

Université de Montréal

**Rôle des inhibiteurs de PARP en association avec le
carboplatine dans l'inhibition des métastases dans le cancer
du sein triple négatif**

*Par
Hubert Audrey*

Programme de sciences biomédicales,

Faculté de médecine, Université de Montréal

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise (M.Sc)
en Sciences Biomédicales, option Médecine expérimentale

17 Octobre 2022

© HUBERT AUDREY, 2023

Université de Montréal

Programmes de cycles supérieurs en sciences biomédicales, Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

**Rôle des inhibiteurs de PARP en association avec le carboplatine dans
l'inhibition des métastases dans le cancer du sein triple négatif**

Présenté par

HUBERT Audrey

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Gerardo Ferbeyre
Président-rapporteur

Saima Hassan
Directrice de recherche

Jean-François Côté
Membre du jury

Résumé

Le cancer du sein triple négatif (CSTN) est un sous-type de cancer du sein très agressif et dépourvu de surexpression des récepteurs hormonaux et de HER2. Les tumeurs mutantes BRCA1 et BRCA2 constituent 15 à 20% des CSTN et récemment un groupe d'agent thérapeutique ciblé prometteur a vu le jour pour ce type de cancers. En effet, les inhibiteurs de PARP (PARPi) ont démontré une amélioration de la survie sans maladie à distance chez les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce avec mutation BRCA1/2 HER2 négatif, suggérant que les PARPis peuvent éliminer la maladie micrométastatique. Cependant, des réponses plus durables seront probablement obtenues si les PARPis sont utilisés en combinaison, comme avec un autre agent endommageant l'ADN tout comme le carboplatine. De plus, il est plausible que l'efficacité puisse être améliorée et la toxicité diminuée si un PARPi puissant comme le talazoparib est administré en utilisant une approche séquentielle. Ici, nous avons évalué l'impact des stratégies de dosage concomitantes et séquentielles dans des lignées cellulaires du CSTN et trois modèles de souris de xénogreffe orthotopique. Alors que la combinaison simultanée ou séquentielle ont inhibé les volumes tumoraux primaires de la même manière, la combinaison séquentielle a diminué la migration, l'invasion, les métastases à distance et a été associée à moins de toxicité. Par conséquent, ces combinaisons du talazoparib et du carboplatine devraient être considérées dans les futurs essais cliniques comme une approche efficace pour inhiber la maladie micrométastatique et potentiellement diminuer l'utilisation de la chimiothérapie chez ces patients.

Mots-clés : cancer du sein, cancer du sein triple-négatif, inhibiteur de PARP, chimiothérapie, carboplatine, talazoparib, métastases, toxicité, combinaison de traitements, chimiokines, migration.

Abstract

The triple-negative breast cancer (TNBC) is a very aggressive breast cancer subtype that lacks overexpression of hormone receptors and HER2. BRCA1 and BRCA2 mutant tumors constitute 15-20% of TNBC and recently, a family of promising targeted therapeutic agents has emerged for this type of cancer. Indeed, PARP inhibitors (PARPi) have been shown to improve distant disease-free survival in patients with HER2-negative BRCA1/2 mutation early breast cancer, suggesting that PARPis can eliminate micrometastatic disease. However, durable responses are likely to be obtained if PARPis are used in combination, such as with another DNA damaging agent like carboplatin. Additionally, it is plausible that efficacy may be enhanced and toxicity decreased if a potent PARPi such as talazoparib is administered using a sequential approach. Here, we evaluated the impact of the concomitant and sequential dosing strategies in TNBC cell lines and three orthotopic xenograft mouse models. While the simultaneous or sequential combination inhibited primary tumor volumes to a similar extent, the sequential combination decreased migration, invasion, distant metastasis, and was associated with less toxicity. Therefore, the sequential combination of talazoparib and carboplatin should be considered in future clinical trials as an effective approach to inhibit micrometastatic disease and potentially decrease the use of chemotherapy in these patients.

Keywords: breast cancer, triple-negative breast cancer, PARP inhibitor, chemotherapy, carboplatin, talazoparib, metastasis, toxicity, combination of treatments, chemokines, migration.

Table des matières

| | |
|---|-----------|
| Résumé | 5 |
| Abstract | 7 |
| Table des matières | 9 |
| Liste des tableaux..... | 14 |
| Liste des figures..... | 15 |
| Liste des sigles et abréviations..... | 17 |
| Remerciements | 22 |
| Contributions de l’auteur | 23 |
| Chapitre 1 - Introduction | 24 |
| 1.1 Le cancer et son développement..... | 24 |
| 1.2 Le cancer du sein | 24 |
| 1.2.1 Épidémiologie et étiologie | 24 |
| 1.2.2 Facteurs de risque | 25 |
| 1.2.3 Développement et types | 26 |
| Pré-cancers..... | 26 |
| Cancers invasifs..... | 27 |
| 1.2.4 Classification et stades | 27 |
| 1.2.4.1 Classification..... | 27 |
| 1.2.4.2 Stades | 30 |
| 1.2.5 Instabilités génomiques et cancers | 31 |
| 1.2.6 Les cancers métastatiques..... | 39 |
| Étapes de la cascade métastatique | 40 |
| 1.2.7 Rôles des chimiokines dans les cancers..... | 44 |
| 1.3 Le cancer du sein triple négatif | 46 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1.3.1 | Caractéristiques générales | 46 |
| 1.3.2 | Caractéristiques moléculaires et pilotes génétiques | 46 |
| 1.3.3 | Mutations BRCA et risques pour le CSTN | 48 |
| 1.3.4 | Traitements standards du CSTN | 50 |
| | Traitements de chimiothérapies | 51 |
| | Mécanisme d'action et efficacité du carboplatine..... | 53 |
| | Mécanisme de résistance au carboplatine..... | 53 |
| | Nouvelles approches thérapeutiques pour le CSTN..... | 55 |
| 1.4 | Les Poly (ADP-ribose) polymérase (PARP)..... | 56 |
| 1.4.1 | Architecture des PARPs | 56 |
| 1.4.2 | Rôles des PARPs liés à l'ADN..... | 57 |
| 1.4.3 | Rôles des PARPs au-delà de l'ADN..... | 58 |
| | PARP1 et l'inflammation..... | 59 |
| | PARP1 et l'angiogenèse | 59 |
| | PARP1 et le microenvironnement tumoral | 59 |
| | PARP1 et les métastases à distance | 61 |
| 1.5 | Les inhibiteurs de PARP (PARPi)..... | 61 |
| 1.5.1 | Mécanisme d'action des PARPi..... | 62 |
| 1.5.1.1 | Létalité synthétique..... | 62 |
| | PARPi et mutations BRCA1/2 | 62 |
| | Réponse aux PARPi au-delà des mutations BRCA | 64 |
| 1.5.1.2 | Capture des complexes PARP-ADN..... | 64 |
| 1.5.2 | Signification clinique dans les cancers..... | 65 |
| 1.5.3 | Signification clinique dans le CSTN | 66 |
| | Les PARPi en monothérapie..... | 66 |
| | Les PARPi en thérapie combinée | 67 |
| 1.6 | Projet de maîtrise | 69 |
| 1.6.1 | Justifications | 69 |
| 1.6.2 | Hypothèse..... | 70 |
| 1.6.3 | Objectifs..... | 70 |
| | Chapitre 2 – Matériel et méthodes | 72 |

| | | |
|------------------------------------|---|-----------|
| 2.1 | Lignées et cultures cellulaires | 72 |
| 2.2 | Xénogreffes orthotopiques | 73 |
| 2.2.1 | Préparation cellulaire | 74 |
| 2.2.2 | Injections dans le coussinet adipeux mammaire et suivi des souris..... | 74 |
| 2.2.3 | Traitements pour les expériences in-vivo..... | 75 |
| 2.2.4 | Nécropsie..... | 76 |
| 2.3 | Expériences de migration et d’invasion cellulaire..... | 76 |
| 2.3.1 | Traitements pour les expériences in-vitro..... | 76 |
| 2.3.2 | Chambres de Boyden..... | 77 |
| 2.4 | Expression et quantification des chimiokines..... | 79 |
| 2.4.1 | Détection de chimiokines | 79 |
| 2.4.2 | Test immuno-enzymatique (ELISA)..... | 80 |
| 2.5 | Analyses statistiques | 81 |
| Chapitre 3 – Résultats..... | | 82 |
| 3.1 | Impact de l’administration du talazoparib et du carboplatine in-vivo..... | 82 |
| 3.1.1 | La combinaison simultanée et séquentielle a une croissance tumorale primaire et une inhibition du volume tumoral comparable dans trois modèles de xénogreffe..... | 82 |
| 3.1.2 | Les traitements en séquentiels sont associés à moins de perte de poids, mais aucune différence de toxicité hématologique par rapport à la combinaison simultanée..... | 85 |
| 3.1.3 | L’administration en séquentiel inhibe les métastases à distance | 88 |
| 3.2 | Impact de l’administration du talazoparib et du carboplatine sur la migration et l’invasion cellulaire in-vitro | 90 |
| 3.2.1 | Migration cellulaire..... | 91 |
| 3.2.2 | Invasion cellulaire | 95 |
| 3.3 | Rôle des chimiokines dans la migration cellulaire | 96 |
| 3.3.1 | L’expression différentielle des chimiokines peut expliquer l’inhibition accrue de la migration avec une approche séquentielle..... | 96 |
| 3.3.2 | Les niveaux de la chimiokine MCP-1 sont inhibés par le talazoparib et les approches combinées séquentielles..... | 98 |

| | |
|--|------------|
| Chapitre 4 - Discussion | 100 |
| 4.1 Administration des PARPis en combinaison avec la chimiothérapie | 100 |
| 4.2 Justification et implications de la stratégie de dosage..... | 101 |
| 4.3 Croissance tumorale | 102 |
| 4.4 Toxicité in-vivo | 102 |
| 4.5 Migration/invasion cellulaire in-vitro et métastases à distance in-vivo | 103 |
| 4.6 Effets des PARPis sur l'expression de chimiokines..... | 106 |
| 4.7 Directions futures | 108 |
| 4.8 Conclusion | 109 |
| Références bibliographiques | 111 |
| Annexes | 128 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1. Tendances au grade histologique | 30 |
| Tableau 2. Voies impliquées dans la réponse aux dommages à l'ADN ainsi que leurs fonctions et le nombre de gènes associés à chaque voie. | 35 |
| Tableau 3. Lignées, leur histologie, statut BRCA et le milieu de culture utilisé | 72 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Les différents mécanismes de réparation de l'ADN. | 33 |
| Figure 2. Schéma représentant les étapes essentielles de la cascade métastatique. | 41 |
| Figure 3. Sous-types de cancer du sein triple négatif selon la classification de Lehmann. | 47 |
| Figure 4. Options de traitement actuels proposées pour le CSTN. | 51 |
| Figure 5. Représentation schématique des domaines PARP1 humains. | 56 |
| Figure 6. Les différents rôles des protéines PARPs. | 58 |
| Figure 7. Concept de létalité synthétique des PARPis. | 63 |
| Figure 8. Capture des complexes PARP-ADN. | 65 |
| Figure 9. Modèle de xénogreffe orthotopique de HCC1806, MDAMB231 et MX1 chez des souris NSG. | 74 |
| Figure 10. Séquences de traitements. | 77 |
| Figure 11. Schéma du test de migration cellulaire dans une chambre de Boyden. | 79 |
| Figure 12. Inhibition comparable de la croissance tumorale primaire in-vivo avec les stratégies de traitements en combinaison simultanée et séquentielle. | 83 |
| Figure 13. Les stratégies de traitement en séquentiel diminue la perte de poids in-vivo. | 85 |
| Figure 14. Les stratégies de traitement en séquentiel résultent en une toxicité hématologique comparable à celle du traitement en simultané. | 87 |
| Figure 15. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibe les métastases à distance in-vivo. | 89 |
| Figure 16. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibe la migration in-vitro. | 91 |
| Figure 17. Modulation des concentrations de carboplatine et du talazoparib sur la migration cellulaire. | 93 |
| Figure 18. Stratégies de dosage des traitements sur les événements de migration chez les cellules HCC1395. | 95 |
| Figure 19. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibent aussi l'invasion in-vitro. | 96 |
| Figure 20. L'expression différentielle des chimiokines peut expliquer l'inhibition de la migration accrue avec une approche séquentielle. | 97 |

Figure 21. Les niveaux de MCP-1 sont diminués avec une approche séquentielle..... 98

Liste des sigles et abréviations

| | |
|--------|---|
| ADC | Conjugués anticorps-médicament (antibody drug-conjugate) |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| AJCC | American Joint Committee on Cancer |
| ARN | Acide ribonucléique |
| BER | Réparation par excision de bases |
| BRCA1 | Breast cancer gene 1 |
| BRCA 2 | Breast cancer gene 2 |
| BRCT | BRCA1 C-terminus-like |
| CAF | Fibroblaste associé au cancer |
| CAT | Domaine catalytique c-terminal |
| CCI | Carcinome canalaire invasif |
| CCIS | Carcinome canalaire pré-invasif in situ |
| CCL | Chemokine (motif C-C) ligand |
| CCNE1 | Cycline-E1 spécifique à G1 / S |
| CDH1 | Cadherin 1 |
| CDK | Kinase dépendante de la cycline |
| CHEK2 | Checkpoint Kinase 2 |
| CHUM | Centre hospitalier de l'Université de Montréal |
| CIPA | Comité Institutionnel de Protection des Animaux |
| CLI | Carcinome lobulaire invasif |
| CRCHUM | Centre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal |

| | |
|---------|---|
| CSC | Cellule souche cancéreuse |
| CSTN | Cancer du sein triple-négatif |
| CTC | Cellules tumorales circulantes |
| DMEM | Dulbecco's Modified Eagle's Medium |
| DR | Inversion directe |
| DSB | Cassure d'ADN double-brins |
| DTC | Cellules tumorales disséminées |
| ECM | Matrice extracellulaire |
| EMT | Transition épithéliale-mésenchymateuse |
| ER | Récepteur des œstrogènes |
| FDA | Food and Drug Administration |
| GGH | Gamma-Glutamyl Hydrolase |
| HER2 | Récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain |
| HIF | Facteur inductible par l'hypoxie |
| HR | Recombinaison homologue |
| IHC | Immunohistochimie |
| IC | Intervalle de confiance |
| IM | Immunomodulateur |
| INOS | Synthase d'oxyde nitrique inductible |
| LAPTM4B | Protéine lysosomale transmembranaire 4 bêta |
| LAR | Luminal avec récepteur d'androgènes |
| LCIS | Carcinome lobulaire in situ |

| | |
|-------|--|
| M | Mésenchymateux |
| MCP-1 | Protéine chimiotactique monocytaire-1 |
| MGMT | O6-Méthylguanine-ADN Méthyltransférase |
| MMP | Métalloprotéinases matricielles |
| MMR | Réparation des mésappariements |
| MSL | Mésenchymateux de type cellule souche |
| NER | Réparation par excision de nucléotides |
| NHEJ | Jonction d'extrémités non homologues |
| NSG | NOD-SCID gamma |
| ORR | Taux de réponse objectif |
| PALB2 | Partenaire et localisateur de BRCA2 |
| PARP | Poly (ADP-ribose) polymerase |
| PARPi | Inhibiteur de PARP |
| PBS | Phosphate-Buffered Saline |
| PFS | Survie sans progression |
| PTEN | Homologue de la phosphatase et de la tensine |
| PR | Récepteur de la progestérone |
| RPMI | Roswell Park Memorial Institute |
| RH | Récepteur hormonal |
| RTK | Récepteur tyrosine kinase |
| SSB | Cassure d'ADN simple-brin |
| STK11 | Sérine/threonine 11 |

| | |
|-------|-------------------------------------|
| TDLU | Unité terminale ductulo-lobulaire |
| T-DM1 | Ado-trastuzumab emtansine |
| TNM | Tumor Node Metastasis |
| UV | Ultraviolet |
| VEGF | Vascular endothelial growth factor |
| VIH | Virus de l'immunodéficience humaine |
| WEE1i | Inhibiteur de la kinase WEE1 |

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier ma directrice de recherche, Dre Saima Hassan pour son accueil au sein de son laboratoire, son temps, sa confiance et pour le partage de ses connaissances. Dre Hassan a bien su me guider au travers de mon cheminement par de nombreuses discussions et suggestions perspicaces et ainsi contribuer à ma formation.

Mes remerciements s'adressent également à mes collègues du laboratoire, Nelly Béchir, Alexia Cotte et Takrima Haque pour leurs expertises, leurs disponibilités, leurs soutiens techniques ainsi que pour m'avoir conseillées tout au long de mon parcours, et ce, même après leur départ. Je remercie aussi Simona Xiaomeng pour sa grande aide au laboratoire, son esprit critique, sa gentillesse et son optimisme contagieux.

Merci à tous ceux qui, au Centre de Recherche du CHUM comme à l'Université de Montréal, ont été très gentils et serviables envers moi.

J'aimerais aussi remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail, pour leur temps précieux, leurs commentaires et leurs corrections.

Pour finir, un grand merci à ma famille, mes parents Alicia et Éric, qui, même de loin, ont toujours cru en moi et m'ont grandement soutenu dans mes choix. À Nicole et André qui ont été le roc sur lequel j'ai pu me reposer et chercher du réconfort quand j'en avais besoin. À ma conjointe Raphaëlle pour son soutien, sa patience, son écoute et ses conseils afin de mieux gérer l'équilibre entre mon travail et ma vie personnelle, et ce, depuis le début de mon baccalauréat. Tu as su donner un sens à toute cette épopée et j'ai hâte de passer à la prochaine étape de ma vie à tes côtés.

Contributions de l'auteur

Les études pilotes pour les xénogreffes orthotopiques ont été fait par Michèle Beniey. Le jour de l'injection les préparations cellulaires ont été effectuées par Takrima Haque. J'étais impliqué dans la préparation des souris avant l'implantation des cellules, les suivies, randomisation, prise de poids et volumes de tumeurs. J'ai travaillé en collaboration avec Nelly Bechir, Alexia Cotte, Takrima Haque, Dre Hassan et le personnel d'animalerie pour les implantations des cellules tumorales dans les souris, les traitements, et les nécropsies. Les expériences *in-vitro* de chimiosensibilité de 10 jours étaient complété par Takrima Haque et Xiaomeng Zhang.

J'ai mis en place les protocoles expérimentaux pour la migration, l'invasion, l'expression et quantification des chimiokines. Toutes les manipulations et traitements ont été fait par moi-même. J'ai effectué les analyses statistiques et interprétée les résultats, sous la supervision de Dre Hassan.

Chapitre 1 - Introduction

1.1 Le cancer et son développement

Le cancer demeure la principale cause de décès au Canada. Près de 1 Canadien sur 2 développera un cancer au cours de sa vie et environ 1 personne sur 4 en mourra (5). Cela dit, la probabilité de développer un cancer repose sur de nombreux facteurs et varie selon le type et les facteurs génétiques endogènes (5). En 2000, Hanahan et Weinberg ont caractérisé le cancer en 6 catégories selon sa complexité biologique et qui ensemble, forment le principe fondamental de cette transformation maligne : l'autosuffisance en signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux anti-croissance, évitement de l'apoptose, le potentiel réplicatif illimité, l'angiogenèse soutenue, l'invasion tissulaire et donc, les métastases (6). Par la suite, au cours de la dernière décennie, de grands progrès ont été réalisés, conduisant à une meilleure compréhension de ses caractéristiques, et à des modifications et ajouts au concept original (7). En effet, deux caractéristiques ont été ajoutées : la reprogrammation du métabolisme énergétique et l'évitement de la réponse immunitaire, et deux traits habilitants : l'instabilité et la mutation du génome, et l'inflammation favorisant la tumeur (7). Ainsi, il existe plus d'une centaine de types distincts de cancers, dont le comportement et la réponse aux traitements peuvent considérablement varier (8, 9).

1.2 Le cancer du sein

1.2.1 Épidémiologie et étiologie

Le cancer du sein est la deuxième cause de décès chez les femmes canadiennes après celui du poumon. En effet, le cancer du sein représente dans le monde entier 25 % de tous les cas de cancers (5, 10, 11). Selon la Société canadienne du cancer, 88% des femmes survivent en moyenne 5 ans après avoir été diagnostiquées avec la maladie (12). Dans un passé récent, le taux de mortalité a diminué de 40 % entre les années 1980 et 2020 en

raison à la fois d'une augmentation du dépistage de mammographies conduisant à une détection précoce lorsque la maladie est la plus traitable, et l'avènement de traitements plus efficaces (12). Cependant, le nombre de cas reste très élevé et au Canada, en 2022, il est estimé par la Société Canadienne du Cancer que 28 600 Canadiennes recevront un diagnostic de cancer du sein, représentant 25% de tous les nouveaux cas de cancer chez les femmes dans cette même année (12).

1.2.2 Facteurs de risque

Il existe de nombreux facteurs de risque prédisposant associés à l'incidence de la maladie incluant des facteurs démographiques, métaboliques, de risques hormonaux, environnementaux, liés au mode de vie et héréditaires (13). Tout d'abord, le cancer du sein touche principalement les femmes âgées de plus de 50 ans, car il existe une corrélation positive entre le cancer du sein et l'âge (14). De plus, le nombre total de cancers devrait augmenter de 45 % entre 2010 et 2030, principalement en raison du nombre croissant de personnes âgées (15). En effet, d'ici 2030, il est estimé que 70 % de tous les cancers surviendront chez les adultes âgés de ≥ 65 ans (15). Outre l'âge, plusieurs autres facteurs accroissent le risque de développer un cancer du sein, notamment la consommation à l'alcool, le tabagisme, la prise de poids, les menstruations précoces et la ménopause tardive (16-18). Cela s'explique du fait que les cellules sont exposées aux œstrogènes et à d'autres hormones pendant une plus courte période et cela diminue donc les risques de cancer du sein (13). Il existe aussi certains facteurs héréditaires ou génétiques qui accroissent les risques. En effet, environ 10% à 30% des cas de cancer du sein sont étroitement associés à des facteurs héréditaires. Cependant, seulement 5% à 10% des cas sont identifiés avec une forte composante héréditaire et que seule une petite fraction de ces cas (4% à 5%) s'explique par des mutations des gènes à haute pénétrance transmises de manière autosomique dominante (19-21). Les gènes les plus souvent impliqués ont des rôles importants dans la réparation des dommages à l'ADN tout comme *BRCA1*, *BRCA2* (BReast CAncer gene 1 et 2), *p53*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11*, *CDH1*, *PALB2*, *PTEN* et *CHEK2*. De plus, des mutations germinales de ces gènes ont été associées au

cancer du sein, avec le plus commun des mutations dans les gènes *BRCA1/2* (*BRCA1* ou *BRCA2*). En effet, les mutations germinales *BRCA1/2* sont la cause la plus fréquente de cancer héréditaire du sein (22).

1.2.3 Développement et types

Le cancer du sein se développe dans la glande mammaire qui est la structure fonctionnelle du sein féminin. Chez les femmes adultes, chaque glande mammaire est composée d'un système de ramifications canalaire-lobulaire (23). Les lobules du sein humain sont organisés en plusieurs lobes qui eux sont drainés par des conduits collecteurs qui convergent au niveau du mamelon (23). De plus, chaque lobule est constitué d'alvéoles formant les unités sécrétoires fonctionnelles de la glande mammaire ce qui forme l'unité terminale ductulo-lobulaire (TDLU) et, il a été vu que la plupart des cancers du sein se forment dans le TDLU (23). La progression tumorale peut se produire par étapes commençant par l'hyperplasie canalaire atypique, le carcinome canalaire in situ (CCIS), la pénétration ultérieure de la membrane basale (micro-invasion) et finalement la formation d'un adénocarcinome invasif du sein (24).

Pré-cancers

Le CCIS est caractérisé par la prolifération de cellules épithéliales malignes dans le système canalaire mammaire et il est le type le plus courant de cancer du sein non infiltrant se trouvant dans les canaux. Il est considéré comme le stade 0 ou aussi nommé phase pré-cancer (25). Dans ce stade de pré-cancer, les cellules cancéreuses ne sont présentes que dans le revêtement du canal mammaire et ne se sont pas propagées hors du canal jusqu'aux tissus mammaires voisins ou à d'autres organes (25). Un autre type non infiltrant se trouvant dans les lobules est le carcinome lobulaire in situ (LCIS) qui lui, n'est pas considéré comme un pré-cancer, mais plutôt comme un facteur de risque de développer un carcinome invasif (26, 27). Effectivement, le LCIS est une accumulation de cellules anormales dans les lobules, mais qui ne se propageront pas en dehors de ceux-ci (25).

Cancers invasifs

Pour ce qui est des cancers du sein invasifs ou infiltrants, ils commencent dans les canaux ou lobules du sein puis, les cellules traversent le conduit et la paroi lobulaire pour envahir les tissus adipeux et conjonctifs environnants du sein (28). Ces types de cancers sont différenciés en fonction de sous-types histologiques. En effet, les carcinomes invasifs comprennent les carcinomes canaux invasif (CCI), les carcinomes lobulaires invasifs (CLI), mucineux (colloïdes), tubulaires, médullaires et papillaires. Le CCI qui se développe à partir des canaux représente 70 à 80 % de toutes les lésions invasives, ce qui en fait le sous-type le plus courant (29).

1.2.4 Classification et stades

1.2.4.1 Classification

Le type de classification mentionné plus haut reposant sur l'histologie, bien qu'utilisée depuis plusieurs décennies, ne tiens pas compte des caractéristiques moléculaires. Cependant, le cancer du sein est une maladie hétérogène avec des différences moléculaires, cellulaires et pathologiques considérables entre les tumeurs qui surviennent chez les patientes individuelles, ainsi qu'au niveau intra-tumoral au sein d'une même tumeur. Ainsi, un autre système de classification a émergé, basé sur des détections de marqueurs moléculaires par immunohistochimie (IHC); le récepteur des œstrogènes (ER), le récepteur de la progestérone (PR) et le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain (HER2) (30). En effet, la grande majorité des tumeurs du sein présentent une coloration nucléaire positive pour ces marqueurs. Plus précisément, ER et PR ont une coloration nucléaire tandis que HER2 a tendance à avoir une coloration membranaire. Ainsi, ces marqueurs moléculaires permettant d'aider en guidant les décisions cliniques et en adoptant le schéma thérapeutique approprié (29, 31).

Une autre façon de classer le cancer du sein est basée sur le profilage de l'expression génique dans lequel le regroupement hiérarchique a identifié 5 sous-groupes distincts : De type normal, luminal A, luminal B, sur transmet HER2 et basal (32).

Cancer du sein de type normal breast-like : Ce sous-groupe est caractérisé par une forte expression des gènes épithéliaux basaux, une faible expression des marqueurs épithéliaux luminaux et des gènes spécifiques du tissu adipeux (33). La classification moléculaire des sous-types de ce groupe reste partiellement comprise et sujette à débats (34).

Cancer du sein de type luminal : Les sous-groupes luminal A et luminal B sont définis par leur forte expression ER et PR. Le type luminal A est plus fréquent que le sous-groupe luminal B, et est associé à de meilleurs pronostics (32). En effet, les cancers appartenant au sous-groupe luminal B ont tendance à avoir un taux de récurrence plus élevé et des taux de survie plus faibles que les cancers du sein luminal A (32). Aussi, en comparaison aux tumeurs de type luminal A, les types luminal B sont enrichis en gènes de prolifération tels que *v-MYB*, *GGH*, *LAPTMB4*, *NSEP1* et *CCNE1* (35). De plus, les tumeurs luminal B présentent un indice de prolifération Ki67 plus élevé (32, 35-37). Finalement, par rapport aux autres sous-types, les cancers du sein de sous-type luminal A sont associés à de bons résultats cliniques, car ils répondent généralement aux traitements endocriniens tels que les anti-œstrogènes (tamoxifène et fulvestrant) ou les inhibiteurs de l'aromatase (létrozole, anastrozole et exémestane) (38).

Cancer du sein enrichi en HER2 : Ces tumeurs sont généralement négatives pour ER et PR alors qu'elles surexpriment le récepteur HER2 (39). Elles sont de plus associées à l'amplification et à la surexpression du récepteur tyrosine kinase (RTK) HER2/ErbB2/Neu et sont présentes dans environ 20 à 30 % des tumeurs mammaires (40). Ces types de cancers du sein sont associés à des tumeurs plus agressives et métastatiques, ce qui entraîne des taux de survie globale significativement plus faibles et un délai de rechute plus court (41). Les thérapies ciblées actuellement approuvées contre HER2 comprennent : le trastuzumab, le lapatinib, le pertuzumab, l'ado-trastuzumab emtansine (T-DM1), le deruxtecan et le tucatinib (41-44).

Cancer du sein de type basal: Les tumeurs de type basal démontrent des profils d'expression de la cytokératine qui ressemblent aux cellules basales/myoépithéliales du sein normal (45-47). Le cancer du sein de type basal est similaire au cancer du sein triple négatif (CSTN) car la majorité des tumeurs de ce sous-type moléculaire n'expriment pas les récepteurs hormonaux (RH) et ne surexpriment pas et/ou n'amplifient pas HER2 (45). Cependant, toutes les tumeurs CSTN ne sont pas toutes identifiées comme basales par expression génique, et toutes les tumeurs basales ne sont pas toutes CSTN (48). Cliniquement, ce sous-type de cancer du sein est considéré comme ayant une forte incidence de métastases, un haut indice de prolifération et un faible taux de survie (47, 49).

Cancer du sein de type « faible en claudine » : Ce dernier sous-groupe identifié en 2007 est de plus en plus discuté. Il se caractérise par une faible expression des gènes impliqués dans les jonctions serrées et l'adhésion intercellulaire, y compris la protéine claudine, d'où le nom de faible en claudine (32, 48). Ce sous-type est situé dans le regroupement hiérarchique près des tumeurs de type basal, mais exprime peu Ki-67 et répond moins bien à la chimiothérapie (32, 48).

Voici un tableau résumé de ces sous-types moléculaires du cancer du sein fondés sur l'expression de certains récepteurs/biomarqueurs, leur grade histologique et leur valeur pronostique (**Tableau 1**).

Tableau 1. Tendances au grade histologique

| Sous-types moléculaires | Expression des récepteurs | | | Grade histologique | Valeur pronostique |
|---------------------------------|---------------------------|-----|------|--------------------|----------------------|
| | ER | PR | HER2 | | |
| De type normal | -/+ | + | - | Bas | Intermédiaire |
| Luminal A | + | + | - | Bas | Excellent |
| Luminal B | +/- | +/- | -/+ | Intermédiaire | Intermédiaire/faible |
| Surexpression de HER2 | - | - | + | Haut | Faible |
| De type basale (triple-négatif) | - | - | - | Haut | Faible |

ER : récepteur d'œstrogènes; PR : récepteur de la progestérone; HER2 : le récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain, + : positif; - : négatif; +/- : parfois positif; -/+ : rarement positif. Tableau adapté de Eroles et al, 2012 (32).

1.2.4.2 Stades

La stadification du cancer du sein permet d'évaluer l'étendue du cancer lors du diagnostic ou suite à la chirurgie. Selon l'American Joint Committee on Cancer (AJCC), le cancer du sein se hiérarchise en fonction du système TNM (Tumor Node Metastasis) pour évaluer le statut de tumeur, ganglion, métastase (50). C'est un système international classant le stade du cancer et permettant ainsi de déterminer le pronostic et d'orienter la prise en charge des patientes (50). Le classement est effectué selon la taille de la tumeur (T), le nombre et la localisation des ganglions lymphatiques impliqués (N) et la présence de lésions métastatiques (M) (51). Pour aller plus en détail, chacune de ces catégories est divisée en sous-catégories telles que TX signifie que la tumeur ne peut pas être évaluée et T0, qu'il n'y a aucune preuve de la tumeur primitive. T1, T2, T3 et T4 sont basés sur la taille de la tumeur avec T4 étant la mesure où la tumeur envahit la paroi thoracique ou la peau (52). De même pour la catégorie N où N0 signifiant que les ganglions lymphatiques voisins ne contiennent pas de cancer, et N1, N2, N3 qui sont basés sur le nombre de

ganglions lymphatiques impliqués avec N3 étant la catégorie ou l'étendue de l'atteinte des ganglions lymphatiques se produit au niveau régional, comme autour des clavicules (52). Finalement, pour la dernière catégorie concernant les métastases, M0 qu'il n'y a pas de métastase à distance et M1 signifiant qu'une métastase à distance est présente (52).

Cependant, en 2018, l'AJCC a mis à jour le système TNM pour inclure le grade de la tumeur, le statut ER, PR, HER2 et le score Oncotype DX (53). Le score Oncotype DX est un test génomique examinant l'expression de 21 gènes (16 du cancer du sein et 5 gènes de référence) et utilisé chez les patientes RH-positifs et HER2-négatifs. Par la suite, un algorithme est utilisé pour calculer un score de récurrence (RS) sur une échelle de 0 à 100 afin de déterminer le risque de rechute à distance (54). Ce test est utilisé pour aider à déterminer quelles patientes bénéficieront de la chimiothérapie par rapport à ceux qui ne nécessitent qu'un traitement anti-hormonal (54).

1.2.5 Instabilités génomiques et cancers

Une caractéristique commune à tous les cancers est l'instabilité génomique (55). La structure de l'ADN est constamment sujette à des altérations d'origines endogènes, mais aussi exogènes (56). Ces « attaques » à l'ADN endogènes proviennent fréquemment du métabolisme cellulaire et de l'instabilité biochimique des métabolites et composés endogènes. Elles surviennent de façon non négligeable et ont des conséquences directes ou indirectes sur la vie cellulaire des mammifères. En revanche, les attaques d'origines exogènes sont la principale source génératrice de lésions à l'ADN. À noter que chacune des cellules du corps humain reçoit des dizaines de milliers de lésions d'ADN par jour (57). Les lésions nocives comprennent les rayonnements ultraviolets (UV), les produits chimiques cancérigènes et les médicaments de chimiothérapie pouvant endommager les cellules saines. Certaines de ces lésions peuvent exposer l'ADN à des mutations génétiques, à une instabilité génomique, à des dommages ou même la mort cellulaire (58). Étant donné que les PARPs jouent un grand rôle dans les voies de réparation de

l'ADN, il est nécessaire de bien assimiler les dommages à l'ADN ainsi que leurs réparations afin de mieux comprendre le mécanisme d'action des inhibiteurs de PARP.

De manière générale, il existe cinq grandes catégories de dommages à l'ADN. Il y a les cassures de l'ADN simple-brin (SSB), double-brins (DSB), les adduits à l'ADN, les mésappariements de bases et l'alkylation de base (**Figure 1**). Lors de la rupture de la liaison phosphodiester entre deux résidus désoxyribose adjacents au sein de l'ADN, cela crée des SSB. Ces cassures sont plus courantes et moins délétères que les DSB (59, 60). Par après, dans l'ADN, peuvent se former des adduits volumineux qui créent alors des obstacles dans les processus de transcriptions et de réplication de l'ADN, pouvant mener à l'arrêt du cycle cellulaire et puis la mort (61). Les mésappariements se produisent lorsqu'il y a une conversion d'une base pour une autre (61). Par exemple, si l'uracile s'apparie avec l'adénine plutôt qu'avec la guanine, cela crée un mésappariement, car au prochain cycle de réplication de l'ADN, cela se traduira par une substitution d'une paire cytosine/guanine avec une paire adénine/thymine. Suite à cela, les substitutions de bases mènent à l'altération de la protéine résultante (59). Finalement, l'alkylation de bases entraîne un appariement anormal de celles-ci ainsi que leurs excisions conduisant ainsi à la rupture du brin (62). Le gaz moutarde fut un agent alkylant largement utilisé pendant la Première et la Seconde Guerre mondiale et même que certains des agents anti-cancéreux les plus puissants agissent par alkylation de l'ADN (59).

