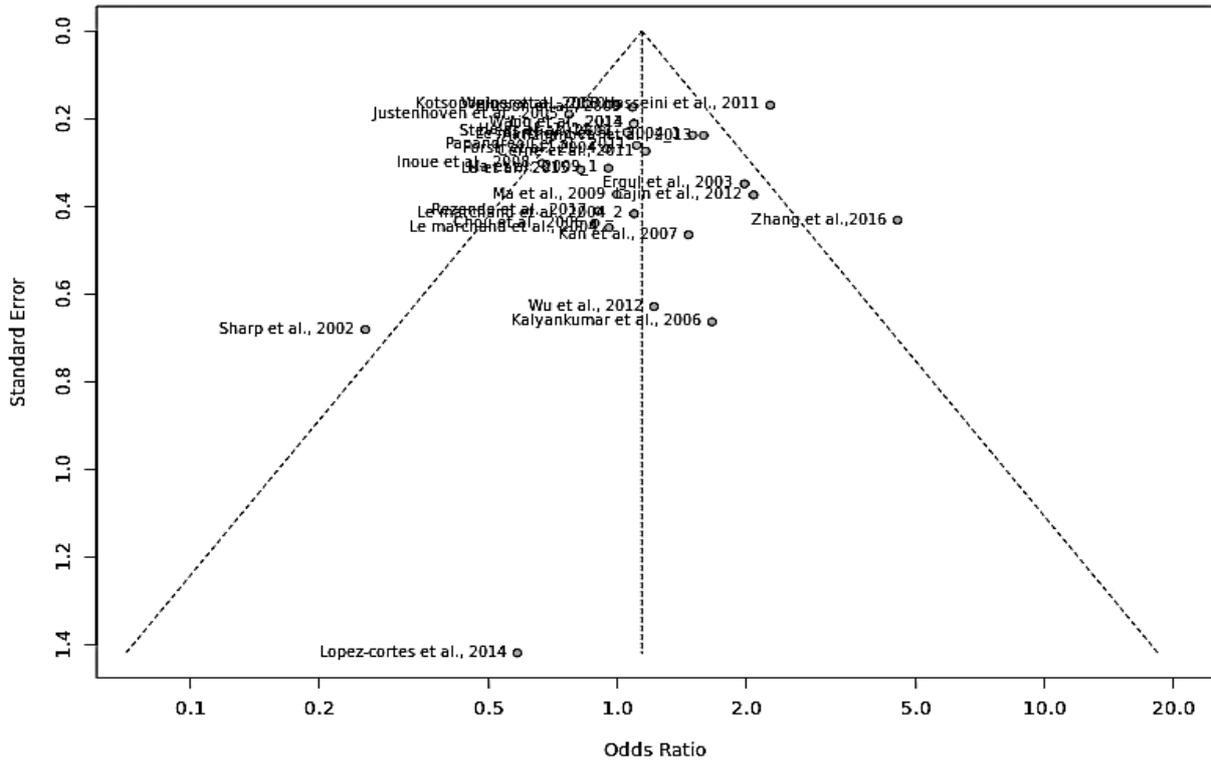


Figure 39 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison récessif (CC vs. AC+AA).

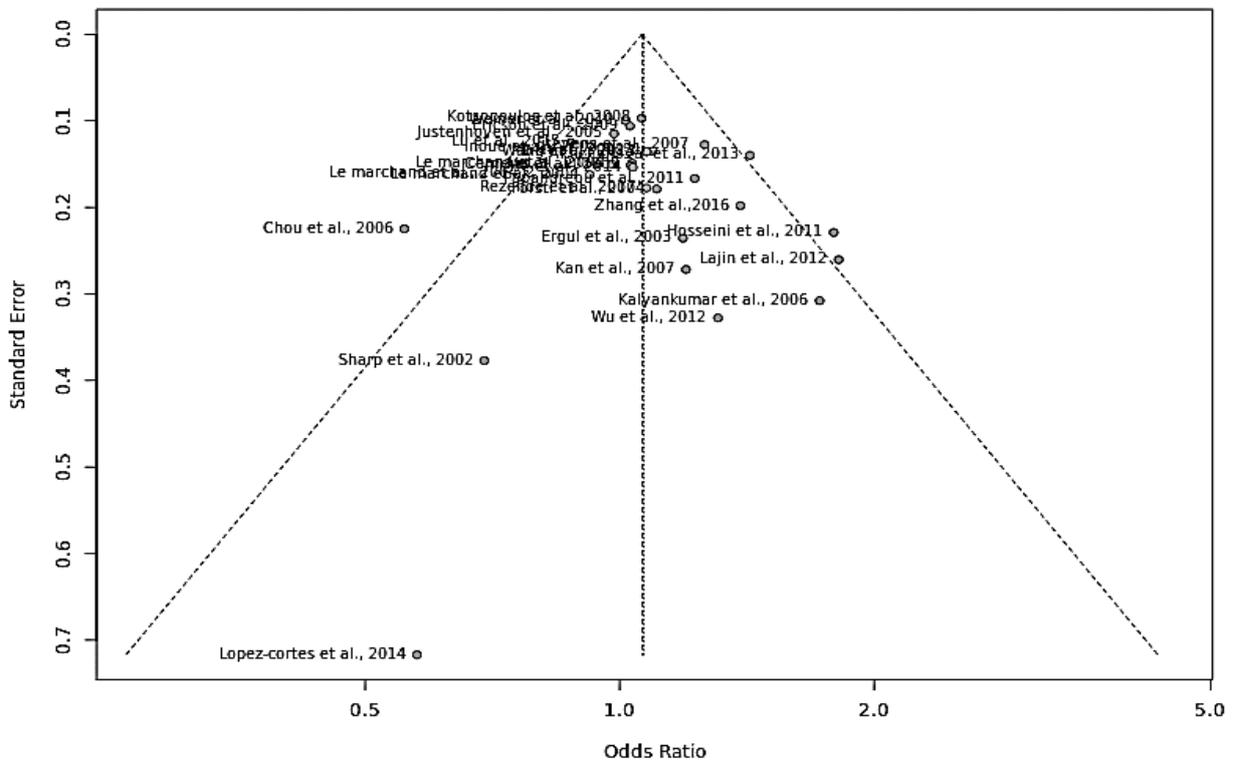


Figure 40 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison dominant (CC+AC vs. AA).

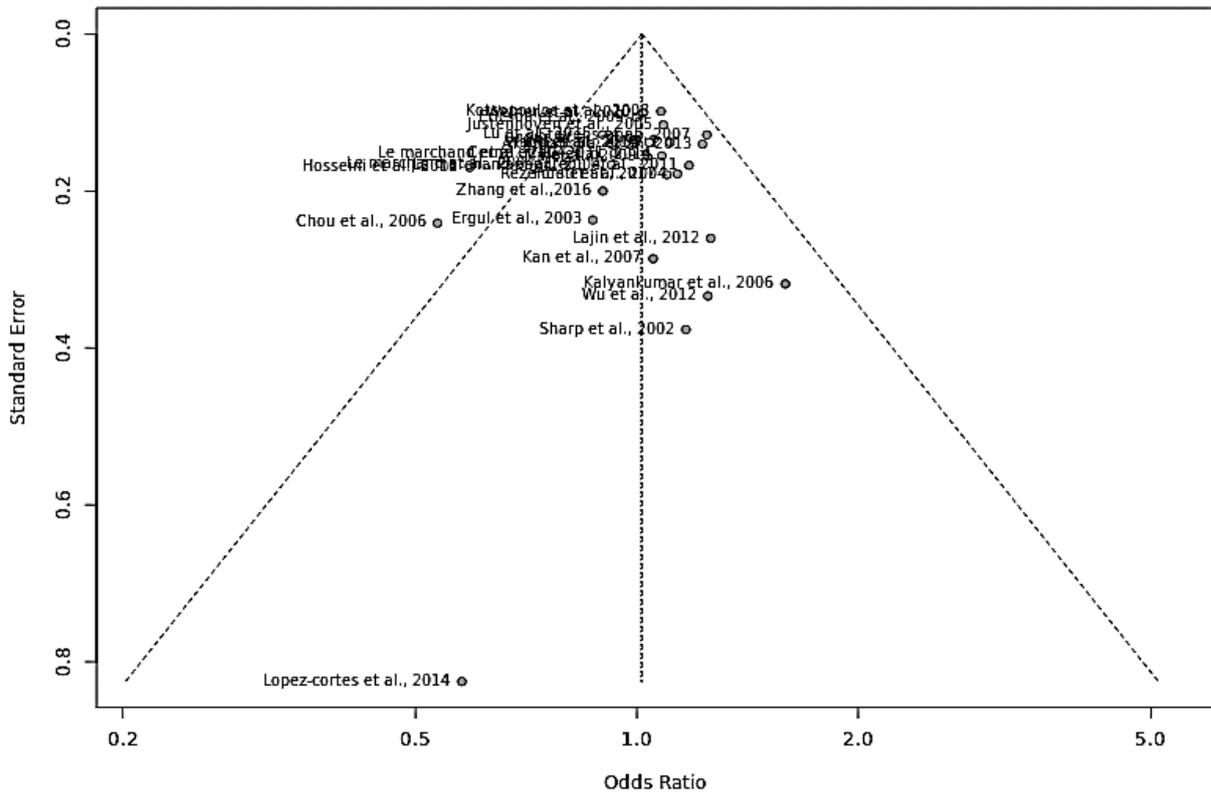


Figure 41 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison codominant (AC vs. AA+CC).

