

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAÏD
FACULTÉ DE MÉDECINE
DR. B. BENZERDJEB - TLEMÇEN



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

جامعة أبو بكر بلقايد
كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME :

**Dosage de la Thyrocalcitonine sérique : Comparaison de deux trousse
immuno-radiométriques, CISBIO International VS BECKMAN-
COULTER**

Présenté par :

**BENHADJI SERRADJ Loubna
BENYELLES Nahida**

Soutenu le : 02/07/2017

Le Jury

Président :

Dr. N.ABOUREDJAL

Maitre assistante en toxicologie

Membres :

Dr. FZ.KHERBOUCHE

Assistante en médecine nucléaire

Dr. A.MEDJAHDI

Maitre assistant en médecine nucléaire

Encadreur

Dr. S.M.MEGHELLI

Maitre assistant en biophysique

Co-encadreur:

Dr. NEH.KHELIL

Maitre assistante en endocrinologie

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à :

A notre encadreur, Dr.MEGHELLI,
Maitre assistant en biophysique

pour tout le temps que vous nous aviez consacré, vos directives précieuses, pour vos conseils, votre aide et votre dévouement infini à vos étudiants.

A notre co-encadreur, Dr.KHELIL,
Maitre assistante en endocrinologie,

Nous vous sommes particulièrement reconnaissantes, pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail et pour votre aide qui a permis son aboutissement.

Au Pr.BERBER,
Chef de service de médecine nucléaire
Et
doyen de la faculté de médecine

pour l'hospitalité et la liberté que vous nous avez accordé dans votre service pour mener à bien ce travail.

A notre présidente de jury, Dr.ABOUREDJAL,
Maitre assistante en toxicologie
Et
Chef de département de pharmacie de Tlemcen

Pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury, ainsi que pour tous vos efforts au sein du département.

Au Dr.KHERBOUCHE,
Maitre assistante en médecine nucléaire

Pour avoir accepté de participer à ce jury,
Veuillez trouver en ce travail le témoignage de notre profonde gratitude.

Au Dr.MEDJAHDI,
Maitre assistant en biophysique

Pour avoir accepté de participer à ce jury et bien vouloir *examiner ce travail.* .

Nos remerciements s'adressent aussi :

A Mr.BORSALI,
Biostatisticien

Pour l'aide précieuse que vous nous avez apporté dans l'analyse de nos résultats.

Au Dr.ILES
maitre assistante en microbiologie

Pour votre soutien, vos encouragements et votre disponibilité

Au Dr.SEDJELMACI
maitre assistante en toxicologie

pour vos encouragements et vos precieux conseils

A Mme.MALTI ZAKIA

Cadre de santé

Nous n'aurions jamais accompli ce travail sans vous. Merci beaucoup

A Mr.KOUDJATI

Résponsables des activités paramédicale du service de medecine nucléaire

Pour son aide précieuse et son hospitalité au sein du service.

Et enfin, a l'ensemble du personnel du laboratoire de médecine nucléaire,

aussi bien pour l'aide qu'ils nous ont apporté mais aussi pour le dynamisme et la bonne humeur dont ils ont toujours fait preuve en nous rendant les conditions de travail motivantes et agréables.

DEDICACES

Au nom de dieu le tout puissant qui m'a donné la force, la patience et le courage de venir a bout de mes études de pharmacie.

je dédie tout d'abord ce travail a mes parents qui ont réussi a m'inculquer la valeur des études, qui m'ont soutenue, encouragé et poussé toujours loin dans la persévérance. Sans vous je n'aurais été la.

A Chakib, merci pour tes conseils « constructifs » et ton interet a mes études je te souhaite beaucoup de résussite dans ta vie.

A Ryad, ton soutient, ton aide et tes encouragements ont faits que je réussisse cette longue année. Merci pour tout.

A mes grands-parents, c'est grâce à vos invocations que j'ai la force d'affronter le monde merci.

A ma meilleure amie Amira, pour tout ce que nous avons traversé et pour tout ce qu'on traversera ensembles.

Et enfin à mon binome Loubna, cette longue année nous a unis

D'avantage, merci pour ton soutient dans les moments les plus difficiles.

BENYELLES NAHIDA

Dédicaces

« LOUANGE À ALLAH »

le tout puissant ,le miséricordieux, le compatissant qui nous a éclairé le chemin du savoir et nous a permis de mener à bien et d'achever ce modeste travail ».

Je dédie ce travail avec beaucoup de fierté et de gratitude

« A MES CHERS PARENTS »

qui ont toujours soutenu, encouragé et aiguillé à concrétiser mes ambitions dans la voie que je me suis tracée, qui ont tout fait pour ma réussite de part leur amour, leur confiance, tous les sacrifices consentis et leur précieux conseils, pour toute leur assistance et présence dans ma vie

« A MA TRÈS CHÈRE GRAND-MÈRE »

qui m'a toujours accompagné par ses prières et ses doua'a ,Que DIEU te garde pour moi

« A MON CHER FRÈRE NABIL »

j'ai une énorme chance de t'avoir dans ma vie ,merci d'être mon frère ,mon confident ,mon ami et mon refuge.

« A MON ADORABLE PETITE SŒUR INES »

ton innocence ,ta gaieté et ta joie de vivre sont ma source de bonheur

« A MON FUTUR MARI HAKIM BENMANSOUR »

ton attention ,ton dévouement ,ton soutien et ta compréhension m'ont donné la force et insufflé le courage de ne jamais baisser les bras. Merci d'être rentré dans ma vie !

« A MES CHERS BEAUX PARENTS »

Merci pour tout le bonheur que vous avez apporté à ma vie

« A MA TRÈS CHÈRE BELLE SŒUR INES »

*;pour ta gentillesse et ta douceur ,
tu es la sœur que tout le monde souhaiterait avoir*

« A MON CHER BEAU-FRÈRE LLYES »

merci pour tes encouragements

« A MA MEILLEURE AMIE ET MON BINOME NAHIDA »

merci pour ta présence et ton soutien dans les moments les plus difficiles de ma vie

« A TOUTE MA FAMILLE ,ONCLES ,TANTES COUSINS ET COUSINES »

merci pour votre affection.

« A TOUT CEUX QUI ONT PARTICIPÉ DE LOIN OU DE PRÈS À MON SUCCÈS »

merci !

Loubna BENHADJI SERRADJ

ملخص

المشكلة: كالسيتونين هو علامة مصل مفيدة لتشخيص ومتابعة سرطان الغدة الدرقية ومع ذلك قيم الكالسيتونين التي تقدمها مقاييسات مختلفة قد تكون متعارضة، مما أدى إلى صعوبات في تفسير النتائج. في هذه الدراسة، قارنا مجموعتين من المقاييسات المناعية للأشعة المقطعية المواد والطريقة: تم قياس الكالسيتونين ل 66 مريضا باستخدام اثنين من أطقم راديومونواساي: سيسبيو الدولي إيرما وهو المعيار المثالي مع بيكمان-كولتر
تم إجراء مقارنة بين القيم المتوسطة، واختبار الارتباط، ومخطط بلاند-ألتمان، واختبار بابلوك للخطي، ومنحنى روك النتائج: على الرغم من وجود علاقة جيدة بين مجموعات 02، فإن مشكلة تشتت قيم الكالسيتونين متوسطة وعالية التي لوحظت على مجموعة بيكمان-كولتر وعلى الرغم من انخفاض تكلفتها مقارنة مع سيس بيو إنترناشونال إيرما، لا يمكن أن تشكل بديلا جيدا للمجموعة المرجعية الكلمات المفتاحية: الكالسيتونين ، راديومونواساي، مقارنة طريقتن

Résumé

PROBLEMATIQUE : La CT est un marqueur sérique très utile pour le diagnostic et le suivi du CMT.

Toutefois ;les valeurs de CT fournies par différentes trousse de dosage peuvent être discordantes, entraînant des difficultés d'interprétation des résultats. Dans cette étude, nous avons comparé deux trousse radio-immunometrique pour le dosage de la CT.

MATERIEL ET METHODE : le taux de CT a été mesuré chez 66 patients au moyen de deux trousse radio-immunometriques : CISBIO international IRMA qui est la référence « gold standard » et BECKMAN-COULTER.

Une comparaison des moyennes, un test de corrélation, un diagramme de Bland-Altman, un test de linéarité Passing Bablok ainsi qu'une courbe R.O.C ont été effectués.

RESULTATS : pas de différences entre les moyennes, l'existence d'une corrélation significative entre les résultats, seuil de positivité optimal pour BECKMAN-COULTER de 13,69 pg/mL, cependant il y a une discordance dans les valeurs hautes de CT.

CONCLUSION : Malgré la bonne corrélation retrouvée entre les 02 trousse, le problème de la dispersion des valeurs moyennes et hautes de CT, constatée sur la trousse BECKMAN-COULTER et en dépit de son cout sensiblement réduit a celui de CISBIO International IRMA.elle ne peut constituer une bonne alternative a la trousse de référence dans le cadre de notre étude.

Mots clés : calcitonine, dosage radio-immunometriques, comparaison de methodes

Abstact

PROBLEM: CT is a useful serum marker for the diagnosis and follow-up of CMT. However. The values of CT provided by different assays may be discordant, resulting in difficulties in interpreting the results.

In this study, we compared two radioimmunoassay kits for CT assay.

MATERIAL AND METHOD: CT was measured in 66 patients using two radioimmunoassay kits: CISBIO International IRMA which is the gold standard and BECKMAN-COULTER.

A comparison of the average values, a correlation test, a Bland-Altman diagram, a Passing Bablok linearity test and an R.O.C curve were performed.

RESULTS: Despite the good correlation found between the 02 kits, the problem of the dispersion in the average and high values of CT, observed on the BECKMAN-COULTER kit and despite its reduced cost compared to CISBIO International IRMA, can not constitute a Good alternative to the reference kit.

Keywords: calcitonin, radioimmunometric assay, comparison of methods

TABLE DES MATIERES

Liste des abbreviations.....	IX
Liste des tableaux.....	XIII
Liste des figures.....	XIV
I. Introduction	1
II. Partie théorique	3
II.1. La glande thyroïde.....	3
II.1.1. Introduction	3
II.1.2. Embryologie thyroïdienne	3
II.1.3. Anatomie thyroïdienne	4
II.1.3.a. Structure et situation	4
II.1.3.a. Vascularisation	4
II.1.3.a.1. Vascularisation artérielle.....	4
II.1.3.a.2. Vascularisation veineuse	4
II.1.3.a.3. Drainage lymphatique	5
II.1.4. Histologie thyroïdienne	6
II.1.5. Physiologie thyroïdienne.....	8
II.1.5.a. Métabolisme de l'iode.....	8
II.1.5.a.1. Propriétés générales	8
II.1.5.a.2. Absorption et transport.....	9
II.1.5.a.3. Elimination.....	10
II.1.5.b. Les hormones thyroïdiennes	10
II.1.5.b.1. Structure.....	10
II.1.5.b.2. Biosynthèse	10
II.1.5.b.2.1. Captation active de l'iode par la thyroïde.....	10
II.1.5.b.2.2. Oxydation de l'iodure et couplage	11
II.1.5.b.2.3. La sécrétion des hormones thyroïdiennes	11

II.1.5.b.2.4.	Transport dans le sang	11
II.1.5.b.3.	Mode d'action des hormones thyroïdiennes.....	12
II.1.5.b.4.	Rôle physiologique	12
II.1.5.b.4.1.	Effets sur le métabolisme.....	12
II.1.5.b.4.2.	Effets sur les systèmes et les tissus.....	13
II.1.5.b.5.	Régulation de la biosynthèse	14
II.1.5.b.5.1.	La thyroïdostimuline ou thyrotropine TSH.....	14
II.1.5.b.5.2.	Control hypothalamo-hypophysaire	15
II.1.5.b.5.3.	Autorégulation thyroïdienne	16
II.2.	Le cancer médullaire de la thyroïde	17
II.2.1.	Définition et épidémiologie du cancer médullaire de la thyroïde	17
II.2.2.	Aspects cliniques.....	17
II.2.2.a.	Circonstances de découverte	17
II.2.2.a.1.	Cancer médullaire de la thyroïde à priori sporadique	17
II.2.2.a.2.	Cancer médullaire de la thyroïde familial : NEM2A NEM2B CMTF	17
II.2.3.	Marqueurs tumoraux du cancer médullaire	18
II.2.3.a.	Antigène carcino-embryonnaire (ACE).....	18
II.2.3.b.	Autre peptides.....	18
II.2.3.b.1.	La chromogranine A (CGA).....	18
II.2.3.b.2.	La neuron specific enolase NSE.....	19
II.2.3.b.3.	La procalcitonine	19
II.2.3.b.4.	La somatostatine	19
II.2.4.	Génétique	20
II.2.4.a.	Gène RET	20
II.2.4.b.	Mutation du gène RET	21
II.2.4.b.1.	Mutations du gène RET dans NEM2.....	21
II.2.4.b.2.	Enquête génétique et dépistage familial	22
II.2.4.b.3.	Mutations somatiques du RET	22

II.2.5.	Aspects anatomo-pathologiques.....	23
II.2.5.a.	Aspects cytologiques du cancer médullaire de la thyroïde.....	23
II.2.5.b.	Aspects histologiques du cancer médullaire de la thyroïde.....	23
II.2.5.c.	Hyperplasie des cellules C	24
II.2.5.d.	Immuno-histochimie	25
II.2.5.e.	Diagnostic différentiel	25
II.2.6.	Aspects thérapeutiques	26
II.2.6.a.	Chirurgie	26
II.2.6.a.1.	Chirurgie du cancer médullaire de la thyroïde avéré (cas index).....	26
II.2.6.a.2.	Chirurgie de récurrence ou maladie résiduelle.....	26
II.2.6.a.3.	Chirurgie prophylactique en cas de cancer médullaire de la thyroïde familial	26
II.2.6.a.4.	Traitement des endocrinopathies associées.....	28
II.2.6.a.4.1.	Traitement du phéochromocytome.....	28
II.2.6.a.4.2.	Traitement de l'hyperparathyroïdie.....	28
II.2.6.b.	Autres traitements du cancer médullaire de la thyroïde	28
II.2.6.b.1.	Radiothérapie.....	28
II.2.6.b.2.	Chimiothérapie.....	28
II.2.6.b.3.	Thérapie ciblée.....	28
II.2.7.	Surveillance post-opératoire.....	29
II.3.	La calcitonine	31
II.3.1.	Introduction	31
II.3.2.	Origine de la calcitonine	31
II.3.3.	Structure de la calcitonine.....	31
II.3.4.	Génétique de la calcitonine.....	32
II.3.4.a.	Gène de la calcitonine	32
II.3.4.b.	Peptides apparentés a la calcitonine (CGRP)	34
II.3.4.c.	Récepteur de la calcitonine	35
II.3.5.	Biosynthèse de la calcitonine	35

II.3.6.	Sécrétion de la calcitonine	36
II.3.7.	Régulation de la calcitonine.....	36
II.3.7.a.	Effet de la parathormone et de la 1-25 vitamine D sur la CT	37
II.3.7.b.	Effets du calcium	37
II.3.7.c.	Effets des glucocorticoïdes.....	38
II.3.7.d.	Autres facteurs de régulation.....	38
II.3.8.	Rôle physiologique de la calcitonine	38
II.3.8.a.	Action sur le métabolisme phosphocalcique	38
II.3.8.b.	Action sur le métabolisme osseux (ostéoclastes)	39
II.3.8.c.	Actions sur le système nerveux central.....	39
II.3.8.d.	Action sur le système reproducteur	39
II.3.8.e.	Action sur le métabolisme hydro-électrolytique.....	39
II.3.8.f.	Action sur le rein	39
II.3.8.g.	Action sur le système respiratoire.....	40
II.3.8.h.	Action sur l'appareil gastro-intestinal	40
II.3.9.	Dosage de la calcitonine	40
II.3.9.a.	Recommandations pré-analytiques	40
II.3.9.a.1.	Prélèvement	40
II.3.9.a.2.	Conservation et transport	41
II.3.9.b.	Dosage	41
II.3.9.b.1.	Méthodes recommandées	41
II.3.9.b.2.	Autres méthodes : chimiluminescence.....	42
II.3.9.c.	Artefacts potentiels de dosage.....	42
II.3.9.c.1.	Les anti-corps hétérophiles	43
II.3.9.c.2.	L'effet crochet.....	43
II.3.9.c.3.	Macro-calcitonine.....	44
II.3.9.d.	Tests de stimulation	44
II.3.9.d.1.	Test a la pentagastrine	44

II.3.9.d.1.1.	Déroulement du test.....	45
II.3.9.d.1.2.	Effets indésirables	45
II.3.9.d.1.3.	Interprétation.....	45
II.3.9.d.2.	Test au gluconate de calcium.....	45
II.3.9.d.2.1.	Déroulement du test.....	45
II.3.9.d.2.2.	Effets indésirables du test.....	46
II.3.9.d.2.3.	Interprétation.....	46
II.3.9.e.	Dosage de la calcitonine dans le liquide de rinçage des aiguilles de ponctions ...	46
II.3.9.e.1.	Déroulement de la ponction	46
II.3.9.f.	Association du dosage de la calcitonine a d'autres marqueurs	47
II.3.10.	Indications du dosage de la calcitonine	47
II.3.10.a.	Dépistage du CMT	47
II.3.10.b.	Suivi des CMT opérés	47
II.3.10.c.	Dépistage en maladie thyroïdienne nodulaire	48
II.3.11.	Valeurs de référence et interprétation des résultats	48
III.	Partie pratique.....	50
III.1.	Matériels et méthodes.....	50
III.1.1.	Type d'étude	50
III.1.2.	Population d'étude	50
III.1.3.	Critères d'inclusion	50
III.1.4.	Critères de non inclusion	50
III.1.5.	Ethique	50
III.1.6.	Recrutement des patients.....	50
III.1.7.	Recueil des données.....	51
III.1.8.	Nombre de patients	51
III.1.9.	Prélèvement et conservation des échantillons.....	51
III.1.10.	Dosage de la Calcitonine	51

III.1.11.	Critères d'exclusion.....	52
III.1.12.	Seuil de positivité.....	52
III.1.13.	Caractéristiques des trousse de dosage.....	52
III.1.14.	Contrôle de qualité des dosages	54
III.1.15.	Analyse statistique des données	54
III.2.	Résultats	55
III.2.1.	Description de la population d'étude.....	55
III.2.1.a.	Le sexe	55
III.2.1.b.	L'âge.....	55
III.2.1.c.	Moyennes des valeurs de CT en fonction du sexe	56
III.2.1.d.	Répartition des échantillons en fonction du seuil de CT (10pg/mL)	57
III.2.2.	Statistique descriptive	58
III.2.3.	Test d'imprécision (répétabilité).....	59
III.2.4.	Test de corrélation.....	60
III.2.4.a.	Test paramétrique de Pearson (N = 66)	60
III.2.5.	Comparaison des différences de moyennes.....	61
III.2.5.a.	Diagramme de Bland-Altman	61
III.2.5.b.	Test échantillons appariés (différences de moyennes).....	62
III.2.6.	Distribution des valeurs de CT	63
III.2.7.	Test de linéarité : Droite de régression de Passing-Bablok	64
III.2.7.a.	Test de linéarité / (Test bilatéral)	64
III.2.8.	Courbe R.O.C	65
III.3.	Discussion	67
III.4.	Conclusion/ Perspectives.....	70
IV.	Références bibliographiques	71
V.	Annexes.....	88
V.1.	Formulaire de recrutement.....	88

Liste des abbreviations

Ac anti-hTg: Anticorps anti-thyroglobuline

Ac anti-TPO: Anticorps anti-thyroperoxydase

ACE : antigène carcino-embryonnaire

ADN : acide desoxyribonucleique

ADNc : ADN complémentaire

AMY : récepteurs amylines multimères

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ATA: American thyroid association

ATP : adénosine triphosphate

bCT : calcitonine en base

CAT : cancer anaplasique de la thyroïde

CFT: cancer folliculaire de la thyroïde

CGA: chromogranine A

CGRP (*calcitonin gene-related peptide*)

CGRP: calcitonine gene related peptide

CMT : cancer médullaire de la thyroïde

CMTF : cancer médullaire de la thyroïde familial

CPT : cancer papillaire de la thyroïde

CT: calcitonine

CTR : récepteurs de haute affinité pour la CT

CUB: corps ultimo-branchiaux

DIT: di-iodotyrosine

ECL: electro-chimi-luminescence

EGFR: epidermic growth factor receptor

ELSA : enzyme-linked immunosorbent assay

ETC: ébauche thyroïdienne centrale

FDA: food and drug administration

FNA: aspiration a l'aiguille fine

FT3: tri-iodothyronine libre

FT4: thyroxine libre

HCC : hyperplasie des cellules C

hCT : calcitonine humaine

HTA : hypertention artérielle

hTg : thyroglobuline

IHC : immuno-histochimie

IMA : immunometric assay

IMC : indice de masse corporelle

IRMA: immune-radiometric assay

IV: intra-veineuse

Kda: kilo Dalton

LDL: low density lipoproteine

MIT: mono-iodotyrosine

NEM : néoplasie endocrinienne multiple

NIS : symporteur Na⁺/I⁻

NSE : neuron specific enolase

PCR : polymerase chain reaction

PCT : procalcitonine

pCTR : CTR porcin

PDS : Pendred syndrom Gene

PG : pentagastrine

PGL : paragangliomes

PPV : valeur prédictive positive

ProCT : procalcitonine

PTH: parathormone

RAMP : protéines modifcatrices de l'activité des récepteurs

RET: rearranged during transfection

RIA: radio immuno assay

SDH: succinate deshydrogénase

Se: sensibilité

SIRF: somatostatin release-inhibiting factor

Sp: spécificité

T3: tri-iodothyronine

T4: thyroxine

TBG: thyroxin-binding globulin

TK: tyrosine kinase

TPA: tripropylamine

TPO: thyroperoxydase

TRH: thyroolibèrine

TSH: thyroestimuline hypophysaire

TTF1: thyroid transcroption factor -1

VEGFR: vascular endothelial growth factor receptor.