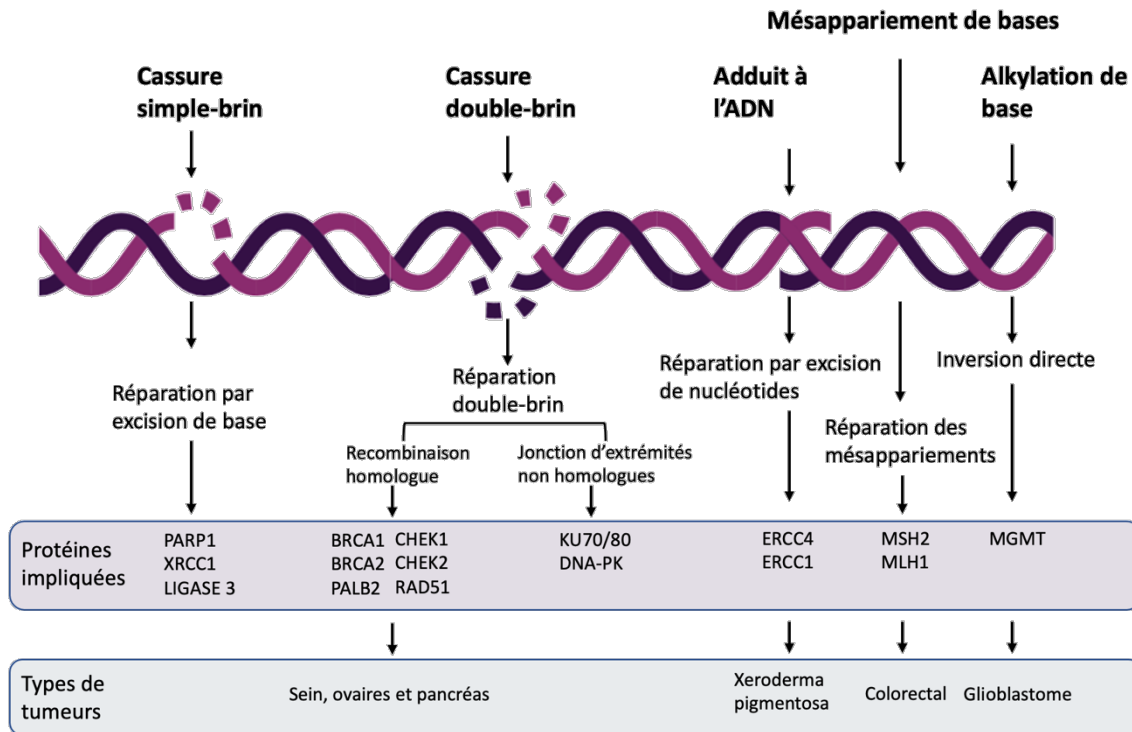


Figure 1. Les différents mécanismes de réparation de l'ADN. L'ADN est constamment exposé à une série d'agressions causant des lésions tout comme des cassures simple brin (SSB), double brin (DSB), des adduits à l'ADN, des mésappariements de bases et aussi l'alkylation de base. Ainsi, le choix du mécanisme de réparation est défini par le type de lésion, mais aussi par d'autres facteurs tels que le stade du cycle cellulaire. Les protéines clés impliquées dans chaque mécanisme de réparation ainsi que les types de tumeurs caractérisés par ceux-ci sont aussi représentés. Figure adapté de Lord et Ashworth, 2012 (63).

Une caractéristique fondamentale du cancer est l'instabilité génomique (64). Ainsi, lorsque les dommages à l'ADN sont médiocrement réparés, cela entraîne de nombreux effets, dont l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs ou l'activation anormale d'oncogènes, ce qui peut engendrer à long terme, le développement de cancers (65). Un bon exemple est le facteur de transcription p53 qui est codé par le gène *TP53*. Quand ce gène est inactivé, cela entraîne l'invasion, la prolifération et la survie cellulaire, facilitant ainsi la progression du cancer et des métastases (66). Ainsi, pour faire face au stress génotoxique causé à la fois par les agents endogènes et exogènes, les organismes activent des voies cellulaires reconnaissant et réparant des types spécifiques de dommages. Ces voies appelées les voies de réponse aux dommages de l'ADN sont nombreuses et jouent un rôle central dans le maintien de l'intégrité du génome (**Tableau 2**). Ces mécanismes

impliquent les processus de réparation de l'ADN, les systèmes qui les régulent ainsi que les systèmes qui intègrent la réparation des dommages à l'ADN avec le cycle cellulaire (1). Les principaux mécanismes de réparation de l'ADN sont les suivants : la recombinaison homologue (HR), la jonction d'extrémités non homologues (NHEJ), la réparation par excision de bases (BER), l'excision de nucléotides (NER), la réparation des mésappariements (MMR) et l'inversion directe (DR) (**Tableau 2 et figure 1**) (67).

Tableau 4. Voies impliquées dans la réponse aux dommages à l'ADN ainsi que leurs fonctions et le nombre de gènes associés à chaque voie. Ce tableau est divisé en voies classiques de réparation de l'ADN et en voies associées. DSB, cassure double brin de l'ADN ; SSB, rupture d'ADN simple brin ; UV, ultraviolet. Tableau adapté de Pearl et al, 2015 (1).

| Voie de réparation | Type de réparation | Gènes impliqués | Fonction |
|--|--------------------|-----------------|---|
| Voies de réparation de l'ADN de base | | | |
| Voie de l'anémie de Fanconi (FA) | ADN double brin | 36 | Responsable de la réparation des réticulations inter-brins. |
| Recombinaison homologue (HR) | ADN double brin | 52 | Les extrémités cassées d'un DSB sont éliminées pour permettre l'invasion des brins simples dans une chromatide sœur, qui fonctionne comme un modèle pour une resynthèse précise de l'ADN endommagé afin de faciliter un la réparation sans erreur. |
| Jonction d'extrémités non homologues (NHEJ) | ADN double brin | 27 | La NHEJ vient lier les DSB et ne nécessite pas de brin modèle pour faciliter la réparation. |
| Réparation par excision de bases (BER) | ADN simple brin | 42 | Les ADN glycosylases et endonucléases excisent les bases endommagées et les sucres pour former des SSB. Des ADN polymérases et des ADN ligases sont ensuite utilisées pour remplir et ligaturer le brin cassé. |
| Réparation ou inversion directe (DR) | ADN simple brin | 3 | Ce groupe de protéines réparent directement les bases d'ADN endommagées. Il existe trois types courants de lésions réparées : la O6-méthylguanine, la 1-méthyladénine et la 3-méthylcytosine. |
| Réparation des mésappariements (MMR) | ADN simple brin | 27 | Cette réparation corrige les erreurs de réplication qui provoquent l'incorporation du mauvais nucléotide (un décalage) et les insertions et suppressions de nucléotides. |
| Réparation par excision de nucléotides (NER) | ADN simple brin | 66 | Cette réparation élimine les adduits volumineux et déformant l'hélice sur l'ADN : par exemple, ceux causés par les rayons UV et le tabac. |
| Synthèse translésionnelle (TLS) | / | 19 | Des ADN polymérases TLS spécialisées sont recrutées pour synthétiser l'ADN sur les sites endommagés empêchant ainsi le blocage des fourches de réplication. |
| Voies associées | | | |
| Remodelage de la chromatine (CR) | | 29 | Le remodelage de la chromatine permet un accès dynamique à l'ADN104. |
| Maintenance des télomères (TM) | | 28 | Les télomères sont responsables de la protection des extrémités des chromosomes. Une structure de coiffage empêche les extrémités exposées de l'ADN d'être réparées et empêche la fusion des extrémités autrement exposées de différents chromosomes. |
| Facteurs de point de contrôle (CPF) | | 54 | Les facteurs de point de contrôle sont nécessaires pour laisser le temps de réparation afin d'empêcher que les dommages à l'ADN ne soient rendus permanents par la réplication et la mitose. |
| Réponse à l'ubiquitine (UR) | | 29 | De nombreuses formes de modification post-traduction des protéines sont nécessaires, y compris la phosphorylation et l'ubiquitylation. L'ubiquitylation est utilisée pour cibler les protéines pour la dégradation du protéasome et est également impliquée dans la régulation de la fonction des protéines et dans la médiation d'assemblages complexes. |
| Voie p53 (p53) | | 9 | Inclusion de gènes dans la voie de l'apoptose p53 impliqués dans la médiation des processus de réparation des dommages à l'ADN. |
| Ségrégation de chromosomes (CS) | | 16 | La HR dépend de la chromatide sœur et travaille en partenariat avec la machinerie de cohésion chromosomique pour s'assurer que les défauts sont réparés avant que la mitose n'ait lieu. |

La MMR est responsable de reconnaître et d'éliminer les mésappariements base-base et les mésappariements d'insertion/délétion générés lors de la réplication et de la recombinaison de l'ADN (68). Une fois qu'un mésappariement a été détecté, la machinerie MMR doit être capable de faire la distinction entre le brin d'ADN parental, contenant le code génétique d'origine et le brin fille nouvellement synthétisé, contenant la mauvaise base. Suite à la détection du mésappariement et à l'identification du brin fille, une exonucléase est recrutée qui dégrade une partie du brin d'ADN contenant le

mésappariement. La partie manquante du brin fille peut ensuite être polymérisée et ligaturée (69).

Les fonctions de réparation qui suivent sont différentes de la voie MMR, car les enzymes du MMR sont axées sur la détection de nucléotides de structure normale qui ont été incorporés aux mauvaises positions, tandis que les mécanismes de réparation qui seront discutés détectent les nucléotides de structure chimique anormale (24). La voie de réparation par BER corrige les petites lésions de base causant peu de distorsion à la structure de l'ADN (70, 71). Cette voie supprime les bases qui ont été endommagées par alkylation, oxydation, désamination ou dépurination/dépyrimidination, et remplit l'écart résultant avec des nucléotides non endommagés (72). BER est initié par la reconnaissance et le clivage d'une base endommagée par une ADN glycosylase. Le clivage de la liaison N-glycosidique entre la base endommagée et le désoxyribose sucre attaché à la molécule crée un site abasique, qui est ensuite supprimé complètement de la molécule d'ADN après clivage du squelette d'ADN sur l'un ou l'autre côté du site endommagé (72). Une fois qu'une ADN polymérase a rempli le site abasique avec un nucléotide non endommagé, des enzymes ligases catalysent la formation de nouvelles liaisons dans le squelette de l'ADN pour sceller l'écart (72).

En contraste, la réparation par NER va venir réparer les lésions volumineuses de l'ADN causées par des agents exogènes tels que les photons UV et des cancérigènes chimiques, tels que les agents alkylants (24, 73). Les principaux types de lésions éliminées via cette voie sont des adduits au sein de la structure en double hélice de l'ADN interférant avec la répllication et la transcription (74). Deux types principales de NER ont été décrits: 1) la réparation couplée à la transcription, qui reconnaît les lésions lorsqu'une enzyme ARN polymérase se bloque pendant la transcription d'un gène actif; 2) la réparation génomique globale, qui ne repose pas sur l'ARN polymérase pour la reconnaissance des dommages et peut donc détecter des lésions déformant l'hélice dans tout le génome, quel que soit le statut transcriptionnel (75). Bien que ces deux voies détectent les lésions

en utilisant des mécanismes différents, leur processus NER reste similaire résultant en la synthèse d'un tronçon de remplacement de nucléotides permettant de combler le vide consécutif (76).

En général, les cassures SSB de l'ADN sont plus fréquentes et moins toxiques pour la cellule que les DSB. Cependant, lorsqu'une cassure SSB persiste trop longtemps, elle conduit invariablement à une cassure DSB (72). Ces types de cassures sont souvent considérées comme les lésions avec le plus grand potentiel de conséquences délétères en aval, car les DSB conduisent à l'activation d'une réponse régulatrice complexe qui affecte une variété d'événements cellulaires, y compris le contrôle du cycle cellulaire, l'apoptose, la transcription, la réplication de l'ADN et le maintien des télomères (77, 78). Les DSB se présentent en grande partie comme le résultat d'agents exogènes tels que les rayonnements ionisants et certains médicaments chimiothérapeutiques, d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées de manière endogène et d'un stress mécanique sur les chromosomes. Ils peuvent également être produits lorsque les fourches de réplication de l'ADN rencontrent des cassures simple brin d'ADN ou d'autres types de lésions (78).

Les voies HR et NHEJ sont toutes les deux des principaux mécanismes responsables de la réparation des DSB. Lorsqu'un DSB est généré, il peut être réparé par la voie HR par ablation de l'un des deux brins d'ADN endommagé à chacun des extrémités par une exonucléase, résultant en un ADN simple brin qui va venir envahir la chromatide sœur intacte (24, 79). Ce processus génère des régions d'ADN hétéroduplex comprenant des brins d'ADN provenant de différentes chromatides sœurs. Par après les brins d'ADN simple brin de la chromatide endommagées sont allongée dans une direction 5' – 3' par une ADN polymérase en utilisant comme matrice les brins de l'ADN de la chromatide sœur (24). Les brins d'ADN simple brin allongés sont ensuite libérés puis amenés à s'apparier l'un à l'autre ce qui permet ainsi l'allongement supplémentaire par une ADN polymérase et une ligase, qui ensemble, vont reconstruire une double hélice possédant des séquences d'ADN de type sauvage (24).

En raison de sa complexité, de sa dépendance vis-à-vis de ses composants et de son rôle crucial dans le maintien de l'intégrité du génome, la voie HR est sans surprise endommagée dans de nombreux cancers humains (80). En effet, l'altération des gènes impliqués dans la HR est répandue parmi de nombreux types de cancers, en particulier les cancers du sein, de l'ovaire et du pancréas (81). Plusieurs protéines sont impliquées dans la voie HR, notamment BRCA1/2, RAD51, CHEK2 et PALB2 (82). BRCA1 joue un rôle important dans la transcription de l'ADN en s'associant à un certain nombre de régulateurs transcriptionnels, tandis que BRCA2 joue également un rôle dans le processus de réparation de l'ADN, mais est aussi important dans la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose et de la progression du cycle cellulaire (24, 83). BRCA1 et BRCA2 agissent comme des amas pour assembler d'autres protéines de réparation de l'ADN dans de grands complexes physiques, ce qui facilite les DSB. De plus, la perte de différents partenaires de BRCA1 affecte spécifiquement différentes phases de point de contrôle du cycle cellulaire (phase S et phase G2/M) en plus de la HR (24).

La réparation des DSB peut également se produire par un deuxième mécanisme majeur, la voie NHEJ. En effet, les cellules qui échouent à exécuter les étapes initiales de la HR et qui donc recourent à la fusion de deux DSB, se termine par le processus de NHEJ (24). Dans la NHEJ, des surplombs d'ADN simple brin sont générés suite à l'ablation de brins simples des deux extrémités endommagées. Ces surplombs peuvent ensuite être joints les uns aux autres puis les lacunes à simple brin remplies (24). Par après, la ligature de toutes les ruptures d'ADN simple brin restantes entraînent la reconstruction d'une double hélice dépourvue de certaines des paires de bases présentes dans l'hélice d'ADN non endommagée d'origine (24). Des deux voies de réparation de DSB, NHEJ est la plus sujette aux erreurs, car elle ne repose pas sur une séquence d'ADN homologue pour la réparation et peut entraîner la perte de matériel génétique et parfois, des translocations chromosomiques (78).

Finalement, l'inversion directe des dommages à l'ADN est la forme la plus simple de réparation de l'ADN. Elle élimine certaines modifications de l'ADN et de l'ARN sans utiliser

l'excision, la resynthèse et la ligature (84). Ainsi, cette réparation est sans erreur et préserve l'information génétique étant donné qu'elle ne nécessite pas de rupture du squelette phosphodiester (84). L'inversion directe est principalement utilisée pour corriger les dommages causés par les agents alkylants de sources exogènes ou endogènes et réagissant avec l'ADN pour produire divers produits O-alkylés et N-alkylés. L'élimination des dommages d'alkylation par inversion directe est réalisée par deux principaux types de protéines : O6-méthylguanine-ADN méthyltransférases et ALKBH α -cétoglutarate Fe(II) dioxygénases (84). La méthyltransférase (MGMT) est une enzyme essentielle utilisée dans l'inversion directe des dommages à l'ADN, O6-alkylguanine dans notre corps. En effet, elle sauve les cellules tumorales des dommages induits par les agents alkylants (85).

1.2.6 Les cancers métastatiques

La métastase tumorale est le processus par lequel les cellules cancéreuses se dispersent à partir d'un site primaire et colonisent progressivement des organes distants (86). Dans plus de 90 % des cas, la forme métastatique de la maladie représente la principale cause de décès liée au cancer (86). Ainsi, cela constitue un obstacle important au traitement efficace de la maladie. Dans le cas du cancer du sein, à l'autopsie, les principaux sites métastatiques sont les poumons et les os (65 %), suivis du foie (60 %) et du cerveau (22 %) (87). Certains facteurs de risques influencent les processus métastatiques du cancer du sein dont la taille de la tumeur, le grade histologique et le statut des RH (88). De plus, la fréquence des métastases spécifiques à un organe dépend aussi du sous-type moléculaire du cancer du sein (88). Les cancers du sein qui sont HR-positifs ont tendance à former des métastases dans les os, tandis que les CSTN ont tendance à former des métastases dans le foie, les poumons et le cerveau (87). Le cancer du sein métastatique, comme tous les cancers métastatiques, est incurable et est mortel dans la plupart des cas. Ainsi, bien que de nombreuses avancées aient été réalisées dans le domaine de la recherche et le développement de traitements en cancer du sein métastatique, le pronostic des patientes

atteintes de ce type de cancer demeure restreint, avec une survie relative à 5 ans d'environ 29% (89).

Cependant, bien que les métastases soient la principale cause d'échec de traitements du cancer, elles restent mal comprises. Il a été démontré qu'un grand nombre de cellules cancéreuses sont libérées quotidiennement dans la circulation chez les patientes atteintes d'un cancer, mais que seulement <0,1% des cellules tumorales métastasent (90). En effet, la cascade métastatique nécessite que les cellules cancéreuses quittent leur site primaire, circulent dans la circulation sanguine, extravasent et prolifèrent au niveau du site métastatique (90, 91). Ainsi, que très peu de cellules tumorales survivent à travers toutes ces étapes.

Étapes de la cascade métastatique

La cascade métastatique est traditionnellement considérée comme une série d'étapes séquentielles et interdépendantes, chacune imposant une barrière qui doit être surmontée par les cellules cancéreuses afin de mener à bien le processus métastatique. Cette progression peut être divisée en plusieurs étapes, qui sont illustrées à la **figure 2** :

- 1) les tumeurs primaires subissent des modifications génétiques et phénotypiques permettant l'invasion des cellules tumorales à travers les tissus normaux environnants et la barrière des vaisseaux sanguins,
- 2) la migration cellulaire et l'invasion locale à travers la matrice extracellulaire dans le microenvironnement tumoral environnant,
- 3) l'intravasation dans le système vasculaire,
- 4) la survie dans la circulation et le transit vers les organes distants,
- 5) l'extravasation à travers la barrière endothéliale, du système vasculaire au tissu secondaire et
- 6) la colonisation d'un microenvironnement étranger pour former des métastases (92).

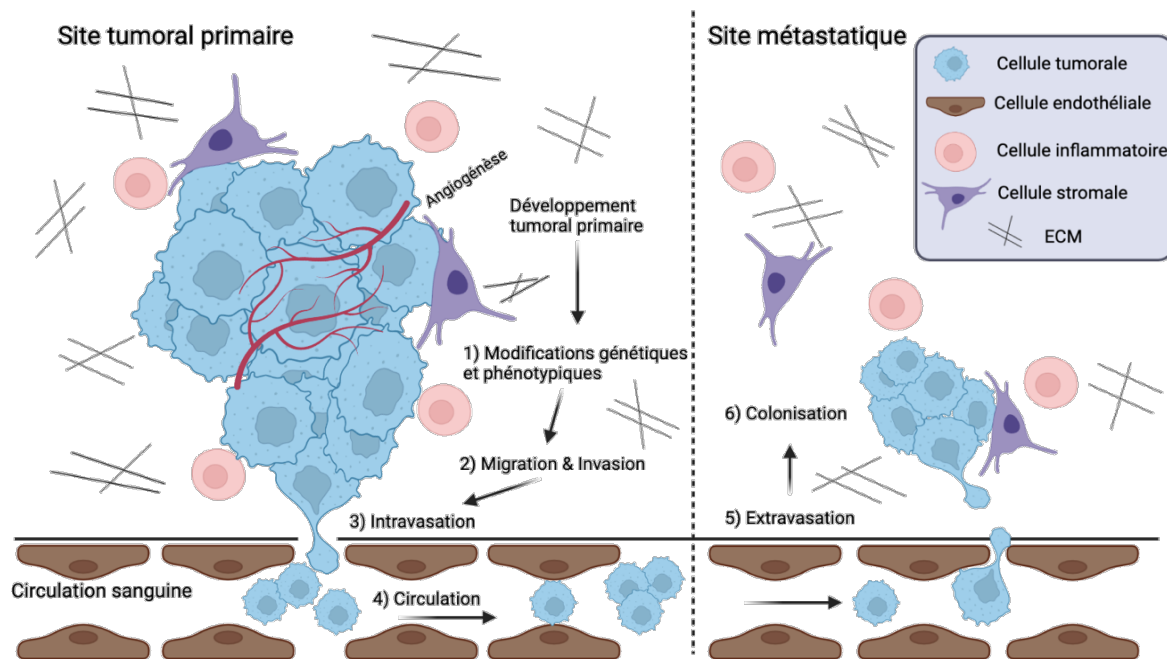


Figure 2. Schéma représentant les étapes essentielles de la cascade métastatique. Étape 1 : les tumeurs primaires subissent des modifications génétiques et phénotypiques ; Étape 2 : migration cellulaire et invasion locale ; Étape 3 : intravasation dans le système vasculaire ; Étape 4 : survie dans la circulation ; Étape 5 : extravasation à travers la barrière endothéliale et Étape 6 : Colonisation dans l'organe cible métastatique. Figure adaptée de Hapach et al, 2019 (92).

Hanahan et Weinberg précisent que « l'activation de l'invasion et des métastases » est une caractéristique du cancer (7). En effet, l'étape de migration et d'invasion est très importante, car outre son rôle d'initiation de la cascade métastatique, l'invasion des tissus voisins et l'ensemencement à des sites distants pour former des métastases restent une caractéristique centrale de la malignité du cancer (91). La migration cellulaire est le mouvement dirigé des cellules d'un endroit à un autre en réponse à des stimuli intrinsèques ou externes (93). Pour qu'une migration productive se produise, les cellules doivent 1) interagir avec la matrice extracellulaire (ECM) dans le microenvironnement immédiat, 2) remodeler le réseau de cytosquelette d'actine cellulaire et 3) générer des forces de traction pour propulser le corps cellulaire vers l'avant (93). Ces dernières étapes sont possibles grâce à l'angiogénèse qui est un processus de recrutement de nouveaux vaisseaux sanguins important pour la voie métastatique car ces vaisseaux constituent une des voies par laquelle les cellules tumorales sortent du site primaire et entrent dans la circulation (94).

Il a été démontré que les cellules cancéreuses peuvent adopter différents modes de migration cellulaire en fonction de la variété d'indices et du contexte microenvironnemental qu'elles rencontrent. Ceux-ci incluent la motilité mésenchymateuse, la motilité amiboïde et la migration cellulaire collective (95). La migration mésenchymateuse aussi connue sous le nom de transition épithéliale-mésenchymateuse (EMT), est considérée comme mécanisme clé dans la promotion des métastases (96). En effet, l'EMT est un changement de phénotype des cellules épithéliales aux cellules mésenchymateuses avec une acquisition d'une capacité migratoire accrue, d'un caractère invasif, d'une résistance élevée à l'apoptose et d'une production accrue de composants de la matrice extracellulaire (97).

Suite à la migration et l'invasion cellulaire, il y a l'intravasation, qui est l'entrée des cellules tumorales dans le flux sanguin ou dans les vaisseaux lymphatiques (98). Les cellules cancéreuses pénétrant dans les vaisseaux sanguins sont appelées cellules tumorales circulantes (CTC), tandis que celles ayant survécu dans la circulation et ayant quittées la tumeur primaire en se dirigeant vers le ou les sites secondaires de métastases sont appelées cellules tumorales disséminées (DTC) (96). L'intravasation est un processus complexe impliquant de nombreux facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les facteurs intrinsèques des cellules tumorales comprennent l'EMT et la production de protéases. Les facteurs extrinsèques comprennent l'activité des neutrophiles, de fibroblastes (CAF) et de macrophages (96).

Bien que peu de cellules cancéreuses atteignent la circulation, encore moins survivent aux forces de cisaillement hémodynamiques, aux stress immunitaires et aux collisions de globules rouges qu'elles rencontrent une fois sur place (92). Les cellules tumorales se protègent du stress physique et de la surveillance immunitaire en sécrétant des substances telles que la thrombine, la cathepsine B, un pro-coagulant anticancéreux et la MMP-2/14 (métalloprotéinases matricielles 2 et 14), avec pour conséquence l'agrégation des plaquettes autour des cellules tumorales, un processus connu sous le nom

d'agrégation plaquettaire induite par les cellules tumorales. De plus, cette « enveloppe » plaquettaire facilite l'extravasation et l'arrêt au niveau de sites d'organes distants (99).

Les CTCs agrégés vont ensuite se lier à l'endothélium des vaisseaux de l'organe cible ou peuvent même les obstruer complètement. Pour coloniser de nouveaux sites, les CTCs doivent quitter la circulation, une étape décrite comme étant l'extravasation. Ce processus diffère de l'intravasation, où les cellules cancéreuses naviguent dans le stroma modifié par la tumeur via des gradients chimiotactiques et durotactiques vers un système vasculaire naissant (92). Ceci est réalisé par la sécrétion de facteurs qui induisent une hyperperméabilité vasculaire comme les protéines angiopoïétine-like-4 (Angptl4) et MMP-1/2 (100). La libération de cytokines dans la circulation systémique facilite aussi l'extravasation des cellules cancéreuses dans les organes distants (96).

Après l'extravasation, les cellules cancéreuses ont une dernière tâche à accomplir : la colonisation des sites secondaires. Pour ce faire, les CTCs doivent créer des conditions spécifiques pour leurs survies. Il a été rapporté que la tumeur primaire libère des facteurs de croissance dans la circulation et que ceux-ci conduisent à une régulation positive de d'autres facteurs de croissance ainsi que certaines protéines inflammatoires au niveau des futurs sites métastatiques favorisant ainsi l'étape de colonisation (101, 102). De plus, les niches métastatiques possèdent des types de cellules et une ECM compatibles pour la survie et la croissance des cellules tumorales, y compris les niches périvasculaires, les espaces autour des capillaires sanguins où les cellules cancéreuses peuvent se développer (92). Cependant, ce processus est considéré comme extrêmement inefficace avec seulement un pourcentage infime de CTCs se développant en lésions (92). En effet, les CTCs peuvent être présentes dans la moelle osseuse des patientes avec un cancer pendant des années, et pourtant seulement environ la moitié de ces patientes développent des métastases manifestes (103).

1.2.7 Rôles des chimiokines dans les cancers

Les chimiokines sont des cytokines chimioattractantes qui sont des protéines de faible poids moléculaire étant soit liées à la membrane cellulaire, soit sécrétées. Ces dernières jouent un rôle fondamental dans un large éventail de processus physiologiques, notamment l'embryogenèse, l'hématopoïèse et le développement du système immunitaire (104). Initialement, les chimiokines étaient surtout appréciées pour leur capacité à orchestrer les réponses immunitaires et à maintenir l'homéostasie du système immunitaire. Par la suite, ces dernières ont également été liées à des conditions physiopathologiques telles que l'infection par le VIH, l'athérosclérose, les maladies auto-immunes, le développement de cancers et les métastases.

Dans le génome humain, la majorité des gènes de chimiokines sont situés dans deux régions chromosomiques, formant ainsi deux grands groupes de gènes, le groupe de chimiokines CXC (chromosome 4) et le groupe de chimiokines CC (chromosome 17) (104, 105). Sur le plan fonctionnel, les chimiokines peuvent être classées en deux groupes distincts : les chimiokines homéostatiques et inflammatoires. Les chimiokines homéostatiques telles que CCL19, CCL20, CCL21, CCL25, CCL27, CXCL12 et CXCL13 sont exprimées de manière constitutive et sont responsables du développement et du maintien du système immunitaire. Les chimiokines inflammatoires elles, sont inductibles en réponse à des lésions tissulaires ou à une infection et jouent un rôle crucial dans la réponse inflammatoire, attirant les cellules immunitaires vers le site de l'inflammation (105). Quelques exemples de chimiokines inflammatoires sont CXCL8, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL11 et CXCL10 (105).

Depuis longtemps, les chimiokines sont associées au cancer puisqu'elles orchestrent le recrutement et le positionnement spatial des sous-ensembles de leucocytes dans les tumeurs. Les chimiokines jouent également un rôle essentiel en facilitant la communication entre les cellules cancéreuses et les cellules non malignes dans le microenvironnement tumoral, y compris les cellules endothéliales et les fibroblastes, en favorisant l'infiltration et l'activation des neutrophiles associés aux tumeurs (104). Dans

le microenvironnement tumoral, les chimiokines sont exprimées et sécrétées par différents types de cellules, notamment les cellules tumorales, les cellules endothéliales, des CAFs, mais également les leucocytes infiltrant les tumeurs (104). Les processus les plus cruciaux qui sont régulés par les chimiokines dans le microenvironnement tumoral comprennent entre autres le recrutement de leucocytes, les métastases, l'angiogenèse et la croissance et prolifération tumorale (104). En effet, plusieurs études ont démontré que les cellules cancéreuses expriment des récepteurs de chimiokines qui peuvent favoriser leur métastase et leur colonisation vers des sites métastatiques secondaires où se trouve une concentration élevée de leurs ligands respectifs (106, 107). De plus, il a été démontré que les chimiokines induisent l'angiogenèse, où de nouveaux vaisseaux sanguins se forment pour soutenir la croissance tumorale dans le microenvironnement tumoral (108). Aussi, par rapport à la croissance et prolifération tumorale, en se liant à leurs récepteurs exprimés dans les cellules cancéreuses, les chimiokines peuvent activer des cascades de signalisation qui favorisent directement la prolifération des cellules cancéreuses telles que les voies PI3K/Akt/NF- κ B et MAPK/ERK (109, 110). Ainsi, beaucoup d'études impliquant les chimiokines et leurs rôles dans les cancers ont vu le jour ces dernières années. Le CCL28 favoriserait la croissance et les métastases via son action anti-apoptose médiée par la voie MAPK. CCL2 favoriserait les métastases en recrutant des monocytes inflammatoires et en améliorant la rétention des macrophages aux sites métastatiques (111). De plus, le CXCL12, surexprimé au site métastatique, servant à loger les cellules cancéreuses qui expriment son récepteur, CXCR4 (107, 110, 112-114). Ainsi, pris ensemble, les chimiokines jouent un rôle important dans le cancer du sein métastatique et il sera nécessaire de les incorporer pour le développement de nouvelles stratégies de traitements (114).

1.3 Le cancer du sein triple négatif

1.3.1 Caractéristiques générales

Le cancer du sein triple négatif (CSTN) est le sous-type de cancer du sein le plus agressif souvent associé à un pronostic moins prometteur que pour les autres types de cancers. En effet, le CSTN représentant 15 à 20% de tous les cancers du sein, est dépourvue de la surexpression des trois récepteurs retrouvés dans certains cancers du sein : ER, PR, et HER2 (4). Ainsi, ne répondant pas aux thérapies ciblées, le CSTN représente un grand défi clinique. De ce fait, le taux de survie relatif à 5 ans pour le CSTN est de 91% si localisé, 65% pour le stade régional, et de seulement 12% pour le stade métastatique (115). En effet, les patientes atteintes d'un CSTN métastatique ont un mauvais pronostic, avec une survie globale médiane d'environ 13 à 18 mois avec traitements (116, 117). Ainsi, en moyenne 77 % des personnes atteintes du CSTN vivront 5 ans après le diagnostic par rapport aux personnes qui n'ont pas ce cancer. Ce taux de survie est donc de 8 à 16 % inférieur à celui du cancer du sein à récepteurs hormonaux positifs (115).

Le risque de développer un CSTN varie selon plusieurs facteurs, dont l'âge, l'origine ethnique et la génétique. En effet, plusieurs études ont démontré que le CSTN apparaît à un jeune âge (<50 ans), est fréquemment lié à l'ethnie afro-américaine, et à une association avec le cancer du sein héréditaire et le statut de mutation *BRCA1* (118, 119). En ce qui concerne les caractéristiques histologiques des tumeurs du CSTN, la majorité sont des carcinomes canalaire invasifs avec un niveau élevé d'atypie nucléaire, qui est de grade III, tandis que les autres types signalés sont les carcinomes médullaires, le carcinome métaplasique et le carcinome adénoïde kystique (120).

1.3.2 Caractéristiques moléculaires et pilotes génétiques

Pour mieux comprendre la complexité de cette maladie hétérogène ainsi que l'identification des moteurs moléculaires qui peuvent être ciblés thérapeutiquement, le CSTN a été originellement classé en six sous-groupes différents selon Lehmann et al. (121). Un grand nombre (587) de profils génétiques de CSTN ont été compilés dans le but

de sous typer moléculairement la maladie. Ces sous-types sont : basal (BL1 et BL2), mésoenchymateux (M), mésoenchymateux de type cellule souche (MSL), immunomodulateur (IM) et luminal avec récepteur d'androgènes (LAR) (**Figure 3**)(121) .

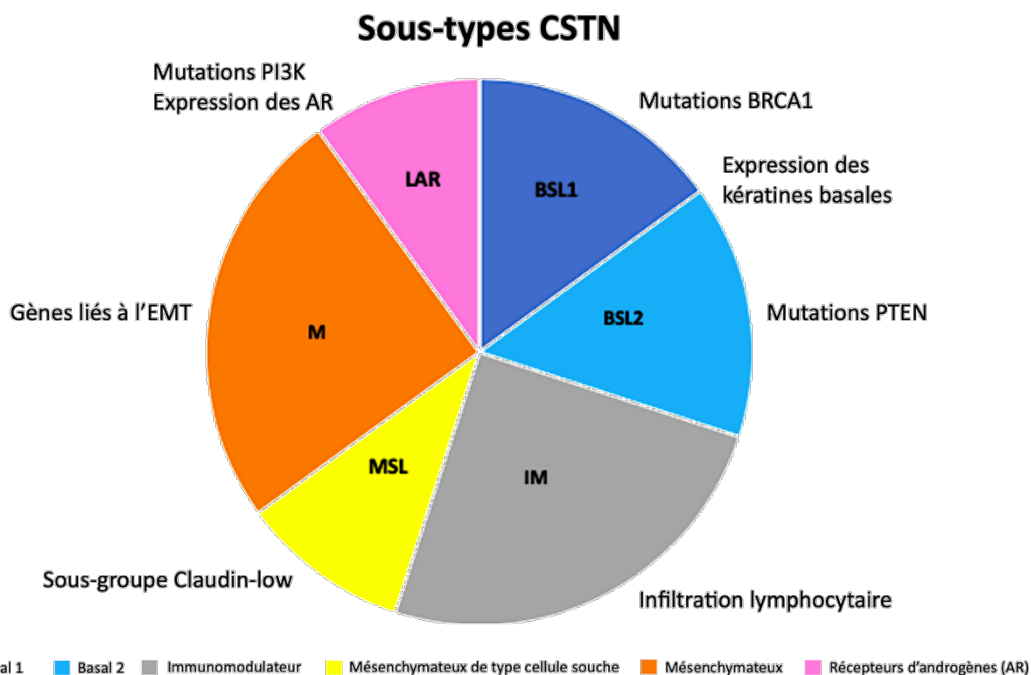


Figure 3. Sous-types de cancer du sein triple négatif selon la classification de Lehmann. Il y a six sous-types avec des profils génétiques différents : de type basal (BSL1 et BSL2), IM : Immunomodulateur, M : de type mésenchymateux, MSL : Mésenchymateux de type cellule souche et LAR : luminal avec récepteur d'androgènes. Figure adaptée de Nicholas C Turner, et al, 2013 (122).