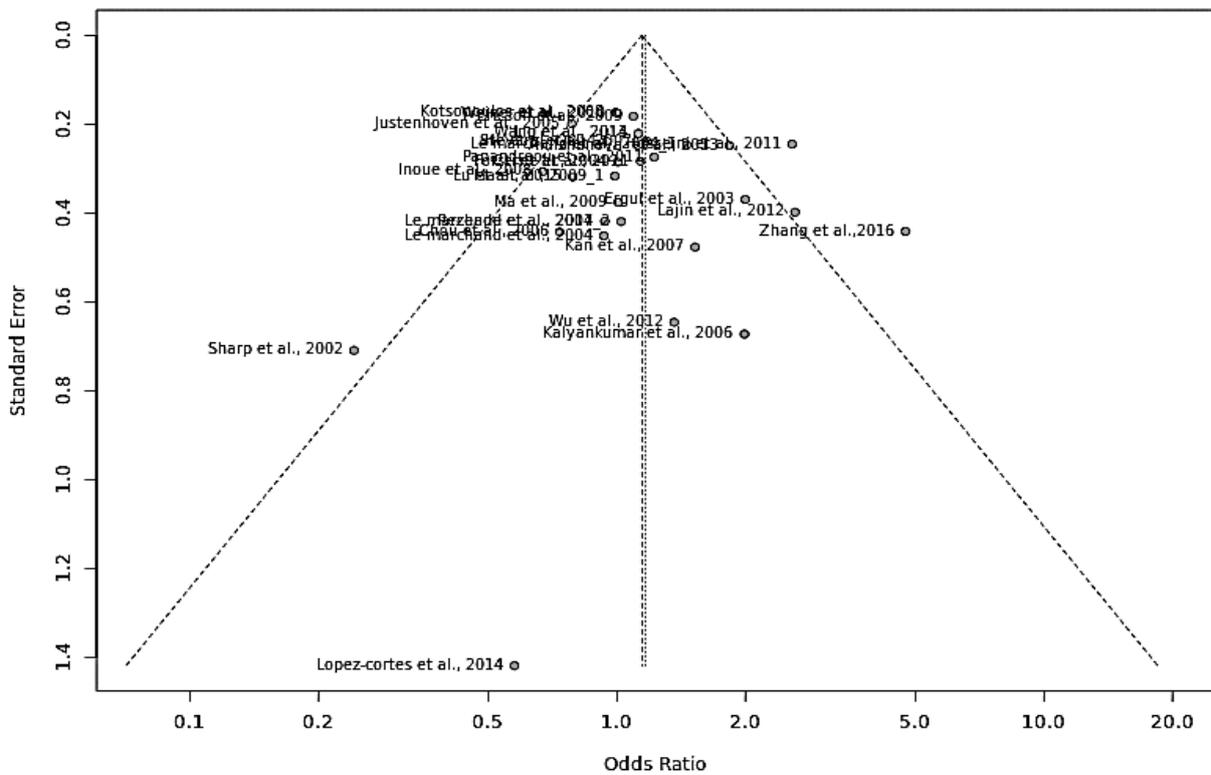


Figure 42 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. AA.

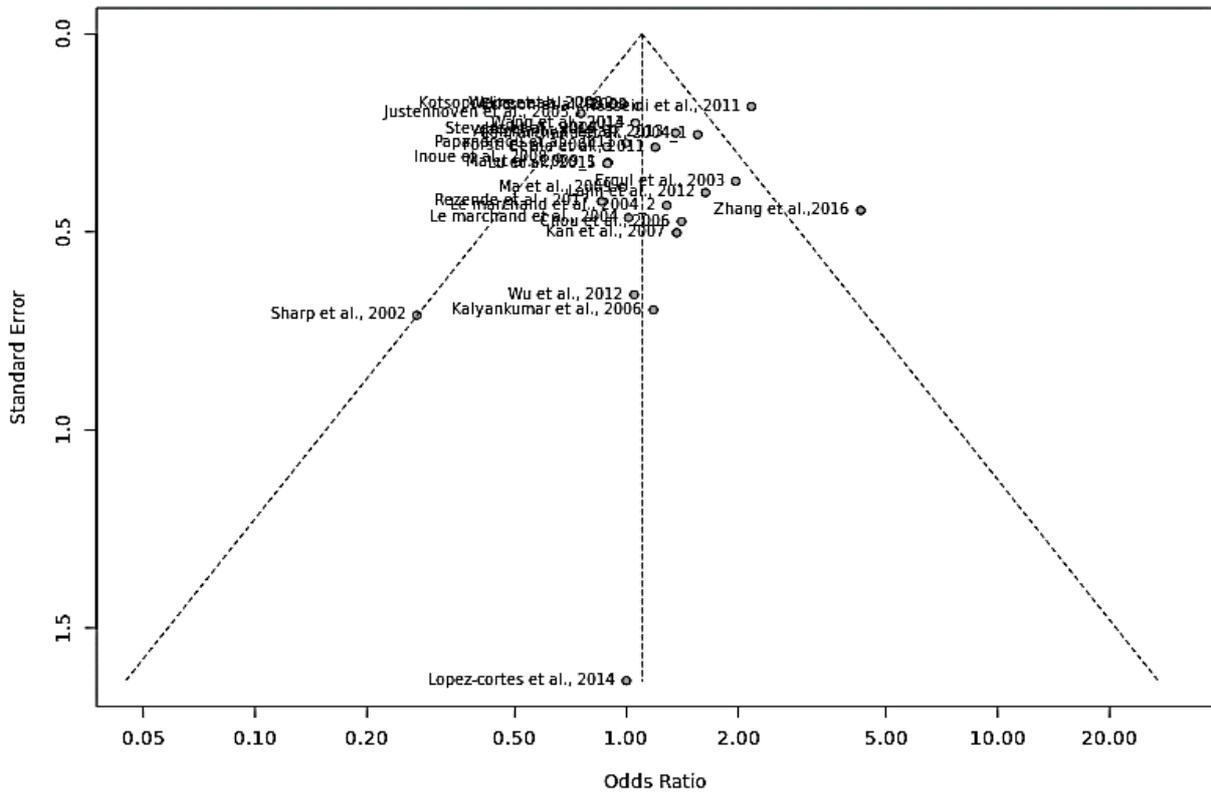


Figure 43 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison CC vs. AC.

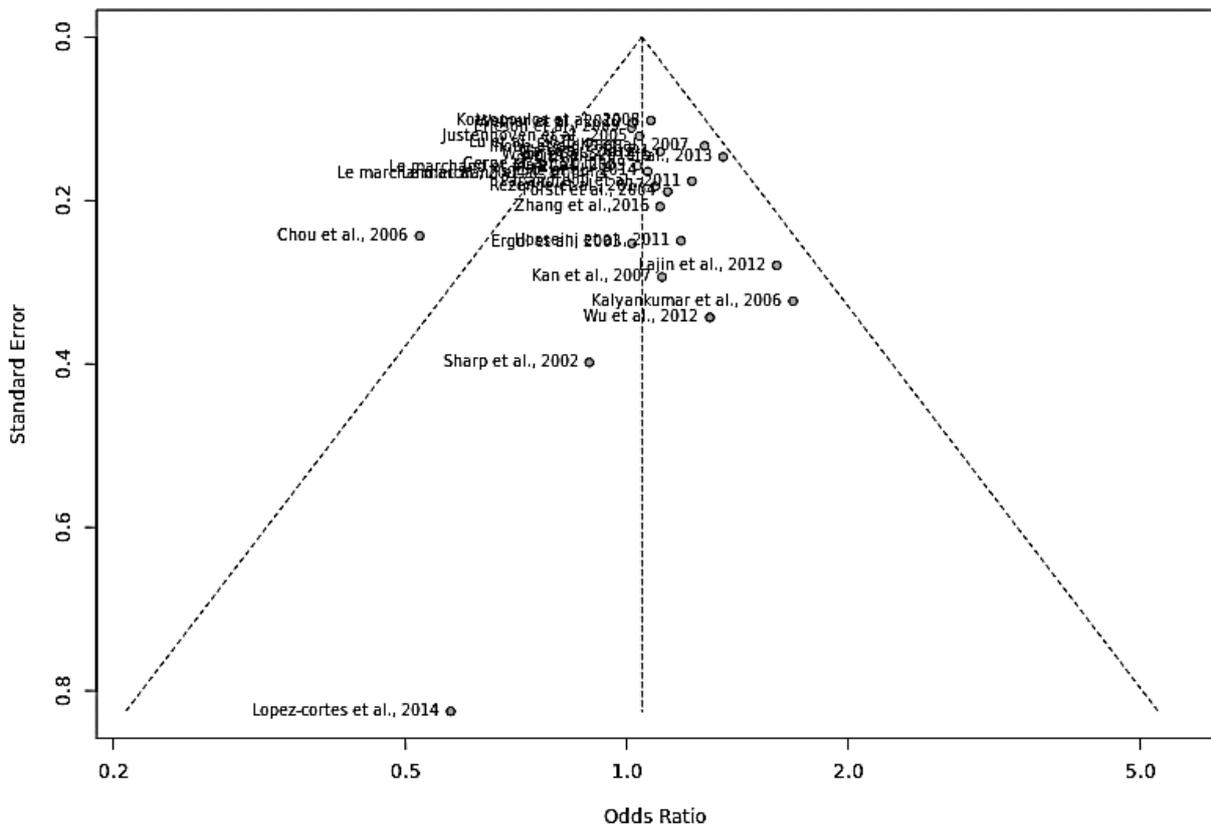


Figure 44 : graphique en entonnoir du modèle de comparaison AC vs. AA.