Liste des tableaux

Tableau I : dose journalière d'iode recommandée par l'OMS et l'UNICEF ^[20]	9
Tableau II: présentation clinique des néoplasies endocriniennes multiples ^{[44][57][58]}	18
Tableau III : produits de sécrétion du CMT ^[57]	20
Tableau IV: Recommandations pour la prise en charge des patients atteints de mutations RET, selon le niveau de risque ATA ^[79]	27
Tableau V : Facteurs pouvant influencer le taux de CT sérique ^{[131] [140] [158]}	49
Tableau VI: moyenne d'âge Hommes-Femmes de la population étudiée	55
Tableau VII: Moyennes des valeurs de CT en fonction du sexe	56
Tableau VIII: statistique descriptive de l'échantillon	58
Tableau IX: Coefficient de variation intra-essai	59
Tableau X: test paramétrique de Pearson	60
Tableau XI: Résumé Récapitulatif du traitement des observations	65

Liste des figures

Figure 1 : schéma anatomique de la glande thyroïde ^[11]	5
Figure 2 : drainage lymphatique de la glande thyroïde ^[12]	6
Figure 3: follicule thyroïdien (coupe histologique) ^[14]	7
Figure 4 : structure d'un follicule thyroïdien ^[15]	7
Figure 5: coupe histologique du follicule thyroïdien au repos et en activité ^[15]	8
Figure 6: structure chimique des hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs ^[21]	10
Figure 7: axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien : régulation de la sécrétion des hormones ^[4]	15
Figure 8: hormones thyroïdiennes et apport iodé ^[43]	16
Figure 9: Structure du gène RET, localisation des mutations, et relation génotype-phénotype ^[67]	21
Figure 10: cellules de CMT avec coloration à l'hématéine-éosine-safran montrant le noyau excentré et la chromatine finement mottée ^[73]	23
Figure 11 : coupe histologique d'un CMT colorée à l'hématoxyline éosine rouge-Congo ^[44]	24
Figure 12: coupe histologique montrant les dépôts amyloïdes caractéristiques ^[55]	24
Figure 13: Angiogénèse tumorale ^[82]	29
Figure 14: structure primaire (a, b) et secondaire (c) de la CT ^[93]	32
Figure 15 : voies de maturation de la CT et CGRP ^[94]	33
Figure 16 : famille des Gène de la calcitonine ^[97]	34
Figure 17: rôle de la PTH dans la régulation de la CT ^[114]	37
Figure 18 : rôle du calcium dans la régulation de la CT ^[115]	38
Figure 19: action de la CT sur le métabolisme phospho-calcique ^[121]	39
Figure 20: principe du test immunologique par chimiluminescence selon la méthode sandwich en une seule étape ^[138]	42
Figure 21: mécanisme d'interférences des anticorps hétérophiles ^[140]	43
Figure 22: histogramme représentatif de la répartition de la population selon le sexe	55
Figure 23: histogrammes des moyennes de CT obtenues par les deux trouses chez les hommes et les femmes	56
Figure 24: répartition des patients en fonction du seuil de référence (10 pg/mL)	57
Figure 25 : diagramme de Bland-Altman	61
Figure 26: distribution de 95% des concentrations par les deux trouses	63

Figure 27: Droite de régression de Passing-Bablok	64
Figure 28: courbe R.O.C	66

I. Introduction

Les carcinomes thyroïdiens ne représentent que 3-4% de toutes les tumeurs humaines ^[167], Néanmoins, c'est la néoplasie endocrine la plus fréquente et est la tumeur humaine avec la plus forte augmentation d'incidence au cours des deux dernières décennies ^[66]. Il peut être catégorisé en différents histotypes: le carcinome papillaire de la thyroïde (CPT), le carcinome folliculaire de la thyroïde (CFT) et le carcinome anaplasique de la thyroïde (CAT), tous dérivés de cellules folliculaires et le carcinome médullaire de la thyroïde (CMT), qui provient des cellules C parafolliculaires^[167].

Le CMT représente 3 – 4 % de ces cancers ^[44], il a été décrit pour la première fois par Hazard et Crile en 1959 ^[168]. En 1966, Williams ^[169] a démontré que le CMT provient des cellules C parafolliculaires qui dérivent de la crête neurale de la glande thyroïde. Et en 1968 Tashjian et ses collègues ont découvert que ces cellules C sécrètent de la calcitonine dont les taux sont alors particulièrement exacerbés lors d'un CMT ^[170], et ont montré que le calcium administré par voie intraveineuse, ou la pentagastrine, ou les deux ensemble, sont de puissants sécrétagogues de CT ^{[171][172]}.

La CT est une protéine constituée de 32 acides aminés. Elle est le chef de file d'une grande famille peptidique : CT gene-related peptides I et II (CGRP-I et II), adrénomédulline, amyline. Sa sécrétion est régulée par les niveaux sériques de calcium, et elle est métabolisée dans le foie et le rein. Elle a une action hypocalcémiante et hypophosphatémiante. Elle inhibe le catabolisme osseux en agissant sur l'activité des ostéoclastes qui possèdent un nombre élevé de récepteurs de haute affinité pour la CT. La présence de ces récepteurs a aussi été mise en évidence sur de nombreuses cellules ou tissus normaux, tels que le cerveau, le poumon et les cellules lymphoïdes ^[137]. Son rôle à leurs niveaux demeure un sujet intéressant pour les recherches ultérieures.

Afin de garantir une prise en charge optimale du CMT, les explorations biologiques doivent être précises, associées à une interprétation rigoureuse. Le dosage de la CT est aujourd'hui de plus en plus souvent réalisé pour dépister le CMT dans le cadre d'une pathologie nodulaire thyroïdienne ^[156], c'est un marqueur tumoral très sensible mais sa spécificité n'est pas absolue. En effet, l'hypercalcitoninémie peut également être reliée à d'autres pathologies, comme l'insuffisance rénale, les tumeurs endocrines autres que le CMT et l'hyperplasie des cellules C. Cette mise au point vise à mieux connaître les difficultés d'interprétation d'un taux élevé de CT et à aider à la prise en charge des patients. Et bien qu'il n'y ait pas de réel

consensus sur les valeurs et seuils recommandés, les données actuelles suggèrent que ses taux devraient être inférieurs à 10 pg/mL chez une personne saine^[173].

Ces dernières années, d'importants progrès ont été réalisés dans le domaine des dosages immunologiques pour mesurer la CT sérique et qui sont basés sur des réactions antigène-anticorps, chacune d'entre elles possédant des spécificités propres^{[140][174]}. Cependant des différences significatives entre ces dosages ont été rapportées en comparant les résultats obtenus avec ces différents tests^{[175] [176]} ceci est dus à des différences dans les anticorps de capture et de détection ainsi qu'aux les différents précurseurs de CT. Aussi, il a été constaté que les valeurs de CT étaient plus élevées chez les hommes que chez les femmes et, par conséquent, l'application d'une limite de diagnostique unique était remise en question^{[158] [177] [178]}. Une hypercalcitoninémie parasite due à une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans le sérum a également été rapportée^[179]. Le problème commun avec le test de la CT réside alors en la difficulté à interpréter ces variations inter-trousses^[140].

Le suivi des patients atteints de CMT au niveau du service de médecine nucléaire de Tlemcen se fait par la trousse CISBIO International IRMA, considérée comme la trousse de référence « Gold standard »^[70]. Considérant le rôle primordial du dosage de la CT comme marqueur tumoral dans cette pathologie, il nous a semblé pertinent de comparer cette dernière avec une nouvelle trousse utilisant le même principe de dosage à savoir radio-immunométrique du fournisseur Beckman-Coulter, tout en évaluant le rapport cout/efficacité de ces 02 trousses.

Objectif de l'étude

Comparaison de deux trousses radio-immunométriques pour le dosage de la thyrocalcitonine du fabricant BECKMAN-COULTER avec celle de CISBIO International prise comme « gold standard » avec évaluation du rapport cout/efficacité.

II. Partie théorique

II.1. La glande thyroïde

II.1.1. Introduction

La thyroïde est une glande endocrine située à la base du cou agissant sur le métabolisme de la plupart des cellules de l'organisme. Bien que les goitres soient décrits depuis des temps reculés, la fonction thyroïdienne est restée longtemps mystérieuse. Au XIX^e siècle, King, un chirurgien anglais, révèle que la thyroïdectomie détermine l'apparition d'un myxœdème. Depuis, les connaissances ne cessent d'évoluer avec l'isolement de la thyroxine (T4) en 1925 par Kendall puis de la tri-iodothyronine (T3) et de la thyrotropine (TSH). Le rôle primordial de l'iode comme substrat régulateur de la biosynthèse hormonale thyroïdienne est maintenant établi mais certains acteurs de la physiologie thyroïdienne restent imparfaitement identifiés^{[1][2]}.

II.1.2. Embryologie thyroïdienne

La glande thyroïde humaine est reconnaissable dans un embryon de quatre semaines. Chez l'homme la thyroïde est dérivée de la fusion d'une ébauche thyroïdienne centrale (ETC), impaire et médiane, et deux ébauches latérales : les corps ultimo-branchiaux (CUB). Le diverticule thyroïdien apparaît dès le 22^{ème} jour entre le premier et le deuxième arc branchial, son aspect initial est celui d'un épaissement médian de l'endoderme du plancher du pharynx primitif localisé entre les premières poches pharyngiennes. Au 26^{ème} jour, l'ETC s'invagine ventralement formant le diverticule thyroïdien qui augmente rapidement de volume et devient bilobé. Au 32^{ème} jour la partie antérieure de l'ETC s'est rétrécie en un tube épithélial, le canal thyroïdienne, qui connecte l'ébauche linguale et la portion caudale de l'ETC. Celle-ci est à présent subdivisée en deux lobes : droit et gauche, reliés par une partie amincie, l'ébauche de l'isthme thyroïdien. Au 33^{ème} jour le canal thyroïdienne commence à se fragmenter. Sa portion caudale persiste dans un cas sur deux sous la forme du lobe pyramidal de la thyroïde qui prolonge antérieurement l'isthme^[3].

La thyroïde atteint sa position sur la face ventrale de la trachée vers la 7^{ème} semaine. Au total l'ETC aura formé l'isthme, les lobes droit et gauche, le cas échéant, le lobe pyramidal de la thyroïde définitive. La thyroïde est fonctionnelle dès le troisième mois. Les cellules produisant la T4 et la T3 sont dérivées de l'endoderme. Les cellules produisant la calcitonine (CT) proviennent de la fusion de l'ébauche thyroïdienne avec les CUB préalablement infiltrés

par des cellules de la crête neurale. Les vaisseaux sanguins et la capsule de tissu conjonctif, quant à eux, proviennent du mésoderme splanchnique entourant le diverticule thyroïdien ^[4].

II.1.3. Anatomie thyroïdienne

II.1.3.a. Structure et situation

la glande thyroïde est un organe de faible volume pesant moins de 30 grammes, à l'état normal, ^[5], de couleur rose ou marron elle a la forme d'un papillon dont les deux ailes, les lobes, d'une longueur de 45-55mm et d'une largeur de 20-25mm, latéralement symétriques sont situés contre les anneaux de la trachée et reliés en avant par un isthme mesurant environ 2-2,5mm ^[6]. Elle se situe en regard de la 6^{ème} vertèbre cervicale jusqu'à la 1^{ère} thoracique. Elle est installée dans sa loge formée par la gaine viscérale du cou et entourée par le fascia prétrachéale. Les ligaments de Gruber sont au nombre de 3 : un médian qui a pour origine l'isthme et deux latéraux au niveau des lobes : ils fixent solidement la thyroïde à la trachée. La glande est maintenue dans un état de suspension par la trame fasciale ^[7]. Le rapport anatomique fondamental de la thyroïde est celui des nerfs laryngés récurrents qui se trouvent à la face postérieure de la glande ^[8] (Figure 1).

II.1.3.a. Vascularisation

La glande thyroïde richement vascularisée, reçoit de 80 à 120mL de sang par minute ^[9] ce flux sanguin est régulé essentiellement par les fibres adrénergiques et cholinergiques ayant respectivement pour origine le ganglion sympathique cervical et le nerf vague ^[10].

II.1.3.a.1. Vascularisation artérielle

Le sang artériel est distribué par l'artère thyroïdienne supérieure, branche de la carotide externe, et l'artère thyroïdienne inférieure, ayant pour origine l'artère sous-clavière ^[10].

II.1.3.a.2. Vascularisation veineuse

Le drainage veineux est assuré :

- Au pôle supérieur : par le pédicule supérieur vers la jugulaire interne.
- Aux parties latérales des lobes : par les branches directes vers la jugulaire interne.
- Au pôle inférieur et isthme : drainage vers le tronc innominé conjointement avec le thymus ^[5].

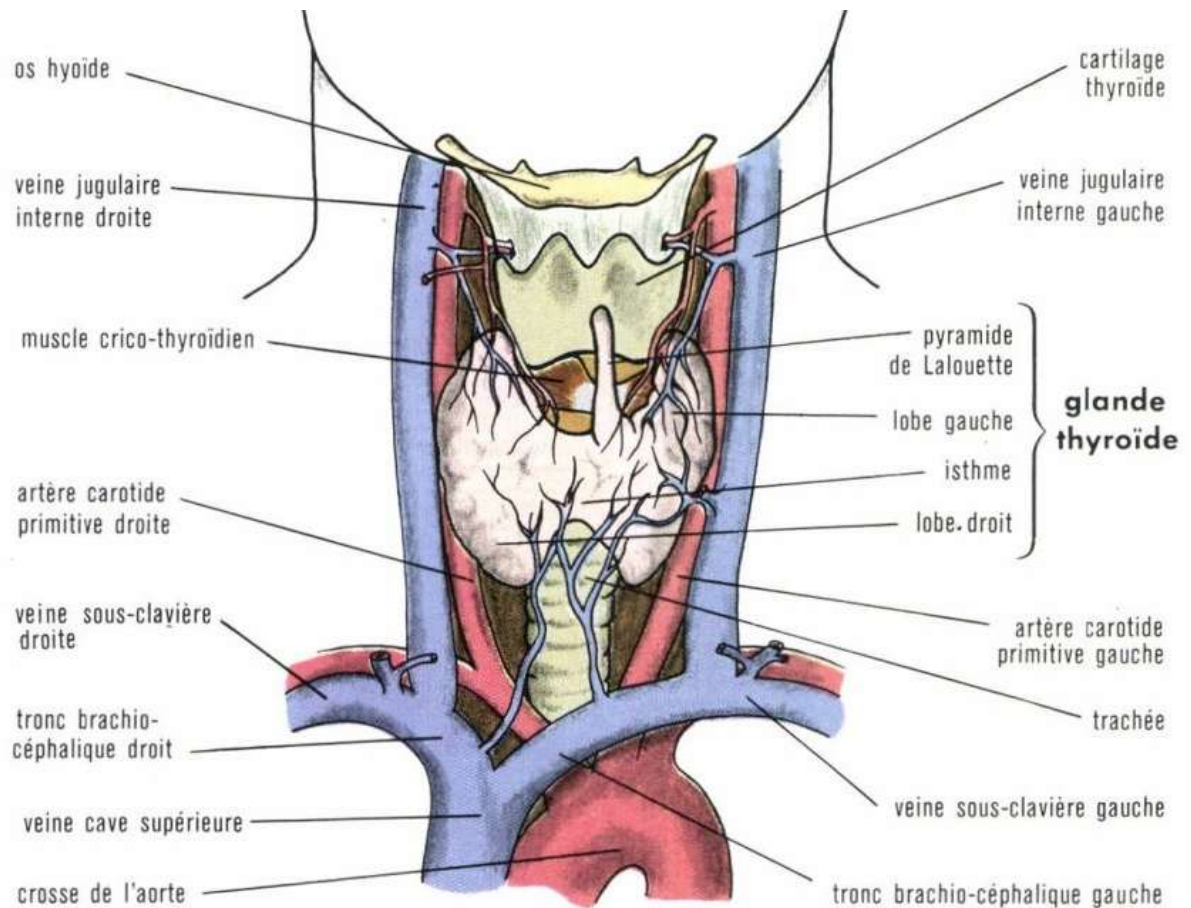


Figure 1 : schéma anatomique de la glande thyroïde^[11]

II.1.3.a.3. Drainage lymphatique

Les collecteurs lymphatiques thyroïdiens se drainent vers;

- En haut : les lymphonœuds préaryngés
- En bas : les lymphonœuds prétrachéaux
- Latéralement : les lymphonœuds cervicaux profonds^[8] (Figure 2).

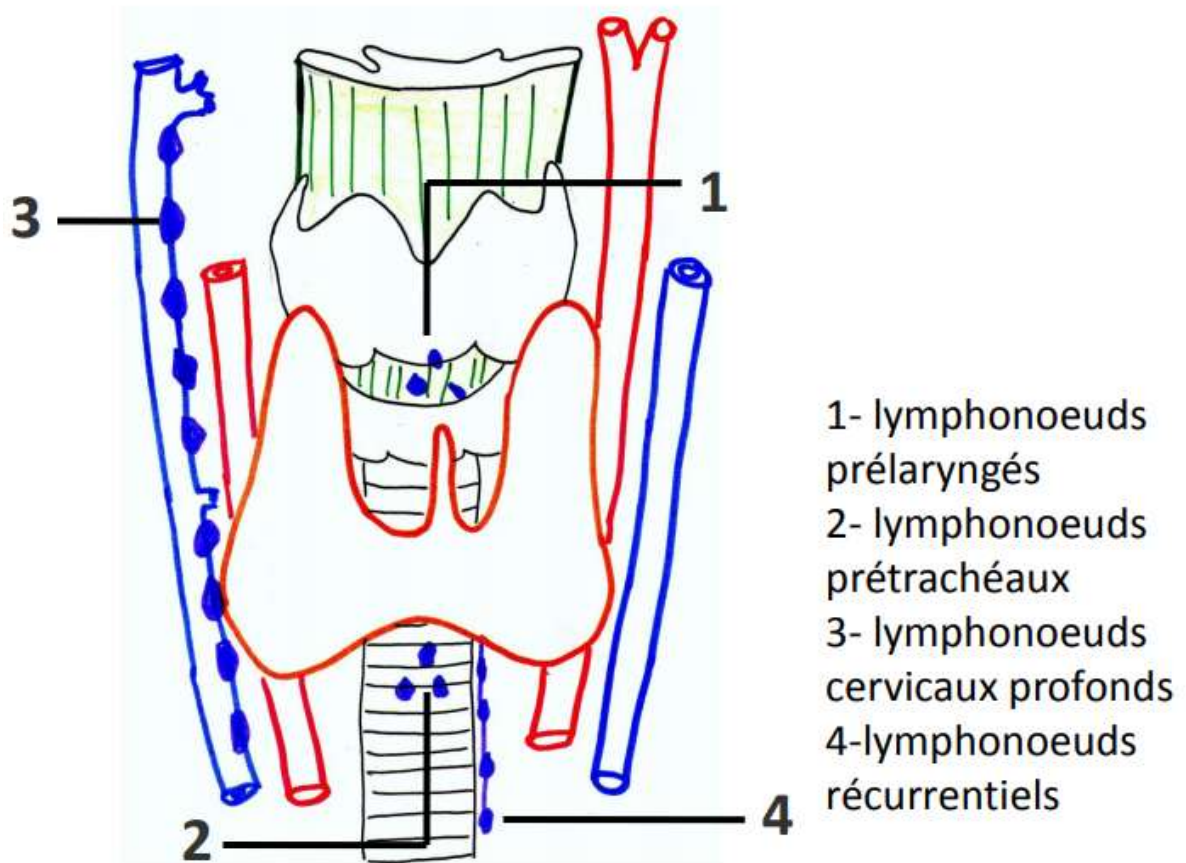


Figure 2 : drainage lymphatique de la glande thyroïde ^[12]

II.1.4. Histologie thyroïdienne

La glande thyroïde est entourée par une capsule externe de tissu conjonctif lâche et par une capsule interne fibro-élastique. De la capsule interne partent de fins septa fibreux, qui divisent la glande en lobules et qui sont le support de la vascularisation sanguine et lymphatique.

Les unités fonctionnelles de la thyroïde sont les follicules thyroïdiens : ce sont des formations sphériques comprenant : une paroi, constituée par un épithélium cubique simple reposant sur une lame basale et comportant deux types de cellules : les cellules folliculaires (ou thyrocytes) représentant 98% du follicule ^[13] et les cellules C sécrétrices de CT. le contenu de ces follicules est amorphe, pâteux et jaunâtre à l'état frais, c'est la « colloïde » ^[1] (Figure 3)

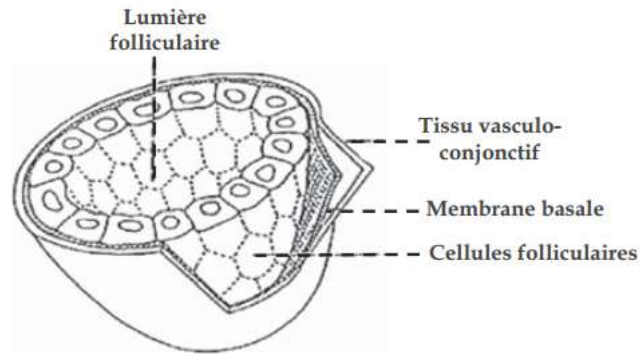


Figure 3: follicule thyroïdien (coupe histologique) ^[14]

Les follicules thyroïdiens sont responsables de la synthèse et de la sécrétion des hormones iodées T3 et T4.