Les sous-groupes de type basaux (BSL, basal-like) sont caractérisés par divers groupes de gènes exprimés dans les cellules épithéliales situées sur le sein. Les sous-groupes BSL1 ont une forte concentration de gènes liés aux dommages à l'ADN et la mutation BRCA1 a également été associée à ce groupe (121). Tandis que les sous-groupes BSL2 présentent des niveaux élevés de facteur de croissance et de voies métaboliques, ainsi qu'une expression accrue de marqueurs myoépithéliaux (121, 123). Ensuite, l'immunomodulateur (IM) lui, est associé à l'infiltration lymphocytaire, à la présentation des antigènes et à la signalisation par les voies de transduction du signal immunitaire (121). Bien que les sous-types M et MSL soient assez similaires au niveau

transcriptomique étant enrichis en gènes impliqués dans la motilité cellulaire et l'EMT, le sous-type MSL montre une expression plus faible des gènes associés à la prolifération cellulaire et est enrichi en gènes liés aux cellules souches mésenchymateuses (123). Ce dernier comprend le sous-groupe Claudin-low qui est très agressif. Finalement, pour le sous-groupe luminal avec récepteurs d'androgènes (LAR), il est associé à l'expression des gènes luminaux et est enrichi de la signalisation des récepteurs aux androgènes et des mutations PI3K. La classification moléculaire du CSTN selon le profilage génétique aide à la découverte de nouvelles cibles moléculaires et au développement de nouvelles approches thérapeutiques permettant d'améliorer les résultats des patientes. Récemment, une autre classification du CSTN a émergé en fonction de l'expression de l'ARNm et du profilage de l'ADN, dans laquelle quatre sous-groupes ont été identifiés; LAR, MES (mesenchymal) comprenant le MSL (mesenchymal stem-like) et une partie du IM, BLIS (de type basal immunosupprimé) comprenant le M et une partie du BL1 et BLIA (de type basal immunoactivé) comprenant le BL2, une partie du IM et du BL1 (124). De nombreux facteurs génétiques se sont avérés associés au CSTN. En effet, *TP53* est la mutation la plus courante survenant dans 80 % de ces tumeurs (125). Il y a aussi la mutation *PTEN* qui est retrouvée dans 10% des tumeurs, *PIK3CA* dans 7-10% et des mutations *RB1* dans 20% des tumeurs CSTN (125, 126). Les mutations *BRCA1* sont prédominantes dans environ 80% du phénotype CSTN et sont associées au sous-groupe BSL1 (121).

1.3.3 Mutations BRCA et risques pour le CSTN

Les gènes *BRCA1* et *BRCA2* qui ont été découverts en 1994 et 1995 respectivement, sont des gènes suppresseurs de tumeur associés à plusieurs types de cancers (127, 128). En effet, l'association de ces gènes avec la susceptibilité au cancer du sein et de l'ovaire a été démontrée pour la première fois il y a plus de 20 ans (127-129). Le risque de malignité de cancer du sein chez les personnes présentant une mutation *BRCA1* est de 55 à 72% et de 45 à 69% pour la mutation *BRCA2* (130). Pour le cancer de l'ovaire, le risque de malignité lui est de 39 à 44% pour la mutation *BRCA1* et de 11 à 17% pour la mutation *BRCA2* (130).

Depuis lors, des mutations germinales spécifiques des gènes *BRCA1* et *BRCA2* (*BRCA1/2*) ont été associées à un risque accru de plusieurs autres types de tumeurs malignes humaines, notamment le cancer de la prostate, colorectal, de l'estomac et du pancréas (131). Ainsi, la mutation du gène *BRCA1* est fortement associée au CSTN alors que les porteurs de mutations *BRCA2* développent majoritairement des tumeurs ER+ ou Luminal A ou B (132, 133). *BRCA1/2* sont héritées de manière autosomique dominante et les porteurs de mutations dans ces gènes sont hétérozygotes et ont donc 50 % de chances de transmettre l'allèle à risque à leur progéniture (128). Ainsi, ces mutations sont associées à environ 5 % de tous les cancers du sein (134).

L'importance de *BRCA1/2* provient du fait qu'ils sont à l'intersection de nombreuses voies cellulaires clés et remplissent de multiples fonctions allant de la réponse aux dommages de l'ADN, du remodelage et de la transcription de la chromatine jusque l'ubiquitination des protéines (127, 135, 136). Plus spécifiquement, *BRCA1* interagit avec plusieurs protéines impliquées dans les voies cellulaires, y compris la progression du cycle cellulaire, la régulation de la transcription de gène, réponse aux dommages à l'ADN, l'apoptose et l'ubiquitylation [24-26]. Le gène *BRCA2* est lui impliqué dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue, remodelage de la chromatine et la régulation du point de contrôle du cycle cellulaire [28]. Lorsque des cassures à l'ADN surviennent et qu'elles ne sont pas réparées, ces cassures peuvent entraîner l'accumulation de mutations délétères susceptibles de provoquer une instabilité génomique. Une réparation efficace des cassures nécessite une implication fonctionnelle de *BRCA1/2* via leur interaction avec de nombreuses autres protéines (137). De ce fait, lorsque les gènes *BRCA1/2* sont mutés, d'autres formes de réparation de l'ADN surviennent et peuvent résulter en des réarrangements chromosomiques menant à de l'instabilité génomique entraînant alors la tumorigenèse (138).

Cependant, il a été récemment démontré que certaines tumeurs partagent un même phénotype avec les cancers avec mutations *BRCA*. En effet, certaines tumeurs dites « *BRCAness* » hébergent un défaut de réparation de l'ADN, plus précisément de

recombinaison homologue, mais n'ont pas de mutation germinale détectable dans *BRCA1* ou *BRCA2* (139). Ces tumeurs peuvent avoir une méthylation du promoteur *BRCA1*, une mutation somatique ou une autre altération provoquant un dysfonctionnement de la voie *BRCA*. Ainsi, ces défauts les rendent extrêmement sensibles aux dommages à l'ADN induits par les traitements de chimiothérapie (139). De plus, dans le cadre du CSTN, il a été démontré que les patientes ayant des tumeurs BRCAness partagent plusieurs caractéristiques cliniques avec les patientes porteuses de la mutation *BRCA1* (139).

1.3.4 Traitements standards du CSTN

Les CSTN n'expriment pas de biomarqueurs pouvant être ciblés tels que ER, PR ou HER2 faisant en sorte que les thérapies ciblées efficaces pour ce type de cancer sont limitées. Cependant, la chimiothérapie reste le pilier des patientes atteintes d'un CSTN, et ce, dans les contextes néoadjuvants (administration avant la chirurgie), adjuvants (administration après la chirurgie) ou métastatiques. En effet, 50 à 55% des patientes ayant un CSTN, obtiennent une réponse complète pathologique (pCR) avec une combinaison d'agents chimiothérapeutiques (140). De plus, par rapport aux autres sous-types de cancer du sein, les CSTN ont des taux de réponse plus élevés à la chimiothérapie néoadjuvante ; cependant, cet avantage n'est pas clairement traduit dans le cadre métastatique (141). En effet, les patientes présentant une maladie résiduelle après un traitement néoadjuvant sont plus susceptibles de récidiver et de mourir d'une maladie métastatique (142). Ce comportement clinique est dû à l'hétérogénéité des différents sous-ensembles de CSTN et à la diversité de leurs réponses biologiques aux différents traitements et thérapies ciblées. Ce paradoxe est bien particulier au CSTN et justement de grandes différences dans les résultats cliniques après un traitement néoadjuvant impliquent que certains sous-groupes du CSTN sont sensibles à la chimiothérapie tandis que la majorité devient résistants pendant le traitement (143).

Traitements de chimiothérapies

La chimiothérapie à base d'anthracyclines, d'alkylants et de taxanes reste les approches standard de traitements du CSTN (Figure 2) (4).

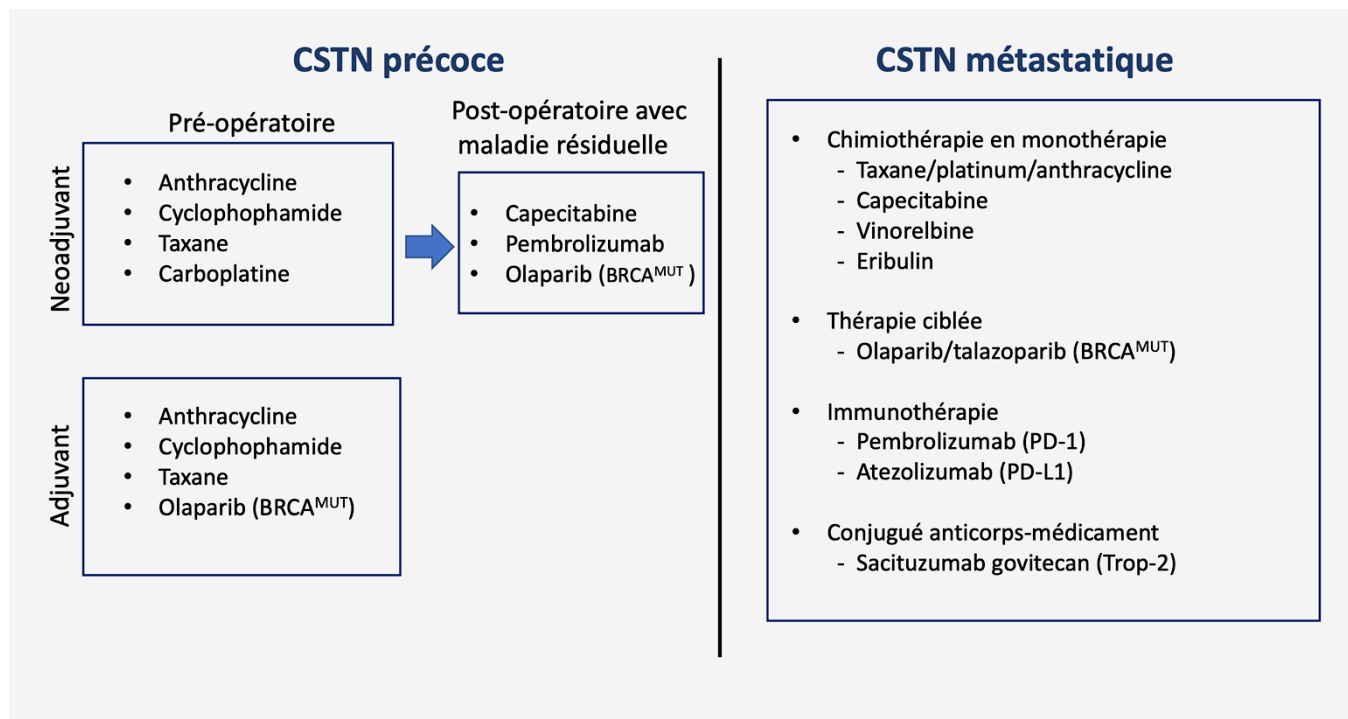


Figure 4. Options de traitement actuelles proposées pour le CSTN. À gauche, se trouvent les options de traitements pour les cancers du sein précoces, et à droite ce sont les options de traitements du cancer du sein métastatique. PARPi = inhibiteur de PARP. BRCA^{MUT} = BRCA1/2-mutant. Figure adaptée de Yordanova et al, 2021(4).

Les anthracyclines sont une classe de médicaments cytotoxiques dérivés d'antibiotiques inhibant la synthèse d'ADN et d'ARN en s'intercalant entre les paires de bases des brins (144). Cette action crée des radicaux libres d'oxygène médiés par le fer, endommageant l'ADN et les membranes cellulaires, inhibant ainsi la topoisomérase II (145). Les taxanes favorisent la polymérisation des microtubules et inhibent leur dépolymérisation, ce qui entraîne l'arrêt du cycle cellulaire et la mort cellulaire (146). Chez les patientes atteintes d'un CSTN, les chimiothérapies à base de taxanes et d'anthracyclines ont prouvé leurs efficacités dans n'importe quel contexte de la maladie (néoadjuvant, adjuvant et métastatique) (142, 147). Pour ce qui est des agents alkylants, ils agissent directement

sur l'ADN, provoquant une réticulation de ces brins, un appariement anormal des bases ou des ruptures de brins d'ADN, empêchant ainsi la division cellulaire (148).

Le carboplatine et le cisplatine sont deux chimiothérapies composées de sels de platines faisant partie de la classe des agents alkylants (149). Une fois dans la cellule, les agents de platine chargés positivement sont capables de se lier à l'ADN, modifiant ainsi sa structure ce qui conduit à l'apoptose (mort cellulaire programmée) (149, 150). En clinique, le carboplatine est très répandu aussi bien dans les traitements standard du CSTN que dans d'autres types de cancers. En effet, quatre essais randomisés ont été publiés (GeparSixto, CALGB 40603, BrighTNess et I-SPY 2) et témoignent de l'amélioration significative du taux de pCR avec l'inclusion du carboplatine chez les patientes avec un CSTN. Plus précisément, les taux de pCR ont augmenté en moyenne d'environ 30 à 35 % avec l'anthracycline et taxane à entre 50 et 55 % lorsque le carboplatine était inclus (4).

Cependant, les agents de platine ont également des effets toxiques au niveau des organes chez les patientes qui reçoivent le traitement. En effet, des dommages aux reins (néphrotoxicité) surviennent fréquemment avec le cisplatine parce que celui-ci est excrété par les néphrons rénaux et donc ces néphrons ont des concentrations plus élevées de cisplatine que les autres organes du corps (151). L'ototoxicité est un autre effet toxique de ces agents causé par des dommages dans les cellules ciliées externes de la cochlée, ce qui résulte en perte de l'ouïe (152). Finalement, il y a aussi de la neurotoxicité (neuropathie sensorielle) causée par des dommages au cisplatine dans les ganglions de la racine dorsale de la moelle épinière (153). Cependant, la néphrotoxicité, l'ototoxicité et la neurotoxicité ne sont pas aussi courantes avec le carboplatine (149). Les effets secondaires dose-limitantes du carboplatine sont plus souvent la myélosuppression, la neutropénie et la thrombocytopénie (154). Ainsi, le carboplatine est actuellement l'agent de platine de premier choix utilisé chez les patientes avec un cancer du sein, démontrant une efficacité thérapeutique comparable au cisplatine mais avec un profil de toxicité plus favorable (155).

Mécanisme d'action et efficacité du carboplatine

Le carboplatine qui a été approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) en 1980 est l'un des principaux médicaments à base de platine utilisés pour plusieurs types de cancers (156). Pour être activé, le carboplatine doit traverser la membrane cellulaire. À l'intérieur de la cellule, la molécule subit une hydrolyse la rendant alors chargée positivement ce qui va lui permettre d'interagir et de se lier avec les molécules nucléophiles dans la cellule, y compris l'ADN, l'ARN et les protéines (157). Ce processus génère dans la cellule la formation d'adduits de platine par un processus de liaison covalente du carboplatine aux bases puriques, donnant des interactions ADN-protéine (157). Cette liaison entre l'ADN et le carboplatine peut produire des lésions dans l'ADN. La réticulation entre brins d'ADN est l'effet le plus cytotoxique, car il inhibe le processus de réplication, provoquant des changements qui génèrent des erreurs de réplication, avec l'accumulation de cellules en phase G2/M et l'induction d'apoptose (156, 158). L'alkylation d'un seul brin d'ADN peut être réparée facilement, mais les interbrins réticulés tels que ceux produits par les agents alkylants nécessitent des mécanismes de réparation plus complexes (149).

Mécanisme de résistance au carboplatine

La résistance à la chimiothérapie anticancéreuse est la capacité innée et/ou acquise des cellules cancéreuses à échapper aux effets des traitements et constitue un obstacle important à la réussite du traitement du cancer, en particulier dans le cadre métastatique où cela représente 90 % des échecs thérapeutiques (143). La chimiorésistance est dite innée quand une cellule cancéreuse naïve pour la chimiothérapie possède des mécanismes intrinsèques de protections naturelles contre certains agents chimio thérapeutiques. Cela peut être causé par exemple par des mutations génétiques préexistantes dans les tumeurs qui entraînent une diminution de la réactivité des cellules cancéreuses, telles que les cellules du CSTN à la chimiothérapie (159). Similairement, la chimiorésistance est dite acquise lorsqu'une cellule cancéreuse peut acquérir une

certaine résistance suite à l'exposition aux traitements de chimiothérapie et peut s'adapter en conséquence afin de survivre, et ce, via des mécanismes de sélection. Ces mécanismes peuvent comprendre des mutations ou des niveaux d'expression altérés des cibles médicamenteuses (159). Par exemple, il y a certains facteurs de transcription qui peuvent contribuer à la résistance (160). En effet, il a été vu que la transfection de cellules du cancer de l'ovaire avec le facteur de transcription SPF45 (RBM17) conférait une résistance au carboplatine (161).

Par après, la réparation de l'ADN est un autre mécanisme tout aussi important de résistance à la chimiothérapie, et ce, dans différents types de tumeurs humaines. La réparation par excision de nucléotides semble être le principal mécanisme par lequel les cellules restaurent l'intégrité de l'ADN après des dommages induits par le carboplatine, les agents alkylants et l'irradiation (162). Ainsi, plusieurs inhibiteurs de la réparation de l'ADN ont vu le jour pour contrer cette résistance. De même, étant donné que les gènes *BRCA1/2* jouent un grand rôle dans la réparation de l'ADN, il est possible que ces derniers jouent également un rôle dans la médiation de la réponse au traitement chimiothérapeutique dans certains cancers (163). En effet, *in-vitro*, il a été démontré que l'inhibition de la voie de l'anémie de Fanconi/BRCA peut augmenter la sensibilité au cisplatine dans les lignées cellulaires cancéreuses et que la réparation des défauts de cette voie peut induire une résistance au cisplatine (163).

Finalement, de plus en plus de preuves soutiennent le rôle important du microenvironnement tumoral (TME) dans la résistance aux médicaments en tant que principale raison de la rechute et de l'incurabilité de divers cancers (164). Le TME implique entre autres des cellules stromales normales, une matrice extracellulaire et plusieurs facteurs solubles, notamment des cytokines et des facteurs de croissance. Tous ces facteurs dans le TME peuvent jouer un rôle dans la résistance aux médicaments et il existe entre autres de nombreuses preuves de la surexpression de certaines chimiokines dont la protéine chimiotactique monocyttaire-1 (CCL2/MCP-1) qui favoriseraient la métastase tumorale, l'invasion et la résistance immunitaire (165). En effet, CCL2/MCP-1 est entre

autres connue pour initier la chimiorésistance aux médicaments à base de platine par l'activation de la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR en inhibant l'autophagie proapoptotique (166, 167). De plus, CCL2 dérivé du stroma induit la libération d'IL-6 par la cellule tumorale générant une résistance au carboplatine via l'activation de la voie PYK2 (positionnée en amont de la voie JAK1/STAT3), un médiateur essentiel de l'activation de la voie de survie (166).

Nouvelles approches thérapeutiques pour le CSTN

À ce jour, la plupart des patientes reçoivent quatre ou cinq types de chimiothérapie, mais souffrent toujours d'une progression rapide de la maladie avec une toxicité importante (4). Ainsi, certaines thérapies ciblées se sont développées récemment dans l'espoir d'augmenter l'efficacité des traitements. Parmi eux se retrouve les inhibiteurs des inhibiteurs de Trop2 tout comme le Sacituzumab govitecan qui font partie de la catégorie de médicament des conjugués anticorps (ADC) (168). Cet inhibiteur a été approuvé par la FDA en avril 2021 en tant que premier ADC pour le traitement des patientes ayant un CSTN et il a démontré un bénéfice significatif (avec un taux de réponse complète de 4 % et un taux de réponse partielle de 31 % pour 235 patients) chez les patientes CSTN qui ne répondent pas à une large gamme de chimiothérapies (168).

Il y a aussi l'immunothérapie qui est de plus en plus étudiée et qui est devenue le cinquième pilier de traitement pour plusieurs types de cancers, dont le CSTN (169). En effet, cette thérapie aide à renforcer ou à restaurer la capacité du système immunitaire à combattre le cancer. Ainsi, les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires permettent de bloquer les protéines du point de contrôle afin que les cellules du système immunitaire attaquent et tuent les cellules cancéreuses (169). Ces points de contrôle désignent diverses molécules chargées de prévenir une activité excessive du système immunitaire dans des conditions normales et les cellules cancéreuses du sein utilisent parfois ces points de contrôle pour éviter d'être attaquées par le système immunitaire (169). Le pembrolizumab, un anti-PD (mort programmée)-1 est l'un des inhibiteurs de point de

contrôle immunitaire le mieux étudié (170). Dans le cancer du sein précoce, l'ajout de pembrolizumab à la chimiothérapie néoadjuvante standard a augmenté le taux de pCR par 13.6% et survie sans évènement par 7.7% (170-172).

Finalement, la première thérapie ciblée pour les patientes avec un CSTN, exploitant le déficit de réparation de l'ADN sont les inhibiteurs de la poly (ADP-ribose) polymérase (PARPi) qui seront plus amplement expliqués ci-bas (4).

1.4 Les Poly (ADP-ribose) polymérases (PARP)

Les poly ADP-ribose polymérase (PARP) sont une famille de protéines impliquées dans de nombreux processus. Parmi les 17 membres de la famille PARP, les plus étudiés sont PARP1 et PARP2 jouant un rôle important dans la réponse aux dommages à l'ADN (173).

1.4.1 Architecture des PARPs

La protéine PARP1 a une architecture modulaire avec des fonctions de liaison à l'ADN, catalytiques et régulatrices réparties entre 7 domaines; trois domaines de doigt de zinc de liaison à l'ADN N-terminal, un domaine BRCA1 C-terminus-like (BRCT), un domaine riche en tryptophane-glycine-arginine (WGR), un domaine régulateur PARP et un domaine catalytique PARP (**figure 5**) (174).

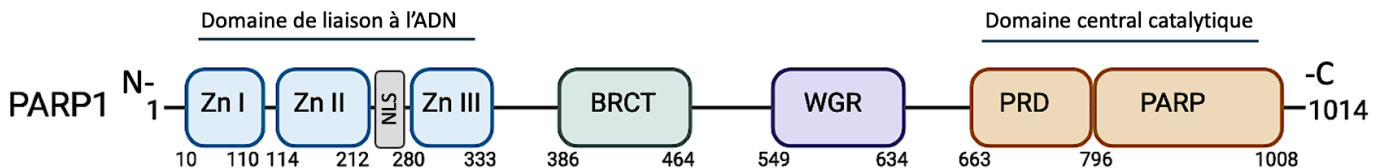


Figure 5. Représentation schématique des domaines PARP1 humains. PARP1 contient sept domaines identifiés : trois domaines à doigts de zinc, avec la séquence de localisation nucléaire (NLS), un domaine BRCT, un domaine riche en tryptophane-glycine-arginine (WGR), un domaine régulateur PARP (PRD) et un domaine PARP catalytique. Les chiffres en dessous représentent le nombre d'acides aminés. Figure adaptée de Till et al., 2008 (2).

La région N-terminale de PARP1 contient les deux domaines à doigts de zinc homologues, Zn1 et Zn2, qui reconnaissent des structures d'ADN particulières et qui stimulent l'activité de PARP1 (174, 175). Une séquence de localisation nucléaire se trouve entre le Zn2 et le troisième doigt de zinc, Zn3, qui lui n'est pas directement lié à la capacité de liaison des dommages à l'ADN de PARP1, mais il est essentiel à son activation catalytique (175, 176). Par la suite on retrouve le domaine BRCT situé dans la région centrale et favorisant l'interaction de PARP1 avec les protéines de réparation de l'ADN (par exemple BRCA1, BRCA2) par son autoparylation (177). Le domaine WGR est situé à côté du domaine catalytique et il a récemment été démontré que sa fonction pourrait être impliquée dans l'activation de PARP1 dans des conditions de stress oxydatif (178). Finalement, le domaine catalytique c-terminal (CAT) de PARP1 utilise le substrat NAD⁺ pour synthétiser les chaînes PAR sur lui-même, sur des histones et diverses protéines impliquées dans la réparation de l'ADN. Le site actif du CAT exerce trois activités distinctes : la fixation initiale de l'ADP-ribose aux chaînes latérales d'acides aminés, l'allongement du polymère avec des modules ADP-ribose supplémentaires et l'introduction de ramifications dans la chaîne polymère (174). La plupart des analyses structurales de PARP-1 se sont concentrées sur le domaine CAT étant donné qu'il existe une panoplie de structures du domaine CAT liées aux inhibiteurs de PARP (174).

1.4.2 Rôles des PARPs liés à l'ADN

Les PARPs sont impliquées dans un certain nombre de voies cellulaires, notamment la régulation de la transcription, la réplication de l'ADN, la réparation des dommages à l'ADN et l'apoptose. (**Figure 6**) (179). Les mécanismes par lesquels les PARPs agissent seront décrits plus amplement ultérieurement.

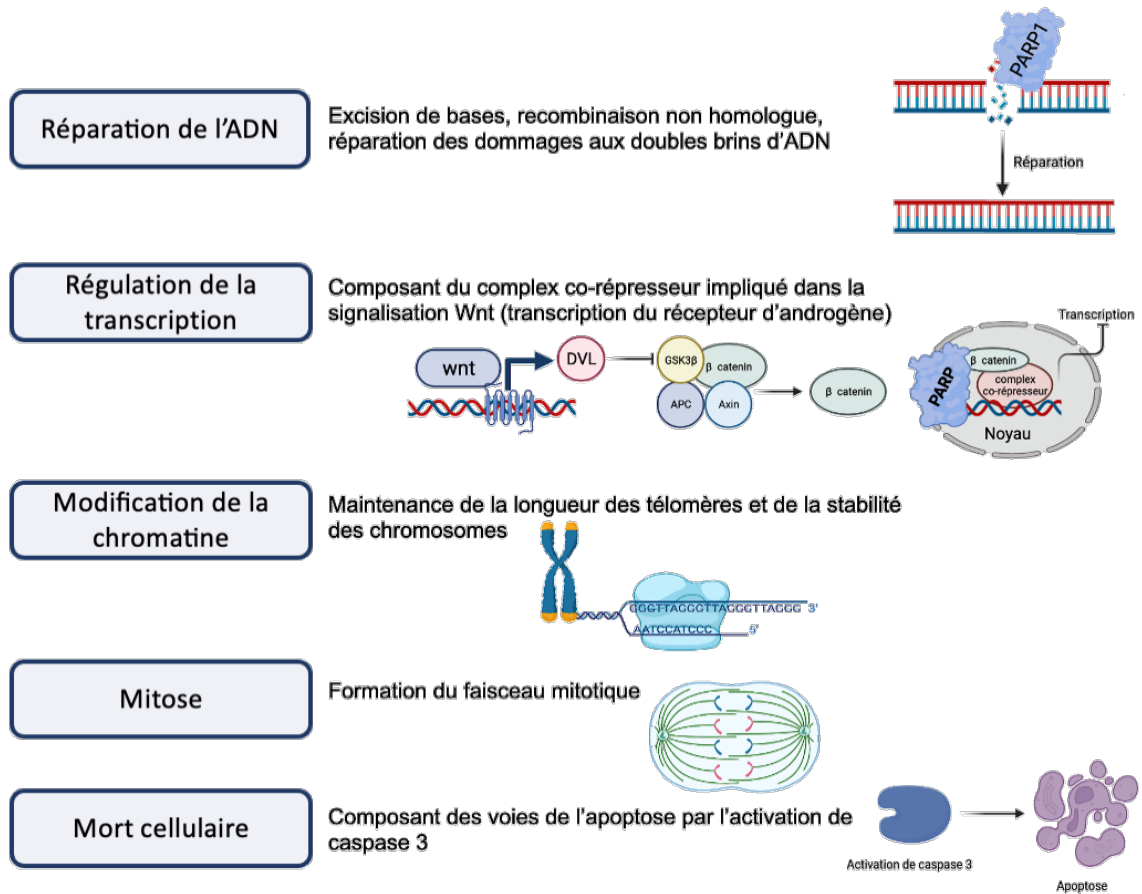


Figure 6. Les différents rôles des protéines PARPs. Les PARPs font partie des protéines cellulaires impliquées dans le système de réponse aux dommages de l'ADN en vue du maintien de l'intégrité du génome. Ces fonctions incluent la réparation de l'ADN par l'excision de bases, la régulation de la transcription, la modification de la chromatine par la cohésion des télomères, la formation du faisceau mitotique et l'apoptose. Figure adaptée de Sonnenblick et al., 2015 (180).

1.4.3 Rôles des PARPs au-delà de l'ADN

Cependant, alors que PARP1 est largement connu pour ses activités dans la réparation de l'ADN, il a également été démontré qu'il est impliqué dans plusieurs autres fonctions des cellules cancéreuses (181). En effet, PARP1 régule la signalisation des chimiokines, ce qui peut faciliter la dissémination tumorale à plusieurs étapes clés de la métastase, notamment l'inflammation, l'angiogenèse, l'EMT, l'adhérence des cellules tumorales à l'endothélium, la migration cellulaire et l'extravasation des cellules cancéreuses au site métastatique (182).

PARP1 et l'inflammation

Les PARPs sont impliqués dans plusieurs processus inflammatoires. En effet, PARP1 régule la production de plusieurs molécules inflammatoires, dont les facteurs de transcription, les cytokines, les chimiokines, la cyclooxygénase-2 et la synthase d'oxyde nitrique inducible (iNOS) (183). Ainsi, l'inhibition enzymatique de PARP ou l'inactivation du gène PARP1 entraîne l'inhibition de la migration cellulaire vers les sites inflammatoires (184). De plus, un ensemble commun de médiateurs inflammatoires est régulé à la fois par PARP1 et PARP2, ce qui indique que ces deux enzymes modulent l'inflammation par des mécanismes qui se chevauchent partiellement (184).

PARP1 et l'angiogenèse

De récentes études ont démontré que l'inhibition de l'activité PARP retarde la formation de tumeurs au cours de la carcinogenèse cutanée, ce qui a été attribué à la modulation des facteurs de transcription qui sont largement impliqués dans les réponses cellulaires, y compris la prolifération, l'inflammation et l'angiogenèse (185). Aussi, une réduction de la vascularisation tumorale et une régulation négative de l'expression de gènes impliqués dans l'angiogenèse ont été détectées au cours de la carcinogenèse dans la peau de souris traitées avec un PARPi (185, 186). Ainsi, l'utilisation de PARPis semble supprimer l'angiogenèse, qui est une exigence essentielle pour la croissance des tumeurs primaires ainsi que pour le processus métastatique (186).

PARP1 et le microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral comprend d'autres caractéristiques où PARP1 joue un rôle en dehors de l'angiogenèse, telle que l'autophagie, les cellules initiatrices de tumeurs et la réponse immunitaire associée au cancer (187). La réponse hypoxique est médiée par la stabilisation des facteurs inducibles par l'hypoxie (HIF), et justement, un des nombreux rôles de PARP1 est de protéger les HIFs de l'ubiquitylation et de la dégradation

protéasomique, mais fonctionne aussi comme un co-activateur transcriptionnel à leur égard (188). La relation entre les voies de signalisation HIF et PARP1 a été décrite dans des modèles de carcinogenèse cutanée où une réduction de la protéine HIF1 α et de l'ARNm est observée lors de l'inhibition ou du knock-down de PARP1 (185, 187). De la même manière, dans le cerveau des souris, une réduction de l'accumulation de HIF1 α pendant l'hypoxie est observée après inhibition de PARP (187).

Les PARPs lient la réponse aux dommages à l'ADN avec l'activation de l'autophagie (187). De plus, de récentes études ont démontré l'implication de PARP1 dans l'autophagie induite par la privation de nutriments de microenvironnement (189, 190). Ainsi, l'utilisation d'un PARPi retarde l'autophagie induite par la famine (187). Plusieurs études ont démontré que l'autophagie doit être envisagée comme cible dans le cancer lors de l'induction de dommages à l'ADN et par conséquent, de nouvelles stratégies basées sur le concept de létalité synthétique avec des PARPis doivent être explorées (191, 192).

Finalement, pour ce qui est des cellules initiatrices de tumeurs, tout comme les cellules souches cancéreuses (CSCs), elles sont considérées fondamentales dans la progression tumorale en raison de leurs résistances à la radiothérapie et chimiothérapie ainsi qu'à leur capacité d'initiation tumorale, propriétés invasives et leurs propensions à échapper aux réponses immunitaires (187, 193). De nombreuses études ont suggéré que PARP1 répondrait aux critères pour être considéré comme une cible thérapeutique attrayante pour attaquer les CSCs. En effet, des niveaux nettement plus élevés d'activité PARP1 ont été signalés dans les CSC de glioblastome provenant d'échantillons de patientes xéno greffées par rapport aux cellules non CSC dans des conditions basales (193). De plus, l'utilisation d'un PARPi, l'olaparib, a réduit la survie des CSCs, l'expansion et les propriétés d'initiation tumorale *in-vivo* de ces cellules, révélant leur dépendance à la fonction de PARP1 (193).

PARP1 et les métastases à distance

PARP1 exerce un effet pro-métastatique en accélérant plusieurs étapes du processus métastatique, notamment l'invasion, l'extravasation, la survie pendant la circulation et l'initiation des métastases (194). En effet, le knock-down génétique et l'inhibition de l'activité enzymatique de PARP1 entraînent des défauts significatifs du potentiel métastatique des cellules d'adénocarcinome pulmonaire. De plus, il a également été démontré que PARP1 favorise les métastases en utilisant un mécanisme indépendant de la réparation de l'ADN (194, 195). En effet ce mécanisme se ferait via une régulation positive de la transcription de ses gènes cibles, S100A4 et CLDN7, qui eux interviennent dans les fonctions pro-métastatiques de PARP1 (194). Ainsi, toutes ces preuves pointent vers un rôle plausible de PARPi dans l'inhibition du développement de métastases à distance par des mécanismes dépendants et indépendants de la réparation de l'ADN.

1.5 Les inhibiteurs de PARP (PARPi)

La motivation initiale au développement des inhibiteurs de PARP est venue de la nécessité de développer des outils pour étudier le rôle de l'enzyme elle-même. Cependant, pendant la progression des recherches, d'autres applications pour les PARPis ont été identifiées. En 1992, il a été proposé par Thomas Lindahl que ces composés chimiques inhibaient l'activité catalytique de PARP1 mais pas sa liaison à l'ADN et, puisque l'enzyme doit être poly(ADP-ribosyl)ée pour se dissocier de l'ADN, elle pouvait donc rester liée causant une obstruction physique à la réparation de la rupture (196). De plus, il a été vu que la suppression des deux enzymes PARP1 et PARP2 est létale pour l'embryon tandis que les souris knock-out PARP1 ou knock-out PARP2 sont viables (197). Ainsi, il existe des différences subtiles entre la suppression de PARP1 et l'inhibition de PARP2 et c'est un concept important, car les inhibiteurs inhibent les deux enzymes, généralement avec une puissance similaire et donc l'inhibition est plus similaire à la suppression des deux enzymes (197).

1.5.1 Mécanisme d'action des PARPis

Les PARPis ciblent les enzymes PARP1/2 et ont deux principaux mécanismes d'action: la létalité synthétique et la capture des complexes PARP-ADN (198).