# Discussion générale

Une prédisposition génétique à une pathologie donnée est définie par l'existence chez un individu d'une altération génique constitutionnelle, portée par toutes les cellules de l'organisme, conduisant à un risque plus important de développer cette pathologie. Ces altérations ont été reconnues sur des gènes que l'on qualifie de gènes de susceptibilité, et sont impliquées dans de nombreuses pathologies humaines incluant notamment les cancers. Les cancers forment un groupe très hétérogène de pathologies où la prospection de la prédisposition génétique revêt une importance particulière. En effet, la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse, point de départ au processus de tumorigenèse, est due à la survenue d'altérations acquises (somatique) sur des gènes clefs du fonctionnement cellulaire. L'accumulation de ces altérations est nécessaire au développement d'une cellule cancéreuse. Cette accumulation est d'autant plus favorisée par la présence de mutations constitutionnelles prédisposantes facilitant ou accélérant le processus de transformation (Robson, 2023).

Les gènes majeurs de susceptibilité majeurs impliqués dans les cancers du sein sont aujourd'hui bien caractérisés, incluant notamment les gènes *BRCA1* et *BRCA2* engagés dans le processus de réparation des cassures double brins de l'ADN. D'autres gènes ont fait l'objet de recommandations nationales dans plusieurs pays, sans consensus réel, pour être examinés en routine dans les laboratoires d'oncogénétique (Sokolova *et al.*, 2023). Les études familiales, les études cas-témoins, ainsi que développement des techniques de séquençage à haut débit et les études pangénomiques à grande échelle ont permis d'identifier d'autres gènes de susceptibilité au cancer du sein. Cependant, ces gènes semblent être responsables d'un sur risque modéré ou faible par rapport à la population générale. La pertinence clinique d'analyser les variations (mutations et polymorphismes), ainsi que l'expression de ces gènes nécessite d'être mise en évidence (Kashyap *et al.*, 2022 ; Robson, 2023).

La recherche en oncogénétique des cancers du sein a été initialement axée vers l'identification de mutations rares à forte pénétrance au niveau des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Cependant, nous avons été déçus de constater que la part attribuable à ces mutations dans le développement des cancers du sein était faible (n'excédant pas 10%). Cela nous a poussés à nous orienter au cours de la dernière décennie vers la prospection de l'implication de polymorphismes génétiques communs, assez répandus dans la population générale, codants pour des enzymes impliquées dans diverses voies métaboliques, et qui peuvent avoir un impact minime sur le risque de survenue des cancers du sein, ce pourraient en expliquer partiellement l'étiologie (Dumont *et al.*, 2022).

La *MTHFR* fait actuellement office de candidat parfait à l'étude du polymorphisme génétique associé avec un risque accru de développer une pathologie cancéreuse. En effet, cette enzyme clef du métabolisme des folates est impliquée dans la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN. Deux polymorphismes communs pour le gène *MTHFR*, C677T et A1298C, modifiant l'activité de l'enzyme ont été identifiés et très largement étudiés. Ces polymorphismes entraînent une réduction des niveaux de 5-MTHF, une accumulation de 5,10-MTHF, d'où une augmentation des niveaux d'homocystéine plasmatique et des modifications dans la composition cellulaire des dérivés des folates avec apparition de poly-glutamates THF formylés. Cette perte d'activité entraîne une diminution des niveaux de 5,10-MTHF, substrat de *MTHFR* nécessaire à la synthèse de thymidylate, ce qui entraîne une incorporation erronée d'uracile dans l'ADN, une diminution de l'efficacité du système de réparation de l'ADN et une accumulation de cassures et de lésions au niveau des chromosomes. Elle entraîne également une hypo-méthylation de l'ADN due à la baisse des niveaux de SAM. Ces polymorphismes prédisposent au développement d'une hyperhomocystéinémie, particulièrement dans un contexte d'une carence en folates. Cependant, en l'absence de cette carence, les niveaux d'homocystéine plasmatique seraient bas et indépendants du génotype. L'association entre une carence en folates et cancers du sein peut être expliquée par le fait que des changements dans le statut des folates pourraient provoquer l'hyperméthylation de l'ADN et induire une mauvaise incorporation d'uracile au cours de sa synthèse ce qui conduit à des erreurs de réparation, la rupture des brins ainsi que des anomalies chromosomiques (Sharma et Krupenko, 2020).

En dépit du fait que les mécanismes moléculaires de la cancérogenèse diffèrent d'une pathologie cancéreuse à une autre, l'influence de l'apport en folates est de plus en plus évoquée dans des études menées sur des polymorphismes d'enzymes les métabolisant. L'apport alimentaire de nutriments riches en vitamine B9 pourrait ainsi avoir une incidence positive sur la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN. Une carence par contre peut contribuer à la survenue d'erreurs au cours de la synthèse d'ADN, une rupture des deux brins et peut entraîner également des altérations chromosomiques, une hypo-méthylation de l'ADN activant l'expression de proto-oncogènes en raison d'une diminution de synthèse de SAM. Ces mécanismes physiopathologiques seraient probablement partagés par toutes les pathologies cancéreuses (Sharma et Krupenko, 2020).

Même si les polymorphismes C677T et A1298C du gène *MTHFR* paraissent impliqués dans la survenue du cancer du sein, des investigations épidémiologiques et biochimiques plus poussées sont nécessaires pour valider ces résultats. Des enquêtes tenant compte des différentes interactions gène-gène et gène-environnement sur d'autres polymorphismes peuvent être utiles pour clarifier, en partie, l'étiologie de cette pathologie cancéreuse, et pourquoi pas apporter des éléments de preuves spécifiques à la population algérienne. Au final, le cancer du sein reste une pathologie cancéreuse complexe, dans le sens où de nombreux facteurs peuvent être impliqués, notamment des facteurs génétiques et environnementaux intimement mêlés.

Bien que la recherche de prédisposition génétique ait connu un grand engouement ces dernières années, estimer le risque de l'apparition d'une pathologie n'a de sens que si cela apporte un bénéfice concret pour le patient et la société. À l'heure actuelle, les tests de prédisposition génétique pour les cancers du sein sont ceux pour lesquelles un bénéfice réel et concret pour la prise en charge des patientes a été mis en évidence. Dans le cas d'une forme familiale d'un cancer du sein, connaître son statut génétique a de nombreux intérêts. Pour la patiente, il permet d'apporter un éclaircissement, de poser correctement le diagnostic, et de proposer à ces femmes une prise en charge adaptée. Pour les apparentés de ces patientes, cette analyse génétique permet de connaître le risque de développer un cancer du sein dans la fratrie, et de proposer en conséquence des mesures préventives ou de surveillance adaptée, et d'autre part de connaître le risque de transmission à la descendance. Évaluer ce risque génétique de survenue d'une pathologie permet le développement d'une nouvelle stratégie de soins « personnalisée », correspondant à une médecine centrée sur le patient et non plus sur la maladie. Cette approche contraste avec l'approche précédente qui consistait à prendre en charge des patients en fonction de leur pathologie uniquement. Pour le cancer du sein, grâce à l'analyse génétique, il existe aujourd'hui des protocoles de chimiothérapies standardisées en fonction du profil génétique de la tumeur, mais aussi en fonction des mutations constitutionnelles du patient. Dans ce cas-là, l'analyse génétique a un rôle primordial. C'est le cas pour les patientes porteuses d'une mutation constitutionnelle sur un des gènes *BRCA* qui présentent un sur risque de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire. Actuellement, une chirurgie de réduction de risque (mastectomie bilatérale, annexectomie), peut être proposée chez certaines de ces patientes porteuses d'une mutation constitutionnelle de prédisposition, avant même l'apparition du cancer (Dumont *et al.*, 2022).

**Conclusion**  
**et**  
**Perspectives**

De nombreux facteurs jouent un rôle dominant dans l'étiologie du cancer du sein. Un âge avancé, un âge précoce des ménarches, une ménopause tardive, des maladies bénignes du sein, une densité mammaire élevée, obésité en post-ménopause, l'exposition aux radiations ionisantes, l'utilisation des contraceptifs oraux et le recours à un TSH ont été associés à un risque accru de développer cette pathologie. En parallèle, il a été observé qu'avoir un premier enfant à un âge précoce, la multiparité, l'activité physique régulière, ainsi que l'allaitement diminuent ce risque. Une exploration plus poussée de ces facteurs de risque, qui pour la plupart sont modifiables, sur lesquels il est possible d'agir, devrait contribuer à la mise en œuvre de stratégies efficaces de prévention. Néanmoins, il est admis aujourd'hui que les cancers du sein constituent des pathologies cancéreuses complexes dont les causes sont généralement multifactorielles, associant à la fois une partie génétique et une partie environnementale. La détermination de la part relative de ces deux composantes dans le risque de développer un cancer du sein s'avère compliquée.

Le plus souvent, les cas de cancers du sein ne suivent pas un mode de transmission Mendélien classique, et ce même pour les formes dites « familiales », car il ne s'agit pas d'une mutation au niveau d'un gène unique prédéfini qui est à l'origine de la prédisposition, mais une combinaison de polymorphismes génétiques, parfois assez communs, et présentes à différents endroits du génome, dans différents gènes, ce qui va favoriser l'apparition et/ou l'évolution de la pathologie. Bien qu'une ségrégation familiale de cas soit souvent observée, la mise en évidence de la composante génétique du cancer du sein reste assez difficile à mettre en évidence.