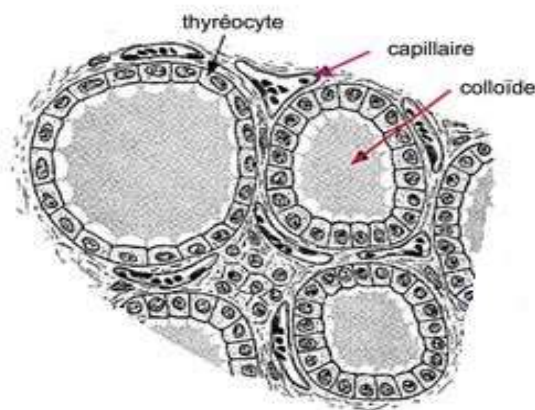


Figure 4 : structure d'un follicule thyroïdien ^[15]

Dans la glande thyroïde active, les follicules sont petits et la quantité de colloïde diminue; les cellules de revêtement sont hautes, cubiques, reflet d'une synthèse et d'une sécrétion hormonale active, des vacuoles de résorption sont perçues au pôle apical des cellules.

Par contre, les follicules de la thyroïde peu active sont distendus par la colloïde stocké et les cellules du revêtement sont aplaties contre la membrane basale ^[15] (Figure 5).

Le pôle basal des cellules folliculaire repose sur la lame basale du follicule, leur pôle apical présente des microvillosités se projetant dans la colloïde, et leurs faces latérales sont réunies à celles des cellules folliculaires adjacentes par des complexes de jonction. Elles possèdent un

noyau basal ou central, des mitochondries, un réticulum endoplasmique granulaire et des ribosomes, un appareil de Golgi supranucléaire et de nombreux lysosomes, phagosomes (« gouttelettes de colloïde ») et phagolysosomes, surtout à leur pôle apical ^[1]

Moins nombreuses que les thyrocytes, les cellules C sécrétrices de CT sont situées contre la lame basale des follicules et n'entrent jamais en contact avec la colloïde. Elles sont principalement caractérisées, en microscopie électronique, par la présence dans leur cytoplasme de nombreux grains très denses bordés par une membrane. Ces grains de sécrétion de CT seront ensuite libérés par exocytose en réponse à une élévation de la calcémie. Ses principaux organes cibles sont le tissu osseux et le rein en inhibant la résorption osseuse et en augmentant l'excrétion urinaire de calcium d'où un effet hypocalcémiant ^[1]

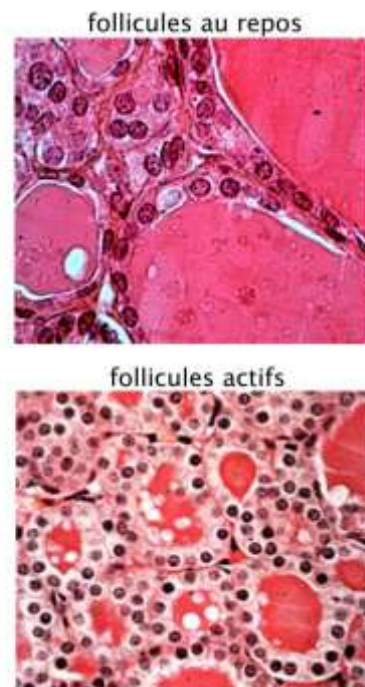


Figure 5: coupe histologique du follicule thyroïdien au repos et en activité ^[15]

II.1.5. Physiologie thyroïdienne

II.1.5.a. Métabolisme de l'iode

II.1.5.a.1. Propriétés générales

Pour la synthèse des hormones thyroïdiennes, de la T4 et de la T3, il faut des niveaux adéquats d'iode, un oligoélément découvert par Bernard Courtois en 1811 de numéro atomique 53 et de symbole I ^[16]. L'iode est retrouvé essentiellement dans l'eau de boisson, les algues, les poissons, les crustacés ^[17] mais surtout dans le sel de table qui fait l'objet d'une

supplémentation iodée dans les pays où la carence en iode se produit à fin d'assurer un apport suffisant pour toute la population ^[18](Tableau I). Quant aux aliments végétaux, leur teneur d'iode dépend de ses taux dans le sol et dans les eaux souterraines utilisées dans l'irrigation, dans les engrais des cultures et dans l'alimentation du bétail ^[19].

Tableau I : dose journalière d'iode recommandée par l'OMS et l'UNICEF ^[20]

	Dose journalière d'iode (µg/jour)
Enfants d'âge préscolaire (0 à 59 mois)	90
Enfants entre 6 et 12 ans	120
Adolescents de plus de 12 ans et adultes	150
Femmes enceintes et allaitantes	250

II.1.5.a.2. Absorption et transport

L'iode alimentaire se trouve sous forme d'iode organique qui se transforme en iodure (iode minéral) directement assimilée au niveau gastroduodéal.

L'iode est spécifiquement concentré au niveau de la thyroïde mais est également capté par les glandes salivaires et gastro-intestinales.

A la membrane baso-latérale des cellules folliculaires thyroïdiennes, un symporteur Na⁺/I⁻ (NIS) dépendant d'une pompe ATPase transporte activement l'iodure dans la cellule. Il s'agit d'un système comportant une glycoprotéine ayant 12 acides aminés transmembranaires appelé : symporteur d'iode. Il est codé par un gène situé sur le chromosome 19.

L'expression de NIS et son activation sont induites par la TSH hypophysaire et réprimée par l'abondance en Thyroglobuline (hTg) dans le colloïde folliculaire.

Le système peut également transporter d'autres ions monovalents tels que le pertechnétate (TcO₄⁻), le perchlorate (ClO₄⁻) et le thiocyanate (SCN⁻).

A la membrane apicale, un transporteur I⁻/Cl⁻, la pendrine régule la concentration intracellulaire en iodure en l'exportant dans le colloïde. La pendrine est le produit du gène PDS (*Pendred syndrom Gene*) dont l'expression est activée par l'abondance de hTg dans le colloïde^[10].

II.1.5.a.3. Elimination

L'élimination de l'iode se fait dans les urines avec une clairance rénale proche de 35 mL/min. De faibles quantités de l'iode absorbé sont aussi perdues au travers de la peau et dans l'air expiré^[20].

II.1.5.b. Les hormones thyroïdiennes

II.1.5.b.1. Structure

Les hormones thyroïdiennes sont des molécules liposolubles possédant une même structure organique : la thyronine, formée par deux noyaux aromatiques reliés par un pont éther. Les hormones se différencient entre elles par le nombre et la place variables des atomes d'iode qu'elles portent^[21] (Figure 6)

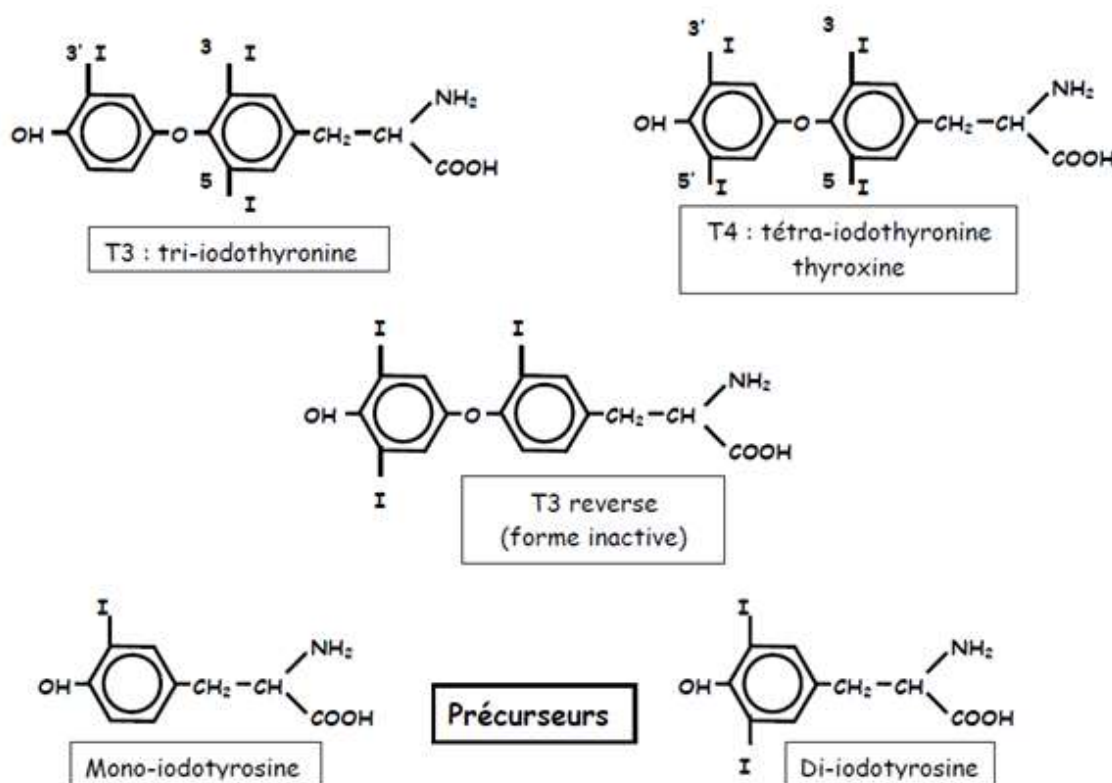


Figure 6: structure chimique des hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs^[21]

II.1.5.b.2. Biosynthèse

II.1.5.b.2.1. Captation active de l'iode par la thyroïde

L'étape initiale dans la formation des hormones thyroïdiennes est l'absorption et la concentration d'iode par les cellules du follicule thyroïdien. Elle met en jeu le symporteur NIS qui fonctionne contre un fort gradient de concentration, réclamant ainsi une quantité importante d'énergie, la concentration d'iode dans la glande thyroïde augmente alors à

environ 30 fois sa concentration dans le sang, mais pendant les périodes de stimulation active, la concentration d'iode peut atteindre 250 fois celle du plasma ^{[10][22]}.

II.1.5.b.2.2. Oxydation de l'iode et couplage

L'iode ainsi être concentré dans les thyrocytes, diffuse vers la lumière des follicules et est immédiatement oxydé à la surface de l'épithélium par la thyroperoxydase (TPO). Cette enzyme est codée par un gène situé sur le chromosome 2. La forme oxydée de l'iode s'incorpore aux résidus tyrosyls de la hTg pour donner la mono-iodotyrosine (MIT) et la di-iodotyrosine (DIT). Plusieurs minutes, heures ou jours plus tard, dans un processus appelé couplage, les iodotyrosines (MIT et DIT) se combinent pour former des iodothyronines, dont deux sont les hormones thyroïdiennes actives : la T3 et la T4. Seulement 20% de la tyrosine iodée subit un couplage, le reste subsistant comme MIT et DIT. Une fois le couplage terminé, chaque molécule de hTg contient une à trois molécules de T4 et des quantités moindres de T3. Les hormones thyroïdiennes ainsi synthétisées restent fixées à la hTg et sont stockée pendant plusieurs moi dans le colloïde ^{[27][23]}.

II.1.5.b.2.3. La sécrétion des hormones thyroïdiennes

Dans la première étape de la sécrétion de l'hormone thyroïdienne, la cellule folliculaire ingère un morceau de colloïde pour former une goutte colloïdale. Dans la cellule, la goutte colloïdale est ingérée par les lysosomes, dont les enzymes décomposent la molécule de hTg en hormones thyroïdiennes biologiques actives, T4 et T3, ainsi que les iodotyrosines inactives, MIT et DIT. Les hormones thyroïdiennes, après passage à travers les membranes externes des cellules folliculaires, sont libérées dans le sang. Le MIT et le DIT n'ont aucune valeur endocrine. Environ 90% des hormones libérées par la glande thyroïde apparaissent initialement sous la forme de T4. Cependant, une majorité du T4 qui est sécrétée par la glande thyroïde est ensuite convertie en T3. La majeure partie de la T3 circulante est dérivée de la T4 sécrétée plutôt que de la sécrétion thyroïdienne. La T3 est quatre fois plus puissant sous sa forme biologique que la T4 et est la principale hormone qui interagit avec les cellules cibles ^[22].

II.1.5.b.2.4. Transport dans le sang

Les molécules de T3 et de T4 sont fortement liées aux protéines plasmatiques (99%) principalement à la globuline liant la thyroxine TBG (Thyroxin-binding globulin) ^[9].

II.1.5.b.3. Mode d'action des hormones thyroïdiennes

Les effets biologiques des hormones thyroïdiennes dépendent de leurs concentrations cellulaires, qui présentent une relation complexe avec leurs concentrations sériques en raison du métabolisme tissulaire et du transport transmembranaire ^[25].

Après passage transmembranaire, les hormones thyroïdiennes vont agir au niveau de sites d'actions nucléaires ; La T3 se lie à un récepteur cytosolique nucléotrope ; le complexe entre dans le noyau et participe à la régulation de l'expression génique, ainsi qu'au niveau de sites d'actions extra nucléaires ; La T3 exerce des actions membranaires avec un effet facilitateur du métabolisme cellulaire avec potentialisation des récepteurs adrénérgiques et des pompes ioniques, et facilitation du passage de substrat énergétiques tels que le glucose et les acides aminés. Elle exerce également des effets au niveau de la mitochondrie avec augmentation de la calorigénèse et de la consommation en oxygène ^[21].

II.1.5.b.4. Rôle physiologique

Les effets des hormones thyroïdiennes sont multiples et leurs influences se marquent à tous les niveaux de l'organisation de l'individu, depuis son comportement jusqu'au sein même des tissus et de la cellule. Une réduction de la qualité de vie liée à la santé est fréquemment rapportée chez les patients atteints de maladies thyroïdiennes ^[26].

Ces effets biologiques peuvent être divisés en deux classes principales :

II.1.5.b.4.1. Effets sur le métabolisme

II.1.5.b.4.1.1. Calorigénèse

Les hormones thyroïdiennes permettent d'augmenter la consommation tissulaire d'oxygène par l'intermédiaire d'activation de nombreux systèmes enzymatiques, cette augmentation des combustions explique que l'hormone thyroïdienne intervienne dans la régulation thermique. Ainsi une hypothyroïdie peut s'accompagner de frilosité ^{[27][28][29]}.

II.1.5.b.4.1.2. Métabolisme des glucides

Les hormones thyroïdiennes augmentent l'absorption intestinale des glucides conduisant à une hyperglycémie et accélèrent par la suite leur consommation périphérique ^{[29][30]}. Elles seraient aussi responsables de la modulation de la sécrétion d'insuline ^[27].

II.1.5.b.4.1.3. Métabolisme des lipides

Les hormones thyroïdiennes augmentent la lipogénèse et la lipolyse. Les réserves en graisse sont alors inversement proportionnelles au taux d'hormones thyroïdiennes ^[31]. Les patients en

hyperthyroïdie présentent une diminution des taux de cholestérol total et de lipoprotéines de faible densité (LDL) dans le sérum en raison d'une augmentation concomitante du catabolisme des LDL, de l'excrétion du cholestérol par la bile et d'une diminution de la circulation entérohépatique de l'acide biliaire ^[32]. Dans le cas contraire une hypercholestérolémie est constatée.

II.1.5.b.4.1.4. Métabolisme des protides

Les hormones thyroïdiennes accélèrent la synthèse et la dégradation des protéines ^[31]

II.1.5.b.4.1.5. Métabolisme de l'eau et des électrolytes

Les hormones thyroïdiennes provoquent une augmentation de la diurèse en augmentant la filtration glomérulaire et en diminuant la réabsorption tubulaire de l'eau, elles accroissent l'excrétion urinaire et fécale du calcium ^[33].

II.1.5.b.4.2. Effets sur les systèmes et les tissus

II.1.5.b.4.2.1. Système cardiovasculaire

Les hormones thyroïdiennes augmentent la fréquence cardiaque, la force de contractilité, il s'en suit alors une augmentation du débit cardiaque, elles favorisent aussi la vasodilatation périphérique ^{[31][34]}. De nouvelles preuves sont apparues sur l'importance de l'hormone thyroïdienne dans la réponse du myocarde au stress ischémique et au remodelage cardiaque après un infarctus du myocarde ^[34]. L'état hypothyroïdien est à l'origine de bradycardie et peut induire une altération du muscle cardiaque entraînant une réduction sévère de la fonction cardiaque accompagnée d'un taux d'enzymes cardiaques élevées ^[35].

II.1.5.b.4.2.2. Système nerveux central

La stabilité émotionnelle, le comportement, l'état mental des individus sont susceptibles d'être profondément modifiés en cas de troubles fonctionnels thyroïdiens ^[36]. Une hypothyroïdie maternelle lors de la gestation n'est pas sans conséquence, aboutissant à des déficits cognitifs et des problèmes du comportement chez l'enfant ^[37].

II.1.5.b.4.2.3. Muscle

Une hypotonie et une paresse musculaire généralisée sont constatées dans l'hypothyroïdie, alors que dans l'hyperthyroïdie existe un catabolisme très rapide des protéines musculaires dont témoignent la créatinurie et le faible taux de créatinine et de phosphocréatine dans le muscle ^[31].

II.1.5.b.4.2.4. Hémostase

Les hormones thyroïdiennes agissent sur l'érythropoïèse, une insuffisance thyroïdienne provoque l'apparition d'une anémie hyperchrome ^[31].

Il a été démontré que la plupart des anomalies de la coagulation, associées à des troubles thyroïdiens sont une conséquence directe de l'action des hormones thyroïdiennes sur la synthèse de divers facteurs hémostatiques ou d'un dérèglement de la fonction immunitaire. ^[38].

Les patients atteints d'hyperthyroïdie ou d'hypothyroïdie subclinique ont un risque thrombotique accru, alors que les patients souffrant d'hypothyroïdie manifeste ont une tendance à la saignée ^[39].

II.1.5.b.4.2.5. Croissance

Les hormones thyroïdiennes favorisent indirectement la croissance par action sur l'hypophyse, et elles agissent en synergie avec l'hormone de croissance et d'autres facteurs de croissance qui favorisent la formation osseuse ^[31]. La thyrotoxicose (élévation du taux d'hormones thyroïdiennes libres) est une cause établie d'ostéoporose secondaire et la signalisation anormale de l'hormone thyroïdienne a récemment été identifiée comme un nouveau facteur de risque d'arthrose ^[40].

II.1.5.b.5. Régulation de la biosynthèse

Le régulateur le plus important de la sécrétion des hormones thyroïdiennes est la TSH, qui est sécrétée par l'hypophyse.

II.1.5.b.5.1. La thyroïdostimuline ou thyrotropine TSH

C'est une glycoprotéine sécrétée par des cellules spécialisées de l'antéhypophyse, est constituée d'une sous-unité α et d'une sous-unité β spécifique. La TSH se lie aux récepteurs membranaires des thyrocytes et stimule via une protéine G l'adénylcyclase et la phospholipase C. Sa demi-vie est de 60 minutes. Presque toutes les étapes de la synthèse et de la sécrétion de l'hormone thyroïdienne sont stimulées par la TSH ; elle stimule le processus de piégeage de l'iodure et chaque étape de la synthèse de T4 et T3. Elle stimule également l'endocytose du colloïde et sur l'ultime libération de T4 et de T3 dans la circulation. En plus d'améliorer la sécrétion des hormones thyroïdiennes, la TSH est également responsable du maintien de l'intégrité structurale de la glande thyroïde ; lorsque la TSH est absente, la glande thyroïde s'atrophie et sécrète ses hormones à un taux très faible. Inversement, une stimulation soutenue par la TSH entraîne une augmentation de la taille de chaque cellule folliculaire

(hypertrophie) ainsi qu'une augmentation de leur nombre (hyperplasie), donnant lieu à un goitre ^{[24][41]} .

II.1.5.b.5.2. Control hypothalamo-hypophysaire

La sécrétion des hormones thyroïdiennes est aussi régulée par un processus de rétroaction négative impliquant l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure et la glande thyroïde. L'hormone d'initiation dans ce processus, la TRH (*thyrotropin releasing hormone*), est synthétisée et stockée dans l'hypothalamus, elle stimule la sécrétion de TSH tandis que la somatostatine et la dopamine l'inhibent. De plus, les hormones thyroïdiennes exercent un rétrocontrôle négatif sur la synthèse et la libération de la TSH et de la TRH, ainsi une augmentation de la T3 et de la T4 plasmatique entraîne une diminution de la sensibilité de l'antéhypophyse à la TRH. Il s'en suit une baisse de sécrétion de la TSH et par conséquent une diminution du taux de T3 et T4 ^{[7][22][24]} (Figure 7).

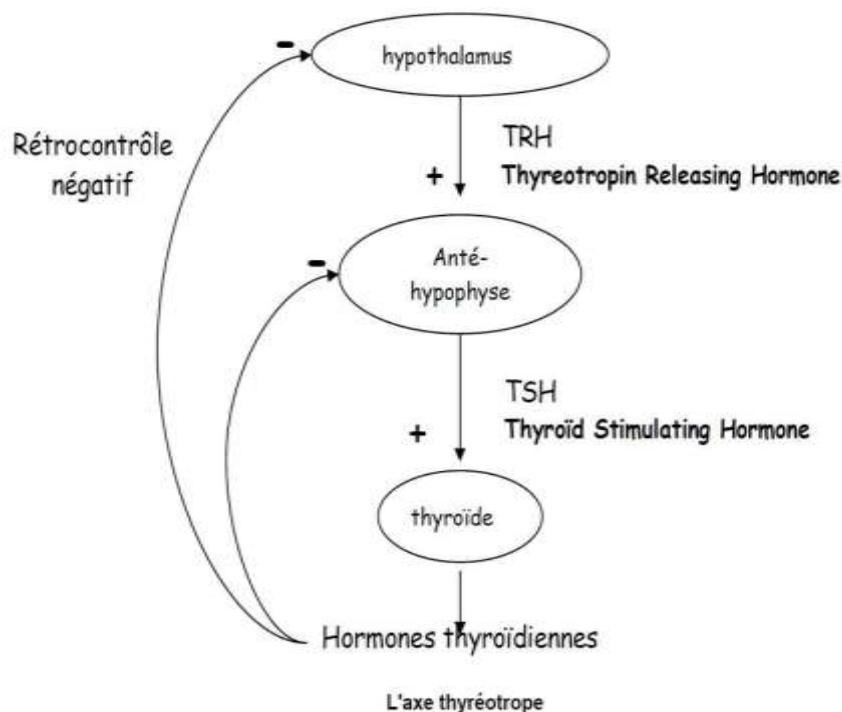


Figure 7: axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien : régulation de la sécrétion des hormones^[4].

