Intérêt thérapeutique du tamoxifène dans les myopathies congénitales

Bérangère Deffrennes

▶ **To cite this version:**

Bérangère Deffrennes. Intérêt thérapeutique du tamoxifène dans les myopathies congénitales. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03978988

HAL Id: dumas-03978988

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03978988v1

Submitted on 8 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

EnvA
École nationale vétérinaire d'Alfort
PORTEUR D'HISTOIRE
ACTEUR D'AVENIR

Année 2022

INTÉRÊT THÉRAPEUTIQUE DU TAMOXIFÈNE DANS LES MYOPATHIES CONGÉNITALES

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le jeudi 27 octobre 2022

par

Bérengère DEFFRENNES

sous la direction de

Fanny PILOT-STORCK

JURY

Président du jury :	**Pr TIRET Laurent**	Professeur à l'EnvA
Directrice de thèse :	**Pr PILOT-STORCK Fanny**	Professeur à l'EnvA
Examinateur :	**Pr TISSIER Renaud**	Professeur à l'EnvA

École nationale vétérinaire d'Alfort
7, avenue du général de Gaulle
94 704 Maisons-Alfort Cedex
01 43 96 71 00
vet-alfort.fr

UPEC
Connaissance - Action
UNIVERSITÉ PARIS-EST CRÉTEIL VAL DE MARNE

Liste des enseignants intervenant dans l'encadrement des thèses de Doctorat vétérinaire

Version du 8 février 2022

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Adjou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Maître de conférences HDR	DPASP
M	Blot	Stephane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loïc	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Fédérighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gilbert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guénec	Christelle	Maître de conférences HDR	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
M	Perrot	Sébastien	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Arné	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Benchekroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Lelia	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guibert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevallier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Faivre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Constant	Fabienne	Maître de conférences	DPASP
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
Mme	Decambron	Adeline	Maître de conférences	DEPEC
M	Delsart	Maxime	Maître de conferences associé	DPASP
M	Desbois	Christophe	Maître de conférences	DEPEC
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conferences associé	DPASP
Mme	Guétin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagrée	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conferences associé	DSBP
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mtimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
Mme	Mespoulhès-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mortier	Jérémy	Maître de conferences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Polack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Maître de conférences	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Risco-Castillo	Véronica	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conferences associé	DSBP

Remerciements

À Monsieur le Professeur Laurent TIRET, Professeur et Maître de conférences à l'EnvA, qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Monsieur, cela fait maintenant cinq ans que vous m'accompagnez avec la plus grande bienveillance dans mon parcours. Vous avez toujours été d'un soutien inébranlable, à l'écoute et généreux en conseils éclairés. Vous m'avez ouvert la porte à des opportunités inespérées. D'autre part, votre subtilité, votre humanité et votre sensibilité sont une source d'inspiration constante. Je ne vous remercierai jamais assez de tout ce que vous m'avez apporté. « On ne naît pas « soi », on le devient. » disait Martine Reid, alors merci de m'avoir permis de grandir.

À Madame la Professeure Fanny PILOT-STORCK, Professeure et Maître de conférences à l'EnvA, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la direction de ma thèse.
Madame, je vous suis reconnaissante de votre rigueur et d'avoir eu la patience de m'accompagner sur un chemin qui était une découverte pour moi. Merci pour votre gentillesse en toutes circonstances mais aussi pour tous ces échanges riches en enseignements. J'ai beaucoup appris de votre pédagogie depuis maintenant cinq ans, que ce soit en amphithéâtre ou au laboratoire. Et vos judicieux conseils littéraires continuent de m'accompagner.

À Monsieur le Professeur Renaud TISSIER, Professeur et Maître de conférences à l'EnvA, pour m'avoir fait l'honneur d'être le premier examinateur de ma thèse.

À mes parents, à mes grands-parents des étoiles, à ma famille, à mes collègues et amis du laboratoire, Aymeline, Nahed, Mélody et à ceux rencontrés en stage, Nour notamment, aux animaux de laboratoire, à Nala, à Simba, à Mathieu, à Romain, à Adrien, à mes amis de tous les horizons, du sud-ouest, de la montagne, du rugby, d'Alfort et d'ailleurs. La place me manque mais les mots non…

En la mémoire de Jacques Martin,
Médecin de campagne de 1952 à 1989 à Mimizan (Landes)

« J’aurais tant aimé te connaître »

« La science efface l’ignorance d’hier et révèle l’ignorance d’aujourd’hui » (David Gross)

Table des matières

LISTE DES FIGURES ..... **- 3 -**

LISTE DES TABLEAUX ..... **- 5 -**

LISTE DES ABREVIATIONS ..... **- 7 -**

INTRODUCTION ..... **- 9 -**

PREMIERE PARTIE : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE ..... **- 11 -**

1. RAPPELS SUR LE DEVELOPPEMENT MUSCULAIRE ..... - 11 -
1.1. Facteurs de la détermination et de la différenciation des cellules précurseurs des myocytes ..... *- 11 -*
1.1.1. Étapes de la myogenèse ..... - 11 -
1.1.2. Les facteurs myogéniques ..... - 12 -
1.1.3. Initiation de la myogenèse par le gène *Pax-3* ..... - 13 -
1.2. Protéines d'adhérence intercellulaire de la myogenèse ..... *- 13 -*
2. RAPPELS SUR LA STRUCTURE, LE FONCTIONNEMENT ET LE METABOLISME MUSCULAIRES ..... - 14 -
2.1. Métabolisme musculaire ..... *- 14 -*
2.2. Structure et fonctionnement musculaire ..... *- 14 -*
2.3. La mitochondrie ..... *- 15 -*
2.3.1. La chaîne respiratoire ..... - 15 -
2.3.2. L'utilisation de l'énergie mitochondriale ..... - 15 -
3. MECANISME D'ACTION DES RECEPTEURS D'ŒSTROGENE ..... - 16 -
3.1. Récepteurs aux œstrogènes α et ß ..... *- 17 -*
3.2. Récepteur aux œstrogènes couplé à la protéine G ..... *- 20 -*
4. TAMOXIFENE ..... - 21 -
4.1. Pharmacocinétique ..... *- 22 -*
4.1.1. Métabolisme hépatique ..... - 22 -
4.1.2. Demi-vie du tamoxifène et de ses métabolites ..... - 26 -
4.2. Pharmacodynamique ..... *- 26 -*
4.2.1. Cancers ..... - 26 -
4.2.1.1. Cancer du sein ..... - 26 -
4.2.1.1.1. Indications du tamoxifène pour le cancer du sein ..... - 27 -
4.2.1.1.2. Actions du tamoxifène dans le traitement du cancer du sein ..... - 27 -
4.2.1.1.3. Comparaison raloxifène-tamoxifène dans le traitement du cancer du sein ..... - 28 -
4.2.1.1.4. Autres traitements ..... - 29 -
4.2.1.1.5. Doses et durée du traitement pour le traitement du cancer du sein ..... - 29 -
4.2.1.2. Adénocarcinome du canal pancréatique ..... - 31 -
4.2.1.3. Carcinomes de la prostate et de la vessie ..... - 32 -
4.2.1.4. Autres tumeurs et cancers ..... - 32 -
4.2.2. Maladies gynécologiques ..... - 32 -
4.2.3. Affections squelettiques ..... - 33 -
4.2.4. Affections du système cardiovasculaire ..... - 34 -
4.2.5. Myopathies héréditaires ..... - 34 -
4.2.5.1. Dystrophie musculaire de Duchenne ..... - 34 -
4.2.5.2. Myopathie myotubulaire ..... - 37 -
4.2.6. Tolérance au glucose ..... - 39 -
4.2.6.1. Stéatose hépatique et stéatohépatite non alcoolique ..... - 41 -
4.2.6.2. Lésions pancréatiques ..... - 42 -
4.2.7. Désordres neurodégénératifs ..... - 42 -
4.2.8. Maladies auto-immunes ..... - 44 -
4.2.9. Protection contre la toxicité médicamenteuse ..... - 44 -
4.2.10. Infectiologie ..... - 44 -
4.2.10.1. Activité antifongique ..... - 45 -
4.2.10.2. Activité antivirale ..... - 45 -
4.2.10.3. Activité antibactérienne ..... - 46 -
4.2.10.4. Activité antiparasitaire ..... - 47 -
4.2.11. Inflammation ..... - 47 -

4.2.12. Développement embryonnaire, croissance et puberté précoce - 48 -
4.3. Effets indésirables - 49 -
4.3.1. Cancers gynécologiques - 50 -
4.3.2. Troubles de la coagulation - 52 -
4.3.3. Vue - 52 -
4.4. Interactions - 53 -
4.5. Outil biotechnologique pour l'expérimentation sur la souris - 54 -
4.6. Conclusion - 56 -

DEUXIEME PARTIE : ÉTUDE EXPERIMENTALE - 57 -

1. ÉTUDES PRELIMINAIRES - 57 -
1.1. Implication du gène HACD1 - 57 -
1.1.1. Un groupe de myopathies congénitales - 57 -
1.1.1.1. Myopathie liée à une perte de fonction du gène MTM1 - 57 -
1.1.1.2. Myopathie liée à un gain de fonction de la dynamine 2 - 57 -
1.1.1.3. Myopathie liée à une perte de fonction de l'amphiphysine 2 - 58 -
1.1.2. Fonction et perte de fonction d'*HACD1* - 58 -
1.1.1. Modèle murin *Hacd1*-KO - 60 -
1.2. Perspectives de traitements - 64 -
1.3. Étude du phénotype métabolique chez les souris Hacd1-KO - 65 -
1.3.1. Problématique - 65 -
1.3.2. Stratégie de KO conditionnel - 65 -
1.3.2.1. Matériels et méthodes - 65 -
1.3.2.2. Résultats - 67 -
1.3.2.3. Discussion - 69 -
2. ÉTUDE ACTUELLE - 69 -
2.1. Introduction - 69 -
2.2. Matériels et méthodes - 70 -
2.2.1. Souris - 70 -
2.2.2. Évaluation fonctionnelle - 71 -
2.2.2.1. Tests sur le tapis roulant - 72 -
2.2.2.2. Tests de tolérance au glucose - 72 -
2.2.2.3. Test de force - 73 -
2.2.3. Tests sur les mitochondries - 74 -
2.2.3.1. Isolement des mitochondries du muscle tibialis anterior - 74 -
2.2.3.2. Mesure de la respiration sur fibres isolées - 74 -
2.2.4. Quantification et analyses statistiques - 75 -
2.3. Implication personnelle - 75 -
2.4. Résultats - 76 -
2.4.1. Suivi du poids - 76 -
2.4.2. Observation des animaux - 77 -
2.4.3. Tests fonctionnels - 77 -
2.4.4. Test de tolérance au glucose - 79 -
2.4.5. Analyses post-mortem - 79 -
2.4.5.1. Pesée et mesures - 79 -
2.4.5.1.1. Chez les mâles - 79 -
2.4.5.1.2. Chez les femelles - 80 -
2.4.5.2. Respiration cellulaire - 82 -
2.4.5.3. Caractérisation de la cyphose - 83 -
1.1. Discussion - 87 -
1.1.1. Discussion technique - 87 -
1.1.2. Discussion scientifique - 88 -
1.1.2.1. Chez les mâles - 89 -
1.1.2.2. Chez les femelles - 89 -
1.1.2.3. Au bilan - 90 -

CONCLUSION - 93 -

LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES - 95 -

ANNEXE 1 – PROGRAMME D'HABITUATION AU TAPIS ROULANT - 135 -

ANNEXE 2 – PROGRAMME D'EVALUATION DE LA VITESSE MAXIMALE AEROBIE SUR TAPIS ROULANT - 135 -

Liste des figures

Figure 1 : Formation de la fibre musculaire striee squelettique ou myofibre (a partir de Peycru et al., 2013)..... - 12 -
Figure 2 : Structure chimique du tamoxifene (Wikipedia, 2022). ..... - 16 -
Figure 3 : Reponse transcriptionnelle induite par les œstrogenes et les modulateurs selectifs des recepteurs aux œstrogenes (adapte de Singh et al., 2008 ; Gayi et al., 2018). . - 20 -
Figure 4 : Applications prouvees et supposees du tamoxifene (adapte de M. N. Singh et al., 2008). ..... - 22 -
Figure 5 : Principaux metabolites et enzymes impliques dans la pharmacocinetique du tamoxifene (adapte de Klein et al., 2013). ..... - 25 -
Figure 6 : Resume des effets du tamoxifene lors d'adenocarcinome canalaire pancreatique (Cortes et al., 2019)..... - 31 -
Figure 7 : Le tamoxifene reduit les effets de la dystrophie musculaire de Duchenne (Dorchies et al., 2013a). ..... - 35 -
Figure 8 : Le tamoxifene reduit la myopathie myotubulaire et augmente la duree de vie de 45 a 290 jours (Gayi et al., 2018d)..... - 37 -
Figure 9 : Mecanisme d'action du tamoxifene dans le muscle des souris atteintes de la myopathie myotubulaire (Maani et al., 2018). ..... - 38 -
Figure 10 : Test de tolerance au glucose chez des souris apres administration de tamoxifene (Ceasrine et al., 2019)..... - 40 -
Figure 11 : Les effets du tamoxifene sur le poids corporel, la prise alimentaire, la masse grasse et le tissu adipeux chez des souris femelles wild-type ovariectomisees (Guillaume et al., 2017)..... - 40 -
Figure 12 : Portee de l'activite du tamoxifene et de ses analogues sur les micro-organismes (Montoya et Krysan, 2018). ..... - 44 -
Figure 13 : Cre recombinase inductible par le tamoxifene (Kohan, 2008). ..... - 54 -
Figure 14 : Difference entre l'injection intraperitoneale et l'administration dans les aliments (Ceasrine et al., 2019)..... - 55 -
Figure 15 : Formation de la fibre musculaire striee squelettique chez le mutant HACD1-KO (Blondelle et al., 2015). ..... - 58 -
Figure 16 : Localisation de l'expression d'HACD1 (Blondelle et al., 2015). ..... - 59 -
Figure 17 : Implication d'HACD1 dans la fusion des myoblastes (Blondelle et al., 2015). ..... - 60 -
Figure 18 : Resultats des epreuves fonctionnelles de souris Hacd1-KO (Blondelle et al., 2015). ..... - 61 -
Figure 19 : Mecanismes expliquant la protection des souris Hacd1-KO contre l'obesite induite par un regime enrichi en graisse (Prola et al., 2021). ..... - 62 -
Figure 20 : Depense energetique, defauts mitochondriaux et performances locomotrices (Prola et al., 2021). ..... - 63 -
Figure 21 : Test de tolerance au glucose des femelles WT et Hacd1-KO (donnees du laboratoire)..... - 64 -
Figure 22 : Validation de la deletion d'Hacd1 par KO conditionnel, dans les muscles squelettiques a l'age adulte apres recombinaison (Vandestienne-Ratnam, 2021). ..... - 66 -
Figure 23 : Étude de la deletion d'Hacd1 a l'age adulte (Vandestienne-Ratnam, 2021). ..... - 68 -
Figure 24 : Deroule des experiences chez les souris Hacd1-KO recevant du tamoxifene. ..... - 72 -
Figure 25 : Illustration du test de force (Dorchies et al., 2013b)..... - 73 -
Figure 26 : Exemple de graphe issu de l'Oroboros pour quantifier la respiration mitochondriale...... - 75 -
Figure 27 : Suivi du poids et de la prise alimentaire chez les wild-type et Hacd1-KO traites ou non avec du tamoxifene...... - 76 -
Figure 28 : Cyphose des 4 mois chez les wild-type et Hacd1-KO traites ou non avec du tamoxifene...... - 77 -
Figure 29 : Tests fonctionnels chez les wild-type et Hacd1-KO traites ou non avec du tamoxifene...... - 78 -

FIGURE 30 : TEST DE TOLERANCE AU GLUCOSE CHEZ LES WILD-TYPE ET HACD1-KO TRAITES OU NON AVEC DU TAMOXIFENE. ..... - 79 -
FIGURE 31 : PARAMETRES GENERAUX CHEZ LES MALES WILD-TYPE ET HACD1-KO TRAITES OU NON AVEC DU TAMOXIFENE, ISSUS DES PESEES ET MESURES EFFECTUEES POST-MORTEM. ..... - 80 -
FIGURE 32 : PARAMETRES GENERAUX CHEZ LES FEMELLES WILD-TYPE ET HACD1-KO TRAITES OU NON AVEC DU TAMOXIFENE, ISSUS DES PESEES ET MESURES EFFECTUEES POST-MORTEM. ..... - 81 -
FIGURE 33 : COURBES DE RESPIRATION MITOCHONDRIALE CHEZ LES SOURIS HACD1-KO TRAITEES (B) OU NON (A) AVEC DU TAMOXIFENE FOURNIES PAR L'OROBOROS. ..... - 82 -
FIGURE 34 : RESPIRATION MITOCHONDRIALE CHEZ LES SOURIS MALES HACD1-KO NOURRIES AVEC DU NORMAL DIET OU DU TAMOXIFENE. ..... - 82 -
FIGURE 35 : RESPIRATION MITOCHONDRIALE CHEZ LES SOURIS FEMELLES HACD1-KO NOURRIES AVEC DU NORMAL DIET OU DU TAMOXIFENE. ..... - 83 -
FIGURE 36 : RADIOGRAPHIES DE PROFIL DE 2 SOURIS. ..... - 84 -
FIGURE 37 : LONGUEUR DE LA COLONNE VERTEBRALE CHEZ LES MALES (A) ET LES FEMELLES (B) AYANT REÇU LA NOURRITURE CONTROLE (NORMAL DIET) OU AVEC TAMOXIFENE. ..... - 85 -
FIGURE 38 : INDICES DE CYPHOSE ET DE SINUOSITE. ..... - 86 -
FIGURE 39 : RADIOGRAPHIES DE FACE DE 2 SOURIS. ..... - 87 -

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : EFFETS INDESIRABLES DU NOLVADEX (ANSM ET AL., 2020). .....- 49 -

Liste des abréviations

AAV : virus adéno-associé
ABC : *ATP-binding cassette*
ADN : acide désoxyribonucléique (*DNA* en anglais)
ADNmt : ADN mitochondrial
ADP : adénosine diphosphate
AF : *activation function*
AGLC : acide gras à longue chaîne
AGTLC : acide gras à très longue chaîne
AMP : adénosine monophosphate
ANSM : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ARN : acide ribonucléique (*RNA* en anglais)
ARNm : acide ribonucléique messager
ATP : adénosine triphosphate
cAMP : adénosine monophosphate cyclique
CDK : *cyclin-dependent kinase*
CNM : myopathie centronucléaire
CoA : coenzyme A
CoA : *co-activators*
CoR : *co-repressors*
CRE : élément de réponse à la cAMP
CRISPR-cas9 : *(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)-related CRISPR-associated protein 9*
CYP : cytochrome P
DMD : *Duchenne muscular dystrophy*
DNM : dystrophie neuro-musculaire
DNM2 : *dynamin 2*
DRP1 : *dynamin-related protein 1*
E2 : *17ß-estradiol / estrogen*
EDL : *extensor digitorum longus*
EnvA : école nationale vétérinaire d'Alfort
ER : *estrogen receptor*
ERR : *estrogen-related receptor*
FAD : flavine adénine dinucleotide
FDA : *food and drug administration*
FKRP : *fukutin related protein*
Gdf15 : *growth differentiation factor 15*
GLUT : *glucose transporter*
GPCR : *G protein-coupled receptor*
GPER : *G-protein coupled ER*
GTP : guanosine triphosphate
HACD : 3-hydroxyacyl-CoA déshydratase
HACD1-d5 : *HACD1 isoform, deleted in exon 5*
HACD1-fl : *HACD1 isoform, full-length*
HFD : *high fat diet* (régime riche en graisse)
H/I : *HOXB13/IL17BR*
HIF-1A : *hypoxia-inducible factor-1 alpha*
HSA : actine squelettique humaine
IV : intraveineuse
KO : *knock-out*
LOX-L2 : *lysyl oxidase homolog-2*

LPC : lysophosphatidylcholine
MAPK: *mitogen-activated protein kinase*
MDR1 : *multidrug resistance gene 1*
mitoPLD : *mitochondrial phospholipase D*
MRF : *myogenic regulatory factors*
MTM : myopathie myotubulaire
MTM1 : myotubularine
MUFA : *mono-unsaturated fatty acid*
Myf5 : *myogenic factor 5*
MyoD : *myoblast determination protein*
NAD : nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
ND : *normal diet* (régime standard)
NMJ : *neuromuscular junction* (jonction neuromusculaire)
OH : hydroxyde / hydroxy
PA : acide phosphatidique
Pax-3 : *paired-box protein 3*
Pax-7 : *paired-box protein 7*
PBS + EDTA : tampon phosphate salin + acide éthylènediaminetétraacétique
PCR : réaction en chaîne par polymérase
PI3K: *phosphatidylinositol 3-kinase*
PIP2 : phosphatidylinositol (4,5) biphosphate
qPCR : *quantitative PCR*
SERM : *selective ER modulator*
SINE : *short interspersed nuclear element*
sh-RNA : *short-hairpin*-RNA
SNP : *single-nucleotide polymorphism*
STAT3 : *signal transducer and activator of transcription-3*
STx : *shiga toxin*
SULT : sulfotransférase
TA : *tibialis anterior*
$TGF_{ß}$: *transforming growth factor ß*
TNO: *tamoxifen-N-oxide*
UGT : UDP-glucuronosyl-transférase
VMA : vitesse maximale aérobie
WT : *wild-type*
XLMTM : *X-linked myotubular myopathy* (myopathie myotubulaire liée à l'X)

Introduction

Le tamoxifène est utilisé depuis les années 1960 ; au départ en tant que contraceptif, c'est maintenant le traitement anticancéreux le plus prescrit au monde. Ce modulateur sélectif des récepteurs aux œstrogènes (SERM) non stéroïdien agit sur de nombreux organes, tels que les glandes mammaires, l'utérus, les ovaires et les os, ce qui lui confère de nombreuses indications thérapeutiques, notamment la diminution de la prolifération cellulaire lors de phénomène cancéreux. Sa principale utilisation réside d'ailleurs dans le traitement palliatif du cancer du sein chez l'humain et dans la chimio-prévention de ses récidives grâce à ses propriétés anti-œstrogéniques. Cependant, il possède aussi des activités pro-œstrogéniques dans les os, le cerveau et l'utérus. Il est donc également utilisé pour les affections squelettiques en réduisant le risque de fractures vertébrales, en prévenant l'ostéoporose et en diminuant la fibrose, mais également pour le lupus érythémateux ou encore les cancers de la prostate et de la vessie. Ses effets indésirables sont moins nombreux que ceux des œstrogènes mais il augmente tout de même le risque de cancer endométrial et de thrombose (Custódio *et al.*, 1994 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; Eugster *et al.*, 2003 ; Payne *et al.*, 2006 ; Vogel *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Jordan, 2008a ; Jordan, 2008b ; Vogel, 2009 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Quirke, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019 ; Emons *et al.*, 2020 ; Farrar et Jacobs, 2020).

En expérimentation animale, le tamoxifène est utilisé comme outil génétique pour activer la Cre recombinase et induire l'inactivation conditionnelle d'un gène étudié, ce qui facilite la comparaison du phénotype du même animal avant et après la modification du gène (Metzger *et al.*, 1995 ; Feil *et al.*, 1996 ; Feil *et al.*, 1997 ; Feil, 2007 ; Kohan, 2008 ; Ahn *et al.*, 2019).

Par ailleurs, le tamoxifène modifierait la tolérance au glucose et protègerait contre l'obésité et l'accumulation de masse grasse, réduirait les taux de glucose et de cholestérol dans le plasma, le cholestérol des lipoprotéines de haute densité et les acides gras libres (Wade et Heller, 1993 ; Wallen *et al.*, 2001 ; Lopez *et al.*, 2006 ; Lipscombe *et al.*, 2012 ; Sheean *et al.*, 2012 ; Lampert *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Ceasrine *et al.*, 2019 ; Ahn *et al.*, 2019 ; Guillaume *et al.*, 2019).

Dans des modèles de souris, grâce à ses propriétés pro-œstrogéniques, le tamoxifène semble aussi améliorer certaines myopathies congénitales (liées à l'X) qui affectent très précocement les individus, souvent intraitables voire mortelles lors d'atteinte diaphragmatique. Il s'agit de la dystrophie musculaire de Duchenne et de la myopathie myotubulaire. La dystrophie musculaire de Duchenne liée à l'X est une maladie progressive caractérisée par un manque de dystrophine dans les muscles squelettiques et cardiaques, rendant les myofibres plus sensibles aux lésions induites par la contraction et conduisant progressivement à la nécrose, à la fonte musculaire et finalement à une mort prématurée. Pour cette myopathie, le tamoxifène stabilise les myofibres, augmente la force, l'endurance, la résistance à la fatigue et l'épaisseur du diaphragme, améliore la structure des muscles et la résistance aux contractions répétées, protège contre les dommages membranaires et l'atrophie musculaire, réduit la fibrose du cœur et du diaphragme en inhibant notamment le stress oxydatif, module le calcium et prévient l'apoptose médiée par les mithochondries. La myopathie myotubulaire est, quant à elle, caractérisée par un manque de myotubularine, une hypotonie sévère et une faiblesse musculaire, parfois respiratoire, et une mort précoces. Pour cette myopathie, le tamoxifène prolonge la survie, améliore la force, la structure myofibrillaire et le couplage excitation-contraction, ralentit la progression de la maladie, retarde la paralysie et améliore la taille des muscles des postérieurs et du diaphragme. Des essais cliniques sont en cours chez des enfants atteints de ces affections (Dowling *et al.*, 2009 ; Ruegg, 2013 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Wu *et al.*, 2018 ; Maani *et al.*, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018a ; Gayi *et al.*, 2018b ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Vandestienne-Ratnam, 2021).

Le gène *Hacd1* code une enzyme qui participe à l'élongation des acides gras à très longue chaîne dans le muscle squelettique et assure une composition lipidique adéquate de la membrane des myoblastes lors de la fusion et une efficacité respiratoire optimale. Lors de déficience d'*Hacd1* chez la souris, la membrane plasmique des myoblastes est plus rigide et la fusion en devient moins efficace. Chez le chien et l'humain, il en résulte une myopathie caractérisée par une faiblesse musculaire et une hypotrophie des fibres musculaires. Les principaux signes cliniques chez le chien sont les suivants : défaut de posture (ventroflexion, port de tête bas), diminution de l'activité locomotrice spontanée (déplacement raide, pas courts), modification de localisation des mitochondries, infiltration adipeuse du muscle et insuffisance du tonus musculaire œsophagien (régurgitations, fausse route, pneumopathie) parfois mortelle. Chez l'humain, on rapporte le plus souvent un retard à l'acquisition de la marche, parfois de plusieurs années, une impossibilité de courir, une faiblesse de réflexes au niveau des tendons, une difficulté à se nourrir et à tenir la position assise et une faiblesse des muscles faciaux. Il a donc été décidé de préciser l'impact d'une déficience d'*Hacd1*, chez la souris. Les souris déficientes pour le gène ont une hypotrophie musculaire et présentent une réduction de leur activité locomotrice spontanée et sur tapis roulant et un défaut de la respiration mitochondriale qui entrave la production d'énergie. En revanche, ces souris mâles se voient protégées contre l'obésité et s'avèrent plus tolérantes au glucose, en raison d'un métabolisme énergétique plus élevé, dû au défaut mitochondrial musculaire, ce qui n'est pas le cas des souris femelles, suggérant un effet protecteur des œstrogènes. Lors de l'ajout de tamoxifène pour inactiver le gène *Hacd1* de manière conditionnelle, le phénotype myopathe a disparu. Cette observation et la différence de protection contre l'obésité entre les mâles et les femelles laisse suspecter un potentiel effet thérapeutique du tamoxifène chez les patients atteints d'une mutation du gène *Hacd1*, via les récepteurs aux œstrogènes (Tiret *et al.*, 2003 ; Pelé *et al.*, 2005 ; Muhammad *et al.*, 2013 ; Blondelle *et al.*, 2015 ; Prola *et al.*, 2021 ; Vandestienne-Ratnam, 2021).

Vus le succès de l'utilisation du tamoxifène sur les deux myopathies citées, les similitudes de la myopathie myotubulaire avec la myopathie liée à *Hacd1* (centro-nucléaire, dynamique des membranes), du sauvetage de la myopathie par l'inactivation conditionnelle d'*Hacd1* induite par le tamoxifène, de la moindre sévérité du phénotype myopathique chez les femelles et de la fonction *estrogen-like* du tamoxifène, il a été décidé de tester les effets du tamoxifène sur les souris de la souche *Black 6*.

Cette thèse s'articule donc en deux volets. Un premier volet, uniquement bibliographique, tente de condenser l'ensemble des propriétés du tamoxifène rapportées dans la littérature scientifique avec une volonté d'exhaustivité. Le second volet réunit les études passées et actuelles, auxquelles j'ai pris part, ayant pour but de caractériser le rôle du tamoxifène dans la myopathie liée à *Hacd1*.

Première partie : Étude bibliographique

1. Rappels sur le développement musculaire

Le tissu musculaire provient du mésoderme. La différenciation des muscles requiert le fonctionnement hiérarchisé de gènes du développement : les gènes myogéniques. Codant pour des facteurs de transcription, ils vont engager les cellules précurseurs des muscles, ou myoblastes, dans la voie de différenciation aboutissant à la mise en place des fibres musculaires ou myocytes.

1.1. Facteurs de la détermination et de la différenciation des cellules précurseurs des myocytes

1.1.1. Étapes de la myogenèse

La myogenèse correspond à l'ensemble des étapes requises pour la formation, le développement ainsi que la régénération du système musculaire. Elle se divise en trois étapes : la détermination des myoblastes, cellules musculaires précurseurs, dans les somites, la prolifération et la migration de ces cellules et leur différenciation en myotubes puis en myocytes ou fibres musculaires matures (**Figure 1**) (Peycru *et al.*, 2013).
Les myoblastes mononucléés prolifèrent puis arrêtent de se diviser d'une manière irréversible. Ils s'alignent les uns par rapport aux autres puis fusionnent pour former des myotubes précurseurs des fibres musculaires. Dans chaque myotube, les myofibrilles, formées des protéines actine et myosine participant à l'appareil contractile, sont en périphérie et les noyaux sont en position centrale. Intervient alors la différenciation terminale qui transforme chaque myotube en myofibre dans lequel les noyaux sont adressés en périphérie. Les myofibrilles occupent progressivement la majorité du cytoplasme. Les myofibres présentent les caractéristiques d'une cellule différenciée. Ce sont des cellules de grande taille, dont le diamètre est compris entre 10 et 100 µm et la longueur peut atteindre 60 cm, plurinucléées et leur cytosquelette est organisé en myofibrilles. Elles contiennent des protéines cellulaires caractéristiques de l'état différencié comme la myosine, la myoglobine ou encore la desmine qui relie les myofibrilles à la membrane plasmique. Leur fonction est de transformer l'énergie chimique de leurs métabolites en énergie mécanique (Peycru *et al.*, 2013).

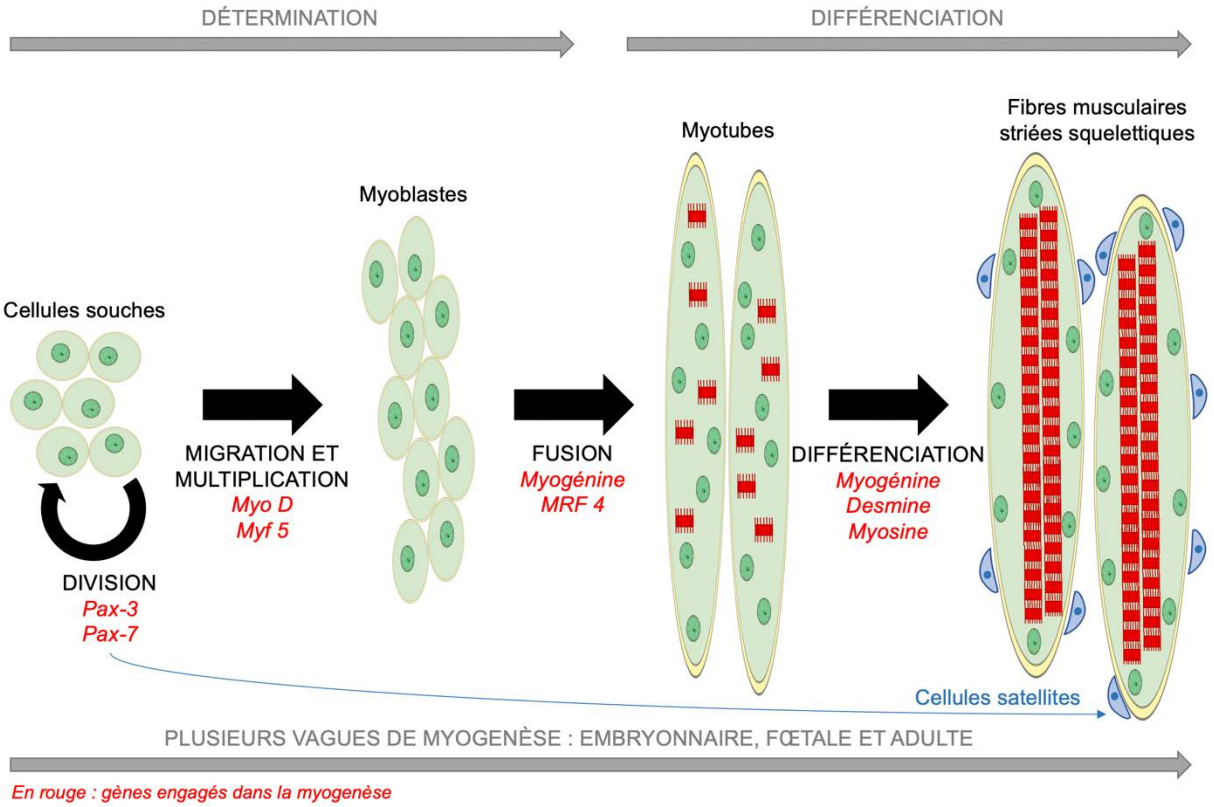


Figure 1 : Formation de la fibre musculaire striée squelettique ou myofibre (à partir de Peycru *et al.*, 2013).

1.1.2. Les facteurs myogéniques

Quatre principaux facteurs de transcription myogéniques ont été identifiés chez les vertébrés pour l'entrée d'une cellule souche dans un lignage musculaire : MyoD (*myoblast determination protein*), Myf5 (*myogenic factor 5*), myogénine et MRF4 (*myogenic regulatory factor 4*). Le profil d'expression de ces facteurs myogéniques dépend du type de muscle, de l'espèce mais aussi du moment de la myogenèse (Peycru *et al.*, 2013).

Dans son livre, Peycru nous présente les différents tests de fonction ayant conduit à la caractérisation des facteurs myogéniques.
La surexpression des facteurs myogéniques dans différents types de lignées cellulaires en culture ainsi qu'*in vivo* provoque la conversion de cellules non musculaires en cellules musculaires squelettiques (Peycru *et al.*, 2013).
In vivo, l'inactivation d'un seul des gènes codant les facteurs myogéniques MyoD et Myf5 conduit à des cellules normales. En revanche, l'inactivation simultanée des deux gènes codant les facteurs myogéniques MyoD et Myf5 conduit à la mort des souriceaux à la naissance suite à la déficience respiratoire. Il n'y a pas de synthèse des protéines spécifiques des muscles squelettiques, qui ne se développent donc pas (Peycru *et al.*, 2013).
Le *knock-out* (KO) pour la myogénine est létal à la naissance. Une réduction sévère du nombre de fibres musculaires est observée dans tous les muscles squelettiques. De plus, l'analyse des phénotypes montre que les myotubes sont absents ou en nombre réduit alors que les myoblastes sont normaux (Peycru *et al.*, 2013).
L'ensemble de ces données montre l'importance des facteurs myogéniques dans la détermination et la différenciation des myoblastes (**Figure 1**). Ils sont capables de déclencher la détermination des cellules souches en myoblastes, leur différenciation en myotubes, cellules syncytiales résultant de la fusion de myocytes, puis en fibres musculaires. Par ailleurs, ils sont interchangeables. Les facteurs MyoD et Myf5 sont impliqués dans les

phases précoces de la myogenèse lors de la détermination, la prolifération et la migration des myoblastes. Quant à la protéine MRF4, elle est nécessaire à la différenciation des myotubes et à leur fusion. Pour finir, la myogénine a un rôle crucial dans le programme de différenciation terminale incluant la fusion des myoblastes et l'activation des gènes codant des protéines de structure des fibres musculaires (desmine, myosine…) (**Figure 1**) (Peycru *et al.*, 2013).
Au début, les noyaux des myotubes se trouvent au centre de la fibre puis migrent en périphérie ; jusqu'à cette étape, la myogenèse est dite primaire. Lors de la seconde séquence de la myogenèse, les myotubes s'accroissent par fusion avec de nouvelles cellules souches et s'organisent en muscles (Vandestienne-Ratnam, 2021).

1.1.3. Initiation de la myogenèse par le gène *Pax-3*

Une expérience d'expression ectopique du gène sélecteur *Pax-3* (*paired-box protein* 3) met en évidence une activation des gènes *MyoD* et *Myf5* ainsi que la réalisation d'une différenciation musculaire. De même, une expérience de surexpression du gène *Pax-3* induit une surexpression du gène *MyoD* (Peycru *et al.*, 2013).
Ces données montrent que l'expression du gène *Pax-3* est nécessaire à l'initiation de la myogenèse car il entraîne l'activation des principaux facteurs de transcription myogéniques qui contrôlent à leur tour l'expression des gènes codant les protéines indispensables au fonctionnement des fibres musculaires (Peycru *et al.*, 2013).
Ainsi, les cellules satellites, qui sont des cellules souches, expriment des facteurs de transcription tels que Pax-3 et Pax-7 (Relaix *et al.*, 2006 ; Vandestienne-Ratnam, 2021).

1.2. Protéines d'adhérence intercellulaire de la myogenèse

Outre les gènes décrits, la myogenèse requiert également des interactions cellules-cellules entre les myoblastes pour contrôler la différenciation myogénique. Ainsi, pour se différencier, les cellules musculaires sont soumises à un phénomène appelé « effet de communauté » qui est lié à la sécrétion de facteurs de croissance. Présents au-delà d'un certain seuil de concentration, ces facteurs de croissance lèvent l'inhibition de la différenciation musculaire. Ceci suggère que les contacts intercellulaires sont nécessaires à la différenciation des myoblastes (Peycru *et al.*, 2013).
Parmi les molécules d'adhérence intercellulaire, les cadhérines sont exprimées à la surface des myoblastes en cours de fusion. La M-cadhérine, spécifique du muscle squelettique, elle, est retrouvée au cours de la différenciation des myoblastes (Peycru *et al.*, 2013).
Par ailleurs, les lipides sont tout autant primordiaux aux divers remodelages de la membrane plasmique des myoblastes (Vandestienne-Ratnam, 2021).

Ainsi, des anticorps dirigés contre les cadhérines ajoutés au milieu de culture de myoblastes neutralisent leur différenciation. De même, le blocage de la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) codant la M-cadhérine par des ARN antisens inhibe la production des protéines structurales spécifiques du muscle dans les cultures de myoblastes (Peycru *et al.*, 2013).

2. Rappels sur la structure, le fonctionnement et le métabolisme musculaires

2.1. Métabolisme musculaire

La source d'énergie du muscle est l'adénosine triphosphate (ATP) produite par les mitochondries à partir de métabolites du glucose, d'acides gras ou encore d'acides aminés dans une bien moindre mesure. Les mitochondries représentent 5% du volume de la fibre musculaire. Suivant ses besoins et en fonction du type d'exercice (endurance ou résistance), de la fréquence, de l'intensité et de la durée de l'activité, le muscle va donc privilégier un de ces substrats.
La glycolyse a lieu dans le cytosol et consiste en l'oxydation d'une molécule de glucose à partir de deux molécules d'ATP, pour en produire quatre au total à la fin. Cette réaction produit également du pyruvate qui peut être recyclé en acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA) par les mitochondries ou bien par fermentation en cas de faible présence d'oxygène, voie qui fournit aussi un peu d'énergie. Tout comme la glycolyse, la fermentation est donc une réaction anaérobie mais elle présente l'inconvénient d'acidifier le muscle par accumulation de lactate et, à terme, d'entraver la fonction musculaire.
La bêta-oxydation des acides gras dans la mitochondrie, quant à elle, est une réaction plus longue et n'est donc pas efficace lors d'un besoin rapide en ATP. À chaque cycle, les acides gras perdent deux carbones et une molécule d'acétyl-CoA, de NADH (nicotinamide adénine dinucléotide) et de $FADH_2$ (flavine adénine dinucléotide) sont produites. L'acétyl-CoA est ensuite dégradé par le cycle de Krebs qui génère à nouveau du NADH et du $FADH_2$. Bien qu'elle soit plus complexe, la bêta-oxydation permet la production d'une plus grande quantité d'énergie avec au total 14 molécules d'ATP à la fin de chaque tour contre seulement deux pour la glycolyse anaérobie.
Les substrats énergétiques eux-mêmes (NADH et $FADH_2$ notamment), par le transfert de leurs électrons et le processus de phosphorylation oxydative dans la mitochondrie, conduisent à la production d'encore plus d'énergie à partir du processus de la respiration cellulaire.
Une demande énergétique importante entraîne une augmentation du nombre de crêtes mitochondriales, une synthèse de protéines de la chaîne respiratoire, une production de ces organites-mêmes. Un des éléments déterminants de l'augmentation de ce métabolisme mitochondrial est l'accroissement des facteurs ERR (*estrogen-related receptor*) (Perry *et al.*, 2014). *A contrario*, lors de sous-utilisation musculaire (alitement, myopathie), on observe une diminution de la masse, du volume et de la force musculaires, des propriétés contractiles et une atrophie musculaire associées à une réduction de la production énergétique d'origine mitochondriale (diminution de la synthèse protéique de la chaîne respiratoire notamment)

2.2. Structure et fonctionnement musculaire

Les muscles squelettiques représentent jusqu'à 40% de la masse du corps. Les myofibrilles s'assemblent et forment des faisceaux contractiles au sein des fibres musculaires.
Il existe quatre types de fibres classées suivant le type de myosine qu'elles expriment :

- Les fibres lentes oxydatives de type I : de petit diamètre, elles constituent principalement les muscles posturaux (muscle soléaire par exemple) dont la contraction est généralement durable.
- Les fibres rapides glycolytiques de type IIb et IIx : les plus rapides et produisant le plus de force mais sur une courte durée, elles constituent principalement les grands muscles (gastrocnémien, quadriceps), soumis, par conséquent, au risque d'acidose sus-cité.

- Les fibres rapides oxydatives de type IIa : aux caractéristiques intermédiaires (grande quantité d'énergie produite à la fois par un processus oxydatif et glycolytique mais sur une courte durée), elles constituent la majorité des muscles de l'organisme.

Les muscles mixtes présentent des proportions différentes de ces fibres.
La contraction musculaire est permise par l'appareil contractile composé de sarcomères, délimités par les stries Z et nécessite une grande quantité d'énergie.
Ce sont les motoneurones du système nerveux central qui innervent les muscles squelettiques à travers les jonctions neuromusculaires (NMJ) dont le neurotransmetteur est l'acétylcholine. Celle-ci se fixe sur les récepteurs nicotiniques du sarcolemme (membrane postsynaptique musculaire) provoquant l'ouverture du récepteur-canal ionique et l'entrée d'ions sodium dans le cytosol de la fibre musculaire. La dépolarisation membranaire induite provoque un potentiel d'action qui est transmis jusqu'aux tubules T (invagination du sarcolemme), ce qui provoque la sortie d'ions calcium du réticulum sarcoplasmique (une extension musculaire du réticulum endoplasmique), initiant alors la contraction. L'association entre un tubule T et deux citernes sarcoplasmiques s'appelle une triade. Sa structure détermine donc le couplage excitation-contraction.

2.3. La mitochondrie

2.3.1. La chaîne respiratoire

Au sein de la mitochondrie a lieu le cycle de Krebs qui, en transférant le groupe acétyl de l'acétyl-CoA à une molécule d'oxaloacétate, forme du citrate qui subit ensuite plusieurs oxydations, permettant, à chaque cycle, la production de trois molécules de NADH, une de GTP (guanosine triphosphate) et une de $FADH_2$, substrats primordiaux à la chaîne respiratoire.
La chaîne respiratoire est d'ailleurs constituée de plusieurs complexes :

- Le complexe I qui oxyde le NADH.
- Le complexe II qui oxyde le $FADH_2$.
- Le complexe III reçoit les électrons alors produits par ces deux oxydations.
- Le complexe IV reçoit à son tour ces électrons. En parallèle, au niveau des complexes I, III et IV, des protons sont transloqués de la matrice à l'espace intermembranaire, participant à l'établissement d'un gradient électrochimique.
- Le complexe V correspond à l'ATP synthase, enzyme responsable de la phosphorylation des molécules d'adénosine diphosphate (ADP) et dépendant de la force protomotrice générée par le passage des protons. Cette enzyme, formée de plusieurs sous-unités, le tout atteignant plus de 500 kDa, fonctionne comme un rotor qui transforme l'énergie électrique en énergie chimique jusqu'à la synthèse de trois molécule d'ATP par tour, soit 100 par seconde, ensuite rejetées dans le cytosol. Par ailleurs, le processus est très rapide car on estime que les molécules d'ATP retourneront à la mitochondrie moins d'une minute plus tard sous forme d'ADP.

L'énergie mitochondriale étant issue à la fois de réactions d'oxydoréduction au niveau des quatre premiers complexes et de phosphorylation au niveau du dernier, on parle de phosphorylation oxydative ou oxPHOS.

2.3.2. L'utilisation de l'énergie mitochondriale

Un découplage est une perte d'énergie entre l'oxydation et la phosphorylation : elle peut être physiologique ou pathologique. Le découplage physiologique correspond à la thermogenèse qui résulte d'une dissipation de l'énergie issue des réactions d'oxydoréduction par une protéine nommée ucP1 dans le tissu adipeux brun. En dehors du tissu adipeux brun, tout découplage est pathologique (Vandestienne-Ratnam, 2021).

Par ailleurs, les mitochondries sont des organites dynamiques, capables de fusion si elles sont suffisamment proches et de fission, indispensables à leur survie et donc à celle de l'individu. En effet, l'inhibition de la fusion mitochondriale cause une létalité embryonnaire chez la souris. Ainsi, la fission interviendra lors de la mitophagie d'une mitochondrie anormale et la fusion avec une mitochondrie normale, afin de rétablir un fonctionnement adéquat. Par exemple, on observe un accroissement de la fusion lorsque le milieu est pauvre en nutriments ou bien lorsque des espèces réactives de l'oxygène ou des ADN mitochondriaux (ADNmt) mutés s'accumulent. La fusion et la fission sont notamment contrôlées par des GTPases. La fusion est rapidement suivie de fission, preuve que ces deux événements sont indissociables pour l'équilibre de la dynamique mitochondriale. La fission étant un événement demandeur en énergie, il faut donc que la fusion ou le maintien d'un état stable soit encore plus énergivore pour qu'elle ait lieu (Vandestienne-Ratnam, 2021).

3. Mécanisme d'action des récepteurs d'œstrogène

Les récepteurs aux œstrogènes (ER) agissent avant tout en induisant la transcription de gènes spécifiques. Le tamoxifène est le SERM le plus utilisé, cela signifie que ce médicament et ses métabolites sont en compétition avec les œstrogènes pour se lier au réticulum endoplasmique. Par conséquent, ils peuvent avoir des effets pro- ou anti-œstrogéniques. Selon le tissu sur lequel ils agissent, la liaison du tamoxifène et de ses métabolites conduit au recrutement de différents co-activateurs et co-répresseurs leur permettant d'activer ou d'inhiber la transcription des gènes cibles des ER. Par exemple, le tamoxifène est un antagoniste des ER dans les glandes mammaires comme le sein alors qu'il est un agoniste pour tous les autres tissus comme l'utérus, les os, le cerveau, le foie ou les muscles. Ainsi, l'oestradiol (E2) et le tamoxifène peuvent moduler l'expression des gènes ER-dépendants et activer des voies de signalisation dans le muscle squelettique. Cependant, il faut être prudent avec les effets du tamoxifène sur d'autres systèmes, ils sont parfois contradictoires et il existe une forte variabilité entre espèces, sexe, régimes alimentaires, souches, *etc.* (Osborne et Fuqua, 1994 ; Mitlak et Cohen, 1997 ; Cosman et Lindsay, 1999 ; Jordan, 2001 ; Park, 2002 ; Björnström et Sjöberg, 2005 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Frasor *et al.*, 2006 ; Jordan, 2007a ; Lee *et al.*, 2008 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Dieli-Conwright *et al.*, 2009 ; Miyashita *et al.*, 2012 ; Nelson *et al.*, 2013 ; Klein *et al.*, 2013 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Perry *et al.*, 2014 ; Ali *et al.*, 2016 ; Pavón *et al.*, 2017 ; Van der Weijden-Van Doornik *et al.*, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018c ; Heery *et al.*, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Sauter, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018 ; Peddi, 2018 ; Cham *et al.*, 2019 ; Guillaume *et al.*, 2019 ; Ahn *et al.*, 2019 ; Farrar et Jacobs, 2020).

La **Figure 2** présente la structure chimique du tamoxifène.

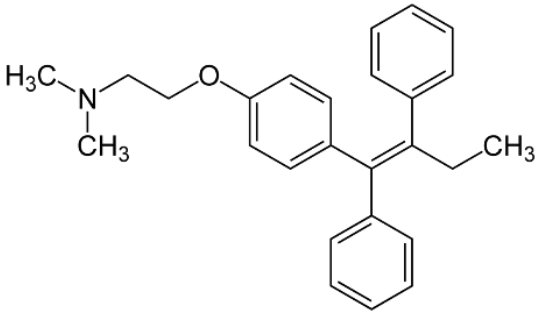


Figure 2 : Structure chimique du tamoxifène (Wikipédia, 2022).

3.1. Récepteurs aux œstrogènes α et ß

ERα et ERß appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires et deviennent des facteurs de transcription après s'être liés à des œstrogènes, dont le plus abondant est E2 (Guillaume *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019). Leur territoire d'action est assez ubiquitaire puisque nous pouvons citer le squelette, le thymus, la moelle osseuse, le tissu adipeux, le foie, le sein, la prostate, les organes reproducteurs (utérus, ovaire), le système cardiovasculaire, le système nerveux central, le muscle squelettique, le pancréas endocrine... Ils ont des rôles physiologiques communs dans le développement et la fonction des ovaires et la protection du système cardiovasculaire.
ERß est présent principalement dans l'épithélium de la prostate, la vessie, les cellules de la granulosa de l'ovaire, le côlon, le tissu adipeux et le système nerveux central et immunitaire. Il s'oppose généralement à l'hyperprolifération cellulaire promue par ERα dans le sein et l'utérus. De plus, les agonistes sélectifs d'ERß semblent déclencher moins d'effets secondaires que les œstrogènes non spécifiques qui stimulent ERα. Ils présentent également un intérêt thérapeutique contre les bouffées de chaleur et les maladies inflammatoires (Dahlman-Wright *et al.*, 2006 ; Heldring *et al.*, 2007 ; Paterni *et al.*, 2014).
En revanche, ERα est présent principalement dans la glande mammaire, l'utérus, les cellules thécales de l'ovaire, les os, les testicules, l'épididyme, le stroma de la prostate, le foie et le tissu adipeux. Il joue un rôle plus important dans la préservation de l'homéostasie du squelette et donc dans la prévention de l'ostéoporose, la prévention des maladies cardiovasculaires et la régulation du métabolisme, notamment dans la prévention du diabète et de l'obésité. Par conséquent, les agonistes ERα tissu-sélectifs ou non-nucléaires-sélectifs sont plus sûrs s'ils stimulent ce récepteur uniquement dans l'os, la graisse et l'endothélium vasculaire (Paterni *et al.*, 2014).
ERα a été décrit pour la première fois en 1973 et séquencé en 1986, avant qu'ERß ne soit identifié en 1996 (Greene *et al.*, 1986 ; Kuiper *et al.*, 1996 ; Prossnitz *et al.*, 2008).

Concernant le squelette, les effets d'E2 sont médiés par ERα. Lorsqu'ERα est activé mais pas ERß, il fournit une alternative indirecte à la médiation directe des effets de la testostérone par les récepteurs aux androgènes chez les souris mâles. Et lorsque l'ERα est supprimé, les niveaux de testostérone sérique sont élevés en raison d'une rétroaction négative compromise (Riggs *et al.*, 2002 ; Ohlsson et Vandenput, 2009 ; Börjesson *et al.*, 2013).

ERα et ERß sont structurellement très différents avec seulement 59% d'identité de séquence dans leurs domaines respectifs de liaison aux ligands même si seulement deux acides aminés diffèrent : Leu384 dans ERα est remplacé par Met336 dans ERß et Met421 dans ERα par Ile373 dans ERß (Paterni *et al.*, 2014).

Bien que l'expression d'ERα et d'ERß soit détectable au 15e jour fœtal, ils ne semblent pas être nécessaires au développement des organes reproducteurs embryonnaires et fœtaux car les souris dépourvues de l'un d'entre eux ou même des deux ont des organes reproducteurs normaux à la naissance. De plus, les souris dépourvues d'ERα sont souvent stériles, alors que les souris dépourvues d'ERß peuvent supporter une implantation et une gestation normales grâce à des réponses utérines normales au stimulus œstrogénique. Et les souris dépourvues des deux ER présentent des phénotypes utérins similaires à ceux des souris dépourvues d'ERα, ce qui suggère que la majorité de la réponse aux œstrogènes dans l'utérus se fait via l'ERα mais pas exclusivement (Greco *et al.*, 1993 ; Lubahn *et al.*, 1993 ; Dupont *et al.*, 2000 ; Prossnitz *et al.*, 2008).

De même, dans l'ovaire, la perte d'ERα conduit à une folliculogenèse anormale et à la formation de kystes hémorragiques alors que la perte d'ERß conduit à une mauvaise ovulation (Couse et Korach, 1999 ; Prossnitz *et al.*, 2008).
Dans la glande mammaire, la perte d'ERα entraîne une structure néonatale rudimentaire des canaux car ERα affecte l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique et donc les niveaux d'hormones hypophysaires. En revanche, les phénotypes des souris dépourvues d'ERß sont moins affectés car les souris peuvent allaiter leurs petits grâce à un développement mammaire normal pendant la puberté et la gestation. Ainsi, le développement de la glande mammaire dépendant des œstrogènes n'est pas seulement médié par ERα mais aussi par ERß et d'autres récepteurs, comme le récepteur ER couplé à une protéine G 30 (GPR30), (voir ci-dessous) (Lubahn *et al.*, 1993 ; Krege *et al.*, 1998 ; Couse et Korach, 1999 ; Förster *et al.*, 2002 ; Prossnitz *et al.*, 2008).
Enfin, dans les testicules de souris, la perte d'ERα déclenche une perturbation de la spermatogenèse et donc l'infertilité. ERß est également exprimé dans ce tissu (Prossnitz *et al.*, 2008).

ERα interagit avec plusieurs classes de co-activateurs (CoA) et co-répresseurs (CoR). La transactivation de ERα induite par les œstrogènes met en jeu deux domaines nommés fonctions d'activation (AF) 1 et 2. AF-1 agit indépendamment du ligand situé dans le domaine N-terminal (184 acides aminés). Quant à AF-2, elle est dépendante du ligand situé dans le domaine C-terminal. Selon le type cellulaire, le promoteur, le ligand (Tora *et al.*, 1989 ; Berry *et al.*, 1990 ; Metzger *et al.*, 1992) et l'équilibre entre CoA et CoR, qui dépend lui-même du type de cellule, on obtient une réponse activatrice ou son inhibition, permettant ainsi un large panel d'effets des œstrogènes (agonistes ou antagonistes) dans différents tissus. Ainsi, les ER peuvent être activés par les œstrogènes mais aussi par d'autres ligands (Tora *et al.*, 1989 ; Berry *et al.*, 1990 ; Metzger *et al.*, 1992 ; Metzger *et al.*, 1995 ; Smith et O'Malley, 2004 ; Mödder *et al.*, 2008 ; Ohlsson et Vandenput, 2009 ; Börjesson *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019).

Plusieurs cofacteurs se lient à AF-1 et/ou AF-2, certains spécifiquement à l'un des deux alors que d'autres se lient aux deux. De plus, les AF peuvent être redondants pour certains effets alors que les deux sont essentiels pour d'autres (McKenna *et al.*, 1999 ; Handgraaf *et al.*, 2013 ; Börjesson *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019).

Les deux AF doivent être mis en jeu pour la prolifération des cellules de l'utérus et probablement du cancer du sein alors que seule l'activation de l'AF-2 est suffisante pour la protection induite par l'E2 contre l'ostéoporose et l'athérome, la préservation de l'énergie notamment dans des types spécifiques de neurones, l'homéostasie du glucose et la prévention de l'obésité, de la résistance à l'insuline et de l'hyperglycémie induites par les régimes alimentaires riches en graisses (Penot *et al.*, 2005 ; Carreau *et al.*, 2009 ; Billon-Galés *et al.*, 2009 ; Klinge *et al.*, 2010 ; Billon-Galés *et al.*, 2011 ; Xu *et al.*, 2011 ; Abot *et al.*, 2013 ; Börjesson *et al.*, 2013 ; Handgraaf *et al.*, 2013 ; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2013 ; Smirnova *et al.*, 2015 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018d).

Par rapport à l'E2, les SERM ont une chaîne latérale volumineuse qui dépasse de la poche de liaison au ligand lors de la liaison à ERα. Cela empêche l'hélice 12, le segment hélicoïdal le plus C-terminal, de se plier dans l'orientation agoniste, empêchant la conformation correcte d'AF-2 et l'interaction d'ERα avec certains cofacteurs (Berry *et al.*, 1990 ; Halachmi *et al.*, 1994 ; Smith *et al.*, 1997 ; Brzozowski *et al.*, 1997 ; Shiau *et al.*, 1998 ; Nettles et Greene, 2005 ; Pike, 2006 ; Börjesson *et al.*, 2013 ; Gayi *et al.*, 2018e).

Ainsi, bien que le rôle prépondérant d'AF-1 ou AF-2 soit probablement spécifique au tissu, AF-1 semble être la région principale pour la médiation des effets spécifiques au tissu des SERM, même si d'autres régions d'ERα peuvent être impliquées. Son rôle pour les effets d'E2 est tissu-dépendant chez les souris mâles. Lorsqu'AF-1 est supprimée, les effets

agonistes des SERM sont impossibles car l'interaction du CoA avec l'un des AF d'ERα est altérée et donc il y a peu ou même pas de régulation de la transcription génique dépendante de ERα. De cette façon, l'interaction des SERM avec ERß est probablement incapable de remplacer ERα. De plus, les effets spécifiques aux tissus des SERM semblent dépendre de l'expression et du recrutement des cofacteurs d'ERα dans différents types de cellules, ce qui en fait des agonistes ou des antagonistes des ER (Berry *et al.*, 1990 ; Smith *et al.*, 1997 ; Börjesson *et al.*, 2013).

En revanche, lorsque l'E2 ou les SERM se lient au domaine de liaison du ligand d'ERα, l'hélice 12 est cette fois-ci dans l'orientation agoniste, ce qui permet aux hélices 3, 4, 5 et 12 de former le patch hydrophobe AF-2 auquel le CoA peut se lier, notamment à l'hélice 12, le principal site d'interaction. Et lorsqu'un SERM se lie à l'ERα pleine longueur, la liaison de l'hélice 12 à la région statique de l'AF-2 empêche l'interaction du CoA (Danielian *et al.*, 1992 ; Brzozowski *et al.*, 1997 ; Shiau *et al.*, 1998 ; Webb *et al.*, 2003 ; Nettles et Greene, 2005 ; Börjesson *et al.*, 2013).

Le tamoxifène est un agoniste de AF-1 et un antagoniste de AF-2 (Berry *et al.*, 1990 ; Fawell *et al.*, 1990 ; Abot *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017).
L'action athéroprotectrice du tamoxifène est entièrement médiée par l'activation de AF-1 par exemple (Fontaine *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017).
Cependant, l'action du tamoxifène et de ses métabolites ne doit pas être réduite à l'activation d'ERα. En effet, il active également d'autres cibles moléculaires conduisant à l'accumulation intracellulaire d'oxystérols et donc à la mort des cellules cancéreuses, au piégeage des radicaux peroxyles, à la prévention de l'apoptose, à la stabilisation des membranes biologiques, à l'inhibition de la fibrose ou à l'inhibition de l'estérification du cholestérol conduisant à des effets athéroprotecteurs et antitumoraux (Koot *et al.*, 1991 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; de Medina *et al.*, 2004 ; de Medina *et al.*, 2011 ; Segala *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017).

La **Figure 3** illustre la liaison de l'E2 à ses récepteurs, après diffusion à travers la membrane plasmique, ce qui entraîne une dimérisation de ceux-ci et des changements conformationnels. Cette liaison conduit au recrutement de CoA ou CoR qui se lient au domaine N-terminal ou au domaine de liaison aux hormones. Ces domaines sont tous deux spécifiques aux tissus. Ensuite, le complexe se lie à des *estrogen response element* dans la région promotrice de gènes spécifiques pour moduler leur transcription. Le tamoxifène, ses métabolites ou d'autres SERM entrent en compétition avec les œstrogènes pour la liaison aux ER (M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Gayi *et al.*, 2018e).

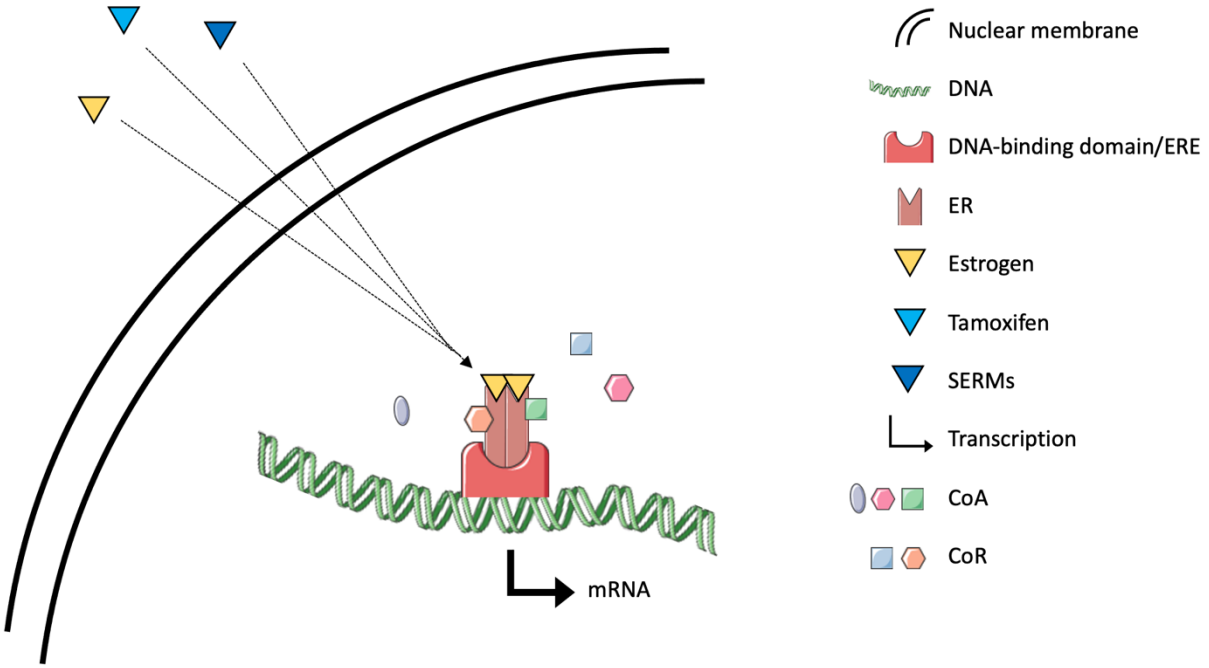


Figure 3 : Réponse transcriptionnelle induite par les œstrogènes et les modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes (adapté de Singh *et al.*, 2008 ; Gayi *et al.*, 2018).

3.2. Récepteur aux œstrogènes couplé à la protéine G

Anciennement connu sous le nom de GPR30, la *G-protein coupled ER* 1 (GPER-1) est un récepteur transmembranaire aux œstrogènes. Comme son nom l'indique, il est membre de la superfamille des *G protein-coupled receptor*s (GPCR), des protéines contenant sept segments transmembranaires transmettant des signaux à des protéines G hétérotrimériques. Il n'est pas seulement le médiateur des réponses de transcription de gènes qui se produisent en quelques heures à quelques jours mais aussi celui de voies de signalisation rapides de kinases. Ces réponses se produisent en quelques secondes ou minutes après la stimulation de la cellule. Ces voies sont souvent associées aux récepteurs du facteur de croissance épidermique et aux GPCR, ce qui entraîne des réponses cellulaires comme la mobilisation du calcium, l'activation des kinases et la production d'oxyde nitrique. Toutes les hormones, stéroïdiennes ou autres, peuvent initier ces deux catégories de réponses. Et le ER et le GPR30 peuvent tous deux générer une signalisation à la fois génomique et non génomique (Prossnitz *et al.*, 2008 ; Hu *et al.*, 2015 ; Girgert *et al.*, 2018 ; Emons *et al.*, 2020).

Les *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) et les *phosphatidylinositol 3-kinases* (PI3K) modulent les événements transcriptionnels nucléaires et la prolifération cellulaire via des promoteurs alternatifs dépourvus d'*estrogen response element* (Prossnitz *et al.*, 2008).

Les œstrogènes ont une affinité plus faible pour GPR30 que pour les ER (Prossnitz *et al.*, 2008).

GPR30 semble jouer un rôle important dans la carcinogenèse car son expression est augmentée dans les cancers du sein et de l'endomètre et particulièrement dans les cas où les ER sont absents. Ainsi, le GPR30 pourrait surmonter la perte des ER dans les cancers à régulation hormonale comme ceux du sein, de l'endomètre et de l'ovaire (Prossnitz *et al.*, 2008).

Le tamoxifène et d'autres antagonistes des ER sont des agonistes purs de GPR30 (Prossnitz *et al.*, 2008 ; Hu *et al.*, 2015 ; Girgert *et al.*, 2018 ; Emons *et al.*, 2020).

Les effets des œstrogènes sont donc médiés par les ER mais aussi par GPR30 qui contrôlent tous la signalisation cellulaire rapide et l'activité transcriptionnelle à plus long terme (Prossnitz *et al.*, 2008).

4. Tamoxifène

Au cours des dernières décennies, le tamoxifène est devenu l'un des médicaments anticancéreux les plus fréquemment prescrits dans le monde. C'est un anti-œstrogène non stéroïdien synthétique appartenant à la classe des triphényléthylènes. Son nom entier est trans-1-(4-ß-diméthylaminoéthoxyphényl)-1,2-diphénylbut-1-ène. Le tamoxifène et ses métabolites contrôlent la survie, la croissance et d'autres fonctions des populations cellulaires dépendantes des œstrogènes dans les glandes mammaires, l'utérus, les ovaires et les os. En effet, il est classé comme cytostatique car il altère la transcription des ARN et la phase G1 du cycle cellulaire et diminue la prolifération cellulaire. Synthétisé en 1962 par une femme, Dora Richardson, sous la direction d'Arthur Wlapole, le tamoxifène était initialement utilisé comme contraceptif post-coïtal anti-œstrogène sans propriétés androgènes mais n'a jamais prouvé son efficacité (Custódio *et al.*, 1994 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; Eugster *et al.*, 2003 ; Payne *et al.*, 2006 ; Vogel *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Jordan, 2008a ; Jordan, 2008b ; Vogel, 2009 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Quirke, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019 ; Emons *et al.*, 2020 ; Farrar et Jacobs, 2020).
En effet, en 1971, un essai clinique démontre que, contrairement aux études de laboratoire sur les rats, le tamoxifène stimule l'ovulation. En parallèle, en 1973, un autre essai clinique conduit à l'obtention d'une licence pour le traitement palliatif du cancer du sein. Il est ensuite utilisé pour la chimio-prévention des récidives de cancer du sein.
Le tamoxifène est un médicament sûr qui n'a pas les effets indésirables systémiques des œstrogènes et qui est déjà utilisé depuis des années mais c'est également l'un des médicaments les plus puissants identifiés en repositionnement pour traiter différentes maladies. L'œstrogène a des effets chez les hommes et les femmes (Payne *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Gayi *et al.*, 2018c ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cortes *et al.*, 2019 ; Chen *et al.*, 2019 ; Cham *et al.*, 2019).
La **Figure 4** est un aperçu des divers effets prouvés et suspectés du tamoxifène.