L'une des voies métaboliques potentiellement impliquée dans la cancérogenèse mammaire est celle du métabolisme des folates. L'une des enzymes clefs de cette voie est la MTHFR qui fait aujourd'hui office de candidat idéal à l'étude de l'effet d'un polymorphisme génétique associé avec un risque accru de développer une pathologie cancéreuse. En effet, la MTHFR est impliquée dans la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN. De par ces fonctions multiples, on peut aisément concevoir le fait que de nombreuses recherches ont été orientées dans ce sens. Néanmoins, les résultats rapportés concernant cette association sont assez contradictoires. Dans ce sens, pour mieux préciser cet effet, nous avons mené une méta-analyse basée sur la méthodologie PRISMA pour évaluer le risque des polymorphismes les plus communs du gène *MTHFR* sur la survenue du cancer du sein.

Notre méta-analyse pour le variant C677T qui a regroupé 38 études et a porté sur 11360 patientes et 13177 témoins a mis évidence plusieurs associations très significatives selon le modèle allélique ( $p = 0,0001$ ), récessif ( $p = 0,0001$ ), TT vs. CC ( $p = 0,0002$ ) et TT vs. CT ( $p = 0,0001$ ). Ces observations suggèrent que l'allèle T, récessif, supposé délétère, constitue un facteur de risque probable dans la survenue du cancer du sein chez les femmes qui en sont porteuses : celle avec un génotype TT et à un moindre degré CT. Pour le variant A1298C, notre méta-analyse qui a inclus 30 études regroupant 8193 patientes et 8768 témoins, a des résultats similaires ont été observés avec des associations significatives pour le modèle allélique ( $p = 0,0032$ ), récessif ( $p = 0,0067$ ), CC vs. AA ( $p = 0,0088$ ), suggérant là aussi que l'allèle récessif C constitue aussi un facteur de risque pour les femmes de génotype AC et à un moindre degré CC. Les résultats obtenus permettent de conclure que les deux polymorphismes examinés sont corrélés au risque de développer un cancer du sein. Toutefois, cette association paraît plus marquée pour le C677T que pour le A1298C. Aussi, l'effet du variant C677T semble être plus prononcé chez les femmes asiatiques que chez les caucasiennes, alors que l'effet du variant A1298C paraît plus prononcé dans les ethnies dites « mixtes ». La présence des allèles récessifs, supposés délétères, chez les homozygotes (TT-C677T et CC-A1298C) et à moindre degré chez les homozygotes (CT-677T et AC-A1298C) semble perturber le métabolisme des folates. Les résultats de notre méta-analyse s'étendent à d'autres antérieurs qui indique que les variants alléliques C677T et A1298C, susceptibles d'altérer le fonction de l'enzyme MTHFR, semblent contribuer à augmenter le risque de survenue du cancer du sein.

L'influence des variants C677T et A1298C du gène *MTHFR* sur la cancérogenèse mammaire semble très plausible. Ces variants étudiés comme facteur de risque potentiel de cette pathologie cancéreuse sont des éléments qui, pour la plupart, sont considérés à l'heure actuelle comme des cofacteurs présents également chez les femmes saines plutôt que de possibles acteurs spécifiques d'un processus oncogénétique. Les deux polymorphismes étudiés seraient probablement capables d'induire des dommages relativement mineurs contribuant à la survenue d'altérations génétiques transformantes, mais les effets de ces variants alléliques peuvent être augmentés par la présence d'autres cofacteurs génétiques (autres mutations ou polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme des folates) ou environnementaux (une carence en folate). Les connaissances dans ce domaine sont encore lacunaires et nécessitent d'être approfondies par des études qui tiennent compte des facteurs nutritionnels (apport en folates), environnementaux et génétiques qui interfèrent avec ce métabolisme.

À la lumière de ce travail de recherche, des perspectives d'avenir peuvent être proposées :

- La réalisation d'une étude épidémiologique multicentrique à l'échelle nationale pour mieux préciser les spécificités locales de la population algérienne par rapport aux facteurs de risque impliqués dans la survenue des cancers du sein. La précision de l'impact des facteurs de risque modifiables permet de mieux orienter une politique de prévention.
- La réalisation d'une étude cas-témoins en Algérie avec une très grande cohorte pour préciser la distribution, ainsi que l'effet des polymorphismes C677T et A1298C du gène *MTHFR* dans la survenue du cancer du sein sur la population algérienne. Certes, des études antérieures éparpillées dans les quatre coins du pays ont été menées pour préciser cette corrélation. Néanmoins, la taille relativement faible des populations étudiées et de ce fait la puissance statistique insuffisante pour mettre en évidence des effets modestes, ce qui fait que les résultats obtenus ne sont que préliminaires et ne peuvent être généralisés.
- Mettre en place, en collaboration avec les laboratoires de biologie moléculaire du pays (un réseau thématique de recherche), une banque de données concernant les polymorphismes C677T et A1298C de la *MTHFR* pour les patients avec diverses pathologies, et témoins sains. Ces données nous permettront d'avoir une idée sur la constitution génétique de la population algérienne par rapport à ces variants, et serviront de points de départ pour la réalisation d'autres études. Cette approche pourrait être généralisée à d'autres gènes potentiellement intéressants en pathologies humaines.
- Il est nécessaire dans toute étude cas témoins futures menées sur les polymorphismes de la *MTHFR* de préciser le statut du métabolisme des folates en interaction avec des facteurs environnementaux, essentiellement le régime nutritionnel conditionné par les disparités socio-économiques.
- Aujourd'hui, près de 5% (et peut être plus) de cancers sont liés à une prédisposition génétique par la présence d'altérations génétiques constitutionnelles. Identifier les personnes porteuses d'altérations génétiques constitutionnelles prédisposantes aux cancers en général permet de proposer une prise en charge adaptée, plus pertinente et plus efficace.

# Références bibliographiques

1. Akilzhanova, A., Nurkina, Z., Momynaliev, K., Ramanculov, E., Zhumadilov, Z., Rakhypbekov, T., ... & Takamura, N. (2013). Genetic profile and determinants of homocysteine levels in Kazakhstan patients with breast cancer. *Anticancer research*, 33(9), 4049-4059.
2. Aloulou, S., Mahfoudi, A. E., Omrani, A. E., & Khouchani, M. (2015). Facteurs liés au diagnostic tardif du cancer du sein: expérience du CHU Mohammed VI Marrakech. *Pan African Medical Journal*, 21(1).
3. Awwad, N., Yousef, A. M., Abuhaliema, A., Abdalla, I., & Yousef, M. (2015). Relationship between genetic polymorphisms in MTHFR (C677T, A1298C and their haplotypes) and the incidence of breast cancer among Jordanian females-case-control study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(12), 5007-5011.
4. Baldi, I., Bard, D., Barouki, R., Benhamou, S., Benichou, J., Bernier, M. O., ... & Rondet-Grellier, C. (2008). Cancer and environment-collective expertise; Cancer et environnement-Expertise collective.
5. Bentley, A. R., Raiszadeh, F., Stover, P. J., Hunter, D. J., Hankinson, S. E., & Cassano, P. A. (2010). No association between cSHMT genotypes and the risk of breast cancer in the Nurses' Health Study. *European journal of clinical nutrition*, 64(1), 108-110.
6. Berghmans, T., Grigoriu, B., Giroux-Leprieur, E., & Revel, M. P. (2019). La classification TNM en pratique. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 11(3), 218-225.
7. Berrada, N., & André, F. (2010). Traitements médicaux guidés par la biologie en pathologie mammaire. *Oncologie*, 12(4).
8. Bicar, A. (2018). *Le cancer du sein chez la jeune femme et sa prise en charge* (Doctoral dissertation).
9. Borenstein, M. (2022). Comprehensive meta-analysis software. *Systematic reviews in health research: meta-analysis in context*, 535-548.
10. Bouchbika 1, Z., Serhier 2, Z., Sahraoui 3, S., Bennani-Othmani 4, M., & Benider 3, A. (2012). Stade du cancer du sein lors du diagnostic: impact des campagnes de sensibilisation. *Pratiques et organisation des soins*, 43(4), 269-275.
11. Brémond, A. (2005). Maladies du sein. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 34(5), 511.
12. Calderón-Garcidueñas, A. L., Cerda-Flores, R. M., Castruita-Ávila, A. L., González-Guerrero, J. F., & Barrera-Saldaña, H. A. (2018). SNP C677T del gen metilentetrahydrofoloreductasa y cáncer de mama en mujeres mexicanas. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 55(6), 720-724.
13. Çam, R., Eroglu, A., Egin, Y., & Akar, N. (2009). Dihydrofolate reductase (DHFR) 19-bp intron-1 deletion and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphisms in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 115, 431-432.
14. Campbell, I. G., Baxter, S. W., Eccles, D. M., & Choong, D. Y. (2002). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and susceptibility to breast cancer. *Breast cancer research*, 4(6), 1-4.
15. Casoli, V., & Vacher, C. (2022, November). Embryologie et anatomie du thorax et du sein. In *Annales de Chirurgie Plastique Esthétique* (Vol. 67, No. 5-6, pp. 278-290). Elsevier Masson.