II.1.5.b.5.3. Autorégulation thyroïdienne

L'autorégulation thyroïdienne correspond à des mécanismes transitoires permettant un blocage de l'iodation et de la sécrétion en cas d'excès d'iode ce qui conduit d'abord à une synthèse excessive des hormones thyroïdiennes jusqu'à atteindre leur maximum, au dessus d'un certain niveau, on observe un blocage de l'organification de l'iodure et de la synthèse hormonale (effet Wolff-Chaikoff). Dans un troisième temps, il y a un phénomène d'échappement à ce blocage bientôt suivi d'une désensibilisation de la thyroïde à l'effet de la TSH. S'y ajoutent d'autres phénomènes qui concourent à une diminution de la production d'hormones thyroïdiennes et à une dégradation de la glande. À terme, la fonction de la thyroïde redevient normale ; il n'en est probablement pas de même de sa structure qui reste partiellement dégradée. Il est important de souligner qu'un excès d'iode peut conduire à une thyrotoxicose ou à une hypothyroïdie accompagnée éventuellement d'un goitre.

La carence en iode a pour conséquence directe une diminution de la synthèse hormonale et l'établissement d'un état d'hypothyroïdie. On assiste à une augmentation de la TSH circulante [14] [21] [42] (Figure 8)

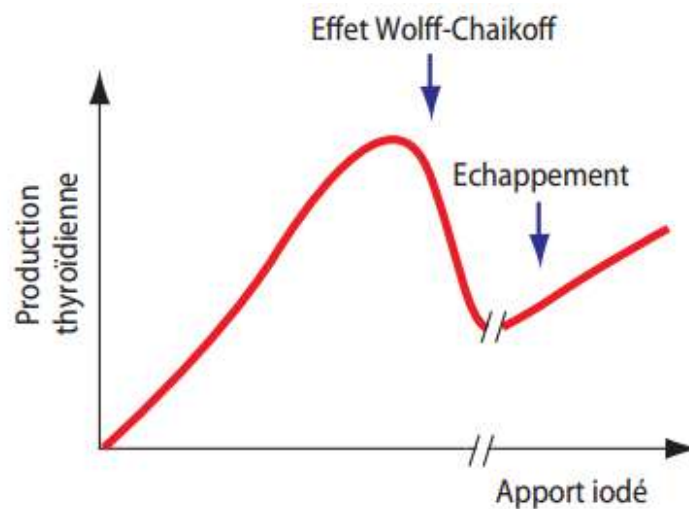


Figure 8: hormones thyroïdiennes et apport iodé [43].

II.2. Le cancer médullaire de la thyroïde

II.2.1. Définition et épidémiologie du cancer médullaire de la thyroïde

Le CMT représente 3 à 4 % des cancers thyroïdiens ^[44] avec une prévalence de 0,42-2,85% ^[45] c'est un cancer différencié qui se développe au dépens des cellules C para-folliculaires ^[46] sécrétrices de calcitonine qui est un marqueur de diagnostic et de suivi ^{[47][48]}. Le CMT se présente sous deux formes ; la forme sporadique qui représente 75% des cas ^[49] ou héréditaire (25% des cas) suivant un mode de transmission autosomique dominant en rapport avec une mutation du proto-oncogène RET marqueur génétique du CMT ^[50]. Le traitement chirurgical est actuellement le seul traitement reconnu pour le CMT, de par sa qualité va dépendre l'évolution ultérieure de la maladie ^[51]. La survie à 5 ans des CMT sporadiques et héréditaires varie de 70% à 90%. A 10 ans la survie est de 56% à 87% ^[52]. Il représente environ 13.4% des décès liées aux néoplasie thyroïdiennes ^[53].

II.2.2. Aspects cliniques

II.2.2.a. Circonstances de découverte

II.2.2.a.1. Cancer médullaire de la thyroïde à priori sporadique

Les circonstances de découverte sont variables ; La présence visible ou palpable d'un ou plusieurs nodules sensibles et/ou douloureux à l'union des tiers moyen et supérieur de la glande doit faire évoquer le diagnostic, la découverte fortuite d'un nodule lors d'un examen clinique ou d'un examen radiologique (écho-doppler des vaisseaux du cou, échographie...etc) associé ou non une ou plusieurs adénopathies cervicales est une circonstance de découverte très fréquente. Il arrive que le diagnostic soit posé par l'analyse histologique d'une pièce de thyroïdectomie totale suite à un goitre multi-nodulaire ^[54]. Lorsque les taux de calcitonine sont très élevés, des flushs et diarrhées sont rencontrées, mais il s'agit en général de formes très évoluées, Les formes agressives d'emblée avec extension locorégionale importante sont très rares ^[55]. La confirmation du diagnostic sera obtenue par un dosage de calcitonine sérique qui est dans la plupart des cas anormal ^[56].

II.2.2.a.2. Cancer médullaire de la thyroïde familial : NEM2A NEM2B CMTF

En plus des circonstances de découverte précédemment citées, la présence associée de néoplasies endocriniennes (phéochromocytome, hyperparathyroïdie), de lichen cutané inter-scapulaire, de ganglioneuromes, d'un faciès marfanoïde, ou d'antécédents de cancer de la thyroïde et / ou de mutations RET chez les parents de premier degré pourrait orienter vers un

CMT familial ^[45]. Le CMT familial est multifocal, bilatéral et associé à une hyperplasie des cellules C (HCC) dans 100% des cas ^[57] (Tableau II).

Tableau II: présentation clinique des néoplasies endocriniennes multiples ^{[44][57][58]}

NEM2A 60%	CMT bilatérale (>95%) Hyperplasie des cellules C (100%) Phéochromocytome (10-60%) Hyperparathyroïdie (20-35%) lichen cutané interscapulaire (<10%)
NEM2B 5%	CMT bilatérale (100%) Hyperplasie des cellules C (100%) Phéochromocytome (50%) Neuromes muqueux (yeux, lèvres, langue, tractus gastro-intestinal) Habitus marfanoid (100%)
CMTF 35%	CMT bilatéral isolé (100%) Hyperplasie des cellules C (100%)

II.2.3. Marqueurs tumoraux du cancer médullaire

II.2.3.a. Antigène carcino-embryonnaire (ACE)

L'ACE est un marqueur tumoral non spécifique du CMT, par ailleurs, la corrélation des taux de l'antigène carcino-embryonnaire avec celui de la calcitonine chez les patients atteints de CMT montre l'intérêt de son dosage lors du diagnostic et du suivi de ces patient. La stimulation de la sécrétion de calcitonine par le test à la pentagastrine n'a aucun effet sur les niveaux d'ACE ^[59]. Des taux élevé d'ACE en préopératoire est un facteur de mauvais pronostic ^[55].

II.2.3.b. Autre peptides

II.2.3.b.1. La chromogranine A (CGA)

La concentration plasmatique en CGA, déterminée par un test radio-immunométrique est un marqueur efficace de tumeur neuroendocrine, elle est également utilisée lors des méthodes immuno-histochimiques pour la mise en évidence du CMT ^[60].

II.2.3.b.2. La neuron specific enolase NSE

La neuron specific enolase (NSE) est une enzyme détectable dans le tissu nerveux et neuroendocrinien. Des taux sériques accrus de NSE se retrouvent dans le cancer du poumon et chez les patients souffrant de neuroblastome ; tumeur maligne extra-cérébrale, chez lesquels la NSE est utilisée comme marqueur tumoral sérique. Chez les patients atteints de CMT l'immuno-cytochimie est positive pour la NSE et la CT dans les cellules C, mais il n'y a aucune de corrélation entre les taux sériques de NSE et de CT ce qui en fait un bon marqueur immuno-cytochimique mais un marqueur sérique médiocre^[61].

II.2.3.b.3. La procalcitonine

La procalcitonine a une distribution des valeurs similaire à celle de la calcitonine et peut être utilisée pour l'évaluation de l'état de CMT dans certaines situations où l'estimation de la CT n'est pas réalisable^[62]. Son usage demeure controversé en raison de l'obtention de résultats faux positifs car elle est aussi considérée comme étant un des meilleurs marqueurs de l'infection bactérienne systémique^[63].

II.2.3.b.4. La somatostatine

Bien que l'immuno-coloration SRIF (somatotropin release-inhibiting factor) puisse être précieuse en tant que marqueur supplémentaire dans le diagnostic immuno-histochimique du CMT, SRIF n'a aucune valeur en tant que marqueur tumoral plasmatique dans le diagnostic de cette maladie^[64].

En plus de ces substances, le CMT exprime un certain nombre de produits issus de la voie de synthèse des catécholamines, de la sérotonine et de l'histamine, ce qui suggère que les CMT et d'autres tumeurs neuroendocrines ont des caractéristiques métaboliques communes, mais une application clinique de ces composés ne peut être établie en raison de leur manque de corrélation avec les taux de calcitonine^[65] (Tableau III).

Tableau III : produits de sécrétion du CMT ^[57]

Hormones et pro-hormones	Enzymes	Autres peptides
Calcitonine	Neuron-specific enolase	Antigène carcino-embryonnaire
Calcitonine gene-related-peptide	Histaminase	Chromogranin A
Katacalcin	DOPA-decarboxylase	Nerve growth factor
ACTH		Synaptophysin
β-Endorphin		
β-Melanocyte stimulating hormone		
Somatostatin		
Neurotensin		
Serotonin		
Substance P		
Corticotrophin releasing hormone		
Vasoactive intestinal peptide		
Bombesin		
Gastric-releasing peptide		

II.2.4. Génétique

II.2.4.a. Gène RET

RET (rearranged during transfection) (60 Kilobases, 21 exons) est un proto-oncogène situé sur le chromosome 10 (10q11.2), il a été identifié pour la première fois en 1985, Il code pour un récepteur transmembranaire qui est une protéine à activité tyrosine-kinase constituée de :

- Un domaine extracellulaire avec un site de liaison de ligand.
- Un domaine transmembranaire.
- Et un domaine tyrosine kinase intracellulaire ^[66].

RET est activé par interaction avec un ligand soluble. La liaison du ligand conduit à une dimérisation du récepteur menant à son autophosphorylation et déclenche ainsi la cascade de signalisation [50] [54].

II.2.4.b. Mutation du gène RET

La mutation du gène RET aboutit à son auto-activation en absence de ligand et provoque une croissance cellulaire anormale et la formation de tumeurs.

ces mutations peuvent être :

- Germinales: à l'origine des CMT héréditaires: NEM2A NEM2B CMTF
- Somatiques: à l'origine des CMT sporadiques [50].

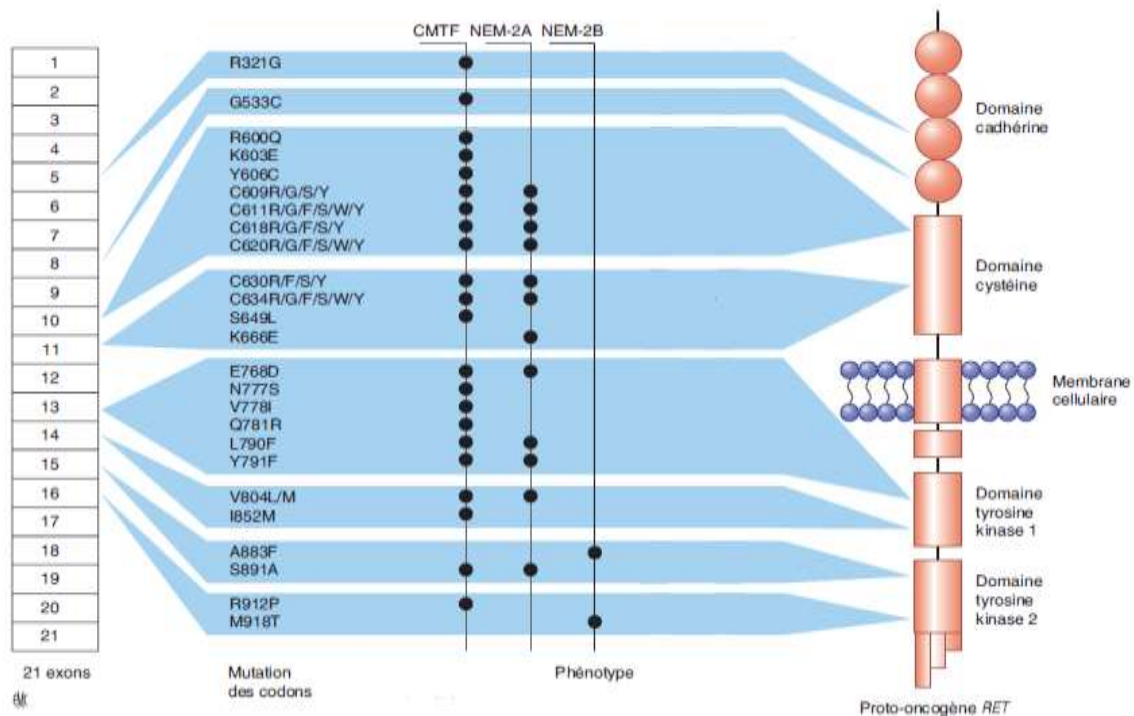


Figure 9: Structure du gène RET, localisation des mutations, et relation génotype-phénotype [67]

II.2.4.b.1. Mutations du gène RET dans NEM2

Les mutations rencontrées dans les NEM2 sont localisées sur différents exons, et il existe une corrélation génotype-phénotype selon la localisation de la mutation :

Ces mutations germinales affectent l'un des cinq codons cystéine du domaine extracellulaire du proto-oncogène RET et sont retrouvées dans 99% des NEM2B, 98% des NEM2A, et dans

95% des formes familiales de CMT isolé sans autres tumeurs endocrines associées (CMTF).
Les codons les plus fréquemment mutés sont :

- NEM2A : Les mutations associées au phénotype NEM2A siègent majoritairement dans le codon **634** de l'exon 11 et sur le codon 609, 611, 618, or 620 de l'exon 10.
- NEM2B : Une altération du codon **918** de l'exon 16 est associée de manière quasi spécifique à la NEM2B (près de 98% des patients atteints de ce syndrome en sont porteurs).
- CMTF : Dans 60% des cas, le phénotype CMTF est rattaché à des mutations localisées dans le domaine intracellulaire de RET : majoritairement dans les codons **804 et 844** de l'exons 14 puis les codons **768, 790, 791** de l'exon 13. Le phénotype FMTC est associé dans 40% des cas à des mutations de RET situées dans les codons **609, 611, 618,620** de l'exon 10, les deux derniers codons étant préférentiellement atteints (38% des cas) ^{[52][68][69][70]} (Figure 9).

II.2.4.b.2. Enquête génétique et dépistage familial

La mise en évidence d'une mutation germinale de RET chez un patient porteur d'un CMT fait le diagnostic d'un CMT familial et impose un séquençage génétique chez les apparentés.

Dans quelles situations faut-il rechercher une mutation du RET ?

- systématiquement devant tout CMT.
- Chez les parents de premier degré en présence de **CMT héréditaire prouvé**.
- **Lors d'un CMT multifocal, bilatéral, associé à une HCC bilatérale.**
- Devant tout nodule thyroïdien associé à une HTA, hypotension orthostatique, et tachycardie (phéochromocytome) et/ou une hypercalcémie (hyperparathyroïdie) ^[67].
- les parents dont les nourrissons ou les jeunes enfants ont le phénotype classique de NEM2B.
- chez les patients atteints de lichen cutané interscapulaire ^[71].

II.2.4.b.3. Mutations somatiques du RET

Les mutations somatiques RET peuvent être détectées dans le tissu tumoral chez 23 à 69% des patients atteints de CMT sporadiques. Il a été démontré que la présence d'une mutation somatique **RET (M918T)** dans les CMT sporadiques est en corrélation avec : le stade de la maladie, une augmentation du risque de récurrence après thyroïdectomie totale et une réduction du taux de survie ^[72].

Le CMT sporadique est caractérisé dans 40 à 50% des cas par des mutations somatiques sur les codons 918 du proto-oncogène RET et plus rarement sur d'autres codons ^[67].

II.2.5. Aspects anatomo-pathologiques

II.2.5.a. Aspects cytologiques du cancer médullaire de la thyroïde

Les caractéristiques cytomorphologiques du CMT suite à biopsie par aspiration à l'aiguille fine (FNA) sont représentés par : un motif cellulaire dispersé de cellules polygonales, fusiformes ou triangulaires, de granules cytoplasmiques azurophiles et de noyaux excentrés avec une chromatine mottée et des dépôts amyloïdes dans 50-70% des cas donnant une couleur vert foncé à la coloration de Papanicolaou et une Biréfringence au Rouge Congo (vert pomme) [55] (Figure 10). Si le CMT est cytologiquement présumé mais que les granules cytoplasmiques amyloïdes et azurophiles ne sont pas démontrés, c'est la bigarrure des éléments qui fait évoquer le diagnostic. L'utilisation de méthodes immuno-cytochimiques est nécessaire afin de poser un diagnostic correct [73].

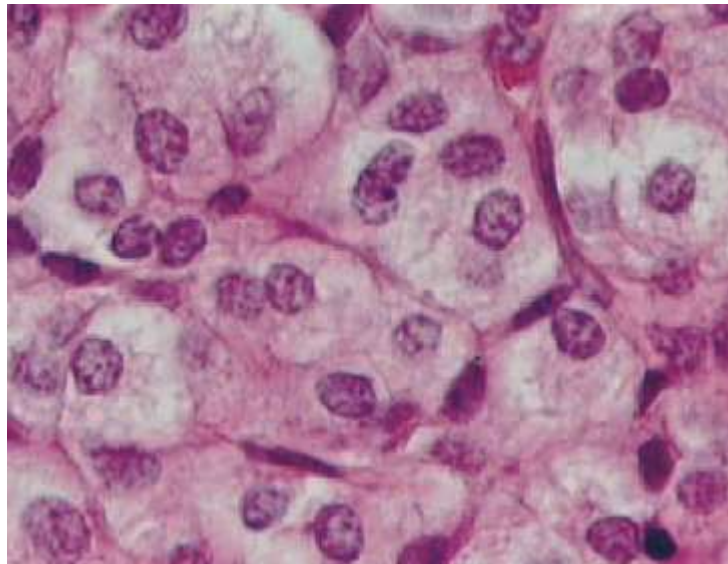


Figure 10: cellules de CMT avec coloration à l'hématéine-éosine-safran montrant le noyau excentré et la chromatine finement mottée [73]

II.2.5.b. Aspects histologiques du cancer médullaire de la thyroïde

L'aspect du CMT est variable (taille, localisation...), c'est une tumeur ferme, bien limitée, de couleur grisâtre à blanchâtre, présentant une architecture lobulaire ou en travées, il est caractérisé par des nids, des travées de cellules rondes, polygonales ou fusiformes séparées par un stroma richement vascularisé avec des dépôts de collagène et d'amyloïde (Figure 12). Les noyaux sont arrondis et réguliers avec une chromatine granuleuse, les nucléoles sont invisibles, présents ou proéminents. Les mitoses sont presque absentes. Le cytoplasme est granulaire, éosinophile à amphophile, à contours mal limités. Les zones de nécrose et

d'hémorragie ne sont pas fréquentes (uniquement dans les tumeurs de grandes tailles), Le stroma amyloïde qui aide au diagnostic de CMT est présent dans près de 80% des cas. Il ne faut pas le confondre avec un stroma hyalin souvent très abondant qui semble « noyer » les cellules tumorales de certains CMT. Parfois la présence de calcospherite est décrite (psammome) mais elle est non spécifique du CMT, il peut y avoir la présence d'infiltrats lymphocytaires également ^[55]. L'anatomo-pathologie permet dans une large mesure la discrimination entre formes familiale et sporadique, les premières étant caractérisées par des lésions multifocales et bilatérales dans plus de 90% des cas ^[74] et une hyperplasie annexe des cellules C (HCC) ^[75] (Figure 11).

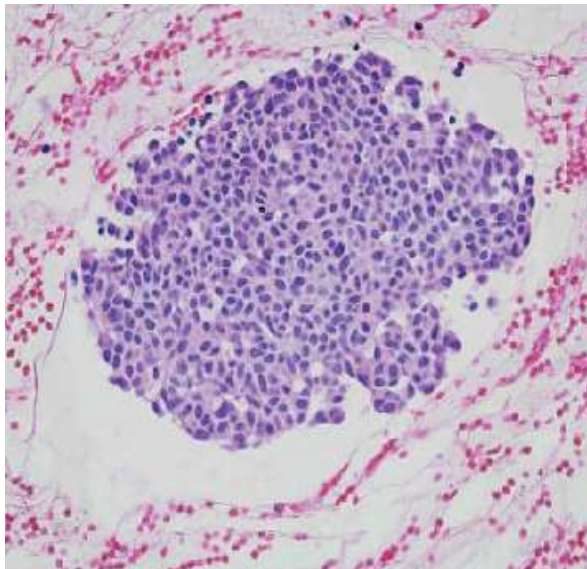


Figure 11 : coupe histologique d'un CMT colorée à l'hématoxyline éosine rouge-Congo ^[44].

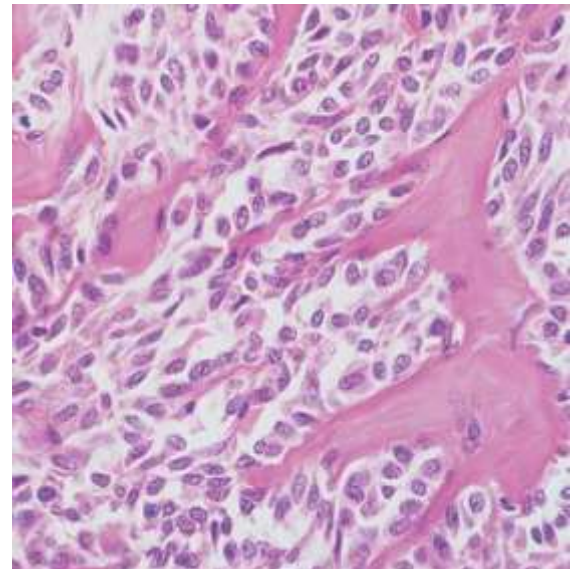


Figure 12: coupe histologique montrant les dépôts amyloïdes caractéristiques ^[55].