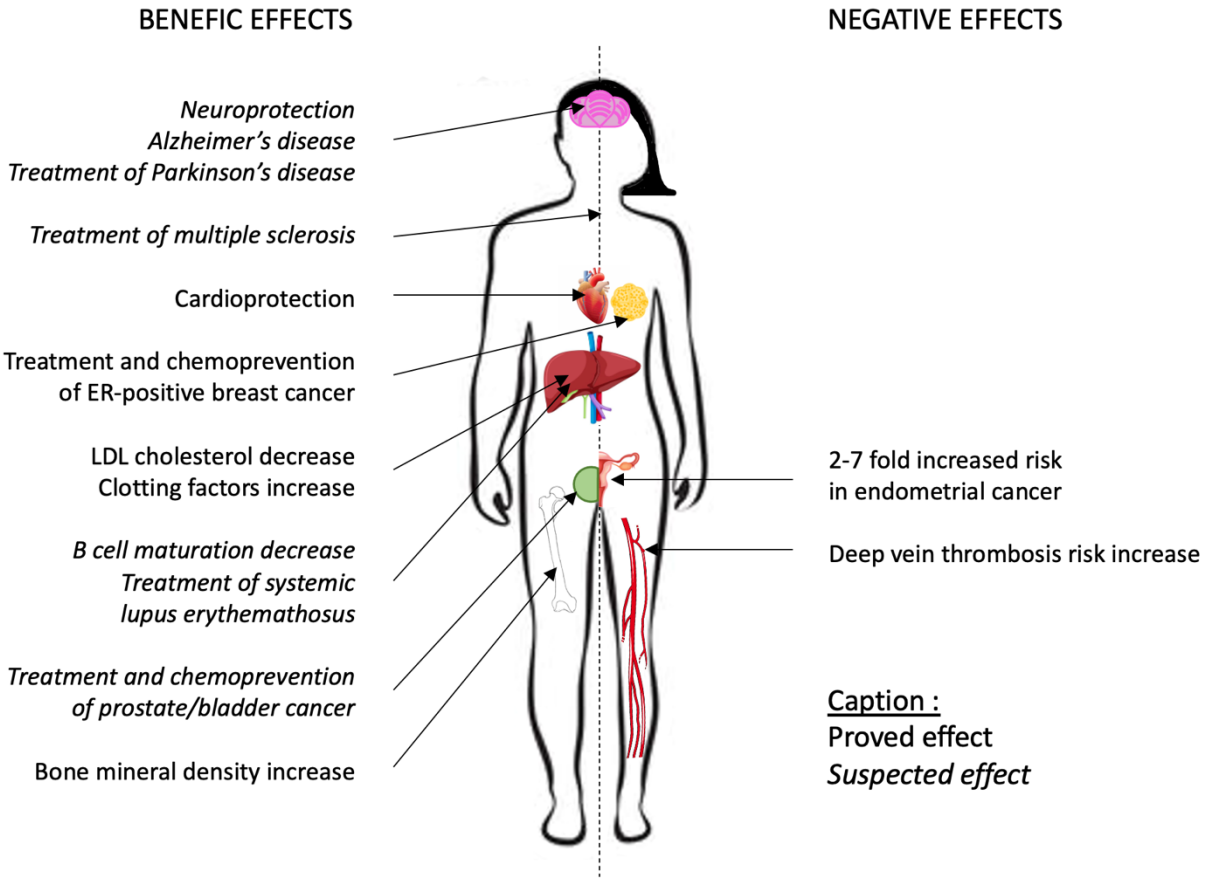


Figure 4 : Applications prouvées et supposées du tamoxifène (adapté de M. N. Singh *et al.*, 2008).

4.1. Pharmacocinétique

4.1.1. Métabolisme hépatique

Il existe une grande variabilité interindividuelle concernant la réponse au tamoxifène probablement due à des différences de métabolisme *in vivo*. En fait, le tamoxifène est une prodrogue et ce sont ses métabolites qui sont réellement efficaces. Par exemple, certains d'entre eux ont plus d'effets anti-œstrogéniques sur les cellules du cancer du sein que le tamoxifène lui-même. En majorité, le tamoxifène est métabolisé par le système cytochrome P450 (CYP450) en différents métabolites primaires et secondaires. Les deux principales voies conduisant à l'endoxifène, métabolite secondaire très puissant, sont la 4-hydroxylation et la N-déméthylation. Les enzymes CYP450 sont hautement polymorphes et donnent donc naissance à de nombreux variants pouvant affecter les quantités relatives de métabolites du tamoxifène (Jordan, 1976 ; Allen *et al.*, 1980 ; Jordan, 2003 ; Desta *et al.*, 2004 ; Mürdter *et al.*, 2011 ; Kiyotani *et al.*, 2012a ; Klein *et al.*, 2013).
La voie de la 4-hydroxylation ne contribue qu'à environ 7% du métabolisme du tamoxifène. Elle est catalysée par différents CYP dont le CYP2D6 et aboutit immédiatement au 4-hydroxytamoxifène qui est 100 fois plus puissant que le tamoxifène. En effet, ce métabolite actif a une affinité plus élevée pour les ER que le tamoxifène. Bien qu'aucun consensus n'ait encore été atteint en 2013, après 10 ans et 20 études sur le sujet, le CYP2D6 semble être un modulateur de l'efficacité. Ainsi, les patients peuvent être affectés à quatre catégories phénotypiques concernant la fonction enzymatique et l'activité métabolique de leur CYP2D6 (Jordan, 1976 ; Kemp *et al.*, 1983 ; Stearns *et al.*, 2003 ; Desta *et al.*, 2004 ; Owen *et al.*,

2009 ; Hertz *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013 ; Brauch *et al.*, 2013 ; Tsubaki *et al.*, 2018 ; Ahn *et al.*, 2019 ; ANSM *et al.*, 2020) :

- Les personnes dont les enzymes ne fonctionnent pas sont des « métaboliseurs pauvres ». Ils sont soupçonnés d'avoir un plus mauvais pronostic mais là encore aucun consensus n'existe. Selon l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) française, les patients qui n'ont pas de CYP2D6, ont des taux d'endoxifène inférieurs d'environ 75% à ceux des patients ayant une activité normale du CYP2D6 (Goetz *et al.*, 2005 ; Nowell *et al.*, 2005 ; Wegman *et al.*, 2005 ; Borges *et al.*, 2006 ; Bonanni *et al.*, 2006 ; Schroth *et al.*, 2007 ; Goetz *et al.*, 2007 ; Takimoto, 2007 ; Lim *et al.*, 2007 ; Wegman *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2009 ; Schroth *et al.*, 2009 ; Iusuf *et al.*, 2011 ; Kiyotani *et al.*, 2012a ; Rae *et al.*, 2012 ; Regan *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013).
- Les personnes dont les enzymes fonctionnelles sont réduites sont des « métaboliseurs intermédiaires ».
- Les personnes dont les enzymes fonctionnelles sont normales sont des « métaboliseurs extensifs ».
- Les personnes dont les enzymes fonctionnelles sont supérieures à la moyenne sont des « métaboliseurs ultrarapides ».

Mais le génotypage et le phénotypage du CYP2D6 sont difficiles, de sorte que le nombre de copies n'est pas toujours connu avec précision. De plus, le CYP2D6 possède des pseudogènes difficiles à détecter et altérant son activité enzymatique. Par exemple, CYP2D6*4 est l'un des allèles non fonctionnels les plus courants et il a été prouvé que 18,7% des allèles CYP2D6*4 sont en réalité des allèles hybrides CYP2D6-2D7. Enfin, des facteurs environnementaux, comme le statut ménopausique et des interactions médicamenteuses avec des inhibiteurs du CYP2D6, comme les *selective serotonin reuptake inhibitors*, peuvent également modifier le phénotype. Ainsi, toutes ces raisons peuvent conduire à une classification erronée du statut de métaboliseur (Skierka *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013 ; Brauch *et al.*, 2013).

D'autre part, la voie de la N-déméthylation contribue à près de 92% du métabolisme du tamoxifène. Elle est d'abord catalysée par les CYP3A4 et 3A5 et aboutit au N-desméthyltamoxifène. Ensuite, le N-desméthyltamoxifène est oxydé en divers métabolites importants pour l'activité du tamoxifène, le principal étant l'endoxifène. Celui-ci a été identifié pour la première fois dans la bile humaine (Lien *et al.*, 1988 ; Stearns *et al.*, 2002 ; Desta *et al.*, 2004 ; Kiyotani *et al.*, 2012a ; Klein *et al.*, 2013).

Ainsi, l'endoxifène résulte du N-desméthyltamoxifène par hydroxylation par le CYP2D6 ou du 4-hydroxytamoxifène par déméthylation par le CYP3A4. L'endoxifène et le 4-hydroxytamoxifène ont une activité anti-œstrogénique similaire mais les concentrations plasmatiques d'endoxifène sont presque 10 fois plus élevées que celles du 4-hydroxytamoxifène chez les patientes traitées au tamoxifène. De plus, l'endoxifène cible ERα pour sa dégradation protéosomale ce qui conduit à une diminution des protéines ERα alors que les autres métabolites ne font que les stabiliser. À ce titre, l'endoxifène est le principal métabolite responsable du succès du traitement par tamoxifène (Stearns *et al.*, 2002 ; Borges *et al.*, 2006 ; Wu *et al.*, 2009 ; Moyer *et al.*, 2011 ; Mürdter *et al.*, 2011 ; Kiyotani *et al.*, 2012a ; Klein *et al.*, 2013).

En ce qui concerne la variante CYP2C19*17, elle a été associée à de meilleures réponses au traitement, à des effets secondaires moindres et à des risques moindres de développer un cancer du sein. Cela peut être lié à l'augmentation du métabolisme associé à cet allèle qui convertit plus efficacement le tamoxifène en ses métabolites les plus actifs et diminue les niveaux d'œstrogènes endogènes qui sont également la cible du traitement lorsqu'il est alors débuté. Cependant, l'association entre l'allèle *17 et l'augmentation de la survie sans maladie est contestée (Schroth *et al.*, 2007 ; Justenhoven *et al.*, 2009 ; Gjerde *et al.*, 2010 ; Moyer *et al.*, 2011 ; Klein *et al.*, 2013).

Le tamoxifène est également métabolisé en *tamoxifen-N-oxide* (TNO) par les *1- and 3-flavin mono-oxygenases*. L'avantage de cette voie est que le TNO peut être réduit en tamoxifène *in vitro* par différents CYP450, comme les CYP1A1, 2A6 et 3A4 qui sont les plus rapides. Mais seul le tamoxifène produit par le CYP3A4 peut être encore métabolisé. Le TNO peut également être réduit en tamoxifène par l'hémoglobine et la NADPH-P450 oxydoréductase (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate), ce qui sous-entend que la réduction dépend peut-être du complexe hème-fer contenu dans l'hémoglobine et les cytochromes et pas seulement de réactions enzymatiques. Ainsi, il semble exister un stockage du tamoxifène sous forme de TNO. En effet, le rapport entre la concentration tissulaire et sérique de TNO diminue avec l'augmentation des doses de tamoxifène alors que le rapport entre la concentration tissulaire et sérique de tamoxifène et de ses autres métabolites est stable. Cela peut être dû à une réduction du TNO en tamoxifène dans les cellules tumorales où l'activité du tamoxifène est la plus nécessaire. Cependant, le TNO peut également être réduit pendant la préparation de l'échantillon, ce qui rend difficile la détermination de son rôle précis dans le métabolisme (Parte et Kupfer, 2005 ; Gjerde *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013).

Le tamoxifène et ses métabolites sont inactivés par glucuronidation par diverses UDP-glucuronosyl-transférases (UGT) et par sulfatation notamment par sulfotransférase 1A1 (SULT1A1). La glucuronidation est la voie principale puisque près de 75% de la dose de tamoxifène est excrétée sous forme de glucuronides dans les voies biliaires. Les UGT et les SULT sont également très polymorphes. Par exemple, l'UGT2B15 métabolise les stéroïdes et les xénobiotiques et permet différents variants tels que l'UGT2B15*2, le plus actif, qui est pourtant associé à une diminution de la survie globale et à une augmentation de la récurrence de la maladie. Ensuite, SULT1A1 a deux allèles principaux : SULT1A1*1, le plus actif associé à une meilleure survie et SULT1A1*2. Mais le nombre de copies de SULT1A1 n'affecte que l'activité enzymatique et non la survie (Nowell *et al.*, 2002 ; Nowell *et al.*, 2005 ; Falany *et al.*, 2006 ; Sun *et al.*, 2007 ; Wegman *et al.*, 2007 ; Gjerde *et al.*, 2010 ; Kiyotani *et al.*, 2010 ; Moyer *et al.*, 2011 ; Kiyotani *et al.*, 2012a ; Klein *et al.*, 2013).

Même si le tissu mammaire n'exprime généralement pas la *multidrug resistance gene 1* / *B1-ATP-binding cassette* (MDR1/ABCB1), le cancer du sein peut métastaser dans le cerveau, derrière la barrière hémato-encéphalique, où l'ABCB1 est exprimé. Heureusement, même si l'ABCB1 peut maintenir le tamoxifène et ses métabolites (en particulier l'endoxifène) à des concentrations cellulaires subthérapeutiques car ils sont des substrats de la glycoprotéine P, de fortes doses de tamoxifène peuvent être utilisées pour les tumeurs métastasées dans le cerveau. Ceci est probablement dû à la saturation des transporteurs de médicaments de la barrière hémato-encéphalique qui ne peuvent plus empêcher l'entrée du tamoxifène et de ses métabolites (Teft *et al.*, 2011 ; Iusuf *et al.*, 2011 ; Klein *et al.*, 2013).

Enfin, deux *single-nucleotide polymorphisms* (SNP) influençant les résultats du traitement au tamoxifène ont également été identifiés. L'un des deux est le rs10509373, situé sur C10orf11 au locus 10q22 dans un intron, et pourrait être en partie associé à une augmentation de la survie sans récidive. L'autre est le rs3740065, situé sur le gène ABCC2 et associé à une diminution de la durée de survie de la maladie. En effet, il conduit à une expression accrue d'ABCC2, probablement responsable d'une moindre exposition du tissu mammaire aux métabolites actifs (Kiyotani *et al.*, 2010 ; Kiyotani *et al.*, 2012b ; Klein *et al.*, 2013).

En conclusion, il existe une énorme variabilité interindividuelle concernant le métabolisme du tamoxifène (**Figure 5**) rendant difficile la détermination de la concentration thérapeutique. Il serait nécessaire d'étudier tous les effets des différents variants dans les nombreuses voies en étant très attentif au statut du métaboliseur et aux phénotypes contrôlés : statut ménopausique, indication, dose et durée, cotraitements, résultats et suivi (Klein *et al.*, 2013). Ainsi, différents métabolites du tamoxifène existent avec une durée de vie parfois très longue.

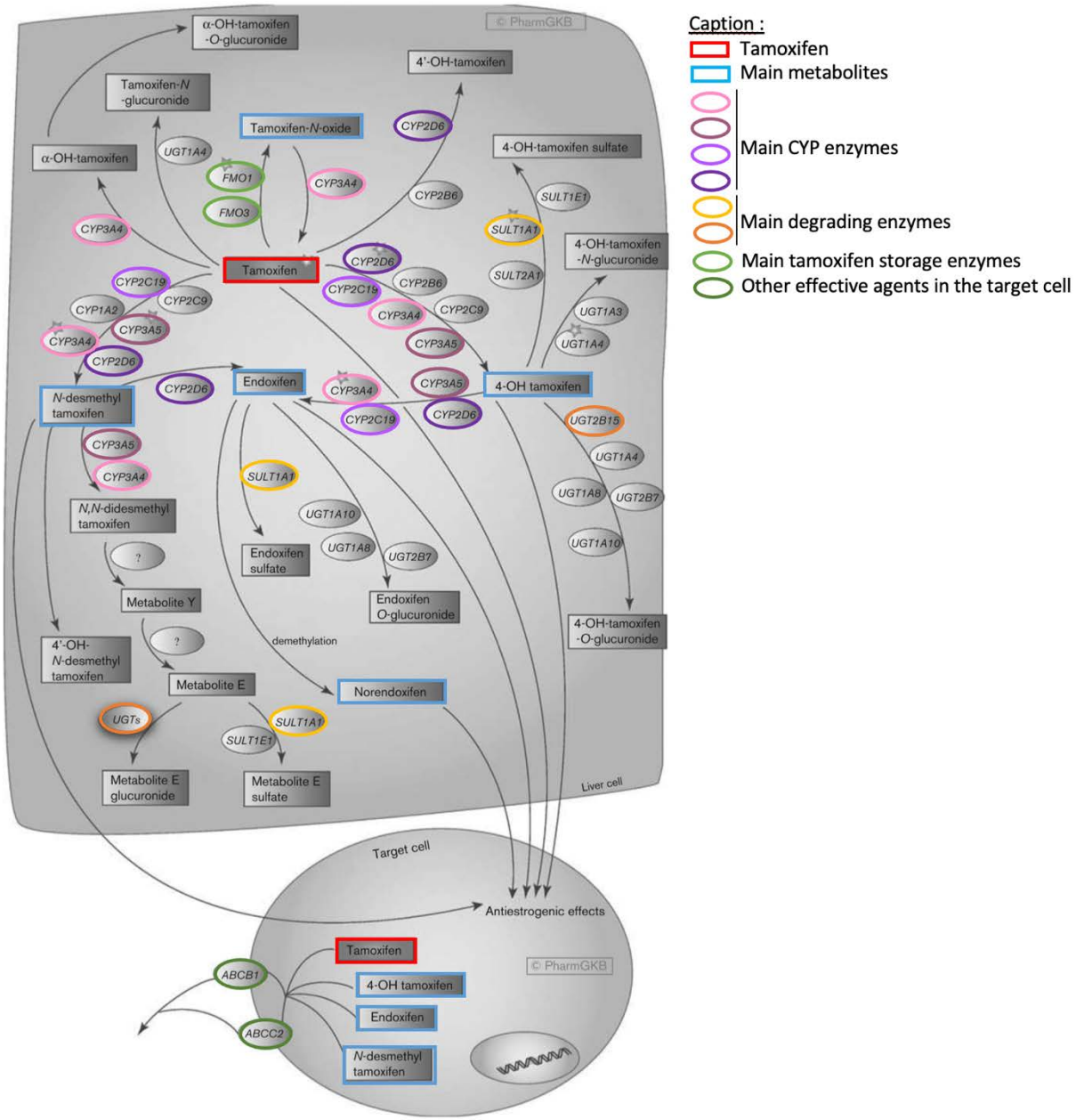


Figure 5 : Principaux métabolites et enzymes impliqués dans la pharmacocinétique du tamoxifène (adapté de Klein *et al.*, 2013).

Le N-desméthyl tamoxifène, le droloxifène, l'idoxifène, le lasofoxidène, le torémifène et l'ospemifène sont d'autres métabolites du tamoxifène (SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018).
Le métabolite α-hydroxytamoxifène est plusieurs centaines de fois plus susceptible de provoquer des adduits à l'ADN que la molécule mère et les autres métabolites (Phillips *et al.*, 1996 ; Earl *et al.*, 1997).
Une étude a tenté de comparer les doses topiques et orales de tamoxifène mais de nombreux facteurs influencent son taux d'hydroxylation dans le foie et donc la proportion de ses métabolites (Hu *et al.*, 1998 ; Kuhn *et al.*, 2002).

Le tamoxifène et ses métabolites sont observés à des concentrations nanomolaires dans le plasma et les muscles, suggérant une signalisation par des cibles de haute affinité.

4.1.2. Demi-vie du tamoxifène et de ses métabolites

Chez l'être humain, après administration orale, la concentration sérique maximale du tamoxifène est atteinte en quatre à sept heures. La demi-vie du tamoxifène est de quatre à 14 jours, généralement de cinq à sept jours et l'équilibre pharmacocinétique des concentrations (plateau) est atteint après environ 5-6 semaines de traitement. Cette longue demi-vie est attribuée à sa forte liaison aux protéines plasmatiques (plus de 99% du tamoxifène sont fortement liés) et à sa recirculation entéro-hépatique (Morello *et al.*, 2003 ; Hussain et Kneeshaw, 2012 ; Heery *et al.*, 2018 ; Sanchez-Spitman *et al.*, 2019 ; ANSM *et al.*, 2020).
À l'inverse, la demi-vie de l'endoxifène est de 50 à 70 heures (Sanchez-Spitman *et al.*, 2019).

Le tamoxifène est excrété dans la bile et éliminé dans les fèces après un cycle entéro-hépatique, tandis que de petites quantités sont éliminées dans les urines (Morello *et al.*, 2003).
Lorsque le traitement est arrêté, le tamoxifène est encore présent dans l'organisme pendant cinq à six semaines en raison de sa longue demi-vie (ANSM *et al.*, 2020).

4.2. Pharmacodynamique

4.2.1. Cancers

Le tamoxifène est un médicament anticancéreux. En effet, il peut influencer l'entrée dans le cycle cellulaire et la prolifération ou l'apoptose des cellules tumorales via la liaison ERα et Erβ et l'accumulation d'oxystérols. Le tamoxifène a également un effet cytostatique et cytotoxique sur les cellules tumorales (Baral *et al.*, 1995 ; Jordan, 2007a ; Segala *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Ahn *et al.*, 2019).

Le tamoxifène semble interagir directement avec la protéine kinase C pour inhiber la différenciation et la croissance des cellules tumorales. Ainsi, le médicament inhibe l'angiogenèse tumorale, l'invasion et les métastases, la résistance à la chimiothérapie et entraîne l'apoptose des cellules tumorales (Lavie *et al.*, 1998 ; Chen *et al.*, 2003 ; Bogush *et al.*, 2012 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

Le tamoxifène peut améliorer la sensibilité du paclitaxel dans les cellules cancéreuses œstrogéno-négatives et/ou œstrogéno-indépendantes (Tsubaki *et al.*, 2018).

Le métabolite actif 4-hydroxytamoxifène supprime la prolifération des cellules du myélome multiple (Gauduchon *et al.*, 2005 ; Tsubaki *et al.*, 2018).

4.2.1.1. Cancer du sein

Dans le monde entier, le tamoxifène a été largement utilisé comme médicament contre les cancers du sein hormonodépendants, précoces et avancés, et plus précisément ceux à œstrogènes positifs, depuis les années 1970. Le tamoxifène réduit le risque de cancer du sein invasif (de 49%) et non invasif chez les femmes à risque accru. Enfin, l'incidence globale du cancer du sein a été réduite de 50% grâce au raloxifène (Jordan et Koerner, 1975 ; Jordan, 1976 ; Jordan et Allen, 1980 ; Fisher *et al.*, 1989 ; Jordan, 1990 ; Gottardis *et al.*, 1990 ; Robinson *et al.*, 1991 ; Nayfield *et al.*, 1991 ; Custódio *et al.*, 1994 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Fisher *et al.*, 1998 ; Powles *et al.*, 1998 ; Veronesi *et al.*, 1998 ; Hall *et al.*, 2001 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; Cuzick *et al.*, 2003 ; Jordan, 2003 ; Fabian et Kimler, 2005 ; Fisher *et al.*,

2005 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Payne *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Jordan, 2008a ; Hayes, 2009 ; Hughes-Davies *et al.*, 2009 ; Jordan, 2009 ; Vogel, 2009 ; Lazzeroni *et al.*, 2012 ; Klein *et al.*, 2013 ; Jordan, 2014 ; Pandey *et al.*, 2016 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018e ; Gayi *et al.*, 2018c ; Peddi, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Tsubaki *et al.*, 2018 ; Brufsky et Dickler, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Sauter, 2018 ; Cortes *et al.*, 2019 ; Cham *et al.*, 2019 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.1.1.1. Indications du tamoxifène pour le cancer du sein

Les indications approuvées par la *food and drug administration* (FDA) pour le tamoxifène sont les suivantes :

- Traitement du cancer du sein chez les femmes comme chez les hommes. Il est utilisé en complément d'un traitement hormonal et il n'existe pas de thérapie endocrinienne alternative pour le cancer du sein masculin. Ainsi, le sexe masculin n'est pas un facteur prédictif péjoratif de survie chez les patients traités avec du tamoxifène (Ribeiro et Swindell, 1992 ; Goss *et al.*, 1999 ; Fentiman *et al.*, 2006 ; Hayes, 2009 ; Etori *et al.*, 2017 ; Eggemann *et al.*, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).
- Traitement adjuvant du cancer du sein après traitement primaire par chirurgie et radiothérapie (Gradishar et Salerno, 2016 ; Farrar et Jacobs, 2020).
- Traitement du carcinome canalaire *in situ* (cancer du sein non invasif) chez les femmes après chirurgie et radiothérapie pour réduire le risque de cancer du sein invasif (Fisher *et al.*, 1999 ; Staley *et al.*, 2014 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).
- Traitement prophylactique avec réduction du risque de cancer du sein chez les patientes à haut risque (Cuzick *et al.*, 2003 ; Klein *et al.*, 2013 ; Potkul *et al.*, 2016 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Sauter, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Le tamoxifène améliore la survie et réduit de 31% le taux annuel de décès du cancer du sein, de 50% la récidive et de 50% le risque de développer un cancer du sein controlatéral (Fisher *et al.*, 1998 ; Boocock *et al.*, 2000 ; Obiorah et Jordan, 2011 ; Klein *et al.*, 2013 ; Van der Weijden-Van Doornik *et al.*, 2017 ; Heery *et al.*, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

Pour cette indication, le tamoxifène est utilisé comme antagoniste du ER, inhibant de manière compétitive les cellules cancéreuses ER-positives vis-à-vis des œstrogènes nécessaire à leur croissance (Lippman et Bolan, 1975 ; Jordan et Koerner, 1975 ; Osborne, 1998 ; Klein *et al.*, 2013).

Le tamoxifène est également indiqué pour le traitement des douleurs mammaires primaires, des mastodynies prémenstruelles ou des douleurs mammaires dues à une cirrhose du foie (Fentiman *et al.*, 1988 ; Serels et Melman, 1998 ; Grio *et al.*, 1998 ; Li *et al.*, 2000 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.1.1.2. Actions du tamoxifène dans le traitement du cancer du sein

Le tamoxifène inhibe la kinase mTOR et active la protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate (AMP), ce qui inhibe la croissance des cellules lors de cancer du sein triple négatif chez la femme (Wu *et al.*, 2016 ; Tsubaki *et al.*, 2018).

Pour éviter les effets secondaires du tamoxifène, il est possible de diminuer la dose ou de le prendre de manière intermittente. Mais il existe aussi d'autres SERM qui semblent efficaces, avec moins d'effets secondaires que le tamoxifène, comme l'arzoxifène, le bazedoxifène et

le lasofoxifène. Enfin, l'administration transdermique semble réduire les effets secondaires sur les paramètres endocriniens et de coagulation (Mocellin *et al.*, 2016 ; Crew *et al.*, 2017 ; Sauter, 2018).
Le tamoxifène présente un intérêt particulier dans le traitement du cancer du sein car il a non seulement des effets anti-œstrogéniques dans le tissu mammaire mais aussi des effets pro-œstrogéniques dans les os, prévenant ainsi l'ostéoporose dans une population déjà à risque (Turken *et al.*, 1989 ; Love *et al.*, 1992 ; Jordan, 2003 ; Van der Weijden-Van Doornik *et al.*, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018c).

Le tamoxifène et le 4-hydroxytamoxifène sont des inhibiteurs intramembranaires de la peroxydation lipidique et des piégeurs de radicaux peroxyles grâce à leur nature hydrophobe. Ces actions sont dépendantes de la dose. Le métabolite est un inhibiteur intramembranaire de la peroxydation lipidique plus efficace grâce à son groupe OH et à sa partition membranaire relative près de l'interface de la bicouche. De plus, le tamoxifène et son métabolite améliorent l'activité antioxydante de la vitamine E en la régénérant ou en la protégeant contre les espèces réactives de l'oxygène. Cela suggère que l'association entre différents antioxydants peut améliorer les effets thérapeutiques (H. Wiseman *et al.*, 1990 ; Helen Wiseman *et al.*, 1990 ; Lien *et al.*, 1991 ; Custódio *et al.*, 1993 ; Wiseman *et al.*, 1993 ; Custódio *et al.*, 1994 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018).

D'un autre côté, le tamoxifène réduit également le cholestérol des lipoprotéines de basse densité et diminue les effets du cholestérol chez les femmes traitées pour un cancer du sein (Chang *et al.*, 1996 ; Morello *et al.*, 2003 ; Singh *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Montoya et Krysan, 2018).

4.2.1.1.3. Comparaison raloxifène-tamoxifène dans le traitement du cancer du sein

Le raloxifène, un médicament contre le cancer du sein et un SERM de deuxième génération, réduit l'incidence de la malignité mammaire et le risque de cancer du sein invasif, ainsi que le cancer du sein invasif ER-positif (comme le tamoxifène) de 59% et 66% respectivement chez les femmes ménopausées souffrant d'ostéoporose. Cependant, contrairement au tamoxifène, le raloxifène ne réduit pas le risque de cancer du sein non invasif (Gottardis *et al.*, 1990 ; Cauley *et al.*, 1996 ; Delmas *et al.*, 1997 ; Cummings *et al.*, 1999 ; Ettinger *et al.*, 1999 ; Lippman *et al.*, 2001 ; Cauley *et al.*, 2001 ; Cummings *et al.*, 2002 ; Lamb *et al.*, 2003 ; Sporn *et al.*, 2004 ; Martino *et al.*, 2004 ; Fabian et Kimler, 2005 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Jordan, 2006 ; Jordan, 2007a ; Vogel, 2009 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Sauter, 2018).

En conclusion, le raloxifène est aussi efficace que le tamoxifène pour réduire le risque de cancer du sein invasif mais il présente également un risque plus faible d'événements thromboemboliques et de cataractes et il constitue le traitement de choix pour les femmes ménopausées présentant un risque accru de cancer du sein (Barrett-Connor *et al.*, 2004). Même si le tamoxifène est trop toxique, la chimioprévention du cancer du sein est maintenant possible grâce au raloxifène, notamment pour le traitement de l'ostéoporose chez les femmes ménopausées. En 2006, plus de 500 000 femmes prenaient déjà du raloxifène aux États-Unis. Et en 2009, 500 000 femmes prenaient du raloxifène pour le traitement de l'ostéoporose dans le monde. Aux États-Unis, le tamoxifène est utilisé en prophylaxie chez les femmes présentant un risque élevé de cancer du sein et une étude prouve que l'incidence du cancer ER positif diminue même après plus de 10 ans d'arrêt du traitement (Kristensen *et al.*, 1994 ; Ettinger *et al.*, 1999 ; Cuzick *et al.*, 2003 ; Barrett-Connor *et al.*, 2004 ; Armstrong *et al.*, 2006 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Jordan, 2007b ; Vogel, 2007 ; Cuzick *et al.*, 2007 ; Powles *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Vogel, 2009).

4.2.1.1.4. Autres traitements

Les recommandations actuelles précisent que le traitement endocrinien adjuvant doit inclure un inhibiteur d'aromatase mais la monothérapie par tamoxifène reste un traitement endocrinien de première intention pour les patientes pré-ménopausées et celles intolérantes ou contre-indiquées pour un inhibiteur d'aromatase. L'ajout d'une suppression de la fonction ovarienne au tamoxifène est une option thérapeutique pour les patientes pré-ménopausées à récepteurs hormonaux positifs (Pagani *et al.*, 2014 ; Francis *et al.*, 2015 ; Bartlett *et al.*, 2019).

Les inhibiteurs d'aromatase (comme l'anastrozole) sont également des agents prometteurs pour le traitement du cancer du sein à récepteurs positifs chez les femmes ménopausées. Ils convertissent les stéroïdes en œstrogènes, par exemple la testostérone en œstradiol. Ainsi, leur inhibition entraîne une diminution de la quantité d'œstrogènes disponible. Par ailleurs, certains métabolites du tamoxifène agissent comme des inhibiteurs d'aromatase *in vitro*. Le métabolite norendoxifène est le plus puissant puisqu'il atteint la même efficacité que le létrozole, un médicament exclusivement utilisé comme inhibiteur d'aromatase. Ils améliorent la survie et ont moins d'effets secondaires potentiellement mortels que le tamoxifène. Les inhibiteurs d'aromatase peuvent entraîner une perte osseuse ou des arthralgies. La survie des patients masculins atteints de cancer du sein est moins bonne avec les inhibiteurs d'aromatase qu'avec le tamoxifène. Concernant le traitement adjuvant par bisphosphonate, il réduit le risque métastatique osseux et prévient - voire inverse - la perte osseuse (ostéopénie et ostéoporose). Ainsi, la recommandation actuelle est l'acide zoldronique ou le clodronate chez les femmes ménopausées sous traitement anti-œstrogénique et à haut risque de récidive du cancer du sein. Enfin, les inhibiteurs de *4/6-cyclin-dependent kinases* (CCDK4/6) peuvent être ajoutés à la thérapie anti-œstrogénique pour doubler la survie sans progression. Le tamoxifène reste le traitement de choix pour les femmes qui ne tolèrent pas les inhibiteurs d'aromatase (Goss *et al.*, 2003 ; Ingle, 2005 ; Howell *et al.*, 2005 ; Winer *et al.*, 2005 ; Forbes *et al.*, 2008 ; Vogel, 2009 ; Lu *et al.*, 2012a ; Lu *et al.*, 2012b ; Klein *et al.*, 2013 ; Eggemann *et al.*, 2013 ; Van der Weijden-Van Doornik *et al.*, 2017 ; Peddi, 2018 ; Sauter, 2018 ; Eggemann *et al.*, 2018 ; Heery *et al.*, 2018).

4.2.1.1.5. Doses et durée du traitement pour le traitement du cancer du sein

En 2021, on recense environ 200 000 nouveaux cas de cancers du sein œstrogènes-dépendants. Et des millions de femmes sont ou ont été traitées avec du tamoxifène depuis 1973.

Le tamoxifène existe en comprimés de 10 ou 20 mg ou en solution buvable de 10 mg / 5 mL, à prendre avec ou sans nourriture. Il est recommandé une dose de 20 mg par jour pour la prévention du cancer du sein après une chimiothérapie. La durée du traitement dépend du statut ménopausique de la patiente mais peut durer jusqu'à cinq à 10 ans. Certaines études rapportent une meilleure efficacité du traitement à long terme mais dans ces cas le tamoxifène semble augmenter les incidences de cancer endométrial, en multipliant par 2,5 le risque, et les incidences d'embolie pulmonaire. Cependant, de la même manière, il réduit l'incidence des cardiopathies ischémiques, de sorte que la norme actuelle est de poursuivre le tamoxifène pendant 10 ans en l'absence d'effets secondaires importants. Quant aux AI, ils sont généralement arrêtés au bout de cinq ans car ils augmentent la toxicité osseuse (ostéoporose et fractures) (Fornander *et al.*, 1989 ; Fisher *et al.*, 1998 ; Osborne, 1998 ; Davies *et al.*, 2013 ; Klein *et al.*, 2013 ; Burstein *et al.*, 2014 ; Goss *et al.*, 2016 ; Van der Weijden-Van Doornik *et al.*, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Peddi, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

La dose typique pour le cancer du sein métastatique est d'environ 20-40 mg par jour et 20 mg fournissent 285 ng/g de poids corporel pour une personne de 70 kg et une concentration plasmatique moyenne de 89,9 ng/mL. Mais aucun bénéfice clinique n'a été prouvé au-delà de 20 mg par jour. Avec une administration quotidienne de 20 mg pendant cinq ans, le taux de récidive du cancer est réduit de 2. Cependant, il déclenche des effets secondaires. De plus, les cliniciens doivent choisir avec soin le type d'anti-dépresseur pour traiter les bouffées de chaleur et la dépression car ils peuvent diminuer l'efficacité du tamoxifène (Bratherton *et al.*, 1984 ; Fisher *et al.*, 1998 ; Stearns *et al.*, 2003 ; Jin *et al.*, 2005 ; Goetz *et al.*, 2007 ; Takimoto, 2007 ; Jordan, 2007b ; Henry *et al.*, 2008 ; Klein *et al.*, 2013 ; Lien *et al.*, 2013 ; Tsubaki *et al.*, 2018 ; Ahn *et al.*, 2019 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Dans certaines études, les femmes ont été traitées par 20 mg/jour de tamoxifène ou 60 mg/jour de raloxifène (Vogel *et al.*, 2006 ; Vogel, 2009).

L'expression du ER et du *progesterone receptor* (PR), couramment mesurée en pratique clinique, indique le pronostic et la réponse hormonale. Mais leur valeur prédictive du bénéfice d'un traitement anti-œstrogénique est limitée pour la population à récepteurs hormonaux positifs (Dowsett *et al.*, 2008 ; Bartlett *et al.*, 2011 ; Davies *et al.*, 2011 ; Regan *et al.*, 2015 ; Meisel *et al.*, 2018).
Le *breast cancer index* est également un biomarqueur prédictif du pronostic et de la réponse endocrinienne. Mais il est en outre le seul test multigénique cliniquement disponible capable d'évaluer le bénéfice d'une endocrinothérapie prolongée. Il est lui-même constitué de deux panels de biomarqueurs fonctionnels : le *molecular grade index* qui évalue la prolifération tumorale et le ratio bi-génique *HOXB13/IL17BR* qui évalue la signalisation des œstrogènes et donc la réponse endocrinienne, en fonction des différentes combinaisons thérapeutiques possibles (SERM ou inhibiteur d'aromatase concernant le fond de traitement et traitement endocrinien primaire ou secondaire concernant le cadre adjuvant). L'intégration du *molecular grade index* et du *HOXB13/IL17BR* permet d'obtenir un score pronostique *breast cancer index*, ce qui en fait l'un des rares classificateurs capables de quantifier le risque de récidive à distance globale (0-10 ans) mais aussi tardive (au-delà de cinq ans du diagnostic, c'est-à-dire cinq à 10 ans) indépendamment de l'âge, de la taille de la tumeur, du grade, du statut loco-régional et du traitement (Sgroi *et al.*, 2013a ; Sgroi *et al.*, 2013b ; Zhang *et al.*, 2013 ; Sestak *et al.*, 2018 ; Bartlett *et al.*, 2019).
Bien que les lignes directrices recommandent déjà un traitement de 10 ans, des études antérieures n'ont montré qu'une modeste réduction de 2 à 5 % du risque de récidive chez les patientes présentant une réponse hormonale positive. Dans l'étude de Bartlett, les patientes sont des femmes post-ménopausées uniquement traitées par tamoxifène. Les patientes avec un fort risque métastatique ont un bénéfice significatif de 10 versus cinq ans de traitement par tamoxifène avec une diminution de 10,2% du risque de récidive. De plus, celles-ci exprimant des tumeurs et traitées par endocrinothérapie prolongée ont un risque relatif de récidive 65% plus faible que celles arrêtant le traitement à cinq ans. La connaissance de la possibilité de prolonger le traitement endocrinien est une information cruciale pour les patientes atteintes d'un cancer du sein positif aux récepteurs hormonaux sans récidive après un traitement adjuvant primaire terminé car le cancer du sein positifs aux récepteurs hormonaux est associé à un risque persistant de récidive métastatique à long terme (Earl *et al.*, 1997 ; Goss *et al.*, 2003 ; Mamounas *et al.*, 2008 ; Davies *et al.*, 2013 ; Senkus *et al.*, 2015 ; Gradishar et Salerno, 2016 ; Pan *et al.*, 2017 ; Bartlett *et al.*, 2019 ; Mamounas *et al.*, 2019 ; Burstein *et al.*, 2019).
Cependant, il semble qu'un traitement endocrinien prolongé pour toutes les patientes présentant des nœuds lymphatiques atteints entraîne souvent un surtraitement car, même si le statut métastatique et l'augmentation de la taille de la tumeur sont positivement corrélées à un risque accru de récidive tardive à distance, beaucoup de celles qui ont terminé cinq ans de traitement ne développent en fait aucune métastase. De plus, le tamoxifène prolongé peut être néfaste pour les patientes classées avec risque métastatique moindre et qui présentent un risque moins élevé de récidive (Bartlett *et al.*, 2019).

4.2.1.2. Adénocarcinome du canal pancréatique

L'adénocarcinome du canal pancréatique est l'une des premières causes de décès liés au cancer. Dans ce type de cancer, le microenvironnement tumoral est sévèrement hypovascularisé ce qui ne permet pas l'administration de la chimiothérapie et donc son efficacité (Olive *et al.*, 2009 ; Cortes *et al.*, 2019).
Le tamoxifène modifie le microenvironnement tumoral et réduit la survie des cellules cancéreuses. Pour ce faire, il module la synthèse du collagène, remodèle le collagène de la matrice extracellulaire via GPER et augmente la vascularisation, ce qui augmente le passage des médicaments. Ensuite, le tamoxifène réduit la prolifération et augmente l'apoptose dans les cellules cancéreuses (Cortes *et al.*, 2019).

Le ß-aminopropionitrile et le simtuzumab inhibent également LOX-L2 et restaurent ainsi l'organisation du collagène et l'homéostasie tissulaire en cas d'inflammation ou de cancer. Le traitement par l'acide trans-rétinoïque améliore la vascularisation et la quiescence des cellules étoilées pancréatiques. Le récepteur de la vitamine D améliore également la quiescence des cellules étoilées pancréatiques, ce qui stimule l'angiogenèse. En outre, la diminution de la rigidité du stroma nuit aux métastases et améliore l'administration de médicaments. Ensuite, les inhibiteurs de l'angiotensine réduisent la synthèse du collagène, améliorent la densité des vaisseaux sanguins, la perfusion vasculaire et donc la perfusion des médicaments cytotoxiques.

Dans la **Figure 6**, nous apprenons que dans les cellules étoilées pancréatiques, le tamoxifène diminue la contractilité de la myosine grâce aux GPER. L'activation de GPER diminue la synthèse du collagène. De plus, l'action du tamoxifène sur LOX-L2 empêche le remodelage du collagène. Dans le stroma de l'adénocarcinome du canal pancréatique, le tamoxifène diminue l'organisation du collagène et de fibronectine et stimule la vascularisation. Dans la glande mammaire du rat, on rapporte également que l'activité de la MMP-2 est inhibée par le tamoxifène (Hattar *et al.*, 2009 ; Cortes *et al.*, 2019).

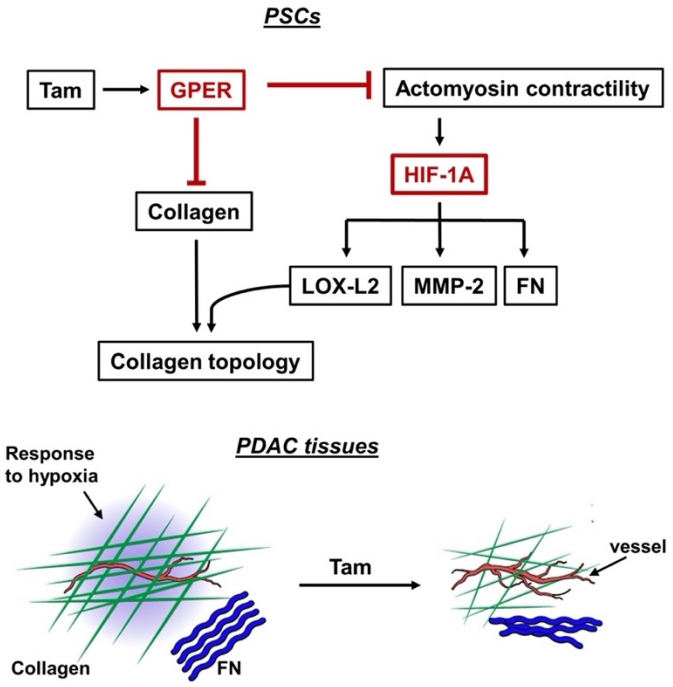


Figure 6 : Résumé des effets du tamoxifène lors d'adénocarcinome canalaire pancréatique (Cortes *et al.*, 2019).
FN : fibronectine, PDAC : adénocarcinome du canal pancréatique et PSC : cellules étoilées pancréatiques

Les effets bénéfiques du tamoxifène sur l'adénocarcinome du canal pancréatique (augmentation de la vascularisation, amélioration de la délivrance des médicaments aux tissus et action sur la fibronectine, le collagène et la fibrose) doivent encore être soumis à des expérimentations supplémentaires, puisque l'étude présentée ici a été réalisée *in vitro* seulement et non *in vivo*. Cependant, le repositionnement du tamoxifène semble prometteur et pourrait conduire à une nouvelle stratégie basée sur des modification du micro-environnement tumoral.

4.2.1.3. Carcinomes de la prostate et de la vessie

Le tamoxifène peut avoir des effets bénéfiques sur les métastases aux nœuds lymphatiques et osseuses du carcinome de la prostate (stabilisation de la maladie dans 20% des cas), avec une bonne acceptabilité par les patients. Ainsi, le tamoxifène peut être intéressant dans les cas de maladie précoce ou chez les patients à risque de cancer de la prostate, notamment ceux qui présentent une élévation de l'antigène prostatique spécifique sérique (Spremulli *et al.*, 1982 ; Glick *et al.*, 1982 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; P. B. Singh *et al.*, 2008).

En outre, le médicament inhibe la croissance des lignées cellulaires du cancer de la vessie (Dellagrammaticas *et al.*, 2001 ; Shen *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.1.4. Autres tumeurs et cancers

Le tamoxifène est indiqué dans le traitement du méningiome, du cancer de l'ovaire avancé ou récurrent, du cancer du poumon en complément d'une chimiothérapie initiale, de la tumeur carcinoïde, des néoplasmes malins secondaires à des tumeurs solides, du glioblastome multiforme et du mélanome malin métastatique en combinaison avec d'autres agents tels que la carmustine, le cisplatine et la dacarbazine (Moertel, 1984 ; Markwalder *et al.*, 1985 ; Figueredo *et al.*, 1990 ; Hatch *et al.*, 1991 ; McKeage *et al.*, 1993 ; Markman *et al.*, 1996 ; Lissoni *et al.*, 1996 ; Yang *et al.*, 1999 ; McClay *et al.*, 2000 ; Muanza *et al.*, 2000 ; O'Day *et al.*, 2001 ; Robins *et al.*, 2006 ; Beguerie *et al.*, 2010 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019 ; Farrar et Jacobs, 2020).

De plus, le tamoxifène améliore la durée et la qualité de vie des patients atteints de rétinoblastome en complément des protocoles de traitement (Taçyildiz *et al.*, 2003 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Enfin, le tamoxifène inhibe la fibrose rétropéritonéale (Clark *et al.*, 1991 ; Owens *et al.*, 1995 ; Payne *et al.*, 2006 ; Vaglio *et al.*, 2006 ; Huang *et al.*, 2011).

4.2.2. Maladies gynécologiques

Le tamoxifène est indiqué pour le traitement de l'hypertrophie utérine et pour des patientes présentant un cancer récurrent de type endométrioïde, métastatique ou à haut risque (Fraser, 1987 ; Thigpen *et al.*, 2001 ; Fiorica, 2004 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Il est rapporté une incidence accrue de kystes ovariens chez les femmes pré-ménopausées traitées par raloxifène. Par conséquent, le raloxifène ne devrait pas être prescrit aux femmes pré-ménopausées. Au contraire, l'efficacité du tamoxifène est comparable à celle du citrate de clomifène, un anti-œstrogène, ou à celle du létrozole, un inhibiteur d'aromatase, car c'est un agent d'induction de l'ovulation dans la maladie des ovaires polykystiques. Ainsi, le tamoxifène est indiqué pour l'induction de l'ovulation dans le traitement de l'infertilité (Steiner

et al., 2005 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2007 ; Premkumar *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

La fonction sexuelle est bien meilleure chez les femmes ménopausées à haut risque de cancer du sein (mais non encore sous chimiothérapie) traitées par tamoxifène (Land *et al.*, 2006 ; Vogel, 2009).

Le tamoxifène est également indiqué pour le traitement de l'oligospermie en association avec la testostérone et pour le traitement de la gynécomastie primaire ou secondaire avec douleurs mammaires associées (Morello *et al.*, 2003 ; Adamopoulos *et al.*, 2003 ; Boccardo *et al.*, 2005 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.3. Affections squelettiques

Le tamoxifène a une activité pro-œstrogénique sur l'os et piège les radicaux peroxyles, stabilise les membranes biologiques, prévient l'apoptose, peut traiter les tumeurs desmoïdes et module l'homéostasie du calcium (Kinzbrunner *et al.*, 1983 ; Koot *et al.*, 1991 ; Brooks *et al.*, 1992 ; Custódio *et al.*, 1994 ; Timmons, 1994 ; Custodio *et al.*, 1998 ; Chau *et al.*, 1998 ; Hu *et al.*, 1998 ; Dodds *et al.*, 2001 ; Cardoso *et al.*, 2002 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; Lobatón *et al.*, 2005 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2008 ; Bolanz *et al.*, 2009 ; Vogel, 2009 ; Dorchies *et al.*, 2013 ; Skapek *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Shagufta et Ahmad, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018 ; Wu *et al.*, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019). Ce médicament augmente la densité minérale osseuse chez les femmes post-ménopausées (Singh *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008).

Concernant les tumeurs desmoïdes progressives et récurrentes, le tamoxifène est indiqué en association avec de l'arthrocine, un anti-inflammatoire non stéroïdien (Hansmann *et al.*, 2004 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Le tamoxifène et le raloxifène réduisent le risque de fractures vertébrales, radiales et de la hanche et préviennent l'ostéoporose (Delmas *et al.*, 1997 ; Cummings *et al.*, 1999 ; Clemett et Spencer, 2000 ; Lippman *et al.*, 2001 ; Cummings *et al.*, 2002 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Seeman *et al.*, 2006 ; Sauter, 2018).

Le tamoxifène diminue la fonction fibroblastique et régule à la baisse le *transforming growth factor ß* (TGFß2) dans la contracture de Dupuytren. La contracture de Dupuytren est une maladie fibroprolifératives caractérisée par un dépôt excessif de collagène et le TGFß2 participe à la synthèse excessive de collagène et donc à l'apparition de la fibrose. Ceci nous offre la perspective d'un traitement potentiel pour inverser la maladie. De plus, l'application topique de tamoxifène peut être possible pour les maladies fibroprolifératives telles que celle de Dupuytren mais des investigations supplémentaires sont encore nécessaires. D'autres moyens peuvent être utilisés pour contrer la production excessive de TGFß2 comme le protéoglycane décorine et l'interféron α-2b (Pollak *et al.*, 1990 ; Badalamente *et al.*, 1992 ; Border et Ruoslahti, 1992 ; Gonzalez *et al.*, 1992 ; Dickens et Colletta, 1993 ; Jordan, 1993 ; Alioto *et al.*, 1994 ; Younai *et al.*, 1994 ; Border et Noble, 1994 ; Murphy, 1994 ; Hildebrand *et al.*, 1994 ; Kloen *et al.*, 1995 ; Kosmehl *et al.*, 1995 ; Badalamente *et al.*, 1996 ; Igarashi *et al.*, 1996 ; Magro *et al.*, 1996 ; Younai *et al.*, 1996 ; Polo *et al.*, 1997 ; Chau *et al.*, 1998 ; Hu *et al.*, 1998 ; Tredget *et al.*, 1998 ; Lee *et al.*, 1999 ; Smith *et al.*, 1999 ; Wang *et al.*, 1999 ; Kuhn *et al.*, 2001 ; Kuhn *et al.*, 2002 ; Robson, 2003).

De même, le tamoxifène peut être un traitement intéressant du rhinophyma en diminuant la contraction des fibroblastes et leur production de TGFß2. D'autres composés peuvent être efficaces pour le traitement du rhinophyma comme les anticorps neutralisants, le mannose-

6-phosphate, la décorine et le TGFß3 (McCallion et Ferguson, 1988 ; Shah *et al.*, 1992 ; Hildebrand *et al.*, 1994 ; Logan *et al.*, 1994 ; Shah *et al.*, 1995 ; Cox, 1995 ; O'Kane et Ferguson, 1997 ; Pu *et al.*, 2000 ; Payne *et al.*, 2006).

Le tamoxifène est un inhibiteur efficace du TGFß, généralement responsable de l'activation des fibroblastes, ce qui permet une diminution de la fibrose (Carthy *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2018).

Le tamoxifène agit certainement sur les os par le biais d'AF-1 et AF-2 (Börjesson *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017).

Enfin, le tamoxifène et les autres SERM sont indiqués pour le traitement de la polyartérite noueuse cutanée, de la polyarthrite rhumatoïde, de l'ostéoporose et des métastases osseuses (Taetle, 1978 ; Cvancara *et al.*, 1998 ; Morello *et al.*, 2003 ; Thomas *et al.*, 2004 ; Jochems *et al.*, 2007 ; Xiao *et al.*, 2016 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.4. Affections du système cardiovasculaire

Le tamoxifène est cardioprotecteur car il réduit les infarctus aigus du myocarde et les angines de poitrine nouvellement diagnostiquées. De plus, il prévient le développement des lésions d'athérome par l'activation d'AF-1. Cela pourrait être lié à l'inhibition de l'estérification du cholestérol par le tamoxifène. Ce mécanisme pourrait également conduire à des effets antitumoraux (McDonald *et al.*, 1995 ; Clarke *et al.*, 2001 ; Simon *et al.*, 2002 ; de Medina *et al.*, 2004 ; Bradbury *et al.*, 2005 ; Singh *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Billon-Galés *et al.*, 2009 ; Billon-Galés *et al.*, 2011 ; Fontaine *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018).

Le tamoxifène est indiqué pour la prophylaxie de l'artériosclérose coronaire chez les hommes ayant un triple vaisseau (Clarke *et al.*, 2001 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.5. Myopathies héréditaires

Comme on l'a vu plus haut, les ER contrôlent la transcription des gènes et c'est ainsi que le tamoxifène agit. Peut-être aussi, interagit-il dans d'autres mécanismes.

Les effets bénéfiques ne sont pas encore très bien connus. Le tamoxifène semble améliorer la maladie musculaire dans le contexte de la maladie de Duchenne [*Duchenne muscular dystrophy* (DMD)] et la myopathie myotubulaire (MTM). La DMD et la MTM sont toutes deux des myopathies liées au chromosome X (Gayi *et al.*, 2018c ; Wu *et al.*, 2018).

4.2.5.1. Dystrophie musculaire de Duchenne

La DMD est une maladie progressive caractérisée par un manque de dystrophine dans les muscles squelettiques et cardiaques. La maladie touche un garçon sur 3 500. Ainsi, les myofibres sont plus sensibles aux lésions induites par la contraction et finalement à la nécrose, à la fonte musculaire et à la mort prématurée (Ruegg, 2013).

Actuellement, il n'existe qu'une thérapie palliative avec des agonistes des récepteurs glucocorticoïdes (prednisolone, prednisone ou deflazacort). Ils permettent de prolonger la force musculaire et la déambulation mais les effets indésirables entraînent souvent l'arrêt du traitement après quelques années seulement. Les efforts pour trouver un traitement efficace sont nombreux depuis la découverte de la mutation du gène de la dystrophine. Mais les

médicaments doivent agir sur le muscle, le plus grand organe, les traitements sont donc complexes (Ruegg, 2013).

Les agents de saut d'exon, l'eteplirsen et le drisapersen, réparent la transcription du gène défectueux, ce qui donne des dystrophines raccourcies. Ils sont donc actuellement les médicaments les plus prometteurs contre la DMD et font l'objet d'essais cliniques. Mais la production de ces dystrophines raccourcies est coûteuse et présente quelques effets indésirables (Ruegg, 2013).

Quant au Biglycan, à la Mitsugumin et au SMTC1100, ils régulent à la hausse l'utrophine et stabilisent ou réparent la membrane du muscle dystrophique, améliorant ainsi la qualité du muscle. De plus, ils peuvent être administrés par voie systémique (Young et Fallon, 2012 ; Ruegg, 2013).

Le VBP15, un analogue des corticostéroïdes, le tamoxifène et les piégeurs de radicaux agissant comme des antioxydants spécifiques sont également des agents prometteurs mais pour un traitement symptomatique (Terrill *et al.*, 2012 ; Ruegg, 2013).

Chez la souris modèle de DMD (mutation mdx), un traitement oral par tamoxifène à partir de l'âge de trois semaines pendant 15 mois à la dose de 10 mg/kg/jour stabilise les membranes des myofibres (et diminue donc l'activité de la créatine kinase plasmatique), normalise la force du corps entier, augmente la production de force et la résistance à la fatigue, améliore la structure des muscles, protège contre les dommages membranaires et l'atrophie musculaire, réduit la fibrose via l'inhibition du TGFß et du stress oxydatif (bien visible sur les coupes de cœur de la **Figure 7**), module la gestion du calcium et, enfin, prévient l'apoptose. Ce médicament permet donc de contrer les signes cliniques de la DMD, indépendamment de la correction de la cause génétique sous-jacente, c'est-à-dire le manque de dystrophine (Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018c).
Les souris dystrophiques ont des fibres hypertrophiques alors que celles traitées au tamoxifène ont des muscles dont le poids est normalisé (Dorchies *et al.*, 2013a).

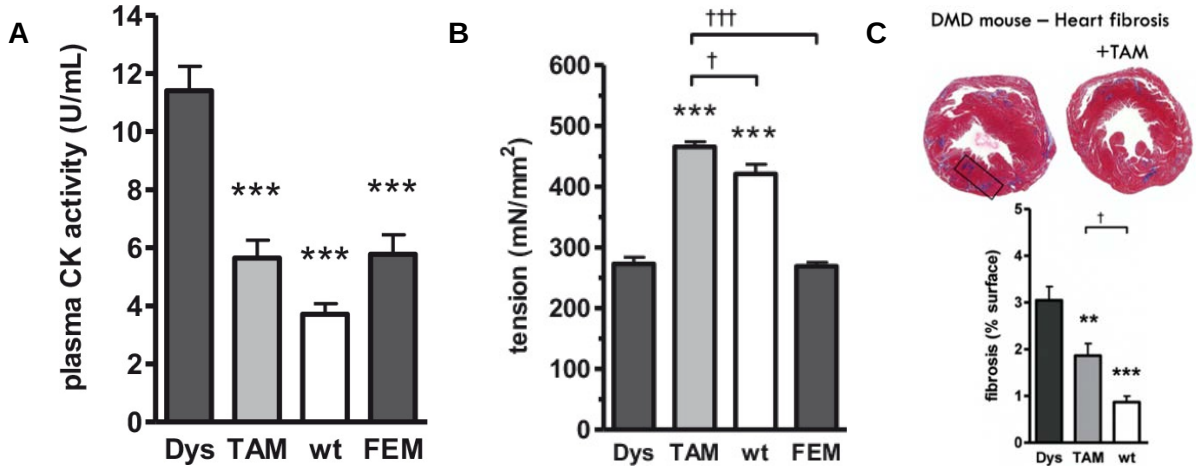


Figure 7 : Le tamoxifène réduit les effets de la dystrophie musculaire de Duchenne (Dorchies *et al.*, 2013a). Effet du traitement au tamoxifène sur les niveaux plasmatiques de créatine kinase chez les individus dystrophiques (DYS), dystrophiques ayant reçu du tamoxifène (TAM), *wild-type* (wt) et femelles (FEM) **(A)**. Tension musculaire montrant que les triceps des individus traités au tamoxifène sont plus forts que ceux des contrôles **(B)**. Coupes de cœur chez une souris mâle dystrophique (à gauche) et chez une souris mâle dystrophique traitée avec du tamoxifène (à droite) et quantité de fibrose (en bas) chez les individus mâles dystrophiques, *wild-type* et ayant reçu du tamoxifène **(C)**.
CK : créatine kinase, DMD : *Duchenne muscular dystrophy*, Dys : souris mâles dystrophiques, FEM : souris femelles hétérozygotes, TAM : souris mâles dystrophiques traitées au tamoxifène et wt : souris mâles *wild-type*

Ainsi, le tamoxifène peut être un agent thérapeutique intéressant pour traiter la dystrophie musculaire car il améliore les fonctions respiratoires et cardiaques en réduisant la fibrose (Judge *et al.*, 2011 ; Spurney, 2011 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018c).

Le tamoxifène augmente l'expression de la calcineurine qui régit en partie la transition entre fibres rapides et fibres lentes, ce qui permet d'augmenter l'endurance, d'améliorer la résistance à la fatigue et de renforcer la fonction oxydative mitochondriale. Et ces fibres de type I à contraction lente semblent être moins susceptibles d'être endommagées grâce à une défense antioxydante plus élevée. En effet, des niveaux plus élevés d'ER dans les muscles à contraction lente semblent prévenir la nécrose des fibres. De plus, le muscle dystrophique est enrichi en ERα et ERß pour lesquels le tamoxifène a une liaison de haute affinité et le traitement au tamoxifène affecte l'isoforme ERß2 et non ERß1. Cela peut expliquer la forte réactivité des tissus dystrophiques au tamoxifène, qui semble être pro-œstrogénique (Saartok, 1984 ; Webster *et al.*, 1988 ; Moens *et al.*, 1993 ; Chakkalakal *et al.*, 2003 ; Mallinson *et al.*, 2009 ; Jiang *et al.*, 2010 ; Sakuma et Yamaguchi, 2010 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Feder *et al.*, 2013 ; Gayi *et al.*, 2018c).

Le tamoxifène favorise également l'accumulation de plusieurs protéines structurelles telles que l'utrophine, l'intégrine α7 et l'αß-cristalline qui présentent un intérêt thérapeutique en agissant comme substituts de la dystrophine manquante. En effet, l'αß-cristalline maintient l'intégrité des myofilaments et la mutation de la desmine ou de l'αß-cristalline entraîne des troubles musculaires (Perkins et Davies, 2002 ; Burkin *et al.*, 2005 ; Puttini *et al.*, 2009 ; Larkins *et al.*, 2012 ; Dorchies *et al.*, 2013a).
En conclusion, le tamoxifène induit des effets inefficaces pris individuellement mais conduisant à une protection musculaire lorsqu'ils sont simultanés, via l'acquisition d'un phénotype plus lent et résistant à la fatigue (Mallinson *et al.*, 2009 ; Sakuma et Yamaguchi, 2010 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018c).

Le tamoxifène rend les muscles dystrophiques encore plus forts que ceux des animaux contrôles. Les souris traitées au tamoxifène présentent une plus grande résistance musculaire aux contractions tétaniques répétées que les souris contrôles. Cela rappelle la force musculaire accrue pendant le cycle menstruel, qui est corrélée à l'augmentation transitoire des œstrogènes (Sarwar *et al.*, 1996 ; Dorchies *et al.*, 2013a).

Dans un modèle de souris, la dose la plus efficace (produisant une prévention optimale de la maladie) est de 30 mg de tamoxifène par kg d'aliment, ce qui donne 4 à 6 mg de tamoxifène par kg et par jour. Cette dose correspond à celle du traitement du cancer du sein, en tenant compte des différences entre les espèces. Ainsi, de faibles niveaux de tamoxifène provoquent des effets thérapeutiques majeurs, ce qui est encourageant dans la perspective d'une application clinique (Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018d).

Chez l'humain, le tamoxifène semble être bien toléré par les jeunes s'il est administré pendant 48 mois à des garçons DMD de 13 à 16 ans et pendant 12 mois à des filles de trois ans seulement. De plus, il ne modifie pas l'acquisition des caractères sexuels masculins (Walter *et al.*, 2000 ; Eugster *et al.*, 2003 ; Lawrence *et al.*, 2004 ; Kreher *et al.*, 2005 ; Derman *et al.*, 2008 ; Dorchies *et al.*, 2013a ; Lapid *et al.*, 2013 ; Skapek *et al.*, 2013 ; de G Buff Passone *et al.*, 2015).

Le tamoxifène est un effecteur en aval. Il peut être administré *per os* à une dose plus faible que pour le traitement du cancer du sein et il est plus sûr même pour les garçons prépubères et moins coûteux que les thérapies réparant le gène muté de la dystrophine (Dorchies *et al.*, 2013a).

L'inhibition du NF-kB, du TGF-α, du TGF-ß et de la myostatine, un antagoniste de l'IGF-1 conduisant à l'atrophie, sont d'autres voies prometteuses (Amthor et M.H. Hoogaars, 2012 ; Ruegg, 2013).

4.2.5.2. Myopathie myotubulaire

Concernant la MTM, caractérisée par une perte de fonction de MTM1 et une mort précoce chez la souris comme chez l'enfant, l'administration orale de tamoxifène chez la souris (peu après le sevrage, c'est-à-dire après que les souris ont commencé à développer des signes cliniques) prolonge la survie et atténue les signes cliniques chez la souris en améliorant la production de force, la structure myofibrillaire et le couplage excitation-contraction (Laporte *et al.*, 1996 ; Amburgey *et al.*, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018).

Ainsi, le tamoxifène ralentit la progression de la maladie et retarde la paralysie (**Figure 8**).

Les souris MTM traitées restent plus légères car leurs muscles sont plus petits et leur quantité de tissu adipeux blanc est réduite, contrairement aux souris WT dont le poids est affecté par la prise de tamoxifène. Les poids des souris WT et MTM sont tous deux réduits par le tamoxifène à haute dose, cela pourrait être lié à une réduction de la prise alimentaire et pourrait expliquer pourquoi le traitement à haute dose n'améliore généralement pas la survie. Par ailleurs, il peut quelquefois provoquer des lésions pulmonaires dans des conditions spécifiques (Dorchies *et al.*, 2013a ; Maani *et al.*, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018e).

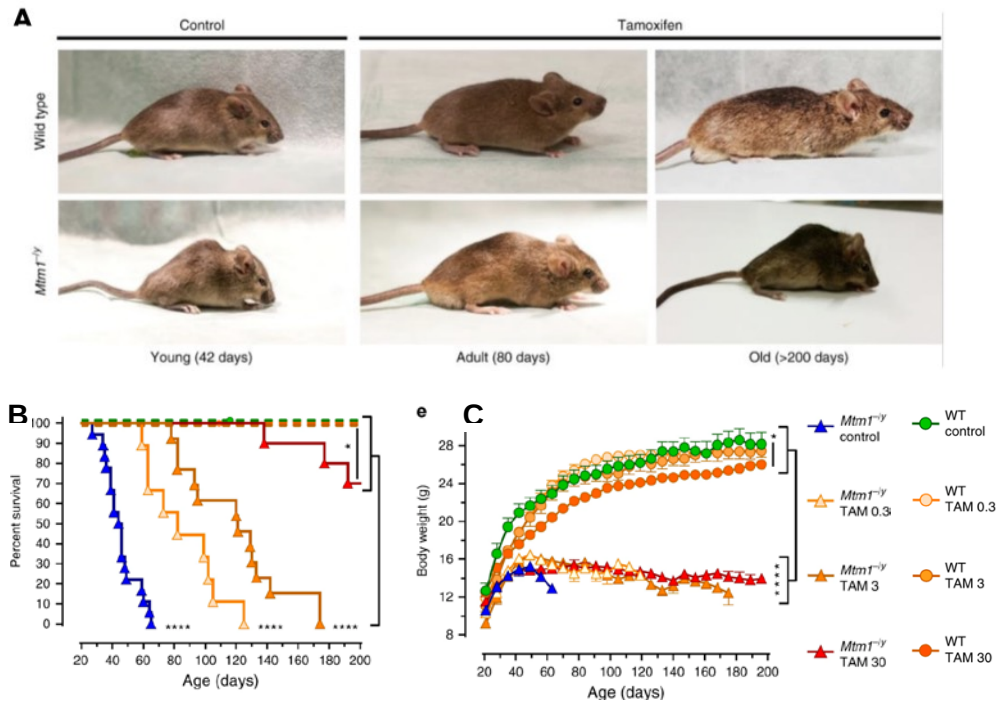


Figure 8 : Le tamoxifène réduit la myopathie myotubulaire et augmente la durée de vie de 45 à 290 jours (Gayi *et al*., 2018d).
Photographies de souris *wild-type* et myopathes illustrant la sévérité de la maladie chez les jeunes souris non traitées et la protection conférée par le tamoxifène chez les souris adultes et âgées **(A)**. Courbes de Kaplan-Meier montrant les effets des traitements sur les taux de survie des souris **(B)** : la mort prématurée des souris myopathes non traitées contraste avec l'espérance de vie de leurs compagnons de portée. Évolution du poids des souris **(C)** : le tamoxifène affecte le poids des souris *wild-type* mais pas des souris myopathes qui restent plus petites.
Mtm : myopathie myotubulaire et TAM : tamoxifène

Ensuite, le tamoxifène améliore la taille des muscles des postérieurs et du diaphragme.

De plus, le tamoxifène réduit la Dnm2 (qui inhibe l'activité de la myotubularine) grâce à une réduction des niveaux de ERα, PI3KC2B et desmine (qui contrôle le positionnement des noyaux et des mitochondries) et contrôle les niveaux de dysferline, restaure la myosine sarcomérique et normalise l'amplitude des flux calciques (Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018).

Le tamoxifène entraîne un changement dans les types de fibres de myosine qui pourrait refléter une amélioration du couplage excitation-contraction et des flux de calcium : il augmente le nombre de fibres de type 2B et réduit le nombre de fibres de types 1 et 2A (Sultana *et al.*, 2016 ; Maani *et al.*, 2018).

Enfin, le tamoxifène à forte dose restaure environ 42% du déficit en nombre de triades, structures clés pour la fonction musculaire, alors qu'une faible dose n'améliore pas ce déficit. Cela peut suggérer que le tamoxifène a des effets non liés au RE. Il faut donc garder à l'esprit que les résultats dépendent de la dose (Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018).

La **Figure 9** propose un mécanisme d'action du tamoxifène.