16. Chopier, J., Jalaguier-Coudray, A., & Thomassin-Naggara, I. (2014). Variations du sein normal. Aspects mammographiques et échographiques. *Feuillets de Radiologie*, 54(4), 211-228.
17. Chou, Y. C., Wu, M. H., Yu, J. C., Lee, M. S., Yang, T., Shih, H. L., ... & Sun, C. A. (2006). Genetic polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene, plasma folate levels and breast cancer susceptibility: a case-control study in Taiwan. *Carcinogenesis*, 27(11), 2295-2300.
18. Classe, J. M. (2016). *Cancer du sein: dépistage et prise en charge*. Elsevier Masson.
19. Cordina-Duverger, E. (2015). *Facteurs de risques hormonaux et anthropométriques dans le cancer du sein de la femme: Étude CECILE* (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
20. Dandamudi, A., Tommie, J., Nommsen-Rivers, L., & Couch, S. (2018). Dietary patterns and breast cancer risk: a systematic review. *Anticancer Research*, 38(6), 3209-3222.
21. Dumont, M., Weber-Lassalle, N., Joly-Beauparlant, C., Ernst, C., Droit, A., Feng, B. J., ... & Simard, J. (2022). Uncovering the contribution of moderate-penetrance susceptibility genes to breast cancer by whole-exome sequencing and targeted enrichment sequencing of candidate genes in women of European ancestry. *Cancers*, 14(14), 3363.
22. Duparc, F., Dupont, S., & Montaudon, M. (2022). *Manuel d'anatomie descriptive, fonctionnelle et clinique*. Elsevier Health Sciences.
23. Eburdery, H., El Maghrabi, H., & André, A. (2012). Anatomie du sein. In *Chirurgie Plastique et Reconstructive du Sein* (pp. 9-14). Elsevier Masson.
24. Elies, A., Salakos, E., & Rouzier, R. (2019). Désir de grossesse et cancer du sein. *Bulletin du Cancer*, 106(12), S53-S59.
25. Ergul, E., Sazci, A., Utkan, Z., & Canturk, N. Z. (2003). Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer. *Tumor Biology*, 24(6), 286-290.
26. Ericson, U., Sonestedt, E., Ivarsson, M. I., Gullberg, B., Carlson, J., Olsson, H., & Wirfalt, E. (2009). Folate intake, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms, and breast cancer risk in women from the Malmo Diet and Cancer cohort. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 18(4), 1101-1110.
27. Espié, M., Hamy, A. S., Eskenazy, S., Cuvier, C., & Giacchetti, S. (2012). Épidémiologie du cancer du sein. *EMC-Gynécologie*, 7(4), 1-17.
28. Forouzanfar, M. H., Foreman, K. J., Delossantos, A. M., Lozano, R., Lopez, A. D., Murray, C. J., & Naghavi, M. (2011). Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *The lancet*, 378(9801), 1461-1484.
29. Forsti A, Angelini S, Festa F, Sanyal S, Zhang Z, Grzybowska E, Pamula J, Pekala W, Zientek H, Hemminki K, Kumar R. (2004). Single nucleotide polymorphisms in breast cancer. *Oncol Rep. Apr 1;11(4):917-922*.
30. Frikha, N., & Chlif, M. (2021). Un aperçu des facteurs de risque du cancer du sein. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 205(5), 519-527.
31. Galant, C., Berlière, M., Leconte, I., & Marbaix, E. (2010). Nouveautés dans les facteurs histopronostiques des cancers du sein. *Imagerie de la Femme*, 20(1), 9-17.

32. Gligorov, J., Bachelot, T., Pierga, J. Y., Antoine, E. C., Balleyguier, C., Barranger, E., ... & Delaloge, S. (2020). COVID-19 and people followed for breast cancer: French guidelines for clinical practice of Nice-St Paul de Vence, in collaboration with the Collège Nationale des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF), the Société d'Imagerie de la Femme (SIFEM), the Société Française de Chirurgie Oncologique (SFCO), the Société Française de Sénologie et Pathologie Mammaire (SFSPM) and the French Breast Cancer Intergroup-UNICANCER (UCBG). *Bull Cancer*, 528-537.
33. Gompel, A. (2019). Hormones et cancers du sein. *La Presse Médicale*, 48(10), 1085-1091.
34. Gremmo-Féger, G. (2015). Anatomie et physiologie de la lactation humaine. *Anatomy and physiology of human lactation. Dossier l'allaitement. La Lettre du gynécologue*, 399.
35. He, J. M., Pu, Y. D., Wu, Y. J., Qin, R., Zhang, Q. J., Sun, Y. S., ... & Chen, L. P. (2014). Association between dietary intake of folate and MTHFR and MTR genotype with risk of breast cancer. *Genet Mol Res*, 13(4), 8925-31.
36. Hedayatizadeh-Omran A, Alizadeh-Navaei R, Toghiani-Hulari F, Amjadi O (2017) Association between MTHFR (C677T) gene polymorphism with breast cancer in Northern Iran. *WCRJ* 4:e876
37. Hekim, N., Ergen, A., Yaylım, İ., Yılmaz, H., Zeybek, Ü., Öztürk, O., & İsbir, T. (2007). No association between methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer. *Cell biochemistry and function*, 25(1), 115-117.
38. Henriquez-Hernandez, L. A., Murias-Rosales, A., Hernandez Gonzalez, A., Cabrera De Leon, A., Diaz-Chico, B. N., Mori De Santiago, M., & Fernandez Perez, L. (2009). Gene polymorphisms in TYMS, MTHFR, p53 and MDR1 as risk factors for breast cancer: a case-control study. *Oncology reports*, 22(6), 1425-1433.
39. Hesari, A., Maleksabet, A., Tirkani, A. N., Ghazizadeh, H., Iranifar, E., Mohagheg, F., ... & Ghasemi, F. (2019). Evaluation of the two polymorphisms rs1801133 in MTHFR and rs10811661 in CDKN2A/B in breast cancer. *Journal of cellular biochemistry*, 120(2), 2090-2097.
40. Hosseini, M., Houshmand, M., & Ebrahimi, A. (2011). MTHFR polymorphisms and breast cancer risk. *Archives of medical science*, 7(1), 134-137.
41. Hue-Beauvais, C., Koch, E., Galio, L., Chavatte-Palmer, P., Péchoux, C., Aujean, E., ... & Charlier, M. (2012, October). Effet de l'adiposité sur le développement de la glande mammaire. In 2. *Congrès de Médecine périconceptionnelle-In utero* (p. 6).
42. Inoue, M., Robien, K., Wang, R., Van Den Berg, D. J., Koh, W. P., & Yu, M. C. (2008). Green tea intake, MTHFR/TYMS genotype and breast cancer risk: the Singapore Chinese Health Study. *Carcinogenesis*, 29(10), 1967-1972.
43. Izmirli, M. (2013). A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk. *Molecular biology reports*, 40, 625-637.
44. Jacquesson, L., Belaisch-Allart, J., & Ayel, J. P. (2010). L'induction de l'ovulation. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 39(8), S67-S74.

45. Justenhoven, C., Hamann, U., Pierl, C. B., Rabstein, S., Pesch, B., Harth, V., ... & Brauch, H. (2005). One-carbon metabolism and breast cancer risk: no association of MTHFR, MTR, and TYMS polymorphisms in the GENICA study from Germany. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14(12), 3015-3018.
46. Kalemi, T. G., Lambropoulos, A. F., Gueorguiev, M., Chrisafi, S., Papazisis, K. T., & Kotsis, A. (2005). The association of p53 mutations and p53 codon 72, Her 2 codon 655 and MTHFR C677T polymorphisms with breast cancer in Northern Greece. *Cancer letters*, 222(1), 57-65.
47. Kalyankumar, C. H., & Jamil, K. (2006). Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and A1298C polymorphisms and breast cancer in South Indian population. *Int J Cancer Res*, 2(2), 143-51.
48. Kamus, É., Verpillat, P., Fourquet, T., & Puech, P. (2019). Anomalie mammaire clinique chez l'enfant et l'adolescent: physiologique ou pathologique?. *Imagerie de la Femme*, 29(3), 115-127.
49. Kan, X. X., Zou, T. N., Wu, X. Y., & Wang, X. (2007). Association between MTHFR genotype polymorphism and breast cancer susceptibility in human population from Yunnan. *Cancer Res Prev Treat*, 34(9), 716-718.
50. Kashyap, D., Pal, D., Sharma, R., Garg, V. K., Goel, N., Koundal, D., ... & Belay, A. (2022). Global increase in breast cancer incidence: risk factors and preventive measures. *BioMed research international*, 2022.
51. Kaya EF, Karakus N, Ulusoy AN, Özaslan C, Kara N (2016) Association of the MTHFR gene C677T polymorphism with breast cancer in a Turkish population. *Oncol Res Treat* 39:534–538
52. Khalil, A. I., Bendahhou, K., Saile, R., Afghar, S., Mestaghanmi, H., & Benider, A. (2016). Antécédent familial et âge de survenue du cancer du sein chez les patientes triples-négatives ou non triples-négatives prises en charge au centre Mohammed VI pour le traitement des cancers. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 64, S150.
53. Kotsopoulos, J., Zhang, W. W., Zhang, S., McCreedy, D., Trudeau, M., Zhang, P., ... & Narod, S. A. (2008). Polymorphisms in folate metabolizing enzymes and transport proteins and the risk of breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 112, 585-593.
54. Lajin, B., Alhaj Sakur, A., Ghabreau, L., & Alachkar, A. (2012). Association of polymorphisms in one-carbon metabolizing genes with breast cancer risk in Syrian women. *Tumor Biology*, 33, 1133-1139.
55. Lakhani, S. R., Ellis, I. O., Schnitt, S., Tan, P. H., & van de Vijver, M. (2012). WHO Classification of Tumours of the Breast.
56. Lal, H., Sharma, B., Sambyal, V., Guleria, K., Singh, NR, Uppal, MS, ... & Sudan, M. (2022). Association du polymorphisme MTHFR 677C> T avec le risque de cancer du sein : étude cas-témoin et méta-analyse. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 18(6), 1451-1460.
57. Lamy, P. J., Romieu, G., Rouanet, P., & Jacot, W. (2010). Classification moléculaire des cancers du sein: utilité en clinique. *Médecine nucléaire*, 34(1), 32-43.