II.2.5.c. Hyperplasie des cellules C

L'évaluation quantitative précise de la population des cellules C thyroïdiennes est un travail chronophage, nécessitant rigueur et minutie: ceci tient au faible nombre des cellules C dans la glande et surtout à leur distribution hétérogène, ainsi qu'à la diversité des méthodes de quantification proposées dans la littérature. Le seuil proposé pour distinguer quantitativement les populations normale et hyperplasique est défini par l'observation de plus de 40 cellules C par cm² de thyroïde examinée ou au moins 3 champs de plus de 50 cellules C au grossissement (x 100) ^{[56][58][76][77]}.

II.2.5.d. Immuno-histochimie

L'immunohistochimie (IHC) est une méthode qui permet de détecter des protéines ou d'autres antigènes dans des sections de tissu. À cet effet, les sections sont exposées à des anticorps marqués dirigés contre des épitopes de la protéine cible. Il est alors possible de visualiser une cible à l'aide d'un marqueur, par exemple, d'un colorant fluorescent, d'une enzyme, d'un traceur radioactif ou d'or colloïdal.

Le diagnostic de CMT est confirmé par un immunomarquage positif à la calcitonine de façon évidente dans plus de 80% des cas, parfois difficile à mettre en évidence, réduit à quelques cellules positives, voire négatif. Dans ce dernier cas, le caractère neuroendocrine est confirmé par la chromogranine A.

Suivant la présentation clinique il peut arriver que le caractère primitif ou secondaire de la tumeur neuroendocrine soit éventuellement discuté.

TTF1 (Thyroid Transcription Factor -1) est positif dans 80% des CMT.

Les kératines de bas poids moléculaire y sont également présentes de même que l'ACE d'expression membranaire dans plus de 80% des cas.

De multiples autres peptides y sont décrits tels que la somatostatine, ACTH, sérotonine, synaptophysine, CGRP, bombésine ^[58].

II.2.5.e. Diagnostic différentiel

Le diagnostic de CMT doit être considéré devant toute tumeur thyroïdienne présentant des atypies ^[55].

Un certain nombre de cancers médullaires bien limités sont confondus avec des tumeurs oncocytaires bénignes ou malignes. A l'inverse, certains oncocytomes sont étiquetés parmi les cancers médullaires à cause d'un ACE positif. Le diagnostic de CMT repose au minimum sur une chromogranine A positive.

De rares carcinomes papillaires à cellules fusiformes peuvent être confondus avec des carcinomes médullaires. La négativité de la calcitonine, de la chromogranine A et la positivité de la thyroglobuline doivent permettre de parvenir à ce diagnostic peu fréquent.

Enfin deux diagnostics particulièrement difficiles peuvent prêter à confusion : Les adénomes trabéculohyalinisant (TG positive, MIB-1 positif de distribution membranaire), et les très rares paragangliomes intrathyroïdiens.

Restent parmi les diagnostics différentiels, les tumeurs parathyroïdiennes intra-thyroïdiennes et les rares métastases intra-thyroïdiennes de carcinomes neuroendocrines ^[58].

II.2.6. Aspects thérapeutiques

II.2.6.a. Chirurgie

II.2.6.a.1. Chirurgie du cancer médullaire de la thyroïde avéré (cas index)

Le traitement standard du CMT consiste en une thyroïdectomie totale étant donné la bilatéralité constante dans les formes familiales et dans 30% des formes apparemment sporadiques, elle est associée à une exérèse des compartiments ganglionnaires centraux ipsilatéraux et de plus en plus controlatéraux de la région jugulo-carotidienne, le compartiment central s'étend du dôme aortique jusqu'à l'os hyoïde. L'intervention est menée par voie cervicale pure. Cet acte n'est envisagé qu'après avoir éliminé la présence d'un phéochromocytome ^{[67][78]}.

II.2.6.a.2. Chirurgie de récurrence ou maladie résiduelle

Les patients avec une normalisation postopératoire de la calcitonine circulante et / ou de l'ACE sont considérés comme guéris. En raison des longues demi-vies de la calcitonine et de l'ACE circulants, le dosage de ces marqueurs sériques ne doit être effectué qu'après 2 mois de la chirurgie ^[57].

Une récurrence se développe chez environ 50% des patients opérés d'un CMT. L'hypercalcitoninémie persistante est un très bon indicateur de récurrence ou de maladie résiduelle. Les patients avec des valeurs proches de la normale doivent quand même être suivis et subir des dosages de calcitonine et d'ACE chaque année ^[44].

Des valeurs >100 pg / mL indiquent une récurrence, une maladie résiduelle, ou la présence de métastases, Et un taux de CT > 500 pg/mL est fortement indicateur de métastases à distance ^{[44] [71][78]}.

II.2.6.a.3. Chirurgie prophylactique en cas de cancer médullaire de la thyroïde familial

La thyroïdectomie prophylactique est recommandée chez tous les patients porteurs d'une mutation RET car la pénétrance de la maladie est de presque 100% ^[67]; le but de la

thyroïdectomie prophylactique consiste à éliminer le risque cliniquement significatif de cancer de la thyroïde en supprimant toute la glande thyroïde avant l'apparition de prolifération maligne. Le moment opportun de la thyroïdectomie prophylactique est crucial, et est en rapport avec la mutation RET (Tableau IV). Il est important d'évaluer le rapport bénéfique/risque et les morbidités potentielles de cet acte dont la conséquence postopératoire est l'hypothyroïdie. Les lésions du nerf récurrent, et l'hypoparathyroïdie permanente sont parfois associées. Compte tenu de ces risques, il est essentiel que la thyroïdectomie prophylactique soit effectuée par un chirurgien expérimenté dans la chirurgie thyroïdienne et parathyroïdienne, l'instauration d'un traitement de substitution par la Lévothyroxine est nécessaire pour ces patients [79].

Tableau IV: Recommandations pour la prise en charge des patients atteints de mutations RET, selon le niveau de risque ATA [79].

Niveau de risque	Mutations RET	Timing du premier dépistage génétique RET	Timing du premier dosage de la calcitonine	Age recommandé pour la chirurgie prophylactique
A	768 ^c , 790 ^{a,c} , 791 ^{a,c} , 891 ^{a,c}	<3–5ans	>3–5ans	Pas de chirurgie prophylactique si : échographie cervicale annuelle normale. des antécédents familiaux moins agressifs du CMT. une calcitonine sérique basale annuelle normale.
B	609 ^{a,c} , 611 ^{a,c} , 618 ^{a,c} , 620 ^{a,c} , 630 ^c	<3–5ans	>3–5ans	Considérer la chirurgie Avant l'âge de 5ans. Peut être retardé Au-delà de 5 ans Si les critères précédents ont été respectés
C	634 ^{a,c}	<3–5ans	>3–5ans	Avant l'âge de 5ans
D	804 ^c , 883 ^b , 918 ^b	<1ans	>6 mois	< 1ans

^a Mutations associée au MEN 2A.

^b Mutations associées au MEN 2B.

^c Mutations associées au CMTF.

II.2.6.a.4. Traitement des endocrinopathies associées

II.2.6.a.4.1. Traitement du phéochromocytome

En cas de phéochromocytome associé dans le cadre des NEM2, le traitement de ce dernier doit précéder la thyroïdectomie étant donné le risque vital pendant l'anesthésie si la tumeur surrénale est laissée en place.

la bilatéralité des lésions étant fréquentes, une surrénalectomie bilatérale d'emblée est recommandée avec substitution à vie afin d'éviter l'insuffisance surrenalienne ^[67].

II.2.6.a.4.2. Traitement de l'hyperparathyroïdie

Pour le traitement de l'hyperparathyroïdie les avis sont partagés entre une ablation des quatre glandes parathyroïdes avec réimplantation d'un fragment d'une glande notamment au niveau de l'avant bras, et l'ablation subtotale avec conservation in-situ d'une portion bien vascularisée d'une d'entre elles ^[67].

II.2.6.b. Autres traitements du cancer médullaire de la thyroïde

II.2.6.b.1. Radiothérapie

La radiothérapie externe est considérée inefficace dans le traitement des patients atteints de CMT ^[44], Aucune amélioration des taux de survie globale n'a été observée lorsque les patients ont été traités par chirurgie seule ou avec une combinaison de chirurgie et de radiothérapie ^[57], cependant elle est recommandée en traitement palliatif en cas de métastases osseuses et cérébrales douloureuses afin d'améliorer la qualité de vie des patients ^[55].

II.2.6.b.2. Chimiothérapie

Le CMT est une tumeur chimio-résistante, La chimiothérapie conventionnelle à une efficacité limitée. Les monothérapies avec doxorubicine, dacarbazine, capécitabine et 5-fluorouracile ont des taux de réponse partiels allant jusqu'à 24% -29% ^[44]. Les schémas thérapeutiques les plus efficaces sont les bithérapies à la doxorubicine associée à un autre agent, ou à la 5FU associée à la dacarbazine ^{[80][81]}.

II.2.6.b.3. Thérapie ciblée

Une nouvelle classe de thérapies ciblant la famille des récepteurs RET à activité Tyrosine Kinases a été développée en raison de son rôle dans la pathogenèse du CMT. Le premier inhibiteur des récepteurs Tyrosine Kinase disponible dans le commerce, le Mesylate d'Imatinib a montré une efficacité limitée chez les patients atteints de CMT.

Plus récemment, le vandetanib (ZD6474), qui cible simultanément le VEGFR (*vascular endothelial growth factor receptor*), RET et le EGFR (*récepteur du facteur de croissance épidermique*), a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement des adultes atteints de CMT symptomatique ou progressif.

Le cabozantinib (XL184) est un autre inhibiteur oral du VEGFR2, du récepteur du facteur de croissance des hépatocytes (MET) et du RET qui a été approuvé par la FDA pour le traitement du CMT métastatique progressif.

D'autres inhibiteurs des TK, tels que le sorafénib (cible VEGFR2 et VEGFR3, RET et BRAF)(Figure 13), le sunitinib (un inhibiteur des VEGF1-3, RET et RET / PTC 1 et 3), le motesanib (cible les trois récepteurs VEGF) et l'axitinib (inhibe les VEGFR mais pas RET) ont montré une réponse partielle stable dans les essais cliniques de phase II [44][82].

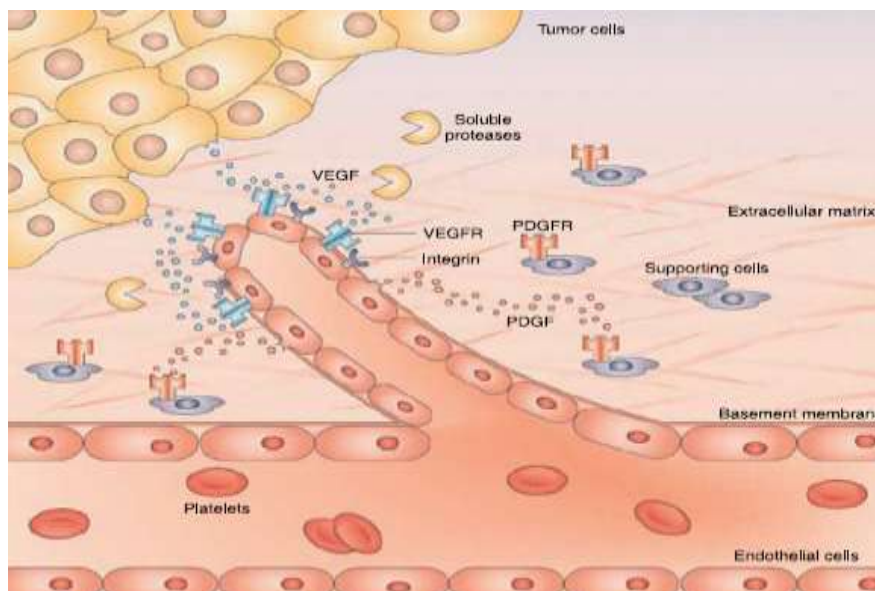


Figure 13: Angiogénèse tumorale [82]

II.2.7. Surveillance post-opératoire

Le dosage de la CT doit se faire 2 mois après la chirurgie [83] L'hypercalcitoninémie persistante est un très bon indicateur de récurrence ou de maladie résiduelle [45].il est nécessaire dans ce cas de palper attentivement le cou et le foie.

Les patients présentant une calcitonine postopératoire indétectable sont considérés biologiquement guéris, mais doivent quand même être suivis par des dosages annuels de calcitonine sérique et d'ACE. Toute augmentation du taux de ces marqueurs devrait inciter à approfondir les investigations par des testes l'imagerie.

- Si la calcitonine sérique est détectable mais inférieure à 150 pg/mL, l'échographie cervicale est la première investigation à effectuer
- si la calcitonine sérique est comprise entre 150 et 400 pg/mL, l'échographie cervicale et la tomodensitométrie thoracique sont indiquées pour la recherche d'une tumeur cervico-médiastinale persistante.
- Si le niveau de la calcitonine est supérieur à 400 pg/mL, les investigations doivent inclure l'échographie cervicale, la tomodensitométrie corporelle totale, le scanner FDG-PET et l'IRM du rachis, à la recherche de métastases à distance ^[78].

Pour les patients atteints de formes familiales la recherche d'un phéochromocytome et/ou d'une hyperparathyroïdie doit être répétée par des dosages annuels de métanéphrines urinaires et de calcémie et PTH sériques ^[67].

Les principaux facteurs pronostiques de survie chez les sujets atteints de CMT sont l'âge, le stade de la tumeur au moment du diagnostic et les temps de doublement de la calcitonine et de l' ACE ^[45].

Les patients atteints d'un CMT limité à la glande thyroïde, sans métastases ont un bon pronostic et les risque de récurrence et de mortalité sont très bas ^[84].

II.3. La calcitonine

II.3.1. Introduction

La calcitonine (CT), aussi appelé thyrocalcitonine ou substance calcitonine-like, est synthétisée et sécrétée par les cellules parafolliculaires (ou cellules C) de la thyroïde. C'est un peptide qui se comporte comme une hormone hypocalcémiant en augmentant la clairance rénale du calcium et en diminuant sa résorption osseuse. Son dosage a des applications limitées en physiologie mais joue un rôle primordial comme marqueur tumoral dans le dépistage et le suivi des cancers médullaires de la thyroïde ^{[85][86]}.

II.3.2. Origine de la calcitonine

La CT a été identifiée chez plus de 15 espèces animales différentes (mammifères, oiseaux, amphibiens, poissons) ainsi que chez des êtres unicellulaires notamment *Escherichia coli*, *Candida albicans*, et *Aspergillus fumigatus* ^[87]. Dans une tentative de déterminer le type de cellules thyroïdiennes responsables de l'élaboration de la CT, Pearse ^[88] et Foster ^[89] décrivent en 1967 les cellules parafolliculaires ou C. Ces cellules C dérivent des crêtes neurales rhombencéphaliques et migrent avec les corps ultimobranchiaux (CUB) avant de coloniser la thyroïde. Leurs grains contiennent majoritairement de la CT ^{[90][86]}.

II.3.3. Structure de la calcitonine

La CT est une hormone peptidique de 32 acides aminés ^[91], et d'un poids moléculaire de 3500 Daltons ^[87], sa structure est celle d'une simple hélice alpha ^[92] comportant un cycle formé par un pont disulfure qui relie les molécules de cystéine situées en position 1 et 7 (Figure 14) formant un anneau à l'extrémité N-terminale. Du côté C-terminal, la séquence se termine par un résidu proline amide (amidation de la proline).

Quatre autres résidus, situés en position 4 (Leu), 5 (Ser), 6 (Thr) et 28 (Gly) sont invariants chez toutes les espèces étudiées à ce jour. Ils sont tous situés aux deux extrémités de la molécule suggérant un rôle physiologique important de ces deux pôles de la CT ^[91].

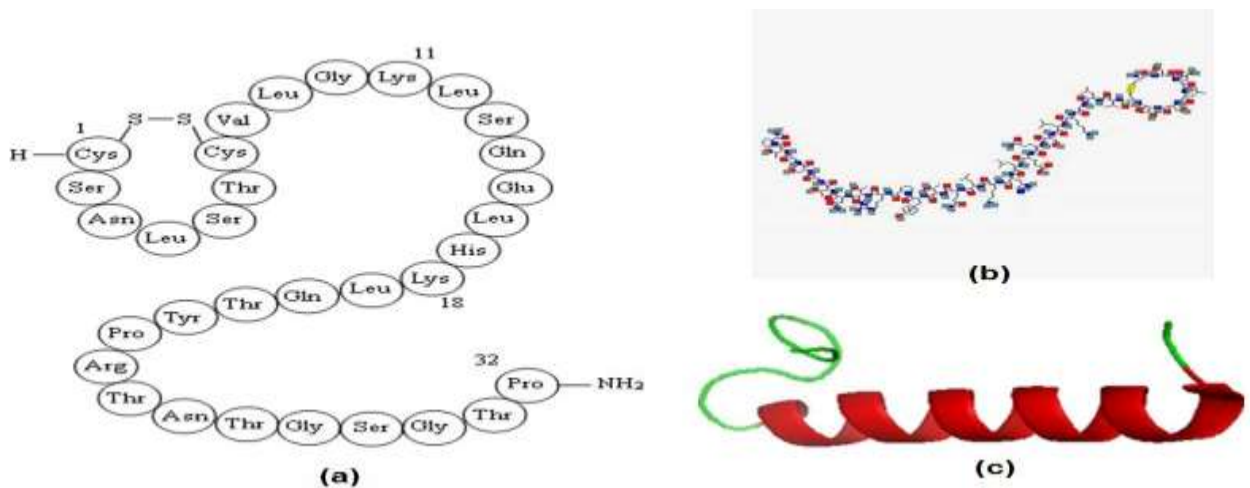


Figure 14: structure primaire (a, b) et secondaire (c) de la CT^[93]

II.3.4. Génétique de la calcitonine

II.3.4.a. Gène de la calcitonine

Le gène de la calcitonine qui est le gène CALC I. il représente l'un des modèles les plus connus des phénomènes d'épissage alternatif tissu-spécifique^[94].

D'une taille d'environ 6,5 kb, il comporte six exons séparés par des introns^[94]. Différentes voies d'épissage des exons conduisent à des ARN messagers codant le précurseur de la CT ou le précurseur du CGRP (*calcitonin gene-related peptide*)^[95] (Figure 15)

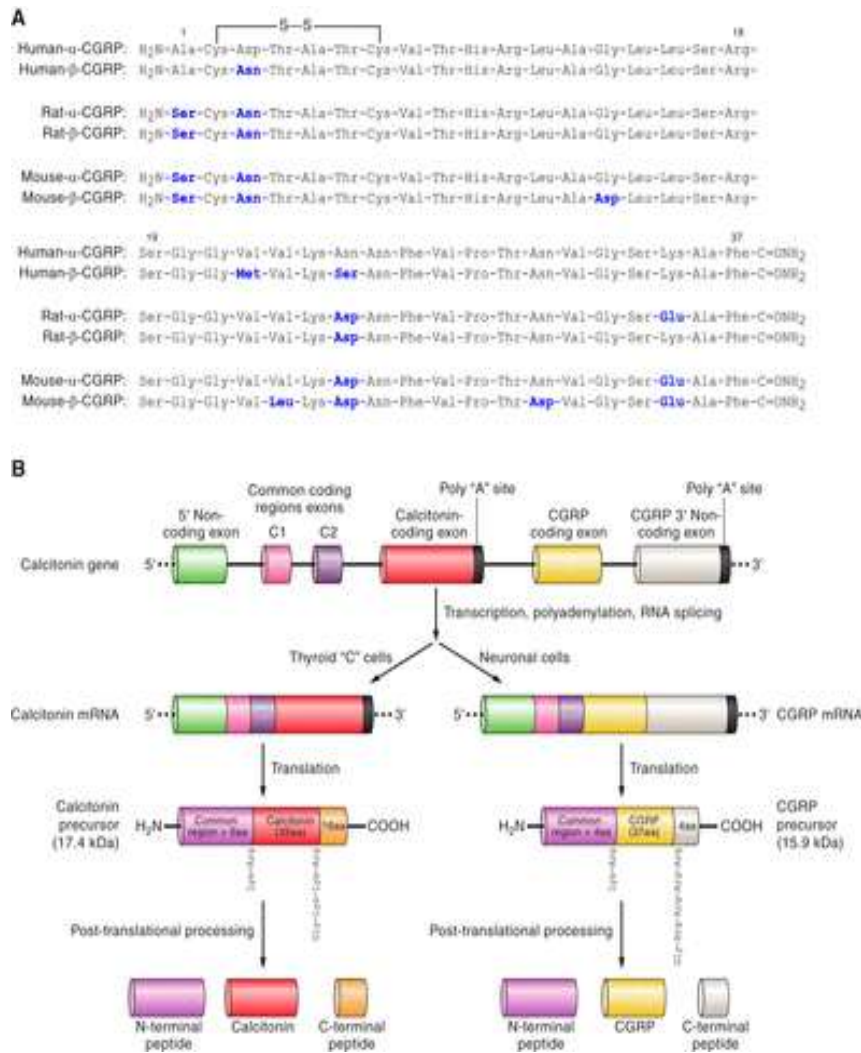


Figure 15 : voies de maturation de la CT et CGRP ^[94]

Le gène CALC I appartient à une famille multi génique comprenant également les gènes CALC II, CALC III et CALC IV ^[87]. En plus de la CT, les ARNm obtenus à partir de ces différents gènes codent le CGRP I, le CGRP II et l'amyline. Le gène CALC I est le seul à produire de la CT, alors que le CGRP peut être produit par CALC I et CALC II (CALC I produit le CGRP I et CALC II produit le CGRP II) ^[95,96]. Chez l'homme, ces deux gènes sont localisés sur le bras court du chromosome 11 (p13-15) ^[95] (Figure 16).