Même avec le traitement, la densité de noyaux anormalement positionnés (au centre) augmente chez les souris MTM vieillissantes. Lorsque le traitement est commencé à 14 jours, il restaure la taille des myofibres mais pas le pourcentage de noyaux centraux et, lorsque le traitement est commencé à 21 jours, il n'améliore ni la taille des fibres ni la nucléation centrale. Cela suggère que les anomalies de la structure et de la fonction musculaires peuvent être conduites par de multiples voies, impliquant par conséquent des approches thérapeutiques combinatoires. L'inhibition du système ubiquitine-protéasome pourrait empêcher le tamoxifène de diminuer les niveaux de Dnm2, ce qui suggère que le tamoxifène agit en augmentant la protéolyse (Nawaz *et al.*, 1999 ; Maani *et al.*, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018d).

Il s'agit donc d'un traitement potentiel prometteur car aucun traitement spécifique n'existe encore pour cette myopathie. En effet, le tamoxifène est sûr, bien toléré et peu coûteux. Dans une revue récente des essais cliniques portant sur environ 1 000 hommes atteints de cancer de la prostate, seuls 5% des patients souffrent de fatigue excessive, 2% de myalgies et 3% d'anomalies de la démarche. De rares cas de lésions pulmonaires graves chez des souris adultes sont également rapportés, mais à haute dose et à un stade avancé alors qu'un traitement à faible dose est efficace pour améliorer la survie et la fonction motrice et reflète plus fidèlement la dose humaine. Nous devons donc surveiller cet effet secondaire potentiel mais il n'aura certainement pas d'impact péjoratif pour une future application thérapeutique. De fait, le tamoxifène est un facteur de risque de fibrose pulmonaire liée à la radiothérapie (Bentzen *et al.*, 1996 ; Ahmed et Shahid, 2009 ; Wibowo *et al.*, 2016 ; Etori *et al.*, 2017 ; Maani *et al.*, 2018 ; Gayi *et al.*, 2018e ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018).
Il pourrait être utilisé en tant que traitement autonome ou en tant que traitement adjuvant (Maani *et al.*, 2018).

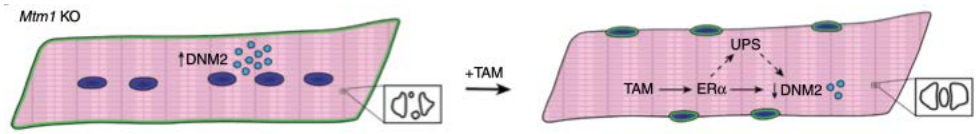


Figure 9 : Mécanisme d'action du tamoxifène dans le muscle des souris atteintes de la myopathie myotubulaire (Maani *et al.*, 2018).

Une autre étude prouve que le tamoxifène et le raloxifène ont des effets bénéfiques dans un modèle de souris de dystrophie musculaire liée à la *fukutin related protein* (FKRP). Les deux médicaments conduisent à une amélioration des muscles squelettiques, cardiaques et des fonctions respiratoires. Il est observé une diminution de la fibrose, de la dégénérescence des fibres et de la perte osseuse. Les effets secondaires dépendent de la dose et du sexe car le tamoxifène modifie les organes reproducteurs mâles. En effet, les canaux déférents, les testicules et les vésicules séminales deviennent atrophiques, voire disparaissent. Le médicament a moins d'effets sur la prostate. Le tamoxifène réduit de manière dose-dépendante le poids corporel des mâles en association avec une diminution de la masse musculaire squelettique. Les souris mâles traitées au tamoxifène sont également souvent affectées par une hernie importante due à une faiblesse de la paroi abdominale après une diminution du dépôt de graisse. Tous ces résultats suggèrent que le raloxifène pourrait être préféré pour le traitement des mâles dystrophiques. Mais des études complémentaires doivent être menées chez les hommes. La dose efficace de raloxifène est 10 fois plus élevée que celle du tamoxifène chez la femme mais il faut tenir compte du risque accru de cancer endométrial en cas de traitement prolongé par le tamoxifène. Après conversion, la dose équivalente de tamoxifène serait de 50 mg/jour pour une patiente de 60 kg. Il est suggéré que la réduction de la perméabilité de la membrane des fibres et du transport ionique atténue l'affection musculaire. De plus, l'inhibition de la protéine kinase C et de la voie NF-kB confère aux SERM une capacité anti-inflammatoire. Tous ces mécanismes agissent pour la réduction de la fibrose et de l'inflammation dans les dystrophies (Madaro *et al.*, 2012 ; Patel et Desai, 2014 ; Cho *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2018 ; Maani *et al.*, 2018).

On suppose que le tamoxifène peut déclencher et renforcer des voies alternatives et des mécanismes compensatoires qui pourraient collectivement améliorer la fonction musculaire dystrophique et la production de force, à des niveaux supérieurs à ceux du muscle WT. Ainsi, le tamoxifène pourrait être un traitement utile pour la DMD et la MTM mais peut-être aussi pour d'autres troubles musculaires (Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018c ; Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018).

4.2.6. Tolérance au glucose

Les injections de tamoxifène intrapéritonéales (et non les administrations orales par l'alimentation) ont tendance à améliorer la tolérance au glucose, indépendamment de la sensibilité à l'insuline. Nous pouvons expliquer cela par le fait que l'injection de tamoxifène conduit à des niveaux circulants de tamoxifène plus élevés et persistants, non observés avec l'administration orale. Cela suggère que les effets du tamoxifène peuvent être dose-dépendants et qu'une faible dose, même délivrée en injection intrapéritonéale, peut ne pas affecter la tolérance au glucose. Par conséquent, les protocoles doivent être révisés pour ne pas biaiser les interprétations (Ceasrine *et al.*, 2019 ; Guillaume *et al.*, 2019 ; Ahn *et al.*, 2019).

Comme le montre la **Figure 10**, la tolérance au glucose varie selon le sexe et la souche. Mais la persistance du tamoxifène dépend également de l'âge car les animaux âgés sont moins capables d'éliminer le médicament. Le tamoxifène persiste de manière différenciée selon les tissus puisqu'il a des effets aigus dans le cerveau alors qu'il agit pendant quatre semaines dans les îlots pancréatiques par exemple. De plus, le tamoxifène a des effets spécifiques au sexe sur la sécrétion d'insuline. Le tamoxifène augmente la sécrétion d'insuline et la translocation du *glucose transporter* 4 (GLUT4) indépendante de l'insuline mais n'améliore pas la sensibilité à l'insuline. Le médicament induit une hyperglycémie à jeun. En fait, le tamoxifène semble agir comme un agoniste des ER des cellules ß pour augmenter la sécrétion d'insuline en présence d'une faible concentration de glucose. En conclusion, le tamoxifène peut influencer la tolérance au glucose de manière spécifique au sexe et à la souche et différemment suivant le tissu (Al-Majed *et al.*, 2005 ; Deng *et al.*, 2008

; Riant *et al.*, 2009 ; Finan *et al.*, 2012 ; Reinert *et al.*, 2012 ; Valny *et al.*, 2016 ; Ahn *et al.*, 2019 ; Xu *et al.*, 2019 ; Ceasrine *et al.*, 2019).

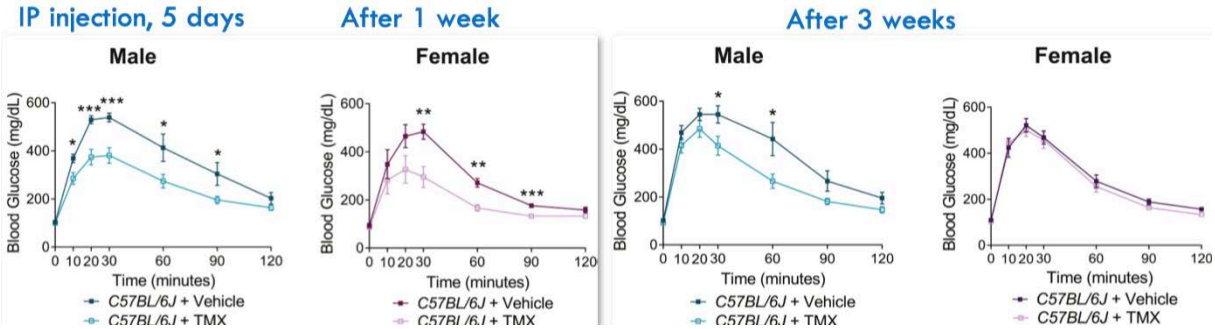


Figure 10 : Test de tolérance au glucose chez des souris après administration de tamoxifène (Ceasrine *et al.*, 2019).

Des études avancent que le tamoxifène modifie plus largement l'homéostasie énergétique : protection contre l'obésité, l'accumulation de masse grasse, l'intolérance au glucose et la résistance à l'insuline avec un régime riche en graisses chez des souris ovariectomisées (**Figure 11**), la réduction de la prise alimentaire et du poids corporel chez les rattes ovariectomisées ou l'augmentation du risque de diabète chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Le tamoxifène réduit également les taux de glucose et de cholestérol dans le plasma, le cholestérol des lipoprotéines de haute densité et les acides gras libres. Chez l'humain, l'influence du médicament sur le poids corporel est moins évidente (Wade et Heller, 1993 ; Wallen *et al.*, 2001 ; Lopez *et al.*, 2006 ; Lipscombe *et al.*, 2012 ; Sheean *et al.*, 2012 ; Lampert *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Ceasrine *et al.*, 2019 ; Ahn *et al.*, 2019).

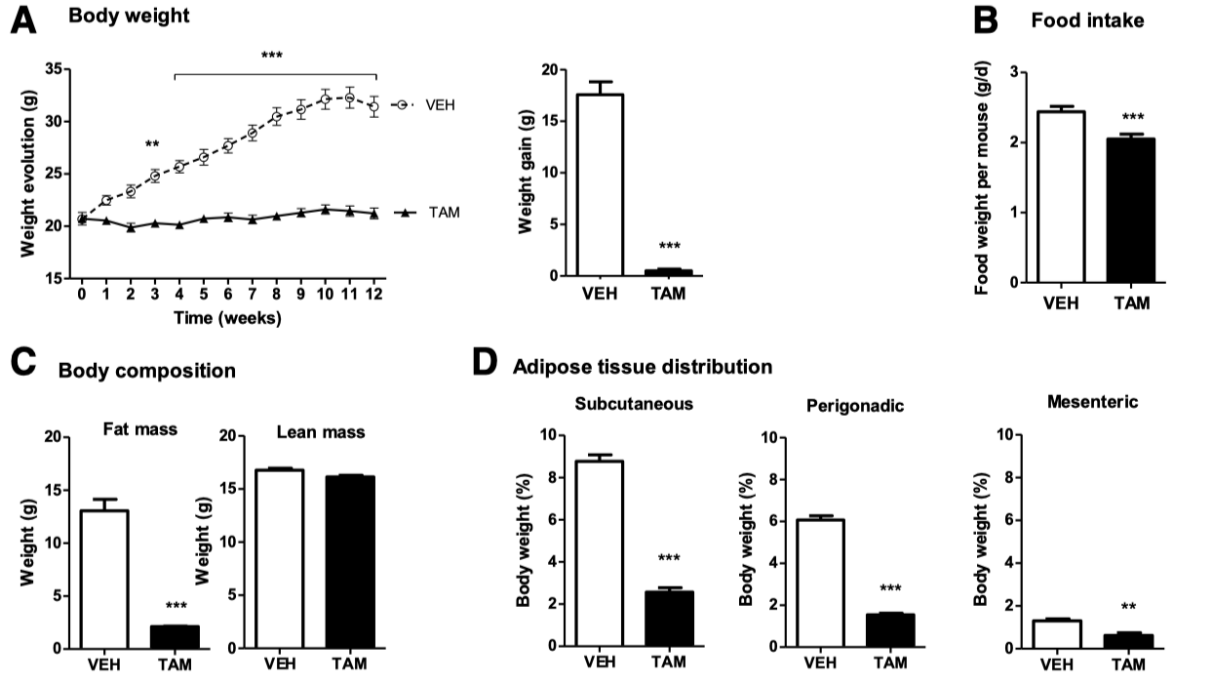


Figure 11 : Les effets du tamoxifène sur le poids corporel, la prise alimentaire, la masse grasse et le tissu adipeux chez des souris femelles *wild-type* ovariectomisées (Guillaume *et al.*, 2017).

4.2.6.1. Stéatose hépatique et stéatohépatite non alcoolique

Le tamoxifène a également des effets hépatoprotecteurs sur la stéatose, la stéatohépatite non alcoolique, la prise alimentaire, l'adiposité, la sensibilité à l'insuline, la résistance au glucose et l'insuffisance hépatique aiguë. Le tamoxifène diminue les taux plasmatiques d'ALAT et d'ASAT chez les souris atteintes de stéatohépatite non alcoolique ou de stéatose. Le tamoxifène augmente l'hépatokine anorexigène *growth differentiation factor 15* (Gdf15) qui assure ces protections métaboliques via l'ERα hépatocytaire. L'ERα hépatocytaire est nécessaire pour les effets du tamoxifène sur la prise alimentaire, l'homéostasie du glucose et la préservation de l'énergie. Gdf15 code pour une cytokine qui inhibe la prise alimentaire et le gain de poids corporel via une action sur les centres d'alimentation. Cependant, chez les souris WT, le tamoxifène diminue la prise énergétique probablement via une diminution de la prise alimentaire. Ainsi, la modulation d'ERα pour augmenter Gdf15 pourrait être efficace pour lutter contre l'obésité et les complications associées telles que le diabète de type 2 ou la stéatose hépatique non alcoolique (Wade et Heller, 1993 ; Lopez *et al.*, 2006 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Johnen *et al.*, 2007 ; Miyashita *et al.*, 2012 ; Lampert *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019).

Le tamoxifène prévient la stéatose induite par un régime riche en graisses par l'activation d'ERα dans les hépatocytes (Guillaume *et al.*, 2019).

Cela régule à la baisse l'expression de gènes lipogéniques clés et à la hausse d'autres gènes impliqués dans la dégradation du cholestérol par exemple. Cette régulation génique dépend de l'activation sélective d'AF-1 (Love *et al.*, 1992 ; Davies *et al.*, 2011 ; Abot *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019).

De plus, le tamoxifène augmente l'expression d'IGF-BP1, inversement corrélée à l'incidence du diabète de type 2 (Guillaume *et al.*, 2019).

Le tamoxifène a également des effets protecteurs contre les lésions hépatiques aiguës induites par les médicaments et les produits chimiques (Miyashita *et al.*, 2012 ; Yoshikawa *et al.*, 2012).

Toutes ces considérations offrent de nouvelles perspectives pour le traitement des complications liées à l'obésité (Guillaume *et al.*, 2017).

Des études récentes suggèrent que l'incidence de la stéatose induite par le tamoxifène est faible alors que de nombreuses observations cliniques ont rapporté la capacité du tamoxifène à aggraver la stéatose ou à induire une stéatohépatite non alcoolique chez des femmes traitées pour un cancer du sein. Dans les modèles de rongeurs, nous avons les mêmes résultats divergents : certaines études rapportent que le tamoxifène induit une stéatose par augmentation du stockage des acides gras tandis que d'autres rapportent ses effets protecteurs sur le foie et sur le métabolisme du glucose et des lipides. Dans les études où le tamoxifène est un protecteur du foie, il atténue la stéatose en diminuant l'inflammation hépatique (via une diminution du taux de TNFα) et les graisses accumulées (via une augmentation de la β-oxydation des acides gras). De plus, le tamoxifène augmente la régénération hépatique et inhibe l'hépatotoxicité. Des investigations supplémentaires sont donc nécessaires pour déterminer pourquoi les effets du tamoxifène diffèrent dans chaque condition entre les souris et les humains (Ke *et al.*, 1997 ; Reckless *et al.*, 1997 ; Murata *et al.*, 2000 ; Elefsiniotis *et al.*, 2004 ; Bruno *et al.*, 2005 ; Lelliott *et al.*, 2005 ; Goss *et al.*, 2009 ; Chowdhry *et al.*, 2010 ; Cole *et al.*, 2010 ; Miyashita *et al.*, 2012 ; Fromenty, 2013 ; Lampert *et al.*, 2013 ; Guillaume *et al.*, 2017 ; Guillaume *et al.*, 2019 ; Ceasrine *et al.*, 2019).

Cependant, les modifications métaboliques hépatiques pourraient également être dues aux effets du tamoxifène sur d'autres tissus chez les souris nourries avec un régime riche en graisses (Guillaume *et al.*, 2017).

En perspective, il serait intéressant de cibler d'autres types cellulaires comme le pancréas grâce à un conjugué glucagon-like peptide-1-œstrogène (Finan *et al.*, 2012 ; Guillaume *et al.*, 2019).

4.2.6.2. Lésions pancréatiques

En 2019, une étude suggère que le tamoxifène supprime la prolifération des cellules ß pancréatiques de manière spécifique, en fonction de la dose et du contexte génétique, sans affecter la survie des cellules et indépendamment de toute modification de l'homéostasie du glucose. De plus, le tamoxifène a une action de longue durée sur ces cellules (jusqu'à deux semaines). Ainsi, ces résultats suggèrent que les effets toxiques potentiels, inconnus jusqu'à présent, du tamoxifène sur la prolifération des cellules β chez les souris non diabétiques pourraient avoir biaisé les études utilisant des fonds génétiques spécifiques tels que C57Bl6. Par conséquent, les investigateurs doivent être prudents et développer des contrôles appropriés comme des cohortes sans tamoxifène ou l'utilisation du fond génétique 129S2 (Carboneau *et al.*, 2016 ; Ahn *et al.*, 2019).

4.2.7. Désordres neurodégénératifs

En régulant l'apoptose, les fonctions microgliales, l'excitotoxicité et la plasticité synaptique, le tamoxifène a des effets neuroprotecteurs. Ses effets bénéfiques sont mis à profit pour traiter les accidents vasculaires cérébraux ischémiques, les lésions de la moelle épinière et la dégénérescence des photorécepteurs rétiniens (Kimelberg *et al.*, 2000 ; Kimelberg *et al.*, 2003 ; Zhang *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2007 ; Wakade *et al.*, 2008 ; Tian *et al.*, 2009 ; Liu *et al.*, 2010 ; Kuo *et al.*, 2012 ; Tsai *et al.*, 2014 ; Colón et Miranda, 2016 ; Pandey *et al.*, 2016 ; Chen *et al.*, 2019).

Tout d'abord, le tamoxifène améliore la mémoire et pourrait être neuroprotecteur dans le cerveau vieillissant car il protège de la toxicité induite par l'amyloïde ß dans une lignée cellulaire hippocampique et du risque vasculaire, réduit les dommages cellulaires liés au stress oxydatif et augmente la densité dendritique des neurones pyramidaux de couche III, chez la souris et le rat. Cela pourrait donc être une piste très intéressante pour le traitement de la maladie d'Alzheimer. Le tamoxifène semble pouvoir inverser la perte de mémoire à médiation anti-cholinergique chez l'Homme. Le tamoxifène améliore la mémoire via une diminution du métabolisme de la dopamine (il stimule sa libération) et une augmentation du taux d'acétylcholine. Cependant, les œstrogènes ont peu d'effets bénéfiques lorsque les symptômes sont déjà installés et le tamoxifène et ses métabolites sont incapables d'inverser les déficits de mémoire associés à la privation d'œstrogènes (Chaurasia *et al.*, 1998 ; Skoog et Gustafson, 1999 ; Gursoy *et al.*, 2002 ; Bascuñan-Castillo *et al.*, 2004 ; O'Neill *et al.*, 2004 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Velázquez-Zamora *et al.*, 2012 ; Newhouse *et al.*, 2013 ; Zabihi *et al.*, 2014 ; Pandey *et al.*, 2016).

De plus, l'œstrogénothérapie chez les femmes ménopausées réduit de 30% le risque de démence. Les SERM peuvent avoir un rôle préventif dans les troubles neurodégénératifs liés à l'âge car le raloxifène réduit de 33% le risque de déficience cognitive légère et de 50% le risque de maladie d'Alzheimer chez les patients traités pour ostéoporose (Yaffe *et al.*, 1998 ; LeBlanc *et al.*, 2001 ; Yaffe *et al.*, 2005 ; M. N. Singh *et al.*, 2008).

Ainsi, le tamoxifène pourrait être considéré comme un traitement potentiel de la maladie d'Alzheimer chez les femmes ménopausées et il a un rôle protecteur dans la prévention de la maladie et d'autres troubles neurodégénératifs (Skoog et Gustafson, 1999 ; O'Neill *et al.*, 2004 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Pandey *et al.*, 2016).

Le tamoxifène modifie également l'activité locomotrice, l'anxiété et l'interaction sociale de la souris (Li *et al.*, 2020).

Ensuite, le tamoxifène supprime la neuropathie induite par la chimiothérapie (concernant plus précisément le paclitaxel, la vincristine, l'oxaliplatine et le bortézomib) et l'allodynie au froid ou mécanique qui s'en suit en inhibant la protéine kinase C. Le tamoxifène améliore également l'effet antitumoral du paclitaxel dans un modèle de cancer du sein. La dose administrée de 30 mg/kg correspond à la concentration minimale chez l'Homme (Luo *et al.*, 1997 ; Matsuoka *et al.*, 2009 ; Tsubaki *et al.*, 2015 ; Tsubaki *et al.*, 2018).

De plus, le tamoxifène assure une neuroprotection (fonctions cognitives et récupération de la mémoire) chez les souris mâles après hypoperfusion chronique et est l'un des trois médicaments ayant un bénéfice significatif dans la sclérose latérale amyotrophique. En effet, le tamoxifène est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et de s'accumuler dans le cerveau ce qui facilite son action. Le médicament réduit la dégradation de la substance blanche et la taille de l'infarctus. De plus, il diminue l'activation de la microglie, la mort cellulaire des oligodendrocytes et la réponse inflammatoire et stimule la prolifération et la différenciation des cellules précurseurs d'oligodendrocytes et la remyélinisation après une hypoperfusion chronique. HIF-1A est également réduit par le tamoxifène en cas de sténose bilatérale de l'artère carotide. Le tamoxifène réduirait la formation de protéines peroxynitrées et d'oxyde nitrique synthase, réduirait les fuites à travers la membrane interne, piégerait les espèces réactives de l'oxygène et altèrerait la libération des acides aminés excitateurs. Mais, le tamoxifène est également anti-oxydant, anti-apoptotique et anti-gliotique (Wiseman *et al.*, 1993 ; Biegon *et al.*, 1996 ; Rutledge *et al.*, 1998 ; Phillis *et al.*, 1998 ; Osuka *et al.*, 2001 ; Obata et Kubota, 2001 ; Feustel *et al.*, 2004 ; Feng *et al.*, 2004 ; Suuronen *et al.*, 2005 ; Zhang *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2007 ; Tapia-Gonzalez *et al.*, 2008 ; Tian *et al.*, 2009 ; Ismailoğlu *et al.*, 2010 ; Cao *et al.*, 2010 ; Guptarak *et al.*, 2014 ; Mosquera *et al.*, 2014 ; Wei et Ma, 2014 ; de la Torre Valdovinos *et al.*, 2016 ; Buelna-Chontal *et al.*, 2016 ; Pavón *et al.*, 2017 ; Chen *et al.*, 2019).

L'utilisation à court terme du tamoxifène pour le traitement de maladies neurologiques est reconnue comme très sûre (Mosquera *et al.*, 2014 ; Chen *et al.*, 2019).

Le tamoxifène est également indiqué pour le traitement du trouble bipolaire (Yildiz *et al.*, 2008 ; Talaei *et al.*, 2016 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018).

Le tamoxifène aurait aussi une indication lors de tumeurs du système nerveux central (Michalski *et al.*, 2010 ; Maani *et al.*, 2018).

La lévodopa ou les agonistes de la dopamine peuvent rétablir une transmission normale de la dopamine dans la maladie de Parkinson. Mais des fluctuations motrices et des dyskinésies peuvent apparaître après une administration à long terme. La protéine kinase C semble accélérer ces modifications. Le tamoxifène peut agir comme un antagoniste de la protéine kinase C et atténuer les dyskinésies jusqu'à 61% (Robertson *et al.*, 1982 ; Miyawaki *et al.*, 1997 ; Oh *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008).

La sclérose latérale amyotrophique est une maladie neurodégénérative idiopathique et mortelle provoquant la mort des motoneurones d'environ deux personnes sur 100 000. Les signes cliniques apparaissent vers 60 ans et la durée de survie est d'environ deux à quatre ans. Les signes cliniques sont les suivants : paralysie irréversible (atrophie des muscles

squelettiques et respiratoires), dysfonctionnements respiratoires, crampes, labilité émotionnelle, dysfonctionnement cognitif de type lobe frontal et perte de poids. Le riluzole est le seul médicament approuvé par la FDA qui augmente la durée de survie de deux à trois mois. L'antioxydant edaravone est également efficace (Valko et Ciesla, 2019).

4.2.8. Maladies auto-immunes

Les SERM peuvent être des agents thérapeutiques potentiels contre la sclérose en plaques. De plus, les SERM sont efficaces contre le lupus car le tamoxifène, par exemple, inhibe l'activation des cellules B (Wu *et al.*, 2000 ; Elloso *et al.*, 2005 ; M. N. Singh *et al.*, 2008).

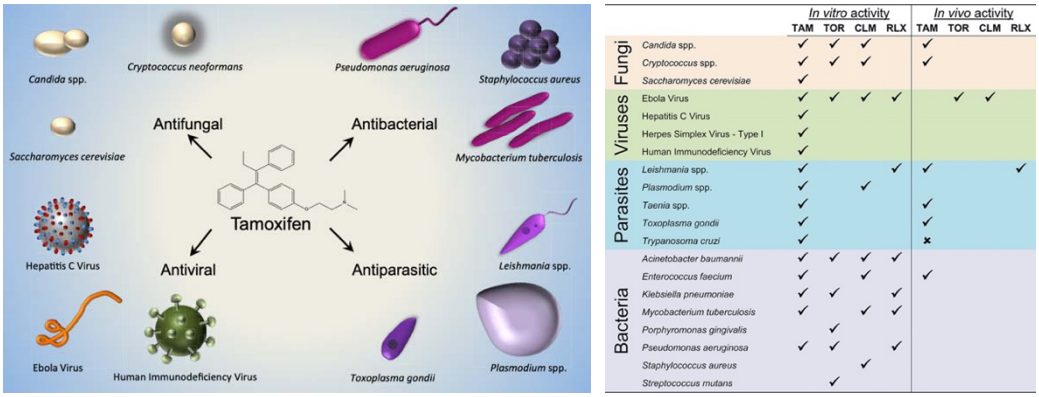
Les œstrogènes peuvent également avoir des propriétés protectrices contre l'encéphalomyélite auto-immune (Morales *et al.*, 2006 ; M. N. Singh *et al.*, 2008).

4.2.9. Protection contre la toxicité médicamenteuse

Le tamoxifène, tout comme la ciclosporine A, inhibe les dommages mitochondriaux causés par le disulfiram. Le disulfiram est un médicament utilisé pour le traitement de l'alcoolisme ou du cancer qui peut provoquer des lésions cardiaques et une hépatotoxicité. Le tamoxifène s'oppose à la perméabilité excessive de la membrane interne avec libération de Ca^{2+}, au gonflement mitochondrial, à la production de peroxyde d'hydrogène et à la diminution du gradient électrique transmembranaire. De plus, le médicament empêche le détachement du cytochrome c de la membrane interne. Il est suggéré que le tamoxifène assure une protection contre le stress oxydatif induit par le disulfiram grâce à ses propriétés antioxydantes (Custodio *et al.*, 1998 ; Amuchastegui *et al.*, 2014 ; Watts *et al.*, 2014 ; Tawari *et al.*, 2015 ; Buelna-Chontal *et al.*, 2016 ; Pavón *et al.*, 2017 ; Santos *et al.*, 2017).

4.2.10. Infectiologie

Indépendamment des ER, le tamoxifène lutte contre de nombreux micro-organismes comme des bactéries, des parasites, des champignons ou des virus comme le montre la **Figure 12**. Ses propriétés anti-infectieuses sont probablement liées à sa structure amphipathique, lui permettant de s'accumuler dans le cerveau pour le traitement des méningites à cryptocoques (Lien *et al.*, 1991 ; Dolan *et al.*, 2009 ; Butts *et al.*, 2014 ; Montoya et Krysan, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Cham *et al.*, 2019). En infectiologie, les doses sont 10 fois supérieures à celles utilisées pour le traitement du cancer du sein.



		In vitro activity				*In vivo* activity			
		TAM	TOR	CLM	RLX	TAM	TOR	CLM	RLX
Fungi	*Candida* spp.	✓	✓	✓		✓			
	Cryptococcus spp.	✓	✓	✓		✓			
	Saccharomyces cerevisiae	✓							
Viruses	Ebola Virus	✓	✓	✓	✓		✓	✓	
	Hepatitis C Virus	✓							
	Herpes Simplex Virus - Type I	✓							
	Human Immunodeficiency Virus	✓							
Parasites	*Leishmania* spp.	✓			✓	✓			✓
	Plasmodium spp.	✓		✓					
	Taenia spp.	✓				✓			
	Toxoplasma gondii	✓				✓			
	Trypanosoma cruzi	✓				✖			
Bacteria	*Acinetobacter baumannii*	✓	✓	✓	✓				
	Enterococcus faecium	✓		✓		✓			
	Klebsiella pneumoniae	✓	✓		✓				
	Mycobacterium tuberculosis	✓		✓	✓				
	Porphyromonas gingivalis		✓						
	Pseudomonas aeruginosa	✓	✓		✓				
	Staphylococcus aureus			✓					
	Streptococcus mutans		✓						

Figure 12 : Portée de l'activité du tamoxifène et de ses analogues sur les micro-organismes (Montoya et Krysan, 2018).
CLM : clomifène, RLX : raloxifène, TAM : tamoxifène et TOR : torémifène.

Cependant, il faut bien noter que les effets bénéfiques du tamoxifène et de ses analogues sont majeurs *in vitro* mais bien moindres *in vivo*. Les considérations qui vont suivre s'appliquent donc principalement *in vitro*.

4.2.10.1. Activité antifongique

L'activité antifongique du tamoxifène contre *Saccharomyces cerevisiae* a été rapportée pour la première fois dans les années 1980, contre *Candida albicans* dans les années 1990 et contre *Cryptococcus neoformans* dans les années 2000. Le torémifène est également actif contre *Crytpococcus neoformans*. En revanche, le 4-hydroxytamoxifène et l'endoxifène sont nettement plus efficaces contre *Cryptococcus neoformans var. grubii*. Il peut exister différents mécanismes pour expliquer cette activité antifongique entraînant la lyse cellulaire : inhibition de la peroxydation lipidique, modification de la fluidité membranaire et antagonisme de la calmoduline conduisant à une inhibition de l'activation de la calcineurine. La calmoduline est une protéine de liaison au calcium. L'association du tamoxifène, de ses analogues ou de ses métabolites avec d'autres antifongiques est parfois efficace, plus active, voire indispensable (Wiseman *et al.*, 1989 ; Beggs, 1993 ; Wiseman *et al.*, 1993 ; Beggs, 1994 ; Wiseman, 1994 ; Dolan *et al.*, 2009 ; Butts *et al.*, 2014 ; Montoya et Krysan, 2018).

4.2.10.2. Activité antivirale

L'activité antivirale du tamoxifène a été décrite pour le virus de l'immunodéficience humaine, le virus de l'hépatite C, le virus de l'herpès simplex, Ebola et le *vesicular stomatitis virus* (Zheng *et al.*, 2014 ; Madrid *et al.*, 2015 ; Montoya et Krysan, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

Concernant le virus de l'immunodéficience humaine, le tamoxifène semble perturber la réplication virale dans les lymphocytes infectés en inhibant la protéine kinase C et en interférant avec la voie NF-kB (Laurence *et al.*, 1990 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

Concernant le virus de l'hépatite C, le tamoxifène inhibe l'activation de l'ARN polymérase et l'attachement, l'entrée, la réplication et la sortie du virus (Watashi *et al.*, 2007 ; Fukazawa *et al.*, 2012 ; Murakami *et al.*, 2013 ; Ulitzky *et al.*, 2016 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

Concernant le virus herpès simplex 1, le tamoxifène inhibe la fusion virale, la pénétration et la translocation cellulaire en bloquant un canal chlorure (Zheng *et al.*, 2014 ; Montoya et Krysan, 2018).

Concernant le virus Ebola, le torémifène, le clomiphène, l'enclomiphène et les stéréoisomères du zuclomiphène sont des traitements efficaces. Le clomifène et le torémifène semblent inhiber l'entrée du virus de manière dose-dépendante. Il est suggéré que les combinaisons entre le torémifène ou le clomiphène et d'autres molécules fournissent une activité synergique (Johansen *et al.*, 2013 ; De Clercq, 2015 ; Bishop, 2015 ; Madrid *et al.*, 2015 ; Nelson *et al.*, 2016 ; McCarthy *et al.*, 2016 ; Sun *et al.*, 2017 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Dyall *et al.*, 2018).

Concernant le *vesicular stomatitis virus*, le tamoxifène inhibe la réplication de manière dose-dépendante et améliore ainsi la survie après infection. L'inhibition de la réplication nécessite l'interféron. Un vaccin recombinant à base de *vesicular stomatitis virus* contre le virus Ebola a été créé. Il est sûr et efficace, ce qui suggère qu'il pourrait être développé pour d'autres virus. Par ailleurs, les *vesicular stomatitis virus* recombinants sont également efficaces en

virothérapie oncolytique stimulant l'apoptose des cellules tumorales infectées et renforçant les réponses immunitaires antitumorales. Mais la cinétique de réplication élevée du *vesicular stomatitis virus* pourrait entraîner une réplication incontrôlée et une transmission potentielle, notamment chez les patients dont le système immunitaire est faible. Dans ces cas, le tamoxifène pourrait être employé pour limiter la réplication du *vesicular stomatitis virus* pendant la thérapie oncolytique de ces patients (Melzer *et al.*, 2017 ; Bishnoi *et al.*, 2018 ; Suder *et al.*, 2018 ; Cham *et al.*, 2019).

4.2.10.3. Activité antibactérienne

Le tamoxifène inhibe le trafic rétrograde des *shiga toxins* 1 et 2 (STx) et protège de la toxicose létale. Ce phénomène est indépendant des ER mais consiste en une augmentation du pH endolysosomal (le médicament agit comme une base faible et est un activateur d'autophagie et un composé lysosomotrope c'est-à-dire qu'il provoque un stress lysosomal et déclenche la biogenèse lysosomale) qui, à terme, inhibe le transport précoce de l'endosome vers le Golgi. Ainsi, le tamoxifène améliore la survie d'une souris injectée avec une dose létale de STx1 ou 2 produites par *Escherichia coli* et ce sans induire de cytotoxicité. En effet, les infections à *E. coli* produisant des STx sont une cause majeure d'infections alimentaires mortelles et provoquent de graves lésions rénales pour lesquelles il n'existe pas encore de traitement. Le torémifène et le raloxifène protègent également contre STx2 sans induire de cytotoxicité grâce à leurs propriétés de bases faibles. Par exemple, un traitement au manganèse a montré son efficacité en bloquant le transport de STx1 et protège ainsi les cellules de souris contre la toxicose létale de STx1. Malheureusement, STx2, qui est environ 400 fois plus toxique que STx1 et responsable de la gravité de la maladie chez l'Homme, est insensible au manganèse. Ensuite, la bafilomycine A1, un inhibiteur de la V-ATPase, supprime le transport de STx2B vers l'appareil de Golgi. La chloroquine, composé lysosomotrope et inhibiteur de l'autophagie, est également rapportée pour augmenter le pH endolysosomal et ainsi inhiber le transport de STx2B mais avec un effet inhibiteur plus faible (Tesh *et al.*, 1993 ; Mead *et al.*, 1999 ; Altan *et al.*, 1999 ; Chen *et al.*, 1999 ; Boerlin *et al.*, 1999 ; Obrig, 2010 ; Mohawk et O'Brien, 2011 ; Huotari et Helenius, 2011 ; Mukhopadhyay et Linstedt, 2012 ; Mukhopadhyay *et al.*, 2013 ; Lu *et al.*, 2017 ; Selyunin *et al.*, 2019).

Le tamoxifène et le clomifène sont bactériolytiques pour *Enterococcus faecium* et *Acinetobacter baumannii*. Concernant les effets du tamoxifène sur l'infection à *Enterococcus faecium*, il augmente la survie de manière dose-dépendante (Jacobs *et al.*, 2013 ; Montoya et Krysan, 2018).

Ensuite, le tamoxifène, le clomifène, le 4-hydroxytamoxifène et le raloxifène sont efficaces contre *Mycobacterium tuberculosis*. Le tamoxifène diminue la charge de *Mycobacterium tuberculosis* dans les macrophages de manière dose-dépendante. Le torémifène est un traitement potentiel des infections à *Porphyromonas gingivalis* et *Streptococcus mutans* et il inhibe la croissance bactérienne et la formation de biofilms sur le titane de manière dose-dépendante (Jang *et al.*, 2015 ; Gerits *et al.*, 2017 ; Montoya et Krysan, 2018).

Les combinaisons *in vitro* ont prouvé leur efficacité : le clomifène avec les céphalosporines ou les ß-lactamines agissent contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, le tamoxifène, le torémifène ou le raloxifène avec la polymyxine B sont efficaces contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Acinetobacter baumannii*, le torémifène et la polymyxine B inhibent la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*, endommagent et dépolarisent la membrane cytoplasmique et augmentent les espèces réactives de l'oxygène cellulaire et le tamoxifène avec d'autres médicaments rétablit la sensibilité des isolats résistants (Farha *et al.*, 2015 ; Hussein *et al.*, 2017 ; Montoya et Krysan, 2018).

Il est suggéré que le tamoxifène perturbe la membrane, entraînant une fuite du contenu cytosolique et la mort cellulaire. Le tamoxifène, le 4-hydroxytamoxifène et le raloxifène diminuent fortement le potentiel membranaire de *Mycobacterium tuberculosis* et d'autres bactéries. Le clomifène est un inhibiteur de la biogenèse de la paroi cellulaire bactérienne. Le torémifène perméabilise la membrane, provoque des dommages membranaires et se lie au lipopolysaccharide chez *Porphyromonas gingivalis* par exemple (Luxo *et al.*, 2003 ; Feng *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2014 ; Gerits *et al.*, 2017 ; Montoya et Krysan, 2018).

4.2.10.4. Activité antiparasitaire

Le tamoxifène est efficace contre *Leishmania spp*, *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium spp*, *Trypanosoma cruzi* et *Taenia solium* (Montoya et Krysan, 2018).

Concernant *Leishmania spp*, un traitement quotidien de 20 mg/kg pendant 15 jours permet une diminution de la taille des lésions, de la charge parasitaire et du développement des ulcères et une augmentation de la survie. L'association entre le tamoxifène et l'amphotéricine B entraîne une diminution plus importante de la taille des lésions et de la charge parasitaire. Une application topique de tamoxifène avec de l'antimoniate de méglumine a également été testée et conduit à une réduction de la taille des lésions et de la charge parasitaire. Il est suggéré que le tamoxifène modifie la physiologie membranaire ou induit l'apoptose de manière dose-dépendante (Danilo C. Miguel *et al.*, 2008 ; D. C. Miguel *et al.*, 2008 ; Trinconi *et al.*, 2014 ; Trinconi *et al.*, 2016 ; Doroodgar *et al.*, 2016 ; Montoya et Krysan, 2018 ; Trinconi *et al.*, 2018).

Concernant *Toxoplasma gondii*, un traitement quotidien de 1,2 µmol de tamoxifène pendant trois jours réduit la formation de kystes cérébraux de 50% chez la souris. Il est suggéré que le tamoxifène interfère avec le contact initial et l'adhésion à la cellule hôte en induisant la xénophagie et la destruction autophagique, conduisant à une diminution de la réplication et de l'invasion du parasite (Pung et Luster, 1986 ; Dittmar *et al.*, 2016 ; Montoya et Krysan, 2018).

Une semaine de prophylaxie suivie de huit semaines de traitement au tamoxifène réduit la charge de *Taenia crassiceps* de 50 à 80%. On note une augmentation de l'IL-2 et de l'IL-4 et le tamoxifène semble perturber le processus de reproduction du parasite dépendant de l'E2. Chez le hamster, le tamoxifène empêche l'établissement de l'infection intestinale par le ver adulte dans 70% des cas. En outre, le tamoxifène est également cysticide pour *Taenia crassiceps* et *Taenia solium*, inhibe l'évagination du scolex des cysticerques de *Taenia solium* de manière dose-dépendante et empêche la différenciation du cysticerque en ver adulte (Vargas-Villavicencio *et al.*, 2007 ; Escobedo *et al.*, 2013 ; Montoya et Krysan, 2018).

Le clomifène et le tamoxifène semblent inhiber la croissance de *Plasmodium falciparum* de 80% de manière dépendante du temps. De plus, ils empêchent le développement du parasite dans le foie lorsqu'ils sont administrés de manière prophylactique. Il est suggéré que le tamoxifène interagit avec la voie de biosynthèse des sphingolipides. Mais il existe des médicaments antipaludiques plus actifs, de sorte que l'utilisation du tamoxifène et du clomifène pour cette maladie n'a pas été étudiée davantage (Staines *et al.*, 2004 ; Prudêncio *et al.*, 2009 ; Piñero *et al.*, 2018 ; Montoya et Krysan, 2018).

4.2.11. Inflammation

Les propriétés anti-inflammatoires du tamoxifène sont indiquées pour le traitement de la thyroïdite de Riedel et de la mésentérite sclérosante idiopathique (De *et al.*, 2001 ; Dabelic *et*

al., 2003 ; Akram *et al.*, 2007 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Wu *et al.*, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.2.12. Développement embryonnaire, croissance et puberté précoce

Un retard de développement, un développement anormal de la tête, une perte fœtale et une hémorragie intra-utérine chez les embryons de souris gravides ont été rapportés après une injection intrapéritonéale de tamoxifène alors que ceux qui ont reçu un gavage oral de tamoxifène semblaient normaux (Hayashi et McMahon, 2002 ; Vogt *et al.*, 2008 ; Ahn *et al.*, 2019).

Le tamoxifène a été utilisé comme alternative à l'hormone de croissance chez les garçons de petite taille et a amélioré la taille adulte prédite chez les filles atteintes du syndrome de McCune-Albright responsable d'une puberté précoce (Eugster *et al.*, 2003 ; Kreher *et al.*, 2005 ; de G Buff Passone *et al.*, 2015 ; Neyman et Eugster, 2017 ; Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

4.3. Effets indésirables

Les effets indésirables du Nolvadex® (nom déposé du tamoxifène en France) sont présentés dans le **Tableau 1** suivant (Yang *et al.*, 2013 ; ANSM *et al.*, 2020) :

Fréquence	Effets secondaires	Commentaires
Très fréquent ≥ 1/10	Faiblesse	
	Rétention hydrosodée	
	Bouffées de chaleur	La plus fréquente avec plus de 80% des femmes (Stearns *et al.*, 2002 ; Goetz et Loprinzi, 2003 ; Klein *et al.*, 2013)
	Nausée	Retour au fractionnement des doses
	Éruptions cutanées, urticaire	
	Ménométrorragies et leucorrhée	
Fréquent de ≥ 1/100 à < 1/10	Fibromes utérins	
	Anémie	
	Réactions d'hypersensibilité	
	Événements vasculaires cérébraux ischémiques, maux de tête, vertiges, troubles sensoriels (y compris paresthésie, dysesthésie, dysgueusie et neuropathies sensorielles périphériques)	
	Cataractes, rétinopathie	Se reporter à la section **4.3.3. Vue**
	Événements thromboemboliques (y compris thrombose veineuse profonde, complications microvasculaires au niveau du lambeau de reconstruction et embolie pulmonaire)	Se reporter à la section **4.3.2.**
	Vomissement, diarrhée, constipation	
	Enzymes hépatiques anormales, stéatose hépatique	
	Alopécie	
	Crampes des membres inférieurs, myalgie	
	Prurit vulvaire, épaississement de l'endomètre (y compris hyperplasie et polypes)	
	Hypertriglycéridémie	
	Arthralgie	
Peu fréquent de ≥ 1/1 000 à < 1/100	Cancer endométrial	Se reporter à la section **4.3.1. Cancers gynécologiques**
	Thrombocytopénie, leucopénie	
	Hypercalcémie (chez les patients avec des métastases osseuses)	Si l'hypercalcémie devient trop importante et ingérable chez les patientes présentant des métastases osseuses, le tamoxifène doit être arrêté (Mulvenna *et al.*, 1999 ; Farrar et Jacobs, 2020)
	Pneumonie interstitielle	
	Pancréatite aiguë	
	Cirrhose hépatique	
Rare de > 1/10 000 à < 1/1 000	Sarcome utérin (en particulier les tumeurs mullériennes mixtes malignes)	Se reporter à la section **4.3.1. Cancers gynécologiques**
	Neutropénie, agranulocytose	
	Névrite optique	Peut se compliquer d'une cécité uni- ou bilatérale
	Modifications de la cornée, neuropathie optique	
	Hépatite aiguë, cholestase, insuffisance hépatocellulaire, nécrose hépatique	Évolution fatale dans certains cas (Heery *et al.*, 2018)
	Angiœdème (réaction allergique), syndrome de Steven Johnsons, vascularite cutanée, pemphigoïde bulleuse, érythème multiforme	
	Croissance tumorale, aggravation des douleurs liées à la tumeur, endométriose, augmentation du volume des kystes ovariens, polypes vaginaux	
Très rare < 1/10 000	Lupus érythémateux cutané	
	Porphyrie cutanée tardive	
	Résurgence des réactions aux radiations	

Tableau 1 : Effets indésirables du Nolvadex (ANSM *et al.*, 2020).
Les fréquences ont été calculées à partir du nombre d'effets indésirables signalés dans une vaste étude de phase III portant sur 9 366 patientes ménopausées atteintes d'un cancer du sein opérable et traitées pendant cinq ans.

Les autres effets indésirables courants du traitement par le tamoxifène sont les suivants : pertes vaginales, œdème périphérique, hypertension, changement d'humeur, douleur, dépression, modifications de la peau, arthrite, lymphœdème ou pharyngite. Il est possible que le tamoxifène provoque également des saignements anormaux (polypes, fibrose utérine), des insomnies, une modification du poids, des douleurs abdominales, des indigestions, des infections urinaires, des douleurs dorsales, des ostéalgies, des

dysfonctionnements sexuels et des fractures. La stéatose hépatique est un effet secondaire plus rare (Henry *et al.*, 2008 ; Yang *et al.*, 2013 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Sauter, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020 ; « Tamoxifen (citrate) 10 mg cp (Nolvadex®) », 2020).

Le tamoxifène pouvant provoquer une forte augmentation des concentrations plasmatiques d'E2, les femmes non ménopausées sont exposées à un risque de maintien de la fertilité et de grossesse (théoriquement contre-indiquée lors de cancer mammaire). Il est contre-indiqué en cas de kystes fonctionnels de l'ovaire, de règles irrégulières, d'aménorrhée et de ménométrorragies. Ces effets secondaires peuvent nécessiter la mise au repos de l'ovaire. De plus, l'expérimentation animale ayant rapporté que le tamoxifène est tératogène, la possibilité d'une grossesse doit être écartée avant toute prescription et jusqu'à deux mois après l'arrêt du traitement (« Tamoxifen (citrate) 10 mg cp (Nolvadex®) », 2020 ; ANSM *et al.*, 2020).

En cas de reconstruction mammaire microchirurgicale retardée, Nolvadex® peut augmenter le risque de complications au niveau microvasculaire du lambeau (« Tamoxifen (citrate) 10 mg cp (Nolvadex®) », 2020).

De plus, il a été observé des anomalies squelettiques lors d'études sur les rats. En effet, aux très faibles doses nécessaires pour permettre l'implantation de l'ovule fécondé, la progéniture des rats a développé une déformation appelée "côtes tordues". Cependant, aucun effet de ce type n'a pu être observé chez les lapins ou les primates et il a été conclu par la suite que la déformation était causée par une contraction mécanique puisque la molécule limite également la croissance utérine et qu'elle ne pouvait donc pas être considérée comme un véritable effet tératogène (Quirke, 2017).

4.3.1. Cancers gynécologiques

Une augmentation de la fréquence des anomalies de l'endomètre est notée, comme les atrophies pseudo-hyperplastiques, les hypertrophies, les polypes ou les cancers, et doivent être recherchées lorsque des métrorragies sont signalées (ANSM *et al.*, 2020).

Le tamoxifène peut augmenter le risque de cancer endométrial d'environ deux à sept fois au cours d'une exposition chronique (>2 ans) de traitement adjuvant ou préventif, à une faible fréquence et surtout chez les femmes ménopausées présentant des affections préexistantes de l'utérus. Les facteurs de risque les plus importants pour le cancer endométrial de type 1 sont les œstrogènes endogènes et exogènes. Les autres facteurs de risque sont les suivants : la durée du traitement, la dose cumulée (médiane de 29g), la prise d'œstrogènes, la nulliparité, des ménarches précoces, une ménopause tardive, un âge avancé, une masse corporelle plus élevée, des saignements anormaux et un cancer du sein. Précisons que la dose cumulée est un facteur de risque de cancer endométrial associé au tamoxifène tandis que la dose quotidienne n'en est pas un. Pour les patientes pré-ménopausées, le principal facteur de risque de cancer endométrial est un saignement utérin anormal, tandis que pour les patientes pré-ménopausées traitées au tamoxifène contre le cancer du sein, les facteurs de risque sont un saignement utérin anormal, la chimiothérapie et une augmentation de l'épaisseur de l'endomètre, notamment supérieure à 12 mm. En effet, les patientes ménopausées atteintes d'un cancer du sein ont une prévalence de 0,6% de cancer endométrial, indépendamment de la prise ou non de tamoxifène. En outre, l'utilisation du tamoxifène est associée à des types de cancer endométrial plus agressifs et de mauvais pronostic. Le tamoxifène augmente l'épaisseur de l'endomètre avec une hypertrophie de la glande sous-endométriale. Il est donc important de détecter et de traiter les maladies endométriales avant de commencer le traitement au tamoxifène et de prévenir les patientes du risque de cancer endométrial associé au tamoxifène sans surveillance systématique des

femmes asymptomatiques sous tamoxifène. En effet, l'échographie transvaginale de routine ne présente pas d'avantages mais plutôt des effets secondaires comme une anxiété inutile, un surtraitement des endométrioses asymptomatiques et une réduction de l'adhésion au tamoxifène (Garuti *et al.*, 2007 ; Davies *et al.*, 2011 ; Hu *et al.*, 2015 ; Rosell *et al.*, 2017 ; Fleming *et al.*, 2018 ; Li *et al.*, 2018 ; van Weelden *et al.*, 2019 ; Emons *et al.*, 2020 ; Wijayabahu *et al.*, 2020 ; Sharma, 2020 ; Lee *et al.*, 2020 ; Neven *et al.*, 2020).

Le tamoxifène et le raloxifène stimulent le carcinome de l'endomètre et le sarcome utérin mais le raloxifène moins que le tamoxifène. De plus, l'hyperplasie utérine (facteur de risque de cancer endométrial), avec ou sans atypie, est moins fréquente sous traitement au raloxifène. Le raloxifène n'augmente pas le risque de malignité utérine. Chez les femmes traitées au raloxifène, on rapporte 25% de moins de cas de cancers de l'utérus. Ensuite, il y a statistiquement plus d'hystérectomies pratiquées chez les femmes traitées par le tamoxifène (McDonnell *et al.*, 1995 ; Kleinman *et al.*, 1996 ; Grese *et al.*, 1997 ; Cummings *et al.*, 1999 ; Cauley *et al.*, 2001 ; Lippman *et al.*, 2001 ; Cummings *et al.*, 2002 ; Martino *et al.*, 2004 ; Grady *et al.*, 2004 ; Barrett-Connor *et al.*, 2004 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2007 ; Vogel, 2007 ; M. N. Singh *et al.*, 2008 ; Vogel, 2009 ; Etori *et al.*, 2017 ; SHAGUFTA et Ahmad, 2018 ; Sauter, 2018 ; Heery *et al.*, 2018 ; Farrar et Jacobs, 2020).

Mais, d'autre part, le tamoxifène (seul ou associé à un progestatif) est un traitement hormonal efficace en deuxième ligne, après un traitement progestatif de première ligne, avec une faible toxicité, pour les cancers endométriaux avancés ou récurrents, en particulier chez les patientes ayant un statut ER positif. Les taux de réponse atteignent 10 à 53%, ce qui est comparable à ceux du traitement de première ligne (Ethier *et al.*, 2017 ; van Weelden *et al.*, 2019 ; Emons *et al.*, 2020).

Dans la prolifération des cancers endométriaux, le tamoxifène agit comme un agoniste des œstrogènes par l'intermédiaire de GPER-1 qui est plus exprimé dans les cellules cancéreuses du sein et de l'endomètre qui présentent une résistance au médicament en raison d'un traitement au tamoxifène à long terme, même après une rémission initiale des tumeurs. Cela semble être dû au tamoxifène qui antagonise l'activation de ERα par E2 dans certaines cellules des cancers endométriaux et stimule les voies de signalisation mitogènes par l'intermédiaire de GPER-1, ce qui entraîne la prolifération cellulaire. Et lorsque l'expression de GPER-1 est supprimée, le tamoxifène bloque ERα et inhibe ainsi la prolifération induite par les œstrogènes. GPER-1 est surexprimé dans les cancers de l'endomètre où les ER et récepteurs à la progestérone sont dérégulés (Vivacqua *et al.*, 2006 ; Smith *et al.*, 2007 ; Jordan, 2008b ; Ignatov *et al.*, 2010 ; Tsai *et al.*, 2013 ; Jordan, 2019 ; Emons *et al.*, 2020).
Au contraire, dans le traitement des cancers endométriaux, les effets œstrogéniques du tamoxifène sur l'ERα stimulent l'expression des récepteurs à la progestérone et le tamoxifène peut également agir comme un anti-œstrogène en bloquant l'ERα (Thigpen *et al.*, 2001 ; Hu *et al.*, 2015 ; Emons *et al.*, 2020).
En effet, dans les cancers du sein et de l'endomètre métastatiques ERα-positifs, le tamoxifène bloque d'abord les actions mitogènes des œstrogènes et entraîne une régression tumorale. Mais certaines d'entre elles (une grande partie des cancers endométriaux) présentent une résistance primaire au médicament par des mécanismes tels que l'expression de GPER-1 qui est associée à une action stimulante du tamoxifène. Cela explique pourquoi les femmes ménopausées et celles qui présentent des facteurs de risque ont un risque plus élevé de développer des cancers endométriaux associés au tamoxifène (Emons *et al.*, 2020).

Il peut être frappant de choisir un traitement du cancer du sein qui augmente le risque de cancer endométrial mais lorsque nous sommes conscients du risque, il est plus facile de le suivre. En outre, le cancer utérin n'est pas une menace pour la survie, de sorte que

l'équilibre risque/bénéfice est en faveur de l'utilisation du tamoxifène pour traiter le cancer du sein malgré les risques de cancer utérin (Emons *et al.*, 2020).

4.3.2. Troubles de la coagulation

Le tamoxifène réduit les niveaux de protéines anticoagulantes naturelles, conduisant potentiellement à une hypercoagulabilité acquise. En effet, les femmes hétérozygotes pour la mutation du facteur V ont un risque cinq fois plus élevé de développer une thrombose lorsqu'elles prennent du tamoxifène (Jones *et al.*, 1992 ; Garber *et al.*, 2010 ; Anderson et Weitz, 2011 ; Demirci *et al.*, 2019).

Le risque de thrombose veineuse est augmenté par le tamoxifène, en particulier pendant les deux premières années de traitement. Et lorsque le tamoxifène est ajouté à une chimiothérapie préexistante, son effet procoagulant devient prédominant (Fisher *et al.*, 1998 ; Cuzick *et al.*, 2007 ; Hernandez *et al.*, 2009 ; Davies *et al.*, 2011 ; Demirci *et al.*, 2019).

Le raloxifène et le tamoxifène augmentent le risque de maladie thromboembolique mais le raloxifène moins. En effet, le risque d'embolie pulmonaire et de thrombose veineuse profonde est respectivement inférieur de 36% et 26% avec le raloxifène. Il est dû à une augmentation de la production de facteurs de coagulation dans le foie. Ce risque est plus élevé en cas d'association de la chirurgie et de l'administration de tamoxifène. D'autre part, le tamoxifène et le 4-hydroxytamoxifène inhibent l'agrégation plaquettaire ; le chirurgien et l'oncologue doivent donc peser le pour et le contre .

4.3.3. Vue

Une étude a signalé une augmentation du taux de cataractes : 24,82 pour 1 000 femmes dans le groupe tamoxifène contre 21,72 pour 1 000 femmes dans le groupe placebo (RR = 1,14, CI95% = [1,01 ; 1,29]). De plus, le taux de développement de cataractes et de chirurgie de la cataracte était de 4,72 pour 1 000 femmes dans le groupe tamoxifène contre 3,00 pour 1 000 femmes dans le groupe placebo (RR = 1,57, IC95% = [1,16 ; 2,14]). Cependant, cette toxicité n'est pas considérée comme suffisamment grave pour justifier un éventuel refus du traitement (Fisher *et al.*, 1998).
Le tamoxifène augmente le nombre de cataractes et les interventions chirurgicales qui y sont liées. Une étude de Vogel de 2006 a rapporté que le raloxifène est associé à un taux de développement de la cataracte inférieur de 21% (RR = 0,79, CI95% = [0,68 ; 0,92]) et à un taux de chirurgie de la cataracte inférieur de 18% (RR = 0,82, CI95% = [0,68 ; 0,99]) à celui du tamoxifène. Dans une autre étude de 2009, Vogel et son équipe ont rapporté que l'incidence cumulative à six ans pour le tamoxifène était de 77,9 contre 56,3 pour le raloxifène (p = 0,002). Une troisième étude a rapporté une incidence encore plus faible de cataractes avec une incidence inférieure de 38% dans le groupe raloxifène par rapport au résultat de Vogel de 2006 (Fisher *et al.*, 1998 ; Wassertheil-Smoller *et al.*, 2003 ; Vogel *et al.*, 2006 ; Vogel, 2009 ; Sauter, 2018).

Un rapport de cas évalue les complications oculaires, comme les cataractes, les kératopathies, les rétinopathies, l'altération de l'acuité visuelle, l'irritation oculaire et la névrite optique, globalement rares (0,6%), qui pourraient être causées par une obstruction dans une branche de la veine rétinienne. En effet, une patiente pré-ménopausée atteinte d'un carcinome mammaire et recevant un traitement adjuvant au tamoxifène pendant 1,5 an a développé une perte visuelle soudaine. Les auteurs avancent que le tamoxifène peut posséder un faible effet œstrogénique, même s'il s'agit d'un médicament anticœstrogène, qui peut contribuer à l'activité prothrombogène. La pathogenèse de l'occlusion de la veine rétinienne n'est toujours pas claire mais les facteurs de risque sont les suivants : âge élevé, diabète, tabagisme, hypertension, hyperlipidémie. Et la prévalence de la maladie veineuse

chez les patients atteints d'occlusion de la veine rétinienne est de 3%. Ici, toute prédisposition ou surdosage a été noté. Si une occlusion de la veine rétinienne est confirmée par une fundoscopie, une angiographie et une tomographie par cohérence optique, le tamoxifène doit être remplacé par un inhibiteur d'aromatase. Cependant, il ne s'agit que d'un rapport de cas, il est donc risqué d'inférer à la population générale, même si d'autres études ont rapporté des occlusions de la veine rétinienne causées par une angiopathie thrombotique lors d'un traitement adjuvant par tamoxifène (Schlich *et al.*, 1997 ; Gianni *et al.*, 2006 ; Fraenkl *et al.*, 2010 ; Lattanzio *et al.*, 2011 ; Onder *et al.*, 2013 ; Demirci *et al.*, 2019).

Même les faibles doses quotidiennes couramment utilisées pendant les périodes prolongées des traitements adjuvants du cancer du sein et les chimiothérapies de courte durée (exposition médiane au tamoxifène de 2,6 ans) peuvent être responsables de toxicité oculaire. Les données sur l'incidence de la toxicité oculaire sont contradictoires puisqu'elles fluctuent entre 0 et 12% selon le type d'étude. Cet intervalle important pourrait s'expliquer par différents éléments de limitation : études avec un nombre limité de patientes, absence de groupe contrôle (prenant en compte l'âge par exemple), difficultés à distinguer les altérations oculaires dues au tamoxifène d'autres maladies, doses quotidiennes et durées de traitement différentes. Dans l'étude de Gianni, seulement 0,6% des patientes ont présenté une toxicité oculaire potentiellement liée au traitement par tamoxifène ou torémifène, ce qui est cohérent avec le fait que la plupart des toxicités oculaires dues à de faibles doses de SERM sont probablement asymptomatiques. Cette dose est légèrement inférieure à celle d'autres études sur le traitement adjuvant. De plus, il est impossible d'évaluer les différences de toxicité oculaire entre le tamoxifène et le torémifène (Vinding et Nielsen, 1983 ; de Jong-Busnac, 1989 ; Longstaff *et al.*, 1989 ; Pavlidis *et al.*, 1992 ; Heier *et al.*, 1994 ; Therssen *et al.*, 1995 ; Nayfield et Gorin, 1996 ; Peyrade *et al.*, 1996 ; Tang *et al.*, 1997 ; Lazzaroni *et al.*, 1998 ; Noureddin *et al.*, 1999 ; Bradbury *et al.*, 2004 ; Gallicchio *et al.*, 2004 ; Gianni *et al.*, 2006).

Le mécanisme d'induction des cataractes par le tamoxifène n'est pas encore clair non plus mais un effet protecteur des œstrogènes sur l'œil et le cristallin semble être altéré par le médicament qui bloque les canaux chlorure associés à la glycoprotéine P (Zhang *et al.*, 1994 ; Zhang et Jacob, 1996 ; Klein *et al.*, 1998 ; Bigsby *et al.*, 1999 ; Ediger *et al.*, 1999 ; Young *et al.*, 2000 ; Gianni *et al.*, 2006).

Le mécanisme d'induction des kératopathies et des rétinopathies par le tamoxifène n'est pas entièrement compris mais il semble être le même que celui de la chloroquine. On rapporte que le tamoxifène et ses métabolites pénètrent dans l'œil mais aucune relation entre les concentrations sériques et intraoculaires n'est encore documentée (Toimela *et al.*, 1998 ; Flaxel *et al.*, 2000 ; Gianni *et al.*, 2006).

Ainsi, les modifications de l'acuité visuelle, de la cornée ou de la perception des couleurs doivent être étudiées (Heery *et al.*, 2018).

4.4. Interactions

Des interactions peuvent réduire l'efficacité du tamoxifène, comme les antidépresseurs (paroxétine, fluoxétine, bupropion et duloxétine), les neuroleptiques (thioridazine, perphénazine et pimozide), les anti-microbiens (terbinafine et quinidine), le cinacalcet, l'E2 et le conivaptan qui inhibent la CYP2D6 (Jin *et al.*, 2005 ; Kelly *et al.*, 2010 ; Sideras *et al.*, 2010 ; Heery *et al.*, 2018).

Ensuite, les interactions avec certains antimicrobiens (moxifloxacine et ciprofloxacine) peuvent engendrer des affections cardiaques. De plus, les médicaments cardiaques préexistants (quinidine et ticlopidine) doivent être revus car ils peuvent également exacerber

le travail que le cœur doit fournir (Tenni *et al.*, 1989 ; Crewe *et al.*, 1997 ; Slovacek *et al.*, 2008 ; Iusuf *et al.*, 2011 ; Heery *et al.*, 2018).

Des interactions entre les antivitamines K et la chimiothérapie sont possibles, augmentant le risque thrombotique et hémorragique au cours des maladies tumorales. De même, le risque d'accidents thromboemboliques est augmenté en cas d'association avec des agents cytotoxiques (ANSM *et al.*, 2020).

En toute logique, une contraception potentielle ne devrait pas être assurée par un dérivé œstrogénique (« Tamoxifen (citrate) 10 mg cp (Nolvadex®) », 2020).

Enfin, certaines plantes et certains suppléments peuvent être dangereux pendant un traitement au tamoxifène (Heery *et al.*, 2018).

4.5. Outil biotechnologique pour l'expérimentation sur la souris

La Cre recombinase sert à exciser une portion de génome comprise entre deux sites LoxP. Nous pouvons choisir un promoteur permettant de cibler l'expression de la Cre recombinase mais nous pouvons en plus choisir une Cre recombinase fusionnée à un domaine d'ER liant le tamoxifène (et plus E2) pour n'induire la recombinaison qu'au moment voulu.

Le tamoxifène est utilisé chez la souris dans ce cas comme outil pour activer la Cre recombinase. Le système inductible par le tamoxifène permet une expression génétique régulée dans le temps ce qui évite les effets des mutations génétiques sur le développement et facilite la comparaison du phénotype du même animal avant et après la modification du gène. Le mécanisme global est basé sur une recombinaison homologue au locus du gène cible dans les cellules choisies, ce qui conduit à l'inactivation du gène ou à l'expression du transgène inséré, avec un contrôle sur le *timing* et la localisation. La Cre, qui est un système très stable, est également utilisée pour activer l'expression des gènes. Dans ce cas, deux sites de reconnaissance nommées sites LoxP de même orientation sont insérés autour d'une région essentielle à l'activité protéique dans un allèle cible. Ensuite, ces souris sont accouplées avec d'autres exprimant ce site LoxP sous le contrôle d'un promoteur et ainsi, la progéniture subit une délétion médiée par le site LoxP du site de reconnaissance de cette séquence dans l'allèle cible au sein des cellules exprimant le site LoxP. La protéine cytoplasmique résultant de la fusion entre la Cre recombinase et un domaine de ER (modifié pour ne lier que le tamoxifène et non les oestrogènes endogènes) est transloquée vers le noyau en présence de tamoxifène et induit la recombinaison (**Figure 13**) (Metzger *et al.*, 1995 ; Feil *et al.*, 1996 ; Feil *et al.*, 1997 ; Feil, 2007 ; Kohan, 2008 ; Ahn *et al.*, 2019).

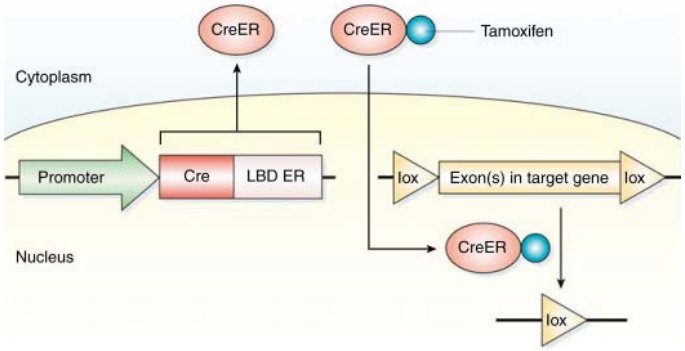


Figure 13 : Cre recombinase inductible par le tamoxifène (Kohan, 2008).

Il existe des alternatives actuelles à la Cre recombinase inductible par le tamoxifène qui sont parfois plus simples pour générer des animaux transgéniques :

- Cre recombinase inductible par la doxycycline. Dans ce cas, l'expression de la Cre recombinase ne se produit qu'en présence de doxycycline. Mais des recherches supplémentaires sont nécessaires pour prouver son efficacité chez les souris transgéniques (Kohan, 2008 ; Rao et Monks, 2009).
- MX1-Cre est une Cre recombinase inductible par interféron très efficace dans la lignée hématopoïétique. En ce qui concerne le mécanisme MX1-Cre, l'administration par voie intrapéritonéale de Poly I:C est un agoniste de TLR3 et stimule l'IFNα. Celui-ci active le promoteur de Mx1 et induit ainsi la transcription de la Cre recombinase (Assi *et al.*, 2014).

La sensibilité au tamoxifène pouvant varier, il est nécessaire de déterminer le dosage, la voie d'administration et la fréquence pour chaque application. De plus, il est intéressant de déterminer le degré de recombinaison de l'allèle ciblé. En effet, pour certaines études, la recombinaison complète n'est pas nécessaire (par exemple pour l'induction d'un kyste rénal où seul un petit nombre de cellules est nécessaire), tandis que pour d'autres études, la recombinaison complète est nécessaire pour observer un phénotype (par exemple pour l'évaluation de l'effet de l'absence d'un transporteur d'ions) (Kohan, 2008).

Par ailleurs, il existe différentes voies d'administration du tamoxifène.
Chez la souris, la voie d'administration est une question scientifique car la pharmacocinétique n'est pas la même selon la voie d'administration comme le montre la **Figure 14**. En effet, nous constatons une différence de tolérance au glucose entre les animaux ayant reçu des injections intrapéritonéales de tamoxifène pendant 5 jours et ceux ayant reçu la molécule dans l'alimentation pendant 10 jours. Cela nous permet de déduire la pharmacocinétique de la molécule suivant la voie d'administration.