1.5.1.1 Létalité synthétique

Le concept de létalité synthétique survient lorsque l'action concertée de deux mutations génétiques ou plus entraîne la mort cellulaire, alors que chaque mutation seule n'est pas létale. Lorsque survient une seule mutation, une voie compensatoire alternative pouvant remplir la même fonction s'actionnera, permettant ainsi la viabilité cellulaire. Cependant, lorsque de nombreuses ou toutes les voies alternatives sont également perturbées, la fonction ne peut pas être exécutée efficacement, mettant donc en péril la viabilité cellulaire. Ce concept a fourni de nouvelles opportunités pour le développement de thérapies ciblées et explique la destruction sélective des cellules cancéreuses présentant des défauts par certains agents (199).

PARPis et mutations *BRCA1/2*

Les rôles de BRCA1 sont multiples et comprennent la réplication de l'ADN, le contrôle des points de contrôle du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, la régulation de la transcription, l'ubiquitination des protéines, l'apoptose et le remodelage de la chromatine (135). Par après, BRCA2 joue un grand rôle dans la voie RH en interagissant avec des protéines jouant un rôle majeur dans la réparation de l'ADN, en particulier RAD51 (200, 201). RAD51 catalyse l'appariement homologue et l'échange de brins d'ADN et son appariement avec BRCA2 est nécessaire pour ses fonctions (135, 200, 201). En effet, la présence de BRCA2 est nécessaire pour prévenir des erreurs majeures tout comme des aberrations chromosomiques comme c'est le cas dans les cellules déficientes en BRCA2 (135). Ainsi le rôle de BRCA1 et BRCA2 dans la facilitation de la recombinaison homologue ordonnée soit la clé du maintien de l'intégrité génomique et les cellules déficientes en BRCA1/2 sont incapables d'utiliser de façon efficace efficacement la voie

RH et meurent de l'accumulation des cassures d'ADN non réparées causées par le PARPi, ce qui illustre bien le concept de létalité synthétique (**Figure 7**) (202-204).

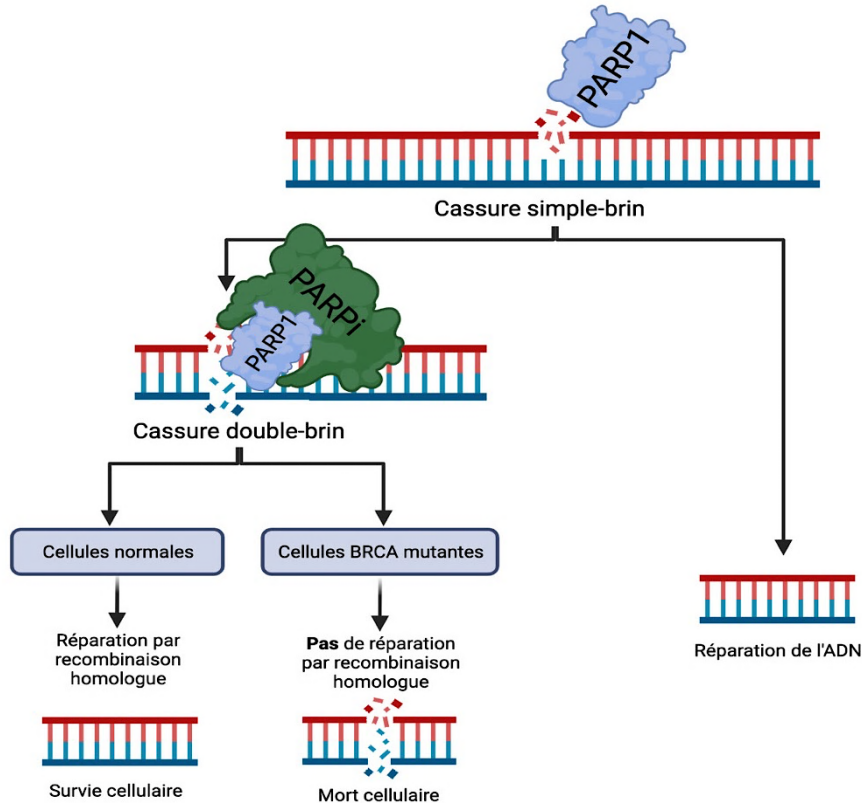


Figure 7. Concept de létalité synthétique des PARPis. L'inhibiteur de PARP empêche la libération de PARP1 sur l'ADN ce qui conduit à une accumulation de cassures d'ADN double brin. Les tumeurs mutantes BRCA sont déficientes dans la réparation de l'ADN donc les dommages survenant après l'activité PARPi ne peuvent pas être correctement réparés dans ces cancers et aboutissent finalement à une instabilité chromosomique et à la mort cellulaire. Par contre, dans les cellules normales les processus de réparation de l'ADN restent intacts. Figure adaptée de Saijo, N., et al. (2, 3).

En effet, dans les cellules en perte de fonction de BRCA1/2, donc déficientes en HR, les PARPis empêchent la libération de PARP1 sur l'ADN conduisant à une accumulation de cassures simple brin qui sont converties en DSB. Ces cassures sont réparables par la HR dans les cellules normales conservant une copie de BRCA1/2, mais ne peuvent pas être réparées dans les cellules cancéreuses dépourvues de BRCA1/2 et cela entraînent des réarrangements complexes des chromatides ainsi que la mort cellulaire (**Figure 7**) (205, 206).

Réponse aux PARPi au-delà des mutations BRCA

Bien que les PARPi ont été initialement développés pour induire une létalité synthétique dans les cellules porteuses d'une mutation germinale *BRCA1/2*, ce phénomène a également été démontré chez des cellules ayant le phénotype BRCAness (207). En effet, le bénéfice clinique de certains PARPi a été démontré chez des cellules dépourvues de protéines impliquées dans la HR autre que *BRCA1/2*, telles que *RAD51*, *ATM*, *PALB2*, *ATR* et *PTEN* (208). Une étude avait démontré que chez le cancer de l'ovaire, 24 % des patientes ne présentant pas de mutations *BRCA1/2* répondaient aux PARPi, ce qui était donc expliqué par l'effet BRCAness (209). De plus, plusieurs études et notre laboratoire avons démontré l'efficacité préclinique des PARPi dans des lignées cellulaires du CSTN ainsi que des xénogreffes dérivées de patientes CSTN qui ont des mutations *BRCA* (*BRCA^{MUT}*) mais aussi ceux qui n'avaient pas de mutations *BRCA*, *BRCA* de type sauvage (*BRCA^{WT}*) (210-212). De plus, deux essais cliniques ont décrit l'efficacité des PARPi chez les patientes avec un cancer du sein, quel que soit le statut de mutation *BRCA*. En effet, le rucaparib a été associé à une diminution de plus de 75 % de l'ADN tumoral circulant chez 58 % des patientes ayant un CSTN (213). Ainsi que l'olaparib qui a démontré un taux de réponse objective de 56 % chez les patientes avec un CSTN, qui était autant *BRCA^{MUT}* que *BRCA^{WT}* (214).

Ainsi, l'association du phénotype BRCAness avec une plus large gamme de mutations génétiques peut étendre l'utilité des PARPi au-delà des tumeurs malignes de la reproduction pour lesquels ils étaient initialement destinés (208).

1.5.1.2 Capture des complexes PARP-ADN

L'autre mécanisme exercé par les PARPi, la capture des complexes PARP-ADN, peut expliquer pourquoi, bien que tous les inhibiteurs de PARP utilisés en clinique aient une activité inhibitrice catalytique similaire, leurs cytotoxicités sont assez différentes. La capture des complexes PARP-ADN est définie comme l'immobilisation de PARP1/2 sur l'ADN endommagé (215). Ainsi, les complexes PARP-ADN capturés entraînent des lésions

de l'ADN qui ne sont pas contournées par les fourches de réplication et induisent une cytotoxicité (**figure 8**) (198, 215, 216). Différents PARPis varient dans leur capacité de capture PARP-ADN. Il a été démontré que la capacité de capture de PARP-ADN est corrélée à la puissance cytotoxique. Ainsi, il a été prouvé que les PARPis les plus puissants dans ce mécanisme sont le talazoparib, suivi de l'olaparib, puis du véliparib (217).

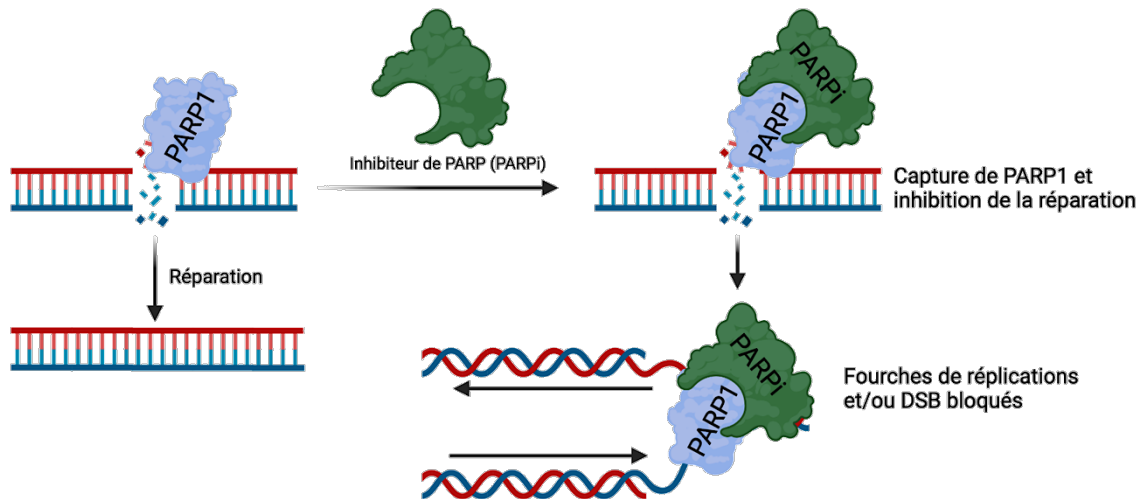


Figure 8. Capture des complexes PARP-ADN. Les inhibiteurs de PARP agissent aussi comme des pièges et séquestrent PARP1/2 sur l'ADN endommagé et ces complexes PARP-ADN sont cytotoxiques. Figure adaptée de Keung et al., 2019 (218).

1.5.2 Signification clinique dans les cancers

Les PARPis sont l'un des agents ciblés les plus importants actuellement en cours d'essais cliniques pour plusieurs types de cancers, dont le cancer du sein, de l'ovaire, du pancréas, de l'estomac, des poumons, du cerveau, ainsi que certains mélanomes et tumeurs solides (202). Plusieurs inhibiteurs de PARP sont actuellement ou ont été testés en clinique pour le traitement de ces cancers soit en tant qu'agent seul ou en association avec d'autres agents cytotoxiques. Parmi eux se retrouvent l'olaparib, le rucaparib, le niraparib, le véliparib, le talazoparib, le stenoparib, E7016, le pamiparib et ABT-767 (202). Parmi ces inhibiteurs, l'olaparib a été approuvé par la FDA pour le traitement du cancer du sein, de l'ovaire, du pancréas et de la prostate. Le rucaparib a été approuvé pour le traitement des

cancers de l’ovaire et de la prostate et le niraparib seulement pour le cancer de l’ovaire. En ce qui concerne le talazoparib, il a été accepté par la FDA pour le traitement du cancer du sein avec mutation germinale *BRCA*, HER2 négatif localement avancé ou métastatique, suite à des études de phases 2 et 3 (EMBRACA) (219).

1.5.3 Signification clinique dans le CSTN

Les PARPis en monothérapie

Actuellement, seuls deux inhibiteurs de PARP ont été approuvés par la FDA pour le traitement du CSTN : l’olaparib et le talazoparib. Cependant, d’autres inhibiteurs de PARP tout comme le niraparib et le rucaparib qui ont été approuvés pour le traitement du cancer de l’ovaire sont étudiés en ce moment dans de multiples essais cliniques afin d’évaluer leur activité en monothérapie ou en combinaison avec d’autres médicaments pour le cancer du sein (220).

Sur la base des résultats de deux essais de phase III : OlympiAD et EMBRACA, l’olaparib et le talazoparib sont actuellement approuvés par la FDA et Santé Canada en monothérapie pour le traitement du CSTN métastatique ayant une mutation germinale *BRCA1/2* (219, 221). En effet, une méta-analyse des études OlympiAD et EMBRACA a démontré que les PARPis retardaient considérablement le délai de détérioration de la qualité de vie (4). Aussi, par rapport à la chimiothérapie standard, l’utilisation des PARPis en monothérapie a été associée à une augmentation significative de la survie sans progression (PFS) et du taux de réponse objectif (ORR) qui sont est définis respectivement comme le temps écoulé entre la randomisation de l’essai clinique et la progression de la maladie ou le décès et la proportion de patientes dont la lésion cible est complètement ou partiellement réduite. L’olaparib a également démontré une amélioration de la survie sans maladie invasive chez les patientes atteintes d’un cancer du sein au stade précoce (222), menant à son approbation par Santé Canada pour une utilisation en milieu adjuvant (223). De plus, l’utilisation d’un PARPi semble réduire le risque d’effets secondaires courants de la chimiothérapie, comme le capecitabine, tels que la neutropénie et le

syndrome d'érythrodyesthésie palmo-plantaire (4). Par contre, il y a aussi des effets indésirables associés aux PARPis qui comprennent entre autres des nausées, de l'anémie, une thrombocytopénie, des arthralgies et des myalgies. Ainsi, ces effets indésirables entraînent les entreprises pharmaceutiques à développer de nouveaux PARPis présentant une plus grande efficacité avec de plus faibles doses, permettant alors de diminuer ces effets indésirables (202).

Cependant, l'un des défis cliniques est que les patientes traitées par des PARPis en monothérapie développent souvent une résistance thérapeutique dans le cadre métastatique. Ces mécanismes moléculaires de résistance sont principalement liés à la restauration de l'activité de la recombinaison homologue, par exemple, la récupération de la fonction BRCA1/2 (224). Ainsi, une fois que les cellules développent un mécanisme de résistance, celles-ci continuent de se diviser et de se propager, et le traitement devient alors moins efficace (224). Toutefois, les combinaisons d'agents thérapeutiques ciblant des voies moléculaires différentes, mais interagissant ensemble ont le potentiel d'améliorer la survie des patientes ainsi que de diminuer certains mécanismes de résistance (225). Par conséquent, il est probable que les PARPis doivent être administrés en combinaison avec un autre agent thérapeutique ce qui permettrait de plus d'augmenter leur efficacité ainsi que leurs champs d'action.

Les PARPis en thérapie combinée

L'effet des inhibiteurs de PARP est d'autant plus prometteur lorsqu'utilisé en combinaison avec d'autres agents thérapeutiques (226-228). En effet, il y a entre autres la combinaison avec les agents de radiations qui a récemment, reçu beaucoup d'attention. Cette combinaison est particulièrement efficace, car les rayonnements ionisants (IR) provoquent des dommages à l'ADN dont certaines tumeurs sont particulièrement sensibles (229). De plus, cette combinaison PARPi/IR peut provoquer une inhibition tumorale tout en ayant de faibles effets sur les tissus normaux en prolifération, suggérant une fenêtre thérapeutique exploitable (229).

Par la suite, les PARPis ont été classés dans la catégorie de traitements qui ont montré une synergie avec l'immunothérapie dans les études précliniques et cliniques précoces, car, les PARPis, inhibant la réparation de l'ADN et augmentant le nombre de mutations tumorales, font de la tumeur une cible encore plus attrayante pour l'immunothérapie (4, 228). L'efficacité des PARPis a également été étudiée en association avec diverses thérapies ciblées. Par exemple, les inhibiteurs de la kinase WEE1 (WEE1i) activent la kinase dépendante de la cycline (CDK)1 et CDK2 pour réguler la transition G1/S du cycle cellulaire et induire un stress de réplication et des dommages à l'ADN (230, 231).

Finalement, la combinaison des PARPis avec des agents de chimiothérapie à base de platine semble être une stratégie efficace, car suite à un dommage à l'ADN provoqué par un de ces agents, comme le carboplatine, c'est la réparation par BER qui va venir prendre le dessus et les PARP1/2 sont impliquées dans cette voie de réparation de l'ADN (232). Pendant le processus de réparation, des lésions monobrin toxiques sont générées et il est donc nécessaire que le BER soit étroitement régulée afin d'éviter une accumulation de ces intermédiaires toxiques (233). Ainsi, il est plausible de présumer que la combinaison entre les PARPis et le carboplatine serait une stratégie tout à fait profitable pour les patientes (234). En effet, certaines preuves pré-cliniques ont démontré que les PARPis potentialisent les effets des sels de platine *in-vivo*, et des données émergentes suggèrent une synergie entre les PARPis et les composés de platines dans les cancers du sein BRCA^{MUT} (235). BROCADE3 était un essai de phase III randomisé, qui évaluait l'association du véliparib avec le carboplatine/paclitaxel par rapport à l'association du placebo avec le carboplatine/paclitaxel (236). Parmi les patientes qui n'avaient pas reçu de chimiothérapie antérieure pour une maladie métastatique, les patientes recevant la chimiothérapie avec le veliparib ont démontré une plus grande amélioration de la survie sans progression par rapport à ceux avec la chimiothérapie sans veliparib avec des bénéfices durables (237).

1.6 Projet de maîtrise

1.6.1 Justifications

Parce que le CSTN est une maladie hétérogène, les traitements sont complexes et impliquent souvent plusieurs modalités thérapeutiques, telles que la chimiothérapie, la chirurgie et la radiothérapie. Ainsi, l'avènement des inhibiteurs de PARP représente une classe prometteuse de composés étant donné que ceux-ci ont démontré leur efficacité chez des patientes atteintes d'un CSTN. De plus, le talazoparib a été approuvé par la FDA pour une utilisation en monothérapie chez les patientes porteuses de mutations germinales *BRCA1/2*.

Cependant, les PARPis en monothérapie sont souvent associés à une résistance acquise soulevant de la sorte quelques questionnements. Dans de récentes études cliniques sur le CSTN, les PARPis ont été testés en combinaison avec d'autres agents tels que des agents de chimiothérapie. L'administration concomitante et continue d'un PARPi avec du carboplatine a été associée à une toxicité accrue (4). Certaines données suggèrent même qu'un schéma posologique en séquentiel des deux agents puisse réduire la toxicité (238). En effet, le prétraitement au carboplatine s'est déjà avéré être une approche concevable pour augmenter l'absorption cellulaire de l'olaparib et sa clairance, ce qui peut améliorer l'efficacité et diminuer la toxicité (239). De plus, de récentes études ont démontré qu'il y avait des preuves de toxicité plus accrue lorsqu'un inhibiteur de PARP était administré en même temps qu'un inhibiteur du cycle cellulaire (WEE1) par rapport à une approche séquentielle (231). Ainsi, ces données suggèrent que les PARPis en combinaison avec la chimiothérapie peuvent être utilisés avec un schéma posologique en séquentiel avec une meilleure efficacité et éventuellement moins de toxicité que les schémas thérapeutiques simultanés.

Finalement, bien que de récentes études ont observé l'efficacité des PARPis chez des patientes n'ayant pas de mutation *BRCA1/2*, la plupart des essais cliniques se concentrent sur les patientes porteuses de cette mutation. Cependant, ces mutations germinales dans

les gènes *BRCA1/2* ne sont associées qu'à environ 6% des cancers du sein. En effet, des mutations dans plusieurs des gènes jouant un rôle dans les mécanismes de réparation de l'ADN sont associées au phénotype de BRCAness et certaines de ces tumeurs *BRCA^{WT}* répondent aux PARPi autant qu'à la chimiothérapie. De plus, vu le rôle prépondérant de PARP1 dans les nombreuses étapes de la cascade métastatique, et l'effet des PARPi dans l'inhibition de métastases, on a voulu voir l'effet de différentes stratégies de séquençage de l'administration d'un PARPi, le talazoparib, et du carboplatine dans le CSTN dans le cadre métastatique chez les patientes *BRCA^{MUT}*, mais aussi chez celles *BRCA^{WT}*.

1.6.2 Hypothèse

En raison de l'efficacité préclinique et clinique des PARPi en monothérapie dans le CSTN ainsi que leur efficacité améliorée de leur administration en combinaison, nous ont amenés à élaborer l'hypothèse suivante : L'administration d'un PARPi en combinaison avec le carboplatine suivant un schéma de traitement séquentiel serait plus efficace sur l'inhibition de tumeur primaire et l'inhibition du développement de métastases à distance. De plus, ce schéma thérapeutique composé d'un PARPi et d'un agent de chimiothérapie pour les patientes avec un CSTN *BRCA^{WT}* autant que pour ceux *BRCA^{MUT}* pourrait améliorer significativement leur survie.

1.6.3 Objectifs

Les objectifs suivants ont été déterminés afin de répondre à l'hypothèse précédemment citée.

Objectif 1 : Étudier *in-vivo* l'impact de ces différentes stratégies de la combinaison du talazoparib avec le carboplatine en séquentiel sur l'inhibition de tumeurs, la toxicité et le développement de métastases. Cela sera effectué grâce à des modèles de xénogreffes orthotopiques ainsi que par la quantification de micrométastases pulmonaires et hépatiques *in-vivo*.

Objectif 2 : Déterminer *in-vitro* l'impact de différentes stratégies de traitement en séquentiel d'un PARPi puissant, le talazoparib et le carboplatine, sur les événements métastatiques. Cela sera effectué par des expériences de migration et d'invasion cellulaire *in-vitro*, ainsi que la quantification de chimiokines suivie de ELISAs.

Chapitre 2 – Matériel et méthodes

2.1 Lignées et cultures cellulaires

Nous avons sélectionné les lignées cellulaires CSTN suivantes, qui provenaient à l'origine de patients, en fonction de leurs potentiels métastatique perçue dans la littérature, ainsi que leurs sensibilités aux inhibiteurs de PARP (**Tableau 3**). Les lignées cellulaires ont été obtenues soit auprès de l'ATCC ou d'une collaboration avec le JW Gray Laboratory. Finalement, toutes les lignées cellulaires ont été validées par empreinte ADN à l'aide d'une analyse répétée à court terme (STR) effectuée par Génome Québec (microsatellite geneprint 10) (Montréal, Canada), effectuée pour la dernière fois en mars 2021, et étaient exemptes de mycoplasmes, testées à l'aide du kit de détection de mycoplasmes Mycoalert (Cat #LT07, Lonza).

Tableau 3. Lignées, leur histologie, statut BRCA et le milieu de culture utilisé

| Nom de la lignée | Site & Histologie | Statut BRCA | Milieu de culture utilisé |
|------------------|---|---------------------------------------|---------------------------|
| MDAMB231 | Carcinome canalaire infiltrant dérivé de métastases pleurales (240, 241). | BRCA ^{WT} | DMEM + 10% FBS |
| MDAMB436 | Carcinome canalaire infiltrant dérivé de métastases pleurales (240, 241). | BRCA1 ^{MUT} | DMEM + 10% FBS |
| MX1 | Dérivée d'un carcinome canalaire infiltrant dérivé de métastases pleurales (240, 241). | BRCA1-deleted et BRCA2 ^{MUT} | RPMI-1640 + 10% FBS |
| HS578T | Dérivée d'un carcinosarcome et d'origine épithéliale (242). | BRCA ^{WT} | DMEM + 10% FBS |
| HCC1806 | Carcinome acantholytique squameux issu d'une tumeur primaire d'une patiente (243, 244). | BRCA ^{WT} | RPMI-1640 + 10% FBS |
| HCC1395 | Carcinome canalaire invasif provenant d'une tumeur de stade I (244, 245). | BRCA2 ^{MUT} | RPMI-1640 + 10% FBS |
| BT549 | Dérivé d'une tumeur canalaire papillaire invasive (244). | BRCA ^{WT} | RPMI-1640 + 10% FBS |

DMEM: Milieu Eagle Modifié de Dulbecco, provenant de Gibco (11965-118); FBS : Sérum Bovin Fœtal, provenant de Gibco (cat #12483020); RPMI-1640 : Milieu 1640 de l'Institut Roswell Park Memorial, provenant de Gibco (cat #11875-119). Toutes les cellules ont été maintenues dans des incubateurs à 37 °C, 5 % de CO₂.

2.2 Xénogreffes orthotopiques

En premier lieu, toutes les expérimentations animales ont été approuvées par le Comité Institutionnel de Protection des Animaux (CIPA) du Centre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM) sous le protocole C17017SHs. Le protocole pour les xénogreffes orthotopiques a été mis en place à partir de celui de Lorns et al. (246). Les critères d'évaluation de cette expérience comprennent la croissance de la tumeur primaire, le volume de la tumeur primaire à la nécropsie, la quantification des métastases à distance et la toxicité, évaluée par le poids des souris et les paramètres hématologiques. Tout d'abord, des études pilotes ont été menées permettant premièrement de déterminer le nombre de cellules nécessaires à la croissance tumorale et aux métastases potentiellement distantes. En deuxième lieu cela permettait aussi de déterminer le temps de latence de la croissance tumorale et des métastases à distance pour chaque modèle afin de standardiser la date de l'autopsie. Ces études pilotes ont été menées précédemment au laboratoire dans deux modèles de lignée cellulaire (MDMAB231 et HCC1806), et j'ai moi-même mené l'étude pilote pour MX1. Nous avons sélectionné deux lignées cellulaires humaines du CSTN BRCA^{WT} qui étaient soit résistantes au PARPi, MDAMB231, soit résistantes au carboplatine, HCC1806, et une lignée cellulaire humaine BRCA^{MUT}, MX1, sensible au PARPi (**Figure 1 en annexe**).

Pour ces trois modèles de xénogreffe orthotopique, les études pilotes ont d'abord été menées sur 2 ou 5 millions de cellules implantées dans chaque coussinet adipeux mammaire pour une seule souris. Les volumes de tumeurs et les signes de détresse chez l'animal ont été notés. Toutes les expériences ont été réalisées avec des souris femelles NOD-SCID gamma (NSG) (étant immunodéficientes) âgées de 6 à 8 semaines (Stock # 005557, Jackson Laboratory). De plus, les souris ont été acclimatées pendant 2 semaines dans les animaleries du CRCHUM avant l'implantation de la tumeur.

2.2.1 Préparation cellulaire

Au jour de l'injection, les cellules pour les xéno greffes de souris ont été lavées, détachées à la trypsine puis comptées pour obtenir une concentration finale de 5 millions de cellules dans 0,2 ml pour MDAMB231 et de 2 millions de cellules dans 0,2 ml pour MX1 et HCC1806. Le tout étant constitué de 50 % de Matrigel (Matrix, Phenol Red-free, Corning), 25 % de PBS (Phosphate-Buffered Saline) et 25 % de collagène.

2.2.2 Injections dans le coussinet adipeux mammaire et suivi des souris

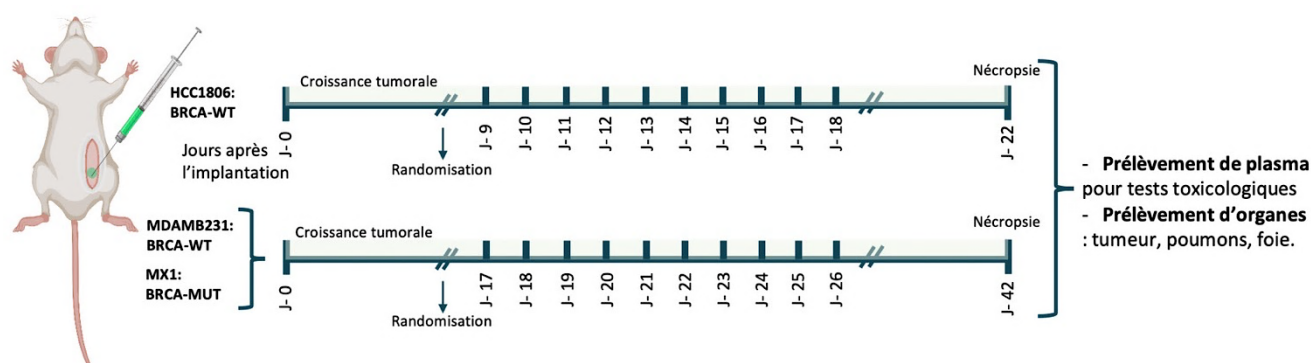


Figure 9. Modèle de xéno greffe orthotopique de HCC1806, MDAMB231 et MX1 chez des souris NSG. La randomisation a été effectuée au jour 8 après l'implantation pour HCC1806 et au jour 16 pour MDAMB231 et MX1. Les traitements ont été administrés pendant 9 jours puis la nécropsie a eu lieu au jour 22 (4 jours après la fin de traitement) pour HCC1806 et au jour 42 (16 jours après traitement) pour les deux autres lignées. À la nécropsie, le plasma a été récolté par ponction cardiaque, en plus de la tumeur primaire, les poumons et le foie.

L'analgésie préopératoire fut réalisée avec du carprofen (20 mg/kg) par voie sous-cutanée, une heure avant la chirurgie. De plus, du Tylenol fut donnée dans de l'eau une journée avant, pendant, et une journée après la chirurgie. Une fois anesthésiées à l'isoflurane, les souris sont ensuite placées sur un champ stérile en position de décubitus dorsal et une incision a été pratiquée au-dessus de la 4^e glande mammaire, permettant d'implanter 0,2 ml de cellules dans le coussinet adipeux mammaire sous vision directe. À la fin de l'opération, la peau a été refermée avec une suture 6-0 vicryl de façon sous-cutanée inversée. Par la suite, 2-3 gouttes d'une solution de bupivacaine/lidocaine (2mg/kg) furent déposées sur la plaie pour une durée de 3-5 minutes. Pendant les deux jours post-opératoires, les souris ont été soigneusement surveillées pour les risques de

détresses. Les souris ont été pesées et les volumes tumoraux mesurés deux fois par semaine avec un vernier digitale, jusqu'à atteindre un volume tumoral moyen de 150 mm³, permettant alors la randomisation. Cette dernière a été effectuée par groupe de traitement en fonction des volumes et du poids des souris. Aussi, à l'exception du groupe témoin pour MDAMB231 qui comptait 14 souris, chaque groupe de traitement comptait 8 à 10 souris. En raison de cinétiques tumorales divergentes, HCC1806 avait une chronologie différente de MDAMB231 et MX1. Ainsi, la randomisation a été effectuée au jour 8 pour HCC1806 et au jour 16 pour MDAMB231 et MX1 (**Figure 9**).

2.2.3 Traitements pour les expériences *in-vivo*

Le carboplatine (pharmacie du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)) a été administré par voie intrapéritonéale à 35 mg/kg et le talazoparib (Pfizer) a été administré par voie orale, par gavage, à 0,33 mg/kg. Les véhicules utilisés pour le carboplatine étaient une solution saline normale et pour le talazoparib, du polyéthylène glycol 400 à 5 %. Le schéma illustrant les stratégies de traitement est représenté sur la **Figure 10A**. Pour chaque modèle de xénogreffe, les souris ont reçu le véhicule témoin, le talazoparib seul (jours 1 à 9) ou le carboplatine seul le jour 1. Cette séquence de 9 jours de talazoparib et d'un jour de carboplatine provient de l'efficacité de la stratégie de dosage concomitante ayant été utilisée dans un modèle MX1 similaire utilisant des fragments de tumeur sous-cutanée. Cette stratégie a bel et bien été efficace pour inhiber la croissance tumorale primaire, et par conséquent, nous avons pensé que cette stratégie de dosage pourrait être utilisée pour évaluer les métastases et la toxicité (247). Par la suite il y avait un traitement avec le talazoparib (jours 1 à 9) en simultané avec le carboplatine (jour 1) (T+C), puis les combinaisons séquentielles ou premièrement le carboplatine a été administré en premier le jour 1 suivi du talazoparib les jours 2 à 10 (C->T) et un second séquentiel avec le talazoparib en premier (jours 1-2) suivi du carboplatine le jour 3, et encore le talazoparib (jours 3-9). Les tumeurs ont été mesurées et les souris ont été pesées deux fois par semaine.

2.2.4 Nécropsie

Pour HCC1806, les souris furent sacrifiées au jour 22, et pour MDAMB231 et MX1, cela a été réalisé au jour 42. Afin d'évaluer la toxicité hématologique à la nécropsie, le plasma a été prélevé par ponction cardiaque terminale et les échantillons de sang ont été traités pour une formule sanguine complète au Laboratoire d'hématologie du CHUM. Les échantillons coagulés ont été exclus de l'analyse finale. Les mesures qui ont été évaluées comprenaient le nombre de globules blancs, les neutrophiles et les concentrations moyennes d'hémoglobine. Pour chaque souris, la tumeur a été prélevée permettant la prise de mesure *ex-vivo* par deux personnes. Les poumons et le foie ont aussi été prélevés, puis ont été fixés dans du formaldéhyde à 10 %, et des blocs inclus dans la paraffine et fixés au formol ont été créés. Un pathologiste (Dr Danh Tran-Thanh, CHUM) a examiné à l'aveugle les lames entières du parenchyme hépatique et pulmonaire et a rapporté le pourcentage de la zone occupée par le cancer, permettant de quantifier les micro-métastases.

2.3 Expériences de migration et d'invasion cellulaire

2.3.1 Traitements pour les expériences *in-vitro*

Pour les expériences *in-vitro*, il s'agissait ici de reproduire les mêmes différentes stratégies de traitements qui ont été administrées pour les expériences *in-vivo*. Ainsi, les cellules ont été traitées 24h avec soit le talazoparib seul (0,25 μ M), le carboplatine seul (10 μ M) ou la combinaison des deux en simultanée (T+C). Il y a aussi eu deux stratégies de traitement en séquentiel avec soit le carboplatine en premier pendant 4 h, suivi de talazoparib pendant 20 h (C->T), ou alors l'administration du talazoparib en premier pendant 12 h, suivi du carboplatine pendant 12 h (T->C) (**Figure 10B**).

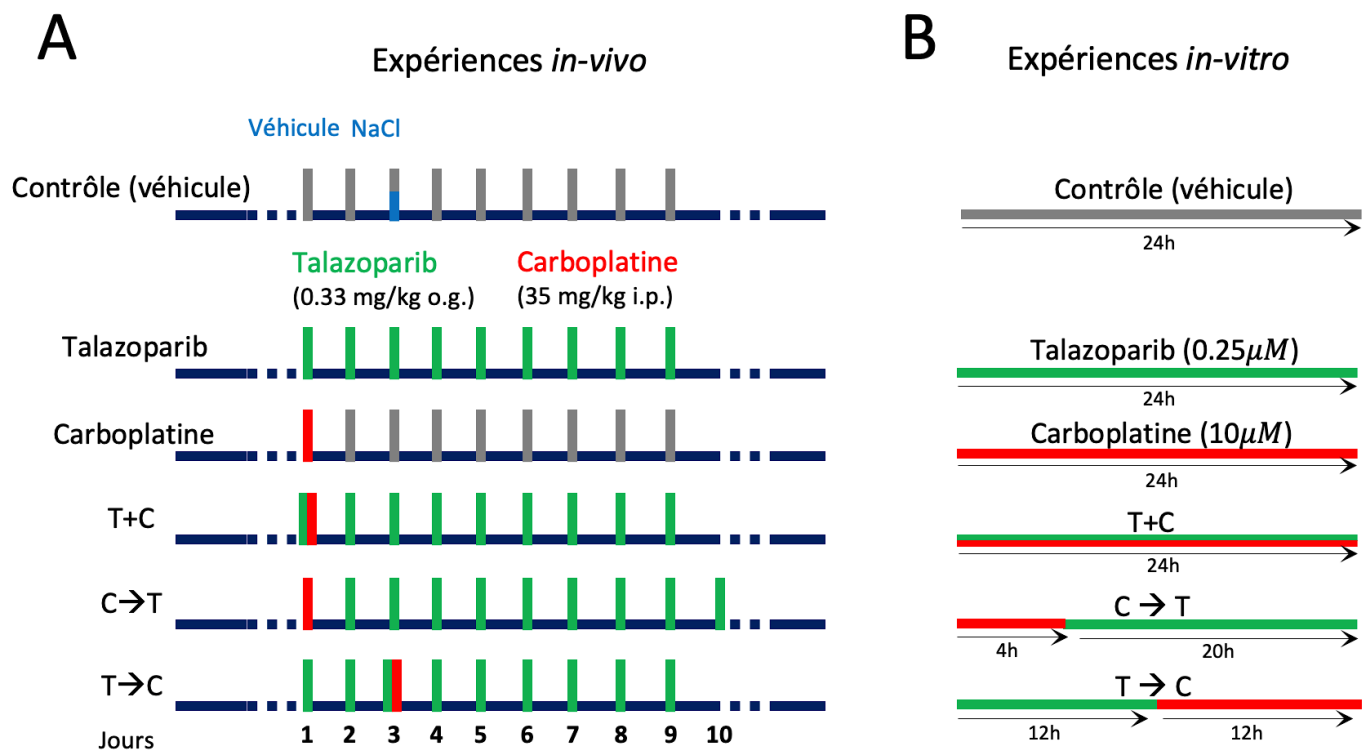


Figure 10. Séquences de traitements. A) In-vivo, le talazoparib/véhicule a été donné par gavage oral (o.g.) que le carboplatine/véhicule a été administré par injection par voie intrapéritonéale (i.p.). Les traitements ont été effectués sur une période de 9 jours. Les souris ont reçu soit le talazoparib seul (jours 1 à 9), le carboplatine seul le jour 1, un traitement de combinaison avec le talazoparib (jours 1 à 9) en simultané avec le carboplatine (jour 1) (T+C), l'association séquentielle avec le carboplatine en premier au jour 1 suivi du talazoparib les jours 2 à 10 (C->T) ou finalement, un autre séquentiel avec le talazoparib en premier (jours 1-2) suivi du carboplatine le jour 3, et encore le talazoparib (jours 3-9). B) Pour les expériences in-vitro (droite), les traitements ont été effectués sur une période de 24h avec soit le talazoparib seul, le carboplatine seul ou la combinaison des deux en simultanée (T+C). Il y a aussi eu les deux stratégies de traitement en séquentiel avec soit le carboplatine en premier pendant 4 h, suivi de talazoparib pendant 20 h (C->T), ou alors l'administration du talazoparib en premier pendant 12 h, suivi du carboplatine pendant 12 h (T->C).