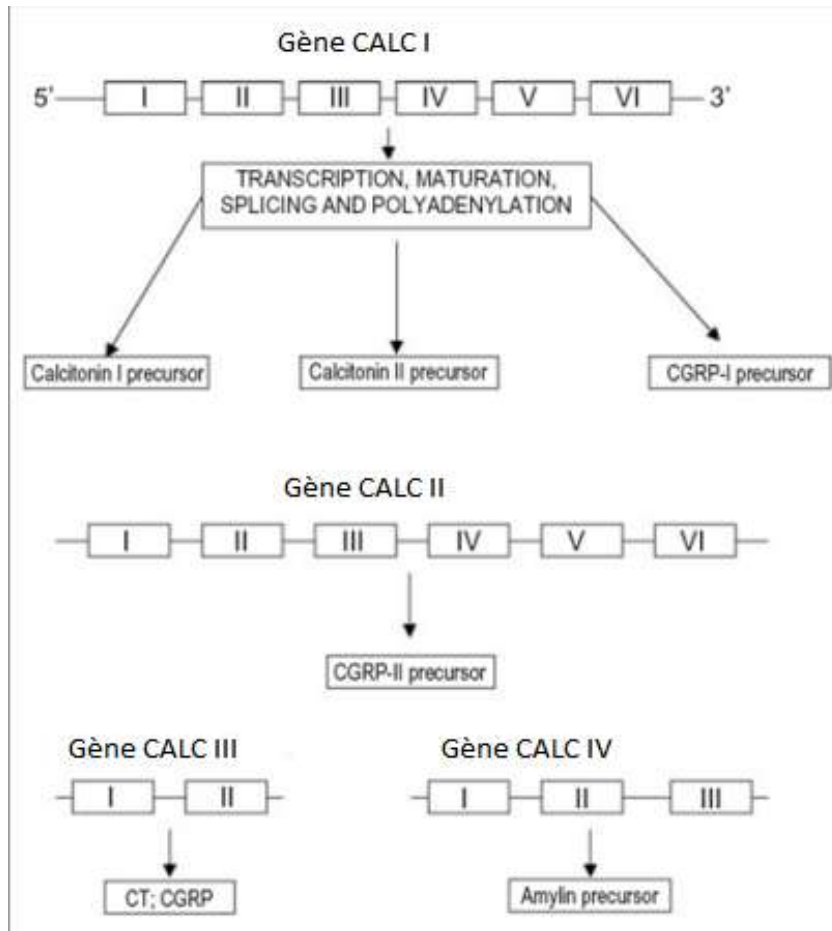


Figure 16 : famille des Gène de la calcitonine ^[97]

II.3.4.b. Peptides apparentés a la calcitonine (CGRP)

Le CGRP, un neuropeptide de 37 acides aminés, membre de la famille des peptides de la calcitonine, ses récepteurs sont largement distribués dans le corps humain ^[94] où il existe sous deux formes, l' α -CGRP et le β -CGRP.

L' α -CGRP est un peptide de 37 acides aminés formé à partir de l'épissage alternatif ^[98] du gène *calcitonine /CGRP* (CALC-1) situé sur le chromosome 11.

Le β -CGRP moins étudié diffère dans sa séquence par trois acides aminés (chez l'homme). il est codé par un gène distinct dans le même voisinage ^[99].

L'expression du CGRP est largement réponde dans le système nerveux central et périphérique ^[96].

En raison de son pouvoir vasodilatateur et ses propriétés inotropes et effets chronotropes, le CGRP est susceptible de jouer un rôle dans l'homéostasie cardio-vasculaire ^[100]. En outre, il influence l'alimentation et la digestion car il a montré une diminution de la sécrétion gastrique et la motilité intestinale grâce à sa capacité à moduler la substance P ^[100].

une fonction supplémentaire de CGRP dans la nociception a été proposée ^[101].

II.3.4.c. Récepteur de la calcitonine

Les effets de CT sont médiés par des récepteurs de haute affinité pour la CT (CTR). Le CTR est un membre d'une sous-famille de la superfamille des récepteurs couplés à la protéine G à sept domaines transmembranaires qui comprend plusieurs peptides. L'ADN complémentaire (ADNc) du CTR porcine (pCTR) fut cloné pour la première fois en 1991. Le clonage subséquent du gène pCTR a montré qu'il a une longueur d'environ 70 kb et qu'il contient au moins 14 exons, dont 12 codent pour la protéine. Ce récepteur est caractérisé par un long domaine NH₂-terminal extracellulaire. Il est similaire au récepteur de la PTH et à son peptide apparenté (PTH/PTH-rP) ainsi qu'au récepteur de la sécrétine. Le CTR humain a été cloné à partir d'une lignée cellulaire de carcinome ovarien (BIN-67). Différentes isoformes de CTR résultant de l'épissage alternatif du gène ont été décrites chez diverses espèces animales avec des transcrits d'expression propres, et différentes propriétés de signalisation. Il est probable que cette diversité dans l'expression des isoformes du CTR pourrait être un mécanisme de régulation des réponses biologiques à la CT. Un changement dans l'isoforme du CTR prédominante pourrait expliquer en partie la réponse variable à la CT chez les patients ayant un métabolisme osseux élevé. Le gène CTR a été cartographié sur le chromosome 7q21.3. ^{[102][103][104][105]}.

II.3.5. Biosynthèse de la calcitonine

La synthèse de la CT s'effectue dans les cellules C de la glande thyroïde. On a également décrit une production de CT dans les tissus hypophysaires ou neuro-endocriniens diffus mais ces sources extra-thyroïdiennes restent infimes et ne contribuent pas à la concentration hormonale circulante. Ces localisations accessoires prennent cependant toute leur importance en cas de transformation maligne, pouvant alors être à l'origine d'une hypercalcitoninémie d'origine ectopique.

Dans les cellules C normales de la glande thyroïde, le gène CALC I exprime préférentiellement un ARNm de la CT formé des exons 1-2-3-4. La traduction de ce messager

aboutit à un précurseur, la procalcitonine 1, qui est finalement clivé en trois peptides : le peptide N-terminal commun aux différents ARNm issus de ce gène, la CT, et un peptide C-terminal le CCP 1, initialement nommé katacalcine.

Une seconde voie d'épissage propre à l'espèce humaine permet au gène CALC I d'exprimer un ARNm constitué des exons 1-2-3 partie 5' de l'exon 4 5 et 6. La maturation-clivage du précurseur issu de ce messenger aboutit à la formation de trois peptides : N-terminal commun, CT et peptide C-terminal CCP2 dont les huit derniers acides aminés sont différents de ceux du CCPI. Ce processus a pu être mis en évidence dans les cellules C de thyroïdes normales mais il semble être la voie d'expression préférentielle du gène CALC I dans les cellules tumorales du CMT ^{[106][97]}.

II.3.6. Sécrétion de la calcitonine

La sécrétion de la CT implique une série complexe de modifications progressives: après la biosynthèse de la proCT, un traitement protéolytique subséquent se produit à la fois dans l'appareil de Golgi et plus tard dans les granules sécrétoires. Il est probable que le clivage de la proCT en CT immature pourrait être dû à l'action d'une prohormone enzyme-convertase (PC). Dans les vésicules de sécrétion nouvellement formées, le clivage protéolytique forme une CT immature. Ensuite, à mesure que l'amidation progresse, une CT mature est produite et est progressivement concentré à l'intérieur des vésicules sécrétoires avant d'être libérée ^{[107][108]}.

II.3.7. Régulation de la calcitonine

La régulation de la synthèse de CT chez l'homme dépend principalement de la calcémie qui intervient au niveau de la maturation des ARNm et des mécanismes de sécrétion cellulaire de la CT ^[109]. Elle est soumise à des variations circadiennes et est modulée par la température. Elle est plus importante chez l'homme que chez la femme et l'effet de l'âge sur la sécrétion de CT reste encore controversé. Elle est également stimulée par l'alimentation et les processus digestifs subséquents ; la gastrine étant un puissant sécrétagogues¹ chez l'homme ^[110] La CT est l'une des trois hormones régulant la calcémie à un degré moindre que les deux autres : la PTH et la 1-25 vitamine D.

¹ **Sécrétagogue** : substance biologique ou chimique qui déclenche la sécrétion d'une hormone endocrine

II.3.7.a. Effet de la parathormone et de la 1-25 vitamine D sur la CT

D'un point de vue théorique, la régulation de l'homéostasie calcique par l'action de la PTH, la CT et la 1-25 vitamine D sur les organes cibles suppose des interactions réciproques dans le contrôle de leur sécrétion ^[111].

La PTH et la 1-25 vitamine D augmentent la concentration sérique en calcium, tandis que la CT la diminue. Inversement, par une sorte de rétrocontrôle, la diminution du taux de calcium déclenche la sécrétion de PTH et la synthèse de la 1-25 vitamine D, tandis qu'une augmentation du niveau de calcium stimule la sécrétion de CT ^[87].

La 1-25 vitamine D diminue la transcription du gène de la CT ^[112] alors que la CT stimule la synthèse de 1-25 vitamine D dans le rein ^[113] (Figure 17).

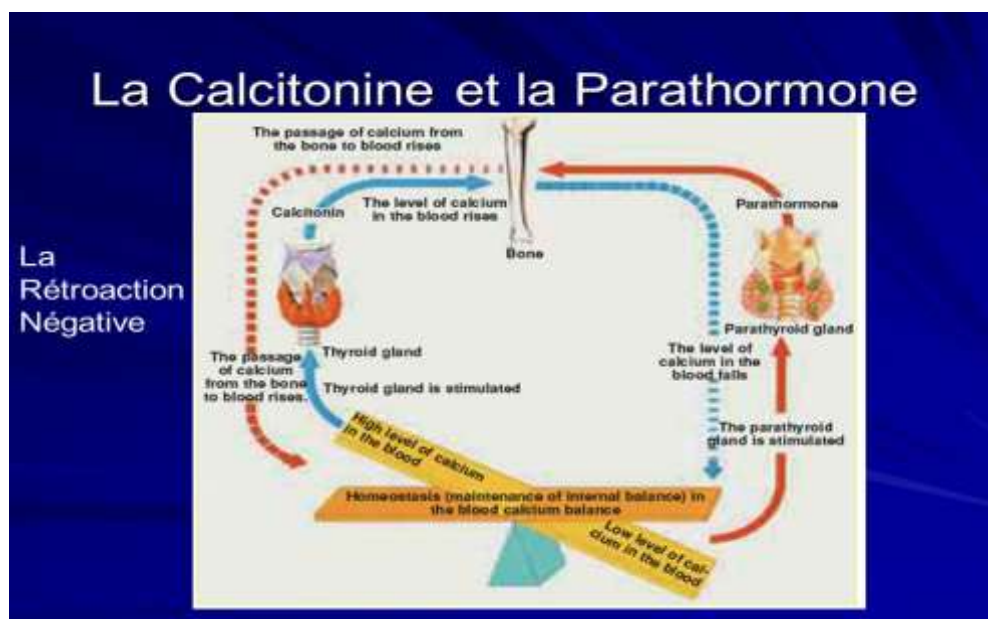


Figure 17: rôle de la PTH dans la régulation de la CT ^[114]

II.3.7.b. Effets du calcium

Le calcium est un sécrétagogue majeur de la CT. Il augmente très rapidement (2 minutes) le taux circulant de CT en augmentant la transcription du gène CALC I. Cette action post-transcriptionnelle est due à l'activation des réserves inertes d'ARNm de CT présentes dans la cellule C ^[109] (Figure 18).

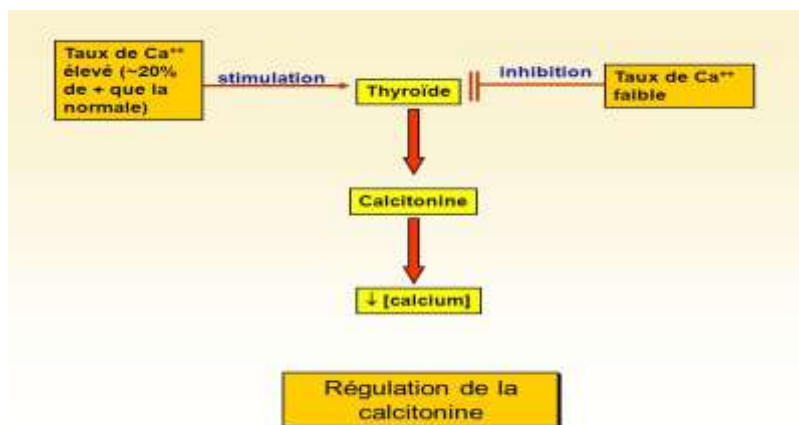


Figure 18 : rôle du calcium dans la régulation de la CT ^[115]

II.3.7.c. Effets des glucocorticoïdes

Une régulation de l'expression du gène CALC I et de la sécrétion de CT par les glucocorticoïdes a été observé, mais seulement dans un modèle de cellules tumorales dérivées d'un CMT ^[87]. En effet, six jours après addition de dexaméthasone dans le milieu de culture cellulaire, une augmentation de l'expression des ARNm spécifiques de la CT s'accompagnant d'une diminution de ceux codant-le CGRP a eu lieu. Cette réponse qui est dose-dépendante et la dexaméthasone, n'affecte pas la stabilité des ARNm, elle semble intervenir au niveau de l'épissage du gène CT/CGRP ^[116].

II.3.7.d. Autres facteurs de régulation

La sécrétion de CT est également régulée par les hormones gastro-intestinales, puisque l'on peut observer une augmentation de la concentration plasmatique de la CT par la gastrine la pancréozymine et le glucagon ^{[87][117]}.

II.3.8. Rôle physiologique de la calcitonine

La CT mature, produit final de la maturation du précurseur, est la principale responsable de l'activité biologique. L'amidation de sa portion C-terminale est importante notamment en diminuant son exposition à la protéolyse. L'action de la CT est liée à la localisation et à la nature de ses récepteurs ^[118]. Elle exerce des effets significatifs sur différents tissus et organes.

II.3.8.a. Action sur le métabolisme phosphocalcique

La CT exerce l'effet contraire de la PTH, elle est hypocalcémiant ^[119] et hypophosphorémiant ^[120]. Elle est sécrétée lorsque le taux de calcium dans le sang est trop élevé ^[86] (Figure 19)

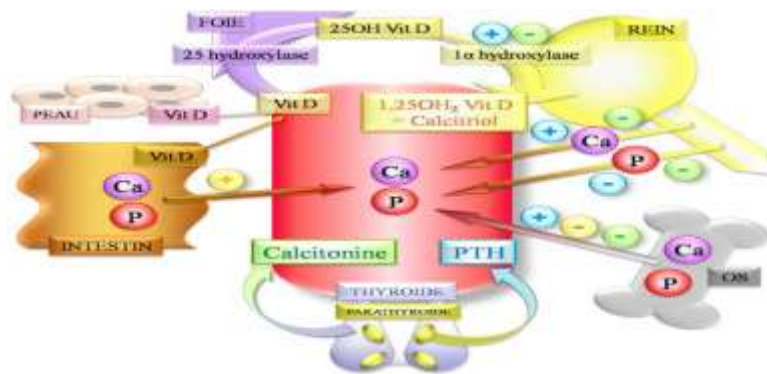


Figure 19: action de la CT sur le métabolisme phospho-calcique ^[121]

II.3.8.b. Action sur le métabolisme osseux (ostéoclastes)

Le rôle principal et le mieux étudié de la CT est sa capacité à inhiber la résorption osseuse ostéoclastique ^{[122] [117]} en inhibant les ostéoclastes qui en sont responsables. Ce rôle de conservation du calcium squelettique est particulièrement pertinent en cas de grossesse, d'allaitement et de croissance ^[123]. elle permet également la transformation des ostéocytes en ostéoblastes ^[122].

II.3.8.c. Actions sur le système nerveux central

il est important de souligner que la CT est sécrétée par des cellules localisées dans la crête neurale ayant un rôle dans la transmission neurale, la reconnaissance, la localisation des récepteurs et la nociception ^[124].

II.3.8.d. Action sur le système reproducteur

Des fonctions de la calcitonine tel que la croissance, la grossesse et l'allaitement ont été décrites ^{[125] [126]}.

Plus récemment, Zhu et al ^[127] ont montré que l'atténuation de l'expression du gène CT dans l'utérus de la mère enceinte a diminué l'Implantation embryonnaire.

II.3.8.e. Action sur le métabolisme hydro-électrolytique

La CT est importante dans le contrôle de l'eau et de l'électrolyte ainsi que la balance acide-base pendant des situations de stress pour empêcher la déshydratation ^[128].

II.3.8.f. Action sur le rein

Le rein est le principal site de dégradation de la CT par l'endopeptidase. L'effet de la CT sur le rein est de stimuler la diurèse et d'augmenter l'excrétion de sodium et de chlorure. De plus,

dans l'urine, l'excrétion du calcium et du phosphate augmente. Chez les patients avec une hypercalcémie et qui sont atteints d'une maladie osseuse métastatique, l'administration de CT induit une chute rapide du calcium sérique due principalement à l'inhibition de la réabsorption tubulaire rénale^{[129][95]}.

II.3.8.g. Action sur le système respiratoire

C'est dans le poumon que l'on trouve la plus importante réserve en CT. L'hormone est détectée dans les cellules neuroendocrines pulmonaires situées près de la membrane basale. Des cellules semblables sont situées dans la trachée et le larynx. Elles sont stimulées par la fumée de cigarette et par l'hypoxie, ce qui suggère que la CT joue un rôle dans la maturation et la physiopathologie pulmonaire. La CT modifie les mouvements de calcium trans- et intracellulaires et peut ainsi exercer des actions paracrines intrapulmonaires. L'inhibition par la CT de la synthèse des prostaglandines et des thromboxanes ainsi que l'augmentation de la production de prostacyclines par l'endothélium peut modifier les flux sanguins locaux. La CT peut augmenter la croissance cartilagineuse, et ainsi influencer la chondrogenèse de l'arbre bronchique. De plus, l'hormone interagit avec d'autres peptides, par exemple, elle bloque les effets bronchoconstricteurs du *peptide bombesin-like* et de la substance P^[95].

II.3.8.h. Action sur l'appareil gastro-intestinal

Chez l'homme, la CT à dose pharmacologique augmente la sécrétion gastrique et celle de pepsine, diminue l'amylase, le polypeptide pancréatique et module la motilité de l'intestin grêle. La sécrétion intestinale de potassium, chlorure de potassium, et d'eau est aussi augmentée par des taux élevés de CT ce qui expliquerait la diarrhée aqueuse du CMT. Des doses physiologiques de CT ne semblent pas modifier l'absorption intestinale de calcium et de phosphore^[130].

II.3.9. Dosage de la calcitonine

II.3.9.a. Recommandations pré-analytiques

II.3.9.a.1. Prélèvement

Le dosage se réalise préférentiellement sur sérum à jeun prélevé sur tube sec. La CT ne possédant pas de rythme circadien peut être prélevée à tout moment de la journée, mais à distance des repas pour éviter l'interférence potentielle de l'hypergastrinémie qui est responsable de faux positifs^[131].

II.3.9.a.2. Conservation et transport

La molécule de CT est facilement altérable à température ambiante notamment après 2h, Par conséquent, la mesure de la CT doit avoir lieu rapidement après l'échantillonnage sinon les sérums doivent être congelés à -20 voir -40°C, ils ne seront décongelés qu'au moment du dosage ^[132]. La CT peut supporter 3 à 4 cycles de congélation/décongélation ^{[131][133]}.

A titre indicatif et en fonction des méthodes de dosage lorsque la conservation des échantillons se fait entre 4 et 8°C, les taux de dégradation de CT peuvent atteindre 23% après 12h et jusqu'à 91% après 7 jours ^{[134][133]}.

Un taux de dégradation inférieur à 10% est considéré comme un indicateur de stabilité de la CT et de sa bonne conservation ^[135].

II.3.9.b. Dosage

II.3.9.b.1. Méthodes recommandées

Les premiers dosages de la CT étaient radio-immunologiques (RIA) ; ils étaient effectués par compétition (anticorps limitant), utilisaient des anticorps polyclonaux, mais présentaient des problèmes de spécificité car il reconnaissait aussi les précurseurs de la CT, comme la proCT. Pour pallier a cela, les immuno-dosages à deux sites et en deux étapes sont considérés comme étant plus précis pour mesurer les taux de CT dans le sérum. Idéalement, les deux anticorps devraient être monoclonaux, mais au moins un anticorps devrait être monoclonal pour donner une bonne spécificité au dosage ^[136]. Le premier anticorps de capture est fixé sur un support solide (tube ou cupule). Il est dirigé contre les parties 11–17 ou 11–23 de la molécule. Le second, dit de révélation, est dirigé contre les parties 21–32 ou 26–32 porte le marqueur. Les traceurs peuvent être isotopique (¹²⁵I), enzymatique ou luminescent. Certains dosages sont automatisés et tous se réfèrent à une courbe d'étalonnage ^[131].

Le dosage immunoradiométrique (IRMA), mis au point en 1988 par Motté (ELSA-hCT, Cis-Bio) ^[85], était un progrès notable car il permettait une détection spécifique de la CT monomère intacte. Il a été ensuite amélioré par une autre trousse du même fabricant (IRMA hCT Schering Cis-Bio International) dont les anticorps et le support ont été modifiés pour accroître encore cette spécificité. Cette technologie immunométrique IMA (immunometric assay) fut développée et il existe aujourd'hui des trousse qui utilisent des marqueurs luminescents ((Immunoluminometric assay), ces dosages sont automatisés et ne nécessitent pas de prétraitement de l'échantillon à doser, simplifiant encore le dosage de cette hormone ^[137].