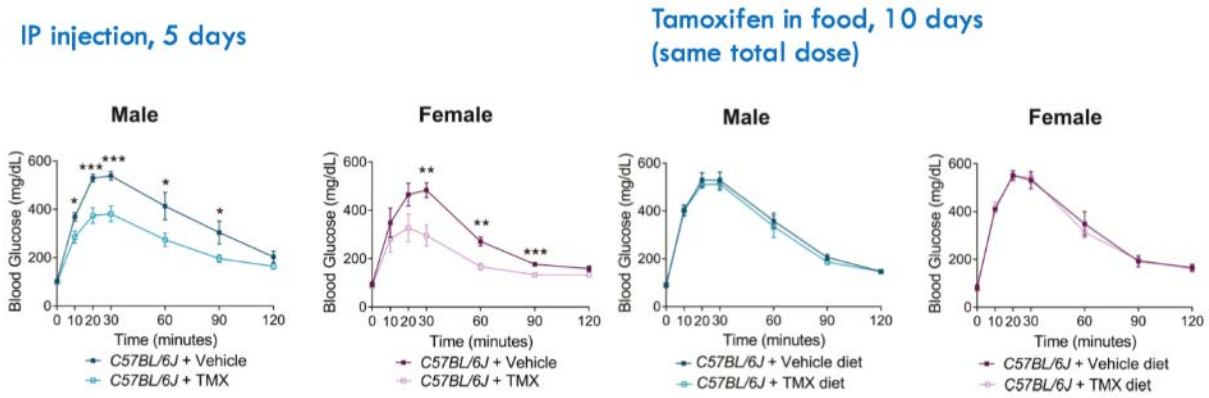


Figure 14 : Différence entre l'injection intrapéritonéale et l'administration dans les aliments (Ceasrine *et al.*, 2019).

Cependant, il ne s'agit pas seulement d'une question scientifique mais aussi d'une question éthique. En effet, le tamoxifène est généralement dissous dans une huile végétale ou minérale. Mais l'injection intrapéritonéale de substances lipophiles, comme le tamoxifène, provoque une inflammation xanthogranulomateuse péritonéale chronique et des dépôts, du côté du diaphragme ou du péritoine, aigus ou chroniques, dans 100% des cas. Cela a été personnellement observé par le Pr. F. Pilot-Storck mais également rapporté dans la littérature. Et il est frappant de constater que très peu d'études abordent ce sujet alors que cet effet est connu depuis longtemps. D'ailleurs, les études d'immunologie et de pharmacologie utilisent souvent l'huile minérale pour induire une inflammation. Une telle inflammation est associée à un appauvrissement sévère des macrophages péritonéaux résidents à long terme (une diminution de 50% par rapport aux souris qui ne reçoivent pas

d'injection d'huile), à un recrutement persistant de neutrophiles et de monocytes, à une infiltration de cellules myéloïdes dans le péritoine, à une expansion de la vascularisation mais aussi à une démarche anormale et à une mortalité accrue. Le foie, l'épiploon et le mésentère étaient également touchés. Mécaniquement, l'absorption des lipoprotéines induit la mort des macrophages par pyroptose, ce qui empêche la résolution de l'inflammation. Cette inflammation chronique empêche la guérison des tissus, favorisant la fibrose et l'athérosclérose. Cependant, la gravité de l'inflammation dépend du type d'huile : les huiles d'arachide et minérales conduisent au schéma le plus sévère. Et il a été prouvé que ce n'est pas l'injection qui provoque l'inflammation à partir d'un contrôle consistant en une injection de sérum physiologique (chlorure de sodium à 0,9%) qui n'a pas provoqué de changements (Pear et Boyden, 1967 ; Anderson et Potter, 1969 ; Kuroda *et al.*, 2004 ; Schrijvers *et al.*, 2005 ; Nacionales *et al.*, 2006 ; Ramot *et al.*, 2009 ; Bergsbaken *et al.*, 2009 ; Chen *et al.*, 2010 ; Andersson *et al.*, 2010 ; Seimon *et al.*, 2010 ; Brand *et al.*, 2015 ; Hubbard *et al.*, 2017 ; Schett et Neurath, 2018 ; Kasikara *et al.*, 2018 ; Wu *et al.*, 2019 ; Alsina-Sanchis *et al.*, 2020 ; Britch *et al.*, 2020).

Ainsi, l'injection intrapéritonéale de tamoxifène pourrait interférer avec les résultats expérimentaux et l'administration orale doit être privilégiée.

Les caractéristiques de l'administration orale sont les suivantes :

- Administration orale par gavage.
- Alimentation commerciale : le tamoxifène est incorporé au régime alimentaire standard des rongeurs.
- Nourriture faite maison : « gâteau » ou nourriture non granulée (Andersson *et al.*, 2010).

D'autres voies d'administration ont été explorées comme la voie topique avec l'expérimentation d'un gel percutané, d'un analogue chloré nommé toremifène dans une formulation de méthylcellulose (Maenpaa *et al.*, 1993 ; Pujol *et al.*, 1995 ; Payne *et al.*, 2006).

Enfin, pour les plus curieux : une boîte de comprimés médicamenteux de tamoxifène soit 30 x 20 mg coûte 6,73 € alors que 1 g du produit chimique tamoxifène coûte environ 350 €.

4.6. Conclusion

Chez l’humain, les SERM ont beaucoup d'avantages dans les tumeurs malignes, les troubles neurodégénératifs et les maladies immunitaires. Ils sont donc à la fois des médicaments prophylactiques chez les personnes à haut risque et de nouveaux médicaments thérapeutiques. Mais le tamoxifène reste celui dont l'efficacité est la plus grande et dont les effets pléiotropiques s'expliquent par la diversité des actions selon le type de cellule et le tissu (M. N. Singh *et al.*, 2008).

Chez la souris, le tamoxifène est un outil de manipulation génétique qui présente des effets hors cible majeurs sur de nombreuses fonctions et parfois à long terme ; il doit donc être testé dans les modèles définis et utilisé à la dose la plus faible possible. En outre, tous les animaux témoins doivent recevoir du tamoxifène. Nous avons besoin d'une meilleure connaissance du modèle, de contrôles appropriés et d'une meilleure reproductibilité. Ensuite, la voie orale devrait être la règle pour éviter l'inflammation due à l'injection intrapéritonéale. Nous devons également garder à l'esprit qu'il existe des alternatives à l'utilisation du tamoxifène. En parallèle, le tamoxifène a prouvé son intérêt dans deux modèles de myopathies héréditaires, ce qui en fait un candidat de choix en repositionnement pour le traitement de ces affections chez l’enfant.

Deuxième partie : Étude expérimentale

1. Études préliminaires

1.1. Implication du gène *HACD1*

1.1.1. Un groupe de myopathies congénitales

Les myopathies sont des maladies occasionnant une altération de la fonction musculaire. Parmi elles, les myopathies congénitales affectent très précocement les individus, dès la naissance aux premières années de vie. Ce sont des maladies rares, généralement handicapantes, souvent intraitables et parfois mortelles. Le diaphragme peut être atteint par la faiblesse musculaire, nécessitant parfois un soutien ventilatoire temporaire voire permanent. Les myopathies centronucléaires (CNMs) appartiennent aux myopathies congénitales et s'accompagnent d'une hypotrophie des fibres musculaires, d'une faiblesse musculaire, d'une centralisation des noyaux des fibres musculaires, d'une désorganisation structurale (forme et répartition) des mitochondries et d'un remodelage de leurs activités oxydatives (Vandestienne-Ratnam, 2021).
La forme la plus grave des CNMs est celle liée à l'X, induite par des variants du gène codant la myotubularine (MTM1) tandis que des variants du gène *DNM2* par exemple entraînent des formes moins sévères et plus tardives. Malgré la diversité des gènes affectés, les signes cliniques sont globalement similaires entre patients humains et modèles animaux, expliqués notamment par un couplage excitation-contraction anormal lors de mutations des gènes *BIN1*, *MTM1* et *DNM2* entre autres (Dowling *et al.*, 2009 ; Vandestienne-Ratnam, 2021).

1.1.1.1. Myopathie liée à une perte de fonction du gène MTM1

La déficience du gène *MTM1* entraîne une myopathie myotubulaire liée à l'X (XLMTM) qui appartient à la famille des CNMs. Sa transmission est récessive et n'affecte que les hommes. L'hypotonie sévère et la faiblesse musculaire qu'elle engendre apparaissent très précocement, nécessitant un support ventilatoire. Les fibres musculaires sont immatures et de petit diamètre avec de nombreux noyaux centralisés. Cette maladie est fatale avant l'âge d'un an dans près de 30% des cas (Vandestienne-Ratnam, 2021).
Par ailleurs, lors de mutations de *MTM1*, les mitochondries présentent une localisation anormale (Dowling *et al.*, 2009).

1.1.1.2. Myopathie liée à un gain de fonction de la dynamine 2

La myopathie engendrée par un gain de fonction de la protéine DNM2, qui aurait alors une activité GTPase plus importante entraînant des événements de scission membranaire exagérés, est une CNM à transmission autosomique dominante se caractérisant par une faiblesse musculaire modérée, elle, bien que progressive, débutant à l'enfance ou à l'adolescence principalement, avec quelques cas plus sévères d'origine néonatale. La faiblesse musculaire s'accompagne cette fois d'une faiblesse faciale, d'une ptôse et d'une ophtalmoplégie. Les fibres musculaires de type I sont prédominantes et hypotrophes avec des noyaux centralisés. Certains variants de *DNM2* causent aussi la neuropathie périphérique de Charcot-Marie-Tooth (Vandestienne-Ratnam, 2021).

1.1.1.3. Myopathie liée à une perte de fonction de l'amphiphysine 2

L'amphiphysine 2 est codée par le gène *BIN1* et est fortement exprimée dans les muscles squelettiques notamment lors de la maturation des cellules musculaire et la formation des tubules T. Elle participe également aux phénomènes d'endocytose (Vandestienne-Ratnam, 2021).
Les myopathies engendrées par des mutations du gène *BIN1* se transmettent majoritairement de manière autosomique récessive et plus rarement de manière autosomique dominante. Elles s'accompagnent d'une faiblesse musculaire progressive, d'une ptôse palpébrale et d'une hypotrophie musculaire dès la jeune enfance. Des formes plus graves ont été décrites, lors de délétion de l'exon 11, qui entraîne une CNM rapide et létale qui se développe pourtant qu'à partir de l'âge de trois ans et demi, après un développement moteur tout à fait normal. Les individus touchés présentent une hypotrophie marquée et une accumulation mitochondriale anormale.
Cette maladie a été mise en évidence chez des dogues allemands. Les signes cliniques, très progressifs, apparaissent aux alentours de 10 mois d'âge, nécessitant l'euthanasie vers 18 mois en raison d'une faiblesse musculaire très marquée intéressant notamment l'activité respiratoire, alors impossible sans assistance ventilatoire. Nous observons une prédominance de fibres de type I avec centralisation nucléaire, les zones centrales des sarcomères sans myofibrilles mais avec une accumulation de mitochondries et de granules de glycogènes, et une augmentation de l'expression des gènes du métabolisme oxydatif (Böhm *et al.*, 2013).

1.1.2. Fonction et perte de fonction d'*HACD1*

Chez le chien et l'humain, la déficience du gène *HACD1* (3-hydroxyacyl-CoA déshydratase) entraîne une myopathie congénitale accompagnée d'une faiblesse musculaire et d'une hypotrophie des fibres musculaires (**Figure 15**) (Blondelle *et al.*, 2015).

Chez le chien, cette mutation provient de l'insertion d'un SINE (*short interspersed nuclear element*) dans l'exon 2 du gène *HACD1* causant un défaut d'épissage du gène. Cette perte de fonction est systématiquement associée à l'état homozygote de la maladie transmise selon un mode autosomique récessif. Décrite il y a plus de quarante ans par Kramer *et al.*, ce n'est que dans les années 90 qu'un labrador souffrant d'une myopathie congénitale est vu par le Dr. Stéphane Blot, neurologue consultant à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort (EnvA), initiant alors une étude ayant permis le repérage de l'allèle perte de fonction d'*HACD1* sur le chromosome 2 par le Pr. Laurent Tiret. Depuis, un test de dépistage a été mis au point afin d'éviter les croisements à risque (Kramer *et al.*, 1981 ; Tiret *et al.*, 2003 ; Pelé *et al.*, 2005).

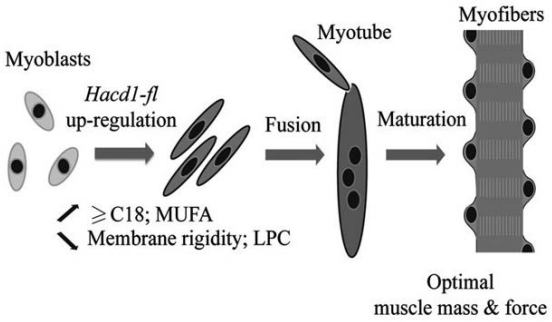


Figure 15 : Formation de la fibre musculaire striée squelettique chez le mutant *HACD1*-KO (Blondelle *et al.*, 2015).
Les fibres musculaires sont moins larges et les noyaux moins nombreux.

À partir de quatre à six mois d'âge, les premiers signes cliniques apparaissent chez les chiens atteints : hypotrophie musculaire, défaut de posture en raison d'une faiblesse musculaire (ventroflexion, port de tête bas) et diminution d'activité locomotrice spontanée (déplacement raide, pas courts). Ce phénotype s'accentue au cours de la première année de vie puis se stabilise et ces chiens ont généralement une espérance de vie normale. Le seul danger réside dans l'insuffisance du tonus musculaire œsophagien pouvant causer des régurgitations avec fausse route et donc un risque de pneumopathie, parfois mortelle (Tiret *et al.*, 2003 ; Pelé *et al.*, 2005).
Cependant, à partir de deux mois d'âge, une hypotrophie des fibres musculaires est déjà visible sur les analyses histologiques. Celle-ci reste stable tout au long de la vie du chien. Les mitochondries changent également de localisation. Puis, entre six et huit mois d'âge, une centralisation des noyaux et une dominance des fibres lentes de type I (par diminution du nombre de fibres de type II) apparaissent. La centralisation, absente chez les chiots, est déjà présente dans 30% des fibres du biceps fémoral à trois ans et 60% à sept ans. Les fibres de type I ont un diamètre moyen plus faible que celui des fibres d'un chien sain. Enfin, vers deux ans, le tissu conjonctif musculaire s'épaissit et le muscle subit également une infiltration adipeuse (Tiret *et al.*, 2003 ; Pelé *et al.*, 2005).

Chez l'humain, six variants du gène *HACD1* provoquent une perte de fonction du gène. Par exemple, le variant c.744C>A induit une dégradation de deux tiers des transcrits *HACD1* produits et les 31% restants contiennent un codon stop prématuré (p.Y248Stop). La myopathie apparaît également dès le jeune âge et s'accompagne d'une hypotonie, d'une faiblesse de réflexes au niveau des tendons et d'une difficulté à se nourrir. Puis les épaules tombent, la position assise est difficile à tenir sans aide et la mise en place de la marche est retardée. Enfin, s'installe aussi une faiblesse des muscles faciaux. Concernant les analyses histologiques réalisées chez l'humain, une prédominance de fibres lentes de type I a également été mise en évidence (Muhammad *et al.*, 2013).

Depuis, il a été découvert qu'*HACD1* code une enzyme enchâssée dans la membrane du réticulum endoplasmique et possédant six domaines transmembranaires. Elle participe à la troisième des quatre étapes du cycle d'élongation des acides gras à très longue chaîne (AGTLC) à partir d'acides gras à longue chaîne (AGLC), celle de la déshydratation. Les AGLC sont ici les acides gras dont l'élongation a eu lieu dans le cytoplasme (≤ C16) tandis que les AGTLC sont ceux dont l'élongation a eu lieu dans le réticulum endoplasmique (≥ C18). C'est pourquoi, lorsque *PHS1*, l'orthologue d'*HACD1* chez la levure, est délété, une accumulation d'AGLC et une diminution d'AGTLC sont observées dans les levures.

Il existe deux isoformes de transcrits d'*HACD1* dans les muscles striés, squelettiques et cardiaque : *HACD1-fl* (*HACD1 isoform, full-length*), qui possède les sept exons du gène (**Figure 16**), et *HACD1-d5* (*HACD1 isoform, deleted in exon 5*), qui perd l'exon 5 lors de l'épissage et qui est ubiquitaire. Seule la protéine codée par l'isoforme HACD1-fl est enzymatiquement active (Blondelle *et al.*, 2015).

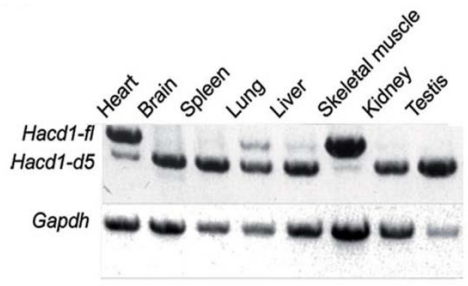


Figure 16 : Localisation de l'expression d'*HACD1* (Blondelle *et al.*, 2015).
L'isoforme *HACD1*-fl s'exprime surtout dans les muscles striés squelettiques et cardiaque.

HACD1 participe au remodelage de la membrane plasmique permettant la fusion des myoblastes lors de la myogenèse. En effet, ce gène est surexprimé dans les myoblastes lors du développement musculaire embryonnaire (**Figure 17A**) et entraîne une augmentation des MUFAs (*mono-unsaturated fatty acids*) parallèlement à une diminution de la lysophosphatidylcholine (LPC), lipide inhibiteur de la fusion. Les MUFAs, de par leur formule chimique, peuvent adopter des structures coudées, ce qui leur confère une plus grande fluidité, augmentant ainsi la capacité de fusion de la membrane. En revanche, lors de déficience d'*HACD1*, ces modifications de la composition lipidique de la membrane plasmique des myoblastes n'ont pas lieu. La fusion en devient moins efficace comme en atteste l'index de fusion qui est diminué, le nombre de noyaux par fibres étant plus faible (**Figure 17B**). Il en résulte une diminution du diamètre des fibres (Blondelle *et al.*, 2015).

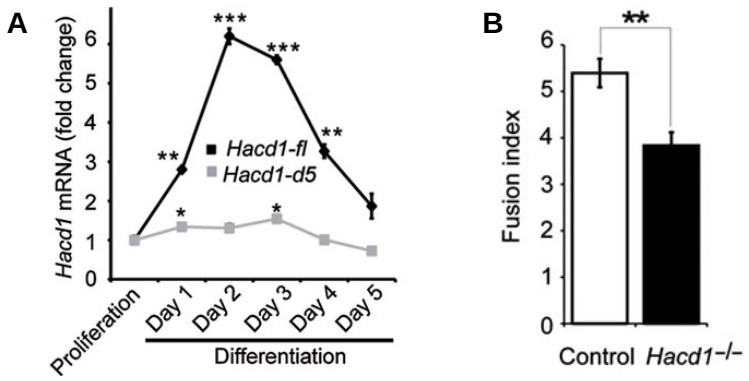


Figure 17 : Implication d'*HACD1* dans la fusion des myoblastes (Blondelle *et al.*, 2015).
Le transcrit *HACD1*-fl est surexprimé lors de la différenciation des myoblastes **(A)**. Diminution significative de l'index de fusion des myoblastes chez les souriceaux déficients en *HACD1* **(B)**.

En 2021, un article a été publié par Alexandre Prola, alors post-doc dans le laboratoire dans lequel s'inscrit ma thèse. Il s'agissait de caractériser le phénotype des souris *Hacd1*-KO qui, bien que myopathes et donc avec une activité physique diminuée et une locomotion spontanée réduite de moitié (**Figure 19A**), semblaient prendre moins de poids que les souris WT de même portée (**Figure 19B** et **C**). Cela laissait suspecter un métabolisme accru qui a été investigué en les soumettant à un régime riche en graisse (HFD) (Prola *et al.*, 2021).

1.1.1. Modèle murin *Hacd1*-KO

Une lignée murine *Hacd1-KO*, déficiente pour la fonction du gène *Hacd1*, a été développée pour étudier le phénotype découlant de cette déficience et les opportunités de traitements des myopathies. Les souris *Hacd1-KO* voient les exons 2, 3 et 4 du gène excisés. Celles-ci, paraissant moins musclées, ont été soumises à des épreuves fonctionnelles. Les résultats sont sans appel : réduction de moitié de l'activité locomotrice spontanée, apparition d'une cyphose avec l'âge, retard de prise de poids significatif dès le dixième jour de vie (**Figure 18C**), réduction du volume musculaire (**Figure 18A**), réduction de près de 30% de la masse musculaire (**Figure 18B**) et hypotrophie des fibres musculaires à l'histologie (**Figure 18D**). Contrairement au chien, la centralisation des noyaux de la lignée murine semble plus rare (Blondelle *et al.*, 2015).

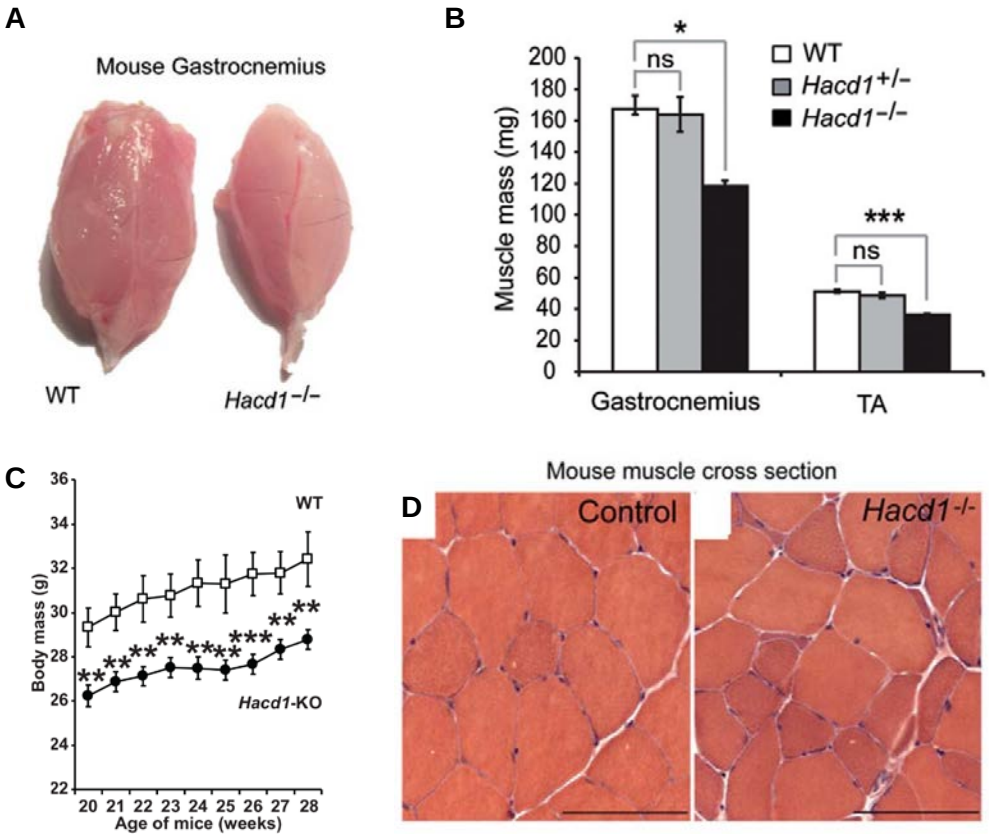


Figure 18 : Résultats des épreuves fonctionnelles de souris *Hacd1*-KO (Blondelle *et al.*, 2015*)*. Réduction du volume musculaire **(A)**, associée à une réduction significative de la masse musculaire **(B et C)** et à une hypotrophie des fibres musculaires **(D)**. Barre d'échelle : 100 µm.

Ce modèle est donc efficace pour étudier les caractéristiques d'une myopathie congénitale et ses perspectives de traitement étant donné que les souris *Hacd1-KO* sont viables avec une croissance squelettique et une fertilité normales et qu'elles présentent précocement un phénotype marqué par une hypotrophie des myofibres (Blondelle *et al.*, 2015).

Résultats :

Les souris *Hacd1*-KO en HFD ont une prise de poids qui n'atteint même pas celle des souris WT en régime standard (ND), malgré une consommation alimentaire identique. Ainsi, elles accumulent une plus faible quantité de graisse blanche et présentent une faible efficacité calorique (**Figure 19F et G**), c'est-à-dire que les calories ingérées conduisent à une prise de poids modérée (**Figure 19E et F**). Par ailleurs, elles sont plus tolérantes au glucose qu'elles métabolisent plus rapidement alors qu'elles ont une masse musculaire, lieu du métabolisme glucidique, plus faible (**Figure 19D**). Une augmentation du métabolisme a donc bien été mise en évidence (**Figure 19H**) (Prola *et al.*, 2021).
Chez ces souris *Hacd1*-KO, la masse mitochondriale de muscles squelettiques, siège d'*Hacd1*-fl, est augmentée et s'accompagne d'une oxydation accrue des acides gras (**Figure 20A et B**) (Prola *et al.*, 2021).
De plus, un défaut de couplage entre l'oxydation et la phosphorylation au niveau mitochondrial a été observé, suggérant une consommation énergétique plus forte que la production d'ATP et expliquant la protection contre l'obésité (**Figure 20C et D**). Ce défaut de couplage semble lié à une teneur trop faible de cardiolipine (CL), un phospholipide qui représente près de 20% des lipides de la membrane mitochondriale interne et qui assure la structure correcte des crêtes mitochondriales et le transfert des protons jusqu'à l'ATP synthase (**Figure 20E**). Le défaut de couplage est illustré par la **Figure 20F**. La fonction

musculaire s'en voit également atteinte avec une réduction de celle-ci (**Figure 20G et H**). Il apparaît donc qu'une modification de la synthèse des phospholipides mitochondriaux ait une répercussion sur le métabolisme. Par ailleurs, *in vitro*, un enrichissement en CL permet de sauver le couplage mitochondrial (Prola *et al.*, 2021).

Ainsi, la régulation de la CL, uniquement dans les muscles squelettiques, serait un traitement envisageable contre l'obésité.

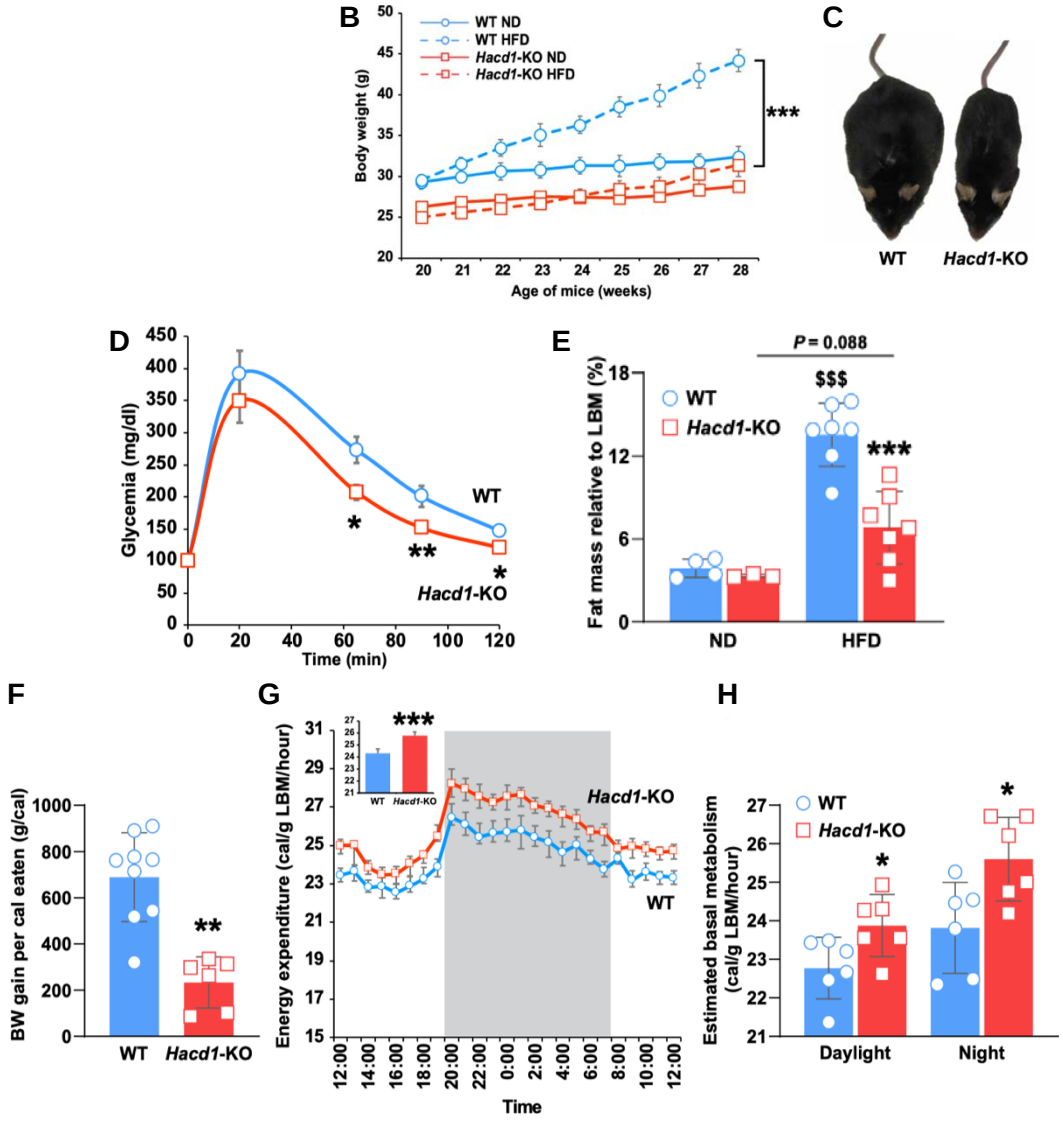


Figure 19 : Mécanismes expliquant la protection des souris *Hacd1*-KO contre l'obésité induite par un régime enrichi en graisse (Prola *et al.*, 2021).

Locomotion spontanée par nuit des souris wild-type et *Hacd1*-KO **(A)**. Évolution du poids corporel de souris nourries pendant neuf semaines avec du HFD comparée à celle de souris du même âge nourries avec du ND **(B)**. Morphologie de souris WT et *Hacd1*-KO après neuf semaines de HFD **(C)**. Glycémie évaluée après une injection de glucose intra-péritonéale à T_0 chez des souris nourries pendant neuf semaines avec du HFD **(D)**. Pourcentage de graisse corporelle totale (indice d'adiposité) après neuf semaines de ND ou d'HFD, exprimé en pourcentage de la masse corporelle éviscérée (lean body mass, LBM) **(E)**. Efficacité alimentaire pendant les neuf semaines de HFD (body weight, BW) **(F)**. Dépense énergétique sur une journée sous HFD ; la période active de la nuit est grisée ; la dépense énergétique moyenne au cours de la période d'évaluation est présentée sous forme d'histogramme **(G)**. Métabolisme basal estimé pendant la période d'évaluation de (G) pendant la journée et la nuit **(H)**.

HFD : *high fat diet*, ND : *normal diet*.

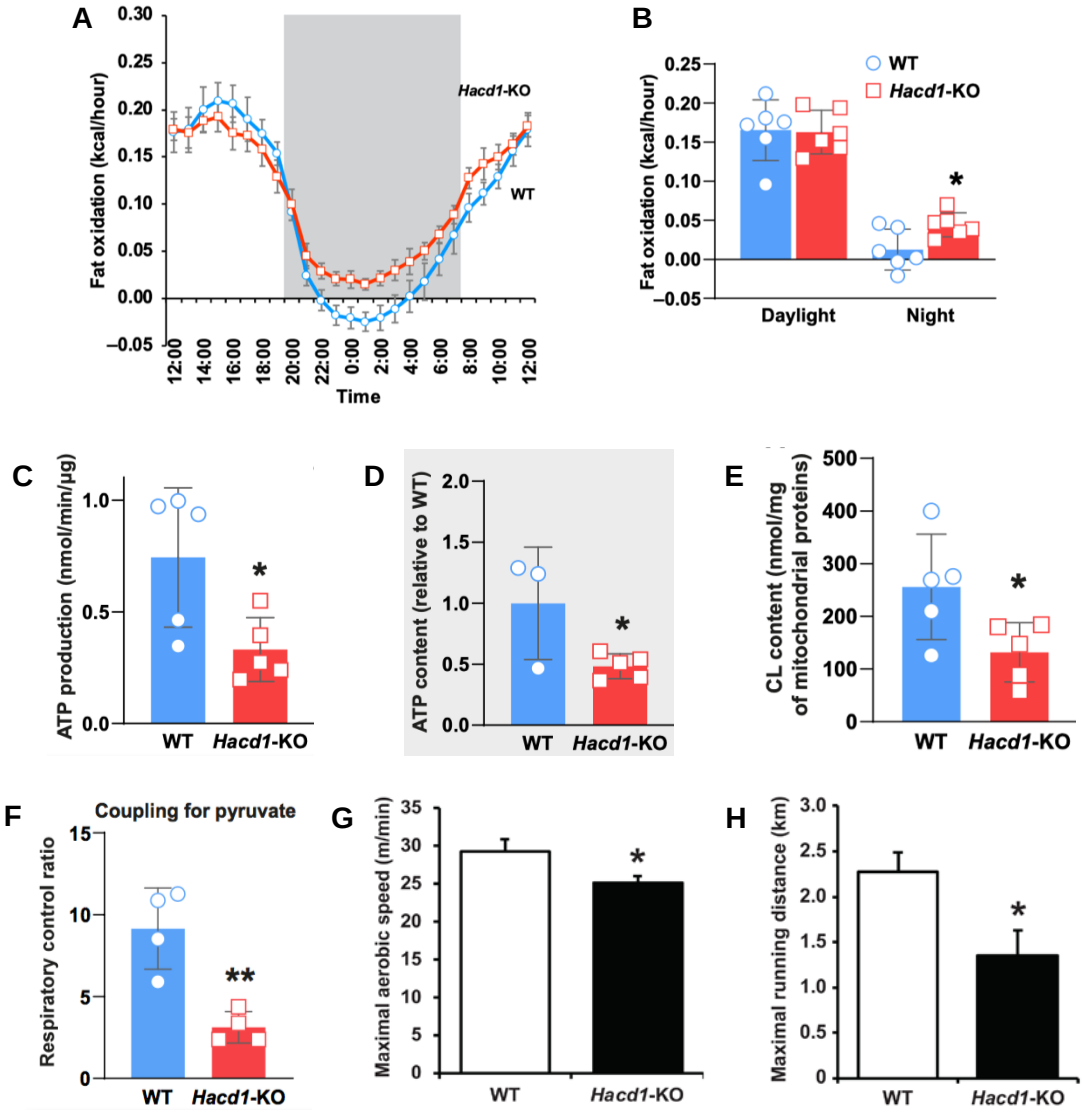


Figure 20 : Dépense énergétique, défauts mitochondriaux et performances locomotrices (Prola *et al.*, 2021).

Oxydation des acides gras sur une journée sous ND (la période active de la nuit est grisée) **(A)**. Oxydation des acides gras pendant la période d'évaluation de (A) pendant la journée et la nuit **(B)**. Production d'ATP mesurée sur des mitochondries isolées du muscle tibial antérieur **(C)**. Teneur en ATP dans le muscle tibial antérieur des souris *Hacd1*-KO par rapport au souris WT après un exercice sub-maximal sur tapis roulant **(D)**. Teneur totale en cardiolipine des mitochondries isolées du muscle tibial antérieur, normalisée à la teneur en protéines des mitochondries **(E)**. Respiration mitochondriale des souris wild-type et *Hacd1*-KO **(F)**. Vitesse aérobie maximale des souris wild-type et *Hacd1*-KO **(G)**. Distance maximale courue par des souris wild-type et *Hacd1*-KO **(H)**. *P<0,05, **P<0,01, et ***P<0,001 par rapport aux valeurs respectives des WT ; $^{\$\$\$}$P<0,001 par rapport aux valeurs respectives de ND.

Au vu des résultats précédents, il convenait de préciser la structure tridimensionnelle des mitochondries. Ainsi, il a été mis en évidence un nombre plus important de petites mitochondries chez les souris *Hacd1*-KO par rapport aux souris WT que de moyennes et grandes mitochondries. Ceci pourrait être lié à un défaut de fusion des mitochondries, en raison d'un excès de rigidité membranaire (Vandestienne-Ratnam, 2021).

Par ailleurs, toutes ces observations ont été faites chez les mâles mais nous ne retrouvons pas les mêmes résultats chez les femelles, notamment au test de tolérance au glucose et au HFD dont les résultats se rapprochent de ceux des individus WT. En effet, il n'y a pas de différence significative de l'aire sous la courbe concernant le test de tolérance au glucose (**Figure 21**). Cette expérience a été réalisée sur trois lots indépendants avec des

manipulateurs différents et les résultats s'avèrent similaires. Les femelles ne présentent pas non plus de protection contre l'obésité induite par le HFD puisque leur gain de poids n'était pas différent de celui des WT.

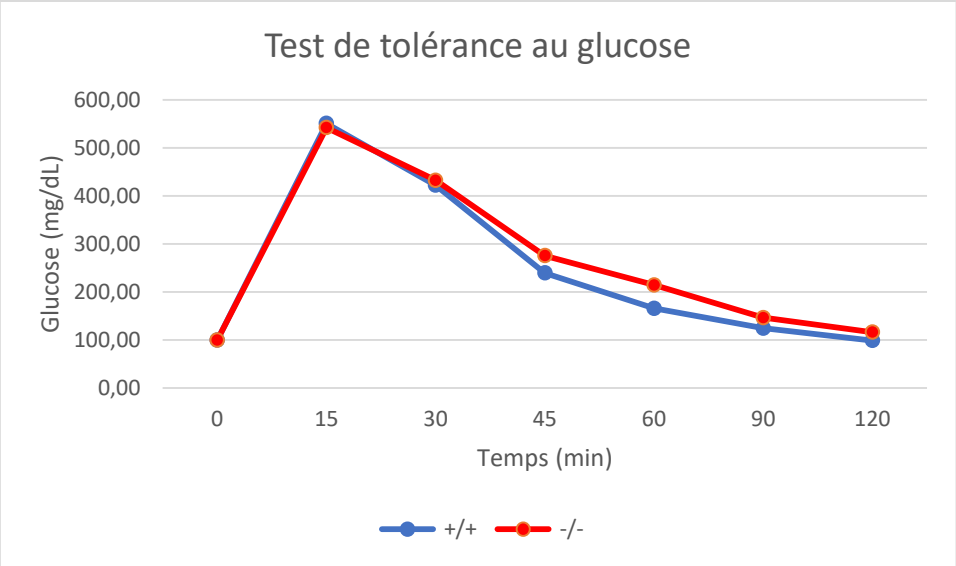


Figure 21 : Test de tolérance au glucose des femelles WT et *Hacd1*-KO (données du laboratoire).

1.2. Perspectives de traitements

Pour l'instant, il n'existe pas encore de traitement pour les individus souffrant de CNM. Cependant, nous avons vu que les différents gènes *Bin1* et *Mtm1* impliqués dans les myopathies sont étroitement liés, ce qui suggère une possibilité de thérapie commune aux CNMs (Cowling *et al.*, 2014).
Tout d'abord, le phénotype est sauvé chez la souris par diminution de l'expression de *Dnm2* grâce au système d'édition génomique qu'est la CRISPR-cas9, et ce même après l'apparition de la myopathie. La réduction ubiquitaire de l'expression de *Dnm2* empêche l'apparition de la myopathie ou améliore la masse et le fonctionnement musculaires en seulement deux semaines et restaure l'espérance de vie dans 100% des cas. En effet, il avait été mis en évidence que plus l'expression de *Dnm2* était importante, plus le muscle présentait des signes de CNM et que les souris hétérozygotes ne présentaient pas de phénotype (Cowling *et al.*, 2014 ; Demonbreun et McNally, 2014 ; Tasfaout *et al.*, 2017).
De même, la diminution de l'expression de *Dnm2* chez des souris *Bin1*-KO cette fois permet un allongement de l'espérance de vie, une normalisation de la force musculaire et un sauvetage du profil histologique (Cowling *et al.*, 2017).
Ensuite, une diminution de l'expression de *Dnm2* par injections d'oligonucléotides antisens est actuellement en essai clinique (Vandestienne-Ratnam, 2021).
Enfin, une augmentation de l'expression de *Bin1* chez des souris *Mtm1*-KO permet de diminuer l'expression de *Dnm2*, de restaurer l'espérance de vie et la force musculaire. Aucune perspective de traitement n'est cependant disponible à ce jour pour les enfants présentant une myopathie liée à *HACD1* (Lionello *et al.*, 2019).

1.3. Étude du phénotype métabolique chez les souris *Hacd1*-KO

Ici vous seront présentées les notions qui ont initié la volonté d'étudier plus en profondeur les effets et bénéfices du tamoxifène. Celles-ci ont été extraites de la thèse doctorale d'Aymeline Vandestienne-Ratnam (Vandestienne-Ratnam, 2021)*.*

1.3.1. Problématique

Comme évoqué précédemment, *Hacd1* est un gène intervenant dans deux mécanismes. Tout d'abord, il est indispensable lors du développement musculaire, pour assurer une fusion myoblastique et donc une masse musculaire correctes (Blondelle *et al.*, 2015). Ensuite, il agit également dans la régulation de la composition de la membrane mitochondriale en favorisant une organisation des crêtes et une efficacité respiratoire optimales (Prola *et al.*, 2019). C'est le couplage qui définit l'efficacité respiratoire. Il s'agit du ratio de la respiration phosphorylante sur la respiration non phosphorylante, c'est-à-dire le couplage entre oxydation des substrats, oxygène-dépendant, au niveau de la chaîne respiratoire, et la production d'ATP. Au sein des souris *Hacd1*-KO se produit donc un couplage plus faible de la production d'ATP par rapport à l'oxydation, ce qui entrave la production d'ATP en quantités suffisantes et contribue très probablement à la diminution des performances et à l'augmentation de la fatigabilité musculaire chez ces animaux affectés par la déficience en *Hacd1*. Cependant, il est important de noter que ce découplage, qui a lieu spécifiquement dans les mitochondries des muscles squelettiques, protège les souris contre une obésité induite par un régime alimentaire riche en graisses. Cela pourrait constituer une stratégie thérapeutique pour traiter l'obésité qui menace la vie de patients atteints de troubles métaboliques.
Après de telles constatations, l'hypothèse à tester est que la déficience en *Hacd1*, ciblant spécifiquement le muscle squelettique chez les adultes, protège bien contre l'obésité par un mécanisme de réduction du couplage qui, dans un contexte de musculature correctement développée grâce à une fusion non perturbée avant le sevrage de la jeune souris, ne produirait aucune conséquence délétère sur les performances musculaires ou seulement légères et acceptables au regard du bénéfice métabolique conjoint.

Pour clarifier la contribution exacte du plus faible couplage des mitochondries, probablement accentué par l'hypotrophie mais surtout pour évaluer l'intérêt d'une réduction thérapeutique de la fonction *HACD1* chez des patients adolescents ou adultes, une déficience en *Hacd1* a été initiée chez des souris à l'âge adulte et plus précisément après que leur gène *Hacd1* eut assuré son rôle dans la fusion myoblastique lors du développement musculaire et le phénotype associé a été caractérisé.
Pour cela, la stratégie d'invalidation du gène *Hacd1* choisie a été celle d'un KO conditionnel.

1.3.2. Stratégie de KO conditionnel

1.3.2.1. Matériels et méthodes

Le KO conditionnel de *Hacd1* a été généré en croisant des souris porteuses de plusieurs constructions aboutissant à des souris porteuses : d'un allèle KO pour *Hacd1*, d'un allèle de KO conditionnel pour *Hacd1* et d'un transgène exprimant la Cre recombinase liée à un domaine modifié d'ER liant le tamoxifène, sous contrôle d'un promoteur musculaire.

Étant donné que chez les souris la fusion myoblastique s'arrête à trois semaines après la naissance (White *et al.*, 2010), la recombinaison a été initiée à l'âge de quatre semaines

(après le sevrage) en fournissant du tamoxifène dans la nourriture de toutes les souris de la portée pendant deux semaines. En termes de nomenclature, les souris ayant un génotype bKO/cKO au locus *Hacd1* et une CRE activée par le tamoxifène à quatre semaines ont été appelées souris skw*Hacd1*-KO, ce qui correspondait à un knock-out dans les muscles squelettiques (*skeletal muscles*) des animaux sevrés (*weaned animals*). Le lot ainsi obtenu contenait des souris WT avec et sans la Cre-ERT2 (*Hacd1*$^{+/+}$ et *Hacd1*$^{+/+}$; Cre+), des souris hétérozygotes avec et sans la Cre-ERT2 (*Hacd1*$^{KO/+}$, *Hacd1*$^{cKO/cKO}$ et *Hacd1*$^{KO/+}$; Cre+) et les souris *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+ du génotype d'intérêt qui donne un KO d'*Hacd1* dans le muscle squelettique après recombinaison.
La recombinaison a été validée au niveau génomique et protéique trois mois après administration de tamoxifène : son efficacité était d'environ 90% chez les mâles et 70% en moyenne chez les femelles (**Figure 22A**). Le taux de recombinaison était donc élevé. Quant à l'expression résiduelle de l'Hacd1 dans les muscles des mâles, elle était équivalente à 20% de celle des témoins **(Figure 22B)**. Hacd1 était donc bien réduite chez les individus *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+. Un seul mâle *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+ nourri au tamoxifène n'a présenté aucune recombinaison. Son génotype a été confirmé et la PCR destinée à évaluer la recombinaison a été effectuée à deux reprises. La raison de l'absence totale d'efficacité de la Cre n'a pas pu être déterminée et ce mâle a donc été retiré de la cohorte pour les analyses.
Le phénotype métabolique des souris mâles adultes a ensuite été évalué en effectuant des tests de tolérance au glucose et de sensibilité à l'insuline. La réponse des mâles à un régime alimentaire riche en graisses de 12 semaines a également été étudiée. Ils ont finalement été euthanasiés afin de peser leurs muscles. Quant aux femelles, elles ont été incluses dans un protocole simplifié avec uniquement une euthanasie à sept mois (**Figure 23A**).

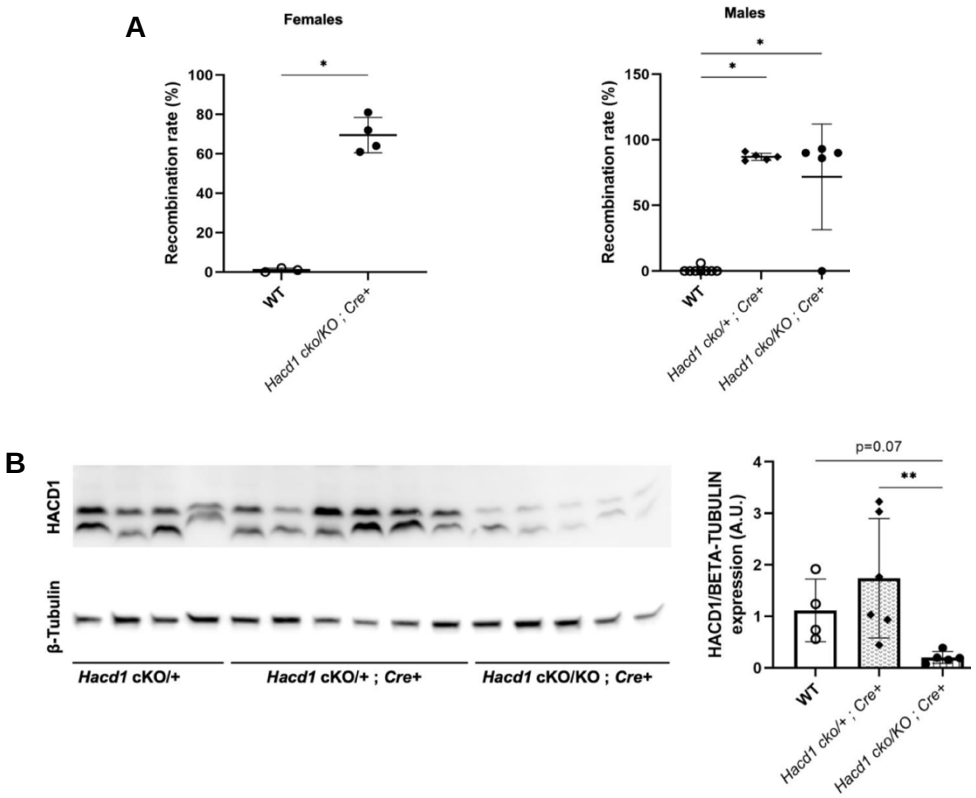


Figure 22 : Validation de la délétion d'*Hacd1* par KO conditionnel, dans les muscles squelettiques à l'âge adulte après recombinaison (Vandestienne-Ratnam, 2021).
Taux de recombinaison évalué par qPCR chez les individus femelles et mâles dans le *tibialis anterior* après recombinaison par le tamoxifène **(A)**. Western blot quantifié de la quantité d'Hacd1 normalisé à la bêta tubuline dans des extraits de *tibialis anterior* de souris mâles après recombinaison **(B)**.

1.3.2.2. Résultats

Les mâles *Hacd1*-skwKO ont toléré le glucose et répondu à l'insuline de la même manière que leurs compagnons de portée témoins ; le métabolisme énergétique paraissait donc conservé (**Figure 23B,C**). De plus, au cours des 12 semaines du régime alimentaire riche en graisses, ils sont progressivement devenus aussi obèses que les témoins, avec une prise de poids hebdomadaire similaire atteignant jusqu'à +60% au bout de la 12ème semaine (**Figure 23D**). Et à la fin du régime, leur poids corporel et la masse de leurs muscles *tibialis anterior* (TA) et gastrocnémiens étaient similaires à ceux de leurs compagnons de portée témoins (**Figure 23E-G**). Quant aux respirations couplée et non couplée du muscle TA, elles ont été mesurées à l'aide d'un appareil Seahorse, et le rapport de couplage entre ces deux respirations a été calculé : aucun de ces paramètres n'a été modifié chez les souris skw*Hacd1*-KO (**Figure 23H-J**). Le ratio respirations phosphorylante / non-phosphorylante est une indication de l'efficacité mitochondriale. C'est pourquoi il a été conclu à une absence de phénotype mitochondrial et donc métabolique global chez ces individus.

Concernant les femelles skw*Hacd1*, celles-ci présentent un poids et une masse du gastrocnémien légèrement diminués par rapport à ceux de leur portée témoin (**Figure 23K-M**).

En résumé, les masses musculaires des mâles et des femelles semblaient normales après invalidation d'*Hacd1* à l'âge adulte par cette stratégie.

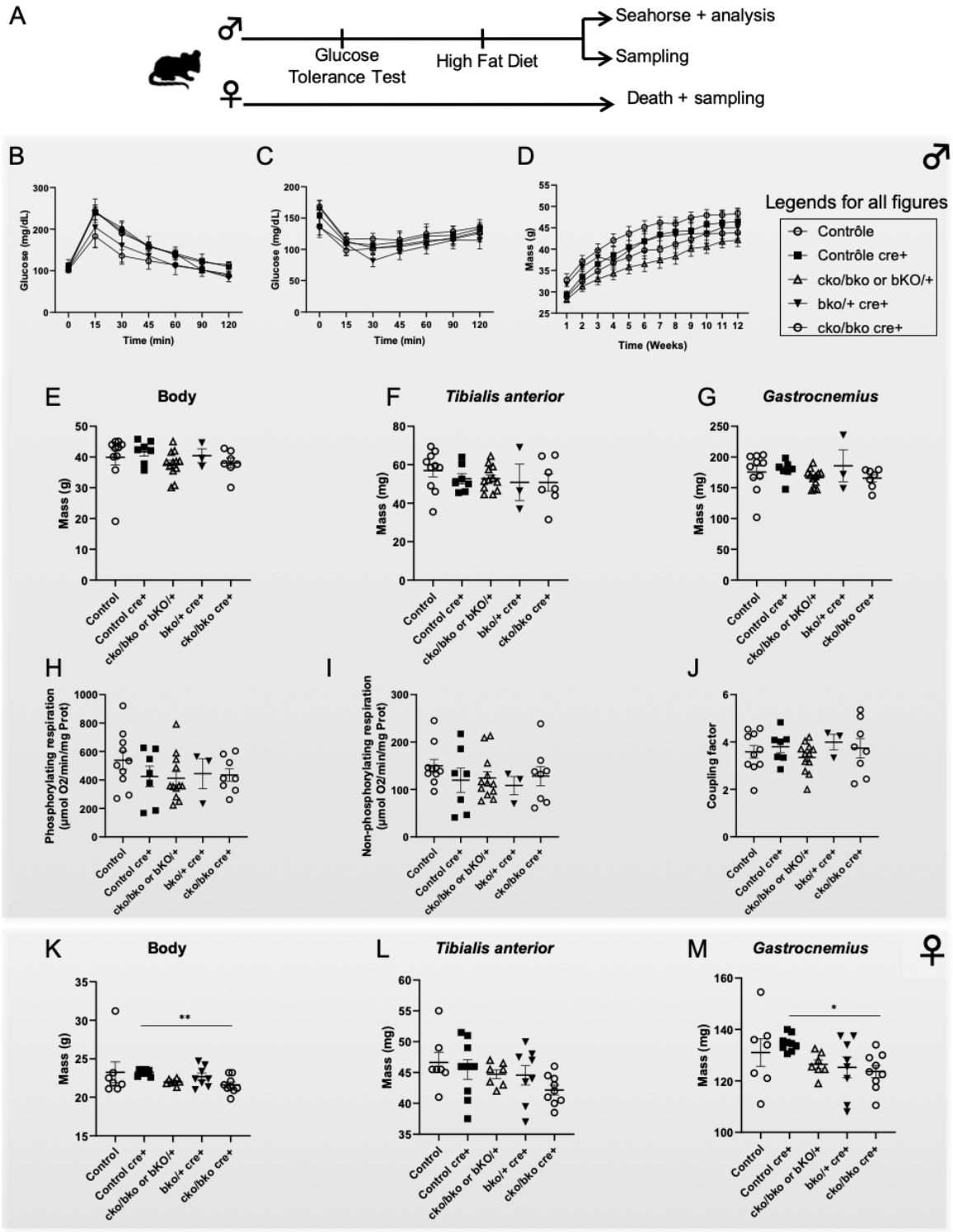


Figure 23 : Étude de la délétion d'*Hacd1* à l'âge adulte (Vandestienne-Ratnam, 2021).
Conduite des expériences sur les souris skw*Hacd1*-KO **(A)**. Glycémie après injection intrapéritonéale de glucose **(B)** ou d'insuline **(C)** chez les mâles adultes. Suivi hebdomadaire de la prise de poids chez les mâles sous régime alimentaire riche en graisses **(D)**. Poids corporel **(E)**, masses du *tibialis anterior* **(F)** et du gastrocnémien **(G)** des souris mâles après le régime alimentaire riche en graisses. Respirations phosphorylante **(H)** et non phosphorylante **(I)** et leur rapport appelé couplage respiratoire **(J)**. Poids corporel **(K)**, masses du *tibialis anterior* **(L)** et du gastronémien **(M)** des femelles.

1.3.2.3. Discussion

Tout d'abord, le taux de recombinaison réel doit être proche de 100% dans les fibres musculaires des mâles comme des femelles puisqu'il est sous-estimé du fait que la qPCR a été réalisée sur muscle entier, c'est-à-dire y compris sur des cellules non sujettes à la recombinaison (fibroblastes, cellules vasculaires…), ayant un promoteur *HSA* inactif.
Ensuite, les conclusions tirées de ces résultats sont doubles. L'absence de réduction de la masse musculaire des mâles et des femelles corrobore l'hypothèse selon laquelle l'inactivation de *Hacd1* au-delà de la période de trois semaines après la naissance n'affecte pas la masse musculaire. En revanche, la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline normales des mâles skw*Hacd1*-KO et le manque de protection vis-à-vis de l'obésité étaient inattendus. Il est donc probable que le tamoxifène, identifié pour son action bénéfique sur des modèles murins de dystrophie musculaire de Duchenne et de myopathie centronucléaire MTM, cible également les mitochondries et corrige les défauts de couplage mitochondrial résultant de la perte de fonction *Hacd1*. En effet, le tamoxifène agit comme un agoniste des œstrogènes dans le muscle et pourrait ainsi expliquer l'absence de phénotype chez les *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+ car, de base, seuls les mâles *Hacd1*-KO présentent un phénotype métabolique (Dorchies *et al.*, 2013a ; Gayi *et al.*, 2018d ; Maani *et al.*, 2018 ; Prola *et al.*, 2019).
Pour finir, il serait intéressant de reproduire cette étude inductible non pas par le tamoxifène mais par la doxycycline cette fois qui, sans composante hormonale, n'est pas censée interférer avec le fonctionnement musculaire (Rao et Monks, 2009). Cet antibiotique d'action très courte active un transactivateur qui se fixe sur le promoteur de *HSA*-CRE provoquant l'expression de la CRE dans le muscle et donc la recombinaison.

Au vu de ces conclusions, notamment de la disparition du phénotype myopathe lors de l'utilisation du tamoxifène chez les mâles, suggérant que cette molécule pourrait avoir sauvé le phénotype, et de ceux des femelles qui ne présentent pas les mêmes résultats que les mâles, il semblerait que les œstrogènes puissent posséder un effet protecteur sur la myopathie. Il apparaît donc pertinent de poursuivre les investigations concernant le potentiel thérapeutique du tamoxifène chez les souris Hacd1-*KO.*

2. Étude actuelle

2.1. Introduction

Il a été prouvé qu'il existe un dimorphisme sexuel des mitochondries des muscles squelettiques. Les mitochondries des muscles squelettiques des souris femelles ont une plus forte prévalence dans les fibres de types I et IIA (bien que cela dépende des muscles et des espèces). Par ailleurs, leur métabolisme énergétique est plus basé sur l'oxydation des graisses. Et, enfin, les souris femelles ont une masse mitochondriale plus importante. Au bilan, celles-ci ont des capacités d'endurance plus élevées et une plus grande résistance à la fatigue.
À l'inverse, les mitochondries des muscles squelettiques des souris mâles ont une plus forte prévalence dans les fibres rapides de types IIB et IIX et un métabolisme énergétique plus basé sur l'utilisation du glycogène. Cela leur confère plutôt une puissance maximale plus élevée.
Ce dimorphisme sexuel est, comme nous pouvons nous y attendre, en majorité lié aux œstrogènes qui, comme nous l'avons vu, ont plusieurs effets au niveau de la mitochondrie : modulation de la production d'ATP, de la génération d'espèces réactives de l'oxygène, des défenses antioxydantes, du potentiel de membrane mitochondrial, de l'homéostasie du

calcium, de la biogenèse mitochondriale, du contrôle de la qualité des mitochondries ou encore de la mitophagie.
Dans le muscle squelettique, il y a deux formes principales d'ER : α et ß.

On sait maintenant que le tamoxifène a des activités anti-œstrogéniques exploitées pour le traitement des cancers du sein depuis maintenant plus de 20 ans.
Cependant, il a également des activités pro-œstrogéniques sur les os, le cerveau et l'utérus. Il est d'ailleurs utilisé comme traitement de l'ostéoporose.
Mais ces activités pro-œstrogéniques intéressent également les muscles. Le tamoxifène prévient le stress oxydatif en piégeant les radicaux peroxyles, stabilise les membranes biologiques des dommages induits par la contraction, module l'homéostasie du calcium, prévient l'apoptose médiée par les mitochondries et inhibe la fibrose. Tous ces mécanismes sont impliqués dans la dystrophie musculaire de Duchenne. Ainsi, le tamoxifène restaure la force du corps entier et diminue la fibrose du cœur chez les souris mdx (**cf 4.2.5.1. Première partie**). Il accroît également l'espérance de vie et la force chez les souris *Mtm1*-KO, atteinte de la myopathie myotubulaire liée à l'X (**cf 4.2.5.2. Première partie**).

Le tamoxifène a donc déjà été testé sur deux myopathies complètement différentes, et ce avec succès. Or la myopathie *Hacd1*-KO présente des points communs avec la myopathie myotubulaire liée à l'X, à la fois histologiques (myopathies centro-nucléaires) et mécanique (dynamiques des lipides et des membranes).
De plus, les femelles *Hacd1*-KO présentent une myopathie moins sévère sans doute grâce au rôle protecteur des œstrogènes précédemment décrit. Or, dans le muscle, le tamoxifène est agoniste des ER donc a une fonction *estrogen-like*.
Pour finir, les tests sur les souris *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+ avec une induction au tamoxifène dans le muscle après la fin du développement ne montraient pas de différences entre les souris WT et les souris *Hacd1*$^{KO/cKO}$; Cre+, ce qui laissait suspecter que le tamoxifène protège contre la myopathie ou bien que le taux de recombinaison est trop faible (il était alors de 90 %, ce qui peut être trop faible dans certaines études).
Ces trois arguments nous ont poussé à réaliser l'étude actuelle afin de préciser les effets du tamoxifène chez les souris *Hacd1*-KO.

2.2. Matériels et méthodes

2.2.1. Souris

Les expériences sur les souris ont été approuvées par le Comité d'éthique de l'Anses/EnvA/Upec : agréments ComEth 17-030 et 20-061 #26147.

Tous les soins et les manipulations ont été effectués conformément à la législation nationale et européenne sur l'expérimentation animale. Les études ont été réalisées sur des souris mâles et femelles qui ont été logées dans des cages jetables contenant un enrichissement environnemental (coton et cabane), dans des pièces maintenues à 22 ± 2 °C avec un taux de renouvellement de l'air de 12 vol/h et éclairées de 6h à 18h. La nourriture et l'eau étaient données *ad libitum*, sauf indication contraire. Les souris *Hacd1-knockout* (*Hacd1*-KO) ont été générées par croisement entre souris hétérozygotes. Les individus WT et *Hacd1*-KO provenaient donc des mêmes portées. L'alimentation était soit un régime normal (ND, 3188 kcal/kg provenant des glucides (64 %), des protéines (24 %) et des graisses (12 %) ; régime d'entretien pour les souris #C1324, Altronim), soit un régime riche en graisses (HFD, 5241 kcal/kg provenant des graisses (60 %), des glucides (23 %) et des protéines (17 %) ; Diet-Induced Obesity-Diet #C1090, Altronim). Les souris ont été pesées chaque semaine.

Les souris ont été euthanasiées par dislocation cervicale. Ont alors été prélevés : le sérum, le cœur, le foie, les reins, le tissu adipeux blanc (WAT) péri-gonadique, un testicule ou

l'utérus suivant le sexe de l'animal, la partie superficielle glycolytique des muscles gastrocnémiens, les muscles soléaires, oxydatifs, les muscles EDL (*extensor digitorum longis*), glycolytiques, et les muscles TA, mixte, les biceps et un bout de queue.
Le sérum a été utilisé pour quantifier le tamoxifène. Pour ce faire, après dislocation et dissection, 1 µL/g d'animal d'héparine était injecté dans le cœur, puis le ventricule droit était sectionné afin de récupérer le sang qui était ensuite centrifugé à 1000 g pendant 10 min à 4°C afin de récupérer le sérum surnageant.
Il a été décidé de peser les reins en raison d'épisodes d'hydronéphrose.
Le cœur, le foie et la graisse blanche sont trois organes qui utilisent beaucoup d'énergie, ils seront utilisés pour des analyses biochimiques.
Les testicules/utérus ont été pesés en raison de l'effet déjà décrit du tamoxifène sur les organes sexuels.
Les tubes contenant des morceaux de cœur, de foie et de WAT, un soléaire, le gastrocnémien associé (uniquement le gastrocnémien superficiel isolé du gastrocnémien entier), un TA et les biceps coupés en morceaux ont été pesés puis congelés instantanément dans l'azote liquide en vue de futures analyses : extraction de protéines (pour réaliser des Western blot), d'ARN (pour des quantifications par RT-qPCR) ou d'ADN afin de vérifier l'expressions de certains gènes (comme les *ER* ou *Dnm2*).
Le bout de queue prélevé a permis de re-génotyper les animaux.
Lors d'anomalies observées à la dissection, certains organes (ex : hydronéphrose, vessie d'aspect anormal…) ont pu être conservés afin de les faire analyser au service d'histologie de l'EnvA.
Les différents muscles ont été utilisés pour fournir un panel représentatif de muscles ayant une composition en myofibres différente.

- Ainsi, le deuxième soléaire n'a pas été séparé de son gastrocnémien et ils ont été congelés instantanément en isopentane refroidi dans l'azote liquide pendant 30 sec – 1 min pour la cryosection des muscles après stockage à -80°C. Les observations histologiques qui seront plus tard réalisées (à partir d'une coloration classique à l'hémalun-éosine) permettront d'évaluer si le muscle est ou non abîmé par le tamoxifène, si de la fibrose ou de la nécrose sont présentes mais aussi si les noyaux sont centralisés. Ensuite des marquages permettront d'observer les capacités glycolytiques du gastrocnémien (activité GDPH) et oxydatives du soléaire (activités SDH ou COX) ;
- Le deuxième TA a été transféré dans une solution de tampon phosphate salin + acide éthylènediaminetétraacétique (PBS + EDTA) afin d'isoler les mitochondries, en suivant dans la même journée (**cf 2.2.3.1. Deuxième partie**) ;
- Les fibres des EDL ont été immédiatement disséquées sur glace afin de les isoler et de les perméabiliser par la saponine pendant 30 min en agitation forte à 4°C avant de les rincer pendant 10 min en agitation forte à 4°C à nouveau, dans le but d'effectuer l'analyse de la respiration cellulaire, en suivant dans la même journée (conservation sur glace) (**cf 2.2.3.2. Deuxième partie**) ;
- Les biceps ont été conservés pour quantifier le tamoxifène, en parallèle du sérum.

Les muscles des deux postérieurs ont été pesés et moyennés pour obtenir une masse musculaire moyenne présentée sur chaque graphique. Dans l'étude HFD, le WAT faisait référence à l'ensemble du WAT gonadique. La longueur du tibia a été mesurée afin de normaliser les pesées. Le bout de queue a été conservé au congélateur en vue d'un nouveau génotypage par PCR. La longueur du corps entier a également été mesurée. Enfin, les corps ont été conservés à -50°C afin de réaliser des radiographies corps entier du squelette, suite à l'observation fréquente de cyphose.

2.2.2. Évaluation fonctionnelle

Le traitement à base de tamoxifène a été démarré à un mois d'âge et les expériences à partir de 2,5 mois. Les femelles commençaient par les tests de vitesse maximale aérobie

(VMA) et endurance sur tapis roulant, puis enchaînaient avec les tests métaboliques de sensibilité à l'insuline et de tolérance au glucose et finissaient par le test de force sur la grille. Les mâles, quant à eux, commençaient par les tests métaboliques, puis enchaînaient avec le tapis roulant et finissaient par la grille. Du début du traitement à l'euthanasie, toutes les souris étaient pesées une fois par semaine. Les analyses *post mortem* étaient multiples et regroupaient la respiration cellulaire, la caractérisation histologique, la quantification du tamoxifène, l'analyse lipidomique et la microscopie électronique. Tout cela est résumé par la **Figure 24**.

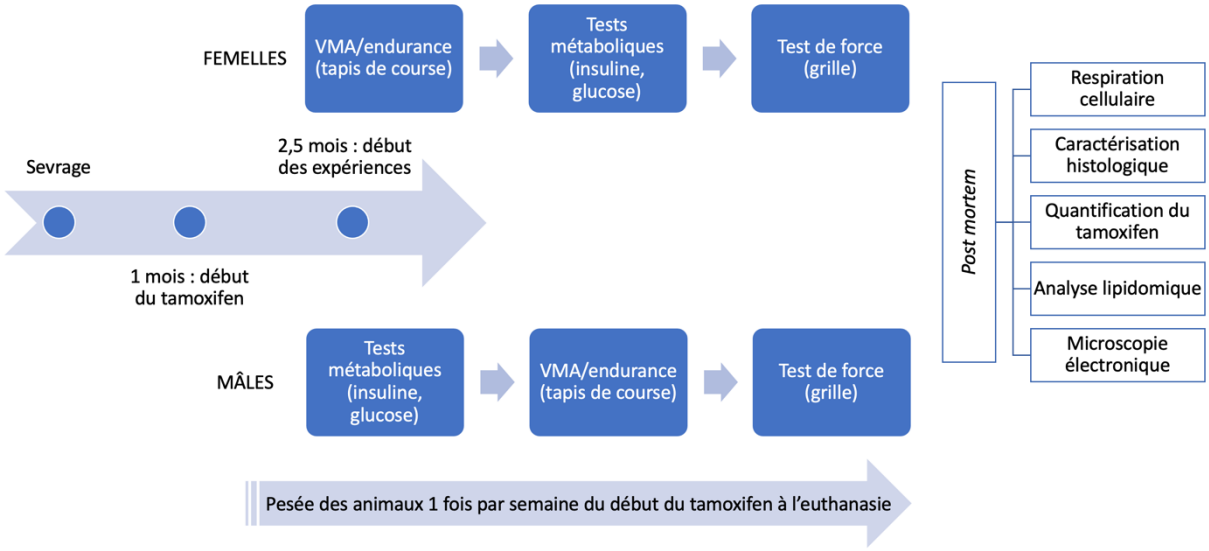


Figure 24 : Déroulé des expériences chez les souris *Hacd1*-KO recevant du tamoxifène.
VMA = vitesse maximale aérobie

2.2.2.1. Tests sur le tapis roulant

La capacité de course a été évaluée sur un tapis roulant (Panlab, modèle LE8710MTS) à une pente de + 4 %. Toutes les souris ont été initialement acclimatées au tapis roulant pendant cinq jours (10 min/jour, 12 m/min ; **Annexe 1**). La vitesse maximale aérobie a été déterminée en soumettant les souris à un exercice d'intensité progressivement croissante. La vitesse a été progressivement augmentée selon le programme de vitesse maximale aérobie (**Annexe 2**) et la vitesse du dernier pas de course terminé avant l'épuisement a été considérée comme la valeur de vitesse maximale aérobie individuelle. La capacité d'endurance a été déterminée en soumettant les souris à un exercice d'intensité sub-maximale (60 % de la vitesse maximale aérobie) jusqu'à épuisement.