2.3.2 Chambres de Boyden

Pour évaluer les capacités migratoires des cellules cancéreuses, des tests en chambre de Boyden ont été utilisés (248). Une chambre est divisée en deux compartiments superposés et séparés par un filtre aux pores microscopiques. Pour la migration cellulaire, cela fonctionne du fait qu'une solution chimiotactique est déposée dans la chambre inférieure diffusant jusqu'à la chambre supérieure. Ainsi, les cellules peuvent suivre le gradient de concentration et migrer vers la chambre inférieure en traversant les pores. La

taille des pores doit être choisie en fonction de la taille des cellules devant passer au travers (249).

Ici, la migration et l'invasion ont été évaluées sur deux lignées cellulaires BRCA^{WT} du CSTN, MDAMB231 et HS578T, et une lignée cellulaire BRCA^{MUT}, HCC1395. Pour MDAMB231 et HS578T, les traitements ont été effectués avec 0,25 µM de talazoparib et/ou 10µM de carboplatine (**Figure 10B**). De plus, nous avons également évalué l'impact avec une augmentation de dose, soit trois doses de talazoparib, à savoir, 0,125µM, 0,25µM et 0,5 µM ou carboplatine à 5µM, 10µM ou 20µM, seuls et avec les différentes stratégies de combinaison. Après les traitements, les cellules ont été privées de sérum pendant 24h puis ont étéensemencées à une densité de 3×10^4 dans les chambres de Boyden (Insert de TC (culture tissulaire), pour plaques de 24 puits, PET, translucides, 8 µm, de Sarstedt) pour une migration de 24 h à 37 °C. Pour les tests d'invasions, la chambre supérieure a été pré-enduite d'une dilution 1/9 de Matrigel (Cultrex original BME) et 5×10^4 cellules ont été mises en suspension dans le même environnement, et ce, pendant 48h. Après incubation, les chambres ont été lavés avec du PBS et les cellules ayant migré se trouvant sur la face inférieure de la membrane, ont été fixées avec du paraformaldéhyde à 4% et colorées avec de l'hématoxyline (Vector Hematoxylin QS H-3404) (**Figure 11**). Le nombre de cellules migré ou invasives ont été comptées à l'aide d'un microscope inversé en choisissant six champs de cellules fixes au hasard. Chaque expérience a été réalisée dans des puits en triplicata et a été répétée trois fois indépendamment.

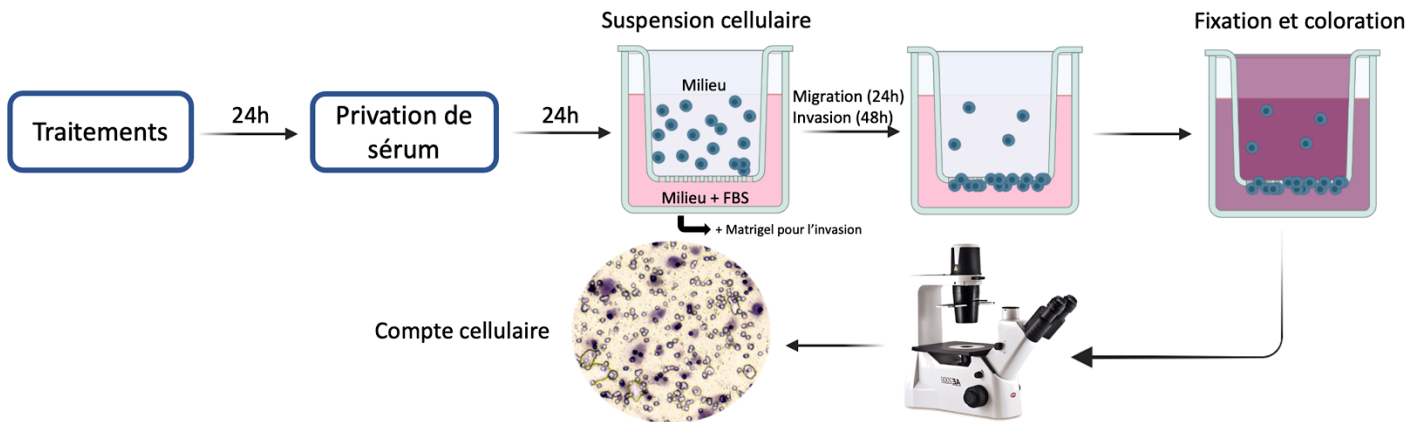


Figure 11. Schéma du test de migration cellulaire dans une chambre de Boyden. Suite aux 24h de traitements, les cellules ont été privées de sérum pendant 24h puis ont été suspendues dans la chambre supérieure pour une durée de 24h (migration) ou 48h (invasion). Pour l'invasion les chambres ont été pré-enduites de matrigel. Les chambres ont ensuite été lavées et les cellules fixées puis colorées permettant alors un compte cellulaire avec un microscope inversé.

2.4 Expression et quantification des chimiokines

2.4.1 Détection de chimiokines

Les cellules MDAMB231 ont été traitées comme décrit dans la section migration et invasion. Après privation de sérum pour une durée de 24h, un tampon de lyse cellulaire (Cell Signalling) avec un inhibiteur de la protéase phosphatase (cat # 5872S, Cell Signalling) a été utilisé pour extraire les protéines des lysats cellulaires qui ont été quantifiées à l'aide du kit de dosage des protéines BCA. 200 µg de protéines ont été utilisées pour détecter l'expression de chimiokines à l'aide du kit de tableau de chimiokines humaines (cat # ARY017, R&D Systems). Ce kit est un essai immunologique sandwich sur membrane, reconnu pour être rapide, sensible et permettant la détection de 31 chimiokines dans un échantillon donné (250). Étant donné que le kit vient avec seulement 4 membranes, nous avons décidé de tester comme stratégies de traitement le talazoparib seul, la combinaison T+C en simultanée, le séquentiel T→C ainsi qu'un contrôle. Les échantillons

sont mélangés avec un cocktail d'anticorps de détection biotinylés puis incubés avec la membrane matrice qui elle, est détectée en double avec des anticorps de capture contre des protéines cibles spécifiques. Les protéines capturées sont ensuite visualisées à l'aide d'un réactif de détection chimiluminescent et d'une auto-exposition avec un ChemiDoc (BioRad). De telle manière, le signal ainsi produit est proportionnel à la quantité d'analyte lié (250). La quantification des spots a été réalisée à l'aide du logiciel Quick Spots (Western Vision Software). Après avoir performé une calibration en utilisant les points contrôles sur l'array, nous avons vérifié que tous les points étaient bien alignés au milieu des ronds émis, permettant d'obtenir des valeurs pour chacune des stratégies de traitement.

2.4.2 Test immuno-enzymatique (ELISA)

Des tests immuno-enzymatiques (ELISA) ont été effectués dans le but de quantifier la sécrétion de chimiokines plus spécifiques dans nos surnageant de cultures cellulaires. Les cellules MDAMB231 et HCC1395 ont été traitées et privées de sérum comme décrit dans la section migration et invasion. Les surnageants ont été utilisés pour détecter les niveaux de la protéine chimiotactique monocyttaire-1 (MCP-1) avec le test immunologique CCL2/MCP-1 humain (cat #SCP00, R&D Systems). Pour ce faire, les surnageants de cultures cellulaires ont été ajoutés à une plaque de 96 puits pré-enduites d'anticorps MCP-1. Après incubation, les plaques ont été lavées et un anticorps secondaire polyclonal lié à une peroxydase de raifort a été ajouté. Par après, un deuxième lavage des plaques a eu lieu puis une solution de substrat composé de peroxyde d'hydrogène stabilisé avec un chromogène a été ajoutée. Après 30 min la réaction fut arrêtée avec une solution d'acide sulfurique 2N, et l'absorbance a été lue avec un lecteur de microplaques. Après soustraction de l'arrière-plan, une courbe standard fut créée à partir des normes à l'aide d'une courbe de régression d'ajustement à 4 paramètres dans GraphPad Prism 9. Les valeurs d'échantillon ont été dérivées de la courbe standard. Les expériences ont été réalisées dans des puits en triplicata et les essais ont été faits en triple.

2.5 Analyses statistiques

La normalité de chaque ensemble de données a d'abord été vérifiée avant d'effectuer une ANOVA de Kruskal-Wallis ou une ANOVA ordinale unidirectionnelle avec un post-test de comparaison multiple. Des ANOVA à 2 voies avec post-tests ont été réalisées pour des conditions groupées. Les données sont représentées sous forme de moyenne +/- SEM et ont été analysées et tracées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 9. $P < 0,05$ est considéré comme statistiquement significatif.

Chapitre 3 – Résultats

3.1 Impact de l'administration du talazoparib et du carboplatine *in-vivo*

Pour déterminer l'impact de l'administration du talazoparib et du carboplatine en monothérapie et en combinaison dans des expériences *in-vivo*, trois modèles de xénogreffe orthotopique ont été sélectionnés; MX1 qui est BRCA^{MUT} et HCC1806 et MDAMB231 qui sont BRCA^{WT}. La cinétique du modèle tumoral et les détails des stratégies de traitements ont été résumés sur la **Figure 12A**.

3.1.1 La combinaison simultanée et séquentielle a une croissance tumorale primaire et une inhibition du volume tumoral comparable dans trois modèles de xénogreffe

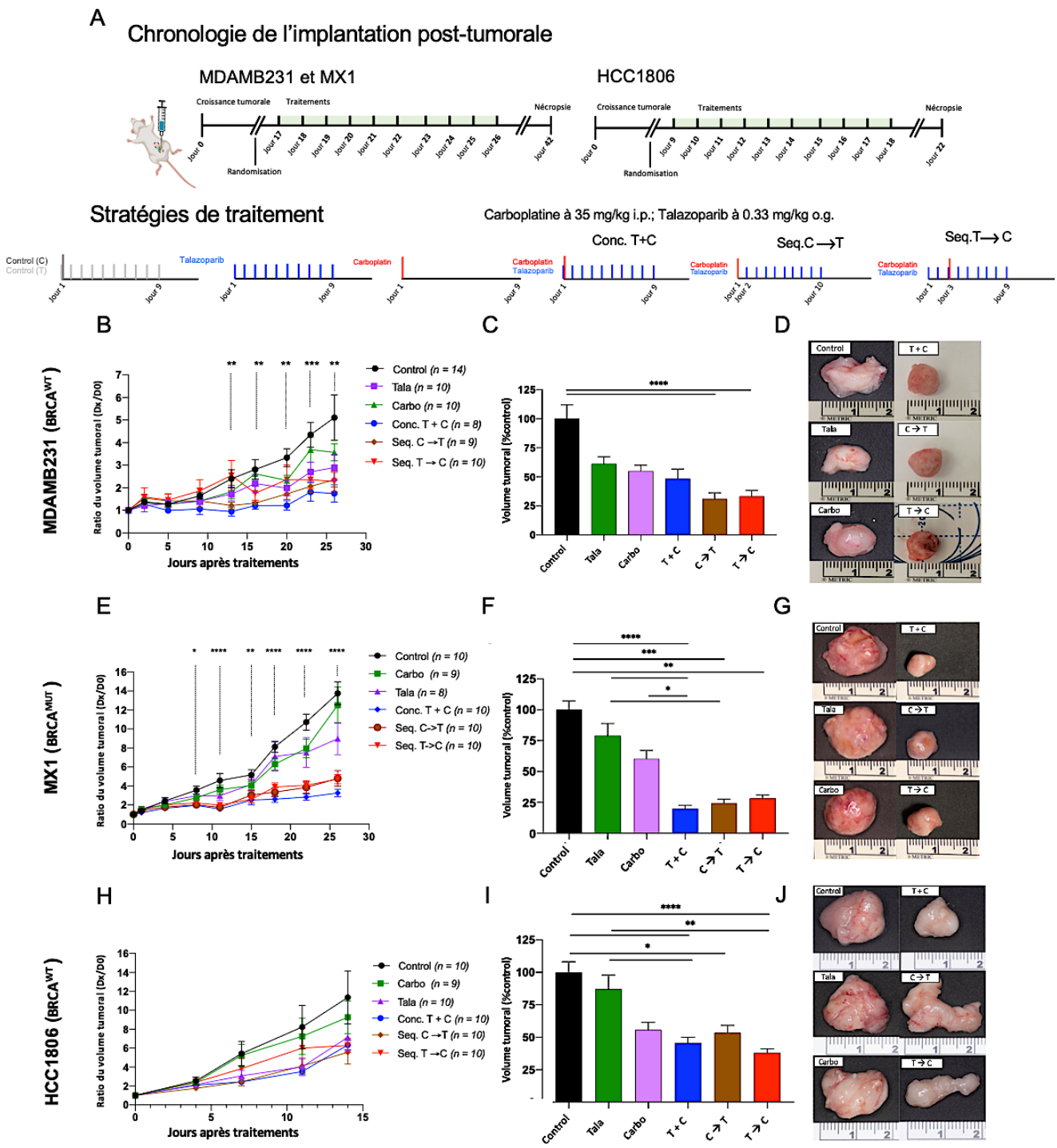


Figure 12. Inhibition comparable de la croissance tumorale primaire *in-vivo* avec les stratégies de traitements en combinaison simultanée et séquentielle. Ici, les xéno greffes orthotopiques MDAMB231 (rangée supérieure), MX1 (rangée du milieu) et HCC1806 (rangée inférieure) ont été utilisées. En A, D et G sont représentés les taux de croissance de la tumeur primaire où l'axe des x indique les jours après le traitement et où l'axe des y indique le volume tumoral normalisé dans lequel le rapport du volume tumoral au jour x a été divisé par le volume tumoral au jour 0. Les volumes de tumeurs primaires ex-vivo sont représentés en B, E et H. Les données sont affichées sous forme de moyenne +/- SEM (erreur standard de la moyenne). Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. ****P<0,0001; ***P<0,001; **P<0,01, *P<0,05. Des images représentatives des tumeurs ex-vivo sont représentées en C, F et I. Abréviations : i.p., par voie intrapéritonéale ; o.g., gavage oral.

Dans la xénogreffe MDAMB231, les volumes tumoraux normalisés *in-vivo* ont démontré des différences statistiquement significatives entre les groupes de traitement au jour 13. Les groupes de traitement qui ont montré une inhibition soutenue du volume tumoral au jour 26, par rapport au contrôle, étaient la combinaison en simultané des deux agents (T+C) (P = 0,009), et le traitement en séquentiel où le talazoparib est administré en premier (T→C) (P = 0,02) (**Figure 12B**). Pour le volume tumoral *ex-vivo* suite à la nécropsie, les deux traitements en séquentiels C→T et T→C ont démontré des effets comparables avec des réductions de 68,9 % (P <0,0001) et de 66,7 % (P <0,0001) respectivement, par rapport au contrôle (**Figures 12C, D**). Le traitement en simultané T+C quant à lui, a également démontré une tendance à l'inhibition du volume de la tumeur primaire avec une réduction de 51,4 % (P = 0,08).

Pour la cohorte MX1, des différences statistiquement significatives dans les volumes tumoraux normalisés *in-vivo* ont été observées avec différents traitements du jour 8 jusqu'à la nécropsie. En effet, en comparaison avec le contrôle, une inhibition soutenue a été identifiée au jour 26, avec le traitement T+C (P <0,0001), le séquentiel C→T (P = 0,003), et le séquentiel T→C (P = 0,01) (**Figure 12E**). À la nécropsie, les mesures *ex-vivo* ont montré que les approches combinées inhibaient de manière importante les volumes de la tumeur primaire (**Figures 12F, G**). En effet, par rapport au contrôle, les volumes tumoraux ont été inhibés de 79,9 % (P <0,0001) pour T+C, de 75,5 % (P = 0,0001) pour C→T et de 71,7 % (P = 0,002) pour T →C. De plus, l'approche simultanée T+C a également inhibé le volume tumoral de 40,3 % (P = 0,03) par rapport au talazoparib et de 59,0 % (P = 0,002) par rapport au carboplatine.

Finalement, pour la xénogreffe HCC1806, il y avait une tendance à des volumes de tumeurs *in-vivo* plus petits avec les approches combinées (**Figure 12H**), ce qui était statistiquement significatif avec les volumes de tumeurs *ex-vivo* (**Figures 12I, J**). En effet, comme il peut être vu sur la **Figure 12I**, les volumes tumoraux ont diminué de 54,4 % (P = 0,002) avec le traitement simultané T+C, de 46,6 % (P = 0,04) avec le séquentiel C→T, et de 62,0 % avec le T→C (P <0,0001). Ainsi, il n'y avait aucune signification statistique dans

les volumes de tumeur primaire entre l'un des groupes de combinaison (simultané et séquentiel) et ce, pour les trois modèles de xénogreffe.

3.1.2 Les traitements en séquentiels sont associés à moins de perte de poids, mais aucune différence de toxicité hématologique par rapport à la combinaison simultanée

Poids

Pour évaluer la toxicité chez les souris, le pourcentage de changement de poids par rapport à celui avant le traitement a été calculé à partir de mesures prises deux fois par semaine jusqu'à la nécropsie, et ce, pour chaque modèle de xénogreffe orthotopique.

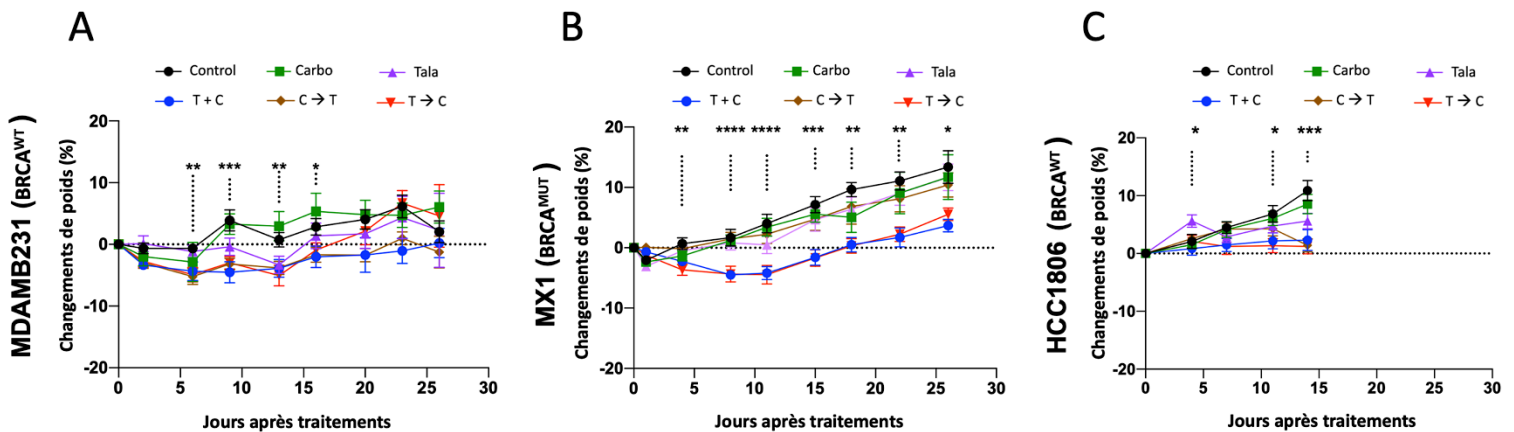


Figure 13. Les stratégies de traitement en séquentiel diminue la perte de poids *in-vivo*. L'impact de différentes stratégies de traitement a été évalué dans trois modèles de xénogreffe orthotopique, MDAMB231 et HCC1806, qui sont des lignées BRCA^{WT}, et MX1 qui est BRCA^{MUT}. Le pourcentage de variation du poids des souris a été calculé en normalisant le poids d'un jour donné par le poids avant le traitement. L'axe des X représente les jours après le traitement jusqu'à la nécropsie et l'axe des Y représente le changement de poids en pourcentage. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Dans la cohorte MDAMB231, une souris traitée avec le talazoparib et le carboplatine en simultanée (T+C) a dû être sacrifiée 5 jours avant le reste de la cohorte en raison de douleurs abdominales. La nécropsie et l'analyse histologique étaient compatibles avec le diagnostic de pancréatite hémorragique. Cette souris a été exclue de l'évaluation finale du volume tumoral *ex-vivo* et des métastases pulmonaires en raison du développement

dépendant du temps de la charge métastatique (251). Pour le reste de cette cohorte, des changements statistiquement significatifs dans le changement de poids ont été observés du jour 6 au jour 16, mais pas le jour de la nécropsie (**Figure 13A**). Au jour 9, la combinaison en simultané (T+C) a démontré une baisse de poids de 4,5 %, pour le séquentiel C→T de 3,2 % et de 3,0 % pour le T→C et ce, par rapport aux mesures de pré-traitement. À la nécropsie, toutes les souris ont pris du poids, avec une augmentation de 0,22 % pour le T+C, 2,1 % pour le C→T et de 4,6 % pour le T→C.

Pour la cohorte MX1, des changements de poids statistiquement significatifs ont été identifiés 4 jours après les traitements et se sont maintenus jusqu'au jour 26 (**Figure 13B**). Au jour 11, le traitement en simultané T+C et le séquentiel T→C ont démontré une diminution de poids de 4,2 % et 4,4 % respectivement par rapport aux poids de pré-traitement, tandis que le C→T a gagné 2,2 % de son poids. En comparaison avec le contrôle, les changements de poids étaient statistiquement significatifs pour T+C (P = 0,002) et le séquentiel T→C (P = 0,002), mais pas pour le C→T. Le jour de la nécropsie, le T+C a gagné 3,7 %, T→C 5,5 % et C→T 10,4 % en poids, respectivement. En comparaison avec le contrôle, le traitement en simultané T+C était le seul groupe qui différait en poids (P = 0,046).

Finalement, pour la cohorte HCC1806, la toxicité a été évaluée sur une courte période (4 jours), après la fin du traitement, puisque les souris ont subi une nécropsie au jour 14 (**Figure 13C**). Néanmoins, aucun groupe de traitement n'a perdu de poids par rapport aux poids de pré-traitements. Au jour 11, le groupe de traitement T+C a gagné 2,2 %, le séquentiel C→T 4,3 %, et le T→C 1,4 % en poids, par rapport au contrôle, qui lui a gagné 6,8%. Cependant, au jour 14, les souris du groupe contrôle ont démontré une augmentation de poids de 10,9 %, celles du groupe T+C ont pris 2,3 % de poids, les C→T 1,4 % et les T→C 1,2 %.

Toxicité hématologique

La toxicité hématologique a également été évaluée dans chaque modèle de xénogreffe avec une analyse de plasma de souris au moment de la nécropsie.

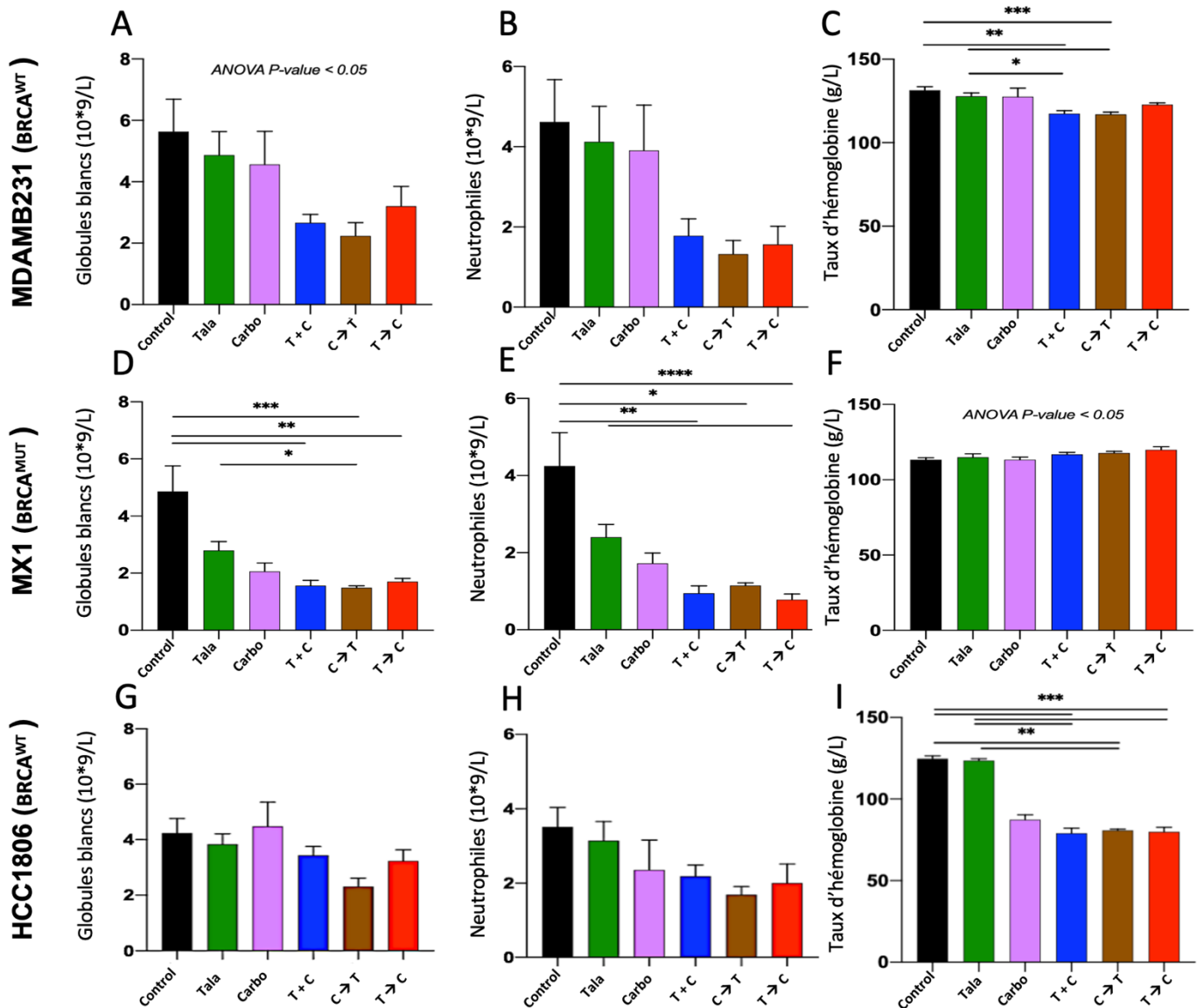


Figure 14. Les stratégies de traitement en séquentiel résultent en une toxicité hématologique comparable à celle du traitement en simultané. L'impact de différentes stratégies de traitement a été évalué dans trois modèles de xénogreffe orthotopique, MDAMB231 et HCC1806, qui sont des lignées BRCA^{WT}, et MX1 qui est BRCA^{MUT}. Les éléments à l'étude étaient le nombre de globules blancs (A, D, G); le nombre de neutrophiles (B, E, H) et le taux d'hémoglobine (C, F, I). Les données sont représentées sous forme de moyenne +/- SEM. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P<0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Comme il est possible de voir dans la **Figure 14A**, dans la cohorte MDAMB231, les approches combinées ont diminué le nombre de globules blancs et de neutrophiles. Dans la cohorte MX1, les tendances furent les mêmes cependant plus accentuées avec des valeurs moyennes de leucopénie de 1,6 (P = 0,002), 1,5 (P = 0,0003) et 1,7 (P = 0,0098), pour T+C, C→T et T→C respectivement, par rapport au contrôle (moyenne 4,9) (**Figure 14D**). De même, une neutropénie a été observée pour le T+C (moyenne 0,95, P = 0,002), C→T (moyenne 1,15, P = 0,01) et T→C (moyenne 0,78, P<0,0001), par rapport au contrôle (moyenne 4,3) (**Figure 14E**). Cependant, aucune statistique significative n'a été observée entre les approches combinées. Une tendance similaire, avec une leucopénie et une neutropénie plus importante avec le talazoparib et le carboplatine, a été observée avec HCC1806 (**Figures 14G, H**).

Pour ce qui est des niveaux d'hémoglobine (Hgb), pour la cohorte MDAMB231, une réduction s'est vue avec les traitements en combinaisons. En effet, alors que les souris témoins avaient des valeurs de Hgb de 131,5, les souris traitées par combinaison ont démontré des valeurs de Hgb de 117,4 (P = 0,002) pour T+C, 116,9 (P = 0,0004) pour C→T et de 122,8 (P = NS) pour T→C (**Figure 14C**). Cependant, aucun changement n'a été observé avec la cohorte MX1 (**Figure 14F**). Pour ce qui est de la cohorte HCC1806, les approches combinées ont réduit les niveaux d'Hgb de manière comparable, avec des valeurs moyennes de 79,1 (P = 0,0005) pour T+C, 80,9 (P = 0,003) pour C→T, et de 79,9 (P = 0,0004) pour T→C (**Figure 14I**).

3.1.3 L'administration en séquentiel inhibe les métastases à distance

Les expériences pilotes effectuées ont également été utilisées pour évaluer la présence de métastases hépatiques et pulmonaires microscopiques et macroscopiques. Cela a été réalisé uniquement dans le modèle de xénogreffe orthotopique MDAMB231 qui est connu pour sa capacité métastatique (246).

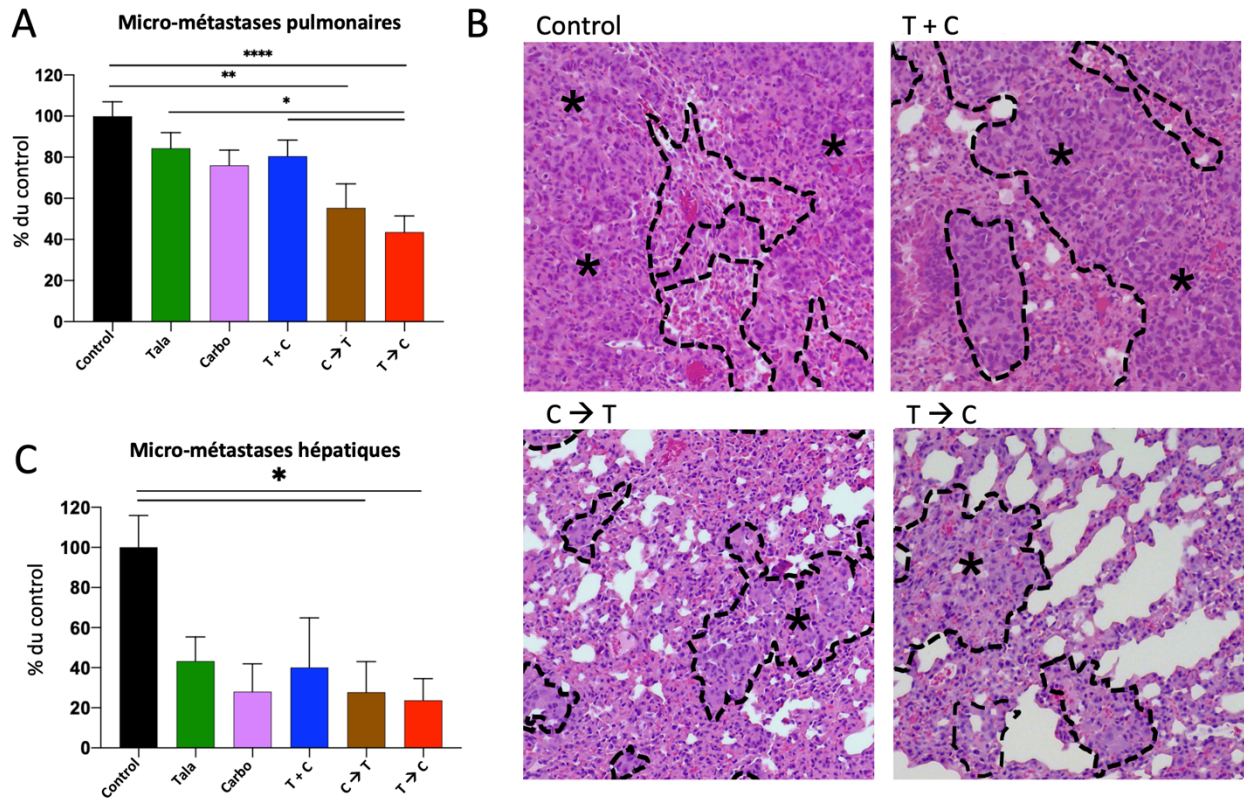


Figure 15. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibe les métastases à distance *in-vivo*. L'impact de différentes stratégies de traitement dans la xénogreffe orthotopique de MDAMB231 permettant d'évaluer histologiquement (A) la micrométastase pulmonaire et (C) la micrométastase hépatique. Les données sont représentées sous forme de moyenne +/- SEM. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05. (B) Images représentatives de sections colorées H&E de tissu pulmonaire, à l'aide d'un objectif 20X. Les cellules cancéreuses métastatiques sont délimitées des cellules normales par une ligne noire en pointillés et des astérisques.

Par rapport au contrôle, la combinaison du talazoparib et du carboplatine en administration en simultané (T+C) a entraîné une réduction des micrométastases pulmonaires de 19,6 % (P > 0,05), tandis que les traitements en séquentiels eux ont entraînés une réduction de 44,7 % (P = 0,003) pour le C→T et de 56,4 % (P < 0,0001) pour le T→C (**Figures 15A, B**). De plus, l'approche T→C a également inhibé les micrométastases pulmonaires de 40,8 % par rapport au carboplatine (P = 0,01) et de 36,9 % par rapport à l'approche en simultanée (T+C) (P < 0,05). De même, des tendances similaires ont été observées avec les micrométastases hépatiques (**Figure 15C**). En effet, en comparaison au contrôle, le séquentiel C→T a entraîné une réduction de 72,3 % (P = 0,03) des

micrométastases, ce qui était similaire à la réduction de 76,3 % (P = 0,02) avec le T→C. Les données des métastases macroscopiques n'ont pas été représentées dans ces résultats car celles-ci étaient extrêmement petites et très difficiles à quantifier de manière fiable.