II.3.9.b.2. Autres méthodes : chimiluminescence

Le développement des tests d'immunodosage par Electro-Chimi-Luminescence (ECL) repose sur l'utilisation d'un complexe de ruthénium et de tripropylamine (TPA). La réaction de chimiluminescence permettant la détection du complexe de réaction est initiée en appliquant une tension électrique à la solution échantillon, de sorte à obtenir une réaction contrôlée avec précision. La technologie ECL s'adapte à de nombreux principes d'immunodosage tout en offrant une excellente performance. Elle se déroule en 3 phases :

- Incubation (9 minutes) : Un échantillon de 50 μL est incubé avec un anticorps monoclonal spécifique anti-CT biotinylé et un anticorps monoclonal spécifique anti-CT marqué d'un complexe de ruthénium. Un complexe en sandwich se forme: la CT est couplée à la fois à un anticorps biotinylé et à un anticorps ruthénylé.
- Incubation (9 minutes) : Après ajout de microparticules enrobées de streptavidine, le complexe se lie à la phase solide en raison de l'interaction biotine-streptavidine.
- Mesure : Le mélange réactionnel passe dans la cellule de dosage, où les microparticules sont immobilisées magnétiquement à la surface de l'électrode. Les substances non fixées sont alors évacuées. L'application d'une tension électrique à l'électrode induit alors une émission chimiluminescente qui est mesurée à l'aide d'un photomultiplicateur ^[138] (Figure 20)

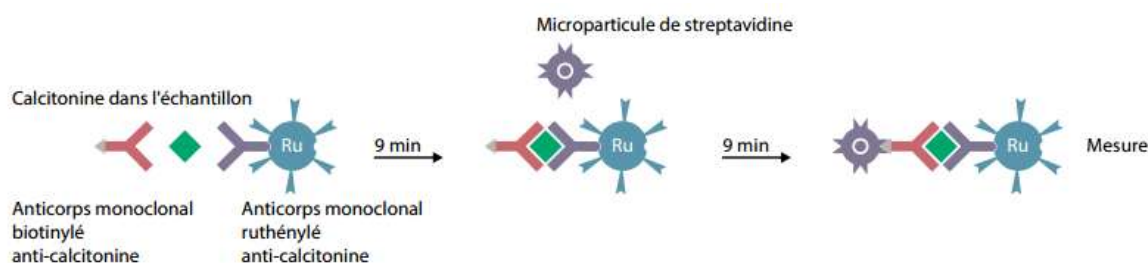


Figure 20: principe du test immunologique par chimiluminescence selon la méthode sandwich en une seule étape ^[138]

II.3.9.c. Artefacts potentiels de dosage

Plusieurs facteurs physiologiques et pathologiques peuvent être associés à une augmentation des taux de CT tels que le tabagisme, l'insuffisance rénale et le CMT, cependant, une autre cause non rare, mais couramment sous-estimée de l'hyperCT secondaire, est l'interférence de

lors de l'immunodosage qui peut être due a des anticorps hétérophiles, un effet crochet ou a une macrocalcitonine ^{[136][139][140]}.

II.3.9.c.1. Les anti-corps hétérophiles

Les anticorps hétérophiles sont des anticorps humains anti-animaux des classes IgG, IgA, IgM ou IgE. Les anticorps hétérophiles naturels sont présents chez tous les individus et leur présence est indépendante de l'âge de la personne. Des anticorps hétérophiles ont été retrouvés chez 40% des personnes en bonne santé, et peuvent persister dans le sang pendant plusieurs mois après l'exposition à des immunoglobulines animales ^[139].

Lors des dosages immuno-métriques, ces anticorps hétérophiles peuvent former un pont entre les anticorps de capture et de signal, conduisant à des résultats faussement positifs en l'absence de l'analyte cible. Ou, si l'échantillon contient des taux élevés d'analyte, la présence d'anticorps hétérophiles peut générer des résultats faussement négatifs en bloquant le site de liaison de l'antigène sur l'anticorps de capture, empêchant toute liaison de se faire ^[140].

Pour réduire ce type d'interférence, tous les réactifs contiennent désormais un agent bloquant non spécifique de type sérum animal ^[131] (Figure 21).

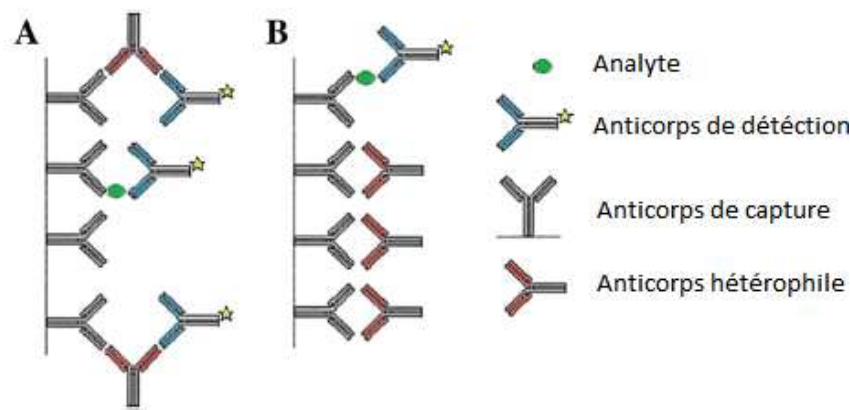


Figure 21: mécanisme d'interférences des anticorps hétérophiles ^[140]

A : interférence donnant des faux positifs / B : interférence donnant des faux négatifs

II.3.9.c.2. L'effet crochet

Si l'antigène (la CT) se trouve à des concentrations extrêmement élevées, les anticorps de capture et de signal se saturent de l'antigène, empêchant le sandwich de se former. Lorsque la phase liquide est éliminée, la plus grande partie de l'antigène est perdue avec les anticorps signal, de sorte que la concentration d'antigène résultante est faussement faible. Il s'agit de ce

que l'on appelle «l'effet de crochet» et il ne peut se produire que lors des immuno-dosages à une étape, à deux sites, donnant un signal bas lorsque la concentration de l'analyte cible est très élevée ^[136].

II.3.9.c.3. Macro-calcitonine

Ce phénomène a déjà été décrit pour certaines protéines et peptides, et il est dû à la formation de macroagrégats entre la CT et les immunoglobulines principalement de type IgG et qui sont dirigées contre la CT amenant a des résultats faussement négatifs ^[140].

II.3.9.d. Tests de stimulation

L'administration de sécrétagogues puissants, tels que le calcium intraveineux ou la pentagastrine, peut augmenter la sensibilité du dosage de la CT sérique ^[141]. Certains auteurs estiment que la sensibilité des méthodes actuelles de dosage de CT est telle que les tests de stimulation ne sont plus nécessaires; Cependant, d'autres considèrent que les tests de stimulation sont utiles pour :

- déterminer le moment de la thyroïdectomie chez les enfants porteur d'un allèle du gène RET muté.
- l'évaluation de patients présentant un CMT résiduel ou récidivant après thyroïdectomie.
- la détection de CMT chez des patients avec des goitres nodulaires avec des valeurs de CT légèrement élevées ^{[142][143]}.

Il semble essentiel que les cliniciens qui utilisent ces tests établissent des lignes directrices claires pour les niveaux sériques anormaux de CT après stimulation; une tâche d'autant plus difficile que l'établissement de références pour les niveaux anormaux de CT de base.

Il est a noté que pour garantir des résultats fiables, tout médicament qui peut influencer les niveaux sériques de CT (Tableau V), tels que les inhibiteurs de la pompe à protons, devrait, si possible, être interrompu pendant au moins 1 semaine afin d'exclure toute influence sur les tests ^[132].

II.3.9.d.1. Test a la pentagastrine

La pentagastrine Stimule la sécrétion de la CT après une injection en IV : on utilise le Peptavlon®, analogue synthétique de la gastrine qui est un puissant sécrétagogues de la sécrétion de CT. Une réponse de la CT à la pentagastrine est classiquement pathognomonique du CMT ^[70].

II.3.9.d.1.1. Déroulement du test

- Malade étant à jeun depuis 12h
- Durée de 15 minutes
- Injection IV de 0,5 µg/Kg Peptavlon® soit 0,002 mL par Kg de poids
- L'injection doit durer aussi exactement que possible 3 minutes, soit 0,3 mL par minute.
- Prélèvements (tube sec-5 mL) aux temps suivants :
 - -5 min et temps 0 : temps témoin
 - +3 min (exactement à la fin de l'injection) : pic de CT
 - +5 min (2 min après la fin de l'injection) : temps de récupération
 - +10 min : temps non indispensable : éventuel contrôle ^[70].

II.3.9.d.1.2. Effets indésirables

Des troubles digestifs a type de crampes, nausées, voire vomissements on été décrits, associés ou non à une tachy- ou bradycardie, hypotension, troubles visuels. Il faut prévenir le sujet de la possibilité de lourdeur des jambes, sensation de chaleur cervicale, contractions œsophagiennes ou gastriques, malaise ^[70] la rétrocession des troubles est rapide dès la fin de la stimulation.

II.3.9.d.1.3. Interprétation

Un taux de CT après le test de stimulation a la PG se situant entre 30 et 100 pg/mL est indicatif d'un CMT possible ^[70] ^[56]. Si le taux de CT excède 100pg/mL ceci est hautement prédictif d'un CMT (avec une sensibilité de 90.5% et une spécificité de 80.6%) ^[144].

II.3.9.d.2. Test au gluconate de calcium

Le Gluconate de calcium est une hormone synthétique qui stimule les cellules C de la glande thyroïde à produire de la CT qui est ensuite libérée dans le sang. Après avoir administré le Gluconate de calcium, quelques échantillons de sang seront prélevés afin de mesurer la CT ^[145]. La dose élevée de calcium est un stimulant de la CT plus puissant et mieux toléré que la pentagastrine ^[146].

II.3.9.d.2.1. Déroulement du test

- Malade étant à jeun depuis 12h
- Gluconate de calcium administré par voie intraveineuse immédiatement après le premier prélèvement de sang.

- Injecter 2,5 mg / Kg de calcium en tant que gluconate de calcium 10%, a une vitesse d'injection de 10 mL/min ^[132].
- Échantillons de sang prélevés 1, 2, 3, 5, 10 et 15 minutes via le cathéter intraveineux après l'injection du Gluconate de calcium ^[145].

II.3.9.d.2.2. Effets indésirables du test

Les principaux effets indésirables signalés sont la paresthésie des extrémités et / ou des lèvres, la sensation de chaleur, le flush et une sensation de goût crayeux.

Il est bien connu que l'administration intraveineuse rapide de calcium peut causer une vasodilatation, une diminution de la pression artérielle, une bradycardie, des arythmies cardiaques, une syncope et même si cela est rare, ces effets indésirables possibles doivent être pris en considération car ils sont potentiellement mortels. Par conséquent, des procédures appropriées (y compris une surveillance cardiaque continue) doivent être mises en œuvre pour garantir une intervention rapide en cas d'événement cardiovasculaire défavorable. Une procédure plus lente de perfusion de calcium devrait être évaluée ^[147].

II.3.9.d.2.3. Interprétation

L'interprétation des résultats pour ce test est difficile et nécessite de plus grandes études prospective ^{[132][143]}.

II.3.9.e. Dosage de la calcitonine dans le liquide de rinçage des aiguilles de ponctions

La CT sérique est l'outil de diagnostic le plus sensible pour le CMT, mais il n'est pas utile pour la localisation des tumeurs, des récurrences et des métastases, contrairement à la ponction à l'aiguille fine qui permet à la fois l'étude anatomo-pathologique des lésions et le dosage de la CT au sein de ces mêmes lésions et qui serait hautement prédictif d'un CMT ^[148] ; Cependant, même si l'intérêt de la mesure de la CT dans le liquide de rinçage de l'aiguille de ponction semble évident, le seuil de positivité n'a pas encore été défini et la comparaison aux taux sérique de CT permet une interprétation adéquate ^[131] quant aux questions de rentabilité, celles-ci devraient faire l'objets d'investigations ultérieures ^{[149][150]}.

II.3.9.e.1. Déroulement de la ponction

La ponction à l'aiguille fine peut se faire soit à l'aide de la palpation et/ou sous contrôle échographique (recommandé), soit guidée par ultrasonographie, qui est bien que plus onéreuse et moins rapide, mais permet en même temps d'évaluer les caractéristiques du

nodule et la présence éventuelle d'autres lésions locorégionales (par exemple : autre nodule thyroïdien, adénopathie) et de les ponctionner par la même occasion ^[151]. Trois à quatre ponctions sont généralement effectuées par nodule, à l'aide d'une aiguille de 22-24 gauge. La plupart des ponctions à l'aiguille fine sont bien tolérées et ne sont pas associées à un inconfort ou à une douleur significative. Les complications sont rares, généralement mineures et essentiellement sous la forme d'un hématome transitoire. L'aiguille est ensuite rincée dans 1mL d'eau pour préparation injectable. L'évaluation immédiate du matériel prélevé optimise le rendement de cette procédure diagnostique et permet d'organiser rapidement la suite de la prise en charge du patient ^{[151][152]}.

II.3.9.f. Association du dosage de la calcitonine a d'autres marqueurs

Le dosage de la CT peut être associé au dosage d'autres marqueurs L'antigène carcino embryonnaire (ACE) est un marqueur non spécifique et moins fiable que la CT. Il peut être un marqueur de dédifférenciation d'un CMT et à ce titre un marqueur de mauvais pronostic ^[153].

La proCT est potentiellement un autre marqueur de CMT avec des performances diagnostiques un peu inférieures à celle-ci car son taux s'élève lors des sepsis. En revanche le rapport PCT/CT est un facteur pronostique des CMT ^[154].

II.3.10. Indications du dosage de la calcitonine

II.3.10.a. Dépistage du CMT

Le dosage de la CT est indiqué pour confirmer le diagnostic du CMT qu'il soit héréditaire chez une famille porteuse d'une mutation du proto-oncogène RET ou sporadique, suite a des manifestations cliniques caractéristiques ^[46]. Les niveaux de CT de base sont en corrélation avec la taille de la tumeur et le stade de la maladie ^[155]. Il a été rapporté que la valeur prédictive positive (PPV) de la CT de base pour le diagnostic de CMT était de 8% lorsque la CT était comprise entre 20 et 50 pg / ml, 25% entre 50 et 100 pg / ml et 100% lorsque la CT était supérieure à 100 pg / ml lorsqu'elle est associée a un nodule thyroïdien ^[78].

II.3.10.b. Suivi des CMT opérés

Le dosage de la CT est préconisé lors du suivi post opératoire des CMT pour s'assurer de l'efficacité du traitement et le dépistage d'éventuelles maladies résiduelles et/ou récidives ^{[47][48][78]}.

II.3.10.c. Dépistage en maladie thyroïdienne nodulaire

Le dosage de la CT est aussi utilisé en dépistage de maladie thyroïdienne nodulaire s'il ya suspicion de malignité et de principe avant toute chirurgie pour goitre nodulaire ^[471] ; dans ce cas, la valeur diagnostique d'un taux accru de la CT basale est à apprécier en comparaison au volume du nodule, et en confrontation avec les données de l'examen cytologique, voire immuno-cytochimique ^[148], aussi l'élimination de facteurs pouvant influencer le taux de CT sérique est indispensable ^[156] (Tableau V).

Les mesures de routine des taux sériques de CT pour la prise en charge des nodules sont très controversées, mais devraient être considérées comme faisant partie intégrante de l'évaluation diagnostique des nodules thyroïdiens ^[157].

II.3.11. Valeurs de référence et interprétation des résultats

Les valeurs de référence de la CT en base (bCT) pour les trousse Elsa-CT et IRMA hCT (Cis Bio-international France) sont inférieures à 10 pg/mL pour les adultes hommes et femmes ^[70].

Les principaux facteurs pouvant influencer le taux de CT sérique et créer des hypercalcitoninémies non dues à des CMT sont réunis dans le (Tableau V) . Certains auteurs privilégient la dissociation des normes hommes et femmes qui ont montré que globalement, le contingent de cellules C chez l'homme est le double de celui de la femme ^{[158][159][160]}. Chez les plus jeunes le taux est légèrement plus élevé, il est utilisé pour les enfants de moins de 6 mois un taux de référence allant jusqu'à 40 pg / mL et un taux de 15 pg / mL chez les enfants entre 6 mois et 3ans ^[161].

Costante et al. ont trouvé une valeur prédictive positive de CMT à 100 % pour un taux de CT de base au moins égal à 100 pg/mL. Les patients ayant un microCMT (taille < 1 cm) ont des concentrations de CT de base généralement comprises entre 5 et 100 pg/mL ^[162].

Il est important de souligner qu'une CT basale > 10 pg/mL ne signifie pas obligatoirement la présence d'un CMT surtout si elle est < 50 pg/mL et ne permet pas non plus de discriminer une HCC et un micro CMT ^[70] il est alors nécessaire de la contrôler sur un second prélèvement, de vérifier la trousse utilisée pour le dosage a cause de l'existence de variabilités amenant a des valeurs de référence propres a chacune d'entre elles, les cliniciens devraient alors être informés a chaque changement de trousse ^[140], enfin il faut s'assurer de l'absence de facteurs favorisant une hypercalcitoninémie ^[131] (Tableau V) .

Tableau V : Facteurs pouvant influencer le taux de CT sérique ^{[131] [140] [158]}

Facteurs liés au patient	<p>Sexe (homme)</p> <p>Age et poids (indice de masse corporelle [IMC]) surpoids</p> <p>Tabac/alcool</p> <p>Alimentation</p>
Facteurs liés à une tumeur endocrine extra-thyroïdienne	<p>Tumeur carcinoïde bronchique et digestive.</p> <p>Tumeur pulmonaire à petites cellules.</p> <p>Autre tumeur neuro-endocrine (phéochromocytome).</p>
Facteurs d'origine fonctionnelle	<p>Hypergastrinémie due à la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons, ou à une gastrite fundique atrophique, ou à un gastrinome.</p> <p>Insuffisance rénale.</p> <p>Pseudo-hyperparathyroïdie de type 1A.</p>
Par hyperplasie des cellules C réactionnelles	<p>A une maladie thyroïdienne auto-immune.</p> <p>A un cancer thyroïdien différencié de souche vésiculaire.</p> <p>Au tabac.</p>
Facteurs liés aux dosages (interférences)	<p>Présence d'anticorps hétérophiles.</p> <p>Sepsis (élévation massive de proCT).</p>
Médicaments	<p>Glucocorticoïdes.</p> <p>Inhibiteurs de la pompe a protons.</p> <p>Glucagon.</p> <p>Béta bloquants.</p>

III. Partie pratique

III.1. Matériels et méthodes

III.1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective visant à comparer deux trousse de dosage de la thyrocalcitonine: la trousse CISBIO International IRMA VS la trousse BECKMAN-COULTER-IRMA .

III.1.2. Population d'étude

Les patients ont été prélevés au niveau du laboratoire d'exploration in-vitro du service de médecine nucléaire du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen.

Ont été inclus dans cette étude:

- des patients suivis dans le cadre du dépistage ou du diagnostique d'un CMT
- des patients porteurs de CMT opéré
- des sujets supposés sains de toute hypercalcitoninémie.

III.1.3. Critères d'inclusion

- Patients orientés pour dosage de CT sérique.

III.1.4. Critères de non inclusion

- Patients n'étant pas à jeun lors du prélèvement.
- Consommation de tabac et/ou d'alcool.
- Les femmes enceintes.
- Les insuffisants rénaux.

III.1.5. Ethique

Les sujets éligibles ont été informés du protocole de l'étude et un consentement oral, libre et éclairé a été obtenu.

III.1.6. Recrutement des patients

Les patients inclus dans l'étude ont été sollicités pour un interrogatoire préliminaire visant à écarter toute cause d'hypercalcitoninémie fonctionnelle. Une fois les critères remplis et le consentement des patients obtenu, ces derniers ont été prélevés.

III.1.7. Recueil des données

Le recueil des données cliniques et anamnestiques s'est fait à l'aide d'un formulaire de recrutement (annexe).

III.1.8. Nombre de patients

Un total de 66 échantillons a été inclu sur une période de huit mois ; du 25/09/16 au 24/05/17.

III.1.9. Prélèvement et conservation des échantillons

Les prélèvements sanguins ont été réalisés, à jeun, sur 3 tubes secs, puis centrifugés, aliquotés et immédiatement congelés à -20°C . Les sérums ont subi un seul cycle de décongélation le jour même du dosage, à température ambiante.

III.1.10. Dosage de la Calcitonine

Il s'agit d'un dosage manuel radio-immunologique de type sandwich utilisant des anticorps dirigés contre deux épitopes différents de la molécule de CT, et réagissant sans compétition. L'échantillon est d'abord mis en présence du premier anticorps. Après incubation et aspiration, est rajouté le second anticorps monoclonal, cette fois-ci marqué à l'¹²⁵I la radioactivité liée est alors mesurée. La quantité de radioactivité fixée est directement proportionnelle à la concentration en CT de l'échantillon mesurée par le compteur gamma qui est un outil de mesure de l'intensité des rayonnements gamma essentiellement utilisé dans le domaine de la bio analyse.

Sur le même sérum, réparti en plusieurs aliquotes, ont été dosées séparément :

- La CT avec la trousse CISBIO International IRMA.
- La CT avec la trousse BECKMAN COULTER- IRMA.
- les dosages ont été effectués le même jour et par le même manipulateur. Un test d'imprécision a été évalué pour l'ensemble des échantillons sur les 02 trousses en faisant 03 lectures /jour pendant 03 jours pour chacune des trousses.
- Pour éviter tout risque de surestimation de la concentration de la thyrocalcitonine due à la contamination radioactive, les lectures ont été faites sur les mêmes portes-tubes pour les 02 trousses.
- Tous les sérums, standards et contrôles ont été dosés en double (1 contrôle pour CISBIO International IRMA et 2 pour BECKMAN-COULTER)

- Les lectures ont été faites sur un compteur gamma de marque PERKIN-ELMER à 05 détecteurs à raison de 60 secondes par tube.