2.2.2.2. Tests de tolérance au glucose

Le test de tolérance au glucose a été réalisé sur des souris à jeun pendant 16 heures avant une injection intrapéritonéale de glucose à 40 % dans de l'eau bidistillée à une dose de 3 g de glucose par kg de masse corporelle pour les souris nourries au ND.

Une goutte de sang a été prélevée dans la veine de la queue juste avant l'injection (T0) puis après 30, 60, 90 et 120 min afin de mesurer la concentration de glucose dans le sang (Glycemia ; glucomètre Contour XT ; Bayer).

2.2.2.3. Test de force

Une grille verticale a été utilisée pour ce test. La souris était placée au centre de la grille, qui était doucement placée à l'horizontale. Le chronomètre était déclenché quand la grille était à mi-course et arrêté lorsque la souris tombait. Le temps était noté, la souris remise, puis le test continuait. De cette façon, la souris soufflait pendant moins de 10 secondes entre deux chutes ou passage sous la grille. La mesure se terminait quand elle tombait deux fois de suite avec moins de 10 secondes entre les chutes. Le résultat retenu était le temps final affiché par le chronomètre soit 6 min 47 si la souris chutait à 5 min 36 puis à 6 min 42 puis à nouveau à 6 min 47.
Assez rapidement, nous distinguions bien les souris qui sautaient de la grille (en faisant un salto ou en se suspendant par les pattes arrières, en explorant puis en choisissant de lâcher) de celles qui tombaient de fatigue : elles lâchaient les pattes arrières, puis glissaient lentement de la grille malgré toute leur bonne volonté pour s'accrocher (**Figure 25**). L'expérience pour les premières, même si elles enchaînaient deux chutes en moins de 10 secondes, était poursuivie en maintenant la grille un peu plus haut quelques instants pour les dissuader de se laisser tomber.
Par ailleurs, un substrat suffisamment épais était placé dans le fond de la cage sur laquelle reposait la grille, afin d'amortir leurs chutes.
L'appréciation du test de force étant assez subjectif, cette expérience était réalisée par le même expérimentateur dans la mesure du possible.
Des grilles étaient placées dans chacune des cages, en guise d'habituation à cette expérience.

Figure 25 : Illustration du test de force (Dorchies *et al.*, 2013b)**.**
On voit bien que la souris en bas à droite, ne se maintenant que par les membres antérieurs, est sur le point de lâcher de fatigue. Dans notre expérience, le fil a été remplacé par une grille.

2.2.3. Tests sur les mitochondries

2.2.3.1. Isolement des mitochondries du muscle tibialis anterior

Les muscles TA ont été rapidement prélevés après l'euthanasie des souris dans du PBS glacé (Thermo Fisher Scientific) complété par 10 mM d'EDTA ; les échantillons de muscle ont ensuite été hachés avec des ciseaux, rincés et incubés dans 5 mL de PBS glacé complété par 10 mM d'EDTA et 0,05 % de trypsine pendant 30 min sur glace (4°C), suivi d'une centrifugation à 200 g pendant 5 min. Les culots ont été mis en suspension dans le tampon d'isolement 1 (67 mM de saccharose, 50 mM de KCl, 10 mM d'EDTA, 0,2 % de BSA et 50 mM de Tris-HCl, pH 7,4) et homogénéisés avec un homogénéisateur Dounce (Sigma). Les mitochondries ont été purifiées par une centrifugation différentielle à 700 g pendant 10 min et les surnageants contenant des mitochondries ont ensuite été centrifugés à 8 000 g pendant 10 min. Le culot mitochondrial brut a été remis en suspension dans un volume approprié de tampon d'isolement 2 (250 mM de saccharose, 3 mM d'EGTA et 10 mM de Tris-HCl, pH 7,4). La concentration en protéines a été évaluée à l'aide du test de l'acide bicinchoninique (Pierce). Chaque étape de centrifugation a été réalisée à 4°C.
Ces mitochondries isolées seront utilisées ultérieurement pour des analyses lipidomiques.

2.2.3.2. Mesure de la respiration sur fibres isolées

La respiration mitochondriale a été étudiée *in vitro* dans des fibres musculaires perméabilisées par la saponine. En bref, les fibres du muscle EDL ont été séparées sous une loupe binoculaire dans une solution S (2,77 mM CaK_2 EGTA, 7,23 mM K2 EGTA, 20 mM taurine, 0,5 mM DTT, 20 mM imidazole, 50 mM potassium-méthane sulfonate, 5,7 mM Na2 ATP, 15 mM créatine-phosphate (solution finale : pH 7.1, force ionique 160 mM, 100 nM Ca^{2+} libre, 1 mM Mg^{2+} libre)) sur de la glace et ensuite perméabilisées dans une solution S contenant 50 µg/ml de saponine pendant 30 min à 4°C. Après avoir été placés 10 min dans la solution R (2,77 mM CaK_2 EGTA, 7,23 mM K2 EGTA, 20 mM taurine, 0,5 mM DTT, 20 mM imidazole, 3 mM phosphate, 90 mM potassium-méthane sulfonate, 10 mM sodium-méthane sulfonate et 2 mg/mL d'albumine de sérum bovin sans acide gras, (solution finale : pH 7. 1, 160 mM de force ionique, 100 nM de Ca^{2+} libre, 1 mM de Mg^{2+} libre)) pour éliminer par lavage les nucléotides d'adénine et le phosphate de créatine, les fibres séparées et perméabilisées ont été transférées dans une cellule d'oxygraphie de 2 mL (Oroboros) équipée d'une électrode de Clark, sous agitation continue. Après les expériences, les fibres ont été récoltées et séchées et les taux de respiration exprimés en µmoles de O_2 par min et par mg de masse sèche.
Pour ce faire, nous avons pu utiliser l'Oroboros, une machine à Chatenay, grâce à l'aimable collaboration de Mathias Mericskay et Jérôme Piquereau.
La **Figure 26** présente un exemple des graphes ainsi obtenus.

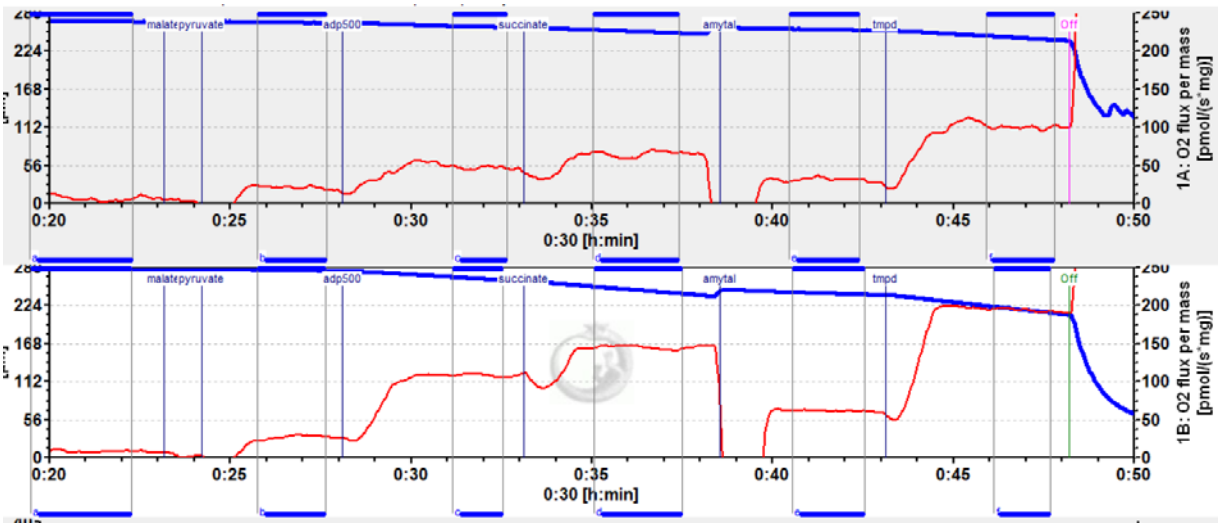


Figure 26 : Exemple de graphe issu de l'Oroboros pour quantifier la respiration mitochondriale. La courbe bleue correspond à la concentration en O2 et la courbe rouge, celle qui nous intéresse particulièrement, est la dérivée de la première. À la 23e minute, du malate et du pyruvate sont ajoutés : en l'absence d'ADP dans le milieu, il s'agit de la respiration non phosphorylante. À la 28e minute, cette fois de l'ADP est ajoutée au milieu : il s'agit de la respiration phosphorylante réalisée par la NADH déshydrogénase (complexe I dans le ***2.3.1.* Première partie**). À la 33e minute, du succinate est ajouté au milieu : cela permet d'étudier le fonctionnement conjoint des complexes I et II. À la 39e minute, de l'amytal est ajouté au milieu : celui-ci inhibe le complexe I et permet donc d'étudier uniquement le fonctionnement du complexe II. Enfin, à la 43e minute, du TMPD est ajouté au milieu : celui-ci permet d'étudier directement le complexe IV.

2.2.4. Quantification et analyses statistiques

Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne des valeurs mesurées sur des échantillons distincts ± s.d. Les données ont été analysées à l'aide de Graphpad. Les données brutes de chaque expérience individuelle ont été évaluées à l'aide d'un test t bilatéral non apparié avec un niveau de confiance de 95 %. Pour les ensembles de données qui n'ont pas passé le test de normalité omnibus de D'Agostino et Pearson (alpha = 0,05), les différences ont été évaluées à l'aide d'un test de Mann-Whitney non paramétrique non apparié à deux points avec un niveau de confiance de 95 %. Les tests par paires multiples ont été corrigés par la méthode de Holm-Bonferroni. L'égalité de la variance a été analysée par le test F et les comparaisons entre les groupes ont été effectuées à l'aide de l'analyse de la variance avec les génotypes des souris (souris WT ou *Hacd1*-KO), la nourriture, les tests réalisés et leurs interactions comme facteurs suivis du test post hoc de Tukey. Les différences entre les groupes ont été considérées comme significatives si la *P value* était inférieure à 0,05.

2.3. Implication personnelle

Au cours de cette partie expérimentale, j'ai pris part à plusieurs des expériences citées plus haut. J'ai tout d'abord participé aux pesées hebdomadaires des animaux mais également à l'habituation pour les tests de VMA et d'endurance, aux tests métaboliques (de sensibilité à l'insuline et de tolérance au glucose), au test de force et enfin aux dissections et à l'isolement des mitochondries.

2.4. Résultats

2.4.1. Suivi du poids

Chez les mâles comme chez les femelles, nous avons constaté une augmentation du poids des souris WT plus marquée que celle des souris *Hacd1*-KO (**Figure 27A à D**). Par ailleurs, cette prise de poids était moindre pour les animaux traités au tamoxifène. De même, la consommation de nourriture a été évaluée en pesant l'aliment toutes les semaines et s'avérait légèrement diminuée chez les souris traitées avec du tamoxifène par rapport aux souris contrôles (**Figure 27E**).

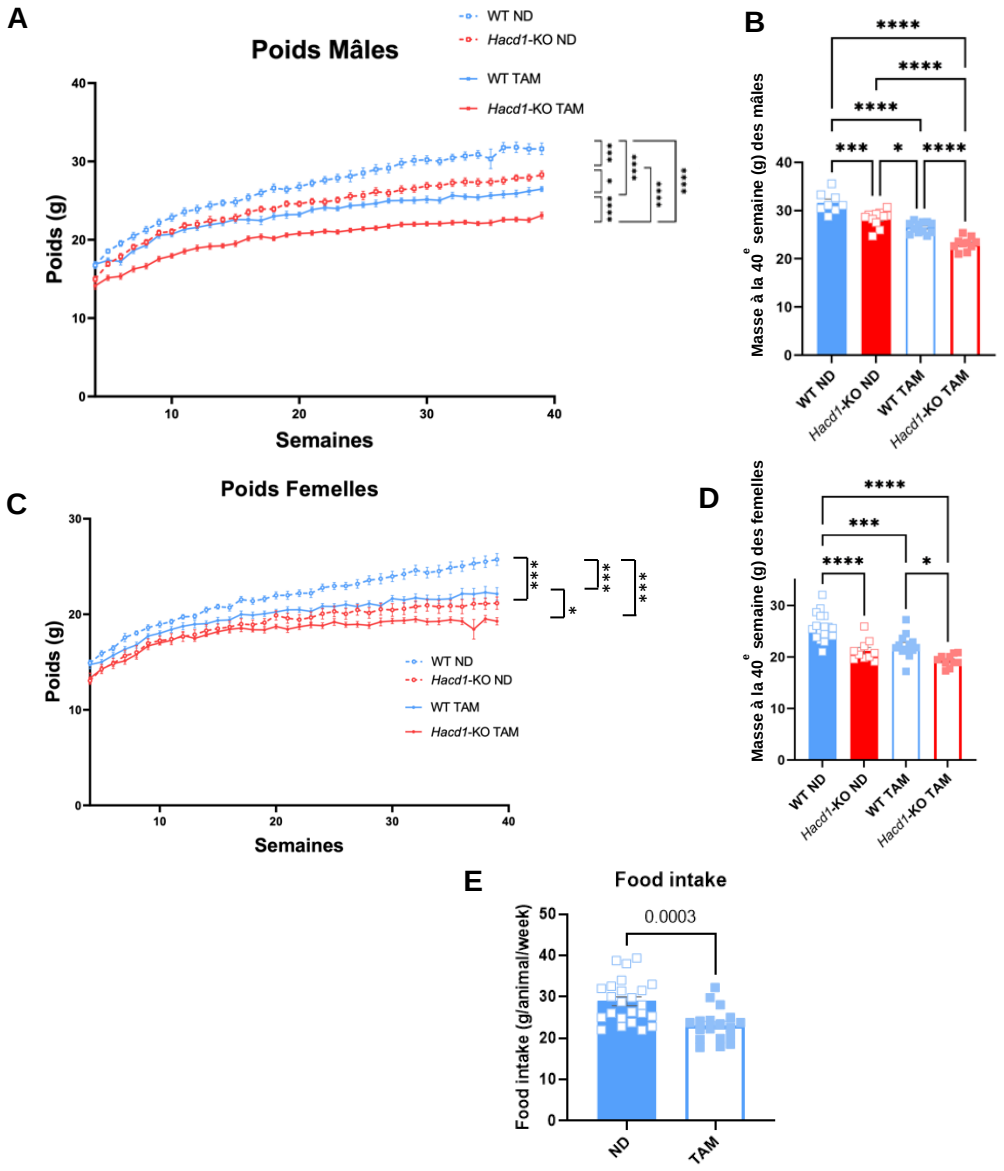


Figure 27 : Suivi du poids et de la prise alimentaire chez les *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène.
Évolution du poids des mâles **(A)** et des femelles **(C)** WT et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène. Poids à la 40^{e} semaine des mâles **(B)** et des femelles **(D)**. Évolution de la consommation de nourriture contrôle (*normal diet*) ou avec tamoxifène chez les mâles et les femelles **(E)**.

2.4.2. Observation des animaux

Au cours des manipulations avant euthanasie, des malformations du rachis ont été observées chez de nombreux individus traités par le tamoxifène, WT et *Hacd1*-KO, comme celui présenté sur la **Figure 28**. Celles-ci étaient associées à des démarches anormales. Au début, nous avions même pensé à des fractures du bassin chez certaines souris qui présentaient un bassin anormal mais celles-ci se mouvaient quand même avec énergie. Il s'est avéré qu'elles souffraient plutôt de cyphose et scoliose que nous avons ensuite pu caractériser en *post-mortem* (**cf 2.4.5.3. Deuxième partie**).

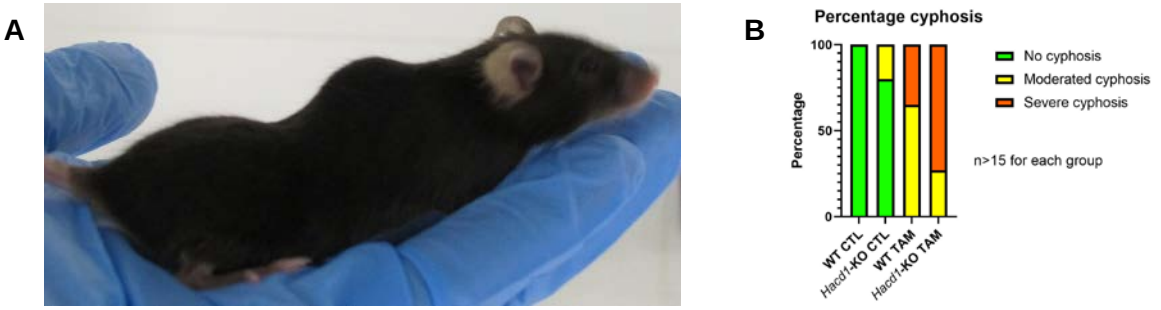


Figure 28 : Cyphose dès 4 mois chez les *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène.
Photographie d'une souris atteinte **(A)** et pourcentage de cyphose dans les différents groupes **(B)**.

2.4.3. Tests fonctionnels

Concernant les tests fonctionnels, une différence significative a été observée pour la VMA des mâles : les mâles WT avec tamoxifène avaient une VMA significativement réduite par rapport aux individus non traités (**Figure 29A**). En revanche, aucune différence significative interprétable n'a été observée pour l'endurance des mâles (**Figure 29B**). Pour les femelles, nous avons observé uniquement une diminution de la VMA et de l'endurance entre les WT en ND et les WT traités au tamoxifène (**Figure 29C et D**).
Concernant le test de force, les résultats étaient très dispersés pour les mâles et aucune tendance significative ne s'est dessinée (**Figure 29E**). Pour les femelles, en revanche, nous avons trouvé une diminution significative du temps tenu par les souris femelles *Hacd1*-KO ND par rapport aux souris femelles WT ND (**Figure 29F**).

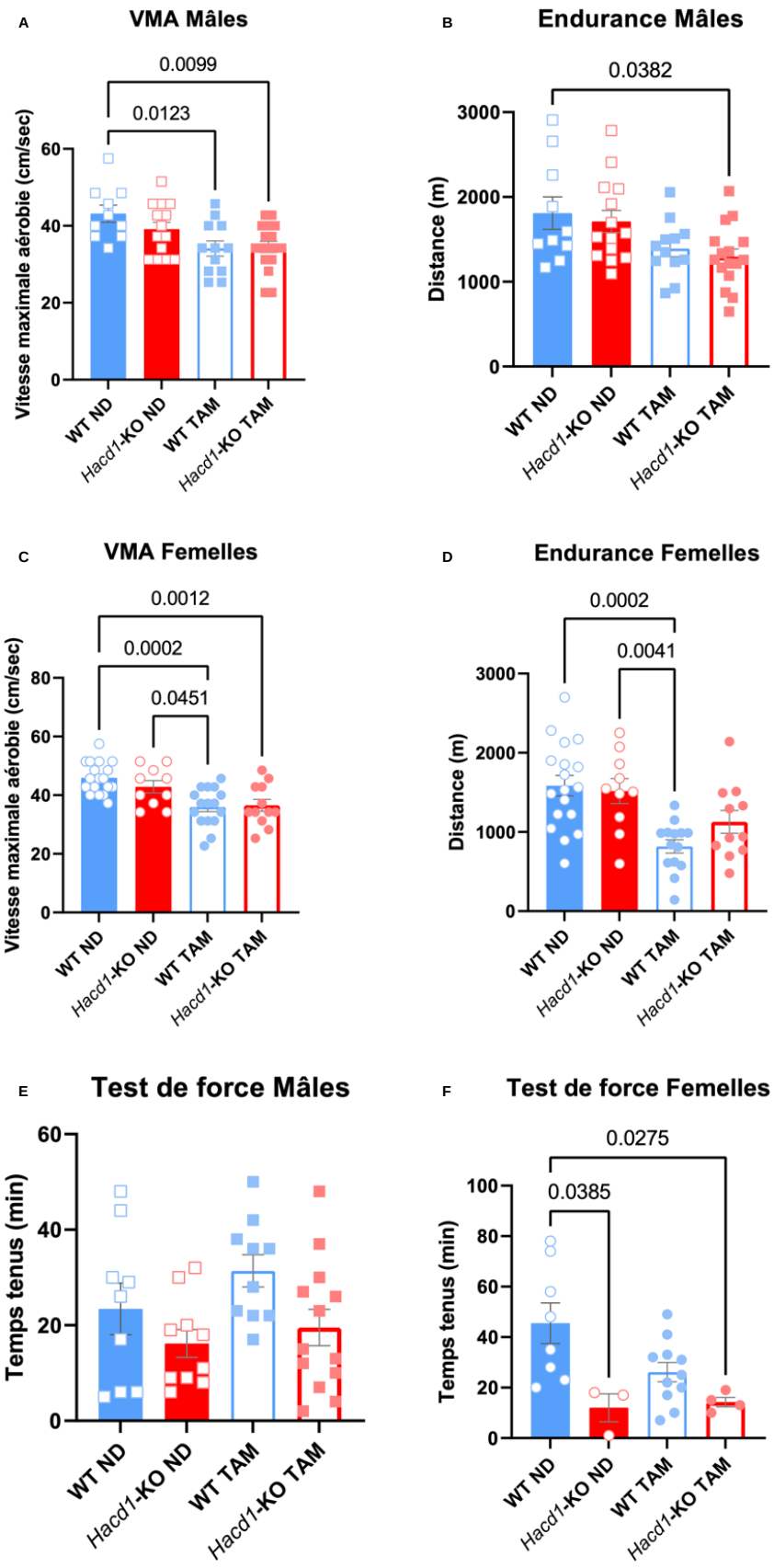


Figure 29 : Tests fonctionnels chez les *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène.
Vitesse maximal aérobie **(A)** et endurance **(B)** des mâles et vitesse maximale aérobie **(C)** et endurance **(D)** des femelles, tests de force chez les mâles **(E)** et les femelles **(F)**.

2.4.4. Test de tolérance au glucose

Pour les mâles, la glycémie était plus basse chez les souris *Hacd1*-KO que chez les souris WT tout au long du test de tolérance au glucose avec ou sans tamoxifène (**Figure 30A et B**). Pour les femelles en revanche, les résultats n'étaient pas significativement différents (**Figure 30C et D**).

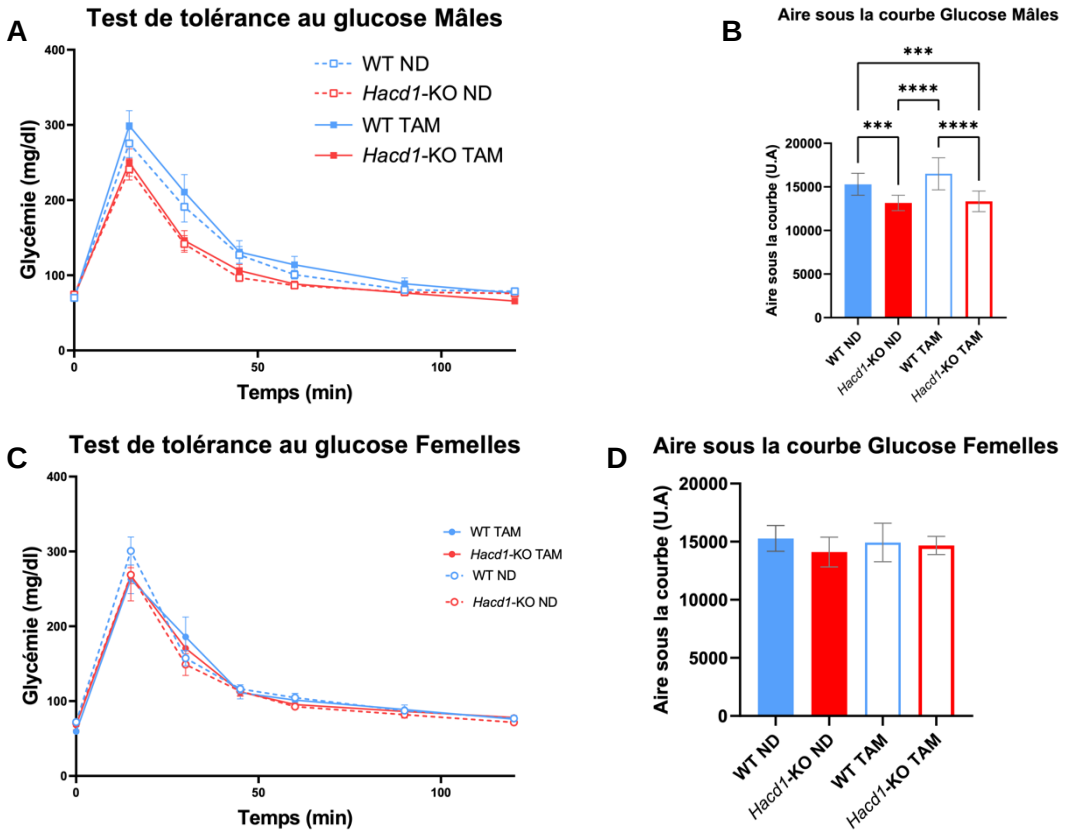


Figure 30 : Test de tolérance au glucose chez les *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène.
Courbe de glycémie **(A)** et aire sous la courbe **(B)** pour les mâles et courbe de glycémie **(C)** et aire sous la courbe **(D)** pour les femelles.

2.4.5. Analyses post-mortem

2.4.5.1. Pesée et mesures

2.4.5.1.1. Chez les mâles

En ND, les individus *Hacd1*-KO avaient une masse diminuée significativement par rapport aux WT (**Figure 31A**) ainsi que le poids de leur gastrocnémien (**Figure 31E**).

Les individus WT traités par le tamoxifène avaient une longueur de leur tibia augmentée significativement (**Figure 31B**) en parallèle d'une diminution significative de leur poids (**Figure 31A**), des poids de leur gastrocnémien (**Figure 31E**), de leur foie (**Figure 31G**) et de leur cœur (**Figure 31H**). Quant aux individus *Hacd1*-KO, ils avaient une longueur de leur tibia augmentée significativement (**Figure 31B**) en parallèle d'une diminution significative de leur poids (**Figure 31A**), des poids de leur testicule (**Figure 31C**), de leur gastrocnémien

(**Figure 31E**), de leurs TA (**Figure 31D**), de leur foie (**Figure 31G**), de leur cœur (**Figure 31H**), de leur WAT (**Figure 31I**) et de leur rein (**Figure 31J**).

Aucune différence significative n'a été observée concernant le poids des soléaires des mâles (**Figure 31F**).

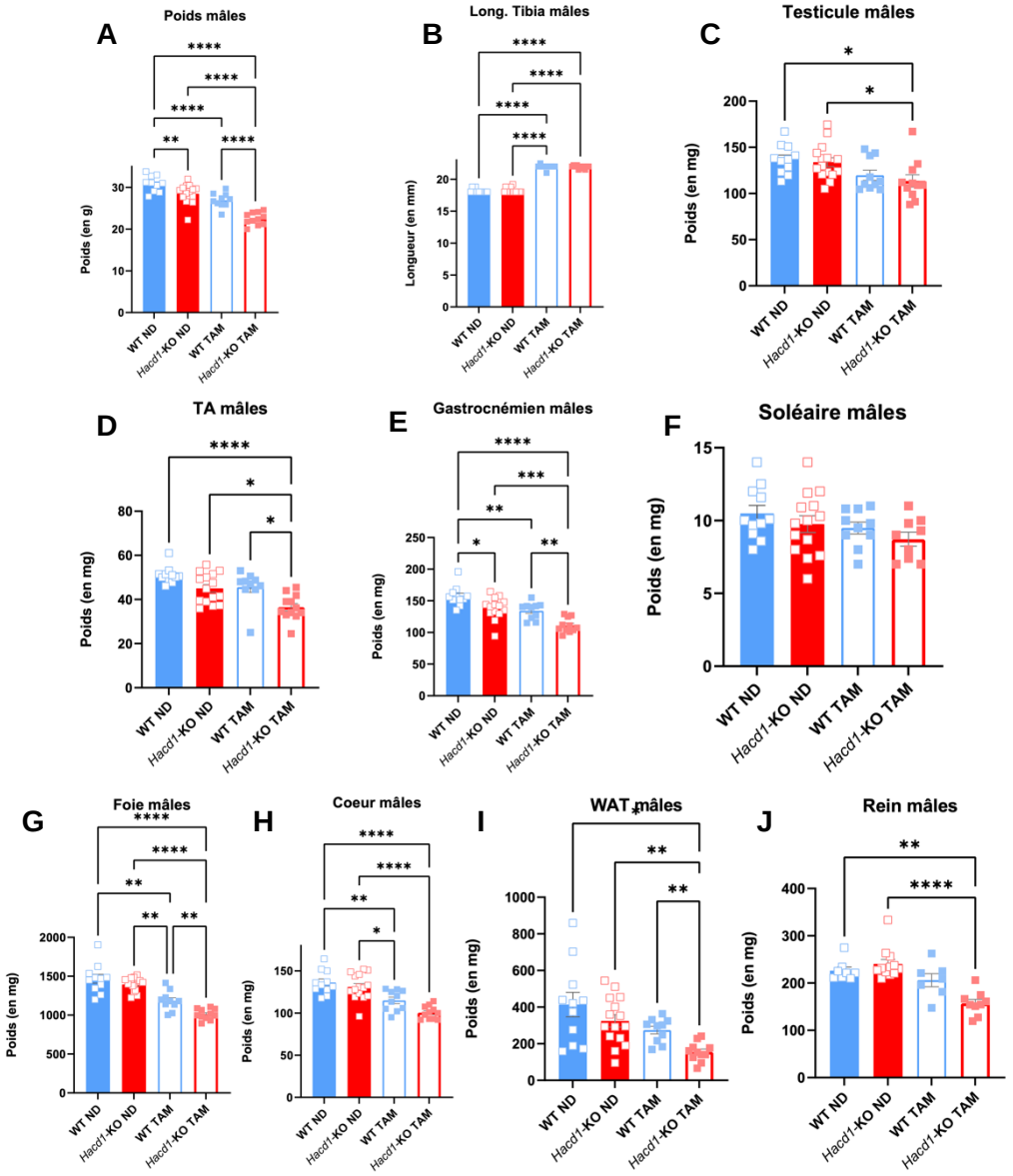


Figure 31 : Paramètres généraux chez les mâles *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène, issus des pesées et mesures effectuées post-mortem.
Poids du corps **(A)**, longueur du tibia **(B)**, poids d'un testicule **(C)**, des muscles *tibialis anterior* **(D)**, gastrocnémien **(E)** et soléaire **(F)**, du foie **(G)**, du cœur **(H)**, du tissu adipeux blanc (WAT) **(I)** et du rein **(J).**

2.4.5.1.2. Chez les femelles

En ND, les individus *Hacd1*-KO avaient un poids diminué significativement par rapport aux WT (**Figure 32A**) ainsi que les poids de leur gastrocnémien (**Figure 32E**), de leurs TA (**Figure 32D**) et de leur foie (**Figure 32G**).

Les individus WT traités par le tamoxifène avaient une longueur de leur tibia augmentées significativement (**Figure 32B**) en parallèle d'une diminution significative des poids de leur utérus (**Figure 32C**), de leur gastrocnémien (**Figure 32E**), de leur soléaire (**Figure 32F**), de leur WAT (**Figure 32I**) et de leur rein (**Figure 32J**). Quant aux individus *Hacd1*-KO, ils avaient une longueur de leur tibia augmentées significativement (**Figure 39B**) en parallèle d'une diminution significative des poids de leur gastrocnémien (**Figure 39E**) et de leur foie (**Figure 32G**).

Les femelles *Hacd1*-KO traitées avec du tamoxifène avaient un cœur moins lourd que les femelles WT en ND (**Figure 32H**).

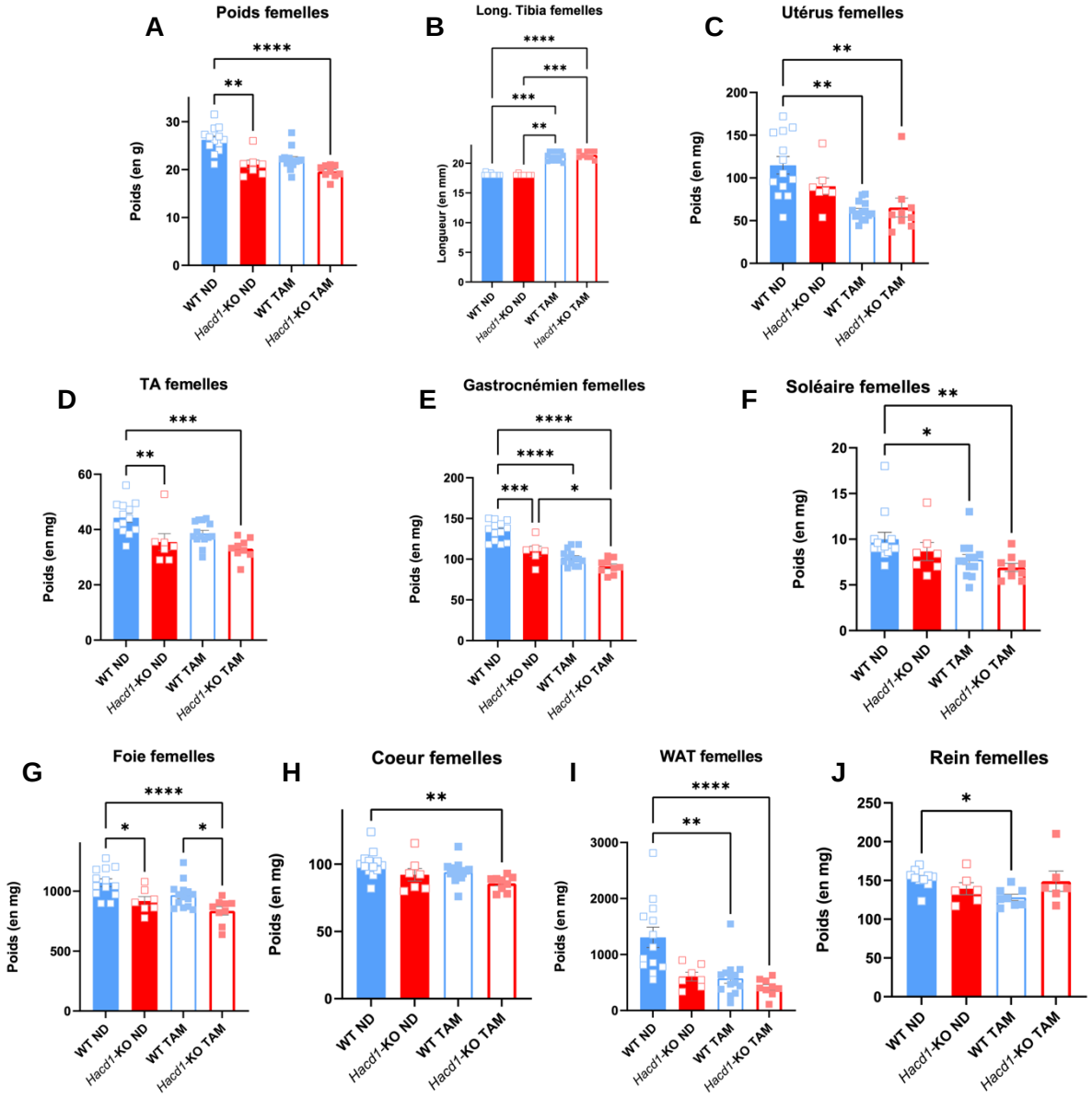


Figure 32 : Paramètres généraux chez les femelles *wild-type* et *Hacd1*-KO traités ou non avec du tamoxifène, issus des pesées et mesures effectuées post-mortem.
Poids **(A)**, longueur du tibia **(B)**, poids de l'utérus **(C)**, des muscles *tibialis anterior* **(D)**, gastrocnémien **(E)** et soléaire **(F)**, du foie **(G)**, du cœur **(H),** du tissu adipeux blanc (WAT) **(I)** et du rein **(J)** chez les femelles.

2.4.5.2. Respiration cellulaire

Les plateaux de la courbe de respiration mitochondriale des souris *Hacd1*-KO traitées n'apparaissaient pas aussi clairement que pour les souris *Hacd1*-KO sans tamoxifène (**Figure 33A et B**).

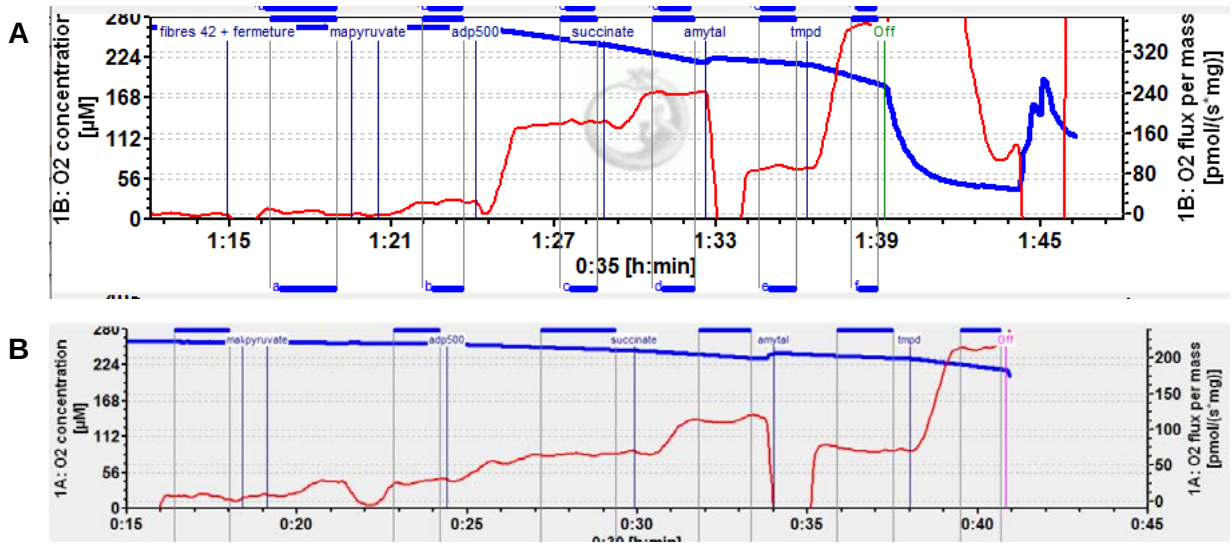


Figure 33 : Courbes de respiration mitochondriale chez les souris *Hacd1*-KO traitées (B) ou non (A) avec du tamoxifène fournies par l'Oroboros.

Les graphes des respirations non phosphorylante et phosphorylante et du couplage des souris mâles sont présentés aux **Figure 34A, Figure 34B** et **Figure 34C** respectivement. Nous notons une respiration phosphorylante et un couplage diminués pour les trois groupes (individus *Hacd1*-KO en ND, individus WT traités avec du tamoxifène et individus *Hacd1*-KO traités avec du tamoxifène) par rapport aux individus WT en ND. Cependant, les effectifs analysés sont encore trop faibles.

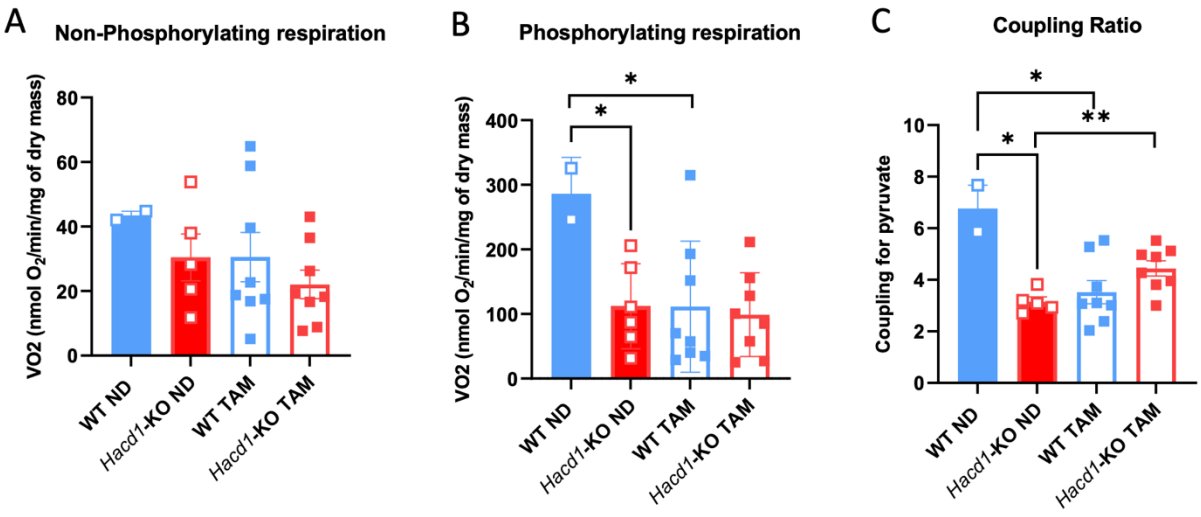


Figure 34 : Respiration mitochondriale chez les souris mâles *Hacd1*-KO nourries avec du *normal diet* ou du tamoxifène.
Respiration non phosphorylante **(A)**, phosphorylante **(B)** et couplage (ratio (A)/(B)) **(C)**.

Les graphes des respirations non phosphorylante et phosphorylante et du couplage des souris femelles sont présentés aux **Figure 35A**, **Figure 35B** et **Figure 35C** respectivement. Nous ne notons pas de différence significative mais le nombre d'individus étudié est encore trop faible.

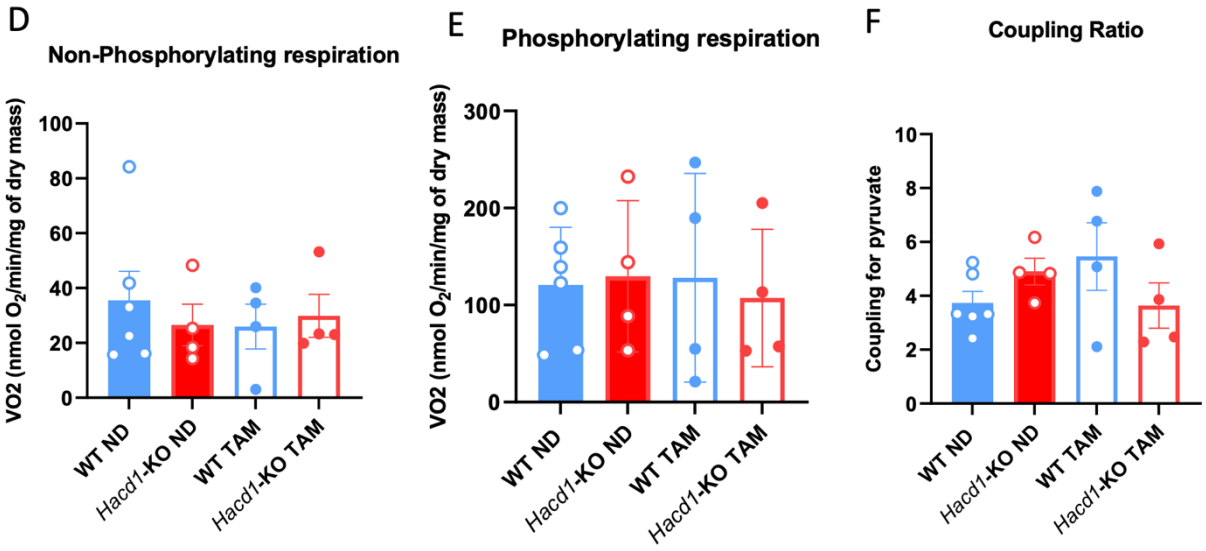


Figure 35 : Respiration mitochondriale chez les souris femelles *Hacd1*-KO nourries avec du *normal diet* ou du tamoxifène.
Respiration non phosphorylante **(A)**, phosphorylante **(B)** et couplage (ratio (A)/(B)) **(C)**.

2.4.5.3. Caractérisation de la cyphose

La radiographie du corps entier après euthanasie a permis de mieux caractériser cette cyphose et de voir plus précisément les anomalies au niveau de la colonne vertébrale, thoracique pour la plupart (**Figure 36A et B**).

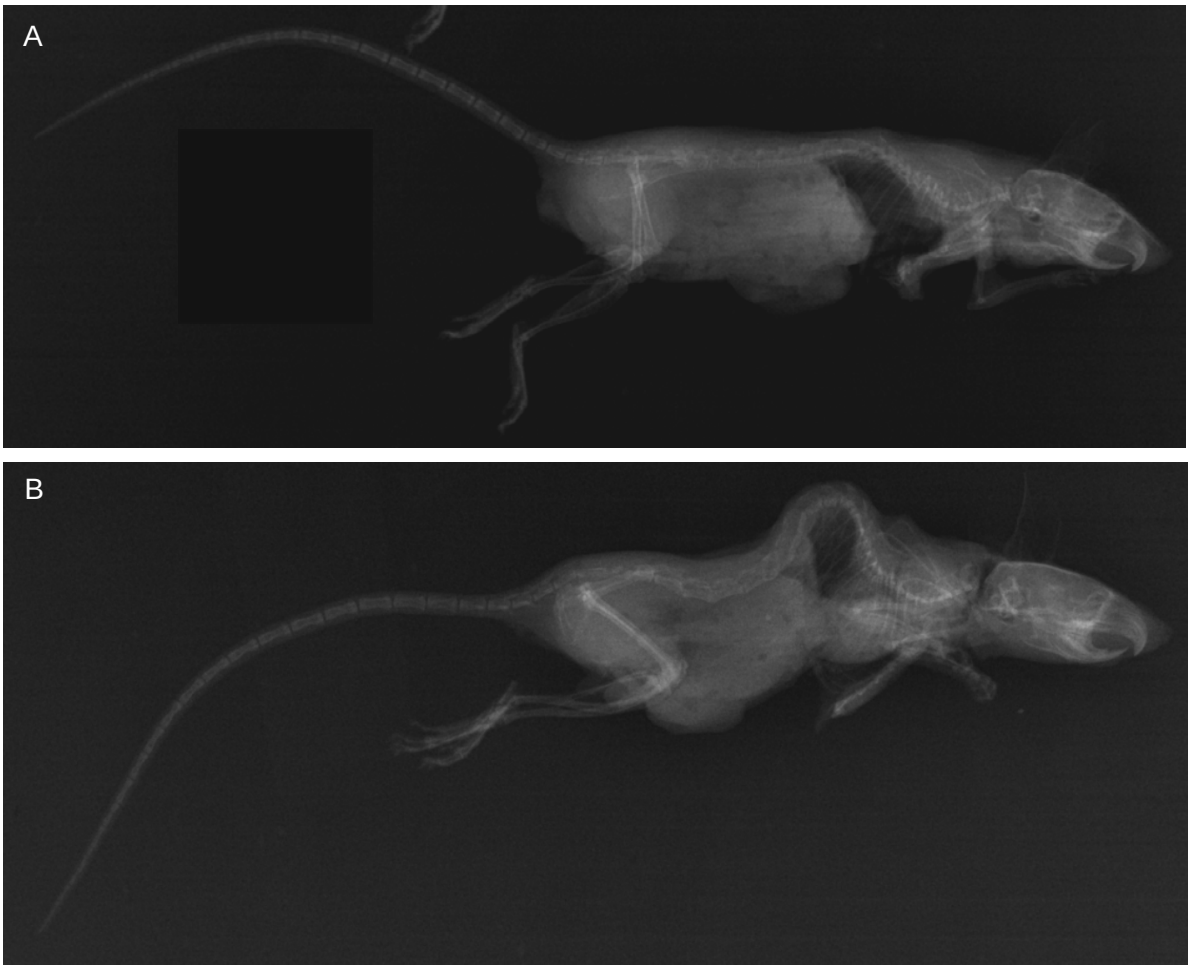


Figure 36 : Radiographies de profil de 2 souris.
La souris en A n'a pas été traitée avec du tamoxifène et la souris en B a été traitée avec du tamoxifène. Noter la forte cyphose chez la souris en B.

La radiographie nous a permis de vérifier à l'aveugle la différence en termes de longueur du tibia (avec une variabilité un peu plus importante) que celle mesurée à la dissection (**Figure 31B et Figure 32B**).
À cette occasion, nous avons constaté que la colonne vertébrale était plus longue chez les animaux traités que chez ceux non traités (**Figure 37A et B**) alors que ces mêmes souris se trouvaient être plus courtes de la tête à la queue, en raison d'une importante cyphose.

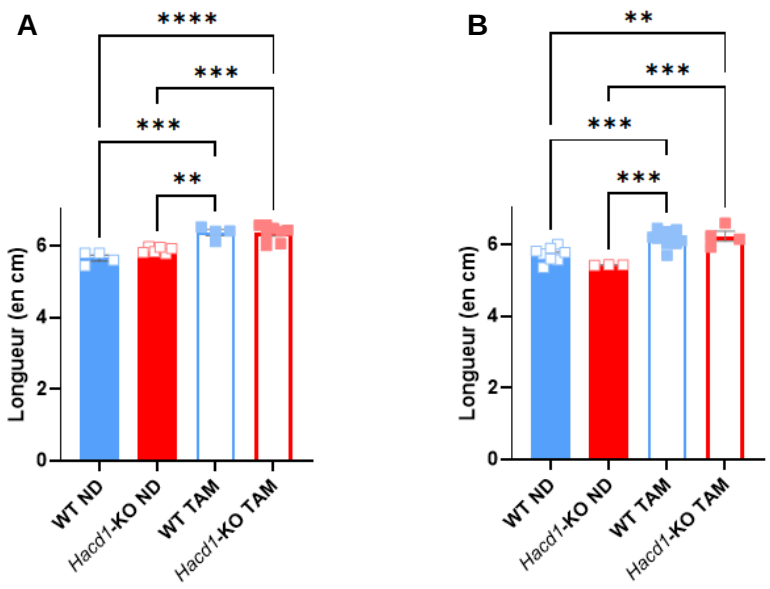


Figure 37 : Longueur de la colonne vertébrale chez les mâles (A) et les femelles (B) ayant reçu la nourriture contrôle (*normal diet*) ou avec tamoxifène.

Il a donc été décidé de calculer un indice de cyphose et de sinuosité à partir des radiographies (**Figure 38A**). Aucune différence entre les individus traités et non n'a été mise en évidence pour l'indice de cyphose malgré des moyennes différentes (marque de puissance) (**Figure 38B et D)**, en revanche l'indice de sinuosité était plus élevé chez les mâles ayant reçu du tamoxifène (**Figure 38C**) mais pas chez les femelles (**Figure 38E**).

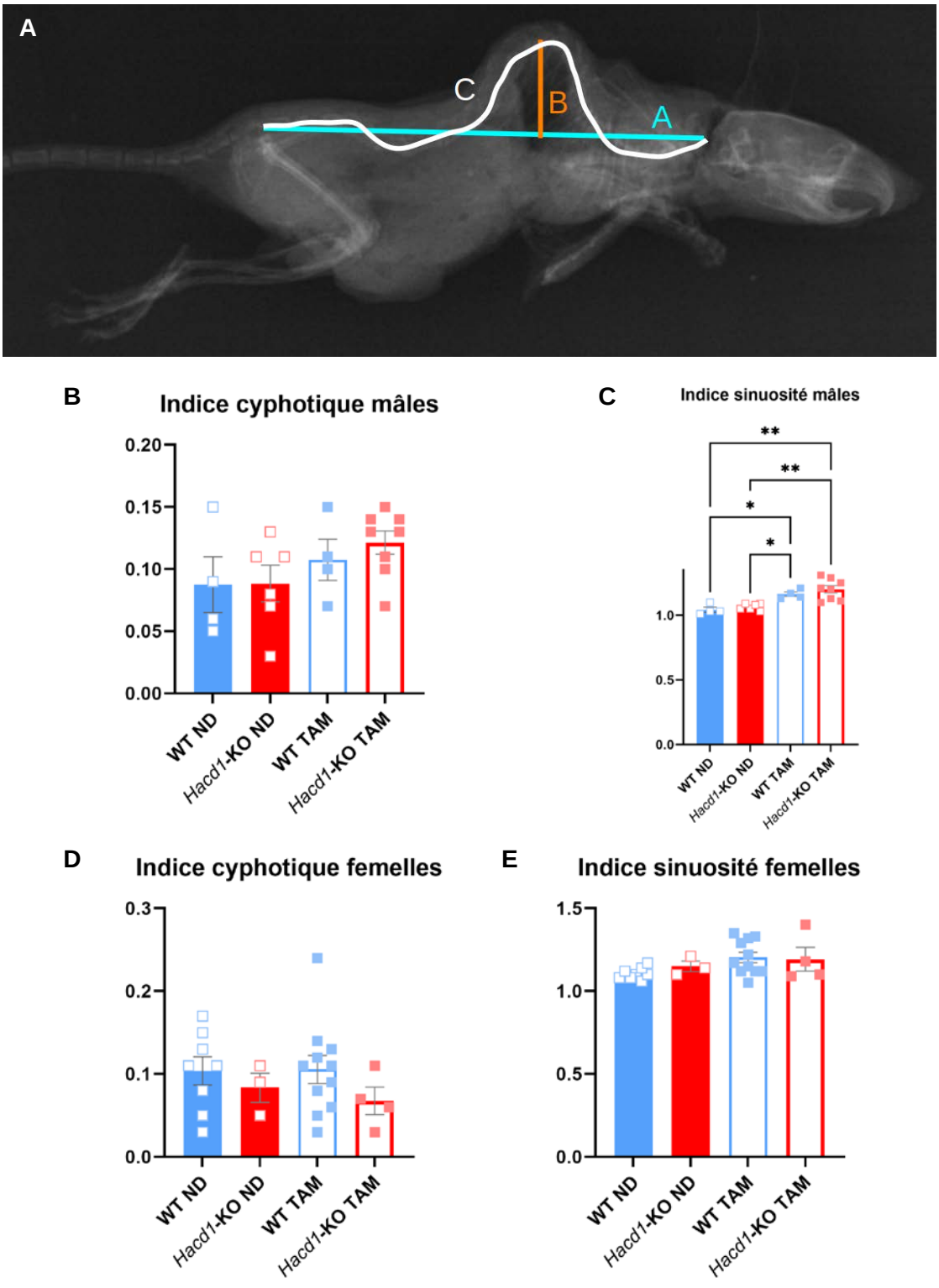


Figure 38 : Indices de cyphose et de sinuosité.
À partir des radiographies **(A)**, l'indice de cyphose (**B** pour les mâles et **D** pour les femelles) a été mesuré grâce au rapport B/A et l'indice de sinuosité (**C** pour les mâles et **E** pour les femelles) grâce au rapport C/A.

De plus, la **Figure 39** met en évidence des sinuosités latérales de la colonne vertébrale, c'est-à-dire une scoliose, en plus des déviations ventro-dorsales chez les souris traitées au tamoxifène.

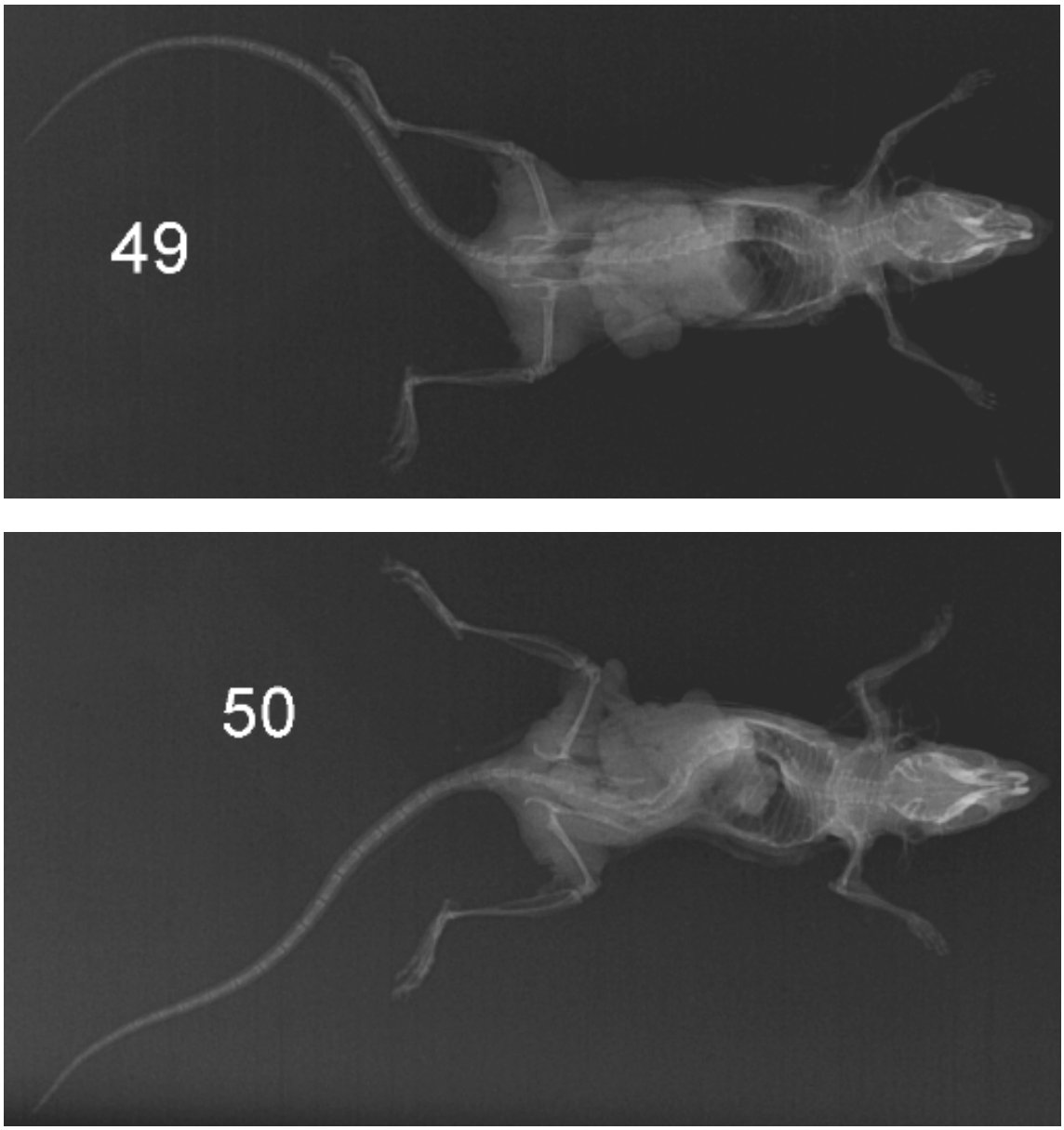


Figure 39 : Radiographies de face de 2 souris.
La souris 49 est une WT nourrie au ND (contrôle) et la souris 50 est une WT ayant reçu du tamoxifène. Noter la déformation latérale de la colonne vertébrale (scoliose) chez la souris 50.

2.5. Discussion

2.5.1. Discussion technique

Nous n'avons pas observé de différence entre les individus WT et *Hacd1*-KO aux différents tests fonctionnels (VMA, endurance, test de force des mâles) hormis au test de force des femelles. Ces tests n'ont donc pas pu nous êtres utiles pour mettre en évidence un potentiel effet du tamoxifène. Nous pouvons penser que les tests alors réalisés ne sont pas assez précis pour observer une différence entre WT et KO.
Les résultats au test de force sont très dispersés. Nous pouvons imaginer que cette dispersion est proportionnelle à la fréquence d'utilisation de la grille, présente dès le début dans la cage des souris (en guise d'habituation).

Une chose étonnante, c'est la différence significative entre WT et *Hacd1*-KO chez les femelles pour cette expérience car cela n'avait pas été décrit précédemment. Cependant, le n est faible. Pour l'instant, nous ne savons toujours pas à quoi attribuer cette différence significative.
C'est pourquoi, la grille ne sera plus une expérience réalisée dans le cadre de ce sujet d'étude car les résultats obtenus manquent de solidité, majoritairement en raison des difficultés techniques à être reproductible.
De manière générale, il a été très compliqué de retrouver les données solides qui avaient été obtenues lors des précédentes études (VMA et endurance), cela peut être lié au changement d'expérimentateurs voire d'animalerie ou peut-être à une dérive génétique de la souche.

Le test de sensibilité à l'insuline, bien moins sensible que le test de tolérance au glucose, n'a pas été informatif et, par souci de place, il n'a pas été rapporté dans la partie Résultats.

Ensuite, après l'observation de plusieurs hydronéphroses et autres lésions, notamment de l'appareil urinaire (vessie impactée par une quantité impressionnante de cristaux de struvites), envoyées à l'histologie, l'hypothèse d'une anomalie dans l'eau de boisson a été émise. En effet, les portoirs de l'animalerie sont équipés d'une eau qui s'avère acidifiée. Celle-ci pourrait donc être à l'origine d'une interférence. Cependant, les quelques analyses biochimiques réalisées sur les sérums des individus avec ces lésions urinaires, ne révèlent pas d'anomalie franche.

Enfin, l'utilisation de l'Oroboros, présent sur un autre site et utilisé par plusieurs équipes a conduit à un décalage dans nos analyses et a peut-être constitué un facteur péjoratif dans l'obtention de certains résultats.

2.5.2. Discussion scientifique

Chez les mâles en ND, nous nous attendions à retrouver le phénotype observé à de nombreuses reprises, soit une diminution des masses corporelle et musculaire, résultant d'un problème de fusion, une augmentation de la tolérance au glucose, résultant d'un défaut respiratoire au niveau mitochondrial, et une diminution de la VMA et de l'endurance. En effet, chez les individus *Hacd1*-KO, les mitochondries fonctionnaient moins bien et consommaient davantage de substrats pour produire proportionnellement moins d'ATP. Ainsi, la concentration en glucose dans le sang diminuait-elle plus vite, ce qui expliquait la meilleure tolérance au glucose (Prola *et al.*, 2021).

Chez les mâles traités avec du tamoxifène, et si l'intérêt du tamoxifène était validé (hypothèse 1), nous nous attendions à une correction des différences entre WT et *Hacd1*-KO, aux niveaux respiratoire et métabolique, mais pas au niveau du poids des muscles.

Chez les femelles en ND, nous ne nous attendions pas à observer des différences entre WT et *Hacd1*-KO aux niveaux respiratoire et métabolique puisqu'il n'y avait pas de différence au test de tolérance au glucose ni de protection contre l'obésité induite par le HFD chez les femelles mais nous nous attendions à une diminution des masses corporelle et musculaire puisque le problème de fusion avait déjà été validé (hypothèse 2).

Chez les femelles traitées avec du tamoxifène, et si les hypothèses 1 et 2 étaient validées, nous ne nous attendions pas à observer d'effet du tamoxifène (l'intérêt de ce bras d'analyse étant de vérifier l'absence de toxicité du tamoxifène).

2.5.2.1. Chez les mâles

En ND, nous retrouvons bien la différence entre WT et *Hacd1*-KO de masses corporelle et musculaire (liée au problème de fusion) et de tolérance au glucose (liée au défaut respiratoire). Dans la littérature, le poids diminué était déjà décrit (**cf 4.2.5.2. Première partie**) avec surtout une masse musculaire inférieure.

Ensuite, en présence de tamoxifène, la tolérance au glucose restait accrue chez les souris *Hacd1*-KO par rapport aux souris WT, comme en absence de tamoxifène. Cela reflète donc une absence d'efficacité du tamoxifène à corriger le défaut mitochondrial.
Concernant les résultats préliminaires de la respiration mitochondriale, les souris mâles *Hacd1*-KO présentaient un défaut de couplage en ND. Par ailleurs, le tamoxifène ne sauvait pas le phénotype *Hacd1*-KO et il semblait même délétère pour celui-ci même si un nombre plus important d'individus serait nécessaire pour gagner en significativité.
Ainsi, au vue des résultats du test de tolérance au glucose et de la respiration mitochondriale, il semblerait que le tamoxifène ne soit pas efficace pour sauver le phénotype *Hacd1*-KO.

Enfin, lors de l'ajout de tamoxifène, la prise de poids des WT et des *Hacd1*-KO était moindre. Nous pouvons nous demander si c'était un effet direct de celui-ci ou s'il était simplement moins appétent et incitait moins les souris à manger, d'où l'intérêt de mesurer la consommation de nourriture. Nous avons pu observer une diminution significative de la consommation de nourriture donc nous pouvons penser qu'il s'agissait d'un effet du tamoxifène sur l'appétence.
De même, chez les souris WT et *Hacd1*-KO traitées au tamoxifène, nous observions également une augmentation de la longueur du tibia, ce paramètre n'a donc pas pu être utilisé pour normaliser. Il n'était pas non plus possible de normaliser sur le poids des animaux car la réduction de la masse musculaire influence directement la masse totale de l'animal. Ainsi, les poids des organes précédemment présentés n'ont-ils pas pu être normalisés et sont à considérer de manière brute. Par ailleurs, ces individus présentaient également une augmentation de la longueur de la colonne vertébrale et de l'indice de sinuosité.
Ainsi, le tamoxifène ne semble pas uniquement inefficace à corriger le phénoytpe myopathe mais s'avère également délétère avec les effets secondaires suivants : défaut d'appétence, croissance excessive des os et déformations squelettiques.

2.5.2.2. Chez les femelles

En ND, nous observons des différences entre WT et *Hacd1*-KO pour le poids, le test de force, les poids du gastrocnémien, du TA et du foie, avec une diminution significative de ceux-ci. Par ailleurs, le poids de l'utérus était très variable chez les WT, cela pouvait être lié au moment du cycle de chaque souris.

Concernant les résultats préliminaires de la respiration mitochondriale, aucune tendance ne semblait se dessiner pour l'instant sur le phénotype *Hacd1*-KO en ND ou sur un quelconque effet du tamoxifène. Il n'y a d'ailleurs pas non plus de différence significative entre WT et *Hacd1*-KO en ND. Cependant, le nombre d'individus étudié était encore trop faible.
Ainsi, au vu de ces résultats, le tamoxifène ne semble pas délétère sur la respiration.

Enfin, lors de l'ajout de tamoxifène, la prise de poids des WT était moindre. Il s'agit, ici encore, sans doute de l'effet du tamoxifène sur l'appétence, comme décrit chez les mâles.
De même, chez les souris WT et *Hacd1*-KO traitées au tamoxifène, nous observions également une augmentation de la longueur du tibia et de la colonne vertébrale.

Ainsi, le tamoxifène s'avère également délétère chez la femelle avec les effets secondaires suivants : défaut d'appétence et croissance excessive des os.

Ensuite, le tamoxifène s'accompagnait d'une diminution du poids de l'utérus et de sa variabilité, ce qui correspondait certainement à une disparition du cycle reproducteur des femelles par effet hormonal.

2.5.2.3. Au bilan

Les doses de tamoxifène utilisées pour recombinaison varient dans la littérature : 0,1 mg/g de poids corporel pendant 120 jours par voie intrapéritonéale puis 0,5 mg/g pendant 30 jours *per os* (Smith *et al.*, 2012), 0,2 mg pendant cinq jours par voie topique (Paul *et al.*, 2009), 2 mg pendant cinq jours par voie intrapéritonéale (Kim *et al.*, 2013), 0,025-0,3 mg/kg pendant cinq jours par voie intrapéritonéale (Ahn *et al.*, 2019) ou encore 100 mg/kg pendant cinq jours par voie intrapéritonéale (Ceasrine *et al.*, 2019).
Pour rappel, dans notre étude, les souris recevaient 120 mg de tamoxifène par jour à partir de quatre semaines d'âge *per os* (d'après la **Figure 27E**, les souris mangeaient entre 3 et 4 g par jour d'un aliment contenant 30 mg de tamoxifène par kg d'aliment, suivant leur génotype WT ou *Hacd1*-KO). Cela faisait environ 5 mg/kg de poids vif de souris si l'on estime le poids moyen d'une souris à 25 g (17-18 g pour les plus maigres contre plus de 30 g pour les plus grosses). Cette quantité correspond à une dose haute d'après Gayi *et al.*, dans l'intervalle de celle administrée aux femmes pour le traitement du cancer du sein, mais bien en-dessous de celle utilisée pour la recombinaison (Gayi *et al.*, 2018e).

Et comme évoqué plus haut, le mode d'administration peut avoir influencé les résultats obtenus sur les tests métaboliques. Dans les études qui se sont intéressées à la tolérance au glucose, il apparaît qu'une forte dose de tamoxifène (0,2-0,3 mg/jour pendant cinq jours) est associée à une augmentation de la glycémie à jeun mais semble également avoir des effets modérément bénéfiques sur la tolérance au glucose. Par ailleurs, le tamoxifène à forte dose (0,3 mg/g pendant cinq jours) ne semble pas avoir d'effet discernable sur la sensibilité à l'insuline (Ahn *et al.*, 2019). Dans une autre étude, les injections intra-péritonéales à 100 mg/kg pendant cinq jours augmentent la tolérance au glucose et n'agissent pas sur la sensibilité à l'insuline et l'administration *per os* pendant 10 jours avec deux jours de pause au milieu n'a pas d'effet sur la tolérance au glucose (Ceasrine *et al.*, 2019).