3.2 Impact de l'administration du talazoparib et du carboplatine sur la migration et l'invasion cellulaire *in-vitro*

Les PARPis étant impliqués dans les étapes de la cascade métastatique (182), nous avons aussi évalué l'impact du talazoparib et du carboplatine en monothérapie et en association sur la migration et l'invasion cellulaire *in-vitro*. Pour cette première expérience de migration, les concentrations de talazoparib et de carboplatine administrées étaient de 0,25µM et 10µM, respectivement, pour les lignées MDAMB231 et HS578T.

3.2.1 Migration cellulaire

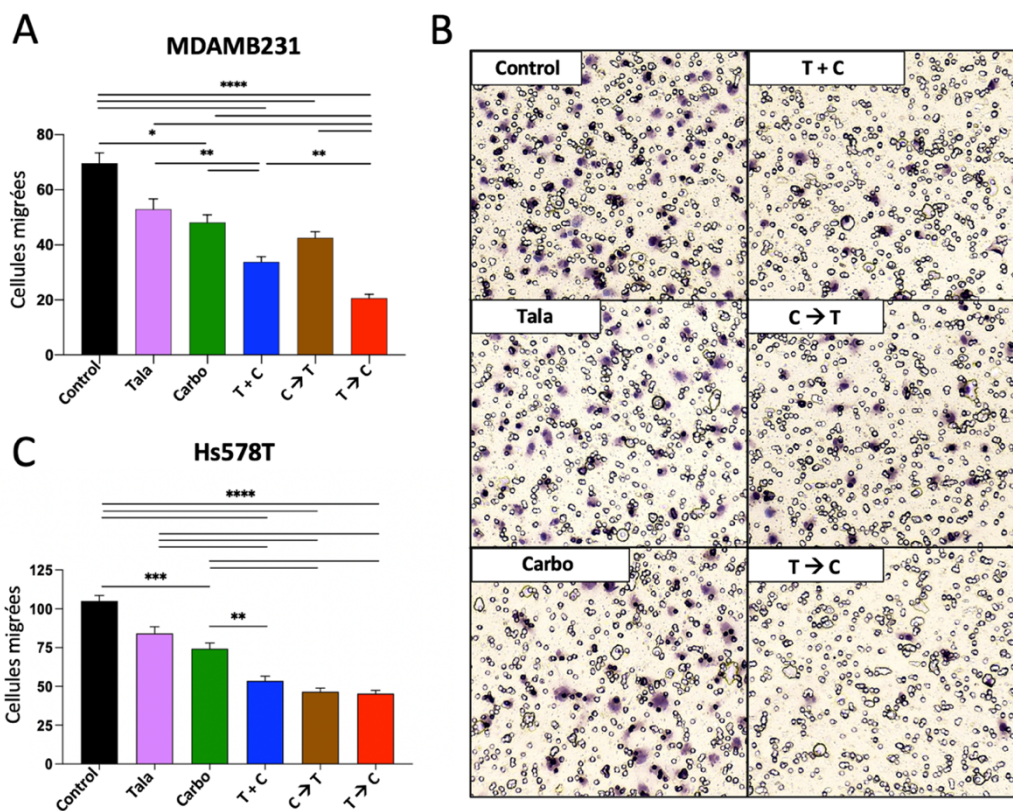


Figure 16. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibe la migration *in-vitro*. Les tests de migration ont été réalisés avec 2 lignées cellulaires du CSTN à fort potentiel migratoire et résistantes au PARPi. Les graphiques à barres représentent la moyenne +/- SEM du nombre de cellules MDAMB231 (A) ou HS578T (C) qui ont migré à travers la membrane de la chambre de Boyden. B) Images représentatives prises à 20x de cellules migrées MDAMB231 qui ont été fixées puis colorées avec de l'hématoxyline. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Dans les cellules MDAMB231, en monothérapie, le talazoparib et le carboplatine ont seulement entraîné une réduction de la migration cellulaire de 24,0 % (P = 0,05) et de 30,8 % (P = 0,01) respectivement. Cependant, les trois approches combinées ont entraîné une inhibition accrue de la migration cellulaire (**Figures 16A, B**). En effet, par rapport au contrôle, l'inhibition était la suivante : 51,5 % (P<0,0001) pour l'approche T+C, 38,9 % (P<0,0001) pour C→T, et 70,4 % (P<0,0001) pour T→C. En comparaison avec le talazoparib, le T+C a démontré une réduction de 36,2 % (P = 0,002), et le T→C de 61,1 % (P < 0,0001) de la migration cellulaire. Par rapport au carboplatine, le T+C a entraîné une

réduction de 29,9 % (P = 0,01), et le T→C de 57,3 % (P <0,0001) de la migration. Finalement, par rapport au T+C, le T→C a entraîné une réduction de 39,0 % (P = 0,008).

Un impact similaire des traitements a été obtenu avec une autre lignée du CSTN, Hs578T (**Figure 16C**). Le talazoparib a entraîné une réduction de 20,0 % (P = 0,06), tandis que le carboplatine a entraîné une réduction de 29,3 % (P = 0,0004) de la migration cellulaire. En comparaison avec le contrôle, le T+C, C→T et T→C ont entraîné une réduction de 49,0% (P <0, 0001), 55,7% (P <0, 0001) et 56,8% (P <0, 0001) de la migration cellulaire, respectivement. En comparaison avec le talazoparib, T+C a conduit à une réduction de 36,3 % (P<0,0001), C→T de 44,6 % (P <0,0001), et T→C de 46,1 % (P <0,0001). Par rapport au carboplatine, T+C, C→T et T→C ont entraîné une réduction de 27,9 % (P = 0,004), 37,3 % (P <0,0001) et 38,9 % (P <0,0001) de la migration cellulaire, respectivement. Finalement, le séquentiel T→C a conduit à une inhibition supplémentaire de 15,3% de la migration cellulaire par rapport à T+C.

Par la suite, nous étions intéressés à déceler plus spécifiquement l'effet de différentes concentrations des deux drogues sur la migration, et ce, sur la lignée MDAMB231. Nous avons premièrement évalué l'impact de l'augmentation des concentrations de talazoparib en monothérapie et de carboplatine en monothérapie (**Figure 17A, B**). Nous avons également évalué l'impact de l'augmentation des deux agents en combinaison en modulant la concentration du carboplatine tout en gardant le talazoparib stable à 0,25µM (**Figure 17C**), et d'autre part en modulant la concentration du talazoparib tout en gardant le carboplatine stable à 10µM (**Figure 17D**).

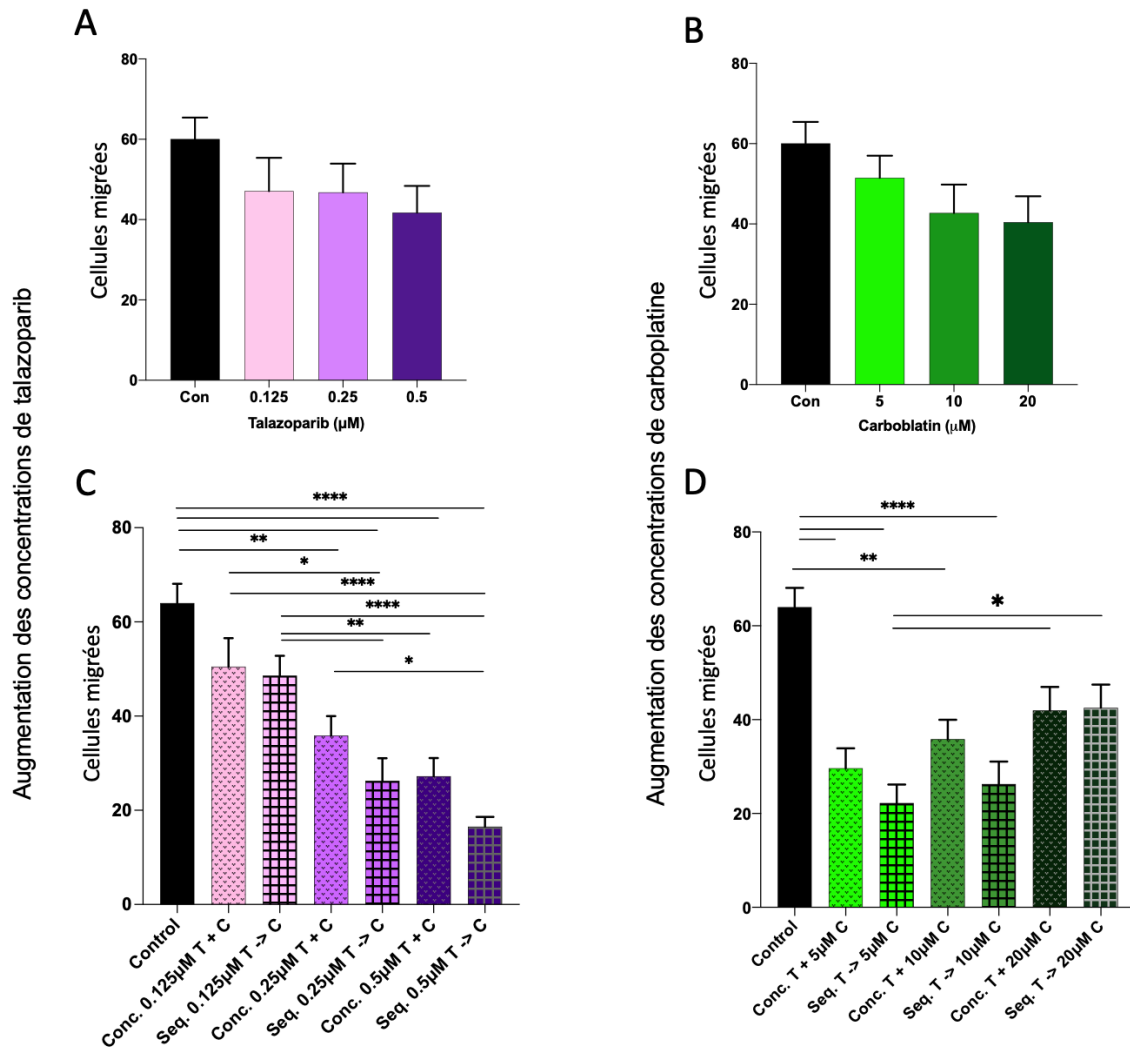


Figure 17. Modulation des concentrations de carboplatine et du talazoparib sur la migration cellulaire. Ces tests de migration ont été réalisés avec la lignée du CSTN MDAMB231 avec soit la modulation des concentrations du talazoparib (A, C) ou la modulation des concentrations de carboplatine (C, D). Les graphiques à barres représentent la moyenne +/- SEM du nombre de cellules qui ont migré à travers la membrane de la chambre de Boyden. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P<0,0001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Les **figures 17A** et **C** montrent l'impact de concentrations croissantes de talazoparib à la fois en tant qu'agent unique et en combinaison avec le carboplatine sur la migration des cellules MDAMB231. Bien que non statistiquement significative, nos résultats préliminaires ont montré que l'augmentation des doses de talazoparib a progressivement inhibé la migration par rapport au contrôle de 21,6% avec le talazoparib à 0,125μM, 22,1% à 0,25μM et 30,5% pour le talazoparib à 0,5μM (N = 1) (**Figure 17A**). Dans le cas des

approches combinées, cette tendance semble se répéter. En effet, plus la dose du talazoparib augmente, plus l'inhibition de la migration est accrue. Ainsi, par rapport au contrôle, le dosage composé du carboplatine à 10 μ M et du talazoparib à 0,125 μ M à eu la plus faible inhibition de la migration, de 22,0% (P >0,05) pour l'approche T+C et de 24,3% (P >0,05) pour l'approche séquentielle T→C. À l'inverse, le plus haut dosage de talazoparib, 5 μ M, en combinaison avec le carboplatine 10 μ M à eu la plus forte inhibition de la migration avec 56,6% (P <0,0001) pour T+C et 73,5% (P <0,0001) pour T→C (N = 2) (**Figure 17C**).

Pour ce qui est de la modulation du carboplatine, en tant qu'agent unique, la tendance semble être similaire à la modulation du talazoparib. En effet, nos résultats préliminaires ont montré que bien que non statistiquement significative, il y avait une tendance à une réduction croissante de la migration cellulaire avec des doses croissantes de carboplatine. Par rapport au contrôle, l'inhibition fût la suivante : 14,3% à 5 μ M, 28,9% à 10 μ M et 32,75 % à 20 μ M (N = 1) (**Figure 17B**). Cependant cette tendance semble s'inverser lorsque le carboplatine est administré en combinaison avec le talazoparib. En effet, dans le cas des approches combinées, plus la dose du carboplatine augmente, plus l'inhibition de la migration est de moindre ampleur. Ainsi, par rapport au contrôle, le dosage composé du talazoparib à 0,25 μ M et du carboplatine à 5 μ M à eu la plus forte inhibition de la migration, de 52,4% (P <0,0001) pour l'approche T+C et de 64,2% (P <0,0001) pour l'approche séquentielle T→C. À l'inverse, le plus haut dosage de carboplatine, 20 μ M, en combinaison avec le talazoparib 0,25 μ M à eu la plus petite inhibition de la migration avec 33,6% (P >0,05) pour T+C et 32,3% (P >0,05) pour T→C (N = 2) (**Figure 17D**).

Finalement, un test de migration a aussi été effectué sur la lignée HCC1395 qui est une lignée BRCA^{MUT}. Étant une lignée plus sensible aux PARPis, une concentration plus faible a été prise en compte : 0,0625µM de talazoparib combinée à 2,5µM de carboplatine (N = 2) (**Figure 18**). Ainsi, dans les cellules HCC1395, la migration fut fortement inhibée par la concentration de 0,25µM de talazoparib combinée à 10µM de carboplatine, avec par rapport au contrôle, 55,3% (P <0,0001) d'inhibition pour l'approche T+C et 68,7% (P <0,0001) pour T→C. De plus, il y a aussi eu une différence statistiquement significative entre le T→C et le T+C (P >0,05).

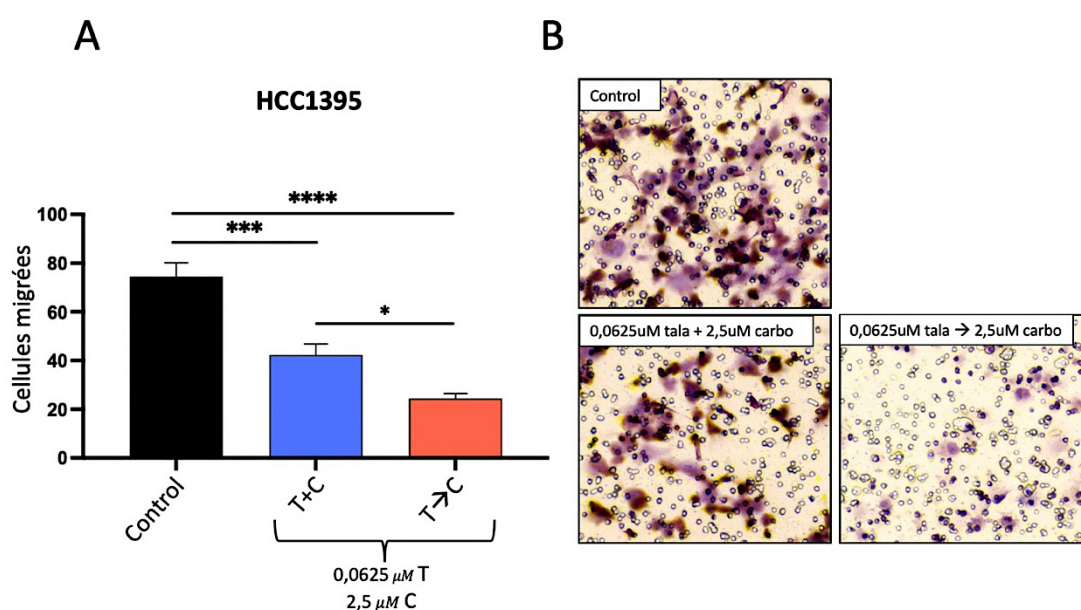


Figure 18. Stratégies de dosage des traitements sur les événements de migration chez les cellules HCC1395. A) Le graphique à barres représente la moyenne +/- SEM du nombre de cellules HCC1395 qui ont migrées à travers la membrane de la chambre de Boyden. B) Images représentatives prises à 20x de cellules migrées HCC1395 qui ont été fixées puis colorées avec de l'hématoxyline. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; *P<0,05.

3.2.2 Invasion cellulaire

Pour l'invasion cellulaire, dans les cellules MDAMB231, la combinaison du talazoparib et du carboplatine en simultané (T+C) a entraîné une inhibition de 41,2 % (P = 0,001) de l'invasion par rapport au contrôle (**Figure 19A**). L'approche en séquentiel T→C a conduit

à une réduction de l'invasion cellulaire de 56,9 % ($P < 0,0001$), 47,0 % ($P < 0,0001$), 47,5 % ($P < 0,0001$), 41,3 % ($P = 0,0005$), et de 26,6 % ($P > 0,05$) par rapport au contrôle, talazoparib, et carboplatine, T+C et C→T respectivement. Par la suite, pour ce qui est de la lignée HS578T, le T+C a démontré une réduction de 21,0% ($P = 0,001$) de l'invasion cellulaire, par rapport au contrôle (**Figure 19B**). Ici, l'approche en séquentiel T→C a conduit à une réduction de l'invasion cellulaire de 26,7 % ($P < 0,0001$), 18,9 % ($P = 0,0002$), 21,3 % ($P < 0,0001$) et de 7,3 % ($P > 0,05$) par rapport au contrôle, talazoparib, et carboplatine, et T+C respectivement. Cependant pour la lignée Hs578T, le traitement en séquentiel C→T a démontré des réductions l'invasion cellulaire similaire au séquentiel T→C.

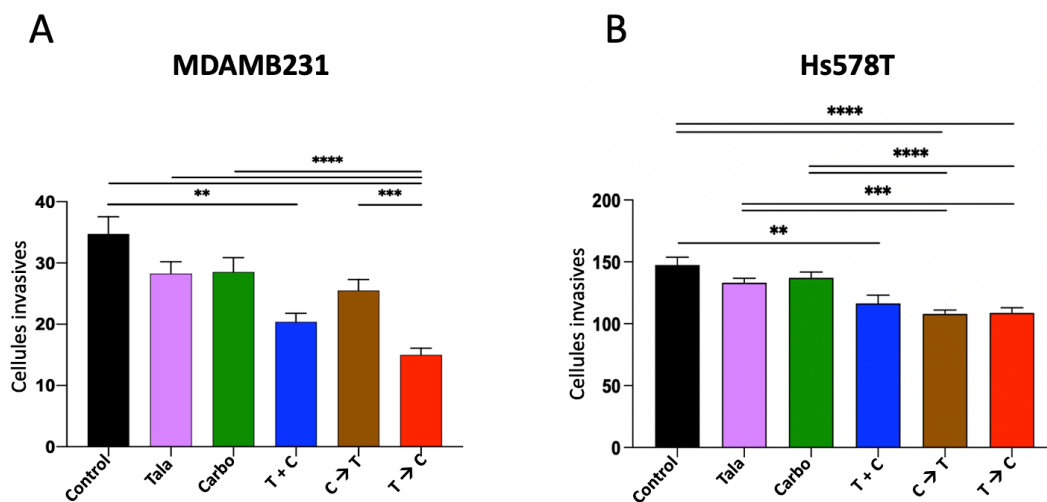


Figure 19. Les stratégies de traitement en séquentiel inhibent aussi l'invasion *in-vitro*. Les tests d'invasion ont été réalisés avec les deux lignées cellulaires du CSTN, MDAMB231 (A) et HS578T (B). Les graphiques à barres représentent la moyenne +/- SEM du nombre de cellules invasives. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** $P < 0,0001$; *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$.

3.3 Rôle des chimiokines dans la migration cellulaire

3.3.1 L'expression différentielle des chimiokines peut expliquer l'inhibition accrue de la migration avec une approche séquentielle.

Puisqu'il a été démontré que les PARPis régulent la signalisation des cytokines (252) et que ces dernières pourraient expliquer la migration accrue avec l'approche séquentielle T→C, nous avons réalisé un tableau de chimiokines. Cela a été fait à partir de lysats de cellules MDAMB231 et permet de profiler 31 chimiokines impliquées dans la migration cellulaire (Figures 20).

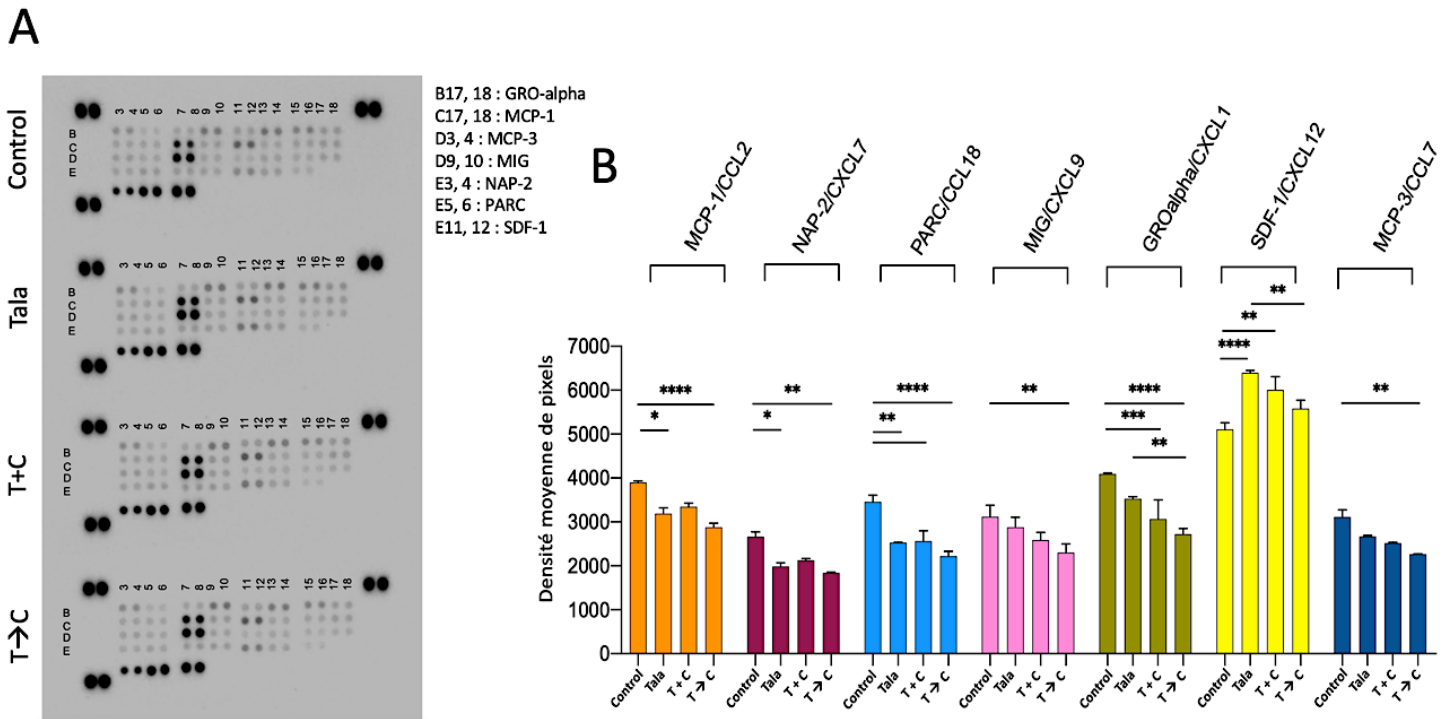


Figure 20. L'expression différentielle des chimiokines peut expliquer l'inhibition de la migration accrue avec une approche séquentielle. Les cellules MDAMB231 ont été traitées soit avec le talazoparib seul, la combinaison du talazoparib et du carboplatine (T+C) ou alors avec le traitement séquentiel T→C. Un tableau de chimiokines a ensuite été effectué avec les lysats cellulaires permettant la détection de 31 chimiokines. Suite à cela, 7 chimiokines ont été sélectionnées montrant une expression différentielle à partir du contrôle et de l'approche séquentielle T→C. L'axe des abscisses représente les différentes stratégies de traitement et l'axe des ordonnées les points qui ont été quantifiés à l'aide du logiciel QuickSpots (Western vision). Une ANOVA à 2 facteurs avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Après quantification des signaux, la différence en pourcentage entre le contrôle versus T+C, et le contrôle T→C a été calculée. D'après les résultats, les chimiokines avec la plus grande différence entre le T+C et le T→C comprend CCL (ligand à motif C-C) 2, CXCL (ligand à motif C-X-C) 7, CCL18, CXCL9, CXCL1, CXCL12 et CCL7. Par rapport au contrôle, des réductions statistiquement significatives ont été identifiées pour CCL2 (P = 0,0006),

CXCL7 (P = 0,006), CCL18 (P<0,0001), CXCL9 (P = 0,006), CXCL1 (P<0,0001) et CCL7 (P = 0,005).

3.3.2 Les niveaux de la chimiokine MCP-1 sont inhibés par le talazoparib et les approches combinées séquentielles.

Par la suite, nous avons décidé d'étudier plus amplement la sécrétion tumorale de la protéine chimiotactique des monocytes-1 (MCP-1/CCL2) puisqu'il a été démontré que cette chimiokine joue un rôle important dans la migration des cellules cancéreuses du sein et les métastases à distance (252). Ainsi, cette chimiokine fut étudiée dans la lignée MDAMB231 et notamment dans HCC1395 qui est une lignée cellulaire connue pour exprimer des niveaux élevés de MCP-1 (Figures 21) (253).

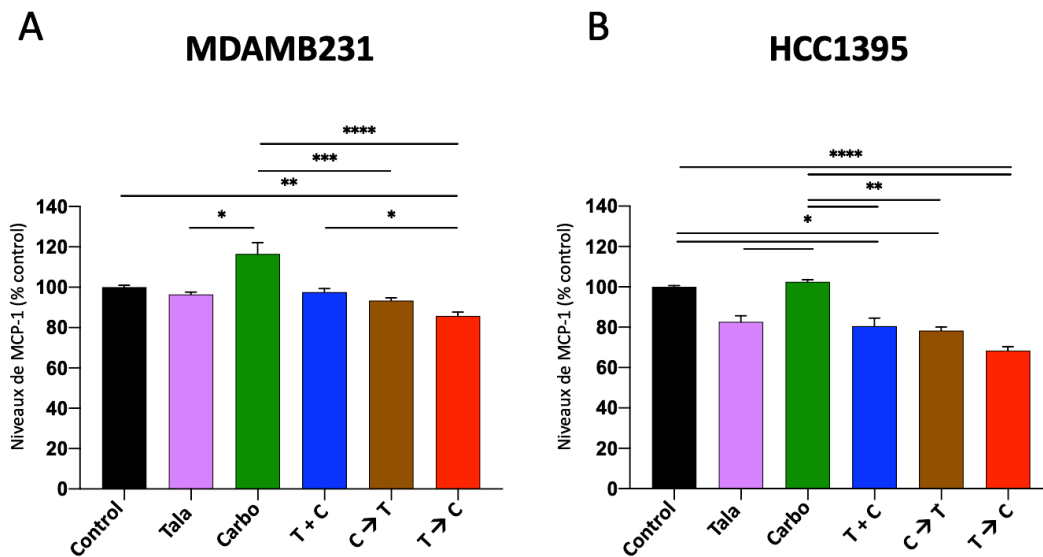


Figure 21. Les niveaux de MCP-1 sont diminués avec une approche séquentielle. L'impact de différentes stratégies de traitement sur les niveaux de MCP-1 sécrétés a été quantifié à l'aide d'un test immuno-enzymatique (ELISA), dans les cellules (B) MDMAB231 et (C) HCC1395. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. Les données sont représentées sous forme de moyenne +/- SEM. **** P < 0,0001 ; ***P<0,001 ; **P<0,01 ; *P<0,05.

Dans la lignée MDAMB231, le traitement en séquentiel T→C a entraîné une réduction de 14,2 % des niveaux de MCP-1 par rapport au contrôle (P = 0,001), une réduction de 30,7 % par rapport au carboplatine (P <0,0001) et une réduction de 11,8 % par rapport au T+C (P = 0,03). Pour la lignée HCC1395, le séquentiel T→C a également réduit les niveaux de

MCP-1 de 31,5 % par rapport au contrôle ($P < 0,0001$) et de 33,9 % par rapport au carboplatine ($P < 0,0001$). Le traitement en simultané T+C a également réduit les niveaux de MCP-1 par rapport au contrôle de 19,5 % ($P = 0,049$), et le séquentiel C→T de 21,7 % ($P = 0,01$).

Chapitre 4 - Discussion

Le cancer du sein triple négatif représentant 15 à 20% des cancers du sein est le plus difficile à traiter en raison de son hétérogénéité, de sa résistance aux traitements et de l'absence de thérapies ciblées. Malgré les récents progrès, la chimiothérapie et l'immunothérapie restent les principales approches pour traiter le CSTN avec de faibles bénéfices thérapeutiques avec les toxicités importantes (4, 254). Par conséquent, de nouvelles thérapies ciblées sont nécessaires pour traiter efficacement le CSTN et les PARPis semblent être une approche fort intéressante. Alors que les PARPis sont bien connus pour leurs rôles dans le ciblage de la réparation de l'ADN, leurs rôles dans l'inhibition du processus métastatique dans le cancer du sein précoce sont moins connus. En effet, alors qu'il a été démontré dans l'essai clinique BROCADE-3 que la combinaison d'un PARPi moins puissant avec une chimiothérapie à base de platine ralentissait la progression chez les patients atteints d'une maladie métastatique établie (236), nous devons mieux comprendre le rôle de cette combinaison dans l'inhibition du développement du processus métastatique. Ainsi, cette étude visait donc à évaluer la combinaison d'un PARPi puissant, le talazoparib et un agent de chimiothérapie, le carboplatine sur la croissance tumorale, la toxicité, des événements de migration et d'invasion *in-vitro*, et le développement de métastases à distance *in-vivo*, et ce, dans des lignées et tumeurs BRCA^{WT} et BRCA^{MUT}.

4.1 Administration des PARPis en combinaison avec la chimiothérapie

Les inhibiteurs de PARP sont les seuls agents thérapeutiques ciblés chez les patientes avec un CSTN avec une mutation germinale *BRCA1/2* (219, 221, 222). De plus, de récentes études ont démontré des taux de réponse similaires aux traitements des PARPis chez les patients présentant des mutations BRCA germinales et somatiques (255, 256). Cependant, des réponses plus durables seront probablement obtenues si les PARPis sont utilisés en combinaison avec un autre agent endommageant l'ADN comme le carboplatine. De plus, bien que les PARPis ont été initialement développés et étudiés dans le cas de cellules porteuses d'une mutation *BRCA1/2*, les PARPis auraient également un

effet chez les cellules BRCA^{WT} (207, 211). En effet, au sein du laboratoire, nous avons identifié la synergie de la combinaison du talazoparib et du carboplatine administré en simultané dans 92,3 % des lignées cellulaires du CSTN comprenant les sous-types BRCA^{MUT} et BRCA^{WT} (**Annexe Figure 1**).

4.2 Justification et implications de la stratégie de dosage

Le schéma de traitement pour les expériences *in-vivo* fut basé d'après Shen et al., portant sur un schéma posologie composé d'une dose, donc d'une seule journée de carboplatine et de neuf jours continus de talazoparib sur un modèle de xénogreffe d'implantation de fragments tumoraux sous-cutanés (247). Cependant, chez les patients, l'un des problèmes liés à la combinaison en simultanée et continue du talazoparib et du carboplatine s'est avéré être la toxicité hématologique (238). La justification de notre stratégie de dosage en séquentiel était principalement basée sur l'étude de Lee et al., qui a démontré qu'un prétraitement avec du carboplatine peut augmenter l'absorption cellulaire et la clairance de l'olaparib, améliorant ainsi l'efficacité et la toxicité de cette combinaison.

Cependant, de plus récents essais cliniques qui ont utilisé les PARPis ont démontré une meilleure efficacité ainsi qu'une diminution de la toxicité lorsque utilisés en combinaison et plus précisément lors d'un schéma posologique en intermittent et séquentiel (4). Dans ces essais il a été entre autres démontré que le véliparib, le PARPi le moins puissant, apportait un avantage supplémentaire à la chimiothérapie standard uniquement à des doses plus élevées et avec un schéma posologique en séquentiel. Dans ces derniers schémas, le veliparib a été administré pendant 2 jours, suivi de carboplatine (1 dose chaque 21 jours), avec une administration totale de veliparib pendant 7 jours dans le premier cycle (3). Par conséquent, le dosage que nous avons utilisé dans notre étude a une forte application clinique.

4.3 Croissance tumorale

Nos résultats ont montré que par rapport au groupe contrôle, les combinaisons de traitement en simultanée et séquentielles inhibent plus fortement la croissance tumorale des souris, et ce, dans les trois modèles de xénogreffes, qu'elles soient BRCA^{MUT} ou BRCA^{WT}. Cependant, aucune différence significative ne s'est vue entre l'administration simultanée et l'administration en séquentielle des deux agents. Ceci est similaire à ce que notre laboratoire a également démontré en utilisant un test *in-vitro* de chimiosensibilité de 10 jours (**Annexe Figure 2**).

4.4 Toxicité *in-vivo*

Par rapport à la toxicité de nos stratégies de traitements, dans les trois modèles, l'approche de la combinaison en simultanée a démontré une tendance à avoir la plus grande perte de poids, et donc la plus grande toxicité par rapport aux approches séquentielles. Dans le modèle BRCA^{MUT}, MX1, l'approche séquentielle où le carboplatine est administré en premier (C→T), n'a entraîné aucun changement significatif de poids, suggérant qu'il s'agit de l'approche la moins toxique. Cependant, pour le modèle BRCA^{WT}, MDAMB231, la plus faible variation de poids s'est vue avec l'approche séquentielle où le talazoparib est administré en premier (T→C), s'accompagnant également d'une toxicité hématologique plus faible. En effet, dans la lignée MDAMB231, la plus faible diminution du nombre de globules blancs, des neutrophiles et des taux d'hémoglobine s'est aussi vue avec l'approche (T→C).

Par contre, une réduction statistiquement significative du nombre de globules blancs et de neutrophiles a été observée dans le modèle MX1, mais aucune différence statistiquement significative pour le modèle BRCA^{WT}, MDAMB231, avec la même période de récupération après la fin du traitement. Ce phénomène a été démontré en autre par un essai clinique de phase I où les patients ont reçus des doses initiales de talazoparib en combinaison simultanée avec le carboplatine et les résultats de toxicité hématologiques

étaient de moindre ampleur chez les patients BRCA^{WT} en comparaison aux patients BRCA^{MUT} (238).

Par conséquent, ces derniers résultats suggèrent qu'une approche séquentielle C→T pourrait avoir un meilleur profil de toxicité dans le contexte BRCA^{MUT} alors que l'approche T→C serait mieux dans le contexte BRCA^{WT}. En effet, les modélisations de la toxicité pharmacocinétique suggèrent que la combinaison d'un PARPi et de la chimiothérapie peut être optimisée par un dosage pulsé (introduisant des périodes sans talazoparib) avec une attention particulière au contexte des patients BRCA^{MUT} ou BRCA^{WT} (238). Étant donné que les lignées cellulaires BRCA^{MUT} ou BRCA^{WT} n'ont pas montré d'expression génique altérée baseline des chimiokines (données non présentées), il est plausible que ces tumeurs aient des influences altérées sur le microenvironnement, entraînant une libération altérée de chimiokines pro-inflammatoires. En effet, il a été démontré que les tumeurs BRCA^{WT} évoquent un schéma distinct de chimiokines et de microenvironnements immunitaires par rapport aux tumeurs BRCA^{MUT} dans les organoïdes du cancer de l'ovaire et les échantillons de patients (257-259). Fait intéressant, l'inactivation de gènes de recombinaison homologues, tels que *BRCA1/2* ou *FANCD2*, a été associée à une sécrétion accrue de cytokines pro-inflammatoires, telles que CXCL10, CCL5 et TNF-alpha (260). Par conséquent, puisque la chimiothérapie peut également favoriser les chimiokines pro-inflammatoires, induisant une toxicité organique (261) et qu'il a été démontré que les PARPis atténuent les réponses inflammatoires (262), il est plausible que l'approche séquentielle d'un PARPi et du carboplatine permette une plus grande réduction de la réponse inflammatoire, entraînant une diminution de la toxicité.