58. Langsenlehner, T., Renner, W., Yazdani-Biuki, B., & Langsenlehner, U. (2008). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*, 107, 459-460.
59. Lansac, J., & Ouldamer, L. (2018). Pathologie bénigne des seins. *Gynécologie pour le praticien*, 261.
60. Lauby-Secretan, B., Dossus, L., Marant-Micallef, C., & His, M. (2019). Obésité et cancer. *Bulletin du cancer*, 106(7-8), 635-646.
61. Lavoue, V., Fritel, X., Antoine, M., Beltjens, F., Bendifallah, S., Boisserie-Lacroix, M., ... & Daraï, E. (2015). Tumeurs bénignes du sein: recommandations pour la pratique clinique du Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF)—Texte court. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 44(10), 1049-1064.
62. Le Corgne, A. (2016). *Rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge du cancer du sein après chirurgie mammaire* (Doctoral dissertation).
63. Le Marchand, L., Haiman, C. A., Wilkens, L. R., Kolonel, L. N., & Henderson, B. E. (2004). MTHFR polymorphisms, diet, HRT, and breast cancer risk: the multiethnic cohort study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13(12), 2071-2077.
64. Lee, S. A., Kang, D., Nishio, H., Lee, M. J., Kim, D. H., Han, W., ... & Noh, D. Y. (2004). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, diet, and breast cancer in Korean women. *Experimental & molecular medicine*, 36(2), 116-121.
65. Liu Y, Zhou L-S, Xu X-M, Deng L-Q, Xiao Q-K (2013) Association of dietary intake of folate, vitamin B 6 and B 12 and MTHFR genotype with breast cancer risk Asian *Pacific. J Cancer Prev* 14:5189–5192
66. López-Cortés, A., Echeverría, C., Oña-Cisneros, F., Sánchez, M. E., Herrera, C., Cabrera-Andrade, A., ... & Paz-y-Miño, C. (2015). Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high-altitude Ecuadorian mestizo population. *Tumor Biology*, 36, 6451-6461.
67. Lu, Q., Jiang, K., Li, Q., Ji, Y. J., Chen, W. L., & Xue, X. H. (2015). Polymorphisms in the MTHFR gene are associated with breast cancer risk and prognosis in a Chinese population. *Tumor Biology*, 36, 3757-3762.
68. Ma, E., Iwasaki, M., Junko, I., Hamada, G. S., Nishimoto, I. N., Carvalho, S. M. T., ... & Tsugane, S. (2009). Dietary intake of folate, vitamin B6, and vitamin B12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case-control study in Brazilian women. *BMC cancer*, 9(1), 1-10.
69. Ma, E., Iwasaki, M., Kobayashi, M., Kasuga, Y., Yokoyama, S., Onuma, H., ... & Tsugane, S. (2009). Dietary intake of folate, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, genetic polymorphism of related enzymes, and risk of breast cancer: a case-control study in Japan. *Nutrition and cancer*, 61(4), 447-456.
70. Macis, D., Maisonneuve, P., Johansson, H., Bonanni, B., Botteri, E., Iodice, S., ... & Decensi, A. (2007). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and breast cancer risk: a nested-case-control study and a pooled meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*, 106, 263-271.

71. Maruti, S. S., Ulrich, C. M., Jupe, E. R., & White, E. (2009). MTHFR C677T and postmenopausal breast cancer risk by intakes of one-carbon metabolism nutrients: a nested case-control study. *Breast Cancer Research*, 11(6), 1-9.
72. Merviel, P., Jouvance, O., Naepels, P., Fauvet, R., Cabry-Goubet, R., Gagneur, O., & Gondry, J. (2011). Existe-t-il encore des facteurs de risque de survenue d'un cancer du sein?. *Gynécologie obstétrique & fertilité*, 39(9), 486-490.
73. Mohammadzadeh, G., Karimi, M., Bazayar, M., & Hosseini, S. M. (2016). Lack of association between MTHFR C677T polymorphism and breast cancer risk in Ahvaz, west south-Iran. *Advanced biomedical research*, 5.
74. Moniez, S., Pienkowski, C., & Cartault, A. (2023). Puberté normale et pathologique. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*.
75. Morère, J. F., Aapro, M. S., Penault-Llorca, F., & Salmon, R. (2007). *Le cancer du sein*. Springer Paris.
76. Niu, Z., Zhao, H., & Hou, X. (2017). Association of MTHFR, MTRR and MTR polymorphisms with breast cancer risk: a study in Chinese females. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 10(6), 7059-7066.
77. Nkondjock, A., & Ghadirian, P. (2005). Facteurs de risque du cancer du sein. *médecine/sciences*, 21(2), 175-180.
78. Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., ... & Moher, D. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *International Journal of Surgery*, 88, 105906.
79. Papandreou, C. N., Doxani, C., Zdoukopoulos, N., Vlachostergios, P. J., Hatzidaki, E., Bakalos, G., ... & Zintzaras, E. (2012). Evidence of association between methylenetetrahydrofolate reductase gene and susceptibility to breast cancer: a candidate-gene association study in a South-eastern European population. *DNA and cell biology*, 31(2), 193-198.
80. Pooja, S., Carlus, J., Sekhar, D., Francis, A., Gupta, N., Konwar, R., ... & Rajender, S. (2015). MTHFR 677C> T polymorphism and the risk of breast cancer: evidence from an original study and pooled data for 28031 cases and 31880 controls. *PLoS One*, 10(3), e0120654.
81. Prasad, V. V., & Wilkhoo, H. (2011). Association of the functional polymorphism C677T in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with colorectal, thyroid, breast, ovarian, and cervical cancers. *Oncology Research and Treatment*, 34(8-9), 422-426.
82. Raghubeer, S., & Matsha, T. E. (2021). Methylenetetrahydrofolate (MTHFR), the one-carbon cycle, and cardiovascular risks. *Nutrients*, 13(12), 4562.
83. Rahimi, Z., Bozorgi, M., Rahimi, Z., Shakiba, E., Yari, K., Jalilian, N., & Vaisi-Raygani, A. (2019). MTHFR C677T polymorphism is associated with the risk of breast cancer among Kurdish population from western Iran. *International Journal of Cancer Management*, 12(3).
84. Raiah, M., Terki, K., Benrabah, L., Ammour, F., Lounis, A., & Fouatih, Z. A. (2022). Épidémiologie des cancers en Algérie, 1996–2019. *Bulletin du Cancer*, 109(9), 909-915.

85. Reljic, A., Simundic, A. M., Topic, E., Nikolac, N., Justinic, D., & Stefanovic, M. (2007). The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and cancer risk: the Croatian case-control study. *Clinical biochemistry*, 40(13-14), 981-985.
86. Rezende, L. M., Marson, F. A. L., Lima, C. S. P., & Bertuzzo, C. S. (2017). Can MTHFR C677T and A1298C polymorphisms alter the risk and severity of sporadic breast cancer in Brazilian women?. *Clinical breast cancer*, 17(4), e199-e208.
87. Riboli, E., Hunt, K. J., Slimani, N., Ferrari, P., Norat, T., Fahey, M., ... & Saracci, R. (2002). European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection. *Public health nutrition*, 5(6b), 1113-1124.
88. Roberts, E., Howell, S., & Evans, G. (2023). Polygenic risk scores and breast cancer risk prediction. *The Breast*.
89. Robson, M. (2023). Testing for Inherited Susceptibility to Breast Cancer. *Hematology/Oncology Clinics*, 37(1), 17-31.
90. Rossi, C., Cicalini, I., Cufaro, M. C., Consalvo, A., Upadhyaya, P., Sala, G., ... & De Laurenzi, V. (2022). Breast cancer in the era of integrating “Omics” approaches. *Oncogenesis*, 11(1), 17.
91. Rubin, P., & Hansen, J. T. (2013). *TNM staging atlas with oncoanatomy*. Lippincott Williams & Wilkins.
92. Sancho-Garnier, H., & Colonna, M. (2019). Épidémiologie des cancers du sein. *La Presse Médicale*, 48(10), 1076-1084.
93. Sarkis-Onofre, R., Catalá-López, F., Aromataris, E., & Lockwood, C. (2021). How to properly use the PRISMA Statement. *Systematic Reviews*, 10(1), 1-3.
94. Sharp, L., Little, J., Schofield, A. C., Pavlidou, E., Cotton, S. C., Miedzybrodzka, Z., ... & Grubb, D. A. (2002). Folate and breast cancer: the role of polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Cancer letters*, 181(1), 65-71.
95. Sharma, J., & Krupenko, S. A. (2020). Folate pathways mediating the effects of ethanol in tumorigenesis. *Chemico-biological interactions*, 324, 109091.
96. Sicard, J., & Veron, F. (2023). Cancers du sein, actualité des stratégies thérapeutiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(624), 35-38.
97. Sjøgaard, M., Farkas, D. K., Ehrenstein, V., Jørgensen, J. O. L., Dekkers, O. M., & Sørensen, H. T. (2016). Hypothyroidism and hyperthyroidism and breast cancer risk: a nationwide cohort study. *European journal of endocrinology*, 174(4), 409-414.
98. Sokolova, A., Johnstone, K. J., McCart Reed, A. E., Simpson, P. T., & Lakhani, S. R. (2023). Hereditary breast cancer: syndromes, tumour pathology and molecular testing. *Histopathology*.
99. Song, A., Zhao, L., Li, Y., Wu, L., Li, Y., Liu, X., & Lan, S. (2016). Haplotypes of the MTHFR gene are associated with an increased risk of breast cancer in a Han Chinese population in Gansu province. *IUBMB life*, 68(7), 526-534.
100. Stevens, A., Lowe, J., & Young, B. (2004). *Anatomie pathologique*. De Boeck Supérieur.
101. Stevens, V. L., McCullough, M. L., Pavluck, A. L., Talbot, J. T., Feigelson, H. S., Thun, M. J., & Calle, E. E. (2007). Association of polymorphisms in one-carbon metabolism genes and postmenopausal breast cancer incidence. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(6), 1140-1147.