Cependant, l'une des observations les plus frappantes de cette étude a été l'occurrence élevée de cyphose chez les animaux traités avec du tamoxifène. Par ailleurs, les radiographies permettent de mettre en évidence des signes de scoliose en plus des signes de cyphose et lordose. Il est envisagé de réaliser une reconstruction tomodensitométrique des bassins des souris en cyphose car un doute est émis sur des signes de diminution de la densité osseuse et donc peut-être de phénomènes ostéoporotiques dans cette région. Cela contredirait la littérature sur le potentiel curatif du tamoxifène sur l'ostéoporose. Cependant, certains WT et *Hacd1*-KO étaient également atteints et un collaborateur, ayant travaillé sur un sujet d'étude similaire, rapporte également avoir observé des cyphoses. De plus, nous avons vu que la colonne vertébrale, en plus d'être plus sinueuse, est plus longue, tout comme le tibia et d'autres os longs comme le fémur, chez les animaux ayant reçu du tamoxifène que chez les autres. Par ailleurs, les femelles semblent moins atteintes par ces phénomènes cyphotiques. Cela semble spécifique de la souris mais, de manière générale, cela doit nous alerter quant à une possible application en médecine humaine et doit nous amener à garder en tête que le tamoxifène a pu provoquer des cyphoses sévères sur un groupe de souris alors pourquoi pas sur un groupe de patients humains ? Même en expérimentation animale, cela reste un problème car cela interfère ne serait-ce qu'avec le bien-être des animaux mais aussi, évidemment, avec les résultats des tests fonctionnels (comme la course).

La littérature n'est pas riche en articles évoquant de potentiels effets secondaires du tamoxifène sur la colonne vertébrale.

Trois articles présentent des modèles faisant intervenir des constructions génétiques impliquant le tamoxifène, comme c'est le cas dans notre étude, avec une répercussion squelettique.

Tout d'abord, l'étude de Smith *et al.* sur le KO du gène *Mcat* codant pour une enzyme clé de la synthèse mitochondriale des acides gras a utilisé un modèle murin dans lequel les souris KO et contrôles recevaient du tamoxifène par injections intrapéritonéales (5 par jour à raison de 0,1 mg/g de poids corporel) de quatre à six semaines d'âge, puis par voie orale dans l'aliment (0,5 mg/g) pendant un mois pour limiter le stress des animaux (Smith et al., 2012).

Ensuite, l'étude de Paul *et al.* sur le KO du gène *Supv3L1* chez la souris qui provoque la déficience d'une hélicase mitochondriale intervenant dans un complexe de dégradation de l'ARN mitochondrial a utilisé différentes stratégies de KO conditionnel : un système Mx1-Cre et deux systèmes inductibles par le tamoxifène (*Actb-Esr1*/Cre et *KRT14*-Cre/Esr1). Les souris ont reçu deux types de traitements à base de 4-hydroxytamoxifène : cinq injections sous-cutanées par jour à raison de 0,05 mg/g de poids corporel à l'âge de quatre semaines ou une application topique de 40 µL (5 mg/mL) tous les jours pendant cinq jours sur une surface rasée de la peau du dos (site difficilement accessible pour le toilettage ou le grattage) avec isolement des congénères pour la durée de l'expérience (Paul et al., 2009).

Finalement, l'étude de Kim *et al.* sur le KO du gène *SHP2* dans les chondrocytes qui provoque une cyphoscoliose sévère chez la souris a eu recours à l'administration de tamoxifène à deux stades de croissance chez l'animal. La molécule a été administrée par voie intrapéritonéale à la dose de 1 mg par souris deux fois par semaine pendant cinq semaines au cours de la phase de croissance juvénile (à partir de quatre semaines d'âge, le sevrage ayant lieu entre trois et quatre semaines), dans le but de contrôler le type de cellules, uniquement celles exprimant le collagène de type II, c'est-à-dire les chondrocytes, et le moment du KO.

Chacun de ces modèles s'accompagne d'anomalies de type cyphose et scoliose entre autres. Cependant, les souris KO comme contrôles ayant reçu du tamoxifène et seules les KO présentant ces anomalies squelettiques, cela nous amène à conclure sur un effet de l'inactivation des différents gènes étudiés plutôt que sur un effet direct du tamoxifène comme cause de ces anomalies.

Concernant les voies d'administration employées dans ces études, l'absence de différence de phénotype entre les deux voies d'administration dans l'article de Smith et al., nous conforte avec notre mode d'administration du tamoxifène, bien plus respectueuse du bien-être animal car limitant le stress (Smith et al., 2012). L'article de Paul *et al.*, nous informe par ailleurs de la possibilité d'administrer le tamoxifène par voie topique, ce qui serait fort avantageux si cette molécule s'avérait réellement peu appétente avec comme conséquence une diminution de la prise alimentaire (Paul et al., 2009).

L'une des forces de notre étude est que c'est une des premières à rapporter cet effet toxique du tamoxifène sur le squelette, avec une prévalence non négligeable de scolioses, expliquées à la fois par une croissance excessive des os et des déformations osseuses, chez le mâle notamment.

Dans notre étude, d'autres expérimentations sont encore en cours, telles que la quantification du tamoxifène dans le sérum et les triceps au besoin, la caractérisation de la dysfonction mitochondriale avec des tests enzymatiques (COX, citrate synthase), des *western blot*, des assemblages de super-complexes, des RT-qPCR pour quantifier les ARN

de certains gènes (*ER*, *Dnm2*), les analyses lipidomiques sur mitochondries isolées mais aussi la caractérisation histologique dans le muscle avec le niveau d'oxydation (SDH, Menadione, COX…) et la reconstruction tomodensitométrique du bassin des souris avec cyphose.

Conclusion

En résumé, une invalidation partielle d'*Hacd1* (souris *Hacd1*$^{+/KO}$), après le développement musculaire, permet d'éviter l'hypotrophie musculaire, par défaut de fusion des souris *Hacd1*-KO, tout en protégeant contre l'obésité, par augmentation du métabolisme basal. Les différentes expériences préliminaires présentées plus haut ont permis d'investiguer davantage cet effet.
Ce qui a amené à investiguer plus en profondeur l'effet du tamoxifène dans l'étude actuelle est le résultat inattendu de la stratégie de KO conditionnel d'*Hacd1*. En effet, les individus *Hacd1*$^{cKO/KO}$; HSA-CreERT2+ ne présentaient pas les modifications métaboliques des individus *Hacd1*-KO, malgré un fort taux de recombinaison. Le tamoxifène est donc apparu comme potentiellement salvateur du phénotype, sachant qu'il a déjà été prouvé que cette molécule corrige les modifications lors de myopathie de Duchenne chez la souris (Dorchies *et al.*, 2013b) et de celle liée à la délétion de *Mtm1*, létale avant 70 jours hors traitement (Gayi *et al.*, 2018e). Par ailleurs, le fait que les femelles ne présentaient pas le phénotype métabolique des mâles *Hacd1*-KO a davantage incité à investiguer les propriétés œstrogéniques du tamoxifène.

Au cours de la dernière étude dans laquelle s'inscrit cette thèse expérimentale, compte tenu que l'on ne retrouve pas parfaitement la dichotomie WT/KO sur certaines expériences contrairement aux études préliminaires, le tamoxifène apparaît pour l'instant tout de même plutôt néfaste pour les souris, notamment en termes de déformation de la colonne vertébrale. Il s'agit sans doute d'un effet direct du tamoxifène car, même s'il s'avère légèrement moins appétent et qu'il diminue la prise alimentaire et donc le poids des muscles et de la graisse des individus, cette différence reste mineure. Ainsi, même si ces problèmes osseux sont spécifiques de la souris, ceux-ci sont également observés chez les WT, ce qui doit nous alarmer quant à l'utilisation du tamoxifène, qui doit être très précautionneuse, ne serait-ce que pour le bien-être animal mais aussi le risque d'interférence scientifique. Cette observation doit être considérée avec prudence avant toute application en médecine humaine, en particulier chez l'enfant pour lequel nous avons encore trop peu de recul. Un doute est également émis sur son action sur l'appareil reproducteur femelle dont le poids était significativement diminué en présence de tamoxifène.
Ainsi, le but de cette étude était de préciser les effets du tamoxifène sur les souris de souche *Black 6* pour la myopathie *Hacd1*-KO. Cela est encore en cours de réalisation mais, en l'état actuel des résultats, il ne semble pas s'inscrire en potentiel traitement de cette myopathie, contrairement à l'effet protecteur qu'il avait démontré sur deux autres myopathies et notamment la myopathie myotubulaire liée à l'X, avec laquelle la myopathie *Hacd1*-KO partage plusieurs points communs.
Il reste encore plusieurs analyses à venir afin de poursuivre la caractérisation des effets du tamoxifène et savoir s'il est définitivement néfaste sur nos souris : quantification du tamoxifène, caractérisation de la dysfonction mitochondriale avec des tests enzymatiques, assemblages de super-complexes, RT-qPCR pour quantifier les ARN de certains gènes, analyses lipidomiques sur mitochondries isolées, caractérisation histologique dans le muscle avec le niveau d'oxydation ou encore reconstruction tomodensitométrique du bassin des souris avec cyphose.

Comme autre perspective de traitement, l'Elamiprétide pourrait être intéressante. Il s'agit d'un peptide qui stabilise la cardiolipine mitochondriale en empêchant son oxydation par le cytochrome c. Pour investiguer cette nouvelle piste thérapeutique, des expériences sont en cours au laboratoire.

Liste des références bibliographiques

ABOT, A., FONTAINE, C., RAYMOND-LETRON, I., *et al.* (2013) The AF-1 Activation Function of Estrogen Receptor α Is Necessary and Sufficient for Uterine Epithelial Cell Proliferation In Vivo. *Endocrinology* vol. 154, n° 6, p. 2222-2233. [https://doi.org/10.1210/en.2012-2059]

ADAMOPOULOS, D.A., PAPPA, A., BILLA, E., *et al.* (2003) Effectiveness of combined tamoxifen citrate and testosterone undecanoate treatment in men with idiopathic oligozoospermia. *Fertility and Sterility* vol. 80, n° 4, p. 914-920. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)01123-3]

AHMED, S., SHAHID, R.K. (2009) Acute interstitial pneumonitis following adjuvant tamoxifen therapy. *Journal of Clinical Oncology* vol. 27, n° 15_suppl, p. e11637-e11637. [https://doi.org/10.1200/jco.2009.27.15_suppl.e11637]

AHN, S.-H., GRANGER, A., RANKIN, M.M., *et al.* (2019) Tamoxifen suppresses pancreatic β-cell proliferation in mice. *PLoS One* vol. 14, n° 9, p. e0214829. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214829]

AKRAM, S., PARDI, D.S., SCHAFFNER, J.A., *et al.* (2007) Sclerosing Mesenteritis: Clinical Features, Treatment, and Outcome in Ninety-Two Patients. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* vol. 5, n° 5, p. 589-596. [https://doi.org/10.1016/j.cgh.2007.02.032]

ALI, S., RASOOL, M., CENTER OF EXCELLENCE IN GENOMIC MEDICINE RESEARCH, KING ABDULAZIZ UNIVERSITY, JEDDAH, SAUDI ARABIA, *et al.* (2016) Molecular mechanisms and mode of tamoxifen resistance in breast cancer. *Bioinformation* vol. 12, n° 3, p. 135-139. [https://doi.org/10.6026/97320630012135]

ALIOTO, R.J., ROSIER, R.N., BURTON, R.I., *et al.* (1994) Comparative effects of growth factors on fibroblasts of Dupuytren's tissue and normal palmar fascia. *The Journal of Hand Surgery* vol. 19, n° 3, p. 442-452. [https://doi.org/10.1016/0363-5023(94)90059-0]

ALLEN, K.E., CLARK, E.R., JORDAN, V.C. (1980) Evidence for the metabolic activation of non-steroidal antioestrogens: a study of structure-activity relationships. *British Journal of Pharmacology* vol. 71, n° 1, p. 83-91. [https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1980.tb10912.x]

AL-MAJED, H.T., SQUIRES, P.E., PERSAUD, S.J., *et al.* (2005) Effect of 17beta-estradiol on insulin secretion and cytosolic calcium in Min6 mouse insulinoma cells and human islets of Langerhans. *Pancreas* vol. 30, n° 4, p. 307-313. [https://doi.org/10.1097/01.mpa.0000161886.17492.22]

ALONZI, T., NEWTON, I.P., BRYCE, P.J., *et al.* (2004) Induced somatic inactivation of STAT3 in mice triggers the development of a fulminant form of enterocolitis. *Cytokine* vol. 26, n° 2, p. 45-56. [https://doi.org/10.1016/j.cyto.2003.12.002]

ALSINA-SANCHIS, E., MÜLFARTH, R., MOLL, I., *et al.* (2020) Intraperitoneal oil application causes local inflammation with depletion of resident peritoneal macrophages vol. 19, n° 2, p. 288-300. [https://doi.org/10.1101/2020.07.15.203885]

ALTAN, N., CHEN, Y., SCHINDLER, M., *et al.* (1999) Tamoxifen inhibits acidification in cells independent of the estrogen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 96, n° 8, p. 4432-4437. [https://doi.org/10.1073/pnas.96.8.4432]

ÁLVAREZ-AZNAR, A., MARTÍNEZ-CORRAL, I., DAUBEL, N., *et al.* (2020) Tamoxifen-independent recombination of reporter genes limits lineage tracing and mosaic analysis using CreERT2 lines. *Transgenic Research* vol. 29, n° 1, p. 53-68. [https://doi.org/10.1007/s11248-019-00177-8]

AMBURGEY, K., TSUCHIYA, E., DE CHASTONAY, S., *et al.* (2017) A natural history study of X-linked myotubular myopathy. *Neurology* vol. 89, n° 13, p. 1355-1364. [https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004415]

AMTHOR, H., M.H. HOOGAARS, W. (2012) Interference with Myostatin/ActRIIB Signaling as a Therapeutic Strategy for Duchenne Muscular Dystrophy. *Current Gene Therapy* vol. 12, n° 3, p. 245-259. [https://doi.org/10.2174/156652312800840577]

AMUCHASTEGUI, T., AMUCHASTEGUI, M., DONOHUE, T. (2014) Disulfiram--alcohol reaction mimicking an acute coronary syndrome. *Connecticut Medicine* vol. 78, n° 2, p. 81-84.

ANDERSON, J.A.M., WEITZ, J.I. (2011) Hypercoagulable states. *Critical Care Clinics* vol. 27, n° 4, p. 933-952, vii. [https://doi.org/10.1016/j.ccc.2011.09.007]

ANDERSON, P.N., POTTER, M. (1969) Induction of plasma cell tumours in BALB-c mice with 2,6,10,14-tetramethylpentadecane (pristane). *Nature* vol. 222, n° 5197, p. 994-995. [https://doi.org/10.1038/222994a0]

ANDERSSON, K.B., WINER, L.H., MØRK, H.K., *et al.* (2010) Tamoxifen administration routes and dosage for inducible Cre-mediated gene disruption in mouse hearts. *Transgenic Research* vol. 19, n° 4, p. 715-725. [https://doi.org/10.1007/s11248-009-9342-4]

ANSM, HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ, ASSURANCE MALADIE, *et al.* (2020) NOLVADEX 10 mg, comprimé pelliculé - Résumé des caractéristiques du produit. *In Base de données publique des médicaments*. [http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=61961476&typedoc=R] (consulté le 18/12/2020).

ARMSTRONG, K., QUISTBERG, D.A., MICCO, E., *et al.* (2006) Prescription of tamoxifen for breast cancer prevention by primary care physicians. *Archives of Internal Medicine* vol. 166, n° 20, p. 2260-2265. [https://doi.org/10.1001/archinte.166.20.2260]

ASCO: Long-Term Tamoxifen Benefit for Breast Cancer Confirmed (s. d.) . *In Cancer Network*. [https://www.cancernetwork.com/view/asco-long-term-tamoxifen-benefit-breast-cancer-confirmed] (consulté le 20/09/2020).

ASSI, H., ESPINOSA, J., SUPRISE, S., *et al.* (2014) Assessing the Role of STAT3 in DC Differentiation and Autologous DC Immunotherapy in Mouse Models of GBM. *PLoS One* vol. 9, n° 5, p. e96318. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096318]

BADALAMENTE, M.A., HURST, L.C., GRANDIA, S.K., *et al.* (1992) Platelet-derived growth factor in Dupuytren's disease. *The Journal of Hand Surgery* vol. 17, n° 2, p. 317-323. [https://doi.org/10.1016/0363-5023(92)90414-K]

BADALAMENTE, M.A., SAMPSON, S.P., HURST, L.C., *et al.* (1996) The role of transforming growth factor beta in Dupuytren's disease. *The Journal of Hand Surgery* vol. 21, n° 2, p. 210-215. [https://doi.org/10.1016/S0363-5023(96)80102-X]

BALL, S., AREVALO, M., JUAREZ, E., *et al.* (2019) Breast cancer chemoprevention: An update on current practice and opportunities for primary care physicians. *Preventive Medicine* vol. 129, p. 105834. [https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2019.105834]

BARAL, E., NAGY, E., BERCZI, I. (1995) Modulation of natural killer cell-mediated cytotoxicity by tamoxifen and estradiol. *Cancer* vol. 75, n° 2, p. 591-599. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19950115)75:2<591::aid-cncr2820750224>3.0.co;2-u]

BARRETT-CONNOR, E., CAULEY, J.A., KULKARNI, P.M., *et al.* (2004) Risk-benefit profile for raloxifene: 4-year data From the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) randomized trial. *Journal of Bone and Mineral Research* vol. 19, n° 8, p. 1270-1275. [https://doi.org/10.1359/JBMR.040406]

BARTLETT, J.M.S., BROOKES, C.L., ROBSON, T., *et al.* (2011) Estrogen receptor and progesterone receptor as predictive biomarkers of response to endocrine therapy: a prospectively powered pathology study in the Tamoxifen and Exemestane Adjuvant Multinational trial. *Journal of Clinical Oncology* vol. 29, n° 12, p. 1531-1538. [https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.3677]

BARTLETT, J.M.S., SGROI, D.C., TREUNER, K., *et al.* (2019) Breast Cancer Index and prediction of benefit from extended endocrine therapy in breast cancer patients treated in the Adjuvant Tamoxifen-To Offer More? (aTTom) trial. *Annals of Oncology* vol. 30, n° 11, p. 1776-1783. [https://doi.org/10.1093/annonc/mdz289]

BASCUÑAN-CASTILLO, E.C., ERICKSON, R.P., HOWISON, C.M., *et al.* (2004) Tamoxifen and vitamin E treatments delay symptoms in the mouse model of Niemann-Pick C. *Journal of Applied Genetics* vol. 45, n° 4, p. 461-467.

BEGGS, W.H. (1994) Comparative activities of miconazole and the anticancer drug tamoxifen against *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 34, n° 1, p. 186-187. [https://doi.org/10.1093/jac/34.1.186]

BEGGS, W.H. (1993) Anti-Candida activity of the anti-cancer drug tamoxifen. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* vol. 80, n° 1, p. 125-128.

BEGUERIE, J.R., XINGZHONG, J., VALDEZ, R.P. (2010) Tamoxifen vs. non-tamoxifen treatment for advanced melanoma: a meta-analysis: TMX vs non-TMX for melanoma. *International Journal of Dermatology* vol. 49, n° 10, p. 1194-1202. [https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04529.x]

BENTZEN, S.M., SKOCZYLAS, J.Z., OVERGAARD, M., *et al.* (1996) Radiotherapy-Related Lung Fibrosis Enhanced by Tamoxifen. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 88, n° 13, p. 918-922. [https://doi.org/10.1093/jnci/88.13.918]
BERGSBAKEN, T., FINK, S.L., COOKSON, B.T. (2009) Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature Reviews. Microbiology* vol. 7, n° 2, p. 99-109. [https://doi.org/10.1038/nrmicro2070]
BERRY, M., METZGER, D., CHAMBON, P. (1990) Role of the two activating domains of the oestrogen receptor in the cell-type and promoter-context dependent agonistic activity of the anti-oestrogen 4-hydroxytamoxifen. *The EMBO journal* vol. 9, n° 9, p. 2811-2818.
BIANCALANA, V., SCHEIDECKER, S., MIGUET, M., *et al.* (2017) Affected female carriers of MTM1 mutations display a wide spectrum of clinical and pathological involvement: delineating diagnostic clues. *Acta Neuropathologica* vol. 134, n° 6, p. 889-904. [https://doi.org/10.1007/s00401-017-1748-0]
BIEGON, A., BREWSTER, M., DEGANI, H., *et al.* (1996) A permanently charged tamoxifen derivative displays anticancer activity and improved tissue selectivity in rodents. *Cancer Research* vol. 56, n° 19, p. 4328-4331.
BIGSBY, R.M., CARDENAS, H., CAPERELL-GRANT, A., *et al.* (1999) Protective effects of estrogen in a rat model of age-related cataracts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 96, n° 16, p. 9328-9332. [https://doi.org/10.1073/pnas.96.16.9328]
BILLON-GALÉS, A., FONTAINE, C., FILIPE, C., *et al.* (2009) The transactivating function 1 of estrogen receptor α is dispensable for the vasculoprotective actions of 17β-estradiol. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 106, n° 6, p. 2053-2058. [https://doi.org/10.1073/pnas.0808742106]
BILLON-GALÉS, A., KRUST, A., FONTAINE, C., *et al.* (2011) Activation function 2 (AF2) of estrogen receptor-α is required for the atheroprotective action of estradiol but not to accelerate endothelial healing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 108, n° 32, p. 13311-13316. [https://doi.org/10.1073/pnas.1105632108]
BISHNOI, S., TIWARI, R., GUPTA, S., *et al.* (2018) Oncotargeting by Vesicular Stomatitis Virus (VSV): Advances in Cancer Therapy. *Viruses* vol. 10, n° 2, p. 90. [https://doi.org/10.3390/v10020090]
BISHOP, B.M. (2015) Potential and Emerging Treatment Options for Ebola Virus Disease. *Annals of Pharmacotherapy* vol. 49, n° 2, p. 196-206. [https://doi.org/10.1177/1060028014561227]
BJÖRNSTRÖM, L., SJÖBERG, M. (2005) Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Molecular Endocrinology* vol. 19, n° 4, p. 833-842. [https://doi.org/10.1210/me.2004-0486]
BLONDELLE, J., OHNO, Y., GACHE, V., *et al.* (2015) *HACD1* , a regulator of membrane composition and fluidity, promotes myoblast fusion and skeletal muscle growth. *Journal of Molecular Cell Biology* vol. 7, n° 5, p. 429-440. [https://doi.org/10.1093/jmcb/mjv049]
BOCCARDO, F., RUBAGOTTI, A., BATTAGLIA, M., *et al.* (2005) Evaluation of Tamoxifen and Anastrozole in the Prevention of Gynecomastia and Breast Pain Induced by Bicalutamide Monotherapy of Prostate Cancer. *Journal of Clinical Oncology* vol. 23, n° 4, p. 808-815. [https://doi.org/10.1200/JCO.2005.12.013]
BOERLIN, P., MCEWEN, S.A., BOERLIN-PETZOLD, F., *et al.* (1999) Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing Escherichia coli and disease in humans. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 37, n° 3, p. 497-503. [https://doi.org/10.1128/JCM.37.3.497-503.1999]
BOGUSH, T., DUDKO, E., BOGUSH, E., *et al.* (2012) Tamoxifen non-estrogen receptor mediated molecular targets. *Oncology Reviews* vol. 6, n° 2, p. 15. [https://doi.org/10.4081/oncol.2012.e15]
BÖHM, J., VASLI, N., MAURER, M., *et al.* (2013) Altered splicing of the BIN1 muscle-specific exon in humans and dogs with highly progressive centronuclear myopathy. *PLoS genetics* vol. 9, n° 6, p. e1003430. [https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003430]
BOLANZ, K.A., KOVACS, G.G., LANDOWSKI, C.P., *et al.* (2009) Tamoxifen inhibits TRPV6 activity via estrogen receptor-independent pathways in TRPV6-expressing MCF-7 breast cancer cells. *Molecular cancer research: MCR* vol. 7, n° 12, p. 2000-2010. [https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-09-0188]
BONANNI, B., MACIS, D., MAISONNEUVE, P., *et al.* (2006) Polymorphism in the CYP2D6 tamoxifen-metabolizing gene influences clinical effect but not hot flashes: data from the Italian Tamoxifen Trial. *Journal of Clinical Oncology* vol. 24, n° 22, p. 3708-3709; author reply 3709. [https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.8072]

BOOCOCK, D.J., MAGGS, J.L., BROWN, K., *et al.* (2000) Major inter-species differences in the rates of O-sulphonation and O-glucuronylation of alpha-hydroxytamoxifen in vitro: a metabolic disparity protecting human liver from the formation of tamoxifen-DNA adducts. *Carcinogenesis* vol. 21, n° 10, p. 1851-1858. [https://doi.org/10.1093/carcin/21.10.1851]
BORDER, W., NOBLE, N. (1994) Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *The New England journal of medicine* vol. 217, n° 3, p. e20190103. [https://doi.org/10.1084/jem.20190103]
BORDER, W.A., RUOSLAHTI, E. (1992) Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair. *Journal of Clinical Investigation* vol. 90, n° 1, p. 1-7. [https://doi.org/10.1172/JCI115821]
BORGES, S., DESTA, Z., LI, L., *et al.* (2006) Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* vol. 80, n° 1, p. 61-74. [https://doi.org/10.1016/j.clpt.2006.03.013]
BÖRJESSON, A.E., FARMAN, H.H., ENGDAHL, C., *et al.* (2013) The role of activation functions 1 and 2 of estrogen receptor-α for the effects of estradiol and selective estrogen receptor modulators in male mice. *Journal of Bone and Mineral Research* vol. 28, n° 5, p. 1117-1126. [https://doi.org/10.1002/jbmr.1842]
BRADBURY, B.D., LASH, T.L., KAYE, J.A., *et al.* (2005) Tamoxifen-treated breast carcinoma patients and the risk of acute myocardial infarction and newly-diagnosed angina. *Cancer* vol. 103, n° 6, p. 1114-1121. [https://doi.org/10.1002/cncr.20900]
BRADBURY, B.D., LASH, T.L., KAYE, J.A., *et al.* (2004) Tamoxifen and cataracts: a null association. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 87, n° 2, p. 189-196. [https://doi.org/10.1023/B:BREA.0000041626.76694.85]
BRAND, C., DA COSTA, T.P., BERNARDES, E.S., *et al.* (2015) Differential development of oil granulomas induced by pristane injection in galectin-3 deficient mice. *BMC immunology* vol. 16, p. 68. [https://doi.org/10.1186/s12865-015-0133-9]
BRATHERTON, D.G., BROWN, C.H., BUCHANAN, R., *et al.* (1984) A comparison of two doses of tamoxifen (Nolvadex) in postmenopausal women with advanced breast cancer: 10 mg bd versus 20 mg bd. *British Journal of Cancer* vol. 50, n° 2, p. 199-205. [https://doi.org/10.1038/bjc.1984.163]
BRAUCH, H., SCHROTH, W., GOETZ, M.P., *et al.* (2013) Tamoxifen use in postmenopausal breast cancer: CYP2D6 matters. *Journal of Clinical Oncology* vol. 31, n° 2, p. 176-180. [https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.6625]
BRITCH, S.C., GOODMAN, A.G., WILEY, J.L., *et al.* (2020) Antinociceptive and Immune Effects of Delta-9-Tetrahydrocannabinol or Cannabidiol in Male Versus Female Rats with Persistent Inflammatory Pain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* vol. 373, n° 3, p. 416-428. [https://doi.org/10.1124/jpet.119.263319]
BROOKS, M.D., EBBS, S.R., COLLETTA, A.A., *et al.* (1992) Desmoid tumours treated with triphenylethylenes. *European Journal of Cancer* vol. 28, n° 6-7, p. 1014-1018. [https://doi.org/10.1016/0959-8049(92)90445-8]
BRUFSKY, A.M., DICKLER, M.N. (2018) Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: Exploiting Signaling Pathways Implicated in Endocrine Resistance. *The Oncologist* vol. 23, n° 5, p. 528-539. [https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0423]
BRUNO, S., MAISONNEUVE, P., CASTELLANA, P., *et al.* (2005) Incidence and risk factors for non-alcoholic steatohepatitis: prospective study of 5408 women enrolled in Italian tamoxifen chemoprevention trial. *BMJ (Clinical research ed.)* vol. 330, n° 7497, p. 932. [https://doi.org/10.1136/bmj.38391.663287.E0]
BRZOZOWSKI, A.M., PIKE, A.C., DAUTER, Z., *et al.* (1997) Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* vol. 389, n° 6652, p. 753-758. [https://doi.org/10.1038/39645]
BUELNA-CHONTAL, M., HERNÁNDEZ-ESQUIVEL, L., CORREA, F., *et al.* (2016) Tamoxifen inhibits mitochondrial oxidative stress damage induced by copper orthophenanthroline. *Cell Biology International* vol. 40, n° 12, p. 1349-1356. [https://doi.org/10.1002/cbin.10690]
BURKIN, D.J., WALLACE, G.Q., MILNER, D.J., *et al.* (2005) Transgenic expression of {alpha}7{beta}1 integrin maintains muscle integrity, increases regenerative capacity, promotes hypertrophy, and reduces cardiomyopathy in dystrophic mice. *The American Journal of Pathology* vol. 166, n° 1, p. 253-263. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)62249-3]

BURKITT, M.D., WILLIAMS, J.M., TOWNSEND, T., *et al.* (2017) Mice lacking NF-κB1 exhibit marked DNA damage responses and more severe gastric pathology in response to intraperitoneal tamoxifen administration. *Cell Death & Disease* vol. 8, n° 7, p. e2939-e2939. [https://doi.org/10.1038/cddis.2017.332]

BURSTEIN, H.J., LACCHETTI, C., ANDERSON, H., *et al.* (2019) Adjuvant Endocrine Therapy for Women With Hormone Receptor-Positive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Focused Update. *Journal of Clinical Oncology* vol. 37, n° 5, p. 423-438. [https://doi.org/10.1200/JCO.18.01160]

BURSTEIN, H.J., TEMIN, S., ANDERSON, H., *et al.* (2014) Adjuvant Endocrine Therapy for Women With Hormone Receptor–Positive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. *Journal of Clinical Oncology* vol. 32, n° 21, p. 2255-2269. [https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.2258]

BUSHNELL, C.D., GOLDSTEIN, L.B. (2004) Risk of ischemic stroke with tamoxifen treatment for breast cancer: a meta-analysis. *Neurology* vol. 63, n° 7, p. 1230-1233. [https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000140491.54664.50]

BUTTS, A., KOSELNY, K., CHABRIER-ROSELLÓ, Y., *et al.* (2014) Estrogen Receptor Antagonists Are Anti-Cryptococcal Agents That Directly Bind EF Hand Proteins and Synergize with Fluconazole In Vivo. *mBio* vol. 5, n° 1, p. e00765-13. [https://doi.org/10.1128/mBio.00765-13]

CAMUS, P. (s. d.) Tamoxifen. *In The Drug-Induced Respiratory Disease Website*. [https://www.pneumotox.com/drug/view/300/tamoxifen] (consulté le 20/09/2020).

CAO, Q., HE, Q., WANG, Y., *et al.* (2010) Transplantation of ciliary neurotrophic factor-expressing adult oligodendrocyte precursor cells promotes remyelination and functional recovery after spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience* vol. 30, n° 8, p. 2989-3001. [https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3174-09.2010]

CARAPUÇA, E.F., GEMENETZIDIS, E., FEIG, C., *et al.* (2016) Anti-stromal treatment together with chemotherapy targets multiple signalling pathways in pancreatic adenocarcinoma. *The Journal of Pathology* vol. 239, n° 3, p. 286-296. [https://doi.org/10.1002/path.4727]

CARBONEAU, B.A., LE, T.D.V., DUNN, J.C., *et al.* (2016) Unexpected effects of the MIP-CreER transgene and tamoxifen on β-cell growth in C57Bl6/J male mice. *Physiological Reports* vol. 4, n° 18, p. e12863. [https://doi.org/10.14814/phy2.12863]

CARREAU, C., FLOURIOT, G., BENNETAU-PELISSERO, C., *et al.* (2009) Respective contribution exerted by AF-1 and AF-2 transactivation functions in estrogen receptor alpha induced transcriptional activity by isoflavones and equol: consequence on breast cancer cell proliferation. *Molecular Nutrition & Food Research* vol. 53, n° 5, p. 652-658. [https://doi.org/10.1002/mnfr.200800061]

CARTHY, J.M., SUNDQVIST, A., HELDIN, A., *et al.* (2015) Tamoxifen Inhibits TGF-β-Mediated Activation of Myofibroblasts by Blocking Non-Smad Signaling Through ERK1/2: Tamoxifen Inhibits Myofibroblast Differentiation. *Journal of Cellular Physiology* vol. 230, n° 12, p. 3084-3092. [https://doi.org/10.1002/jcp.25049]

CAULEY, J.A., LUCAS, F.L., KULLER, L.H., *et al.* (1996) Bone mineral density and risk of breast cancer in older women: the study of osteoporotic fractures. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *JAMA* vol. 276, n° 17, p. 1404-1408.

CAULEY, J.A., NORTON, L., LIPPMAN, M.E., *et al.* (2001) Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. Multiple outcomes of raloxifene evaluation. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 65, n° 2, p. 125-134. [https://doi.org/10.1023/a:1006478317173]

CEASRINE, A.M., RUIZ-OTERO, N., LIN, E.E., *et al.* (2019) Tamoxifen Improves Glucose Tolerance in a Delivery-, Sex-, and Strain-Dependent Manner in Mice. *Endocrinology* vol. 160, n° 4, p. 782-790. [https://doi.org/10.1210/en.2018-00985]

CHAKKALAKAL, J.V., STOCKSLEY, M.A., HARRISON, M.-A., *et al.* (2003) Expression of utrophin A mRNA correlates with the oxidative capacity of skeletal muscle fiber types and is regulated by calcineurin/NFAT signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 100, n° 13, p. 7791-7796. [https://doi.org/10.1073/pnas.0932671100]

CHAM, L.B., FRIEDRICH, S.-K., ADOMATI, T., *et al.* (2019) Tamoxifen Protects from Vesicular Stomatitis Virus Infection. *Pharmaceuticals* vol. 12, n° 4, p. 142. [https://doi.org/10.3390/ph12040142]

CHANG, J., POWLES, T.J., ASHLEY, S.E., *et al.* (1996) The effect of tamoxifen and hormone replacement therapy on serum cholesterol, bone mineral density and coagulation factors in healthy postmenopausal women participating in a randomised, controlled tamoxifen prevention study. *Annals of Oncology* vol. 7, n° 7, p. 671-675. [https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.annonc.a010715]
CHARRIN, S., LATIL, M., SOAVE, S., *et al.* (2013) Normal muscle regeneration requires tight control of muscle cell fusion by tetraspanins CD9 and CD81. *Nature Communications* vol. 4, p. ncomms2675. [https://doi.org/10.1038/ncomms2675]
CHAU, D., MANCOLL, J.S., LEE, S., *et al.* (1998) Tamoxifen Downregulates TGF-β Production in Keloid Fibroblasts. *Annals of Plastic Surgery* vol. 40, n° 5, p. 490-493. [https://doi.org/10.1097/00000637-199805000-00008]
CHAUHAN, V.P., MARTIN, J.D., LIU, H., *et al.* (2013) Angiotensin inhibition enhances drug delivery and potentiates chemotherapy by decompressing tumour blood vessels. *Nature Communications* vol. 4, p. 2516. [https://doi.org/10.1038/ncomms3516]
CHAURASIA, C.S., CHEN, C.E., RUBIN, J., *et al.* (1998) Effects of tamoxifen on striatal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in freely moving male rats: an in-vivo microdialysis investigation. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* vol. 50, n° 12, p. 1377-1385. [https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1998.tb03363.x]
CHEN, F.-C., LIAO, Y.-C., HUANG, J.-M., *et al.* (2014) Pros and Cons of the Tuberculosis Drugome Approach – An Empirical Analysis. *PLoS One* vol. 9, n° 6, p. e100829. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100829]
CHEN, H., LIAO, D., CAIN, D., *et al.* (2010) Distinct granuloma responses in C57BL/6J and BALB/cByJ mice in response to pristane. *International Journal of Experimental Pathology* vol. 91, n° 5, p. 460-471. [https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2010.00725.x]
CHEN, T.C., SU, S., FRY, D., *et al.* (2003) Combination therapy with irinotecan and protein kinase C inhibitors in malignant glioma. *Cancer* vol. 97, n° S9, p. 2363-2373. [https://doi.org/10.1002/cncr.11307]
CHEN, Y., SCHINDLER, M., SIMON, S.M. (1999) A mechanism for tamoxifen-mediated inhibition of acidification. *The Journal of Biological Chemistry* vol. 274, n° 26, p. 18364-18373. [https://doi.org/10.1074/jbc.274.26.18364]
CHEN, Y., TIAN, Y., TIAN, H., *et al.* (2019) Tamoxifen promotes white matter recovery and cognitive functions in male mice after chronic hypoperfusion. *Neurochemistry International* vol. 131, p. 104566. [https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.104566]
CHO, E., ZHANG, Y., PRUZNAK, A., *et al.* (2015) Effect of tamoxifen on fatty degeneration and atrophy of rotator cuff muscles in chronic rotator cuff tear: An animal model study: Tamoxifen effect on fatty degeneration. *Journal of Orthopaedic Research* vol. 33, n° 12, p. 1846-1853. [https://doi.org/10.1002/jor.22964]
CHOWDHRY, S., NAZMY, M.H., MEAKIN, P.J., *et al.* (2010) Loss of Nrf2 markedly exacerbates nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radical Biology & Medicine* vol. 48, n° 2, p. 357-371. [https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.007]
CHRONOPOULOS, A., ROBINSON, B., SARPER, M., *et al.* (2016) ATRA mechanically reprograms pancreatic stellate cells to suppress matrix remodelling and inhibit cancer cell invasion. *Nature Communications* vol. 7, p. 12630. [https://doi.org/10.1038/ncomms12630]
CLARK, C., VANDERPOOL, D., PRESKITT, J. (1991) The response of retroperitoneal fibrosis to tamoxifen. *Surgery* vol. 109, n° 4, p. 502-506.
CLARKE, S.C., SCHOFIELD, P.M., GRACE, A.A., *et al.* (2001) Tamoxifen Effects on Endothelial Function and Cardiovascular Risk Factors in Men With Advanced Atherosclerosis. *Circulation* vol. 103, n° 11, p. 1497-1502. [https://doi.org/10.1161/01.CIR.103.11.1497]
CLEMETT, D., SPENCER, C.M. (2000) Raloxifene: a review of its use in postmenopausal osteoporosis. *Drugs* vol. 60, n° 2, p. 379-411. [https://doi.org/10.2165/00003495-200060020-00013]
COHEN, I. (2004) Endometrial pathologies associated with postmenopausal tamoxifen treatment. *Gynecologic Oncology* vol. 94, n° 2, p. 256-266. [https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2004.03.048]
COLE, L.K., JACOBS, R.L., VANCE, D.E. (2010) Tamoxifen induces triacylglycerol accumulation in the mouse liver by activation of fatty acid synthesis. *Hepatology* vol. 52, n° 4, p. 1258-1265. [https://doi.org/10.1002/hep.23813]

COLÓN, J.M., MIRANDA, J.D. (2016) Tamoxifen: an FDA approved drug with neuroprotective effects for spinal cord injury recovery. *Neural Regeneration Research* vol. 11, n° 8, p. 1208-1211. [https://doi.org/10.4103/1673-5374.189164]
CORTES, E., LACHOWSKI, D., ROBINSON, B., *et al.* (2019) Tamoxifen mechanically reprograms the tumor microenvironment via HIF -1A and reduces cancer cell survival. *EMBO reports* vol. 20, n° 1. [https://doi.org/10.15252/embr.201846557]
COSMAN, F., LINDSAY, R. (1999) Selective estrogen receptor modulators: clinical spectrum. *Endocrine Reviews* vol. 20, n° 3, p. 418-434. [https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0371]
COUSE, J.F., KORACH, K.S. (1999) Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocrine Reviews* vol. 20, n° 3, p. 358-417. [https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0370]
COWLING, B.S., CHEVREMONT, T., PROKIC, I., *et al.* (2014) Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 124, n° 3, p. 1350-1363. [https://doi.org/10.1172/JCI71206]
COWLING, B.S., PROKIC, I., TASFAOUT, H., *et al.* (2017) Amphiphysin (BIN1) negatively regulates dynamin 2 for normal muscle maturation. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 127, n° 12, p. 4477-4487. [https://doi.org/10.1172/JCI90542]
COX, D. (1995) Transforming growth factor-beta 3. *Cell Biology International* vol. 19, n° 5, p. 357-372. [https://doi.org/10.1006/cbir.1995.1082]
CREW, K.D., ALBAIN, K.S., HERSHMAN, D.L., *et al.* (2017) How do we increase uptake of tamoxifen and other anti-estrogens for breast cancer prevention? *npj Breast Cancer* vol. 3, n° 1, p. 20. [https://doi.org/10.1038/s41523-017-0021-y]
CREWE, H.K., ELLIS, S.W., LENNARD, M.S., *et al.* (1997) Variable contribution of cytochromes p450 2d6, 2c9 and 3a4 to the 4-hydroxylation of tamoxifen by human liver microsomes. *Biochemical Pharmacology* vol. 53, n° 2, p. 171-178. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952(96)00650-8]
CRONIN-FENTON, D.P., DAMKIER, P. (2018) Tamoxifen and CYP2D6: A Controversy in Pharmacogenetics. *In Advances in Pharmacology*. Elsevier, p. 65-91. [https://doi.org/10.1016/bs.apha.2018.03.001]
CUMMINGS, S.R., DUONG, T., KENYON, E., *et al.* (2002) Serum estradiol level and risk of breast cancer during treatment with raloxifene. *JAMA* vol. 287, n° 2, p. 216-220. [https://doi.org/10.1001/jama.287.2.216]
CUMMINGS, S.R., ECKERT, S., KRUEGER, K.A., *et al.* (1999) The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. *JAMA* vol. 281, n° 23, p. 2189-2197. [https://doi.org/10.1001/jama.281.23.2189]
CUSTÓDIO, J.B., ALMEIDA, L.M., MADEIRA, V.M. (1993) The anticancer drug tamoxifen induces changes in the physical properties of model and native membranes. *Biochimica Et Biophysica Acta* vol. 1150, n° 2, p. 123-129. [https://doi.org/10.1016/0005-2736(93)90080-j]
CUSTÓDIO, J.B., ALMEIDA, L.M., MADEIRA, V.M. (1991) A reliable and rapid procedure to estimate drug partitioning in biomembranes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 176, n° 3, p. 1079-1085. [https://doi.org/10.1016/0006-291x(91)90394-m]
CUSTÓDIO, J.B., DINIS, T.C., ALMEIDA, L.M., *et al.* (1994) Tamoxifen and hydroxytamoxifen as intramembraneous inhibitors of lipid peroxidation. Evidence for peroxyl radical scavenging activity. *Biochemical Pharmacology* vol. 47, n° 11, p. 1989-1998. [https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90073-6]
CUSTODIO, J.B., MORENO, A.J., WALLACE, K.B. (1998) Tamoxifen inhibits induction of the mitochondrial permeability transition by Ca2+ and inorganic phosphate. *Toxicology and Applied Pharmacology* vol. 152, n° 1, p. 10-17. [https://doi.org/10.1006/taap.1998.8510]
CUSTÓDIO, J.B.A., ALMEIDA, L.M., MADEIRA, V.M.C. (1996) The effect of the anticancer drugs tamoxifen and hydroxytamoxifen on the calcium pump of isolated sarcoplasmic reticulum vesicles. *Toxicology in Vitro* vol. 10, n° 5, p. 523-531. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333(96)00040-9]
CUZICK, J., FORBES, J., EDWARDS, R., *et al.* (2002) First results from the International Breast Cancer Intervention Study (IBIS-I): a randomised prevention trial. *Lancet (London, England)* vol. 360, n° 9336, p. 817-824. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736(02)09962-2]

CUZICK, J., FORBES, J.F., SESTAK, I., *et al.* (2007) Long-term results of tamoxifen prophylaxis for breast cancer--96-month follow-up of the randomized IBIS-I trial. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 99, n° 4, p. 272-282. [https://doi.org/10.1093/jnci/djk049]
CUZICK, J., POWLES, T., VERONESI, U., *et al.* (2003) Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. *Lancet (London, England)* vol. 361, n° 9354, p. 296-300. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12342-2]
CVANCARA, M.J.L., MEFFERT, L.J.J., ELSTON, L.D.M. (1998) Estrogen-sensitive cutaneous polyarteritis nodosa: Response to tamoxifen. *Journal of the American Academy of Dermatology* vol. 39, n° 4, p. 643-646. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622(98)70018-0]
DABELIC, N., JUKIC, T., LABAR, Z., *et al.* (2003) Riedel's thyroiditis treated with tamoxifen. *Croatian Medical Journal* vol. 44, n° 2, p. 239-241.
DAHLMAN-WRIGHT, K., CAVAILLES, V., FUQUA, S.A., *et al.* (2006) International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacological Reviews* vol. 58, n° 4, p. 773-781. [https://doi.org/10.1124/pr.58.4.8]
DANIELIAN, P.S., WHITE, R., LEES, J.A., *et al.* (1992) Identification of a conserved region required for hormone dependent transcriptional activation by steroid hormone receptors. *The EMBO journal* vol. 11, n° 3, p. 1025-1033.
DANN, C.T. (2007) New technology for an old favorite: lentiviral transgenesis and RNAi in rats. *Transgenic Research* vol. 16, n° 5, p. 571-580. [https://doi.org/10.1007/s11248-007-9121-z]
DAVIES, C., GODWIN, J., GRAY, R., *et al.* (2011) Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *The Lancet* vol. 378, n° 9793, p. 771-784. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60993-8]
DAVIES, C., PAN, H., GODWIN, J., *et al.* (2013) Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *The Lancet* vol. 381, n° 9869, p. 805-816. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61963-1]
DE CLERCQ, E. (2015) Ebola virus (EBOV) infection: Therapeutic strategies. *Biochemical Pharmacology* vol. 93, n° 1, p. 1-10. [https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.11.008]
DE LA TORRE VALDOVINOS, B., DUENAS JIMENEZ, J., ESTRADA, I., *et al.* (2016) Tamoxifen Promotes Axonal Preservation and Gait Locomotion Recovery after Spinal Cord Injury in Cats. *Journal of veterinary medicine* vol. 9561968. [https://doi.org/10.1155/2016/9561968]
DE LUCA, A. (2012) Pre-clinical drug tests in the mdx mouse as a model of dystrophinopathies: an overview. *Acta Myologica: Myopathies and Cardiomyopathies: Official Journal of the Mediterranean Society of Myology* vol. 31, n° 1, p. 40-47.
DE, M., JAAP, A., DEMPSTER, J. (2001) Tamoxifen Therapy in Steroid Resistant Reidel's Thyroiditis. *Scottish Medical Journal* vol. 46, n° 2, p. 56-57. [https://doi.org/10.1177/003693300104600211]
DEAN, L. (s. d.) Tamoxifen Therapy and CYP2D6 Genotype p. 16.
DECENSI, A., MAISONNEUVE, P., ROTMENSZ, N., *et al.* (2005) Effect of tamoxifen on venous thromboembolic events in a breast cancer prevention trial. *Circulation* vol. 111, n° 5, p. 650-656. [https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000154545.84124.AC]
DE CONTI, A., TRYNDYAK, V., CHURCHWELL, M.I., *et al.* (2014) Genotoxic, epigenetic, and transcriptomic effects of tamoxifen in mouse liver. *Toxicology* vol. 325, p. 12-20. [https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.08.004]
DE G BUFF PASSONE, C., KUPERMAN, H., CABRAL DE MENEZES-FILHO, H., *et al.* (2015) Tamoxifen Improves Final Height Prediction in Girls with McCune-Albright Syndrome: A Long Follow-Up. *Hormone Research in Paediatrics* vol. 84, n° 3, p. 184-189. [https://doi.org/10.1159/000435881]
DE JONG-BUSNAC, M. (1989) Ophthalmologic complications of low-dosage tamoxifen in the treatment of breast carcinoma. *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde* vol. 133, n° 10, p. 514-516.
DELLAGRAMMATICAS, D., BRYDEN, A.A., COLLINS, G.N. (2001) Regression of metastatic transitional cell carcinoma in response to tamoxifen. *The Journal of Urology* vol. 165, n° 5, p. 1631.
DELMAS, P.D., BJARNASON, N.H., MITLAK, B.H., *et al.* (1997) Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations, and uterine endometrium in postmenopausal women. *The New England Journal of Medicine* vol. 337, n° 23, p. 1641-1647. [https://doi.org/10.1056/NEJM199712043372301]

DE MEDINA, P., PAILLASSE, M.R., SÉGALA, G., *et al.* (2011) Importance of cholesterol and oxysterols metabolism in the pharmacology of tamoxifen and other AEBS ligands. *Chemistry and Physics of Lipids* vol. 164, n° 6, p. 432-437. [https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2011.05.005]
DE MEDINA, P., PAYRÉ, B.L., BERNAD, J., *et al.* (2004) Tamoxifen Is a Potent Inhibitor of Cholesterol Esterification and Prevents the Formation of Foam Cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* vol. 308, n° 3, p. 1165-1173. [https://doi.org/10.1124/jpet.103.060426]
DEMIRCI, N.S., ERDEM, G.U., UÇGUN, N.İ., *et al.* (2019) A rare case: Branch retinal vein occlusion associated with the use of tamoxifen. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* vol. 15, n° 3, p. 722-724. [https://doi.org/10.4103/0973-1482.204888]
DEMONBREUN, A.R., MCNALLY, E.M. (2014) Dynamin 2 the rescue for centronuclear myopathy. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 124, n° 3, p. 976-978. [https://doi.org/10.1172/JCI74434]
DENG, J.-Y., HSIEH, P.-S., HUANG, J.-P., *et al.* (2008) Activation of estrogen receptor is crucial for resveratrol-stimulating muscular glucose uptake via both insulin-dependent and -independent pathways. *Diabetes* vol. 57, n° 7, p. 1814-1823. [https://doi.org/10.2337/db07-1750]
DERMAN, O., KANBUR, N., KILIC, I., *et al.* (2008) Long-term follow-up of tamoxifen treatment in adolescents with gynecomastia. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism* vol. 21, n° 5, p. 449-454. [https://doi.org/10.1515/jpem.2008.21.5.449]
DESTA, Z., WARD, B.A., SOUKHOVA, N.V., *et al.* (2004) Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: prominent roles for CYP3A and CYP2D6. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* vol. 310, n° 3, p. 1062-1075. [https://doi.org/10.1124/jpet.104.065607]
DICKENS, T.-A., COLLETTA, A.A. (1993) Challenges: The pharmacological manipulation of members of the transforming growth factor beta family in the chemoprevention of breast cancer. *BioEssays* vol. 15, n° 1, p. 71-74. [https://doi.org/10.1002/bies.950150111]
DIELI-CONWRIGHT, C.M., SPEKTOR, T.M., RICE, J.C., *et al.* (2009) Oestradiol and SERM treatments influence oestrogen receptor coregulator gene expression in human skeletal muscle cells. *Acta Physiologica (Oxford, England)* vol. 197, n° 3, p. 187-196. [https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2009.01997.x]
Differential development of oil granulomas induced by pristane injection in galectin-3 deficient mice - PubMed (s. d.). [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26572128/] (consulté le 16/12/2020).
DITTMAR, A.J., DROZDA, A.A., BLADER, I.J. (2016) Drug Repurposing Screening Identifies Novel Compounds That Effectively Inhibit Toxoplasma gondii Growth. *mSphere* vol. 1, n° 2, p. mSphere.00042-15, e00042-15. [https://doi.org/10.1128/mSphere.00042-15]
DODDS, M.L., KARGACIN, M.E., KARGACIN, G.J. (2001) Effects of anti-oestrogens and beta-estradiol on calcium uptake by cardiac sarcoplasmic reticulum. *British Journal of Pharmacology* vol. 132, n° 7, p. 1374-1382. [https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703924]
DOLAN, K., MONTGOMERY, S., BUCHHEIT, B., *et al.* (2009) Antifungal Activity of Tamoxifen: In Vitro and In Vivo Activities and Mechanistic Characterization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 53, n° 8, p. 3337-3346. [https://doi.org/10.1128/AAC.01564-08]
DORCHIES, O.M., LAPORTE, J., WAGNER, S., *et al.* (2001) Normal innervation and differentiation of X-linked myotubular myopathy muscle cells in a nerve-muscle coculture system. *Neuromuscular disorders: NMD* vol. 11, n° 8, p. 736-746. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966(01)00221-8]
DORCHIES, O.M., REUTENAUER-PATTE, J., DAHMANE, E., *et al.* (2013) The Anticancer Drug Tamoxifen Counteracts the Pathology in a Mouse Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *The American Journal of Pathology* vol. 182, n° 2, p. 485-504. [https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.10.018]
DOROODGAR, Masoud, DELAVARI, M., DOROODGAR, Moein, *et al.* (2016) Tamoxifen Induces Apoptosis of *Leishmania major* Promastigotes in Vitro. *The Korean Journal of Parasitology* vol. 54, n° 1, p. 9-14. [https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.1.9]
DOWLING, J.J., VREEDE, A.P., LOW, S.E., *et al.* (2009) Loss of myotubularin function results in T-tubule disorganization in zebrafish and human myotubular myopathy. *PLoS genetics* vol. 5, n° 2, p. e1000372. [https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000372]
DOWSETT, M., ALLRED, C., KNOX, J., *et al.* (2008) Relationship between quantitative estrogen and progesterone receptor expression and human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2) status with

recurrence in the Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination trial. *Journal of Clinical Oncology* vol. 26, n° 7, p. 1059-1065. [https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.9437]
DUPONT, S., KRUST, A., GANSMULLER, A., *et al.* (2000) Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta) on mouse reproductive phenotypes. *Development (Cambridge, England)* vol. 127, n° 19, p. 4277-4291.
DYALL, J., NELSON, E.A., DEWALD, L.E., *et al.* (2018) Identification of Combinations of Approved Drugs With Synergistic Activity Against Ebola Virus in Cell Cultures. *The Journal of Infectious Diseases* vol. 218, n° suppl_5, p. S672-S678. [https://doi.org/10.1093/infdis/jiy304]
EARL, H., GRAY, R., KERR, D., *et al.* (1997) The optimal duration of adjuvant tamoxifen treatment for breast cancer remains uncertain: randomize into aTTom. *Clinical Oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))* vol. 9, n° 3, p. 141-143. [https://doi.org/10.1016/s0936-6555(97)80067-2]
EDIGER, T.R., KRAUS, W.L., WEINMAN, E.J., *et al.* (1999) Estrogen receptor regulation of the Na+/H+ exchange regulatory factor. *Endocrinology* vol. 140, n° 7, p. 2976-2982. [https://doi.org/10.1210/endo.140.7.6885]
Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials (2005) . *The Lancet* vol. 365, n° 9472, p. 1687-1717. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66544-0]
EGGEMANN, H., ALTMANN, U., COSTA, S.-D., *et al.* (2018) Survival benefit of tamoxifen and aromatase inhibitor in male and female breast cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* vol. 144, n° 2, p. 337-341. [https://doi.org/10.1007/s00432-017-2539-7]
EGGEMANN, H., IGNATOV, A., SMITH, B.J., *et al.* (2013) Adjuvant therapy with tamoxifen compared to aromatase inhibitors for 257 male breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 137, n° 2, p. 465-470. [https://doi.org/10.1007/s10549-012-2355-3]
ELEFSINIOTIS, I.S., PANTAZIS, K.D., ILIAS, A., *et al.* (2004) Tamoxifen induced hepatotoxicity in breast cancer patients with pre-existing liver steatosis: the role of glucose intolerance. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* vol. 16, n° 6, p. 593-598. [https://doi.org/10.1097/00042737-200406000-00013]
ELLOSO, M.M., PHIEL, K., HENDERSON, R.A., *et al.* (2005) Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis using estrogen receptor-selective ligands. *The Journal of Endocrinology* vol. 185, n° 2, p. 243-252. [https://doi.org/10.1677/joe.1.06063]
EMONS, G., MUSTEA, A., TEMPFER, C. (2020) Tamoxifen and Endometrial Cancer: A Janus-Headed Drug. *Cancers* vol. 12, n° 9, p. 2535. [https://doi.org/10.3390/cancers12092535]
EPLING-BURNETTE, P.K., LIU, J.H., CATLETT-FALCONE, R., *et al.* (2001) Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 107, n° 3, p. 351-362. [https://doi.org/10.1172/JCI9940]
EPSTEIN, F.H., BORDER, W.A., NOBLE, N.A. (1994) Transforming Growth Factor β in Tissue Fibrosis. *New England Journal of Medicine* vol. 331, n° 19, p. 1286-1292. [https://doi.org/10.1056/NEJM199411103311907]
ESCOBEDO, G., PALACIOS-ARREOLA, M.I., OLIVOS, A., *et al.* (2013) Tamoxifen Treatment in Hamsters Induces Protection during Taeniosis by *Taenia solium*. *BioMed Research International* vol. 2013, p. 1-10. [https://doi.org/10.1155/2013/280496]
ETHIER, J.-L., DESAUTELS, D.N., AMIR, E., *et al.* (2017) Is hormonal therapy effective in advanced endometrial cancer? A systematic review and meta-analysis. *Gynecologic Oncology* vol. 147, n° 1, p. 158-166. [https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.07.002]
ETORI, S., NAKANO, R., KAMADA, H., *et al.* (2017) Tamoxifen-induced Lung Injury. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)* vol. 56, n° 21, p. 2903-2906. [https://doi.org/10.2169/internalmedicine.8649-16]
ETTINGER, B., BLACK, D.M., MITLAK, B.H., *et al.* (1999) Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *JAMA* vol. 282, n° 7, p. 637-645. [https://doi.org/10.1001/jama.282.7.637]
EUGSTER, E.A., RUBIN, S.D., REITER, E.O., *et al.* (2003) Tamoxifen treatment for precocious puberty in McCune-Albright syndrome: a multicenter trial. *The Journal of Pediatrics* vol. 143, n° 1, p. 60-66. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476(03)00128-8]

FABIAN, C.J., KIMLER, B.F. (2005) Selective estrogen-receptor modulators for primary prevention of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* vol. 23, n° 8, p. 1644-1655. [https://doi.org/10.1200/JCO.2005.11.005]
FALANY, J.L., PILLOFF, D.E., LEYH, T.S., *et al.* (2006) Sulfation of raloxifene and 4-hydroxytamoxifen by human cytosolic sulfotransferases. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* vol. 34, n° 3, p. 361-368. [https://doi.org/10.1124/dmd.105.006551]
FARHA, M.A., CZARNY, T.L., MYERS, C.L., *et al.* (2015) Antagonism screen for inhibitors of bacterial cell wall biogenesis uncovers an inhibitor of undecaprenyl diphosphate synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences* vol. 112, n° 35, p. 11048-11053. [https://doi.org/10.1073/pnas.1511751112]
FARRAR, M.C., JACOBS, T.F. (2020) Tamoxifen. *In StatPearls*. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing.
FAWELL, S.E., WHITE, R., HOARE, S., *et al.* (1990) Inhibition of estrogen receptor-DNA binding by the « pure » antiestrogen ICI 164,384 appears to be mediated by impaired receptor dimerization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 87, n° 17, p. 6883-6887. [https://doi.org/10.1073/pnas.87.17.6883]
FEDER, D., RODRIGUES BARROS GODOY, I., GUIMARÃES PEREIRA, M.L., *et al.* (2013) Hormonal receptors in skeletal muscles of dystrophic mdx mice. *BioMed Research International* vol. 2013, p. 604635. [https://doi.org/10.1155/2013/604635]
FEIL, R. (2007) Conditional somatic mutagenesis in the mouse using site-specific recombinases. *Handbook of Experimental Pharmacology* n° 178, p. 3-28. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-35109-2_1]
FEIL, R., BROCARD, J., MASCREZ, B., *et al.* (1996) Ligand-activated site-specific recombination in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 93, n° 20, p. 10887-10890. [https://doi.org/10.1073/pnas.93.20.10887]
FEIL, R., WAGNER, J., METZGER, D., *et al.* (1997) Regulation of Cre recombinase activity by mutated estrogen receptor ligand-binding domains. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 237, n° 3, p. 752-757. [https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7124]
FENDL, K.C., ZIMNISKI, S.J. (1992) Role of tamoxifen in the induction of hormone-independent rat mammary tumors. *Cancer Research* vol. 52, n° 1, p. 235-237.
FENG, Y., FRATKINS, J.D., LEBLANC, M.H. (2004) Treatment with tamoxifen reduces hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *European Journal of Pharmacology* vol. 484, n° 1, p. 65-74. [https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.10.048]
FENTIMAN, I.S., CALEFFI, M., HAMED, H., *et al.* (1988) Dosage and duration of tamoxifen treatment for mastalgia: A controlled trial. *British Journal of Surgery* vol. 75, n° 9, p. 845-846. [https://doi.org/10.1002/bjs.1800750905]
FENTIMAN, I.S., FOURQUET, A., HORTOBAGYI, G.N. (2006) Male breast cancer. *The Lancet* vol. 367, n° 9510, p. 595-604. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68226-3]
FEUSTEL, P.J., JIN, Y., KIMELBERG, H.K. (2004) Volume-regulated anion channels are the predominant contributors to release of excitatory amino acids in the ischemic cortical penumbra. *Stroke* vol. 35, n° 5, p. 1164-1168. [https://doi.org/10.1161/01.STR.0000124127.57946.a1]
FIGUEREDO, A., ARNOLD, A., GOODYEAR, M., *et al.* (1990) Addition of verapamil and tamoxifen to the initial chemotherapy of small cell lung cancer. A phase I/II study. *Cancer* vol. 65, n° 9, p. 1895-1902. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19900501)65:9<1895::aid-cncr2820650904>3.0.co;2-r]
FINAN, B., YANG, B., OTTAWAY, N., *et al.* (2012) Targeted estrogen delivery reverses the metabolic syndrome. *Nature Medicine* vol. 18, n° 12, p. 1847-1856. [https://doi.org/10.1038/nm.3009]
FIORICA, J. (2004) Phase II trial of alternating courses of megestrol acetate and tamoxifen in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecologic Oncology* vol. 92, n° 1, p. 10-14. [https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2003.11.008]
FIRE, A., XU, S., MONTGOMERY, M.K., *et al.* (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans. *Nature* vol. 391, n° 6669, p. 806-811. [https://doi.org/10.1038/35888]
FISHER, B., COSTANTINO, J., REDMOND, C., *et al.* (1989) A Randomized Clinical Trial Evaluating Tamoxifen in the Treatment of Patients with Node-Negative Breast Cancer Who Have Estrogen-

Receptor–Positive Tumors. *New England Journal of Medicine* vol. 320, n° 8, p. 479-484. [https://doi.org/10.1056/NEJM198902233200802]
FISHER, B., COSTANTINO, J.P., WICKERHAM, D.L., *et al.* (2005) Tamoxifen for the prevention of breast cancer: current status of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 97, n° 22, p. 1652-1662. [https://doi.org/10.1093/jnci/dji372]
FISHER, B., COSTANTINO, J.P., WICKERHAM, D.L., *et al.* (1998) Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 90, n° 18, p. 1371-1388. [https://doi.org/10.1093/jnci/90.18.1371]
FISHER, B., DIGNAM, J., WOLMARK, N., *et al.* (1999) Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. *The Lancet* vol. 353, n° 9169, p. 1993-2000. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)05036-9]
FLAXEL, C.J., MULHOLLAND, B., HAYNES, B., *et al.* (2000) Intraocular penetration of tamoxifen. *Ophthalmology* vol. 107, n° 11, p. 2006-2009. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420(00)00364-x]
FLEMING, C.A., HENEGHAN, H.M., O'BRIEN, D., *et al.* (2018) Meta-analysis of the cumulative risk of endometrial malignancy and systematic review of endometrial surveillance in extended tamoxifen therapy. *The British Journal of Surgery* vol. 105, n° 9, p. 1098-1106. [https://doi.org/10.1002/bjs.10899]
FONTAINE, C., ABOT, A., BILLON-GALÉS, A., *et al.* (2013) Tamoxifen Elicits Atheroprotection through Estrogen Receptor α AF-1 But Does Not Accelerate Reendothelialization. *The American Journal of Pathology* vol. 183, n° 1, p. 304-312. [https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.03.010]
FORBES, J.F., CUZICK, J., BUZDAR, A., *et al.* (2008) Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 100-month analysis of the ATAC trial. *The Lancet. Oncology* vol. 9, n° 1, p. 45-53. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045(07)70385-6]
FORNANDER, T., RUTQVIST, L.E., CEDERMARK, B., *et al.* (1989) Adjuvant tamoxifen in early breast cancer: occurrence of new primary cancers. *Lancet (London, England)* vol. 1, n° 8630, p. 117-120. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736(89)91141-0]
FÖRSTER, C., MÄKELA, S., WÄRRI, A., *et al.* (2002) Involvement of estrogen receptor beta in terminal differentiation of mammary gland epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 99, n° 24, p. 15578-15583. [https://doi.org/10.1073/pnas.192561299]
FRAENKL, S.A., MOZAFFARIEH, M., FLAMMER, J. (2010) Retinal vein occlusions: The potential impact of a dysregulation of the retinal veins. *The EPMA journal* vol. 1, n° 2, p. 253-261. [https://doi.org/10.1007/s13167-010-0025-2]
FRANCIS, P.A., REGAN, M.M., FLEMING, G.F., *et al.* (2015) Adjuvant ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *The New England Journal of Medicine* vol. 372, n° 5, p. 436-446. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412379]
FRASER, I.S. (1987) Menorrhagia due to myometrial hypertrophy: treatment with tamoxifen. *Obstetrics and Gynecology* vol. 70, n° 3 Pt 2, p. 505-506.
FRASOR, J., CHANG, E.C., KOMM, B., *et al.* (2006) Gene expression preferentially regulated by tamoxifen in breast cancer cells and correlations with clinical outcome. *Cancer Research* vol. 66, n° 14, p. 7334-7340. [https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4269]
FROMENTY, B. (2013) Drug-induced liver injury in obesity. *Journal of Hepatology* vol. 58, n° 4, p. 824-826. [https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.12.018]
FUKAZAWA, H., SUZUKI, T., WAKITA, T., *et al.* (2012) A Cell-Based, Microplate Colorimetric Screen Identifies 7,8-Benzoflavone and Green Tea Gallate Catechins as Inhibitors of the Hepatitis C Virus. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* vol. 35, n° 8, p. 1320-1327. [https://doi.org/10.1248/bpb.b12-00251]
GALLICCHIO, L., LORD, G., TKACZUK, K., *et al.* (2004) Association of tamoxifen (TAM) and TAM metabolite concentrations with self-reported side effects of TAM in women with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 85, n° 1, p. 89-97. [https://doi.org/10.1023/B:BREA.0000021050.92539.b0]
GARBER, J.E., HALABI, S., TOLANEY, S.M., *et al.* (2010) Factor V Leiden mutation and thromboembolism risk in women receiving adjuvant tamoxifen for breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 102, n° 13, p. 942-949. [https://doi.org/10.1093/jnci/djq211]