4.5 Migration/invasion cellulaire *in-vitro* et métastases à distance *in-vivo*

Étant donné que les PARPis sont impliqués dans l'inhibition de la progression tumorale, intervenant à plusieurs stades de la cascade métastatique (182), nous avons décidé d'évaluer l'impact du talazoparib et du carboplatine en monothérapie ainsi qu'en

combinaison, sur les événements de migration et d'invasion *in-vitro* ainsi que sur les métastases à distance *in-vivo*.

Dans de précédentes études, il a été rapporté qu'en administrant des traitements de chimiothérapie aux patients, leurs niveaux de protéine PARP1 diminuaient et donc l'utilisation ultérieure d'un PARPi comme dose d'entretien pouvait probablement éluder sa réponse potentielle (263, 264). Cependant, ici nous démontrons que l'administration d'un PARPi en première ligne de traitement avant la chimiothérapie serait une approche plus efficace. En effet, à la lumière des résultats il est possible de voir que les approches de combinaison en séquentielle ont démontré la plus grande inhibition de la migration, de l'invasion et des métastases à distance en utilisant la lignée cellulaire et le modèle de xénogreffe MDAMB231. En effet, *in-vitro*, la stratégie de combinaison T→C a démontré la plus grande réduction de la migration et de l'invasion cellulaire à 70,4 % et 56,9 % respectivement en comparaison au contrôle. De plus, le traitement séquentiel T→C a significativement plus inhibé la migration par rapport à la combinaison administrée en simultanée (T+C). Par rapport à la mortalité cellulaire suite aux traitements pouvant avoir un impact sur ces résultats, il est important de mentionner que notre laboratoire avait effectué une expérience de cytométrie en flux qui évaluait le % de cellules cl-caspase 3+, et il n'y avait aucune différence statistiquement significative identifiée entre les groupes de traitement après 24h de traitement (données non présentées). Nous avons également quantifié le nombre de cellules après 24h de traitement. Bien qu'il y ait eu des tendances avec des nombres de cellules inférieurs identifiés avec les stratégies combinées, aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée entre les approches combinées (données non présentées). Comme effectué précédemment, nous avons systématiquement fait un compte cellulaire pour pouvoir normaliser les résultats sur le nombre de cellules restantes.

In-vivo, les résultats sont très similaires dans le sens où les approches séquentielles ont entraîné la plus grande inhibition des métastases pulmonaires et hépatiques et plus particulièrement le traitement T→C. Cependant, l'hypothèse émise de l'effet bénéfique

de l'administration antérieure de chimiothérapie suivie d'un PARPi pour les expériences *in-vitro* ne semble pas se traduire dans les expériences *in-vivo*. En effet, en comparaison aux expériences *in-vitro*, l'inhibition fut de moindre ampleur surtout pour le traitement en séquentiel où le carboplatine fut administré en premier (C→T). Cela pourrait être expliqué par l'action de certains facteurs influençant le TME et qui pourraient jouer un rôle dans l'inhibition de la propension métastatique *in-vivo*. En effet, il a été vu que les interactions entre les composants cellulaires et structurels du TME permettent aux cellules cancéreuses de devenir invasives et de se disséminer du site primaire vers des sites distants (265).

Par après, il était intéressant de voir comment la modulation du dosage du talazoparib et du carboplatine pouvait affecter les événements de migration cellulaire, et ce, sur la lignée MDAMB231, dans l'objectif de trouver le dosage optimal de ces deux agents pour cette lignée spécifique. Suite à nos résultats, il fut possible de constater la présence d'une relation négative entre l'augmentation de la dose et l'inhibition de la migration, et ce, autant dans le cas de la modulation des concentrations de carboplatine que de talazoparib en tant qu'agents uniques. De plus, dans le cas du talazoparib, cette tendance semble se suivre lorsqu'administrée en combinaison avec le talazoparib. Cependant, dans le cas du carboplatine, l'augmentation de sa concentration lorsque administré en combinaison avec le talazoparib résulte en une plus faible diminution de la migration et plus spécifiquement lorsque les deux agents sont administrés en même temps (T+C). Plusieurs facteurs pourraient expliquer ce phénomène, notamment s'il y a des dommages à l'ADN menant à l'arrêt du cycle cellulaire (266). Cela activerait par la suite des fonctions régulatrices du cycle cellulaire (EXCERF) chez certaines protéines telles que p27(kip1), p57(kip2), le complexe/cyclosome promoteur d'anaphase (APC/C) et la cycline E (266). Or, la protéine p27(kip1) est connue pour inhiber la voie Rho, qui elle, est composée de régulateurs critiques du cytosquelette d'actine et de la migration cellulaire (266). En effet, chacun des membres de la famille Rho ont des rôles spécialisés dans la migration cellulaire et leurs rôles dans la formation de fibres de stress et d'adhérences focales peuvent

conduire à une inhibition de la migration cellulaire en augmentant l'adhérence cellulaire à son substrat et en empêchant le renouvellement de l'adhérence focale (266).

Ainsi, pour la lignée MDAMB231, il semblerait que de bons candidats seraient d'une part lorsque le carboplatine est modulé à la baisse à 5 μ M tout en gardant les niveaux de talazoparib stables à 0,25 μ M et d'autre part lorsque le talazoparib est modulé à la hausse à 0,5 μ M tout en gardant le carboplatine stable à 10 μ M. Cependant, la combinaison composée d'une forte dose de talazoparib (0,5 μ M) et d'une faible dose de carboplatine (5 μ M) s'est avérée moins efficace que la combinaison vue précédemment composée du talazoparib à 0,5 μ M tout en gardant le carboplatine à 10 μ M (N = 1). En effet, par rapport au contrôle, pour la combinaison talazoparib 0,5 μ M/carboplatine 5 μ M, l'approche T+C à seulement inhibé la migration cellulaire de 10% (P<0,05) et pour l'approche T→C, l'inhibition fut de 58% (P<0,001) (**Figure 3 en annexe**). Ainsi, bien que ces résultats soient préliminaires, cela suggère que même avec une concentration plus faible de carboplatine, un bénéfice est observé avec une administration séquentielle. Cela pourrait avoir des implications cliniques dans lesquelles des avantages pourraient encore être observés si la dose de carboplatine doit être réduite chez les patients en raison de la toxicité.

4.6 Effets des PARPis sur l'expression de chimiokines

Les chimiokines jouent un rôle prépondérant à plusieurs étapes clés de la cascade métastatiques et il fut donc intéressant de voir quel était l'effet de nos traitements sur l'expression de celles-ci (110-114). Suite au tableau de chimiokines, une d'entre elles fut plus amplement évaluée, MCP-1/CCL2, dont les niveaux étaient les plus régulés à la baisse avec la combinaison T→C. MCP-1/CCL2 est membre de la famille des chimiokines C-C. Cette dernière améliore la perméabilité vasculaire, entraîne la migration et l'invasion, et est impliquée dans le cheminement des cellules cancéreuses au site métastatique (182, 252). De plus, des résultats émergents indiquent une concentration considérable de MCP-1/CCL2 dans le tissu tumoral (y compris les cellules cancéreuses, les monocytes et les fibroblastes associés au cancer), suggérant que la présence de cette chimiokine peut

contribuer à la propagation de la tumeur et à la formation de niche pré-métastatique (165, 267). Finalement, il a été démontré que MCP1/CCL2 est un marqueur associé au CSTN et peut jouer un rôle clé dans la progression de la maladie de ce type de cancer (253).

Il a déjà été démontré que l'inactivation de PARP1 réduisait de manière significative les niveaux de MCP-1/CCL2 (252). Nous avons montré que le carboplatine en tant qu'agent unique à augmenter les niveaux de MCP-1, et ce, dans les deux lignées. De plus, l'administration antérieure d'un inhibiteur de PARP suivi du carboplatine a démontré une diminution de l'expression de MCP-1 en comparaison à l'administration en simultané des deux agents. Ainsi, ces résultats suivent bien ce qui a déjà été publié sur le fait que le carboplatine régule positivement MCP-1 et que le blocage de ce dernier améliore l'efficacité antitumorale du carboplatine (167, 268). Ce phénomène s'explique par le fait que la chimiothérapie augmenterait l'expression de chimiokines ayant des activités pro-métastatique et résultant donc en une augmentation de la migration et des métastases à distance (269-271). En effet, il a été démontré que MCP-1 était régulé positivement dans le cancer de l'ovaire, autant *in-vitro* que *in-vivo*, après l'administration de chimiothérapie (268). Cette étude a même fourni des preuves de voies qui semblent être impliquées cette modulation de MCP-1 après la chimiothérapie (268). L'une d'elles serait le résultat d'une réponse de survie initiée au niveau de la transcription pour attirer les macrophages vers le site tumoral. En effet, étant donné que les macrophages associés aux tumeurs sont connus pour faciliter les métastases (272), il est probable que la régulation peut se produire en tant que réponse de survie à la chimiothérapie (268). De plus, dans les cellules normales telles que l'endothélium, la production de MCP-1 s'est vue régulée à la hausse par les signaux inflammatoires (NF- κ B) et les ROS. Or, le traitement au carboplatine peut augmenter les ROS par une voie dépendante de la P53/NADP oxydase (273). Ainsi, cette augmentation de chimiokines résulte en une augmentation de la migration et des métastases à distance, comme il a été vu dans cette étude que l'expression de CCL2 est corrélée à un mauvais pronostic et à une maladie métastatique dans le cancer du sein humain (112).

D'autre part, les PARPis inhibent l'expression de ces chimiokines pro-métastatiques (252). En effet il a été vu que l'inactivation de PARP1 et l'inhibition médiée par un inhibiteur de PARP1 ont montré des niveaux réduits de transcription de MCP-1/CCL2 dans les cellules du cancer du sein (252). Ainsi, le prétraitement avec le talazoparib peut réguler à la baisse les niveaux de MCP-1, améliorant ainsi le potentiel anti-migration du carboplatine.

Cependant, il est fort probable que plusieurs chimiokines contribuent à l'inhibition de la migration et non pas seulement MCP-1 étant donné que l'ampleur de la réduction de son expression est inférieure à l'ampleur de la réduction de la migration avec différentes approches de combinaison de traitements. Nous avons également identifié d'autres chimiokines telles que CXCL1 et CXCL12 qui se sont avérées modulées par PARP1 (274, 275). De plus, il a été démontré que PARPi activerait les fibroblastes stromaux, entraînant une sécrétion accrue de chimiokines, dont MCP-3, qui est l'une des chimiokines que nous avons également identifiées dans notre panel (276).

4.7 Directions futures

Pour compléter ces derniers résultats, comme futures directions, il serait indispensable de mieux comprendre comment les inhibiteurs de PARPs en tant qu'agent unique et en traitement séquentiel, en association avec le carboplatine, impactent la migration cellulaire. Il serait probable de penser que le profilage de l'expression génique de la lignée cellulaire MDAMB231 après le traitement pourrait identifier les changements dans l'expression génique pouvant rendre les cellules plus sensibles à la combinaison des deux agents.

Par la suite, pour mieux comprendre l'implication de la chimiokine MCP-1/CCL2 dans l'administration combinée en simultané et en séquentiel des deux agents, une des prochaines étapes du projet pourrait être la création de lignées du CSTN sensible de l'un ou l'autre des récepteurs de MCP-1/CCL2 et implantable dans le modèle murin.

Finalement, il serait intéressant de mieux déceler sur quelle partie de la cascade métastatique l'association d'un PARPi et du carboplatine fonctionne-t-elle. Une des options serait d'effectuer une immunohistochimie (IHC) permettant de mieux comprendre l'impact de l'expression des chimiokines dans le TME. Pour ce faire, nous avons justement une tumeur primaire provenant de xéno greffes orthotopiques qui pourrait être utilisée pour cela. Une deuxième option serait d'effectuer des expériences *in-vivo* permettant de mieux démêler l'impact de la combinaison des deux agents sur l'angiogenèse, les chimiokines circulantes et l'expression des chimiokines au niveau du site métastatique distant.

4.8 Conclusion

Étant donné que le cancer du sein est une maladie très hétérogène, le traitement est complexe et implique souvent plusieurs modalités thérapeutiques, telles que la chimiothérapie, la chirurgie et la radiothérapie. Les inhibiteurs de PARP combinés à la chimiothérapie semblent être une stratégie de traitement efficace au niveau des événements de migration et d'invasion *in-vitro* mais aussi sur la croissance tumorale, la toxicité et le développement de métastases à distance *in-vivo*. Ici, nous avons fourni une analyse préclinique compréhensive de la combinaison de talazoparib et de carboplatine dans le CSTN. De plus, de récentes études ainsi que nos données suggèrent que la sensibilité des PARPi n'est pas limitée au cancer du sein avec mutations *BRCA*. En effet, nos expériences ont démontré un impact significatif de la combinaison dans les lignées cellulaires *BRCA*^{WT} et *BRCA*^{MUT} sur la migration et l'invasion *in-vitro*, ainsi que sur la croissance tumorale primaire et les métastases à distance *in-vivo*.

De plus, il a été vu que bien que la séquence d'administration n'ait pas d'impact sur la prolifération ou la croissance tumorale, l'administration séquentielle du talazoparib et du carboplatine peut diminuer la toxicité et offrir une plus grande inhibition des métastases à distance. Nos séquences de traitements proposées pourraient donc aider à l'avenir à enquêter sur les essais cliniques lors de l'utilisation des inhibiteurs de PARP en combinaison et plus précisément sur les événements métastatiques dans les CSTN. Cela

pourrait permettre aussi de diminuer l'utilisation de la chimiothérapie (autre que le carboplatine) chez les patientes CSTN, ce qui diminuerait les effets secondaires qui y sont associés ainsi que la résistance acquise. Finalement, l'étude du rôle des chimiokines dans les processus métastatiques est de plus en plus étudiée et pourrait potentiellement ouvrir beaucoup de portes pour de futurs traitements en lien avec les PARPis.

Références bibliographiques

1. Pearl LH, Schierz AC, Ward SE, Al-Lazikani B, Pearl FM. Therapeutic opportunities within the DNA damage response. *Nat Rev Cancer*. 2015;15(3):166-80.
2. Till S, Diamantara K, Ladurner AG. PARP: a transferase by any other name. *Nat Struct Mol Biol*. 2008;15(12):1243-4.
3. Saijo N. Present status and problems on molecular targeted therapy of cancer. *Cancer Res Treat*. 2012;44(1):1-10.
4. Yordanova M, Hubert A, Hassan S. Expanding the Use of PARP Inhibitors as Monotherapy and in Combination in Triple-Negative Breast Cancer. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021;14(12).
5. Public Health Agency of C, Statistics C, Canadian Cancer S, provincial/territorial cancer r. Release notice - Canadian Cancer Statistics 2019. *Health Promot Chronic Dis Prev Can*. 2019;39(8-9):255.
6. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57-70.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
8. Meza-Junco J, Montano-Loza A, Aguayo-Gonzalez A. [Molecular basis of cancer]. *Rev Invest Clin*. 2006;58(1):56-70.
9. Cooper GM, & Hausman, R.O.B.E.R.T.E. A molecular approach. *The Cell*. 2000;2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
10. Brenner DR, Weir HK, Demers AA, Ellison LF, Louzado C, Shaw A, et al. Projected estimates of cancer in Canada in 2020. *CMAJ*. 2020;192(9):E199-E205.
11. DeSantis CE, Ma J, Gaudet MM, Newman LA, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(6):438-51.
12. Society CC. Breast cancer statistics. 2022.
13. Risk factors for breast cancers - Canadian Cancer Society. Available from: <http://www.cancer.ca/en/cancer-information/cancer-type/breast/risks/?region=bc#personal>.
14. White MC, Holman DM, Boehm JE, Peipins LA, Grossman M, Henley SJ. Age and cancer risk: a potentially modifiable relationship. *Am J Prev Med*. 2014;46(3 Suppl 1):S7-15.
15. Laconi E, Marongiu F, DeGregori J. Cancer as a disease of old age: changing mutational and microenvironmental landscapes. *Br J Cancer*. 2020;122(7):943-52.
16. Missmer SA, Eliassen AH, Barbieri RL, Hankinson SE. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast cancer risk among postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(24):1856-65.
17. Farhat GN, Cummings SR, Chlebowski RT, Parimi N, Cauley JA, Rohan TE, et al. Sex hormone levels and risks of estrogen receptor-negative and estrogen receptor-positive breast cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(7):562-70.

18. Gaudet MM, Carter BD, Brinton LA, Falk RT, Gram IT, Luo J, et al. Pooled analysis of active cigarette smoking and invasive breast cancer risk in 14 cohort studies. *Int J Epidemiol.* 2017;46(3):881-93.
19. Tung N, Lin NU, Kidd J, Allen BA, Singh N, Wenstrup RJ, et al. Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2016;34(13):1460-8.
20. Apostolou P, Fostira F. Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *Biomed Res Int.* 2013;2013:747318.
21. Lynch HT, Silva E, Snyder C, Lynch JF. Hereditary breast cancer: part I. Diagnosing hereditary breast cancer syndromes. *Breast J.* 2008;14(1):3-13.
22. Oranratnachai S, Yamkaew W, Tunteeratum A, Sukarayothin T, Iemwimangsa N, Panvichien R. Characteristics of breast cancer patients tested for germline BRCA1/2 mutations by next-generation sequencing in Ramathibodi Hospital, Mahidol University. *Cancer Rep (Hoboken).* 2022:e1664.
23. Weigelt B, Bissell MJ. Unraveling the microenvironmental influences on the normal mammary gland and breast cancer. *Semin Cancer Biol.* 2008;18(5):311-21.
24. Weinberg R. *The Biology of Cancer.* New York: Garland Science. 2014;2nd edition.
25. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol.* 2005;205(2):248-54.
26. Oppong BA, King TA. Recommendations for women with lobular carcinoma in situ (LCIS). *Oncology (Williston Park).* 2011;25(11):1051-6, 8.
27. Page DL, Kidd TE, Jr., Dupont WD, Simpson JF, Rogers LW. Lobular neoplasia of the breast: higher risk for subsequent invasive cancer predicted by more extensive disease. *Hum Pathol.* 1991;22(12):1232-9.
28. Sharma GN, Dave R, Sanadya J, Sharma P, Sharma KK. Various types and management of breast cancer: an overview. *J Adv Pharm Technol Res.* 2010;1(2):109-26.
29. Li CI, Uribe DJ, Daling JR. Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer.* 2005;93(9):1046-52.
30. Giuliano AE, Edge SB, Hortobagyi GN. Eighth Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Breast Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2018;25(7):1783-5.
31. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Combinatorial biomarker expression in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;120(2):293-308.
32. Eroles P, Bosch A, Perez-Fidalgo JA, Lluch A. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(6):698-707.
33. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406(6797):747-52.
34. Valentin MD, da Silva SD, Privat M, Alaoui-Jamali M, Bignon YJ. Molecular insights on basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;134(1):21-30.
35. Clark ES, Weaver AM. A new role for cortactin in invadopodia: regulation of protease secretion. *Eur J Cell Biol.* 2008;87(8-9):581-90.
36. Seals DF, Azucena EF, Jr., Pass I, Tesfay L, Gordon R, Woodrow M, et al. The adaptor protein Tks5/Fish is required for podosome formation and function, and for the protease-driven invasion of cancer cells. *Cancer Cell.* 2005;7(2):155-65.

37. Karn T, Pusztai L, Holtrich U, Iwamoto T, Shiang CY, Schmidt M, et al. Homogeneous datasets of triple negative breast cancers enable the identification of novel prognostic and predictive signatures. *PLoS One*. 2011;6(12):e28403.
38. Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC Genomics*. 2006;7:96.
39. Chanrion M, Fontaine H, Rodriguez C, Negre V, Bibeau F, Theillet C, et al. A new molecular breast cancer subclass defined from a large scale real-time quantitative RT-PCR study. *BMC Cancer*. 2007;7:39.
40. Ngan E, Northey JJ, Brown CM, Ursini-Siegel J, Siegel PM. A complex containing LPP and alpha-actinin mediates TGFbeta-induced migration and invasion of ErbB2-expressing breast cancer cells. *J Cell Sci*. 2013;126(Pt 9):1981-91.
41. Burstein HJ. The distinctive nature of HER2-positive breast cancers. *N Engl J Med*. 2005;353(16):1652-4.
42. Figueroa-Magalhaes MC, Jelovac D, Connolly R, Wolff AC. Treatment of HER2-positive breast cancer. *Breast*. 2014;23(2):128-36.
43. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1783-91.
44. Lin NU, Borges V, Anders C, Murthy RK, Paplomata E, Hamilton E, et al. Intracranial Efficacy and Survival With Tucatinib Plus Trastuzumab and Capecitabine for Previously Treated HER2-Positive Breast Cancer With Brain Metastases in the HER2CLIMB Trial. *J Clin Oncol*. 2020;38(23):2610-9.
45. Burness ML, Grushko TA, Olopade OI. Epidermal growth factor receptor in triple-negative and basal-like breast cancer: promising clinical target or only a marker? *Cancer J*. 2010;16(1):23-32.
46. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10(16):5367-74.
47. Perou CM. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*. 2011;16 Suppl 1:61-70.
48. Prat A, Adamo B, Cheang MC, Anders CK, Carey LA, Perou CM. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist*. 2013;18(2):123-33.
49. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, et al. Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin Cancer Res*. 2009;15(7):2302-10.
50. AJCC. AJCC Cancer Staging Form Supplement to the AJCC Cancer Staging Manual. 2018.
51. Zhu H, Dogan BE. American Joint Committee on Cancer's Staging System for Breast Cancer, Eighth Edition: Summary for Clinicians. *Eur J Breast Health*. 2021;17(3):234-8.
52. Berndt H, Titze U. TNM clinical stage classification of breast cancer. *Int J Cancer*. 1969;4(6):837-44.

53. Hortobagyi GN, Edge SB, Giuliano A. New and Important Changes in the TNM Staging System for Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2018;38:457-67.
54. Yordanova M, Hassan S. The Role of the 21-Gene Recurrence Score((R)) Assay in Hormone Receptor-Positive, Node-Positive Breast Cancer: The Canadian Experience. *Curr Oncol*. 2022;29(3):2008-20.
55. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. DNA damage signalling guards against activated oncogenes and tumour progression. *Oncogene*. 2007;26(56):7773-9.
56. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*. 1993;362(6422):709-15.
57. Lindahl T, Barnes DE. Repair of endogenous DNA damage. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2000;65:127-33.
58. Laurini E, Marson D, Fermeglia A, Aulic S, Fermeglia M, Pricl S. Role of Rad51 and DNA repair in cancer: A molecular perspective. *Pharmacol Ther*. 2020;208:107492.
59. Chakarov S, Petkova, R., Russev G. C., & Zhelev, N. DNA damage and mutation. Types of DNA damage. *BioDiscovery*. 2014;11(e8957).
60. Hosoya N, Miyagawa K. Targeting DNA damage response in cancer therapy. *Cancer Sci*. 2014;105(4):370-88.
61. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071-8.
62. Stan K, Bardal JEWaDSM. *Applied Pharmacology*. 2011.
63. Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature*. 2012;481(7381):287-94.
64. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature*. 2009;458(7239):719-24.
65. Le Du F, Perrin C, Brunot A, Crouzet L, De La Motte Rouge T, Lefeuvre-Plesse C, et al. Therapeutic innovations in breast cancer. *Presse Med*. 2019;48(10):1131-7.
66. Marei HE, Althani A, Afifi N, Hasan A, Caceci T, Pozzoli G, et al. p53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell Int*. 2021;21(1):703.
67. Dietlein F, Thelen L, Jokic M, Jachimowicz RD, Ivan L, Knittel G, et al. A functional cancer genomics screen identifies a druggable synthetic lethal interaction between MSH3 and PRKDC. *Cancer Discov*. 2014;4(5):592-605.
68. Li GM. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Res*. 2008;18(1):85-98.
69. Richman S. Deficient mismatch repair: Read all about it (Review). *Int J Oncol*. 2015;47(4):1189-202.
70. Krokan HE, Nilsen H, Skorpen F, Otterlei M, Slupphaug G. Base excision repair of DNA in mammalian cells. *FEBS Lett*. 2000;476(1-2):73-7.
71. Nilsen H, Krokan HE. Base excision repair in a network of defence and tolerance. *Carcinogenesis*. 2001;22(7):987-98.
72. Robertson AB, Klungland A, Rognes T, Leiros I. DNA repair in mammalian cells: Base excision repair: the long and short of it. *Cell Mol Life Sci*. 2009;66(6):981-93.
73. Sancar A. DNA excision repair. *Annu Rev Biochem*. 1996;65:43-81.
74. Scharer OD. Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(10):a012609.

75. Spivak G. Nucleotide excision repair in humans. *DNA Repair (Amst)*. 2015;36:13-8.
76. Pettijohn D, Hanawalt P. Evidence for Repair-Replication of Ultraviolet Damaged DNA in Bacteria. *J Mol Biol*. 1964;9:395-410.
77. Rich T, Allen RL, Wyllie AH. Defying death after DNA damage. *Nature*. 2000;407(6805):777-83.
78. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet*. 2001;27(3):247-54.
79. Prakash R, Zhang Y, Feng W, Jasin M. Homologous recombination and human health: the roles of BRCA1, BRCA2, and associated proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;7(4):a016600.
80. The Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature*. 2011;474(7353):609-15.
81. Toh M, Ngeow J. Homologous Recombination Deficiency: Cancer Predispositions and Treatment Implications. *Oncologist*. 2021;26(9):e1526-e37.
82. Venkitaraman AR. A growing network of cancer-susceptibility genes. *N Engl J Med*. 2003;348(19):1917-9.
83. Fradet-Turcotte A, Sitz J, Grapton D, Orthwein A. BRCA2 functions: from DNA repair to replication fork stabilization. *Endocr Relat Cancer*. 2016;23(10):T1-T17.
84. Alya Ahmad SLN, Timothy R. O'Connor. Direct Reversal Repair in Mammalian Cells. 2015; *Advances in DNA Repair*.
85. Ragg S, Xu-Welliver M, Bailey J, D'Souza M, Cooper R, Chandra S, et al. Direct reversal of DNA damage by mutant methyltransferase protein protects mice against dose-intensified chemotherapy and leads to in vivo selection of hematopoietic stem cells. *Cancer Res*. 2000;60(18):5187-95.
86. Robinson DR, Wu YM, Lonigro RJ, Vats P, Cobain E, Everett J, et al. Integrative clinical genomics of metastatic cancer. *Nature*. 2017;548(7667):297-303.
87. Tabariès SaPS. Breast Cancer Liver Metastasis. *Liver Metastasis: Biology and Clinical Management*. 2011;P. Brodt, Springer Science(16):273-306.
88. Wu Q, Li J, Zhu S, Wu J, Chen C, Liu Q, et al. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: a SEER based study. *Oncotarget*. 2017;8(17):27990-6.
89. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2022*. 2022;Atlanta, GA: American Cancer Society; 2022.
90. Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol*. 1998;153(3):865-73.
91. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):28.
92. Hapach LA, Mosier JA, Wang W, Reinhart-King CA. Engineered models to parse apart the metastatic cascade. *NPJ Precis Oncol*. 2019;3:20.

93. Revach OY, Geiger B. The interplay between the proteolytic, invasive, and adhesive domains of invadopodia and their roles in cancer invasion. *Cell Adh Migr.* 2014;8(3):215-25.
94. Wei W, Li Y, Lv S, Zhang C, Tian Y. PARP-1 may be involved in angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Oncol Lett.* 2016;12(6):4561-7.
95. Yu CH, Rafiq NB, Krishnasamy A, Hartman KL, Jones GE, Bershadsky AD, et al. Integrin-matrix clusters form podosome-like adhesions in the absence of traction forces. *Cell Rep.* 2013;5(5):1456-68.
96. Majidpoor J, Mortezaee K. Steps in metastasis: an updated review. *Med Oncol.* 2021;38(1):3.
97. Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1420-8.
98. Zavyalova MV, Denisov EV, Tashireva LA, Savelieva OE, Kaigorodova EV, Krakhmal NV, et al. Intravasation as a Key Step in Cancer Metastasis. *Biochemistry (Mosc).* 2019;84(7):762-72.
99. Yan M, Jurasz P. The role of platelets in the tumor microenvironment: From solid tumors to leukemia. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1863(3):392-400.
100. Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell.* 2011;147(2):275-92.
101. Pachmayr E, Treese C, Stein U. Underlying Mechanisms for Distant Metastasis - Molecular Biology. *Visc Med.* 2017;33(1):11-20.
102. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature.* 2005;438(7069):820-7.
103. Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne MP, Coombes RC, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(8):793-802.
104. Nagarsheth N, Wicha MS, Zou W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(9):559-72.
105. Zlotnik A, Yoshie O, Nomiya H. The chemokine and chemokine receptor superfamilies and their molecular evolution. *Genome Biol.* 2006;7(12):243.
106. Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(9):597-606.
107. Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature.* 2001;410(6824):50-6.
108. Owen JD, Strieter R, Burdick M, Haghnegahdar H, Nanney L, Shattuck-Brandt R, et al. Enhanced tumor-forming capacity for immortalized melanocytes expressing melanoma growth stimulatory activity/growth-regulated cytokine beta and gamma proteins. *Int J Cancer.* 1997;73(1):94-103.
109. Mishra P, Banerjee D, Ben-Baruch A. Chemokines at the crossroads of tumor-fibroblast interactions that promote malignancy. *J Leukoc Biol.* 2011;89(1):31-9.
110. Yang XL, Liu KY, Lin FJ, Shi HM, Ou ZL. CCL28 promotes breast cancer growth and metastasis through MAPK-mediated cellular anti-apoptosis and pro-metastasis. *Oncol Rep.* 2017;38(3):1393-401.

111. Kitamura T, Qian BZ, Soong D, Cassetta L, Noy R, Sugano G, et al. CCL2-induced chemokine cascade promotes breast cancer metastasis by enhancing retention of metastasis-associated macrophages. *J Exp Med*. 2015;212(7):1043-59.
112. Qian BZ, Li J, Zhang H, Kitamura T, Zhang J, Campion LR, et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. *Nature*. 2011;475(7355):222-5.
113. Hinton CV, Avraham S, Avraham HK. Role of the CXCR4/CXCL12 signaling axis in breast cancer metastasis to the brain. *Clin Exp Metastasis*. 2010;27(2):97-105.
114. Hassan S, Baccarelli A, Salvucci O, Basik M. Plasma stromal cell-derived factor-1: host derived marker predictive of distant metastasis in breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(2):446-54.
115. Hsu JY, Chang CJ, Cheng JS. Survival, treatment regimens and medical costs of women newly diagnosed with metastatic triple-negative breast cancer. *Sci Rep*. 2022;12(1):729.
116. Kassam F, Enright K, Dent R, Dranitsaris G, Myers J, Flynn C, et al. Survival outcomes for patients with metastatic triple-negative breast cancer: implications for clinical practice and trial design. *Clin Breast Cancer*. 2009;9(1):29-33.
117. Schmid P, Chui SY, Emens LA. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. Reply. *N Engl J Med*. 2019;380(10):987-8.
118. Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Begin LR, Goffin JR, Wong N, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95(19):1482-5.
119. Trivers KF, Lund MJ, Porter PL, Liff JM, Flagg EW, Coates RJ, et al. The epidemiology of triple-negative breast cancer, including race. *Cancer Causes Control*. 2009;20(7):1071-82.
120. Sasaki Y, Tsuda H. Clinicopathological characteristics of triple-negative breast cancers. *Breast Cancer*. 2009;16(4):254-9.
121. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(7):2750-67.
122. Turner NC, Reis-Filho JS. Tackling the diversity of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(23):6380-8.
123. Marra A, Trapani D, Viale G, Criscitiello C, Curigliano G. Practical classification of triple-negative breast cancer: intratumoral heterogeneity, mechanisms of drug resistance, and novel therapies. *NPJ Breast Cancer*. 2020;6:54.
124. Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Res*. 2020;22(1):61.
125. Shah SP, Roth A, Goya R, Oloumi A, Ha G, Zhao Y, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature*. 2012;486(7403):395-9.

126. Stemke-Hale K, Gonzalez-Angulo AM, Lluch A, Neve RM, Kuo WL, Davies M, et al. An integrative genomic and proteomic analysis of PIK3CA, PTEN, and AKT mutations in breast cancer. *Cancer Res.* 2008;68(15):6084-91.
127. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994;266(5182):66-71.
128. Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature.* 1995;378(6559):789-92.
129. Mersch J, Jackson MA, Park M, Nebgen D, Peterson SK, Singletary C, et al. Cancers associated with BRCA1 and BRCA2 mutations other than breast and ovarian. *Cancer.* 2015;121(2):269-75.
130. Petrucelli N, Daly MB, Pal T. BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
131. Cavanagh H, Rogers KM. The role of BRCA1 and BRCA2 mutations in prostate, pancreatic and stomach cancers. *Hered Cancer Clin Pract.* 2015;13(1):16.
132. Foulkes WD, Metcalfe K, Sun P, Hanna WM, Lynch HT, Ghadirian P, et al. Estrogen receptor status in BRCA1- and BRCA2-related breast cancer: the influence of age, grade, and histological type. *Clin Cancer Res.* 2004;10(6):2029-34.
133. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature.* 2002;415(6871):530-6.
134. van der Groep P, van der Wall E, van Diest PJ. Pathology of hereditary breast cancer. *Cell Oncol (Dordr).* 2011;34(2):71-88.
135. Powell SN, Kachnic LA. Roles of BRCA1 and BRCA2 in homologous recombination, DNA replication fidelity and the cellular response to ionizing radiation. *Oncogene.* 2003;22(37):5784-91.
136. Wooster R, Neuhausen SL, Mangion J, Quirk Y, Ford D, Collins N, et al. Localization of a breast cancer susceptibility gene, BRCA2, to chromosome 13q12-13. *Science.* 1994;265(5181):2088-90.
137. Friedenson B. The BRCA1/2 pathway prevents hematologic cancers in addition to breast and ovarian cancers. *BMC Cancer.* 2007;7:152.
138. Lord CJ, Ashworth A. BRCAness revisited. *Nat Rev Cancer.* 2016;16(2):110-20.
139. Lips EH, Mulder L, Oonk A, van der Kolk LE, Hogervorst FB, Imholz AL, et al. Triple-negative breast cancer: BRCAness and concordance of clinical features with BRCA1-mutation carriers. *Br J Cancer.* 2013;108(10):2172-7.
140. Loibl S, O'Shaughnessy J, Untch M, Sikov WM, Rugo HS, McKee MD, et al. Addition of the PARP inhibitor veliparib plus carboplatin or carboplatin alone to standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer (BrighTNess): a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(4):497-509.
141. Fournier M, Fumoleau P. The paradox of triple negative breast cancer: novel approaches to treatment. *Breast J.* 2012;18(1):41-51.

142. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, Andre F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1275-81.
143. Nedeljkovic M, Damjanovic A. Mechanisms of Chemotherapy Resistance in Triple-Negative Breast Cancer-How We Can Rise to the Challenge. *Cells*. 2019;8(9).
144. Capranico G, Binaschi M, Borgnetto ME, Zunino F, Palumbo M. A protein-mediated mechanism for the DNA sequence-specific action of topoisomerase II poisons. *Trends Pharmacol Sci*. 1997;18(9):323-9.
145. Manish Shandilya SS, Prabhu Prasad Das and Sonika Charak Molecular-Level Understanding of the Anticancer Action Mechanism of Anthracyclines. IntechOpen. 2020;Advances in Precision Medicine Oncology.
146. Gradishar WJ. Taxanes for the treatment of metastatic breast cancer. *Breast Cancer (Auckl)*. 2012;6:159-71.
147. Mustacchi G, De Laurentiis M. The role of taxanes in triple-negative breast cancer: literature review. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:4303-18.
148. Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(4):253-65.
149. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007;33(1):9-23.
150. Pruefer FG, Lizarraga F, Maldonado V, Melendez-Zajgla J. Participation of Omi/Htra2 serine-protease activity in the apoptosis induced by cisplatin on SW480 colon cancer cells. *J Chemother*. 2008;20(3):348-54.
151. Stachurska A, Dudkowska M, Czopek A, Manteuffel-Cymborowska M, Grzelakowska-Sztabert B. Cisplatin up-regulates the in vivo biosynthesis and degradation of renal polyamines and c-Myc expression. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1689(3):259-66.
152. Rybak LP, Whitworth CA. Ototoxicity: therapeutic opportunities. *Drug Discov Today*. 2005;10(19):1313-21.
153. Meijer C, de Vries EG, Marmioli P, Tredici G, Frattola L, Cavaletti G. Cisplatin-induced DNA-platination in experimental dorsal root ganglia neuropathy. *Neurotoxicology*. 1999;20(6):883-7.
154. Oun R, Moussa YE, Wheate NJ. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Trans*. 2018;47(19):6645-53.
155. Lokich J, Anderson N. Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the literature. *Ann Oncol*. 1998;9(1):13-21.
156. Ntemou E, Vidal PD, Alexandri C, Van den Steen G, Lambertini M, Demeestere I. Ovarian toxicity of carboplatin and paclitaxel in mouse carriers of mutation in BRIP1 tumor suppressor gene. *Sci Rep*. 2022;12(1):1658.
157. McWhinney SR, Goldberg RM, McLeod HL. Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Mol Cancer Ther*. 2009;8(1):10-6.
158. Shi TZ, Yan JL. [Therapeutic effect of carboplatin and etoposide combinative therapy on 123 lung cancer cases]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 1994;16(5):384-6.
159. Wang X, Zhang H, Chen X. Drug resistance and combating drug resistance in cancer. *Cancer Drug Resist*. 2019;2:141-60.

160. Stewart DJ. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2007;63(1):12-31.
161. Perry WL, 3rd, Shepard RL, Sampath J, Yaden B, Chin WW, Iversen PW, et al. Human splicing factor SPF45 (RBM17) confers broad multidrug resistance to anticancer drugs when overexpressed--a phenotype partially reversed by selective estrogen receptor modulators. *Cancer Res.* 2005;65(15):6593-600.
162. Perez RP, Hamilton TC, Ozols RF, Young RC. Mechanisms and modulation of resistance to chemotherapy in ovarian cancer. *Cancer.* 1993;71(4 Suppl):1571-80.
163. Martin LP, Hamilton TC, Schilder RJ. Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clin Cancer Res.* 2008;14(5):1291-5.
164. Mansoori B, Mohammadi A, Davudian S, Shirjang S, Baradaran B. The Different Mechanisms of Cancer Drug Resistance: A Brief Review. *Adv Pharm Bull.* 2017;7(3):339-48.
165. Jin J, Lin J, Xu A, Lou J, Qian C, Li X, et al. CCL2: An Important Mediator Between Tumor Cells and Host Cells in Tumor Microenvironment. *Front Oncol.* 2021;11:722916.
166. Reyes ME, de La Fuente M, Hermoso M, Ili CG, Brebi P. Role of CC Chemokines Subfamily in the Platinum Drugs Resistance Promotion in Cancer. *Front Immunol.* 2020;11:901.
167. Moisan F, Francisco EB, Brozovic A, Duran GE, Wang YC, Chaturvedi S, et al. Enhancement of paclitaxel and carboplatin therapies by CCL2 blockade in ovarian cancers. *Mol Oncol.* 2014;8(7):1231-9.
168. Jabbarzadeh Kaboli P, Shabani S, Sharma S, Partovi Nasr M, Yamaguchi H, Hung MC. Shedding light on triple-negative breast cancer with Trop2-targeted antibody-drug conjugates. *Am J Cancer Res.* 2022;12(4):1671-85.
169. Thomas R, Al-Khadairi G, Decock J. Immune Checkpoint Inhibitors in Triple Negative Breast Cancer Treatment: Promising Future Prospects. *Front Oncol.* 2020;10:600573.
170. Yi H, Li Y, Tan Y, Fu S, Tang F, Deng X. Immune Checkpoint Inhibition for Triple-Negative Breast Cancer: Current Landscape and Future Perspectives. *Front Oncol.* 2021;11:648139.
171. Schmid P, Dent R, O'Shaughnessy J. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. Reply. *N Engl J Med.* 2020;382(26):e108.
172. Schmid P, Cortes J, Dent R, Pusztai L, McArthur H, Kummel S, et al. Event-free Survival with Pembrolizumab in Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2022;386(6):556-67.
173. Javle M, Curtin NJ. The role of PARP in DNA repair and its therapeutic exploitation. *Br J Cancer.* 2011;105(8):1114-22.
174. Langelier MF, Pascal JM. PARP-1 mechanism for coupling DNA damage detection to poly(ADP-ribose) synthesis. *Curr Opin Struct Biol.* 2013;23(1):134-43.
175. Langelier MF, Riccio AA, Pascal JM. PARP-2 and PARP-3 are selectively activated by 5' phosphorylated DNA breaks through an allosteric regulatory mechanism shared with PARP-1. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(12):7762-75.

176. Eustermann S, Videler H, Yang JC, Cole PT, Gruszka D, Veprintsev D, et al. The DNA-binding domain of human PARP-1 interacts with DNA single-strand breaks as a monomer through its second zinc finger. *J Mol Biol.* 2011;407(1):149-70.
177. Beernink PT, Hwang M, Ramirez M, Murphy MB, Doyle SA, Thelen MP. Specificity of protein interactions mediated by BRCT domains of the XRCC1 DNA repair protein. *J Biol Chem.* 2005;280(34):30206-13.
178. Li X, Erden O, Li L, Ye Q, Wilson A, Du W. Binding to WGR domain by salidroside activates PARP1 and protects hematopoietic stem cells from oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(12):1853-65.
179. Sargazi S, Saravani R, Zavar Reza J, Zarei Jaliani H, Galavi H, Moudi M, et al. Novel Poly(Adenosine Diphosphate-Ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor, AZD2461, Down-Regulates VEGF and Induces Apoptosis in Prostate Cancer Cells. *Iran Biomed J.* 2019;23(5):312-23.
180. Sonnenblick A, de Azambuja E, Azim HA, Jr., Piccart M. An update on PARP inhibitors--moving to the adjuvant setting. *Nat Rev Clin Oncol.* 2015;12(1):27-41.
181. Weaver AN, Yang ES. Beyond DNA Repair: Additional Functions of PARP-1 in Cancer. *Frontiers in oncology.* 2013;3:290.
182. Demeny MA, Virag L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 1. Cell Intrinsic Hallmarks. *Cancers (Basel).* 2021;13(9).
183. Pazzaglia S, Pioli C. Multifaceted Role of PARP-1 in DNA Repair and Inflammation: Pathological and Therapeutic Implications in Cancer and Non-Cancer Diseases. *Cells.* 2019;9(1).
184. Rosado MM, Bennici E, Novelli F, Pioli C. Beyond DNA repair, the immunological role of PARP-1 and its siblings. *Immunology.* 2013;139(4):428-37.
185. Martin-Oliva D, Aguilar-Quesada R, O'Valle F, Munoz-Gamez JA, Martinez-Romero R, Garcia Del Moral R, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase modulates tumor-related gene expression, including hypoxia-inducible factor-1 activation, during skin carcinogenesis. *Cancer Res.* 2006;66(11):5744-56.
186. Tentori L, Lacal PM, Muzi A, Dorio AS, Leonetti C, Scarsella M, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibition or PARP-1 gene deletion reduces angiogenesis. *European journal of cancer.* 2007;43(14):2124-33.
187. Marti JM, Fernandez-Cortes M, Serrano-Saenz S, Zamudio-Martinez E, Delgado-Bellido D, Garcia-Diaz A, et al. The Multifactorial Role of PARP-1 in Tumor Microenvironment. *Cancers (Basel).* 2020;12(3).
188. Demeny MA, Virag L. The PARP Enzyme Family and the Hallmarks of Cancer Part 2: Hallmarks Related to Cancer Host Interactions. *Cancers (Basel).* 2021;13(9).
189. Rodriguez-Vargas JM, Ruiz-Magana MJ, Ruiz-Ruiz C, Majuelos-Melguizo J, Peralta-Leal A, Rodriguez MI, et al. ROS-induced DNA damage and PARP-1 are required for optimal induction of starvation-induced autophagy. *Cell Res.* 2012;22(7):1181-98.
190. Rodriguez-Vargas JM, Rodriguez MI, Majuelos-Melguizo J, Garcia-Diaz A, Gonzalez-Flores A, Lopez-Rivas A, et al. Autophagy requires poly(adp-ribosyl)ation-dependent AMPK nuclear export. *Cell Death Differ.* 2016;23(12):2007-18.
191. Panzeter PL, Realini CA, Althaus FR. Noncovalent interactions of poly(adenosine diphosphate ribose) with histones. *Biochemistry.* 1992;31(5):1379-85.

192. Chen ZT, Zhao W, Qu S, Li L, Lu XD, Su F, et al. PARP-1 promotes autophagy via the AMPK/mTOR pathway in CNE-2 human nasopharyngeal carcinoma cells following ionizing radiation, while inhibition of autophagy contributes to the radiation sensitization of CNE-2 cells. *Mol Med Rep.* 2015;12(2):1868-76.
193. Zeniou M, Nguekeu-Zebaze L, Dantzer F. Therapeutic considerations of PARP in stem cell biology: Relevance in cancer and beyond. *Biochem Pharmacol.* 2019;167:107-15.
194. Choi EB, Yang AY, Kim SC, Lee J, Choi JK, Choi C, et al. PARP1 enhances lung adenocarcinoma metastasis by novel mechanisms independent of DNA repair. *Oncogene.* 2016;35(35):4569-79.
195. Choi JR, Shin KS, Choi CY, Kang SJ. PARP1 regulates the protein stability and proapoptotic function of HIPK2. *Cell Death Dis.* 2016;7(10):e2438.
196. Lindahl T, Satoh MS, Poirier GG, Klungland A. Post-translational modification of poly(ADP-ribose) polymerase induced by DNA strand breaks. *Trends Biochem Sci.* 1995;20(10):405-11.
197. Curtin NJ, Szabo C. Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. *Mol Aspects Med.* 2013;34(6):1217-56.
198. Murai J, Huang SY, Das BB, Renaud A, Zhang Y, Doroshow JH, et al. Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. *Cancer Res.* 2012;72(21):5588-99.
199. Lin KY, Kraus WL. PARP Inhibitors for Cancer Therapy. *Cell.* 2017;169(2):183.
200. Xia F, Taghian DG, DeFrank JS, Zeng ZC, Willers H, Iliakis G, et al. Deficiency of human BRCA2 leads to impaired homologous recombination but maintains normal nonhomologous end joining. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(15):8644-9.
201. Holloman WK. Unraveling the mechanism of BRCA2 in homologous recombination. *Nat Struct Mol Biol.* 2011;18(7):748-54.
202. Wang YQ, Wang PY, Wang YT, Yang GF, Zhang A, Miao ZH. An Update on Poly(ADP-ribose)polymerase-1 (PARP-1) Inhibitors: Opportunities and Challenges in Cancer Therapy. *J Med Chem.* 2016;59(21):9575-98.
203. Malyuchenko NV, Kotova EY, Kulaeva OI, Kirpichnikov MP, Studitskiy VM. PARP1 Inhibitors: antitumor drug design. *Acta Naturae.* 2015;7(3):27-37.
204. Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature.* 2005;434(7035):913-7.
205. Lord CJ, Ashworth A. Mechanisms of resistance to therapies targeting BRCA-mutant cancers. *Nature medicine.* 2013;19(11):1381-8.
206. Lord CJ, Tutt AN, Ashworth A. Synthetic lethality and cancer therapy: lessons learned from the development of PARP inhibitors. *Annu Rev Med.* 2015;66:455-70.
207. Hu Y, Guo M. Synthetic lethality strategies: Beyond BRCA1/2 mutations in pancreatic cancer. *Cancer Sci.* 2020;111(9):3111-21.
208. McCabe N, Turner NC, Lord CJ, Kluzek K, Bialkowska A, Swift S, et al. Deficiency in the repair of DNA damage by homologous recombination and sensitivity to poly(ADP-ribose) polymerase inhibition. *Cancer Res.* 2006;66(16):8109-15.
209. Rigakos G, Razis E. BRCAness: finding the Achilles heel in ovarian cancer. *Oncologist.* 2012;17(7):956-62.

210. Beniey M, Haque T, Hassan S. Translating the role of PARP inhibitors in triple-negative breast cancer. *Oncoscience*. 2019;6(1-2):287-8.
211. Evans KW, Yuca E, Akcakanat A, Scott SM, Arango NP, Zheng X, et al. A Population of Heterogeneous Breast Cancer Patient-Derived Xenografts Demonstrate Broad Activity of PARP Inhibitor in BRCA1/2 Wild-Type Tumors. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2017;23(21):6468-77.
212. Hassan S, Esch A, Liby T, Gray JW, Heiser LM. Pathway-Enriched Gene Signature Associated with 53BP1 Response to PARP Inhibition in Triple-Negative Breast Cancer. *Molecular cancer therapeutics*. 2017;16(12):2892-901.
213. Chopra N, Tovey H, Pearson A, Cutts R, Toms C, Proszek P, et al. Homologous recombination DNA repair deficiency and PARP inhibition activity in primary triple negative breast cancer. *Nat Commun*. 2020;11(1):2662.
214. Eikesdal HP, Yndestad S, Elzawahry A, Llop-Guevara A, Gilje B, Blix ES, et al. Olaparib monotherapy as primary treatment in unselected triple negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2021;32(2):240-9.
215. Murai J, Huang SY, Renaud A, Zhang Y, Ji J, Takeda S, et al. Stereospecific PARP trapping by BMN 673 and comparison with olaparib and rucaparib. *Mol Cancer Ther*. 2014;13(2):433-43.
216. Rose M, Burgess JT, O'Byrne K, Richard DJ, Bolderson E. PARP Inhibitors: Clinical Relevance, Mechanisms of Action and Tumor Resistance. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:564601.
217. Brown JS, Kaye SB, Yap TA. PARP inhibitors: the race is on. *Br J Cancer*. 2016;114(7):713-5.
218. Keung MYT, Wu Y, Vadgama JV. PARP Inhibitors as a Therapeutic Agent for Homologous Recombination Deficiency in Breast Cancers. *J Clin Med*. 2019;8(4).
219. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Goncalves A, Lee KH, et al. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *The New England journal of medicine*. 2018;379(8):753-63.
220. Barchiesi G, Roberto M, Verrico M, Vici P, Tomao S, Tomao F. Emerging Role of PARP Inhibitors in Metastatic Triple Negative Breast Cancer. Current Scenario and Future Perspectives. *Front Oncol*. 2021;11:769280.
221. Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *The New England journal of medicine*. 2017;377(6):523-33.
222. Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P, et al. Adjuvant Olaparib for Patients with BRCA1- or BRCA2-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2394-405.
223. Principe V. Lynparza receives Health Canada approval as adjuvant treatment for patients with germline BRCA-mutated HER2-negative high-risk early breast cancer 2022 [Available from: <https://www.astrazeneca.ca/en/media/press-releases/2022/lynparza-receives-health-canada-approval-as-adjuvant-treatment-f.html>].
224. Dias MP, Moser SC, Ganesan S, Jonkers J. Understanding and overcoming resistance to PARP inhibitors in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(12):773-91.

225. Bayat Mokhtari R, Homayouni TS, Baluch N, Morgatskaya E, Kumar S, Das B, et al. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*. 2017;8(23):38022-43.
226. Ren N, Zhang L, Yu J, Guan S, Dai X, Sun L, et al. Efficacy and Safety of PARP Inhibitor Combination Therapy in Recurrent Ovarian Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021;11:638295.
227. Vikas P, Borcharding N, Chennamadhavuni A, Garje R. Therapeutic Potential of Combining PARP Inhibitor and Immunotherapy in Solid Tumors. *Front Oncol*. 2020;10:570.
228. Yusoh NA, Ahmad H, Gill MR. Combining PARP Inhibition with Platinum, Ruthenium or Gold Complexes for Cancer Therapy. *ChemMedChem*. 2020;15(22):2121-35.
229. Dréan A, Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitor combination therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;108:73-85.
230. Moiseeva TN, Qian C, Sugitani N, Osmanbeyoglu HU, Bakkenist CJ. WEE1 kinase inhibitor AZD1775 induces CDK1 kinase-dependent origin firing in unperturbed G1- and S-phase cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(48):23891-3.
231. Fang Y, McGrail DJ, Sun C, Labrie M, Chen X, Zhang D, et al. Sequential Therapy with PARP and WEE1 Inhibitors Minimizes Toxicity while Maintaining Efficacy. *Cancer cell*. 2019;35(6):851-67 e7.
232. Matulonis UA, Monk BJ. PARP inhibitor and chemotherapy combination trials for the treatment of advanced malignancies: does a development pathway forward exist? *Ann Oncol*. 2017;28(3):443-7.
233. Masutani M, Nozaki T, Nishiyama E, Shimokawa T, Tachi Y, Suzuki H, et al. Function of poly(ADP-ribose) polymerase in response to DNA damage: gene-disruption study in mice. *Mol Cell Biochem*. 1999;193(1-2):149-52.
234. Fu D, Calvo JA, Samson LD. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(2):104-20.
235. Somlo G, Frankel PH, Arun BK, Ma CX, Garcia AA, Cigler T, et al. Efficacy of the PARP Inhibitor Veliparib with Carboplatin or as a Single Agent in Patients with Germline BRCA1- or BRCA2-Associated Metastatic Breast Cancer: California Cancer Consortium Trial NCT01149083. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2017;23(15):4066-76.
236. Dieras V, Han HS, Kaufman B, Wildiers H, Friedlander M, Ayoub JP, et al. Veliparib with carboplatin and paclitaxel in BRCA-mutated advanced breast cancer (BROCADE3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(10):1269-82.
237. Arun BK, Han HS, Kaufman B, Wildiers H, Friedlander M, Ayoub JP, et al. Efficacy and safety of first-line veliparib and carboplatin-paclitaxel in patients with HER2-advanced germline BRCA+ breast cancer: Subgroup analysis of a randomised clinical trial. *Eur J Cancer*. 2021;154:35-45.
238. Dhawan MS, Bartelink IH, Aggarwal RR, Leng J, Zhang JZ, Pawlowska N, et al. Differential Toxicity in Patients with and without DNA Repair Mutations: Phase I Study of Carboplatin and Talazoparib in Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res*. 2017;23(21):6400-10.

239. Lee JM, Gulley JL. Checkpoint and PARP inhibitors, for whom and when. *Oncotarget*. 2017;8(56):95036-7.
240. Cailleau R, Young R, Olive M, Reeves WJ, Jr. Breast tumor cell lines from pleural effusions. *J Natl Cancer Inst*. 1974;53(3):661-74.
241. Cailleau R, Olive M, Cruciger QV. Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In Vitro*. 1978;14(11):911-5.
242. Hackett AJ, Smith HS, Springer EL, Owens RB, Nelson-Rees WA, Riggs JL, et al. Two syngeneic cell lines from human breast tissue: the aneuploid mammary epithelial (Hs578T) and the diploid myoepithelial (Hs578Bst) cell lines. *J Natl Cancer Inst*. 1977;58(6):1795-806.
243. Gazdar AF, Kurvari V, Virmani A, Gollahon L, Sakaguchi M, Westerfield M, et al. Characterization of paired tumor and non-tumor cell lines established from patients with breast cancer. *Int J Cancer*. 1998;78(6):766-74.
244. American Type Culture Collection records. Center for Biological Sciences Archives. 1997;Collection 10, Special Collections.
245. Chavez KJ, Garimella SV, Lipkowitz S. Triple negative breast cancer cell lines: one tool in the search for better treatment of triple negative breast cancer. *Breast Dis*. 2010;32(1-2):35-48.
246. Iorns E, Drews-Elger K, Ward TM, Dean S, Clarke J, Berry D, et al. A new mouse model for the study of human breast cancer metastasis. *PLoS One*. 2012;7(10):e47995.
247. Shen Y, Rehman FL, Feng Y, Boshuizen J, Bajrami I, Elliott R, et al. BMN 673, a novel and highly potent PARP1/2 inhibitor for the treatment of human cancers with DNA repair deficiency. *Clin Cancer Res*. 2013;19(18):5003-15.
248. Benton G, Kleinman HK, George J, Arnaoutova I. Multiple uses of basement membrane-like matrix (BME/Matrigel) in vitro and in vivo with cancer cells. *Int J Cancer*. 2011;128(8):1751-7.
249. Chen HC. Boyden chamber assay. *Methods Mol Biol*. 2005;294:15-22.
250. Edwards KR, Goyal J, Plavina T, Czerkowicz J, Goelz S, Ranger A, et al. Feasibility of the use of combinatorial chemokine arrays to study blood and CSF in multiple sclerosis. *PLoS One*. 2013;8(11):e81007.
251. Arroyo-Crespo JJ, Arminan A, Charbonnier D, Deladriere C, Palomino-Schatzlein M, Lamas-Domingo R, et al. Characterization of triple-negative breast cancer preclinical models provides functional evidence of metastatic progression. *Int J Cancer*. 2019;145(8):2267-81.
252. Dutta P, Paico K, Gomez G, Wu Y, Vadgama JV. Transcriptional Regulation of CCL2 by PARP1 Is a Driver for Invasiveness in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(5).
253. Dutta P, Sarkissyan M, Paico K, Wu Y, Vadgama JV. MCP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancers and drives cancer invasiveness and metastasis. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;170(3):477-86.
254. Wahba HA, El-Hadaad HA. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Med*. 2015;12(2):106-16.
255. Mohyuddin GR, Aziz M, Britt A, Wade L, Sun W, Baranda J, et al. Similar response rates and survival with PARP inhibitors for patients with solid tumors harboring somatic

- versus Germline BRCA mutations: a Meta-analysis and systematic review. *BMC Cancer*. 2020;20(1):507.
256. Vidula N, Horick NK, Blouch E, Rivera A, Basile E, Fax R, et al. Phase II trial of a PARP inhibitor in somatic BRCA mutant metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(15_suppl):TPS1113-TPS.
257. Corvigno S, Burks JK, Hu W, Zhong Y, Jennings NB, Fleming ND, et al. Immune microenvironment composition in high-grade serous ovarian cancers based on BRCA mutational status. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2021;147(12):3545-55.
258. Launonen IM, Lyytikäinen N, Casado J, Anttila EA, Szabo A, Haltia UM, et al. Single-cell tumor-immune microenvironment of BRCA1/2 mutated high-grade serous ovarian cancer. *Nat Commun*. 2022;13(1):835.
259. Zhang S, Iyer S, Ran H, Dolgalev I, Gu S, Wei W, et al. Genetically Defined, Syngeneic Organoid Platform for Developing Combination Therapies for Ovarian Cancer. *Cancer Discovery*. 2021;11(2):362-83.
260. van Vugt M, Parkes EE. When breaks get hot: inflammatory signaling in BRCA1/2-mutant cancers. *Trends Cancer*. 2022;8(3):174-89.
261. Domingo IK, Latif A, Bhavsar AP. Pro-Inflammatory Signalling PRRopels Cisplatin-Induced Toxicity. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13).
262. Liu Z, Wang H, Wang S, Gao J, Niu L. PARP-1 inhibition attenuates the inflammatory response in the cartilage of a rat model of osteoarthritis. *Bone Joint Res*. 2021;10(7):401-10.
263. Marques M, Beauchamp MC, Fleury H, Laskov I, Qiang S, Pelmus M, et al. Chemotherapy reduces PARP1 in cancers of the ovary: implications for future clinical trials involving PARP inhibitors. *BMC Med*. 2015;13:217.
264. Rashed HE, Monged RE, Nawar N, Alattar AZ, Alnagar AA, Abdelhamid MI, et al. PARP1, BRCA1 and androgen receptor expression in triple-negative breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Revista de Senología y Patología Mamaria*. 2022.
265. Neophytou CM, Panagi M, Stylianopoulos T, Papageorgis P. The Role of Tumor Microenvironment in Cancer Metastasis: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9).
266. Kawauchi T, Nabeshima YI. Growth Arrest Triggers Extra-Cell Cycle Regulatory Function in Neurons: Possible Involvement of p27(kip1) in Membrane Trafficking as Well as Cytoskeletal Regulation. *Front Cell Dev Biol*. 2019;7:64.
267. Liu L, Yang L, Yan W, Zhai J, Pizzo DP, Chu P, et al. Chemotherapy Induces Breast Cancer Stemness in Association with Dysregulated Monocytosis. *Clin Cancer Res*. 2018;24(10):2370-82.
268. Geller MA, Bui-Nguyen TM, Rogers LM, Ramakrishnan S. Chemotherapy induces macrophage chemoattractant protein-1 production in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(6):918-25.
269. Karagiannis GS, Condeelis JS, Oktay MH. Chemotherapy-Induced Metastasis: Molecular Mechanisms, Clinical Manifestations, Therapeutic Interventions. *Cancer Res*. 2019;79(18):4567-76.

270. Bertolini G, Cancila V, Milione M, Lo Russo G, Fortunato O, Zaffaroni N, et al. A novel CXCR4 antagonist counteracts paradoxical generation of cisplatin-induced pro-metastatic niches in lung cancer. *Mol Ther.* 2021;29(10):2963-78.
271. Keklikoglou I, Cianciaruso C, Guc E, Squadrito ML, Spring LM, Tazzyman S, et al. Chemotherapy elicits pro-metastatic extracellular vesicles in breast cancer models. *Nat Cell Biol.* 2019;21(2):190-202.
272. Zabuawala T, Taffany DA, Sharma SM, Merchant A, Adair B, Srinivasan R, et al. An ets2-driven transcriptional program in tumor-associated macrophages promotes tumor metastasis. *Cancer Res.* 2010;70(4):1323-33.
273. Bragado P, Armesilla A, Silva A, Porras A. Apoptosis by cisplatin requires p53 mediated p38alpha MAPK activation through ROS generation. *Apoptosis.* 2007;12(9):1733-42.
274. Amiri KI, Ha HC, Smulson ME, Richmond A. Differential regulation of CXC ligand 1 transcription in melanoma cell lines by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Oncogene.* 2006;25(59):7714-22.
275. Tolic A, Grdovic N, Dinic S, Rajic J, Dordevic M, Sinadinovic M, et al. Absence of PARP-1 affects Cxcl12 expression by increasing DNA demethylation. *J Cell Mol Med.* 2019;23(4):2610-8.
276. Li X, Fang T, Xu S, Jin P, Zhou D, Wang Z, et al. PARP inhibitors promote stromal fibroblast activation by enhancing CCL5 autocrine signaling in ovarian cancer. *NPJ Precis Oncol.* 2021;5(1):49.

Annexes

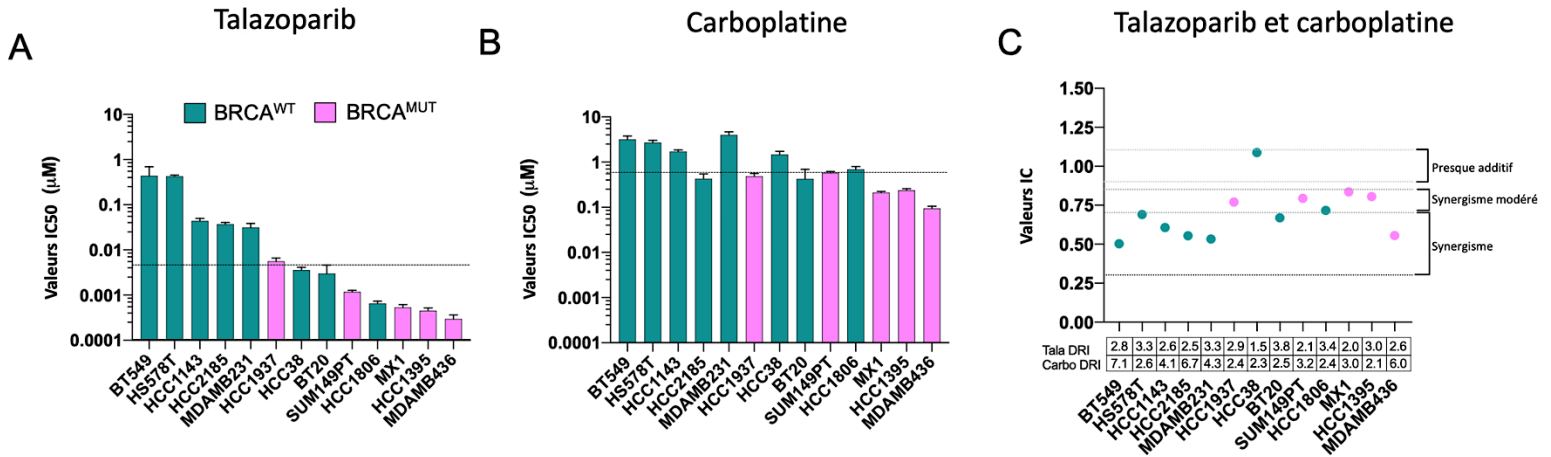


Figure 1. Le talazoparib agit en synergie avec le carboplatine dans la plupart des lignées cellulaires du CSTN. Valeurs IC50 pour (A) le talazoparib et (B) le carboplatine dans les lignées cellulaires du CSTN. Les données représentent la moyenne +/- SEM. L'effet de la combinaison du talazoparib et du carboplatine est démontré en (C) par des valeurs d'indice de combinaison rapportées à un FA (fraction affectée) de 0,5. Sous chaque lignée cellulaire se trouve l'indice de réduction de dose (DRI) pour le talazoparib et le carboplatine qui évalue la mesure à laquelle la dose d'un des agents de la combinaison peut être réduite pour atteindre des niveaux d'effet comparables ceux obtenus avec l'agent seul. Les barres/points verts représentent les lignées cellulaires BRCA^{WT}, et les barres/points roses représentent les lignées cellulaires BRCA^{MUT}.

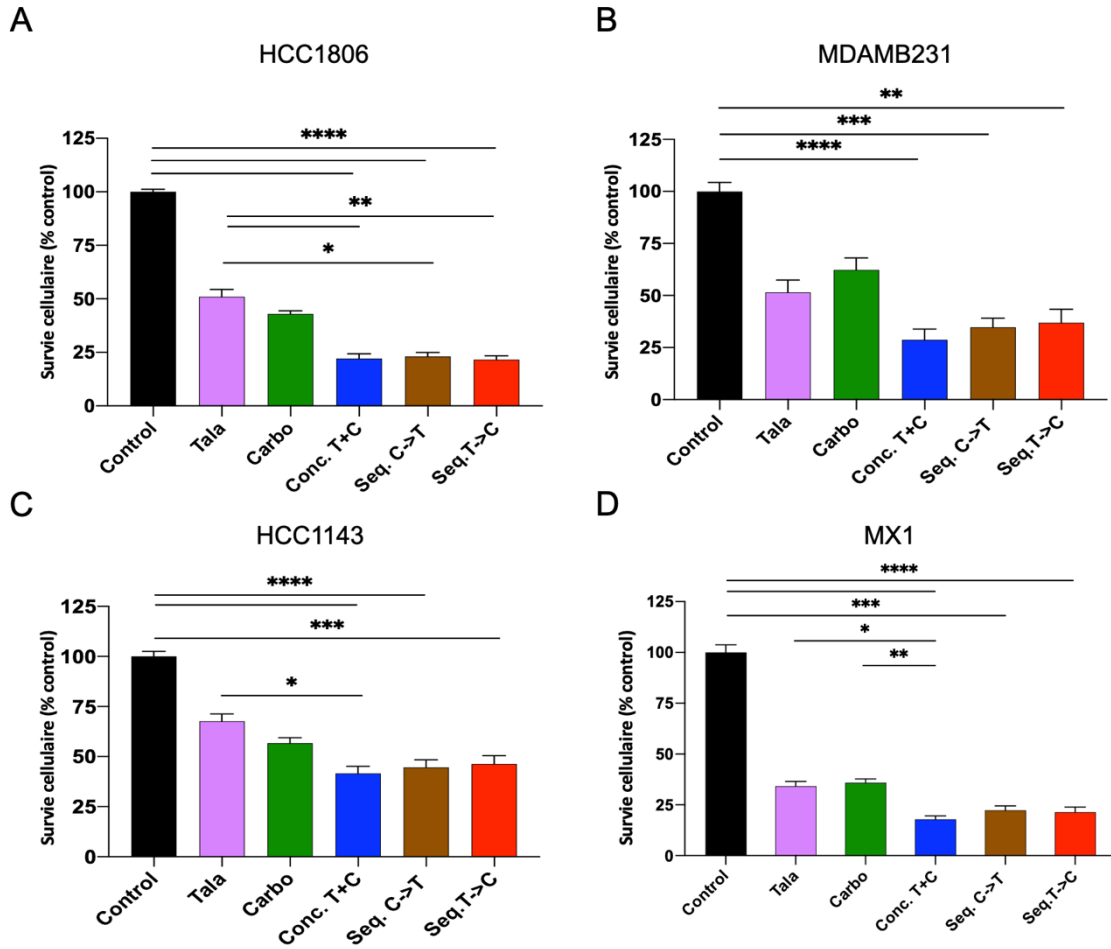


Figure 2. Test de chimiosensibilité sur 10 jours. La chimiosensibilité a été évaluée sur 10 jours et sur 4 lignées du CSTN, HCC1806, MDAMB231, HCC1143 et MX1. La survie cellulaire a donc été évaluée et est représentées en pourcentage du contrôle. Les données représentent la moyenne +/- SEM.

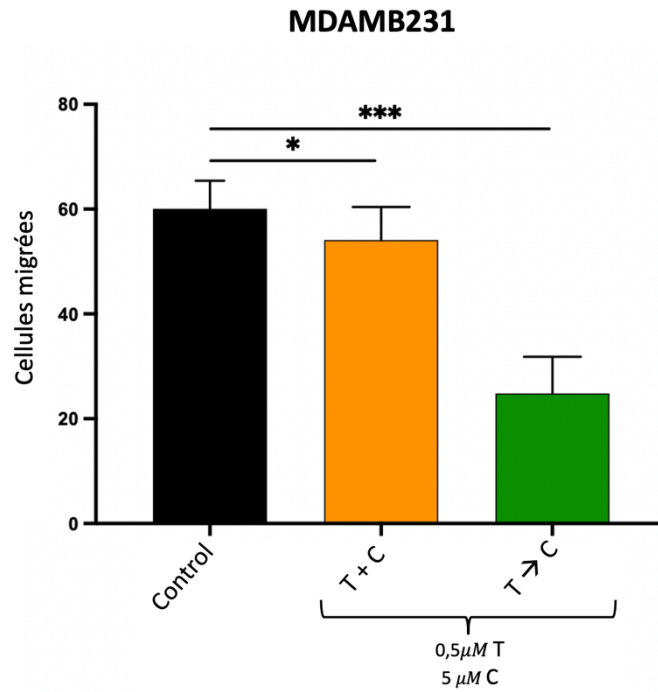


Figure 3. Combinaisons du talazoparib et du carboplatine sur la migration cellulaire dans la lignée MDAMB231. Ce graphique à barres représente la moyenne +/- SEM du nombre de cellules MDAMB231 qui ont migré à travers la membrane de la chambre de Boyden. Une ANOVA avec post-test pour des comparaisons multiples a été réalisée. ***P<0,001 ; *P<0,05.