102. Townend, J., Minelli, C., Harrabi, I., Obaseki, D. O., El-Rhazi, K., Patel, J., & Burney, P. (2015). Development of an international scale of socio-economic position based on household assets. *Emerging Themes in Epidemiology*, 12, 1-11.
103. Tuano, N. K., Beesley, J., Manning, M., Shi, W., Perlaza-Jimenez, L., Malaver-Ortega, L. F., ... & Rosenbluh, J. (2023). CRISPR screens identify gene targets at breast cancer risk loci. *Genome biology*, 24(1), 1-23.
104. Veron, L., Wehrer, D., Caron, O., Balleyguier, C., & Delaloge, S. (2022). Autres approches en dépistage du cancer du sein. *Bulletin du Cancer*.
105. Wang, Y., Huo, L., Yang, C., & He, X. (2023). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer susceptibility: an updated meta-analysis. *Bioscience Reports*, 43(4), BSR20222553.
106. Wang, Z. G., Cui, W., Yang, L. F., Zhu, Y. Q., & Wei, W. H. (2014). Association of dietary intake of folate and MTHFR genotype with breast cancer risk. *Genet Mol Res*, 13(3), 5446-5545.
107. Waseem, M., Hussain, S. R., Kumar, S., Serajuddin, M., Mahdi, F., Sonkar, S. K., ... & Ahmad, M. K. (2016). Association of MTHFR (C677T) gene polymorphism with breast cancer in North India. *Biomarkers in cancer*, 8, BIC-S40446.
108. Weiner, A. S., Boyarskih, U. A., Voronina, E. N., Selezneva, I. A., Sinkina, T. V., Lazarev, A. F., ... & Filipenko, M. L. (2010). Polymorphic variants of folate metabolizing genes (C677T and A1298C MTHFR and C1420T SHMT1 and G1958A MTHFD) are not associated with the risk of breast cancer in the West Siberian Region of Russia. *Molecular biology*, 44, 720-727.
109. Wu, X. Y., Ni, J., Xu, W. J., Zhou, T., & Wang, X. (2012). Interactions between MTHFR C677T-A1298C variants and folic acid deficiency affect breast cancer risk in a Chinese population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(5), 2199-2206.
110. Xu, X., Gammon, M. D., Zhang, H., Wetmur, J. G., Rao, M., Teitelbaum, S. L., ... & Chen, J. (2007). Polymorphisms of one-carbon-metabolizing genes and risk of breast cancer in a population-based study. *Carcinogenesis*, 28(7), 1504-1509.
111. Zara-Lopes, T., Gimenez-Martins, A. P., Nascimento-Filho, C. H., Castanhole-Nunes, M. M., Galbiatti-Dias, A. L., Padovani-Júnior, J. A., ... & Goloni-Bertollo, E. M. (2016). Role of MTHFR C677T and MTR A2756G polymorphisms in thyroid and breast cancer development. *Genet Mol Res*, 15(2), 11.
112. Zhang, H., Ahearn, T. U., Lecarpentier, J., Barnes, D., Beesley, J., Qi, G., ... & Lukomska, A. (2020). Genome-wide association study identifies 32 novel breast cancer susceptibility loci from overall and subtype-specific analyses. *Nature genetics*, 52(6), 572-581.
113. Zhang, J., Zhang, L., & Li, G. (2016). Association between MTHFR gene 1298A> C polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis based on 38 case-control studies with 40,985 subjects. *World Journal of Surgical Oncology*, 14(1), 1-11.
114. Zhang, X. F., Liu, T., Li, Y., & Li, S. (2015). Association between MTHFR 677C/T and 1298A/C gene polymorphisms and breast cancer risk. *Genetics and Molecular Research*, 14(4).

# Annexes



# PRISMA 2020 Checklist

| Section and Topic             | Item # | Checklist item   | Location where item is reported |
|-------------------------------|--------|--|---------------------------------|
| <b>TITLE</b>                  |        |  |                                 |
| Title                         | 1      | Identify the report as a systematic review.  |                                 |
| <b>ABSTRACT</b>               |        |  |                                 |
| Abstract                      | 2      | See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.   |                                 |
| <b>INTRODUCTION</b>           |        |  |                                 |
| Rationale                     | 3      | Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.  |                                 |
| Objectives                    | 4      | Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.   |                                 |
| <b>METHODS</b>                |        |  |                                 |
| Eligibility criteria          | 5      | Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.  |                                 |
| Information sources           | 6      | Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.  |                                 |
| Search strategy               | 7      | Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.   |                                 |
| Selection process             | 8      | Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.                     |                                 |
| Data collection process       | 9      | Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process. |                                 |
| Data items                    | 10a    | List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.                        |                                 |
|                               | 10b    | List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.   |                                 |
| Study risk of bias assessment | 11     | Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.                                    |                                 |
| Effect measures               | 12     | Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.  |                                 |
| Synthesis methods             | 13a    | Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).   |                                 |
|                               | 13b    | Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.  |                                 |
|                               | 13c    | Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.   |                                 |
|                               | 13d    | Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.  |                                 |
|                               | 13e    | Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).   |                                 |
|                               | 13f    | Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.   |                                 |
| Reporting bias assessment     | 14     | Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).  |                                 |
| Certainty assessment          | 15     | Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.  |                                 |



# PRISMA 2020 Checklist

| Section and Topic                              | Item # | Checklist item   | Location where item is reported |
|--|--------|--|---------------------------------|
| <b>RESULTS</b>                                 |        |  |                                 |
| Study selection                                | 16a    | Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.   |                                 |
|  | 16b    | Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.  |                                 |
| Study characteristics                          | 17     | Cite each included study and present its characteristics.  |                                 |
| Risk of bias in studies                        | 18     | Present assessments of risk of bias for each included study.   |                                 |
| Results of individual studies                  | 19     | For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.   |                                 |
| Results of syntheses                           | 20a    | For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.   |                                 |
|  | 20b    | Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect. |                                 |
|  | 20c    | Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.   |                                 |
|  | 20d    | Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.   |                                 |
| Reporting biases                               | 21     | Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.  |                                 |
| Certainty of evidence                          | 22     | Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.  |                                 |
| <b>DISCUSSION</b>                              |        |  |                                 |
| Discussion                                     | 23a    | Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.  |                                 |
|  | 23b    | Discuss any limitations of the evidence included in the review.  |                                 |
|  | 23c    | Discuss any limitations of the review processes used.  |                                 |
|  | 23d    | Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.   |                                 |
| <b>OTHER INFORMATION</b>                       |        |  |                                 |
| Registration and protocol                      | 24a    | Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.   |                                 |
|  | 24b    | Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.   |                                 |
|  | 24c    | Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.  |                                 |
| Support  | 25     | Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.  |                                 |
| Competing interests                            | 26     | Declare any competing interests of review authors.   |                                 |
| Availability of data, code and other materials | 27     | Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.   |                                 |

From: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71

For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>

# Résumés

## **Study of genetic and environmental risk factors involved in the development of breast cancer: prospecting by meta-analysis the effect of polymorphisms C677T and A1298C gene *MTHFR*.**

**Background:** Female breast cancer is a major global health problem, with particularly high morbidity, mortality and economic and social costs. In Algeria, it is the leading cancer and the leading cause of death from cancer, characterized by the predominance of locally advanced forms and by its appearance at a young age (25% of cases before the age of 40). Its incidence continues to rise throughout the country.

**Objectives:** Our main objective was to conduct a systematic meta-analytical study of the involvement of the most common polymorphisms of the *MTHFR* (methylene tetrahydrofolate reductase) gene (OMIM: 607093), C677T (*rs1801133*) and A1298C (*rs1801131*) in the risk of breast cancer.

**Methodology:** For our meta-analysis, we adopted the methodology described in the PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis) guidelines.

**Results:** Our meta-analysis for the C677T variant, which included 38 studies and 11360 patients and 13177 controls, revealed highly significant associations according to allelic ( $p = 0.0001$ ), recessive ( $p = 0.0001$ ), TT vs. CC ( $p = 0.0002$ ) and TT vs. CT ( $p = 0.0001$ ), suggesting that the recessive T allele, thought to be deleterious, is a likely risk factor in the occurrence of breast cancer in individuals who carry it: TT genotype and to a lesser degree CT. For the A1298C variant, our meta-analysis included 30 studies involving 8193 patients and 8768 controls. Similar results were observed, with significant associations for the allelic ( $p = 0.0032$ ), recessive ( $p = 0.0067$ ) and CC vs. AA ( $p = 0.0088$ ) models, again suggesting that the recessive C allele is a risk factor for women with the AC genotype and to a lesser degree CC. Our results conclude that the two polymorphisms surveyed are correlated with the risk of developing breast cancer. Nevertheless, this association appears more marked for C677T than for A1298C. Also, the effect of the C677T variant appears to be more pronounced in Asian women than in Caucasians, while the effect of the A1298C variant appears to be more pronounced in “ mixed ” ethnicity. The presence of the supposedly deleterious recessive alleles in homozygotes (TT-C677T and CC-A1298C) and, to a lesser degree, in homozygotes (CT-677T and AC-A1298C) seems to disrupt folate metabolism, which is why the A1298C variant is so important.