GARUTI, G., GROSSI, F., CENTINAIO, G., *et al.* (2007) Pretreatment and prospective assessment of endometrium in menopausal women taking tamoxifen for breast cancer. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology* vol. 132, n° 1, p. 101-106. [https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2006.04.001]
GAUDUCHON, J., GOUILLEUX, F., MAILLARD, S., *et al.* (2005) 4-Hydroxytamoxifen inhibits proliferation of multiple myeloma cells in vitro through down-regulation of c-Myc, up-regulation of p27Kip1, and modulation of Bcl-2 family members. *Clinical Cancer Research* vol. 11, n° 6, p. 2345-2354. [https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-1668]
GAYI, E., NEFF, L.A., ISMAIL, H.M., *et al.* (2018a) Repurposing the Selective Oestrogen Receptor Modulator Tamoxifen for the Treatment of Duchenne Muscular Dystrophy. *CHIMIA International Journal for Chemistry* vol. 72, n° 4, p. 238-240. [https://doi.org/10.2533/chimia.2018.238]
GAYI, E., NEFF, L.A., MASSANA MUÑOZ, X., *et al.* (2018b) Tamoxifen prolongs survival and alleviates symptoms in mice with fatal X-linked myotubular myopathy. *Nature Communications* vol. 9, n° 1, p. 4848. [https://doi.org/10.1038/s41467-018-07058-4]
GERITS, E., DEFRAINE, V., VANDAMME, K., *et al.* (2017) Repurposing Toremifene for Treatment of Oral Bacterial Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 61, n° 3, p. e01846-16, e01846-16. [https://doi.org/10.1128/AAC.01846-16]
GIANNI, L., PANZINI, I., LI, S., *et al.* (2006) Ocular toxicity during adjuvant chemoendocrine therapy for early breast cancer: results from International Breast Cancer Study Group trials. *Cancer* vol. 106, n° 3, p. 505-513. [https://doi.org/10.1002/cncr.21651]
GIRGERT, R., EMONS, G., GRÜNDKER, C. (2018) Estrogen Signaling in ERα-Negative Breast Cancer: ERβ and GPER. *Frontiers in Endocrinology* vol. 9, p. 781. [https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00781]
GJERDE, J., GANDINI, S., GUERRIERI-GONZAGA, A., *et al.* (2012) Tissue distribution of 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen and tamoxifen-N-oxide. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 134, n° 2, p. 693-700. [https://doi.org/10.1007/s10549-012-2074-9]
GJERDE, J., GEISLER, J., LUNDGREN, S., *et al.* (2010) Associations between tamoxifen, estrogens, and FSH serum levels during steady state tamoxifen treatment of postmenopausal women with breast cancer. *BMC cancer* vol. 10, p. 313. [https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-313]
GLICK, J.H., WEIN, A., PADAVIC, K., *et al.* (1982) Phase II trial of tamoxifen in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer* vol. 49, n° 7, p. 1367-1372. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19820401)49:7<1367::aid-cncr2820490711>3.0.co;2-8]
GOETZ, M.P., KNOX, S.K., SUMAN, V.J., *et al.* (2007) The impact of cytochrome P450 2D6 metabolism in women receiving adjuvant tamoxifen. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 101, n° 1, p. 113-121. [https://doi.org/10.1007/s10549-006-9428-0]
GOETZ, M.P., LOPRINZI, C.L. (2003) A hot flash on tamoxifen metabolism. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 95, n° 23, p. 1734-1735. [https://doi.org/10.1093/jnci/djg129]
GOETZ, M.P., RAE, J.M., SUMAN, V.J., *et al.* (2005) Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *Journal of Clinical Oncology* vol. 23, n° 36, p. 9312-9318. [https://doi.org/10.1200/JCO.2005.03.3266]
GONZALEZ, A.-M., BUSCAGLIA, M., FOX, R., *et al.* (1992) Basic Fibroblast Growth Factor in Dupuytren's Contracture vol. 141, n° 3, p. 11.
GOSS, P.E., INGLE, J.N., MARTINO, S., *et al.* (2005) Randomized trial of letrozole following tamoxifen as extended adjuvant therapy in receptor-positive breast cancer: updated findings from NCIC CTG MA.17. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 97, n° 17, p. 1262-1271. [https://doi.org/10.1093/jnci/dji250]
GOSS, P.E., INGLE, J.N., MARTINO, S., *et al.* (2003) A Randomized Trial of Letrozole in Postmenopausal Women after Five Years of Tamoxifen Therapy for Early-Stage Breast Cancer. *New England Journal of Medicine* vol. 349, n° 19, p. 1793-1802. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa032312]
GOSS, P.E., INGLE, J.N., PRITCHARD, K.I., *et al.* (2016) Extending Aromatase-Inhibitor Adjuvant Therapy to 10 Years. *New England Journal of Medicine* vol. 375, n° 3, p. 209-219. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa1604700]
GOSS, P.E., QI, S., HU, H. (2009) Comparing the effects of atamestane, toremifene and tamoxifen alone and in combination, on bone, serum lipids and uterus in ovariectomized rats. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* vol. 113, n° 3-5, p. 233-240. [https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2009.01.005]

GOSS, P.E., REID, C., PINTILIE, M., *et al.* (1999) Male breast carcinoma: a review of 229 patients who presented to the Princess Margaret Hospital during 40 years: 1955-1996. *Cancer* vol. 85, n° 3, p. 629-639. [https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19990201)85:3<629::aid-cncr13>3.0.co;2-v]
GOTTARDIS, M.M., JORDAN, V.C. (1987) Antitumor actions of keoxifene and tamoxifen in the N-nitrosomethylurea-induced rat mammary carcinoma model. *Cancer Research* vol. 47, n° 15, p. 4020-4024.
GOTTARDIS, M.M., RICCHIO, M.E., SATYASWAROOP, P.G., *et al.* (1990) Effect of steroidal and nonsteroidal antiestrogens on the growth of a tamoxifen-stimulated human endometrial carcinoma (EnCa101) in athymic mice. *Cancer Research* vol. 50, n° 11, p. 3189-3192.
GRADISHAR, W., SALERNO, K.E. (2016) NCCN Guidelines Update: Breast Cancer. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network* vol. 14, n° 5S, p. 641-644. [https://doi.org/10.6004/jnccn.2016.0181]
GRADY, D., ETTINGER, B., MOSCARELLI, E., *et al.* (2004) Safety and adverse effects associated with raloxifene: multiple outcomes of raloxifene evaluation. *Obstetrics and Gynecology* vol. 104, n° 4, p. 837-844. [https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000137349.79204.b8]
GRECO, T.L., DUELLO, T.M., GORSKI, J. (1993) Estrogen receptors, estradiol, and diethylstilbestrol in early development: the mouse as a model for the study of estrogen receptors and estrogen sensitivity in embryonic development of male and female reproductive tracts. *Endocrine Reviews* vol. 14, n° 1, p. 59-71. [https://doi.org/10.1210/edrv-14-1-59]
GREENE, G.L., GILNA, P., WATERFIELD, M., *et al.* (1986) Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science (New York, N.Y.)* vol. 231, n° 4742, p. 1150-1154. [https://doi.org/10.1126/science.3753802]
GRESE, T.A., SLUKA, J.P., BRYANT, H.U., *et al.* (1997) Molecular determinants of tissue selectivity in estrogen receptor modulators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 94, n° 25, p. 14105-14110. [https://doi.org/10.1073/pnas.94.25.14105]
GRIO, R., CELLURA, A., GERANIO, R., *et al.* (1998) [Clinical efficacy of tamoxifen in the treatment of premenstrual mastodynia]. *Minerva Ginecologica* vol. 50, n° 3, p. 101-103.
GUILLAUME, M., HANDGRAAF, S., FABRE, A., *et al.* (2017) Selective Activation of Estrogen Receptor α Activation Function-1 Is Sufficient to Prevent Obesity, Steatosis, and Insulin Resistance in Mouse. *The American Journal of Pathology* vol. 187, n° 6, p. 1273-1287. [https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.02.013]
GUILLAUME, M., RIANT, E., FABRE, A., *et al.* (2019) Selective Liver Estrogen Receptor α Modulation Prevents Steatosis, Diabetes, and Obesity Through the Anorectic Growth Differentiation Factor 15 Hepatokine in Mice. *Hepatology Communications* vol. 3, n° 7, p. 908-924. [https://doi.org/10.1002/hep4.1363]
GUPTARAK, J., WIKTOROWICZ, J.E., SADYGOV, R.G., *et al.* (2014) The cancer drug tamoxifen: a potential therapeutic treatment for spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma* vol. 31, n° 3, p. 268-283. [https://doi.org/10.1089/neu.2013.3108]
GURSOY, E., CARDOUNEL, A., AL-KHLAIWI, T., *et al.* (2002) Tamoxifen protects clonal mouse hippocampal (HT-22) cells against neurotoxins-induced cell death. *Neurochemistry International* vol. 40, n° 5, p. 405-412. [https://doi.org/10.1016/s0197-0186(01)00105-x]
HALACHMI, S., MARDEN, E., MARTIN, G., *et al.* (1994) Estrogen receptor-associated proteins: possible mediators of hormone-induced transcription. *Science (New York, N.Y.)* vol. 264, n° 5164, p. 1455-1458. [https://doi.org/10.1126/science.8197458]
HALL, J.M., COUSE, J.F., KORACH, K.S. (2001) The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *The Journal of Biological Chemistry* vol. 276, n° 40, p. 36869-36872. [https://doi.org/10.1074/jbc.R100029200]
HAMMAD, S., OTHMAN, A., MEYER, C., *et al.* (2018) Confounding influence of tamoxifen in mouse models of Cre recombinase-induced gene activity or modulation. *Archives of Toxicology* vol. 92, n° 8, p. 2549-2561. [https://doi.org/10.1007/s00204-018-2254-4]
HANDGRAAF, S., RIANT, E., FABRE, A., *et al.* (2013) Prevention of obesity and insulin resistance by estrogens requires ERα activation function-2 (ERαAF-2), whereas ERαAF-1 is dispensable. *Diabetes* vol. 62, n° 12, p. 4098-4108. [https://doi.org/10.2337/db13-0282]
HANSMANN, A., ADOLPH, C., VOGEL, T., *et al.* (2004) High-dose tamoxifen and sulindac as first-line treatment for desmoid tumors. *Cancer* vol. 100, n° 3, p. 612-620. [https://doi.org/10.1002/cncr.11937]

HATCH, K.D., BEECHAM, J.B., BLESSING, J.A., *et al.* (1991) Responsiveness of patients with advanced ovarian carcinoma to tamoxifen. A Gynecologic Oncology Group study of second-line therapy in 105 patients. *Cancer* vol. 68, n° 2, p. 269-271. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19910715)68:2<269::aid-cncr2820680209>3.0.co;2-o]
HATTAR, R., MALLER, O., MCDANIEL, S., *et al.* (2009) Tamoxifen induces pleiotrophic changes in mammary stroma resulting in extracellular matrix that suppresses transformed phenotypes. *Breast cancer research: BCR* vol. 11, n° 1, p. R5. [https://doi.org/10.1186/bcr2220]
HAYASHI, S., MCMAHON, A.P. (2002) Efficient recombination in diverse tissues by a tamoxifen-inducible form of Cre: a tool for temporally regulated gene activation/inactivation in the mouse. *Developmental Biology* vol. 244, n° 2, p. 305-318. [https://doi.org/10.1006/dbio.2002.0597]
HAYES, T.G. (2009) Pharmacologic treatment of male breast cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* vol. 10, n° 15, p. 2499-2510. [https://doi.org/10.1517/14656560903200634]
HEERY, APRN, AOCNS, CBCN, M., CORBETT, RPH, PHARMD, P., ZELKOWITZ, MD, R. (2018) Precautions for Patients Taking Tamoxifen. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology* vol. 9, n° 1. [https://doi.org/10.6004/jadpro.2018.9.1.6]
HEIER, J.S., DRAGOO, R.A., ENZENAUER, R.W., *et al.* (1994) Screening for ocular toxicity in asymptomatic patients treated with tamoxifen. *American Journal of Ophthalmology* vol. 117, n° 6, p. 772-775. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)70321-6]
HELDRING, N., PIKE, A., ANDERSSON, S., *et al.* (2007) Estrogen receptors: how do they signal and what are their targets. *Physiological Reviews* vol. 87, n° 3, p. 905-931. [https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2006]
HENRY, N.L., STEARNS, V., FLOCKHART, D.A., *et al.* (2008) Drug interactions and pharmacogenomics in the treatment of breast cancer and depression. *The American Journal of Psychiatry* vol. 165, n° 10, p. 1251-1255. [https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2008.08040482]
HERNANDEZ, R.K., SØRENSEN, H.T., PEDERSEN, L., *et al.* (2009) Tamoxifen treatment and risk of deep venous thrombosis and pulmonary embolism: A Danish population-based cohort study. *Cancer* vol. 115, n° 19, p. 4442-4449. [https://doi.org/10.1002/cncr.24508]
HERTZ, D.L., MCLEOD, H.L., IRVIN, W.J. (2012) Tamoxifen and CYP2D6: a contradiction of data. *The Oncologist* vol. 17, n° 5, p. 620-630. [https://doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0418]
HILDEBRAND, A., ROMARÍS, M., RASMUSSEN, L.M., *et al.* (1994) Interaction of the small interstitial proteoglycans biglycan, decorin and fibromodulin with transforming growth factor β. *Biochemical Journal* vol. 302, n° 2, p. 527-534. [https://doi.org/10.1042/bj3020527]
HOWELL, A., CUZICK, J., BAUM, M., *et al.* (2005) Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet (London, England)* vol. 365, n° 9453, p. 60-62. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17666-6]
HU, D., HUGHES, M.A., CHERRY, G.W. (1998) Topical tamoxifen — a potential therapeutic regime in treating excessive dermal scarring? *British Journal of Plastic Surgery* vol. 51, n° 6, p. 462-469. [https://doi.org/10.1054/bjps.1997.0100]
HU, R., HILAKIVI-CLARKE, L., CLARKE, R. (2015) Molecular mechanisms of tamoxifen-associated endometrial cancer (Review). *Oncology Letters* vol. 9, n° 4, p. 1495-1501. [https://doi.org/10.3892/ol.2015.2962]
HUANG, J.-W., YEN, C.-J., WU, H.-Y., *et al.* (2011) Tamoxifen Downregulates Connective Tissue Growth Factor to Ameliorate Peritoneal Fibrosis. *Blood Purification* vol. 31, n° 4, p. 252-258. [https://doi.org/10.1159/000322555]
HUBBARD, J.S., CHEN, P.H., BOYD, K.L. (2017) Effects of Repeated Intraperitoneal Injection of Pharmaceutical-grade and Nonpharmaceutical-grade Corn Oil in Female C57BL/6J Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* vol. 56, n° 6, p. 779-785.
HUGHES-DAVIES, L., CALDAS, C., WISHART, G.C. (2009) Tamoxifen: the drug that came in from the cold. *British Journal of Cancer* vol. 101, n° 6, p. 875-878. [https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605231]
HUH, W.J., KHURANA, S.S., GEAHLEN, J.H., *et al.* (2012) Tamoxifen Induces Rapid, Reversible Atrophy, and Metaplasia in Mouse Stomach. *Gastroenterology* vol. 142, n° 1, p. 21- 24.e7. [https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.09.050]
HUOTARI, J., HELENIUS, A. (2011) Endosome maturation. *The EMBO journal* vol. 30, n° 17, p. 3481-3500. [https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286]

HUSSAIN, T., KNEESHAW, P.J. (2012) Stopping tamoxifen peri-operatively for VTE risk reduction: A proposed management algorithm. *International Journal of Surgery* vol. 10, n° 6, p. 313-316. [https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2012.05.001]
HUSSEIN, M.H., SCHNEIDER, E.K., ELLIOTT, A.G., *et al.* (2017) From Breast Cancer to Antimicrobial: Combating Extremely Resistant Gram-Negative "Superbugs" Using Novel Combinations of Polymyxin B with Selective Estrogen Receptor Modulators. *Microbial Drug Resistance* vol. 23, n° 5, p. 640-650. [https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0196]
IGARASHI, A., NASHIRO, K., KIKUCHI, K., *et al.* (1996) Connective Tissue Growth Factor Gene Expression in Tissue Sections From Localized Scleroderma, Keloid, and Other Fibrotic Skin Disorders. *Journal of Investigative Dermatology* vol. 106, n° 4, p. 729-733. [https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12345771]
IGNATOV, T., EGGEMANN, H., SEMCZUK, A., *et al.* (2010) Role of GPR30 in endometrial pathology after tamoxifen for breast cancer. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* vol. 203, n° 6, p. 595.e9-16. [https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.07.034]
INGLE, J.N. (2005) Endocrine therapy trials of aromatase inhibitors for breast cancer in the adjuvant and prevention settings. *Clinical Cancer Research* vol. 11, n° 2 Pt 2, p. 900s-5s.
ISMAILOĞLU, O., ORAL, B., GÖRGÜLÜ, A., *et al.* (2010) Neuroprotective effects of tamoxifen on experimental spinal cord injury in rats. *Journal of Clinical Neuroscience* vol. 17, n° 10, p. 1306-1310. [https://doi.org/10.1016/j.jocn.2010.01.049]
IUSUF, D., TEUNISSEN, S.F., WAGENAAR, E., *et al.* (2011) P-Glycoprotein (ABCB1) Transports the Primary Active Tamoxifen Metabolites Endoxifen and 4-Hydroxytamoxifen and Restricts Their Brain Penetration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* vol. 337, n° 3, p. 710-717. [https://doi.org/10.1124/jpet.110.178301]
JACOBS, A.C., DIDONE, L., JOBSON, J., *et al.* (2013) Adenylate Kinase Release as a High-Throughput-Screening-Compatible Reporter of Bacterial Lysis for Identification of Antibacterial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 57, n° 1, p. 26-36. [https://doi.org/10.1128/AAC.01640-12]
JANG, W.S., KIM, S., PODDER, B., *et al.* (2015) Anti-Mycobacterial Activity of Tamoxifen Against Drug-Resistant and Intra-Macrophage Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Microbiology and Biotechnology* vol. 25, n° 6, p. 946-950. [https://doi.org/10.4014/jmb.1412.12023]
JARDÍ, F., LAURENT, M.R., DUBOIS, V., *et al.* (2017) A shortened tamoxifen induction scheme to induce CreER recombinase without side effects on the male mouse skeleton. *Molecular and Cellular Endocrinology* vol. 452, p. 57-63. [https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.05.012]
JIANG, M., MA, X., ZHAO, Q., *et al.* (2019) The neuroprotective effects of novel estrogen receptor GPER1 in mouse retinal ganglion cell degeneration. *Experimental Eye Research* vol. 189, p. 107826. [https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107826]
JIN, Y., DESTA, Z., STEARNS, V., *et al.* (2005) CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment vol. 97, n° 1, p. 30-39. [https://doi.org/10.1093/jnci/dji005]
JOCHEMS, C., ISLANDER, U., KALLKOPF, A., *et al.* (2007) Role of raloxifene as a potent inhibitor of experimental postmenopausal polyarthritis and osteoporosis. *Arthritis & Rheumatism* vol. 56, n° 10, p. 3261-3270. [https://doi.org/10.1002/art.22873]
JOHANSEN, L.M., BRANNAN, J.M., DELOS, S.E., *et al.* (2013) FDA-Approved Selective Estrogen Receptor Modulators Inhibit Ebola Virus Infection. *Science Translational Medicine* vol. 5, n° 190, p. 190ra79-190ra79. [https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005471]
JOHNEN, H., LIN, S., KUFFNER, T., *et al.* (2007) Tumor-induced anorexia and weight loss are mediated by the TGF-beta superfamily cytokine MIC-1. *Nature Medicine* vol. 13, n° 11, p. 1333-1340. [https://doi.org/10.1038/nm1677]
JOHNSON, K.E., FORWARD, J.A., TIPPY, M.D., *et al.* (2017) Tamoxifen Directly Inhibits Platelet Angiogenic Potential and Platelet-Mediated Metastasis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* vol. 37, n° 4, p. 664-674. [https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308791]
JONES, A.L., POWLES, T.J., TRELEAVEN, J.G., *et al.* (1992) Haemostatic changes and thromboembolic risk during tamoxifen therapy in normal women. *British Journal of Cancer* vol. 66, n° 4, p. 744-747. [https://doi.org/10.1038/bjc.1992.350]

JORDAN, V.C. (2019) The SERM Saga, Something from Nothing: American Cancer Society/SSO Basic Science Lecture. *Annals of Surgical Oncology* vol. 26, n° 7, p. 1981-1990. [https://doi.org/10.1245/s10434-019-07291-1]
JORDAN, V.C. (2014) Tamoxifen as the first targeted long-term adjuvant therapy for breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* vol. 21, n° 3, p. R235-R246. [https://doi.org/10.1530/ERC-14-0092]
JORDAN, V.C. (2009) Tamoxifen (ICI46,474) as a targeted therapy to treat and prevent breast cancer: Tamoxifen in breast cancer treatment. *British Journal of Pharmacology* vol. 147, n° S1, p. S269-S276. [https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706399]
JORDAN, V.C. (2008a) Tamoxifen: Catalyst for the change to targeted therapy. *European Journal of Cancer* vol. 44, n° 1, p. 30-38. [https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.11.002]
JORDAN, V.C. (2008b) The 38th David A. Karnofsky lecture: the paradoxical actions of estrogen in breast cancer--survival or death? *Journal of Clinical Oncology* vol. 26, n° 18, p. 3073-3082. [https://doi.org/10.1200/JCO.2008.17.5190]
JORDAN, V. C. (2007) Tamoxifen or Raloxifene for Breast Cancer Chemoprevention: A Tale of Two Choices Point. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* vol. 16, n° 11, p. 2207-2209. [https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-0629]
JORDAN, V. Craig (2007a) Chemoprevention of breast cancer with selective oestrogen-receptor modulators. *Nature Reviews. Cancer* vol. 7, n° 1, p. 46-53. [https://doi.org/10.1038/nrc2048]
JORDAN, V. Craig (2007b) New insights into the metabolism of tamoxifen and its role in the treatment and prevention of breast cancer. *Steroids* vol. 72, n° 13, p. 829-842. [https://doi.org/10.1016/j.steroids.2007.07.009]
JORDAN, V.C. (2006) Optimising endocrine approaches for the chemoprevention of breast cancer. *European Journal of Cancer* vol. 42, n° 17, p. 2909-2913. [https://doi.org/10.1016/j.ejca.2006.09.012]
JORDAN, V.C. (2003) Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. *Nature Reviews. Drug Discovery* vol. 2, n° 3, p. 205-213. [https://doi.org/10.1038/nrd1031]
JORDAN, V.C. (2001) Selective estrogen receptor modulation: a personal perspective. *Cancer Research* vol. 61, n° 15, p. 5683-5687.
JORDAN, V.C. (1993) Growth factor regulation by tamoxifen is demonstrated in patients with breast cancer vol. 72, n° 1, p. 1-2. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19930701)72:1<1::aid-cncr2820720102>3.0.co;2-f]
JORDAN, V.C. (1990) Long-term adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 15, n° 3, p. 125-136. [https://doi.org/10.1007/BF01806350]
JORDAN, V.C. (1976) Effect of tamoxifen (ICI 46,474) on initiation and growth of DMBA-induced rat mammary carcinomata. *European Journal of Cancer* vol. 12, n° 6, p. 419-424. [https://doi.org/10.1016/0014-2964(76)90030-X]
JORDAN, V.C., ALLEN, K.E. (1980) Evaluation of the antitumour activity of the non-steroidal antioestrogen monohydroxytamoxifen in the DMBA-induced rat mammary carcinoma model. *European Journal of Cancer (1965)* vol. 16, n° 2, p. 239-251. [https://doi.org/10.1016/0014-2964(80)90156-5]
JORDAN, V.C., COLLINS, M.M., ROWSBY, L., *et al.* (1977) A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antioestrogenic activity. *The Journal of Endocrinology* vol. 75, n° 2, p. 305-316. [https://doi.org/10.1677/joe.0.0750305]
JORDAN, V.C., KOERNER, S. (1975) Tamoxifen (ICI 46,474) and the human carcinoma 8S oestrogen receptor. *European Journal of Cancer (1965)* vol. 11, n° 3, p. 205-206. [https://doi.org/10.1016/0014-2964(75)90119-X]
JORDAN, V.C., O'MALLEY, B.W. (2007) Selective Estrogen-Receptor Modulators and Antihormonal Resistance in Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology* vol. 25, n° 36, p. 5815-5824. [https://doi.org/10.1200/JCO.2007.11.3886]
JUDGE, D.P., KASS, D.A., THOMPSON, W.R., *et al.* (2011) Pathophysiology and therapy of cardiac dysfunction in Duchenne muscular dystrophy. *American Journal of Cardiovascular Drugs* vol. 11, n° 5, p. 287-294. [https://doi.org/10.2165/11594070-000000000-00000]
JUSTENHOVEN, C., HAMANN, U., PIERL, C.B., *et al.* (2009) CYP2C19*17 is associated with decreased breast cancer risk. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 115, n° 2, p. 391-396. [https://doi.org/10.1007/s10549-008-0076-4]

KAI, F., LAKLAI, H., WEAVER, V.M. (2016) Force Matters: Biomechanical Regulation of Cell Invasion and Migration in Disease. *Trends in Cell Biology* vol. 26, n° 7, p. 486-497. [https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.03.007]
KASIKARA, C., DORAN, A.C., CAI, B., *et al.* (2018) The role of non-resolving inflammation in atherosclerosis. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 128, n° 7, p. 2713-2723. [https://doi.org/10.1172/JCI97950]
KE, H.Z., CHEN, H.K., SIMMONS, H.A., *et al.* (1997) Comparative effects of droloxifene, tamoxifen, and estrogen on bone, serum cholesterol, and uterine histology in the ovariectomized rat model. *Bone* vol. 20, n° 1, p. 31-39. [https://doi.org/10.1016/s8756-3282(96)00313-4]
KELLY, C.M., JUURLINK, D.N., GOMES, T., *et al.* (2010) Selective serotonin reuptake inhibitors and breast cancer mortality in women receiving tamoxifen: a population based cohort study. *BMJ* vol. 340, n° feb08 1, p. c693-c693. [https://doi.org/10.1136/bmj.c693]
KEMP, J.V., ADAM, H.K., WAKELING, A.E., *et al.* (1983) Identification and biological activity of tamoxifen metabolites in human serum. *Biochemical Pharmacology* vol. 32, n° 13, p. 2045-2052. [https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90425-2]
KHAN, S.Z., LONGLAND, C.L., MICHELANGELI, F. (2000) The effects of phenothiazines and other calmodulin antagonists on the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca2+ pumps. *Biochemical Pharmacology* vol. 60, n° 12, p. 1797-1806. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952(00)00505-0]
KIERMAYER, C., CONRAD, M., SCHNEIDER, M., *et al.* (2007) Optimization of spatiotemporal gene inactivation in mouse heart by oral application of tamoxifen citrate. *genesis* vol. 45, n° 1, p. 11-16. [https://doi.org/10.1002/dvg.20244]
KIM, H.K.W., ARUWAJOYE, O., SUCATO, D., *et al.* (2013) Induction of SHP2-deficiency in chondrocytes causes severe scoliosis and kyphosis in mice. *Spine* vol. 38, n° 21, p. E1307-12. [https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3182a3d370]
KIMELBERG, H.K., FEUSTEL, P.J., JIN, Y., *et al.* (2000) Acute treatment with tamoxifen reduces ischemic damage following middle cerebral artery occlusion. *Neuroreport* vol. 11, n° 12, p. 2675-2679. [https://doi.org/10.1097/00001756-200008210-00014]
KIMELBERG, H.K., JIN, Y., CHARNIGA, C., *et al.* (2003) Neuroprotective activity of tamoxifen in permanent focal ischemia. *Journal of Neurosurgery* vol. 99, n° 1, p. 138-142. [https://doi.org/10.3171/jns.2003.99.1.0138]
KINZBRUNNER, B., RITTER, S., DOMINGO, J., *et al.* (1983) Remission of rapidly growing desmoid tumors after tamoxifen therapy. *Cancer* vol. 52, n° 12, p. 2201-2204. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19831215)52:12<2201::AID-CNCR2820521204>3.0.CO;2-#]
KITAMURA, H., KAMON, H., SAWA, S.-I., *et al.* (2005) IL-6-STAT3 controls intracellular MHC class II alphabeta dimer level through cathepsin S activity in dendritic cells. *Immunity* vol. 23, n° 5, p. 491-502. [https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.09.010]
KIYOTANI, K., MUSHIRODA, T., IMAMURA, C.K., *et al.* (2010) Significant effect of polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients. *Journal of Clinical Oncology* vol. 28, n° 8, p. 1287-1293. [https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.7246]
KIYOTANI, K., MUSHIRODA, T., NAKAMURA, Y., *et al.* (2012a) Pharmacogenomics of tamoxifen: roles of drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* vol. 27, n° 1, p. 122-131. [https://doi.org/10.2133/dmpk.dmpk-11-rv-084]
KIYOTANI, K., MUSHIRODA, T., TSUNODA, T., *et al.* (2012b) A genome-wide association study identifies locus at 10q22 associated with clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients in Japanese. *Human Molecular Genetics* vol. 21, n° 7, p. 1665-1672. [https://doi.org/10.1093/hmg/ddr597]
KLEIN, B.E., KLEIN, R., LEE, K.E. (1998) Incidence of age-related cataract: the Beaver Dam Eye Study. *Archives of Ophthalmology Chic. Ill* vol. 116, n° 2, p. 219-225. [https://doi.org/10.1001/archopht.116.2.219]
KLEIN, D.J., THORN, C.F., DESTA, Z., *et al.* (2013) PharmGKB summary: tamoxifen pathway, pharmacokinetics. *Pharmacogenetics and Genomics* vol. 23, n° 11, p. 643-647. [https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283656bc1]
KLEINMAN, D., KARAS, M., DANILENKO, M., *et al.* (1996) Stimulation of endometrial cancer cell growth by tamoxifen is associated with increased insulin-like growth factor (IGF)-I induced tyrosine

phosphorylation and reduction in IGF binding proteins. *Endocrinology* vol. 137, n° 3, p. 1089-1095. [https://doi.org/10.1210/endo.137.3.8603578]
KLINGE, C.M., RIGGS, K.A., WICKRAMASINGHE, N.S., *et al.* (2010) Estrogen receptor alpha 46 is reduced in tamoxifen resistant breast cancer cells and re-expression inhibits cell proliferation and estrogen receptor alpha 66-regulated target gene transcription. *Molecular and Cellular Endocrinology* vol. 323, n° 2, p. 268-276. [https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.03.013]
KLOEN, P., JENNINGS, C.L., GEBHARDT, M.C., *et al.* (1995) Transforming growth factor-β: Possible roles in Dupuytren's contracture. *The Journal of Hand Surgery* vol. 20, n° 1, p. 101-108. [https://doi.org/10.1016/S0363-5023(05)80067-X]
KNEWTSON, K.E., OHL, N.R., ROBINSON, J.L. (2022) Estrogen Signaling Dictates Musculoskeletal Stem Cell Behavior: Sex Differences in Tissue Repair. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. [https://doi.org/10.1089/ten.teb.2021.0094]
KOHAN, D.E. (2008) Progress in gene targeting: using mutant mice to study renal function and disease. *Kidney International* vol. 74, n° 4, p. 427-437. [https://doi.org/10.1038/ki.2008.146]
KOITABASHI, N., BEDJA, D., ZAIMAN, A.L., *et al.* (2009) Avoidance of transient cardiomyopathy in cardiomyocyte-targeted tamoxifen-induced MerCreMer gene deletion models. *Circulation Research* vol. 105, n° 1, p. 12-15. [https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.198416]
KOOT, R.W., AMELINK, G.J., BLANKENSTEIN, M.A., *et al.* (1991) Tamoxifen and oestrogen both protect the rat muscle against physiological damage. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* vol. 40, n° 4-6, p. 689-695. [https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90292-d]
KORTYLEWSKI, M., KUJAWSKI, M., WANG, T., *et al.* (2005) Inhibiting Stat3 signaling in the hematopoietic system elicits multicomponent antitumor immunity. *Nature Medicine* vol. 11, n° 12, p. 1314-1321. [https://doi.org/10.1038/nm1325]
KOSMEHL, H., LU, X., CELEDN, D., *et al.* (1995) TGF/3 and bFGF synthesis and localization in Dupuytren's disease (nodular palmar fibromatosis) relative to cellular activity, myofibroblast phenotype and oncofetal variants of fibronectin vol. 27, n° 12, p. 1014-20.
KRAMER, J.W., HEGREBERG, G.A., HAMILTON, M.J. (1981) Inheritance of a neuromuscular disorder of Labrador retriever dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* vol. 179, n° 4, p. 380-381.
KREGE, J.H., HODGIN, J.B., COUSE, J.F., *et al.* (1998) Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 95, n° 26, p. 15677-15682. [https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15677]
KREHER, N.C., EUGSTER, E.A., SHANKAR, R.R. (2005) The use of tamoxifen to improve height potential in short pubertal boys. *Pediatrics* vol. 116, n° 6, p. 1513-1515. [https://doi.org/10.1542/peds.2005-0577]
KRISTENSEN, B., EJLERTSEN, B., DALGAARD, P., *et al.* (1994) Tamoxifen and bone metabolism in postmenopausal low-risk breast cancer patients: a randomized study. *Journal of Clinical Oncology* vol. 12, n° 5, p. 992-997. [https://doi.org/10.1200/JCO.1994.12.5.992]
KUHN, M.A., PAYNE, W.G., KIERNEY, P.C., *et al.* (2001) Cytokine Manipulation of Explanted Dupuytren's Affected Human Palmar Fascia vol. 2, n° 6, p. 443-56.
KUHN, M.A., WANG, X., PAYNE, W.G., *et al.* (2002) Tamoxifen decreases fibroblast function and downregulates TGF(beta2) in dupuytren's affected palmar fascia. *The Journal of Surgical Research* vol. 103, n° 2, p. 146-152. [https://doi.org/10.1006/jsre.2001.6350]
KÜHN, R., SCHWENK, F., AGUET, M., *et al.* (1995) Inducible gene targeting in mice. *Science (New York, N.Y.)* vol. 269, n° 5229, p. 1427-1429. [https://doi.org/10.1126/science.7660125]
KUIPER, G.G., ENMARK, E., PELTO-HUIKKO, M., *et al.* (1996) Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 93, n° 12, p. 5925-5930. [https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.5925]
KUO, J.-R., WANG, C.-C., HUANG, S.-K., *et al.* (2012) Tamoxifen depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca2+ entry and protein kinase Cα in rat cerebral cortex nerve terminals. *Neurochemistry International* vol. 60, n° 2, p. 105-114. [https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.11.014]
KURODA, Y., AKAOGI, J., NACIONALES, D.C., *et al.* (2004) Distinctive patterns of autoimmune response induced by different types of mineral oil. *Toxicological Sciences* vol. 78, n° 2, p. 222-228. [https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh063]

LABORATORIES, W., INC. (s. d.) Tamoxifen Citrate (Watson Laboratories, Inc.): FDA Package Insert. *In MedLibrary.Org*. [https://medlibrary.org/lib/rx/meds/tamoxifen-citrate-5/] (consulté le 19/09/2020).
LAMB, C.A., HELGUERO, L.A., FABRIS, V., *et al.* (2003) Differential effects of raloxifene, tamoxifen and fulvestrant on a murine mammary carcinoma. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 79, n° 1, p. 25-35. [https://doi.org/10.1023/a:1023324827225]
LAMPERT, C., ARCEGO, D.M., LAUREANO, D.P., *et al.* (2013) Effect of chronic administration of tamoxifen and/or estradiol on feeding behavior, palatable food and metabolic parameters in ovariectomized rats. *Physiology & Behavior* vol. 119, p. 17-24. [https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.05.026]
LAND, S.R., WICKERHAM, D.L., COSTANTINO, J.P., *et al.* (2006) Patient-reported symptoms and quality of life during treatment with tamoxifen or raloxifene for breast cancer prevention: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* vol. 295, n° 23, p. 2742-2751. [https://doi.org/10.1001/jama.295.23.joc60075]
LAPID, O., VAN WINGERDEN, J.J., PERLEMUTER, L. (2013) Tamoxifen therapy for the management of pubertal gynecomastia: a systematic review. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism* vol. 26, n° 9-10, p. 803-807. [https://doi.org/10.1515/jpem-2013-0052]
LAPORTE, J., HU, L.J., KRETZ, C., *et al.* (1996) A gene mutated in X–linked myotubular myopathy defines a new putative tyrosine phosphatase family conserved in yeast. *Nature Genetics* vol. 13, n° 2, p. 175-182. [https://doi.org/10.1038/ng0696-175]
LAPORTE, J., KRESS, W., MANDEL, J.L. (2001) Diagnosis of X-linked myotubular myopathy by detection of myotubularin. *Annals of Neurology* vol. 50, n° 1, p. 42-46. [https://doi.org/10.1002/ana.1033]
LARKINS, N.T., MURPHY, R.M., LAMB, G.D. (2012) Absolute amounts and diffusibility of HSP72, HSP25, and αB-crystallin in fast- and slow-twitch skeletal muscle fibers of rat. *American Journal of Physiology. Cell Physiology* vol. 302, n° 1, p. C228-239. [https://doi.org/10.1152/ajpcell.00266.2011]
LATTANZIO, R., TORRES GIMENO, A., BATTAGLIA PARODI, M., *et al.* (2011) Retinal vein occlusion: current treatment. *Ophthalmologyca.* vol. 225, n° 3, p. 135-143. [https://doi.org/10.1159/000314718]
LAURENCE, J., COOKE, H., SIKDER, S.K. (1990) Effect of tamoxifen on regulation of viral replication and human immunodeficiency virus (HIV) long terminal repeat-directed transcription in cells chronically infected with HIV-1. *Blood* vol. 75, n° 3, p. 696-703.
LAVIE, Y., ZHANG, Z.C., CAO, H.T., *et al.* (1998) Tamoxifen induces selective membrane association of protein kinase C epsilon in MCF-7 human breast cancer cells. *International Journal of Cancer* vol. 77, n° 6, p. 928-932. [https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980911)77:6<928::aid-ijc22>3.0.co;2-w]
LAWRENCE, S.E., FAUGHT, K.A., VETHAMUTHU, J., *et al.* (2004) Beneficial effects of raloxifene and tamoxifen in the treatment of pubertal gynecomastia. *The Journal of Pediatrics* vol. 145, n° 1, p. 71-76. [https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2004.03.057]
LAWS, N., HOEY, A. (2004) Progression of kyphosis in mdx mice. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* vol. 97, n° 5, p. 1970-1977. [https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01357.2003]
LAZZARONI, F., SCOROLLI, L., PIZZOLEO, C.F., *et al.* (1998) Tamoxifen retinopathy: does it really exist? vol. 236, n° 9, p. 669-673. [https://doi.org/10.1007/s004170050139]
LAZZERONI, M., SERRANO, D., DUNN, B.K., *et al.* (2012) Oral low dose and topical tamoxifen for breast cancer prevention: modern approaches for an old drug. *Breast cancer research: BCR* vol. 14, n° 5, p. 214. [https://doi.org/10.1186/bcr3233]
LEBLANC, E.S., JANOWSKY, J., CHAN, B.K., *et al.* (2001) Hormone replacement therapy and cognition: systematic review and meta-analysis. *JAMA* vol. 285, n° 11, p. 1489-1499. [https://doi.org/10.1001/jama.285.11.1489]
LEE, M., PIAO, J., JEON, M.J. (2020) Risk Factors Associated with Endometrial Pathology in Premenopausal Breast Cancer Patients Treated with Tamoxifen. *Yonsei Medical Journal* vol. 61, n° 4, p. 317-322. [https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.4.317]
LEE, T.Y., CHIN, G.S., KIM, W.J., *et al.* (1999) Expression of transforming growth factor beta 1, 2, and 3 proteins in keloids. *Annals of Plastic Surgery* vol. 43, n° 2, p. 179-184.
LEE, W.-L., CHENG, M.-H., CHAO, H.-T., *et al.* (2008) The role of selective estrogen receptor modulators on breast cancer: from tamoxifen to raloxifene. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology* vol. 47, n° 1, p. 24-31. [https://doi.org/10.1016/S1028-4559(08)60051-0]

LELLIOTT, C.J., LÓPEZ, M., CURTIS, R.K., *et al.* (2005) Transcript and metabolite analysis of the effects of tamoxifen in rat liver reveals inhibition of fatty acid synthesis in the presence of hepatic steatosis vol. 19, n° 9, p. 1108-1119. [https://doi.org/10.1096/fj.04-3196com]
LI, C.-P., LEE, F.-Y., HWANG, S.-J., *et al.* (2000) Treatment of mastalgia with tamoxifen in male patients with liver cirrhosis: a randomized crossover study. *The American Journal of Gastroenterology* vol. 95, n° 4, p. 1051-1055. [https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.01980.x]
LI, G., WEI, H., CHEN, Z., *et al.* (2009) STAT3 silencing with lentivirus inhibits growth and induces apoptosis and differentiation of U251 cells. *Journal of Neuro-Oncology* vol. 91, n° 2, p. 165-174. [https://doi.org/10.1007/s11060-008-9696-0]
LI, Q.M., TEP, C., YUNE, T.Y., *et al.* (2007) Opposite regulation of oligodendrocyte apoptosis by JNK3 and Pin1 after spinal cord injury vol. 27, n° 31, p. 8395-8404. [https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2478-07.2007]
LI, X., CLAPPIER, C., KLEITER, I., *et al.* (2019) Tamoxifen affects chronic pancreatitis-related fibrogenesis in an experimental mouse model: an effect beyond Cre recombination. *FEBS Open Bio* vol. 9, n° 10, p. 1756-1768. [https://doi.org/10.1002/2211-5463.12714]
LI, Xin, DU, Z., CHEN, M., *et al.* (2020) The effects of tamoxifen on mouse behavior. *Genes, Brain and Behavior* vol. 19, n° 4. [https://doi.org/10.1111/gbb.12620]
LI, Z., WU, Q., SONG, J., *et al.* (2018) Risk of Second Primary Female Genital Malignancies in Women with Breast Cancer: a SEER Analysis. *Hormones & Cancer* vol. 9, n° 3, p. 197-204. [https://doi.org/10.1007/s12672-018-0330-0]
LIEN, E.A., SØILAND, H., LUNDGREN, S., *et al.* (2013) Serum concentrations of tamoxifen and its metabolites increase with age during steady-state treatment. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 141, n° 2, p. 243-248. [https://doi.org/10.1007/s10549-013-2677-9]
LIEN, E.A., SOLHEIM, E., KVINNSLAND, S., *et al.* (1988) Identification of 4-hydroxy-N-desmethyltamoxifen as a metabolite of tamoxifen in human bile. *Cancer Research* vol. 48, n° 8, p. 2304-2308.
LIEN, E.A., SOLHEIM, E., UELAND, P.M. (1991) Distribution of tamoxifen and its metabolites in rat and human tissues during steady-state treatment. *Cancer Research* vol. 51, n° 18, p. 4837-4844.
LIM, H.-S., JU LEE, H., SEOK LEE, K., *et al.* (2007) Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer vol. 25, n° 25, p. 3837-3845. [https://doi.org/10.1200/JCO.2007.11.4850]
LIONELLO, V.M., NICOT, A.-S., SARTORI, M., *et al.* (2019) Amphiphysin 2 modulation rescues myotubular myopathy and prevents focal adhesion defects in mice. *Science Translational Medicine* vol. 11, n° 484, p. eaav1866. [https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav1866]
LIPPMAN, M.E., BOLAN, G. (1975) Oestrogen-responsive human breast cancer in long term tissue culture. *Nature* vol. 256, n° 5518, p. 592-593. [https://doi.org/10.1038/256592a0]
LIPPMAN, M.E., KRUEGER, K.A., ECKERT, S., *et al.* (2001) Indicators of lifetime estrogen exposure: effect on breast cancer incidence and interaction with raloxifene therapy in the multiple outcomes of raloxifene evaluation study participants vol. 19, n° 12, p. 3111-3116. [https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.12.3111]
LIPSCOMBE, L.L., FISCHER, H.D., YUN, L., *et al.* (2012) Association between tamoxifen treatment and diabetes: a population-based study. *Cancer* vol. 118, n° 10, p. 2615-2622. [https://doi.org/10.1002/cncr.26559]
LISSONI, P., PAOLOROSSI, F., TANCINI, G., *et al.* (1996) A phase II study of tamoxifen plus melatonin in metastatic solid tumour patients. *British Journal of Cancer* vol. 74, n° 9, p. 1466-1468. [https://doi.org/10.1038/bjc.1996.566]
LIU, J.-L., TIAN, D.-S., LI, Z.-W., *et al.* (2010) Tamoxifen alleviates irradiation-induced brain injury by attenuating microglial inflammatory response in vitro and in vivo. *Brain Research* vol. 1316, p. 101-111. [https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.12.055]
LIU, L., ZHAO, Y., LIN, Y., *et al.* (2019) The antagonistic effect of tamoxifen against D - galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver failure is associated with reactivation of hepatic nuclear factor-κB. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* vol. 41, n° 2, p. 192-198. [https://doi.org/10.1080/08923973.2019.1569044]

LIU, Z., CHENG, Y., LUAN, Y., *et al.* (2018) Short-term tamoxifen treatment has long-term effects on metabolism in high-fat diet-fed mice with involvement of Nmnat2 in POMC neurons. *FEBS Letters* vol. 592, n° 19, p. 3305-3316. [https://doi.org/10.1002/1873-3468.13240]
LOBATÓN, C.D., VAY, L., HERNÁNDEZ-SANMIGUEL, E., *et al.* (2005) Modulation of mitochondrial Ca(2+) uptake by estrogen receptor agonists and antagonists. *British Journal of Pharmacology* vol. 145, n° 7, p. 862-871. [https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706265]
LOGAN, A., BERRY, M., GONZALEZ, A.M., *et al.* (1994) Effects of Transforming Growth Factor β_1, on Scar Production in the Injured Central Nervous System of the Rat. *European Journal of Neuroscience* vol. 6, n° 3, p. 355-363. [https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1994.tb00278.x]
LONGSTAFF, S., SIGURDSSON, H., O'KEEFFE, M., *et al.* (1989) A controlled study of the ocular effects of tamoxifen in conventional dosage in the treatment of breast carcinoma. *European Journal of Cancer & Clinical Oncology* vol. 25, n° 12, p. 1805-1808. [https://doi.org/10.1016/0277-5379(89)90351-9]
LÓPEZ, M., LELLIOTT, C.J., TOVAR, S., *et al.* (2006) Tamoxifen-induced anorexia is associated with fatty acid synthase inhibition in the ventromedial nucleus of the hypothalamus and accumulation of malonyl-CoA. *Diabetes* vol. 55, n° 5, p. 1327-1336. [https://doi.org/10.2337/db05-1356]
LOVE, R.R., MAZESS, R.B., BARDEN, H.S., *et al.* (1992) Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer. *The New England Journal of Medicine* vol. 326, n° 13, p. 852-856. [https://doi.org/10.1056/NEJM199203263261302]
LU, S., SUNG, T., LIN, N., *et al.* (2017) Lysosomal adaptation: How cells respond to lysosomotropic compounds. *PloS One* vol. 12, n° 3, p. e0173771. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173771]
LU, W.J., DESTA, Z., FLOCKHART, D.A. (2012a) Tamoxifen metabolites as active inhibitors of aromatase in the treatment of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 131, n° 2, p. 473-481. [https://doi.org/10.1007/s10549-011-1428-z]
LU, W.J., XU, C., PEI, Z., *et al.* (2012b) The tamoxifen metabolite norendoxifen is a potent and selective inhibitor of aromatase (CYP19) and a potential lead compound for novel therapeutic agents. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 133, n° 1, p. 99-109. [https://doi.org/10.1007/s10549-011-1699-4]
LUBAHN, D.B., MOYER, J.S., GOLDING, T.S., *et al.* (1993) Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 90, n° 23, p. 11162-11166. [https://doi.org/10.1073/pnas.90.23.11162]
LUO, W., SHARIF, T.R., HOUGHTON, P.J., *et al.* (1997) CGP 41251 and tamoxifen selectively inhibit mitogen-activated protein kinase activation and c-Fos phosphoprotein induction by substance P in human astrocytoma cells. *Cell Growth & Differentiation* vol. 8, n° 11, p. 1225-1240.
LUXO, C., JURADO, A.S., MADEIRA, V.M.C., *et al.* (2003) Tamoxifen induces ultrastructural alterations in membranes of Bacillus Stearothermophilus. *Toxicology in Vitro* vol. 17, n° 5-6, p. 623-628. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00113-9]
MAANI, N., SABHA, N., REZAI, K., *et al.* (2018) Tamoxifen therapy in a murine model of myotubular myopathy. *Nature Communications* vol. 9, n° 1, p. 4849. [https://doi.org/10.1038/s41467-018-07057-5]
MADARO, L., PELLE, A., NICOLETTI, C., *et al.* (2012) PKC Theta Ablation Improves Healing in a Mouse Model of Muscular Dystrophy. *PLoS One* vol. 7, n° 2, p. e31515. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031515]
MADRID, P.B., PANCHAL, R.G., WARREN, T.K., *et al.* (2015) Evaluation of Ebola Virus Inhibitors for Drug Repurposing. *ACS Infectious Diseases* vol. 1, n° 7, p. 317-326. [https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00030]
MAENPAA, J., DOOLEY, T., WURZ, G., *et al.* (1993) Topical toremifene: a new approach for cutaneous melanoma? *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* vol. 32, n° 5, p. 392-395. [https://doi.org/10.1007/BF00735925]
MAGRO, G., LANTERI, E., MICALI, G., *et al.* (1996) Myofibroblasts of Palmar Fibromatosis co-express transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor vol. 181, n° 2, p. 213-7.
MAMOUNAS, E.P., BANDOS, H., LEMBERSKY, B.C., *et al.* (2019) Use of letrozole after aromatase inhibitor-based therapy in postmenopausal breast cancer (NRG Oncology/NSABP B-42): a

randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet. Oncology* vol. 20, n° 1, p. 88-99. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30621-1]
MAMOUNAS, E.P., JEONG, J.-H., WICKERHAM, D.L., *et al.* (2008) Benefit from exemestane as extended adjuvant therapy after 5 years of adjuvant tamoxifen: intention-to-treat analysis of the National Surgical Adjuvant Breast And Bowel Project B-33 trial. *Journal of Clinical Oncology* vol. 26, n° 12, p. 1965-1971. [https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.0228]
MANI, C., KUPFER, D. (1991) Cytochrome P-450-mediated Activation and Irreversible Binding of the Antiestrogen Tamoxifen to Proteins in Rat and Human Liver: Possible Involvement of Flavin-containing Monooxygenases in Tamoxifen Activation p. 8.
MAO, D., MI, J., PAN, X., *et al.* (2019) Tamoxifen Inhibits the Progression of Trauma-Induced Heterotopic Ossification in Mice. *Medical Science Monitor* vol. 25, p. 7872-7881. [https://doi.org/10.12659/MSM.916733]
MARKMAN, M., ISEMINGER, K.A., HATCH, K.D., *et al.* (1996) Tamoxifen in Platinum-Refractory Ovarian Cancer: A Gynecologic Oncology Group Ancillary Report. *Gynecologic Oncology* vol. 62, n° 1, p. 4-6. [https://doi.org/10.1006/gyno.1996.0181]
MARKWALDER, T.-M., SEILER, R.W., ZAVA, D.T. (1985) Antiestrogenic therapy of meningiomas—a pilot study. *Surgical Neurology* vol. 24, n° 3, p. 245-249. [https://doi.org/10.1016/0090-3019(85)90030-8]
MARTINO, S., CAULEY, J.A., BARRETT-CONNOR, E., *et al.* (2004) Continuing outcomes relevant to Evista: breast cancer incidence in postmenopausal osteoporotic women in a randomized trial of raloxifene. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 96, n° 23, p. 1751-1761. [https://doi.org/10.1093/jnci/djh319]
MATSUOKA, H., TSUBAKI, M., YAMAZOE, Y., *et al.* (2009) Tamoxifen inhibits tumor cell invasion and metastasis in mouse melanoma through suppression of PKC/MEK/ERK and PKC/PI3K/Akt pathways. *Experimental Cell Research* vol. 315, n° 12, p. 2022-2032. [https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.04.009]
MAUVAIS-JARVIS, F., CLEGG, D.J., HEVENER, A.L. (2013) The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine Reviews* vol. 34, n° 3, p. 309-338. [https://doi.org/10.1210/er.2012-1055]
MCCALLION, R.L., FERGUSON, M.W.J. (1988) Fetal Wound Healing and the Development of Antiscarring Therapies for Adult Wound Healing. *In* Clark, R.A.F. (Éd.), *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. Boston, MA, Springer US, p. 561-600. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0185-9_18]
MCCARTHY, S.D.S., MAJCHRZAK-KITA, B., RACINE, T., *et al.* (2016) A Rapid Screening Assay Identifies Monotherapy with Interferon-ß and Combination Therapies with Nucleoside Analogs as Effective Inhibitors of Ebola Virus. *PLOS Neglected Tropical Diseases* vol. 10, n° 1, p. e0004364. [https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004364]
MCCLAY, E.F., MCCLAY, M.E.T., MONROE, L., *et al.* (2000) The effect of tamoxifen and cisplatin on the disease-free and overall survival of patients with high risk malignant melanoma. *British Journal of Cancer* vol. 83, n° 1, p. 16-21. [https://doi.org/10.1054/bjoc.1999.1220]
MCDONALD, C.C., ALEXANDER, F.E., WHYTE, B.W., *et al.* (1995) Cardiac and vascular morbidity in women receiving adjuvant tamoxifen for breast cancer in a randomised trial. *BMJ* vol. 311, n° 7011, p. 977-980. [https://doi.org/10.1136/bmj.311.7011.977]
MCDONNELL, D.P., CLEMM, D.L., HERMANN, T., *et al.* (1995) Analysis of estrogen receptor function in vitro reveals three distinct classes of antiestrogens. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 9, n° 6, p. 659-669. [https://doi.org/10.1210/mend.9.6.8592512]
MCKEAGE, M.J., LORENTZOS, A., GORE, M.E. (1993) Tamoxifen and Chemotherapy for Refractory Metastatic Malignant Melanoma. *New England Journal of Medicine* vol. 328, n° 2, p. 140-141. [https://doi.org/10.1056/NEJM199301143280215]
MCKENNA, N.J., LANZ, R.B., O'MALLEY, B.W. (1999) Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocrine Reviews* vol. 20, n° 3, p. 321-344. [https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0366]
MEAD, P.S., SLUTSKER, L., DIETZ, V., *et al.* (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* vol. 5, n° 5, p. 607-625. [https://doi.org/10.3201/eid0505.990502]

MEISEL, J.L., VENUR, V.A., GNANT, M., *et al.* (2018) Evolution of Targeted Therapy in Breast Cancer: Where Precision Medicine Began. *American Society of Clinical Oncology Educational Book* vol. 38, n° 38, p. 78-86. [https://doi.org/10.1200/EDBK_201037]
MELZER, M., LOPEZ-MARTINEZ, A., ALTOMONTE, J. (2017) Oncolytic Vesicular Stomatitis Virus as a Viro-Immunotherapy: Defeating Cancer with a “Hammer” and “Anvil”. *Biomedicines* vol. 5, n° 4, p. 8. [https://doi.org/10.3390/biomedicines5010008]
METZGER, D., ALI, S., BORNERT, J.M., *et al.* (1995a) Characterization of the amino-terminal transcriptional activation function of the human estrogen receptor in animal and yeast cells. *The Journal of Biological Chemistry* vol. 270, n° 16, p. 9535-9542. [https://doi.org/10.1074/jbc.270.16.9535]
METZGER, D., CLIFFORD, J., CHIBA, H., *et al.* (1995b) Conditional site-specific recombination in mammalian cells using a ligand-dependent chimeric Cre recombinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 92, n° 15, p. 6991-6995. [https://doi.org/10.1073/pnas.92.15.6991]
METZGER, D., LOSSON, R., BORNERT, J.M., *et al.* (1992) Promoter specificity of the two transcriptional activation functions of the human oestrogen receptor in yeast. *Nucleic Acids Research* vol. 20, n° 11, p. 2813-2817. [https://doi.org/10.1093/nar/20.11.2813]
MICHALSKI, A., BOUFFET, E., TAYLOR, R.E., *et al.* (2010) The addition of high-dose tamoxifen to standard radiotherapy does not improve the survival of patients with diffuse intrinsic pontine glioma. *Journal of Neuro-Oncology* vol. 100, n° 1, p. 81-88. [https://doi.org/10.1007/s11060-010-0141-9]
MIGUEL, Danilo C., YOKOYAMA-YASUNAKA, J.K.U., ULIANA, S.R.B. (2008) Tamoxifen Is Effective in the Treatment of Leishmania amazonensis Infections in Mice. *PLoS Neglected Tropical Diseases* vol. 2, n° 6, p. e249. [https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000249]
MIGUEL, D. C., ZAULI-NASCIMENTO, R.C., YOKOYAMA-YASUNAKA, J.K.U., *et al.* (2008) Tamoxifen as a potential antileishmanial agent: efficacy in the treatment of Leishmania braziliensis and Leishmania chagasi infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 63, n° 2, p. 365-368. [https://doi.org/10.1093/jac/dkn509]
MILLER, B.W., MORTON, J.P., PINESE, M., *et al.* (2015) Targeting the LOX/hypoxia axis reverses many of the features that make pancreatic cancer deadly: inhibition of LOX abrogates metastasis and enhances drug efficacy. *EMBO molecular medicine* vol. 7, n° 8, p. 1063-1076. [https://doi.org/10.15252/emmm.201404827]
MITLAK, B.H., COHEN, F.J. (1997) In search of optimal long-term female hormone replacement: the potential of selective estrogen receptor modulators. *Hormone Research* vol. 48, n° 4, p. 155-163. [https://doi.org/10.1159/000185507]
MIYASHITA, T., TOYODA, Y., TSUNEYAMA, K., *et al.* (2012) Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in mouse models. *The Journal of Toxicological Sciences* vol. 37, n° 5, p. 931-942. [https://doi.org/10.2131/jts.37.931]
MIYAWAKI, E., LYONS, K., PAHWA, R., *et al.* (1997) Motor complications of chronic levodopa therapy in Parkinson’s disease. *Clinical Neuropharmacology* vol. 20, n° 6, p. 523-530. [https://doi.org/10.1097/00002826-199712000-00004]
MIZUTANI, A., OKADA, T., SHIBUTANI, S., *et al.* (2004) Extensive Chromosomal Breaks Are Induced by Tamoxifen and Estrogen in DNA Repair-Deficient Cells. *Cancer Research* vol. 64, n° 9, p. 3144-3147. [https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3489]
MOCELLIN, S., PILATI, P., BRIARAVA, M., *et al.* (2016) Breast Cancer Chemoprevention: A Network Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 108, n° 2, p. djv318. [https://doi.org/10.1093/jnci/djv318]
MÖDDER, U.I., SANYAL, A., XU, J., *et al.* (2008) The skeletal response to estrogen is impaired in female but not in male steroid receptor coactivator (SRC)-1 knock out mice. *Bone* vol. 42, n° 2, p. 414-421. [https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.10.017]
MOERTEL, C.G. (1984) Tamoxifen Therapy for Metastatic Carcinoid Tumor: A Negative Study. *Annals of Internal Medicine* vol. 100, n° 4, p. 531. [https://doi.org/10.7326/0003-4819-100-4-531]
MOHAWK, K.L., O’BRIEN, A.D. (2011) Mouse models of Escherichia coli O157:H7 infection and shiga toxin injection. *Journal of Biomedicine & Biotechnology* vol. 2011, p. 258185. [https://doi.org/10.1155/2011/258185]

MONTOYA, M.C., KRYSAN, D.J. (2018) Repurposing Estrogen Receptor Antagonists for the Treatment of Infectious Disease. *mBio* vol. 9, n° 6, p. e02272-18. [https://doi.org/10.1128/mBio.02272-18]
MORALES, L.B.J., LOO, K.K., LIU, H.-B., *et al.* (2006) Treatment with an estrogen receptor alpha ligand is neuroprotective in experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Neuroscience* vol. 26, n° 25, p. 6823-6833. [https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0453-06.2006]
MORELLO, K.C., WURZ, G.T., DEGREGORIO, M.W. (2003) Pharmacokinetics of Selective Estrogen Receptor Modulators: *Clinical Pharmacokinetics* vol. 42, n° 4, p. 361-372. [https://doi.org/10.2165/00003088-200342040-00004]
MOSQUERA, L., COLÓN, J.M., SANTIAGO, J.M., *et al.* (2014) Tamoxifen and estradiol improved locomotor function and increased spared tissue in rats after spinal cord injury: their antioxidant effect and role of estrogen receptor alpha. *Brain Research* vol. 1561, p. 11-22. [https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.03.002]
MOYER, A.M., SUMAN, V.J., WEINSHILBOUM, R.M., *et al.* (2011) SULT1A1, CYP2C19 and disease-free survival in early breast cancer patients receiving tamoxifen. *Pharmacogenomics* vol. 12, n° 11, p. 1535-1543. [https://doi.org/10.2217/pgs.11.97]
MUANZA, T., SHENOUDA, G., SOUHAMI, L., *et al.* (2000) High Dose Tamoxifen and Radiotherapy in Patients with Glioblastoma Multiforme: A Phase IB Study. *Canadian Journal of Neurological Sciences* vol. 27, n° 4, p. 302-306. [https://doi.org/10.1017/S0317167100001049]
MUHAMMAD, E., REISH, O., OHNO, Y., *et al.* (2013) Congenital myopathy is caused by mutation of HACD1. *Human Molecular Genetics* vol. 22, n° 25, p. 5229-5236. [https://doi.org/10.1093/hmg/ddt380]
MUKHOPADHYAY, S., LINSTEDT, A.D. (2012) Manganese blocks intracellular trafficking of Shiga toxin and protects against Shiga toxicosis. *Science (New York, N.Y.)* vol. 335, n° 6066, p. 332-335. [https://doi.org/10.1126/science.1215930]
MUKHOPADHYAY, S., REDLER, B., LINSTEDT, A.D. (2013) Shiga toxin-binding site for host cell receptor GPP130 reveals unexpected divergence in toxin-trafficking mechanisms. *Molecular Biology of the Cell* vol. 24, n° 15, p. 2311-2318. [https://doi.org/10.1091/mbc.E13-01-0057]
MULVENNA, P.M., WRIGHT, A.J., PODD, T.J. (1999) Life-Threatening Tamoxifen-Induced Hypercalcaemia. *Clinical Oncology* vol. 11, n° 3, p. 193-195. [https://doi.org/10.1053/clon.1999.9041]
MURAKAMI, Y., FUKASAWA, M., KANEKO, Y., *et al.* (2013) Selective estrogen receptor modulators inhibit hepatitis C virus infection at multiple steps of the virus life cycle. *Microbes and Infection* vol. 15, n° 1, p. 45-55. [https://doi.org/10.1016/j.micinf.2012.10.003]
MURATA, Y., OGAWA, Y., SAIBARA, T., *et al.* (2000) Unrecognized hepatic steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in adjuvant tamoxifen for breast cancer patients. *Oncology Reports* vol. 7, n° 6, p. 1299-1304. [https://doi.org/10.3892/or.7.6.1299]
MÜRDTER, T.E., SCHROTH, W., BACCHUS-GERYBADZE, L., *et al.* (2011) Activity levels of tamoxifen metabolites at the estrogen receptor and the impact of genetic polymorphisms of phase I and II enzymes on their concentration levels in plasma. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* vol. 89, n° 5, p. 708-717. [https://doi.org/10.1038/clpt.2011.27]
MURPHY, L.C. (1994) Antiestrogen action and growth factor regulation. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 31, n° 1, p. 61-71. [https://doi.org/10.1007/BF00689677]
NACIONALES, D.C., KELLY, K.M., LEE, P.Y., *et al.* (2006) Type I interferon production by tertiary lymphoid tissue developing in response to 2,6,10,14-tetramethyl-pentadecane (pristane). *The American Journal of Pathology* vol. 168, n° 4, p. 1227-1240. [https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050125]
NASU, K., TAKAI, N., NISHIDA, M., *et al.* (2008) Tumorigenic effects of tamoxifen on the female genital tract. *Clinical Medicine. Pathology* vol. 1, p. 17-34. [https://doi.org/10.4137/cpath.s487]
NAWAZ, Z., LONARD, D.M., DENNIS, A.P., *et al.* (1999) Proteasome-dependent degradation of the human estrogen receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 96, n° 5, p. 1858-1862. [https://doi.org/10.1073/pnas.96.5.1858]
NAYFIELD, S.G., GORIN, M.B. (1996) Tamoxifen-associated eye disease. A review. *Journal of Clinical Oncology* vol. 14, n° 3, p. 1018-1026. [https://doi.org/10.1200/JCO.1996.14.3.1018]
NAYFIELD, S.G., KARP, J.E., FORD, L.G., *et al.* (1991) Potential role of tamoxifen in prevention of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 83, n° 20, p. 1450-1459. [https://doi.org/10.1093/jnci/83.20.1450]

NEFEDOVA, Y., HUANG, M., KUSMARTSEV, S., *et al.* (2004) Hyperactivation of STAT3 is involved in abnormal differentiation of dendritic cells in cancer. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* vol. 172, n° 1, p. 464-474. [https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.1.464]
NELSON, E., BARNES, A., WIEHLE, R., *et al.* (2016) Clomiphene and Its Isomers Block Ebola Virus Particle Entry and Infection with Similar Potency: Potential Therapeutic Implications. *Viruses* vol. 8, n° 8, p. 206. [https://doi.org/10.3390/v8080206]
NELSON, E.R., WARDELL, S.E., MCDONNELL, D.P. (2013) The molecular mechanisms underlying the pharmacological actions of estrogens, SERMs and oxysterols: Implications for the treatment and prevention of osteoporosis. *Bone* vol. 53, n° 1, p. 42-50. [https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.11.011]
NETTLES, K.W., GREENE, G.L. (2005) Ligand control of coregulator recruitment to nuclear receptors. *Annual Review of Physiology* vol. 67, p. 309-333. [https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.66.032802.154710]
NEVEN, P., FROYMAN, W., TIMMERMAN, S., *et al.* (2020) Uterine ultrasound and endometrial biopsy in tamoxifen users. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 180, n° 3, p. 833-834. [https://doi.org/10.1007/s10549-020-05595-5]
NEWHOUSE, P., ALBERT, K., ASTUR, R., *et al.* (2013) Tamoxifen improves cholinergically modulated cognitive performance in postmenopausal women. *Neuropsychopharmacol* vol. 38, n° 13, p. 2632-2643. [https://doi.org/10.1038/npp.2013.172]
NEYMAN, A., EUGSTER, E.A. (2017) Treatment of Girls and Boys with McCune-Albright Syndrome with Precocious Puberty - Update 2017. *Pediatric endocrinology reviews* vol. 15, n° 2, p. 136-141. [https://doi.org/10.17458/per.vol15.2017.nau.treatmentgirlsboys]
NOUREDDIN, B.N., SEOUD, M., BASHSHUR, Z., *et al.* (1999) Ocular toxicity in low-dose tamoxifen: a prospective study. *Eye (Lond.)* vol. 13 (Pt 6), p. 729-733. [https://doi.org/10.1038/eye.1999.217]
NOWELL, S., SWEENEY, C., WINTERS, M., *et al.* (2002) Association between sulfotransferase 1A1 genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen therapy. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 94, n° 21, p. 1635-1640. [https://doi.org/10.1093/jnci/94.21.1635]
NOWELL, S.A., AHN, J., RAE, J.M., *et al.* (2005) Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 91, n° 3, p. 249-258. [https://doi.org/10.1007/s10549-004-7751-x]
OBATA, T., KUBOTA, S. (2001) Protective effect of tamoxifen on 1-methyl-4-phenylpyridine-induced hydroxyl radical generation in the rat striatum. *Neuroscience Letters* vol. 308, n° 2, p. 87-90. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01966-8]
OBIORAH, I., JORDAN, V.C. (2011) Progress in endocrine approaches to the treatment and prevention of breast cancer. *Maturitas* vol. 70, n° 4, p. 315-321. [https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2011.09.006]
OBRIG, T.G. (2010) Escherichia coli Shiga Toxin Mechanisms of Action in Renal Disease. *Toxins* vol. 2, n° 12, p. 2769-2794. [https://doi.org/10.3390/toxins2122769]
O'DAY, S.J., BOASBERG, P.D., KRISTEDJA, T.S., *et al.* (2001) High-dose tamoxifen added to concurrent biochemotherapy with decrescendo interleukin-2 in patients with metastatic melanoma. *Cancer* vol. 92, n° 3, p. 609-619. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010801)92:3<609::aid-cncr1361>3.0.co;2-u]
OH, J.D., GELLER, A.I., ZHANG, G. rong, *et al.* (2003) Gene transfer of constitutively active protein kinase C into striatal neurons accelerates onset of levodopa-induced motor response alterations in parkinsonian rats. *Brain Research* vol. 971, n° 1, p. 18-30. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)02348-5]
OHLSSON, C., VANDENPUT, L. (2009) The role of estrogens for male bone health. *European Journal of Endocrinology* vol. 160, n° 6, p. 883-889. [https://doi.org/10.1530/EJE-09-0118]
O'KANE, S., FERGUSON, M.W.J. (1997) Transforming growth factor βs and wound healing. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* vol. 29, n° 1, p. 63-78. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725(96)00120-3]
OLIVE, K.P., JACOBETZ, M.A., DAVIDSON, C.J., *et al.* (2009) Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science (New York, N.Y.)* vol. 324, n° 5933, p. 1457-1461. [https://doi.org/10.1126/science.1171362]