**Conclusion:** Several studies have demonstrated that folate deficiency can cause DNA damage leading to genetic instability and increased risk of many cancers, including breast cancer. The allelic variants C677T and A1298C likely to alter the function of the *MTHFR* enzyme appear to contribute to an increased risk of aberrations in DNA synthesis, repair and methylation, which are implicated in carcinogenesis. It would be very interesting to study the effect of polymorphisms in the *MTHFR* gene, taking into account the various genetic and environmental parameters, in order to gain a better understanding of folate-related breast carcinogenesis and disturbances in the enzymes that metabolize them.

**Keywords:** breast cancer, genetic polymorphism, *MTHFR*, meta-analysis.

## دراسة عوامل الخطر الوراثية والبيئية المشاركة في تطور سرطان الثدي: البحث عن طريق التحليل البعدي لتأثير تعدد الأشكال C677T و A1298C لجين *MTHFR*.

### الملخص:

**السياق:** يمثل سرطان الثدي عند النساء مشكلة صحية عالمية كبرى، وهو ثقل بشكل خاص بسبب المرض والوفيات وتكلفته الاقتصادية والاجتماعية. في الجزائر، يمثل السرطان الأول والسبب الأول للوفاة بالسرطان، ويتميز بغلبة الأشكال المتقدمة محلياً وبظهوره في سن مبكرة (25% من الحالات قبل 40 عاماً). يستمر تزايدده في جميع أنحاء البلاد.

**الأهداف:** لقد حددنا هدفنا الرئيسي و هو التنقيب عن طريق إجراء دراسة منهجية من نوع التحليل البعدي لإشراك الأشكال المتعددة الأكثر شيوعاً لجين *MTHFR* (اختزال رباعي هيدروفولات الميثيلين) (OMIM: 607093)، C677T (*rs1801133*) و A1298C (*rs1801131*) في خطر الإصابة بسرطان الثدي.

**المنهجية:** اعتمدنا في تحليلنا البعدي المنهجية الموضحة في توصيات PRISMA (عصر التقارير المفضل للمراجعة المنهجية والتحليل البعدي).

**النتائج:** كشف تحليلنا البعدي لمتغير C677T، الذي جمع 38 دراسة واشتمل على 11360 مريضاً و 13177 عنصر شاهد، عن ارتباطات مهمة جداً وفقاً للنموذج الأليلي ( $p = 0.0001$ )، المتنتحية ( $p = 0.0001$ )، TT مقابل CC ( $p=0.0002$ ) و TT مقابل CT ( $p = 0.0001$ )، مما يشير إلى أن أليل T، المتنتحي، المفترض أنه ضار، يشكل عامل خطر محتملاً في حدوث سرطان الثدي لدى الأفراد الحاملين له: النمط الجيني TT وبدرجة أقل. بالنسبة لمتغير A1298C، تضمن تحليلنا البعدي 30 دراسة شملت 8193 مريضاً و 8768 عنصر شاهد، وقد لوحظت نتائج مماثلة مع ارتباطات مهمة للأليل ( $p=0.0032$ )، نموذج متنتحي ( $p=0.0067$ )، DC مقابل AA ( $p = 0.0088$ )، مما يشير مرة أخرى إلى أن أليل C المتنتحي يشكل عامل خطر للنساء حاملات النمط الجيني AC، وبدرجة أقل، CC. نتائجننا أوضحت أن الشكلين المتعددين اللذين تم فحصهما يرتبطان بخطر الإصابة بسرطان الثدي. ومع ذلك، يبدو أن هذا الارتباط أكثر وضوحاً بالنسبة للطراز C677T مقارنة بالطراز A1298C. أيضاً، يبدو أن تأثير متغير C677T أكثر وضوحاً في النساء الآسيويات منه في القوقازيات، بينما يبدو تأثير متغير A1298C أكثر وضوحاً فيما يسمى بالأعراق "المختلطة". يبدو أن وجود الأليلات المتنتحية، التي يُفترض أنها ضارة، في متماثل الزيجوت (-TT) (C677T و CC-A1298C) وبدرجة أقل في متماثل الزيجوت (CT-677T و AC-A1298C) يعطل استقلاب حمض الفوليك

**خاتمة:** أظهرت عدة دراسات ان نقص حمض الفولات يمكن ان يسبب اضرارا على مستوى الحمض النووي والتي تؤدي الى عدم الاستقرار الجيني وارتفاع خطر الإصابة بعدة أنواع من السرطان بما في ذلك سرطان الثدي

يبدو أن المتغيرات الأليلية C677T و A1298C القادرة على تغيير وظيفة إنزيم *MTHFR* تساهم في زيادة خطر حدوث الانحرافات في تخليق الحمض النووي وإصلاحه المتورطة في التسرطن. سيكون من المثير للاهتمام دراسة تأثير تعدد الأشكال لجين *MTHFR* من خلال مراعاة المعايير الجينية والبيئية المختلفة لفهم تسرطن الثدي المرتبط بحمض الفوليك واضطرابات الإنزيمات التي تستقلبها بشكل أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** سرطان الثدي، تعدد الأشكال الجيني، مورثه *MTHFR*، التحليل البعدي.

|  |  |
|--|--|
| Année universitaire : 2022-2023  | Présenté par : AGGOUNE Zahra et BOULKARA Samia |
| <p align="center"><b>Étude des facteurs de risque génétiques et environnementaux impliqués dans le développement du cancer du sein : prospection par méta-analyse de l'effet des polymorphismes C677T et A1298C du gène <i>MTHFR</i></b></p>   |  |
| <p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Physiologie Cellulaire et Physio-Pathologie</p>   |  |
| <p><b>Contexte :</b> le cancer du sein chez la femme représente un problème majeur de santé mondiale, il est particulièrement lourd par sa morbidité, sa mortalité et par son coût économique et social. En Algérie, il représente le premier cancer et la première cause de décès par cancer, il est caractérisé par la prédominance des formes localement avancées et par son apparition au jeune âge (25% des cas avant 40 ans). Son incidence ne cesse d'augmenter dans tout le territoire du pays.</p> <p><b>Objectifs :</b> nous nous sommes assigné comme objectif principal la prospection par la réalisation d'une étude systématique de type méta-analyse l'implication des polymorphismes les plus communs du gène <i>MTHFR</i> (Méthylène tétrahydrofolate réductase) (OMIM : 607093), C677T (<i>rs1801133</i>) et A1298C (<i>rs1801131</i>) dans le risque de survenue du cancer du sein.</p> <p><b>Méthodologie :</b> nous avons adopté pour notre méta-analyse la méthodologie décrite dans les recommandations PRISMA (Preferred Reporting Item for Systematic Review and Meta-Analysis).</p> <p><b>Résultats :</b> notre méta-analyse pour le variant C677T qui a regroupé 38 études et a porté sur 11360 patients et 13177 témoins a mis évidence des associations très significatives selon le modèle allélique (<math>p = 0,0001</math>), récessif (<math>p = 0,0001</math>), TT vs. CC (<math>p = 0,0002</math>) et TT vs. CT (<math>p = 0,0001</math>), ce qui suggère que l'allèle T, récessif, supposé délétère, constitue un facteur de risque probable dans la survenue du cancer du sein chez les individus qui en sont porteurs : génotype TT et à un moindre degré CT. Pour le variant A1298C, notre méta-analyse a inclus 30 études regroupant 8193 patients et 8768 témoins, des résultats similaires ont été observés avec des associations significatives pour le modèle allélique (<math>p = 0,0032</math>), récessif (<math>p = 0,0067</math>), CC vs. AA (<math>p = 0,0088</math>), suggérant là aussi que l'allèle récessif C constitue un facteur de risque pour les femmes de génotype AC et à un moindre degré CC. Nos résultats concluent que les deux polymorphismes prospectés sont corrélés au risque de développer un cancer du sein. Néanmoins, cette association paraît plus marquée pour le C677T que pour le A1298C. Aussi, l'effet du variant C677T semble être plus prononcé chez les femmes asiatiques que chez les caucasiennes, alors que l'effet du variant A1298C paraît plus prononcé dans les ethnies dites « mixtes ». La présence des allèles récessifs, supposés délétères, chez les homozygotes (TT-C677T et CC-A1298C) et à moindre degré chez les homozygotes (CT-677T et AC-A1298C) semble perturber le métabolisme des folates.</p> <p><b>Conclusion :</b> plusieurs études ont démontré que la carence en folate peut causer des dommages à l'ADN conduisant à l'instabilité génétique et à l'augmentation du risque de plusieurs cancers incluant le cancer du sein. Les variants alléliques C677T et A1298C susceptibles d'altérer le fonction de l'enzyme <i>MTHFR</i> semble contribuer à augmenter le risque de survenue d'aberrations dans la synthèse, la réparation et la méthylation de l'ADN, qui sont impliquées dans cancérogenèse. Il serait très intéressant d'étudier l'effet des polymorphismes du gène <i>MTHFR</i> en prenant en considération les différents paramètres génétiques et environnementaux pour mieux comprendre la cancérogenèse mammaire liés aux folates et aux perturbations des enzymes qui les métabolisent.</p> |  |
| <p><b>Mots-clefs :</b> cancer du sein, polymorphisme génétique, <i>MTHFR</i>, méta-analyse.</p>  |  |
| <p><b>Laboratoires de recherche :</b> Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université Constantine 1).</p>  |  |
| <p><b>Président du jury :</b> Pr ROUABAH Leila (PROF- UFM Constantine 1).</p>  |  |
| <p><b>Encadrant :</b> Dr REZGOUN Mohamed Larbi (MC.A - UFM Constantine 1).</p>   |  |
| <p><b>Examinateur :</b> Dr DAHMANI Dahbia Ines (MC.A - UFM Constantine 1).</p>   |  |