ONDER, H.İ., KILIC, A.C., KOSE, S.A., *et al.* (2013) Branch retinal vein occlusion associated with tamoxifen use. *Seminars in Ophthalmology* vol. 28, n° 2, p. 88-90. [https://doi.org/10.3109/08820538.2012.760618]
O'NEILL, K., CHEN, S., BRINTON, R.D. (2004) Impact of the selective estrogen receptor modulator, raloxifene, on neuronal survival and outgrowth following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease. *Experimental Neurology* vol. 185, n° 1, p. 63-80. [https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2003.09.005]
OSBORNE, C.K. (1998) Tamoxifen in the treatment of breast cancer. *The New England Journal of Medicine* vol. 339, n° 22, p. 1609-1618. [https://doi.org/10.1056/NEJM199811263392207]
OSBORNE, C.K., FUQUA, S.A. (1994) Mechanisms of tamoxifen resistance. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 32, n° 1, p. 49-55. [https://doi.org/10.1007/BF00666205]
OSUKA, K., FEUSTEL, P.J., MONGIN, A.A., *et al.* (2001) Tamoxifen inhibits nitrotyrosine formation after reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. *Journal of Neurochemistry* vol. 76, n° 6, p. 1842-1850. [https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00198.x]
OWEN, R.P., SANGKUHL, K., KLEIN, T.E., *et al.* (2009) Cytochrome P450 2D6. *Pharmacogenetics and Genomics* vol. 19, n° 7, p. 559-562. [https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32832e0e97]
OWENS, L.V., CANCE, W.G., HUTH, J.F. (1995) Retroperitoneal fibrosis treated with tamoxifen. *American Surgeon* vol. 61, n° 9, p. 842-844.
PAGANI, O., REGAN, M.M., WALLEY, B.A., *et al.* (2014) Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *The New England Journal of Medicine* vol. 371, n° 2, p. 107-118. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa1404037]
PAN, H., GRAY, R., BRAYBROOKE, J., *et al.* (2017) 20-Year Risks of Breast-Cancer Recurrence after Stopping Endocrine Therapy at 5 Years. *The New England Journal of Medicine* vol. 377, n° 19, p. 1836-1846. [https://doi.org/10.1056/NEJMoa1701830]
PANDEY, D., BANERJEE, S., BASU, M., *et al.* (2016) Memory enhancement by Tamoxifen on amyloidosis mouse model. *Hormones and Behavior* vol. 79, p. 70-73. [https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.09.004]
PARK, W. (2002) Selective estrogen receptor modulators (SERMS) and their roles in breast cancer prevention. *Trends in Molecular Medicine* vol. 8, n° 2, p. 82-88. [https://doi.org/10.1016/S1471-4914(02)02282-7]
PARTE, P., KUPFER, D. (2005) Oxidation of tamoxifen by human flavin-containing monooxygenase (FMO) 1 and FMO3 to tamoxifen-N-oxide and its novel reduction back to tamoxifen by human cytochromes P450 and hemoglobin. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* vol. 33, n° 10, p. 1446-1452. [https://doi.org/10.1124/dmd.104.000802]
PARTRIDGE, T.A. (2013) The mdx mouse model as a surrogate for Duchenne muscular dystrophy. *FEBS Journal* vol. 280, n° 17, p. 4177-4186. [https://doi.org/10.1111/febs.12267]
PATEL, B.M., DESAI, V.J. (2014) Beneficial role of tamoxifen in experimentally induced cardiac hypertrophy. *Pharmacological Reports* vol. 66, n° 2, p. 264-272. [https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.02.004]
PATERNI, I., GRANCHI, C., KATZENELLENBOGEN, J.A., *et al.* (2014) Estrogen receptors alpha (ERα) and beta (ERβ): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids* vol. 90, p. 13-29. [https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.06.012]
PAUL, E., CRONAN, R., WESTON, P.J., *et al.* (2009) Disruption of Supv3L1 damages the skin and causes sarcopenia, loss of fat, and death. *Mammalian Genome* vol. 20, n° 2, p. 92-108. [https://doi.org/10.1007/s00335-008-9168-z]
PAVLIDIS, N.A., PETRIS, C., BRIASSOULIS, E., *et al.* (1992) Clear evidence that long-term, low-dose tamoxifen treatment can induce ocular toxicity. A prospective study of 63 patients. *Cancer* vol. 69, n° 12, p. 2961-2964. [https://doi.org/10.1002/1097-0142(19920615)69:12<2961::aid-cncr2820691215>3.0.co;2-w]
PAVÓN, N., BUELNA-CHONTAL, M., CORREA, F., *et al.* (2017) Tamoxifen inhibits mitochondrial membrane damage caused by disulfiram. *Biochemistry and Cell Biology* vol. 95, n° 5, p. 556-562. [https://doi.org/10.1139/bcb-2017-0027]
PAYNE, W.G., KO, F., ANSPAUGH, S., *et al.* (2006) Down-regulating causes of fibrosis with tamoxifen: a possible cellular/molecular approach to treat rhinophyma. *Annals of Plastic Surgery* vol. 56, n° 3, p. 301-305. [https://doi.org/10.1097/01.sap.0000199155.73000.2f]

PEAR, B.L., BOYDEN, F.M. (1967) Intraperitoneal lipid granuloma. *Radiology* vol. 89, n° 1, p. 47-51. [https://doi.org/10.1148/89.1.47]
PEDDI, P.F. (2018) Hormone receptor positive breast cancer: state of the art. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* vol. 30, n° 1, p. 51-54. [https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000424]
PELÉ, M., TIRET, L., KESSLER, J.-L., *et al.* (2005) SINE exonic insertion in the PTPLA gene leads to multiple splicing defects and segregates with the autosomal recessive centronuclear myopathy in dogs. *Human Molecular Genetics* vol. 14, n° 11, p. 1417-1427. [https://doi.org/10.1093/hmg/ddi151]
PENOT, G., LE PÉRON, C., MÉROT, Y., *et al.* (2005) The human estrogen receptor-alpha isoform hERalpha46 antagonizes the proliferative influence of hERalpha66 in MCF7 breast cancer cells. *Endocrinology* vol. 146, n° 12, p. 5474-5484. [https://doi.org/10.1210/en.2005-0866]
PERKINS, K.J., DAVIES, K.E. (2002) The role of utrophin in the potential therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular disorders: NMD* vol. 12 Suppl 1, p. S78-89. [https://doi.org/10.1016/s0960-8966(02)00087-1]
PERRY, M.-C., DUFOUR, C.R., TAM, I.S., *et al.* (2014) Estrogen-related receptor-α coordinates transcriptional programs essential for exercise tolerance and muscle fitness. *Molecular Endocrinology* vol. 28, n° 12, p. 2060-2071. [https://doi.org/10.1210/me.2014-1281]
PEYCRU, B., GRANDPERRIN, D., PERRIER, C., *et al.* (2013) Un exemple de différenciation : des territoires somitiques aux myocytes. *In Biologie tout-en-un*, Dunod. Paris, p. 520-525.
PEYRADE, F., FRENAY, M., ETIENNE, M.C., *et al.* (1996) Age-related difference in tamoxifen disposition. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* vol. 59, n° 4, p. 401-410. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236(96)90108-3]
PHILLIPS, D.H., CARMICHAEL, P.L., HEWER, A., *et al.* (1996) Activation of tamoxifen and its metabolite alpha-hydroxytamoxifen to DNA-binding products: comparisons between human, rat and mouse hepatocytes. *Carcinogenesis* vol. 17, n° 1, p. 89-94. [https://doi.org/10.1093/carcin/17.1.89]
PHILLIS, J.W., SONG, D., O'REGAN, M.H. (1998) Tamoxifen, a chloride channel blocker, reduces glutamate and aspartate release from the ischemic cerebral cortex. *Brain Research* vol. 780, n° 2, p. 352-355. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01352-8]
PICKUP, M.W., LAKLAI, H., ACERBI, I., *et al.* (2013) Stromally derived lysyl oxidase promotes metastasis of transforming growth factor-β-deficient mouse mammary carcinomas. *Cancer Research* vol. 73, n° 17, p. 5336-5346. [https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0012]
PIKE, A.C.W. (2006) Lessons learnt from structural studies of the oestrogen receptor. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* vol. 20, n° 1, p. 1-14. [https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.09.002]
PILOT-STORCK, F. (2019) Escaping artefacts when exploring the yin and yang of muscle metabolism - Escaping artefacts when using tamoxifen.
PIÑERO, T.A., LANDONI, M., DUSCHAK, V.G., *et al.* (2018) Effect of tamoxifen on the sphingolipid biosynthetic pathway in the different intraerythrocytic stages of the apicomplexa Plasmodium falciparum. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 497, n° 4, p. 1082-1088. [https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.02.183]
POLLAK, M., COSTANTINO, J., POLYCHRONAKOS, C., *et al.* (1990) Effect of Tamoxifen on Serum Insulinlike Growth Factor I Levels in Stage I Breast Cancer Patients. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 82, n° 21, p. 1693-1697. [https://doi.org/10.1093/jnci/82.21.1693]
POLO, M., KO, F., BUSILLO, F., *et al.* (1997) THE 1997 MOYER AWARD Cytokine Production in Patients with Hypertrophic Burn Scars: *Journal of Burn Care & Rehabilitation* vol. 18, n° 6, p. 477-482. [https://doi.org/10.1097/00004630-199711000-00002]
POTKUL, R.K., UNGER, J.M., LIVINGSTON, R.B., *et al.* (2016) Randomized trial of medroxyprogesterone acetate for the prevention of endometrial pathology from adjuvant tamoxifen for breast cancer: SWOG S9630. *NPJ breast cancer* vol. 2, p. 16024. [https://doi.org/10.1038/npjbcancer.2016.24]
POWLES, T., EELES, R., ASHLEY, S., *et al.* (1998) Interim analysis of the incidence of breast cancer in the Royal Marsden Hospital tamoxifen randomised chemoprevention trial. *Lancet (London, England)* vol. 352, n° 9122, p. 98-101. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)85012-5]
POWLES, T.J., ASHLEY, S., TIDY, A., *et al.* (2007) Twenty-year follow-up of the Royal Marsden randomized, double-blinded tamoxifen breast cancer prevention trial. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 99, n° 4, p. 283-290. [https://doi.org/10.1093/jnci/djk050]

PREMKUMAR, A., VENZON, D.J., AVILA, N., *et al.* (2007) Gynecologic and hormonal effects of raloxifene in premenopausal women. *Fertility and Sterility* vol. 88, n° 6, p. 1637-1644. [https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.01.095]
PROLA, A., BLONDELLE, J., VANDESTIENNE, A., *et al.* (2021) Cardiolipin content controls mitochondrial coupling and energetic efficiency in muscle. *Science Advances* vol. 7, n° 1, p. eabd6322. [https://doi.org/10.1126/sciadv.abd6322]
PROLA, A., NICHTOVA, Z., PIRES DA SILVA, J., *et al.* (2019) Endoplasmic reticulum stress induces cardiac dysfunction through architectural modifications and alteration of mitochondrial function in cardiomyocytes. *Cardiovascular Research* vol. 115, n° 2, p. 328-342. [https://doi.org/10.1093/cvr/cvy197]
PROSSNITZ, E.R., ARTERBURN, J.B., SMITH, H.O., *et al.* (2008) Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30. *Annual Review of Physiology* vol. 70, p. 165-190. [https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100518]
PRUDÊNCIO, M., DERBYSHIRE, E.T., MARQUES, C.A., *et al.* (2009) *Plasmodium berghei* -infection induces volume-regulated anion channel-like activity in human hepatoma cells. *Cellular Microbiology* vol. 11, n° 10, p. 1492-1501. [https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01342.x]
PU, L.L.Q., SMITH, P.D., PAYNE, W.G., *et al.* (2000) Overexpression of Transforming Growth Factor Beta-2 and Its Receptor in Rhinophyma: An Alternative Mechanism of Pathobiology: *Annals of Plastic Surgery* vol. 45, n° 5, p. 515-519. [https://doi.org/10.1097/00000637-200045050-00008]
PUJOL, H., GIRAULT, J., ROUANET, P., *et al.* (1995) Phase I Study of percutaneous 4-hydroxy-tamoxifen with analyses of 4-hydroxy-tamoxifen concentrations in breast cancer and normal breast tissue. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* vol. 36, n° 6, p. 493-498. [https://doi.org/10.1007/BF00685799]
PUNG, O.J., LUSTER, M.I. (1986) Toxoplasma gondii: Decreased resistance to infection in mice due to estrogen. *Experimental Parasitology* vol. 61, n° 1, p. 48-56. [https://doi.org/10.1016/0014-4894(86)90134-7]
PUTTINI, S., LEKKA, M., DORCHIES, O.M., *et al.* (2009) Gene-mediated restoration of normal myofiber elasticity in dystrophic muscles. *Molecular Therapy* vol. 17, n° 1, p. 19-25. [https://doi.org/10.1038/mt.2008.239]
QUIRKE, V.M. (2017) Tamoxifen from Failed Contraceptive Pill to Best-Selling Breast Cancer Medicine: A Case-Study in Pharmaceutical Innovation. *Frontiers in Pharmacology* vol. 8, p. 620. [https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00620]
RAE, J.M., DRURY, S., HAYES, D.F., *et al.* (2012) CYP2D6 and UGT2B7 genotype and risk of recurrence in tamoxifen-treated breast cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 104, n° 6, p. 452-460. [https://doi.org/10.1093/jnci/djs126]
RAMOT, Y., BEN-ELIAHU, S., KAGAN, L., *et al.* (2009) Subcutaneous and intraperitoneal lipogranulomas following subcutaneous injection of olive oil in Sprague-Dawley rats. *Toxicologic Pathology* vol. 37, n° 7, p. 882-886. [https://doi.org/10.1177/0192623309347911]
RAO, P., MONKS, D.A. (2009) A tetracycline-inducible and skeletal muscle-specific Cre recombinase transgenic mouse. *Developmental Neurobiology* vol. 69, n° 6, p. 401-406. [https://doi.org/10.1002/dneu.20714]
RECKLESS, J., METCALFE, J.C., GRAINGER, D.J. (1997) Tamoxifen decreases cholesterol sevenfold and abolishes lipid lesion development in apolipoprotein E knockout mice. *Circulation* vol. 95, n° 6, p. 1542-1548. [https://doi.org/10.1161/01.cir.95.6.1542]
REGAN, M.M., LEYLAND-JONES, B., BOUZYK, M., *et al.* (2012) CYP2D6 genotype and tamoxifen response in postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: the breast international group 1-98 trial. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 104, n° 6, p. 441-451. [https://doi.org/10.1093/jnci/djs125]
REGAN, M.M., PAGANI, O., FRANCIS, P.A., *et al.* (2015) Predictive value and clinical utility of centrally assessed ER, PgR, and Ki-67 to select adjuvant endocrine therapy for premenopausal women with hormone receptor-positive, HER2-negative early breast cancer: TEXT and SOFT trials. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 154, n° 2, p. 275-286. [https://doi.org/10.1007/s10549-015-3612-z]

REINERT, R.B., KANTZ, J., MISFELDT, A.A., *et al.* (2012) Tamoxifen-Induced Cre-loxP Recombination Is Prolonged in Pancreatic Islets of Adult Mice. *PloS One* vol. 7, n° 3, p. e33529. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033529]
RELAIX, F., MONTARRAS, D., ZAFFRAN, S., *et al.* (2006) Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *The Journal of Cell Biology* vol. 172, n° 1, p. 91-102. [https://doi.org/10.1083/jcb.200508044]
RIANT, E., WAGET, A., COGO, H., *et al.* (2009) Estrogens protect against high-fat diet-induced insulin resistance and glucose intolerance in mice. *Endocrinology* vol. 150, n° 5, p. 2109-2117. [https://doi.org/10.1210/en.2008-0971]
RIBEIRO, G., SWINDELL, R. (1992) Adjuvant Tamoxifen for male breast cancer (MBC). *British Journal of Cancer* vol. 65, n° 2, p. 252-254. [https://doi.org/10.1038/bjc.1992.50]
RICCIARDI, I., IANNIRUBERTO, A. (1979) Tamoxifen-Induced Regression of Benign Breast Lesions. *Obstetrics & Gynecology* vol. 54, n° 1, p. 80-84. [https://doi.org/10.1097/00006250-197907000-00018]
RIGGS, B.L., KHOSLA, S., MELTON, L.J. (2002) Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine Reviews* vol. 23, n° 3, p. 279-302. [https://doi.org/10.1210/edrv.23.3.0465]
ROBERTSON, D.W., KATZENELLENBOGEN, J.A., LONG, D.J., *et al.* (1982) Tamoxifen antiestrogens. A comparison of the activity, pharmacokinetics, and metabolic activation of the cis and trans isomers of tamoxifen. *Journal of Steroid Biochemistry* vol. 16, n° 1, p. 1-13. [https://doi.org/10.1016/0022-4731(82)90137-6]
ROBINS, H.I., WON, M., SEIFERHELD, W.F., *et al.* (2006) Phase 2 trial of radiation plus high-dose tamoxifen for glioblastoma multiforme: RTOG protocol BR-00211. *Neuro-Oncology* vol. 8, n° 1, p. 47-52. [https://doi.org/10.1215/S1522851705000311]
ROBINSON, B.K., CORTES, E., RICE, A.J., *et al.* (2016) Quantitative analysis of 3D extracellular matrix remodelling by pancreatic stellate cells. *Biology Open* vol. 5, n° 6, p. 875-882. [https://doi.org/10.1242/bio.017632]
ROBINSON, S.P., LANGAN-FAHEY, S.M., JOHNSON, D.A., *et al.* (1991) Metabolites, pharmacodynamics, and pharmacokinetics of tamoxifen in rats and mice compared to the breast cancer patient. *Drug Metabolism and Disposition* vol. 19, n° 1, p. 36-43.
ROBSON, M.C. (2003) Proliferative scarring. *Surgical Clinics of North America* vol. 83, n° 3, p. 557-569. [https://doi.org/10.1016/S0039-6109(02)00197-4]
ROSELL, J., NORDENSKJÖLD, B., BENGTSSON, N.-O., *et al.* (2017) Long-term effects on the incidence of second primary cancers in a randomized trial of two and five years of adjuvant tamoxifen. *Acta Oncologica* vol. 56, n° 4, p. 614-617. [https://doi.org/10.1080/0284186X.2016.1273547]
RUEGG, U.T. (2013) Pharmacological prospects in the treatment of Duchenne muscular dystrophy: *Current Opinion in Neurology* vol. 26, n° 5, p. 577-584. [https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328364fbaf]
RUTLEDGE, E.M., ASCHNER, M., KIMELBERG, H.K. (1998) Pharmacological characterization of swelling-induced D-[3H]aspartate release from primary astrocyte cultures. *The American Journal of Physiology* vol. 274, n° 6, p. C1511-1520. [https://doi.org/10.1152/ajpcell.1998.274.6.C1511]
SAARTOK, T. (1984) Steroid receptors in two types of rabbit skeletal muscle. *International Journal of Sports Medicine* vol. 5, n° 3, p. 130-136. [https://doi.org/10.1055/s-2008-1025894]
SADEGHI, S., TALEBI, A.R., SHAHEDI, A., *et al.* (2019) Effects of Tamoxifen on DNA Integrity in Mice vol. 20, n° 1, p. 6.
SANCHEZ-SPITMAN, A.B., SWEN, J.J., DEZENTJE, V.O., *et al.* (2019) Clinical pharmacokinetics and pharmacogenetics of tamoxifen and endoxifen. *Expert Review of Clinical Pharmacology* vol. 12, n° 6, p. 523-536. [https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1610390]
SANTOS, T., MARTINS CAMPOS, A., MORAIS, H. (2017) Sensory-motor axonal polyneuropathy involving cranial nerves: An uncommon manifestation of disulfiram toxicity. *Clinical Neurology and Neurosurgery* vol. 152, p. 12-15. [https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2016.11.005]
SAUTER, E.R. (2018) Breast Cancer Prevention: Current Approaches and Future Directions. *European Journal of Breast Health*. [https://doi.org/10.5152/ejbh.2018.3978]

SCHETT, G., NEURATH, M.F. (2018) Resolution of chronic inflammatory disease: universal and tissue-specific concepts. *Nature Communications* vol. 9, n° 1, p. 3261. [https://doi.org/10.1038/s41467-018-05800-6]
SCHLICH, B., HEIDRICH, H., KEUCH, R., *et al.* (1997) [Occlusion of finger arteries and thrombotic angiopathy of the retina during adjuvant tamoxifen therapy of a mammary carcinoma]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift (1946)* vol. 122, n° 24, p. 783-786. [https://doi.org/10.1055/s-2008-1047689]
SCHRIJVERS, D.M., DE MEYER, G.R.Y., KOCKX, M.M., *et al.* (2005) Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* vol. 25, n° 6, p. 1256-1261. [https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000166517.18801.a7]
SCHROTH, W., ANTONIADOU, L., FRITZ, P., *et al.* (2007) Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. *Journal of Clinical Oncology* vol. 25, n° 33, p. 5187-5193. [https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.2705]
SCHROTH, W., GOETZ, M.P., HAMANN, U., *et al.* (2009) Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* vol. 302, n° 13, p. 1429-1436. [https://doi.org/10.1001/jama.2009.1420]
SEEMAN, E., CRANS, G.G., DIEZ-PEREZ, A., *et al.* (2006) Anti-vertebral fracture efficacy of raloxifene: a meta-analysis. *Osteoporosis international* vol. 17, n° 2, p. 313-316. [https://doi.org/10.1007/s00198-005-2030-1]
SEGALA, G., DE MEDINA, P., IULIANO, L., *et al.* (2013) 5,6-Epoxy-cholesterols contribute to the anticancer pharmacology of Tamoxifen in breast cancer cells. *Biochemical Pharmacology* vol. 86, n° 1, p. 175-189. [https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.031]
SEIMON, T.A., NADOLSKI, M.J., LIAO, X., *et al.* (2010) Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. *Cell Metabolism* vol. 12, n° 5, p. 467-482. [https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.09.010]
SELYUNIN, A.S., HUTCHENS, S., MCHARDY, S.F., *et al.* (2019) Tamoxifen blocks retrograde trafficking of Shiga toxin 1 and 2 and protects against lethal toxicosis. *Life Science Alliance* vol. 2, n° 3, p. e201900439. [https://doi.org/10.26508/lsa.201900439]
SENKUS, E., KYRIAKIDES, S., OHNO, S., *et al.* (2015) Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* vol. 26 Suppl 5, p. v8-30. [https://doi.org/10.1093/annonc/mdv298]
SERELS, S., MELMAN, A. (1998) Tamoxifen as treatment for gynecomastia and mastodynia resulting from hormonal deprivation. *The Journal of Urology* vol. 159, n° 4, p. 1309.
SESTAK, I., BUUS, R., CUZICK, J., *et al.* (2018) Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA oncology* vol. 4, n° 4, p. 545-553. [https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.5524]
SGROI, D.C., CARNEY, E., ZARRELLA, E., *et al.* (2013a) Prediction of late disease recurrence and extended adjuvant letrozole benefit by the HOXB13/IL17BR biomarker. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 105, n° 14, p. 1036-1042. [https://doi.org/10.1093/jnci/djt146]
SGROI, D.C., SESTAK, I., CUZICK, J., *et al.* (2013b) Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-positive breast cancer: a prospective comparison of the breast-cancer index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population. *The Lancet. Oncology* vol. 14, n° 11, p. 1067-1076. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70387-5]
SHAGUFTA, W., AHMAD, I. (2018) Tamoxifen a pioneering drug: An update on the therapeutic potential of tamoxifen derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* vol. 143, p. 515-531. [https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.056]
SHAH, M., FOREMAN, D.M., FERGUSON, M.W.J. (1995) Neutralisation of TGF-β1 and TGF-β2 or exogenous addition of TGF-β3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *Journal of Cell Science* vol. 108, p. 985-1002.
SHAH, M., FOREMAN, D.M., FERGUSON, M.W.J. (1992) Control of scarring in adult wounds by neutralising antibody to transforming growth factor β. *The Lancet* vol. 339, n° 8787, p. 213-214. [https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)90009-R]
SHANG, Y., BROWN, M. (2002) Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs. *Science (New York, N.Y.)* vol. 295, n° 5564, p. 2465-2468. [https://doi.org/10.1126/science.1068537]

SHARMA, S. (2020) Secretory Endometrial Adenocarcinoma: A Rare Sequelae in a Postmenopausal Woman Following Tamoxifen Therapy for Breast Cancer. *Journal of Mid-Life Health* vol. 11, n° 3, p. 171-174. [https://doi.org/10.4103/jmh.JMH_104_19]
SHEEAN, P.M., HOSKINS, K., STOLLEY, M. (2012) Body composition changes in females treated for breast cancer: a review of the evidence. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 135, n° 3, p. 663-680. [https://doi.org/10.1007/s10549-012-2200-8]
SHEN, S.S., SMITH, C.L., HSIEH, J.-T., *et al.* (2006) Expression of estrogen receptors-alpha and -beta in bladder cancer cell lines and human bladder tumor tissue. *Cancer* vol. 106, n° 12, p. 2610-2616. [https://doi.org/10.1002/cncr.21945]
SHERMAN, M.H., YU, R.T., ENGLE, D.D., *et al.* (2014) Vitamin D receptor-mediated stromal reprogramming suppresses pancreatitis and enhances pancreatic cancer therapy. *Cell* vol. 159, n° 1, p. 80-93. [https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.08.007]
SHIAU, A.K., BARSTAD, D., LORIA, P.M., *et al.* (1998) The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell* vol. 95, n° 7, p. 927-937. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81717-1]
SHIROKOVA, N., NIGGLI, E. (2013) Cardiac phenotype of Duchenne Muscular Dystrophy: Insights from cellular studies. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* vol. 58, p. 217-224. [https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2012.12.009]
SIDERAS, K., INGLE, J.N., AMES, M.M., *et al.* (2010) Coprescription of Tamoxifen and Medications That Inhibit CYP2D6. *Journal of Clinical Oncology* vol. 28, n° 16, p. 2768-2776. [https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.8931]
SIMON, T., BOUTOUYRIE, P., SIMON, J.M., *et al.* (2002) Influence of Tamoxifen on Carotid Intima-Media Thickness in Postmenopausal Women. *Circulation* vol. 106, n° 23, p. 2925-2929. [https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000041044.93571.CA]
SINGH, M.N., MARTIN-HIRSCH, P.L., MARTIN, F.L. (2008) The multiple applications of tamoxifen: an example pointing to SERM modulation being the aspirin of the 21st century. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* vol. 14, n° 9, p. RA144-148.
SINGH, M.N., STRINGFELLOW, H.F., PARASKEVAIDIS, E. (2007) Tamoxifen: important considerations of a multi-functional compound with organ-specific properties. *Cancer Treatment Reviews* vol. 33, n° 2, p. 91-100. [https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2006.09.008]
SINGH, P.B., MATANHELIA, S.S., MARTIN, F.L. (2008) A potential paradox in prostate adenocarcinoma progression: oestrogen as the initiating driver. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* vol. 44, n° 7, p. 928-936. [https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.02.051]
SKAPEK, S.X., ANDERSON, J.R., HILL, D.A., *et al.* (2013) Safety and efficacy of high-dose tamoxifen and sulindac for desmoid tumor in children: Results of a Children's Oncology Group (COG) Phase II Study: Tamoxifen and Sulindac for Desmoid Tumor. *Pediatric Blood & Cancer* vol. 60, n° 7, p. 1108-1112. [https://doi.org/10.1002/pbc.24457]
SKIERKA, J.M., WALKER, D.L., PETERSON, S.E., *et al.* (2012) CYP2D6*11 and challenges in clinical genotyping of the highly polymorphic CYP2D6 gene. *Pharmacogenomics* vol. 13, n° 8, p. 951-954. [https://doi.org/10.2217/pgs.12.56]
SKOOG, I., GUSTAFSON, D. (1999) HRT and dementia. *Journal of Epidemiology and Biostatistics* vol. 4, n° 3, p. 227-251; discussion 252.
SLOVACEK, L., ANSORGOVA, V., MACINGOVA, Z., *et al.* (2008) Tamoxifen-induced QT interval prolongation. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* vol. 33, n° 4, p. 453-455. [https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2008.00928.x]
SMIRNOVA, N.F., FONTAINE, C., BUSCATO, M., *et al.* (2015) The Activation Function-1 of Estrogen Receptor Alpha Prevents Arterial Neointima Development Through a Direct Effect on Smooth Muscle Cells. *Circulation Research* vol. 117, n° 9, p. 770-778. [https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306416]
SMITH, C.L., NAWAZ, Z., O'MALLEY, B.W. (1997) Coactivator and corepressor regulation of the agonist/antagonist activity of the mixed antiestrogen, 4-hydroxytamoxifen. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 11, n° 6, p. 657-666. [https://doi.org/10.1210/mend.11.6.0009]

SMITH, C.L., O'MALLEY, B.W. (2004) Coregulator function: a key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. *Endocrine Reviews* vol. 25, n° 1, p. 45-71. [https://doi.org/10.1210/er.2003-0023]
SMITH, C.P.S., OH, J.D., BIBBIANI, F., *et al.* (2007) Tamoxifen effect on L-DOPA induced response complications in parkinsonian rats and primates. *Neuropharmacology* vol. 52, n° 2, p. 515-526. [https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.08.018]
SMITH, H.O., LESLIE, K.K., SINGH, M., *et al.* (2007) GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* vol. 196, n° 4, p. 386.e1-9; discussion 386.e9-11. [https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.01.004]
SMITH, P., MOSIELLO, G., DELUCA, L., *et al.* (1999) TGF-β2Activates Proliferative Scar Fibroblasts. *Journal of Surgical Research* vol. 82, n° 2, p. 319-323. [https://doi.org/10.1006/jsre.1999.5580]
SMITH, S., WITKOWSKI, A., MOGHUL, A., *et al.* (2012) Compromised mitochondrial fatty acid synthesis in transgenic mice results in defective protein lipoylation and energy disequilibrium. *PloS One* vol. 7, n° 10, p. e47196. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047196]
SPORN, M.B., DOWSETT, S.A., MERSHON, J., *et al.* (2004) Role of raloxifene in breast cancer prevention in postmenopausal women: clinical evidence and potential mechanisms of action. *Clinical Therapeutics* vol. 26, n° 6, p. 830-840. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918(04)90127-0]
SPREMULLI, E., DESIMONE, P., DURANT, J. (1982) A phase II study Nolvadex: tamoxifen citrate in the treatment of advanced prostatic adenocarcinoma. *American Journal of Clinical Oncology* vol. 5, n° 2, p. 149-153. [https://doi.org/10.1097/00000421-198204000-00061]
SPURNEY, C.F. (2011) Cardiomyopathy of Duchenne muscular dystrophy: current understanding and future directions. *Muscle & Nerve* vol. 44, n° 1, p. 8-19. [https://doi.org/10.1002/mus.22097]
STAINES, H.M., DEE, B.C., SHEN, M.-R., *et al.* (2004) The effect of mefloquine and volume-regulated anion channel inhibitors on induced transport in Plasmodium falciparum-infected human red blood cells. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* vol. 32, n° 3, p. 344-348. [https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2004.01.004]
STALEY, H., MCCALLUM, I., BRUCE, J. (2014) Postoperative Tamoxifen for ductal carcinoma in situ: Cochrane systematic review and meta-analysis. *The Breast* vol. 23, n° 5, p. 546-551. [https://doi.org/10.1016/j.breast.2014.06.015]
STEARNS, V., JOHNSON, M.D., RAE, J.M., *et al.* (2003) Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 95, n° 23, p. 1758-1764. [https://doi.org/10.1093/jnci/djg108]
STEARNS, V., ULLMER, L., LOPEZ, J.F., *et al.* (2002) Hot flushes. *The Lancet* vol. 360, n° 9348, p. 1851-1861. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)11774-0]
STEINER, A.Z., TERPLAN, M., PAULSON, R.J. (2005) Comparison of tamoxifen and clomiphene citrate for ovulation induction: a meta-analysis. *Human Reproduction* vol. 20, n° 6, p. 1511-1515. [https://doi.org/10.1093/humrep/deh840]
SUDER, E., FURUYAMA, W., FELDMANN, H., *et al.* (2018) The vesicular stomatitis virus-based Ebola virus vaccine: From concept to clinical trials. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* vol. 14, n° 9, p. 2107-2113. [https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1473698]
SULTANA, N., DIENES, B., BENEDETTI, A., *et al.* (2016) Restricting calcium currents is required for correct fiber type specification in skeletal muscle vol. 143, n° 9, p. 1547-1559. [https://doi.org/10.1242/dev.129676]
SUN, D., SHARMA, A.K., DELLINGER, R.W., *et al.* (2007) Glucuronidation of active tamoxifen metabolites by the human UDP glucuronosyltransferases. *Drug Metabolism and Disposition* vol. 35, n° 11, p. 2006-2014. [https://doi.org/10.1124/dmd.107.017145]
SUN, W., HE, S., MARTÍNEZ-ROMERO, C., *et al.* (2017) Synergistic drug combination effectively blocks Ebola virus infection. *Antiviral Research* vol. 137, p. 165-172. [https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.11.017]
SUURONEN, T., NUUTINEN, T., HUUSKONEN, J., *et al.* (2005) Anti-inflammatory effect of selective estrogen receptor modulators (SERMs) in microglial cells. *Inflammation Research* vol. 54, n° 5, p. 194-203. [https://doi.org/10.1007/s00011-005-1343-z]
SWERDLOW, A.J., JONES, M.E., FOR THE BRITISH TAMOXIFEN SECOND CANCER STUDY GROUP (2005) Tamoxifen Treatment for Breast Cancer and Risk of Endometrial Cancer: A Case-

Control Study. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* vol. 97, n° 5, p. 375-384. [https://doi.org/10.1093/jnci/dji057]
TAÇYILDIZ, N., YAVUZ, G., UNAL, E., *et al.* (2003) Encouraging result of tamoxifen in a retinoblastoma patient with central nervous system metastasis. *Pediatric Hematology and Oncology* vol. 20, n° 6, p. 473-476.
TAETLE, R. (1978) Hypercalcemia and Tamoxifen Readministered. *Annals of Internal Medicine* vol. 89, n° 2, p. 287. [https://doi.org/10.7326/0003-4819-89-2-287_1]
TAKEDA, K., NOGUCHI, K., SHI, W., *et al.* (1997) Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 94, n° 8, p. 3801-3804. [https://doi.org/10.1073/pnas.94.8.3801]
TAKIMOTO, C.H. (2007) Can tamoxifen therapy be optimized for patients with breast cancer on the basis of CYP2D6 activity assessments? *Nature Clinical Practice. Oncology* vol. 4, n° 3, p. 152-153. [https://doi.org/10.1038/ncponc0716]
TALAEI, A., POURGHOLAMI, M., KHATIBI-MOGHADAM, H., *et al.* (2016) Tamoxifen: A Protein Kinase C Inhibitor to Treat Mania. *Journal of Clinical Psychopharmacology* vol. 36, n° 3, p. 272-275. [https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000000492]
Tamoxifen (citrate) 10 mg cp (Nolvadex®) (2020) . *VIDAL Le dictionnaire*.
Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (1998) . *Lancet (London, England)* vol. 351, n° 9114, p. 1451-1467.
TANCREDI, R., FURLANETTO, J., LOIBL, S. (2018) Endocrine Therapy in Premenopausal Hormone Receptor Positive/Human Epidermal Growth Receptor 2 Negative Metastatic Breast Cancer: Between Guidelines and Literature. *The Oncologist* vol. 23, n° 8, p. 974-981. [https://doi.org/10.1634/theoncologist.2018-0077]
TANG, R., SHIELDS, J., SCHIFFMAN, J., *et al.* (1997) Retinal changes associated with tamoxifen treatment for breast cancer. *Eye (London, England)* vol. 11 (Pt 3), p. 295-297. [https://doi.org/10.1038/eye.1997.64]
TAPIA-GONZALEZ, S., CARRERO, P., PERNIA, O., *et al.* (2008) Selective oestrogen receptor (ER) modulators reduce microglia reactivity in vivo after peripheral inflammation: potential role of microglial ERs. *The Journal of Endocrinology* vol. 198, n° 1, p. 219-230. [https://doi.org/10.1677/JOE-07-0294]
TASFAOUT, H., BUONO, S., GUO, S., *et al.* (2017) Antisense oligonucleotide-mediated Dnm2 knockdown prevents and reverts myotubular myopathy in mice. *Nature Communications* vol. 8, p. 15661. [https://doi.org/10.1038/ncomms15661]
TASFAOUT, H., LIONELLO, V.M., KRETZ, C., *et al.* (2018) Single Intramuscular Injection of AAV-shRNA Reduces DNM2 and Prevents Myotubular Myopathy in Mice. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*. [https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.02.008]
TAWARI, P.E., WANG, Z., NAJLAH, M., *et al.* (2015) The cytotoxic mechanisms of disulfiram and copper(II) in cancer cells. *Toxicology Research* vol. 4, n° 6, p. 1439-1442. [https://doi.org/10.1039/C5TX00210A]
TEFT, W.A., MANSELL, S.E., KIM, R.B. (2011) Endoxifen, the active metabolite of tamoxifen, is a substrate of the efflux transporter P-glycoprotein (multidrug resistance 1). *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* vol. 39, n° 3, p. 558-562. [https://doi.org/10.1124/dmd.110.036160]
TENNI, P., LALICH, D.L., BYRNE, M.J. (1989) Life threatening interaction between tamoxifen and warfarin. *BMJ* vol. 298, n° 6666, p. 93-93. [https://doi.org/10.1136/bmj.298.6666.93]
TERRILL, J.R., RADLEY-CRABB, H.G., GROUNDS, M.D., *et al.* (2012) N-Acetylcysteine treatment of dystrophic mdx mice results in protein thiol modifications and inhibition of exercise induced myofibre necrosis. *Neuromuscular Disorders* vol. 22, n° 5, p. 427-434. [https://doi.org/10.1016/j.nmd.2011.11.007]
TESH, V.L., BURRIS, J.A., OWENS, J.W., *et al.* (1993) Comparison of the relative toxicities of Shiga-like toxins type I and type II for mice. *Infection and Immunity* vol. 61, n° 8, p. 3392-3402. [https://doi.org/10.1128/IAI.61.8.3392-3402.1993]
THERSSEN, R., JANSEN, E., LEYS, A., *et al.* (1995) Screening for tamoxifen ocular toxicity: a prospective study. *European Journal of Ophthalmology* vol. 5, n° 4, p. 230-234.

THIGPEN, T., BRADY, M.F., HOMESLEY, H.D., *et al.* (2001) Tamoxifen in the Treatment of Advanced or Recurrent Endometrial Carcinoma: A Gynecologic Oncology Group Study. *Journal of Clinical Oncology* vol. 19, n° 2, p. 364-367. [https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.2.364]
THOMAS, Thresia, GALLO, M., THOMAS, T. (2004) Estrogen Receptors as Targets for Drug Development for Breast Cancer, Osteoporosis and Cardiovascular Diseases. *Current Cancer Drug Targets* vol. 4, n° 6, p. 483-499. [https://doi.org/10.2174/1568009043332880]
TIAN, D.-S., LIU, J.-L., XIE, M.-J., *et al.* (2009) Tamoxifen attenuates inflammatory-mediated damage and improves functional outcome after spinal cord injury in rats. *Journal of Neurochemistry* vol. 109, n° 6, p. 1658-1667. [https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06077.x]
TIMMONS, M.J. (1994) Fibromatosis, desmoids, fibroblasts, and tamoxifen. *British Journal of Plastic Surgery* vol. 47, n° 5, p. 378-380. [https://doi.org/10.1016/0007-1226(94)90100-7]
TIRET, L. (2019) AFM Report on Translamuscle Research project. n° 19507.
TIRET, L., BLOT, S., KESSLER, J.-L., *et al.* (2003) The cnm locus, a canine homologue of human autosomal forms of centronuclear myopathy, maps to chromosome 2. *Human Genetics* vol. 113, n° 4, p. 297-306. [https://doi.org/10.1007/s00439-003-0984-7]
TOIMELA, T., SALMINEN, L., TÄHTI, H. (1998) Effects of tamoxifen, toremifene and chloroquine on the lysosomal enzymes in cultured retinal pigment epithelial cells. *Pharmacology & Toxicology* vol. 83, n° 6, p. 246-251. [https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1998.tb01477.x]
TORA, L., WHITE, J., BROU, C., *et al.* (1989) The human estrogen receptor has two independent nonacidic transcriptional activation functions. *Cell* vol. 59, n° 3, p. 477-487. [https://doi.org/10.1016/0092-8674(89)90031-7]
Treatment With Tamoxifen in Cryptococcal Meningitis - Full Text View - ClinicalTrials.gov (s. d.). [https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03112031] (consulté le 19/09/2020).
TREDGET, E.E., SHANKOWSKY, H.A., PANNU, R., *et al.* (1998) Transforming Growth Factor-β in Thermally Injured Patients with Hypertrophic Scars: Effects of Interferon α-2b: *Plastic & Reconstructive Surgery* vol. 102, n° 5, p. 1317-1328. [https://doi.org/10.1097/00006534-199810000-00001]
TRINCONI, C.T., REIMÃO, J.Q., BONANO, V.I., *et al.* (2018) Topical tamoxifen in the therapy of cutaneous leishmaniasis. *Parasitology* vol. 145, n° 4, p. 490-496. [https://doi.org/10.1017/S0031182017000130]
TRINCONI, C.T., REIMÃO, J.Q., COELHO, A.C., *et al.* (2016) Efficacy of tamoxifen and miltefosine combined therapy for cutaneous leishmaniasis in the murine model of infection with *Leishmania amazonensis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* vol. 71, n° 5, p. 1314-1322. [https://doi.org/10.1093/jac/dkv495]
TRINCONI, C.T., REIMAO, J.Q., YOKOYAMA-YASUNAKA, J.K.U., *et al.* (2014) Combination Therapy with Tamoxifen and Amphotericin B in Experimental Cutaneous Leishmaniasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* vol. 58, n° 5, p. 2608-2613. [https://doi.org/10.1128/AAC.01315-13]
TSAI, C.-L., WU, H.-M., LIN, C.-Y., *et al.* (2013) Estradiol and tamoxifen induce cell migration through GPR30 and activation of focal adhesion kinase (FAK) in endometrial cancers with low or without nuclear estrogen receptor α (ERα). *PloS One* vol. 8, n° 9, p. e72999. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072999]
TSAI, Y.-T., WANG, C.-C., LEUNG, P.-O., *et al.* (2014) Extracellular signal-regulated kinase 1/2 is involved in a tamoxifen neuroprotective effect in a lateral fluid percussion injury rat model. *The Journal of Surgical Research* vol. 189, n° 1, p. 106-116. [https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.02.009]
TSUBAKI, M., TAKEDA, T., MATSUMOTO, M., *et al.* (2018) Tamoxifen suppresses paclitaxel-, vincristine-, and bortezomib-induced neuropathy via inhibition of the protein kinase C/extracellular signal-regulated kinase pathway. *Tumour Biology* vol. 40, n° 10, p. 1010428318808670. [https://doi.org/10.1177/1010428318808670]
TSUBAKI, M., TAKEDA, T., TANI, T., *et al.* (2015) PKC/MEK inhibitors suppress oxaliplatin-induced neuropathy and potentiate the antitumor effects. *International Journal of Cancer* vol. 137, n° 1, p. 243-250. [https://doi.org/10.1002/ijc.29367]
TURKEN, S., SIRIS, E., SELDIN, D., *et al.* (1989) Effects of Tamoxifen on Spinal Bone Density in Women With Breast Cancer. *Journal of the National Cancer Institute* vol. 81, n° 14, p. 1086-1088. [https://doi.org/10.1093/jnci/81.14.1086]

ULITZKY, L., LAFER, M.M., KUKURUGA, M.A., *et al.* (2016) A New Signaling Pathway for HCV Inhibition by Estrogen: GPR30 Activation Leads to Cleavage of Occludin by MMP-9. *PLoS One* vol. 11, n° 1, p. e0145212. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145212]
VAGLIO, A., SALVARANI, C., BUZIO, C. (2006) Retroperitoneal fibrosis. *Lancet (London, England)* vol. 367, n° 9506, p. 241-251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68035-5]
VALKO, K., CIESLA, L. (2019) Amyotrophic lateral sclerosis. *In Progress in Medicinal Chemistry*. San Diego, Elsevier, p. 63-117. [https://doi.org/10.1016/bs.pmch.2018.12.001]
VALNY, M., HONSA, P., KIRDAJOVA, D., *et al.* (2016) Tamoxifen in the Mouse Brain: Implications for Fate-Mapping Studies Using the Tamoxifen-Inducible Cre-loxP System. *Frontiers in Cellular Neuroscience* vol. 10, p. 243. [https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00243]
VAN DER WEIJDEN-VAN DOORNIK, E.M., SLOT, D.E., BURTIN, C., *et al.* (2017) Grip Strength in Women Being Treated for Breast Cancer and Receiving Adjuvant Endocrine Therapy: Systematic Review. *Physical Therapy* vol. 97, n° 9, p. 904-914. [https://doi.org/10.1093/ptj/pzx069]
VANDESTIENNE-RATNAM, A. (2021) Décryptage du rôle du gène Hacd1 dans le fonctionnement mitochondrial et musculaire. Thèse en Biologie cellulaire et moléculaire, Paris-12, Créteil.
VAN WEELDEN, W.J., MASSUGER, L.F.A.G., ENITEC, *et al.* (2019) Anti-estrogen Treatment in Endometrial Cancer: A Systematic Review. *Frontiers in Oncology* vol. 9, p. 359. [https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00359]
VARGAS-VILLAVICENCIO, J.A., LARRALDE, C., DE LEÓN-NAVA, M.A. (2007) Tamoxifen Treatment Induces Protection In Murine Cysticercosis. *Journal of Parasitology* vol. 93, n° 6, p. 1512-1517. [https://doi.org/10.1645/GE-1191.1]
VED, N., CURRAN, A., ASHCROFT, F.M., *et al.* (2019) Tamoxifen administration in pregnant mice can be deleterious to both mother and embryo. *Laboratory Animals* vol. 53, n° 6, p. 630-633. [https://doi.org/10.1177/0023677219856918]
VELÁZQUEZ-ZAMORA, D.A., GARCIA-SEGURA, L.M., GONZÁLEZ-BURGOS, I. (2012) Effects of selective estrogen receptor modulators on allocentric working memory performance and on dendritic spines in medial prefrontal cortex pyramidal neurons of ovariectomized rats. *Hormones and Behavior* vol. 61, n° 4, p. 512-517. [https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.01.010]
VENNIN, C., CHIN, V.T., WARREN, S.C., *et al.* (2017) Transient tissue priming via ROCK inhibition uncouples pancreatic cancer progression, sensitivity to chemotherapy, and metastasis. *Science Translational Medicine* vol. 9, n° 384. [https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai8504]
VERONESI, U., MAISONNEUVE, P., COSTA, A., *et al.* (1998) Prevention of breast cancer with tamoxifen: preliminary findings from the Italian randomised trial among hysterectomised women. Italian Tamoxifen Prevention Study. *Lancet (London, England)* vol. 352, n° 9122, p. 93-97. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736(98)85011-3]
VINDING, T., NIELSEN, N.V. (1983) Retinopathy caused by treatment with tamoxifen in low dosage. *Acta Ophthalmologica* vol. 61, n° 1, p. 45-50. [https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1983.tb01393.x]
VIVACQUA, A., BONOFIGLIO, D., RECCHIA, A.G., *et al.* (2006) The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the proliferative effects induced by 17beta-estradiol and hydroxytamoxifen in endometrial cancer cells. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 20, n° 3, p. 631-646. [https://doi.org/10.1210/me.2005-0280]
VOGEL, V.G. (2009) The NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) trial. *Expert Review of Anticancer Therapy* vol. 9, n° 1, p. 51-60. [https://doi.org/10.1586/14737140.9.1.51]
VOGEL, V.G. (2007) Raloxifene: a selective estrogen receptor modulator for reducing the risk of invasive breast cancer in postmenopausal women. *Women's Health (London, England)* vol. 3, n° 2, p. 139-153. [https://doi.org/10.2217/17455057.3.2.139]
VOGEL, V.G., COSTANTINO, J.P., WICKERHAM, D.L., *et al.* (2006) Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* vol. 295, n° 23, p. 2727-2741. [https://doi.org/10.1001/jama.295.23.joc60074]
VOGT, M.A., CHOURBAJI, S., BRANDWEIN, C., *et al.* (2008) Suitability of tamoxifen-induced mutagenesis for behavioral phenotyping. *Experimental Neurology* vol. 211, n° 1, p. 25-33. [https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.12.012]

WADE, G.N., HELLER, H.W. (1993) Tamoxifen mimics the effects of estradiol on food intake, body weight, and body composition in rats. *The American Journal of Physiology* vol. 264, n° 6 Pt 2, p. R1219-1223. [https://doi.org/10.1152/ajpregu.1993.264.6.R1219]
WAKADE, C., KHAN, M.M., DE SEVILLA, L.M., *et al.* (2008) Tamoxifen neuroprotection in cerebral ischemia involves attenuation of kinase activation and superoxide production and potentiation of mitochondrial superoxide dismutase. *Endocrinology* vol. 149, n° 1, p. 367-379. [https://doi.org/10.1210/en.2007-0899]
WALLEN, W.J., BELANGER, M.P., WITTNICH, C. (2001) Sex hormones and the selective estrogen receptor modulator tamoxifen modulate weekly body weights and food intakes in adolescent and adult rats. *The Journal of Nutrition* vol. 131, n° 9, p. 2351-2357. [https://doi.org/10.1093/jn/131.9.2351]
WALTER, A.W., GAJJAR, A., REARDON, D.A., *et al.* (2000) Tamoxifen and carboplatin for children with low-grade gliomas: a pilot study at St. Jude Children's Research Hospital. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* vol. 22, n° 3, p. 247-251. [https://doi.org/10.1097/00043426-200005000-00010]
WANG, T., NIU, G., KORTYLEWSKI, M., *et al.* (2004) Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nature Medicine* vol. 10, n° 1, p. 48-54. [https://doi.org/10.1038/nm976]
WANG, X., SMITH, P., PU, L.L.Q., *et al.* (1999) Exogenous Transforming Growth Factor β2 Modulates Collagen I and Collagen III Synthesis in Proliferative Scar Xenografts in Nude Rats. *Journal of Surgical Research* vol. 87, n° 2, p. 194-200. [https://doi.org/10.1006/jsre.1999.5757]
WARD, H.W.C. (1973) Anti-oestrogen Therapy for Breast Cancer: A Trial of Tamoxifen at Two Dose Levels. *BMJ* vol. 1, n° 5844, p. 13-14. [https://doi.org/10.1136/bmj.1.5844.13]
WASSERTHEIL-SMOLLER, S., HENDRIX, S.L., LIMACHER, M., *et al.* (2003) Effect of estrogen plus progestin on stroke in postmenopausal women: the Women's Health Initiative: a randomized trial. *JAMA* vol. 289, n° 20, p. 2673-2684. [https://doi.org/10.1001/jama.289.20.2673]
WATASHI, K., INOUE, D., HIJIKATA, M., *et al.* (2007) Anti-hepatitis C Virus Activity of Tamoxifen Reveals the Functional Association of Estrogen Receptor with Viral RNA Polymerase NS5B. *Journal of Biological Chemistry* vol. 282, n° 45, p. 32765-32772. [https://doi.org/10.1074/jbc.M704418200]
WATTS, T.E., PANDEY, R.A., VANCIL, T.J. (2014) Fatal fulminant hepatic failure related to the use of disulfiram. *The Journal of the Arkansas Medical Society* vol. 110, n° 13, p. 280-283.
WEBB, P., NGUYEN, P., KUSHNER, P.J. (2003) Differential SERM effects on corepressor binding dictate ERalpha activity in vivo. *The Journal of Biological Chemistry* vol. 278, n° 9, p. 6912-6920. [https://doi.org/10.1074/jbc.M208501200]
WEGMAN, P., ELINGARAMI, S., CARSTENSEN, J., *et al.* (2007) Genetic variants of CYP3A5, CYP2D6, SULT1A1, UGT2B15 and tamoxifen response in postmenopausal patients with breast cancer. *Breast cancer research* vol. 9, n° 1, p. R7. [https://doi.org/10.1186/bcr1640]
WEGMAN, P., VAINIKKA, L., STÅL, O., *et al.* (2005) Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. *Breast cancer research* vol. 7, n° 3, p. R284-290. [https://doi.org/10.1186/bcr993]
WEI, H.-Y., MA, X. (2014) Tamoxifen reduces infiltration of inflammatory cells, apoptosis and inhibits IKK/NF-kB pathway after spinal cord injury in rats. *Neurological Sciences* vol. 35, n° 11, p. 1763-1768. [https://doi.org/10.1007/s10072-014-1828-z]
WHITE, R.B., BIÉRINX, A.-S., GNOCCHI, V.F., *et al.* (2010) Dynamics of muscle fibre growth during postnatal mouse development. *BMC Developmental Biology* vol. 10, n° 1, p. 21. [https://doi.org/10.1186/1471-213X-10-21]
WIBOWO, E., POLLOCK, P.A., HOLLIS, N., *et al.* (2016) Tamoxifen in men: a review of adverse events. *Andrology* vol. 4, n° 5, p. 776-788. [https://doi.org/10.1111/andr.12197]
WIJAYABAHU, A.T., EGAN, K.M., YAGHJYAN, L. (2020) Uterine cancer in breast cancer survivors: a systematic review. *Breast Cancer Research and Treatment* vol. 180, n° 1, p. 1-19. [https://doi.org/10.1007/s10549-019-05516-1]
WIKIPÉDIA (2022) Tamoxifène. *In Wikipédia*. [https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Tamoxif%C3%A8ne&oldid=196501383] (consulté le 03/09/2022).
WINER, E.P., HUDIS, C., BURSTEIN, H.J., *et al.* (2005) American Society of Clinical Oncology Technology Assessment on the Use of Aromatase Inhibitors As Adjuvant Therapy for Postmenopausal

Women With Hormone Receptor–Positive Breast Cancer: Status Report 2004. *Journal of Clinical Oncology* vol. 23, n° 3, p. 619-629. [https://doi.org/10.1200/JCO.2005.09.121]
WISEMAN, H. (1994) Tamoxifen: new membrane-mediated mechanisms of action and therapeutic advances. *Trends in Pharmacological Sciences* vol. 15, n° 3, p. 83-89. [https://doi.org/10.1016/0165-6147(94)90283-6]
WISEMAN, H., CANNON, M., ARNSTEIN, H.R., *et al.* (1993) Tamoxifen inhibits lipid peroxidation in cardiac microsomes. Comparison with liver microsomes and potential relevance to the cardiovascular benefits associated with cancer prevention and treatment by tamoxifen. *Biochemical Pharmacology* vol. 45, n° 9, p. 1851-1855. [https://doi.org/10.1016/0006-2952(93)90443-z]
WISEMAN, H., CANNON, M., ARNSTEIN, H.R., *et al.* (1990) Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen introduced into liposomes. Similarity to cholesterol and ergosterol. *FEBS letters* vol. 274, n° 1-2, p. 107-110. [https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)81341-k]
WISEMAN, Helen, CANNON, M., ARNSTEIN, H.R.V., *et al.* (1993) Enhancement by tamoxifen of the membrane antioxidant action of the yeast membrane sterol ergosterol: relevance to the antiyeast and anticancer action of tamoxifen. *Biochimica et Biophysica Acta* vol. 1181, n° 3, p. 201-206. [https://doi.org/10.1016/0925-4439(93)90021-R]
WISEMAN, H., CANNON, M., ARNSTEIN, H.R.V. (1989) Observation and significance of growth inhibition of Saccharomyces cerevisiae (A224A) by the antioestrogen drug tamoxifen. *Biochemical Society Transactions* vol. 17, n° 6, p. 1038-1039. [https://doi.org/10.1042/bst0171038]
WISEMAN, Helen, LAUGHTON, M.J., ARNSTEIN, H.R.V., *et al.* (1990) The antioxidant action of tamoxifen and its metabolites Inhibition of lipid peroxidation. *FEBS Letters* vol. 263, n° 2, p. 192-194. [https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)81371-T]
WOZNIAK, K., KOLACINSKA, A., BLASINSKA-MORAWIEC, M., *et al.* (2007) The DNA-damaging potential of tamoxifen in breast cancer and normal cells. *Archives of Toxicology* vol. 81, n° 7, p. 519-527. [https://doi.org/10.1007/s00204-007-0188-3]
WU, B., SHAH, S.N., LU, P., *et al.* (2018) Long-Term Treatment of Tamoxifen and Raloxifene Alleviates Dystrophic Phenotype and Enhances Muscle Functions of FKRP Dystroglycanopathy. *The American Journal of Pathology* vol. 188, n° 4, p. 1069-1080. [https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2017.12.011]
WU, J., LIN, S., WAN, B., *et al.* (2019) Pyroptosis in Liver Disease: New Insights into Disease Mechanisms. *Aging and Disease* vol. 10, n° 5, p. 1094-1108. [https://doi.org/10.14336/AD.2019.0116]
WU, S.-T., SUN, G.-H., CHA, T.-L., *et al.* (2016) CSC-3436 switched tamoxifen-induced autophagy to apoptosis through the inhibition of AMPK/mTOR pathway. *Journal of Biomedical Science* vol. 23, n° 1, p. 60. [https://doi.org/10.1186/s12929-016-0275-y]
WU, W.M., LIN, B.F., SU, Y.C., *et al.* (2000) Tamoxifen decreases renal inflammation and alleviates disease severity in autoimmune NZB/W F1 mice. *Scandinavian Journal of Immunology* vol. 52, n° 4, p. 393-400. [https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.2000.00789.x]
WU, X., HAWSE, J.R., SUBRAMANIAM, M., *et al.* (2009) The tamoxifen metabolite, endoxifen, is a potent antiestrogen that targets estrogen receptor alpha for degradation in breast cancer cells. *Cancer Research* vol. 69, n° 5, p. 1722-1727. [https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3933]
XIAO, Y.-P., TIAN, F.-M., DAI, M.-W., *et al.* (2016) Are estrogen-related drugs new alternatives for the management of osteoarthritis? *Arthritis Research & Therapy* vol. 18, n° 1, p. 151. [https://doi.org/10.1186/s13075-016-1045-7]
XU, Y., NEDUNGADI, T.P., ZHU, L., *et al.* (2019) Distinct Hypothalamic Neurons Mediate Estrogenic Effects on Energy Homeostasis and Reproduction. *Cell Metabolism* vol. 29, n° 5, p. 1232. [https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.04.006]
XU, Y., NEDUNGADI, T.P., ZHU, L., *et al.* (2011) Distinct hypothalamic neurons mediate estrogenic effects on energy homeostasis and reproduction. *Cell Metabolism* vol. 14, n° 4, p. 453-465. [https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.009]
YAFFE, K., KRUEGER, K., CUMMINGS, S.R., *et al.* (2005) Effect of raloxifene on prevention of dementia and cognitive impairment in older women: the Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) randomized trial. *The American Journal of Psychiatry* vol. 162, n° 4, p. 683-690. [https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.4.683]

YAFFE, K., SAWAYA, G., LIEBERBURG, I., *et al.* (1998) Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. *JAMA* vol. 279, n° 9, p. 688-695. [https://doi.org/10.1001/jama.279.9.688]
YANG, C.H., CHENG, A.L., YEH, K.H., *et al.* (1999) High dose tamoxifen plus cisplatin and etoposide in the treatment of patients with advanced, inoperable nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* vol. 86, n° 3, p. 415-420. [https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19990801)86:3<415::aid-cncr9>3.0.co;2-h]
YANG, G., NOWSHEEN, S., AZIZ, K., *et al.* (2013) Toxicity and adverse effects of Tamoxifen and other anti-estrogen drugs. *Pharmacology & Therapeutics* vol. 139, n° 3, p. 392-404. [https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.05.005]
YANG, L., CHANG, C.-C., SUN, Z., *et al.* (2017) GFRAL is the receptor for GDF15 and is required for the anti-obesity effects of the ligand. *Nature Medicine* vol. 23, n° 10, p. 1158-1166. [https://doi.org/10.1038/nm.4394]
YILDIZ, A., GULERYUZ, S., ANKERST, D.P., *et al.* (2008) Protein Kinase C Inhibition in the Treatment of Mania: A Double-blind, Placebo-Controlled Trial of Tamoxifen. *Archives of General Psychiatry* vol. 65, n° 3, p. 255. [https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2007.43]
YOSHIKAWA, Y., MIYASHITA, T., HIGUCHI, S., *et al.* (2012) Mechanisms of the hepatoprotective effects of tamoxifen against drug-induced and chemical-induced acute liver injuries. *Toxicology and Applied Pharmacology* vol. 264, n° 1, p. 42-50. [https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.06.023]
YOUNAI, S., NICHTER, L.S., WELLISZ, T., *et al.* (1994) Modulation of Collagen Synthesis by Transforming Growth Factor-β in Keloid and Hypertrophic Scar Fibroblasts: *Annals of Plastic Surgery* vol. 33, n° 2, p. 148-154. [https://doi.org/10.1097/00000637-199408000-00005]
YOUNAI, S., VENTERS, G., VU, S., *et al.* (1996) Role of Growth Factors in Scar Contraction: An In Vitro Analysis. *Annals of Plastic Surgery* vol. 36, n° 5, p. 495-501. [https://doi.org/10.1097/00000637-199605000-00011]
YOUNG, M.A., TUNSTALL, M.J., KISTLER, J., *et al.* (2000) Blocking chloride channels in the rat lens: localized changes in tissue hydration support the existence of a circulating chloride flux. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* vol. 41, n° 10, p. 3049-3055.
YOUNG, M.F., FALLON, J.R. (2012) Biglycan: a promising new therapeutic for neuromuscular and musculoskeletal diseases. *Current Opinion in Genetics & Development* vol. 22, n° 4, p. 398-400. [https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.07.008]
YU, H., KORTYLEWSKI, M., PARDOLL, D. (2007) Crosstalk between cancer and immune cells: role of STAT3 in the tumour microenvironment. *Nature Reviews. Immunology* vol. 7, n° 1, p. 41-51. [https://doi.org/10.1038/nri1995]
ZABIHI, H., HOSSEINI, M., POURGANJI, M., *et al.* (2014) The effects of tamoxifen on learning, memory and brain tissues oxidative damage in ovariectomized and naïve female rats. *Advanced Biomedical Research* vol. 3, p. 219. [https://doi.org/10.4103/2277-9175.143297]
ZHANG, J.J., JACOB, T.J. (1996) Volume regulation in the bovine lens and cataract. The involvement of chloride channels. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 97, n° 4, p. 971-978. [https://doi.org/10.1172/JCI118521]
ZHANG, J.J., JACOB, T.J., VALVERDE, M.A., *et al.* (1994) Tamoxifen blocks chloride channels. A possible mechanism for cataract formation. *The Journal of Clinical Investigation* vol. 94, n° 4, p. 1690-1697. [https://doi.org/10.1172/JCI117514]
ZHANG, Y., JIN, Y., BEHR, M.J., *et al.* (2005) Behavioral and histological neuroprotection by tamoxifen after reversible focal cerebral ischemia. *Experimental Neurology* vol. 196, n° 1, p. 41-46. [https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.07.002]
ZHANG, Y., MILATOVIC, D., ASCHNER, M., *et al.* (2007) Neuroprotection by tamoxifen in focal cerebral ischemia is not mediated by an agonist action at estrogen receptors but is associated with antioxidant activity. *Experimental Neurology* vol. 204, n° 2, p. 819-827. [https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.01.015]
ZHANG, Y., SCHNABEL, C.A., SCHROEDER, B.E., *et al.* (2013) Breast cancer index identifies early-stage estrogen receptor-positive breast cancer patients at risk for early- and late-distant recurrence. *Clinical Cancer Research* vol. 19, n° 15, p. 4196-4205. [https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0804]

ZHAO, L., WANG, B., GOMEZ, N.A., *et al.* (2020) Even a Low Dose of Tamoxifen Profoundly Induces Adipose Tissue Browning in Female Mice. *International journal of obesity (2005)* vol. 44, n° 1, p. 226-234. [https://doi.org/10.1038/s41366-019-0330-3]

ZHENG, K., CHEN, M., XIANG, Y., *et al.* (2014) Inhibition of herpes simplex virus type 1 entry by chloride channel inhibitors tamoxifen and NPPB. *Biochemical and Biophysical Research Communications* vol. 446, n° 4, p. 990-996. [https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.03.050]

Annexe 1 – Programme d'habituation au tapis roulant

	Durée du palier (min)	Vitesse (cm/sec)	Temps écoulé (min)
J1	3	0	3
	3	10	6
	3	16	9
	3	22	12
J2	3	0	3
	3	10	6
	3	16	9
	3	22	12
J3	1	0	1
	3	10	4
	3	16	7
	3	22	10
	3	28	13
J4	1	0	1
	3	10	4
	2	16	6
	2	22	8
	2	28	10
	1	33	11

Annexe 2 – Programme d’évaluation de la vitesse maximale aérobie sur tapis roulant

Vitesse (cm/sec)	Durée du palier (min)	Temps écoulé (min)
0	3	0
11,3	1	1
14,2	1	2
17,0	1	3
19,8	1	4
22,7	2	6
25,3	2	8
28,2	2	10
31,2	1’30	11’30
34,2	1’30	13
37,2	1’30	14’30
40,0	1	15’30
42,8	1	16’30
45,7	1	17’30
48,5	1	18’30
51,5	1	19’30
54,5	1	20’30
57,5	1	21’30
60,3	1	22’30
63,0	1	23’30
65,8	1	24’30
68,7	1	25’30
71,4	1	26’30
74,2	1	27’30
77,0	1	28’30
79,8	1	29’30
82,6	1	30’30
85,3	1	31’30
88,1	1	32’30
90,9	1	33’30
93,7	1	34’30
96,5	1	35’30
99,2	1	36’30
102,0	1	37’30

INTÉRÊT THÉRAPEUTIQUE DU TAMOXIFÈNE DANS LES MYOPATHIES CONGÉNITALES

AUTEUR : Bérengère DEFFRENNES

RÉSUMÉ :

Il a été prouvé depuis longtemps l'intérêt thérapeutique du tamoxifène en médecine humaine, notamment dans le traitement du cancer du sein mais également plus récemment pour certaines myopathies.

Ce manuscrit s'articule donc en deux parties. Premièrement, une partie bibliographique fait le point sur les connaissances actuelles autour de l'intérêt thérapeutique du tamoxifène en médecine humaine mais également en expérimentation animale pour induire l'inactivation conditionnelle des gènes étudiés. Il apparaît que cette molécule présente, entre autres, des capacités à corriger certains phénotypes myopathiques, notamment celui de la myopathie myotubulaire liée à l'X, et à augmenter la tolérance au glucose dans certaines lignées de souris. Deuxièmement, en raison des similitudes entre la myopathie congénitale liée à *Hacd1* et la myopathie myotubulaire liée à l'X, une deuxième partie expérimentale présente les résultats d'une série d'expériences ayant pour but de caractériser l'effet du tamoxifène sur un modèle murin *Hacd1*-KO, en vue d'un éventuel essai clinique en médecine humaine.

En l'état actuel de l'étude, le tamoxifène ne semble pas améliorer le phénotype des individus *Hacd1*-KO. Il est possible que le nombre de souris étudiées soit encore trop faible, que la dose de tamoxifène soit trop élevée ou encore que les quantités de tamoxifène dans les sérums soient trop faibles.
Le tamoxifène semble même délétère concernant la respiration mitochondriale (défaut de couplage mitochondrial chez les mâles) et provoque des atteintes osseuses (scoliose et cyphose) dues à une croissance osseuse exagérée. Même si cette affection s'avérait spécifique de la souris, il faudra probablement rester prudent avant toute application du tamoxifène chez l'enfant.

Des expérimentations sont toujours en cours afin d'affiner l'effet du tamoxifène dans la myopathie liée à *Hacd1* : quantification du tamoxifène dans le sérum et les triceps, caractérisation de la dysfonction mitochondriale par des tests enzymatiques (COX, citrate synthase), analyses lipidomiques sur mitochondries isolées, caractérisation histologique du niveau d'activité oxydative des muscles (SDH, NADH-TR, COX…) et reconstruction tomodensitométrique du squelette des souris avec cyphose.

MOTS CLÉS :
TAMOXIFÈNE / MYOPATHIE CONGÉNITALE LIÉE À *HACD1* / MYOPATHIE MYOTUBULAIRE LIÉE À L'X / MODÈLE MURIN / TOLÉRANCE AU GLUCOSE / RESPIRATION MITOCHONDRIALE / CYPHOSE

JURY :
Président du jury : Pr TIRET Laurent
Directrice de thèse : Pr PILOT-STORCK Fanny
Premier examinateur : Pr TISSIER Renaud

THERAPEUTIC VALUE OF TAMOXIFÈNE IN CONGENITAL MYOPATHIES

AUTHOR: Bérengère DEFFRENNES

SUMMARY:

The therapeutic value of tamoxifène in human medicine has long been demonstrated, particularly in the treatment of breast cancer but also, more recently, to treat some myopathies.

This manuscript is therefore divided into two parts. Firstly, a bibliographical part reviews our current knowledge concerning the therapeutic interest of tamoxifène in human medicine but also in animal experiments to induce conditional inactivation of studied genes. It appears that this molecule has, among other things, the capacity to mitigate certain myopathic phenotypes, such as X-linked myotubular myopathy, and to increase glucose tolerance in certain mouse lines. Secondly, because of the similarities between *Hacd1*-related congenital myopathy and X-linked myotubular myopathy, a second experimental section presents the results of a series of experiments aimed at characterising the effect of tamoxifène on a *Hacd1*-KO mouse model, in order to reach a clinical trial in human medicine.

At this moment, the study reports that tamoxifène does not appear to rescue the phenotype of *Hacd1*-KO individuals. It is possible that the number of mice studied is still too low, the dose of tamoxifène too high or the amounts of tamoxifène in the sera too low.
Tamoxifène even seems to be deleterious with regard to mitochondrial respiration (coupling defect in males) and bone damage (scoliosis and kyphosis) which is linked with excessive bone growth. Even if this condition is specific to the mouse, we should be careful before any application of tamoxifène in children.

Experiments are still in progress to precise the effect of tamoxifène in *Hacd1*-related myopathy: quantification of tamoxifène in serum and triceps, characterisation of mitochondrial dysfunction with enzymatic tests (COX, citrate synthase), lipidomic analyses on isolated mitochondria, histological characterisation of muscle for the level of oxidative activity (SDH, NADH-TR, COX...) and CT reconstruction of the skeleton of mice with kyphosis.

KEYWORDS:
TAMOXIFEN / *HACD1*-RELATED CONGENITAL MYOPATHY / X-LINKED MYOTUBULAR MYOPATHY / MOUSE MODEL / GLUCOSE TOLERANCE / MITOCHONDRIAL RESPIRATION / KYPHOSIS

JURY:
President of the jury: Pr TIRET Laurent
Thesis Director: Pr PILOT-STORCK Fanny
First reviewer: Pr TISSIER Renaud