III.1.11. Critères d'exclusion

Les échantillons présentant un trouble, une hémolyse, une hyperlipémie ou contenant de la fibrine et qui peuvent donner des résultats inexacts ont été écartés ce qui a réduit notre échantillon de 130 sérums à 66 sérums

III.1.12. Seuil de positivité

- Pour la trousse de référence CISBIO International IRMA : un seuil ≥ 10 pg/mL est considéré comme positif.
- Pour la trousse BECKMAN-COULTER-IRMA : le seuil de positivité est sexe-dépendant, les normes sont comprises entre :
 - Hommes : [1.9-9.6]pg/mL
 - Femmes : [0.5-7.8]pg/mL

III.1.13. Caractéristiques des trousse de dosage

Les deux trousse possèdent les caractéristiques suivantes :

CARACTERISTIQUES	IRMA Fabricant CIS-BIO International	IRMA Fabricant Beckman Coulter
Principe	Sandwich	Sandwich
Ac monoclonaux	<ul style="list-style-type: none"> • Tubes revêtus d'AC monoclonaux Anti-hCT • Anticorps monoclonal Anti-hCTradiomarké à l'iode 125 	<ul style="list-style-type: none"> • Tubes revêtus d'AC monoclonaux Anti-hCT • Anticorps monoclonal Anti-hCTradiomarké à l'iode 125
Contrôle	<ul style="list-style-type: none"> • 11,6 +/- 1.74 pg/mL 	<ul style="list-style-type: none"> • 41.8+/-10.5 pg/mL • 95.0+/-14.4 pg/mL
Calibrateurs	05 calibrateurs : <ul style="list-style-type: none"> • 7.9 • 31 • 110 • 710 • 1400 	01 Blanc + 05 calibrateurs : <ul style="list-style-type: none"> • 7.6 • 29 • 50 • 159 • 740
Plage de mesure	[0 – 1530] pg/mL	[0 –674] pg/mL
Temps d'incubation	incubation : 20-24h à température ambiante (18-25°C).	incubation : 18h à 2-8°C
Sensibilité analytique	1,5 pg/mL.	0.9 pg/mL
Sensibilité fonctionnelle	4 pg/mL	Non définie
Coût	2,5 fois	01 fois

III.1.14. Contrôle de qualité des dosages

Les sérums contrôles fournis par les 02 trousse, ont été utilisés dans chaque série de dosage avec respectivement 01 seul niveau de contrôle pour BECKMAN -COULTER et 02 niveaux pour CISBIO International). Ces échantillons ont été traités de la même façon que les sérums de patients (dosés en double) et positionner de manière aléatoire au sein de la série de dosage.

III.1.15. Analyse statistique des données

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique par le logiciel SPSS version.21 et le logiciel XLSTAT.

- Le test paramétrique bivarié de Pearson a été appliqué pour évaluer le degré de corrélation (r^2) des variables quantitatives.
- Pour comparer la différence des moyennes, le test de Bland-Altman pour échantillons appariés a été utilisé.
- Aussi, afin d'évaluer la linéarité des valeurs obtenus sur les 02 trousse, la droite de régression de Passing-Bablok (test bilatéral) a été réalisée.
- Une courbe ROC a également été pratiquée, afin de tester la sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) de la trousse hTC-IRMA de BECKMAN COULTER au seuil de 10pg/mL, correspondant au seuil de référence de la trousse CISBIO International IRMA prise comme gold standard.

III.2. Résultats

III.2.1. Description de la population d'étude

III.2.1.a. Le sexe

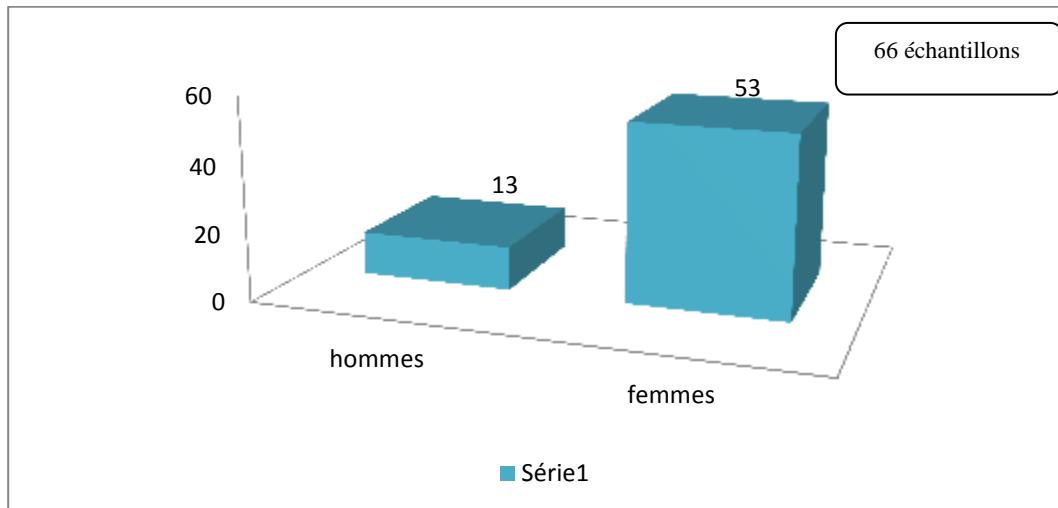


Figure 22: histogramme représentatif de la répartition de la population selon le sexe

Sur les 66 échantillons analysés, on note 53 femmes (80%) et 13 hommes (20%). Ceci correspond à un sexe ratio de 0,24.

III.2.1.b. L'âge

Tableau VI: moyenne d'âge Hommes-Femmes de la population étudiée

Sexe	Homme	Femme
Moyenne d'âge	49	51

III.2.1.c. Moyennes des valeurs de CT en fonction du sexe

Tableau VII: Moyennes des valeurs de CT en fonction du sexe

moyenne de CT hommes CISBIO International IRMA	102,39pg/mL
Moyenne de CT femmes CISBIO International IRMA	40,53pg/mL
moyenne de CT hommes BECKMAN-COULTER	189,62pg/mL
Moyenne de CT femmes BECKMAN-COULTER	108,41pg/mL

La moyenne de CT obtenu sur les deux trousse chez les hommes est supérieure à celle des femmes.

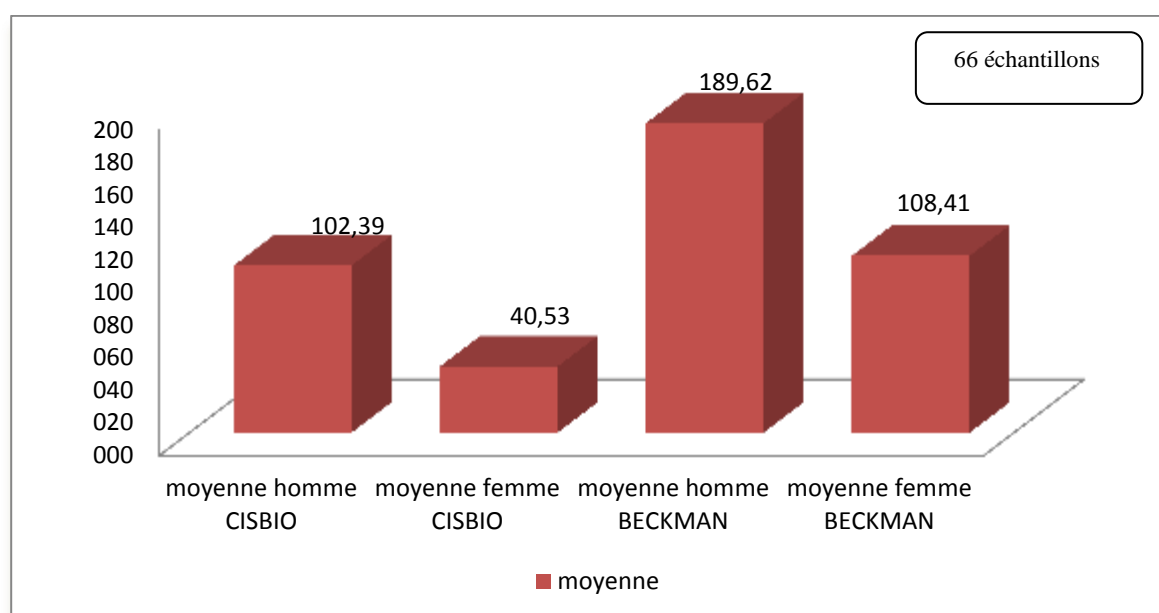


Figure 23: histogrammes des moyennes de CT obtenues par les deux trousse chez les hommes et les femmes

III.2.1.d. Répartition des échantillons en fonction du seuil de CT (10pg/mL)

N < 10 pg/mL CISBIO International IRMA	60
N < 10 pg/mL BECKMAN-COULTER	52
N > 10 pg/mL CISBIO International IRMA	6
N > 10 pg/mL BECKMAN-COULTER	14

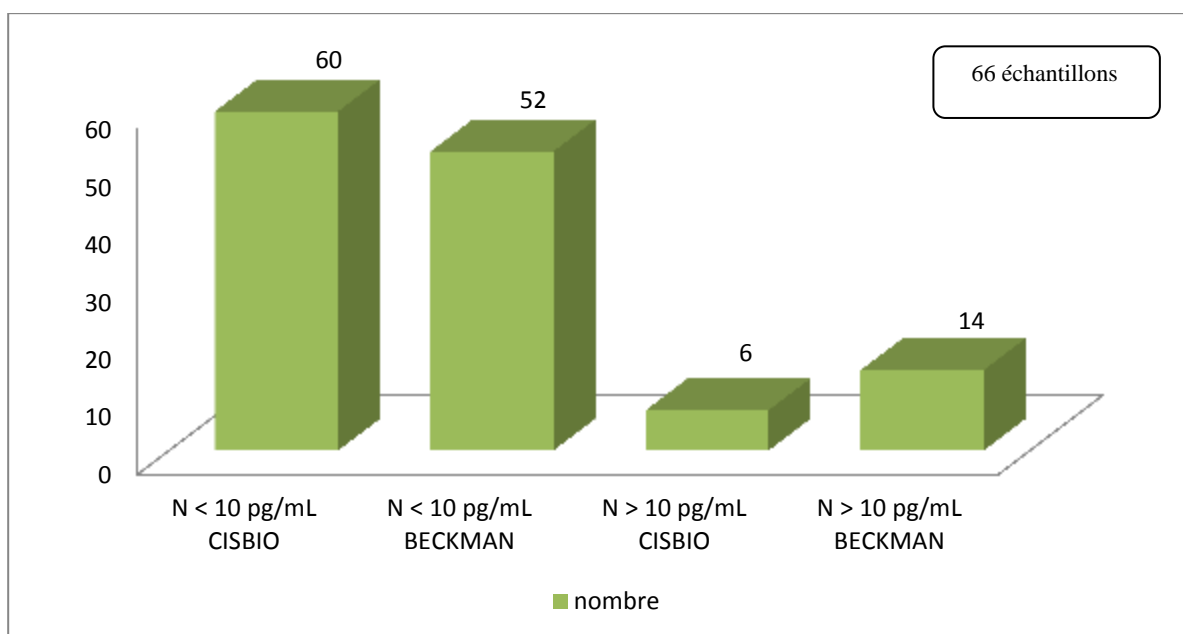


Figure 24:répartition des patients en fonction du seuil de référence (10 pg/mL)

Par rapport au seuil de positivité de la trousse de référence (10 pg/mL), le nombre de patients positifs avec BECKMAN-COULTER (14/66) est nettement supérieur à celui de CISBIO international (6/66).

III.2.2. Statistique descriptive

Tableau VIII:statistique descriptive de l'échantillon

Variable	N	Min (pg/mL)	Max (pg/mL)	Moyenne	Ecart-type
BECKMAN -COULTER	66	2,99	4768,76	124,4639	634,56374
CISBIO International IRMA	66	4,76	1002,18	52,6320	192,11619

La valeur minimale obtenue par la trousse BECKMAN-COULTER est de 2,99 pg/mL contre 4,76 pg/mL avec CISBIO international IRMA, ainsi qu'une moyenne de 52,63 pg/mL avec CISBIO international IRMA face a 142,46 pg/mL avec BECKMAN-COULTER.

III.2.3. Test d'imprécision (répétabilité)

Tableau IX: Coefficient de variation intra-essai

N	TROUSSE	N de lectures sur 3 jours	CV (%) intra-essai
66	CISBIO International IRMA	09	< 10%
66	BECKMAN-COULTER	09	< 10%

Le test de répétabilité a révélé un CV < 10% pour les 02 trouses.

III.2.4. Test de corrélation

III.2.4.a. Test paramétrique de Pearson (N = 66)

Tableau X: test paramétrique de Pearson

Variable	TrousseCISBIO International IRMA	Trousse BECKMAN-COULTER
Corrélation de Pearson BECKMAN COULTER	1	0.842
Corrélation de Pearson CISBIO International IRMA	0.842	1
p-values (sig. bilatéral)	0,000 (<0,05)	

Il existe une forte corrélation entre les 02 trouses et de manière significative

($r=0,84$, $p < 0,05$).

III.2.5. Comparaison des différences de moyennes

III.2.5.a. Diagramme de Bland-Altman

Analyse de Bland-Altman P-value (bilatérale) =0,23.

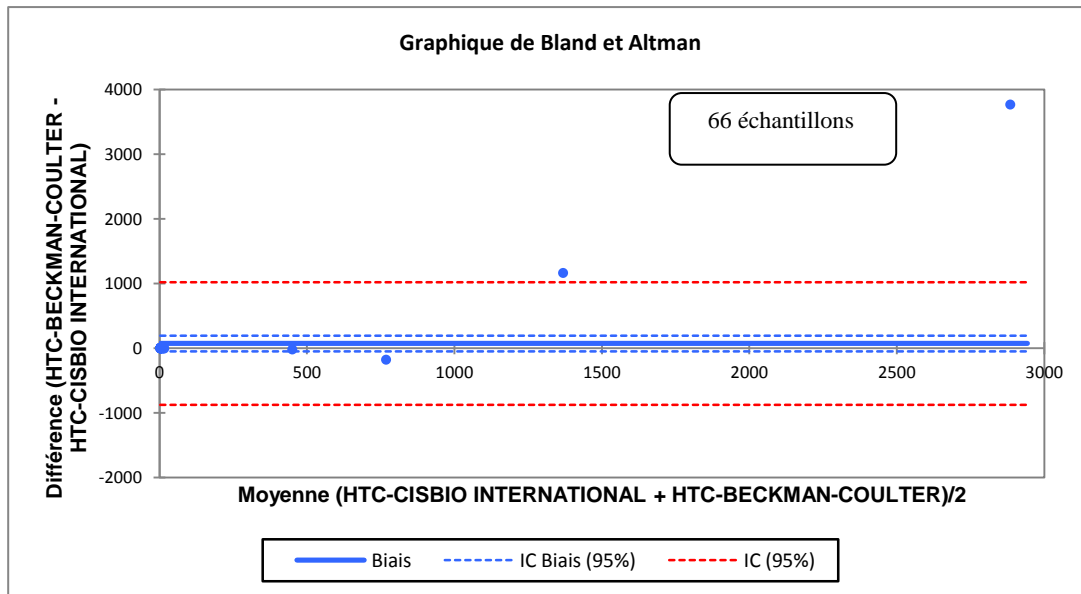


Figure 25 : diagramme de Bland-Altman

La courbe de Bland Altman a été utilisée pour comparer les deux moyennes obtenues par les deux trouses .

III.2.5.b. Test échantillons appariés (différences de moyennes)

Test échantillons appariés (différences de moyennes)								
Variables	Différences appariées					t	ddl	Sig. (bilatérale)
	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
				Inférieure	Supérieure			
Paire 1 BECKMAN.COUL TER – CISBIO	71,83197	483,94427	59,56942	-47,13638	190,8003 2	1,206	65	,232

La différence des moyennes obtenues par le test d'échantillons appariés sur les 02 troussees n'a retrouvé aucune différence significative ($p=0,23 > 0,05$).

III.2.6. Distribution des valeurs de CT

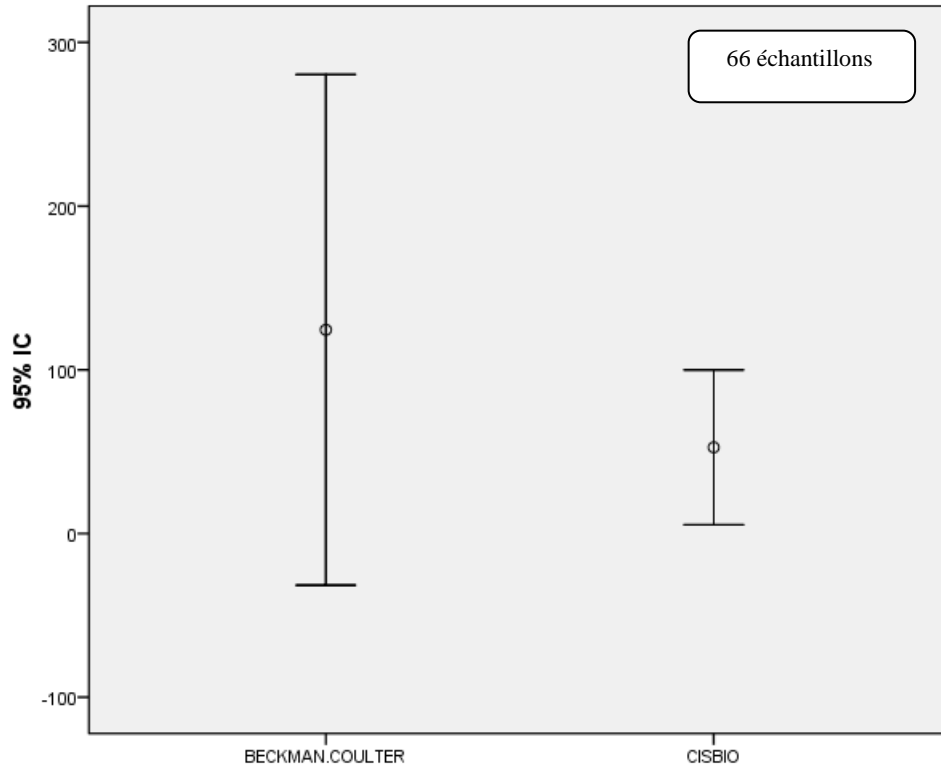


Figure 26: distribution de 95% des concentrations par les deux trouses

III.2.7. Test de linéarité : Droite de régression de Passing-Bablok

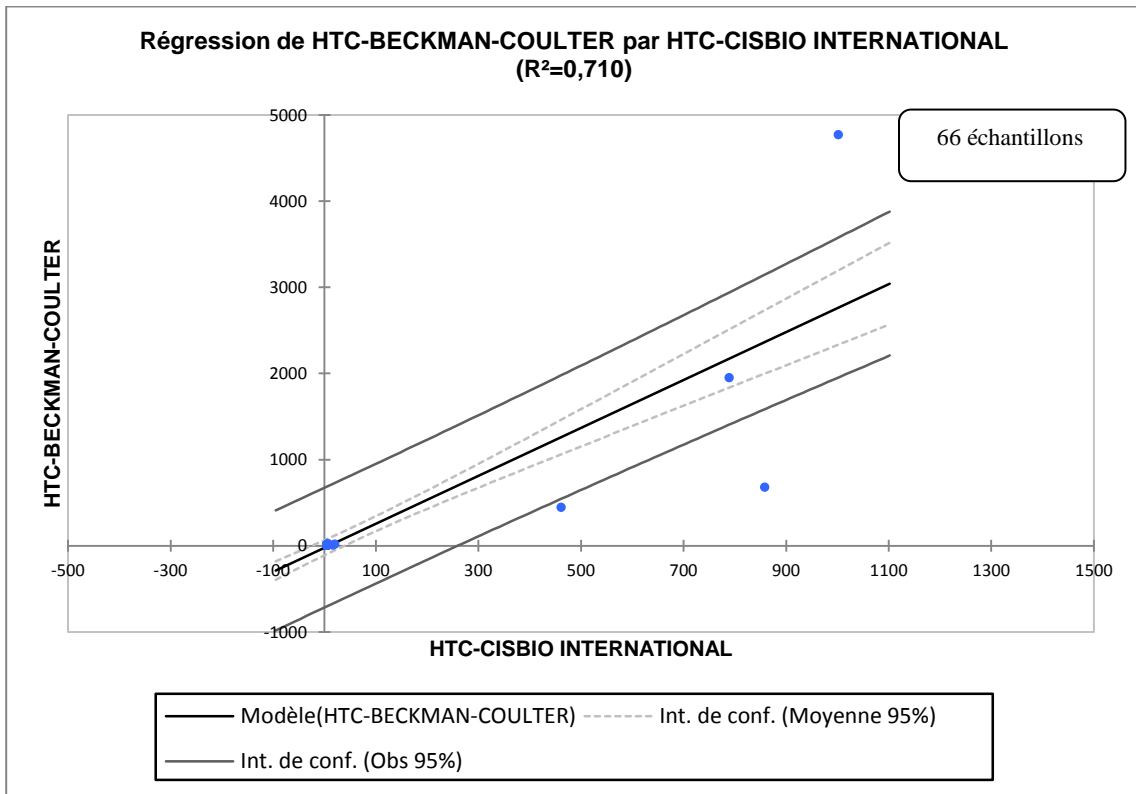


Figure 27: Droite de régression de Passing-Bablok

III.2.7.a. Test de linéarité / (Test bilatéral)

Test de linéarité / (Test bilatéral)	
Max (Cusum) (Valeur observée)	7,000
Max (Cusum) (Valeur critique)	11,033
p-value (bilatérale)	0,448
alpha	0,05

Le test de linéarité a conclu à une bonne linéarité de la plus part des valeurs avec un p-value à $0,44 > 0,05$.

III.2.8. Courbe R.O.C

Tableau XI:Résumé Récapitulatif du traitement des observations

Etat CISBIO Internatiional IRMA (Seuil 10pg/ml)	N valide (incomplet)
Positif	06
négatif	60

Zone sous la courbe

Variable(s) de résultats tests: BECKMAN.COULTER

Zone sous la courbe 0,872

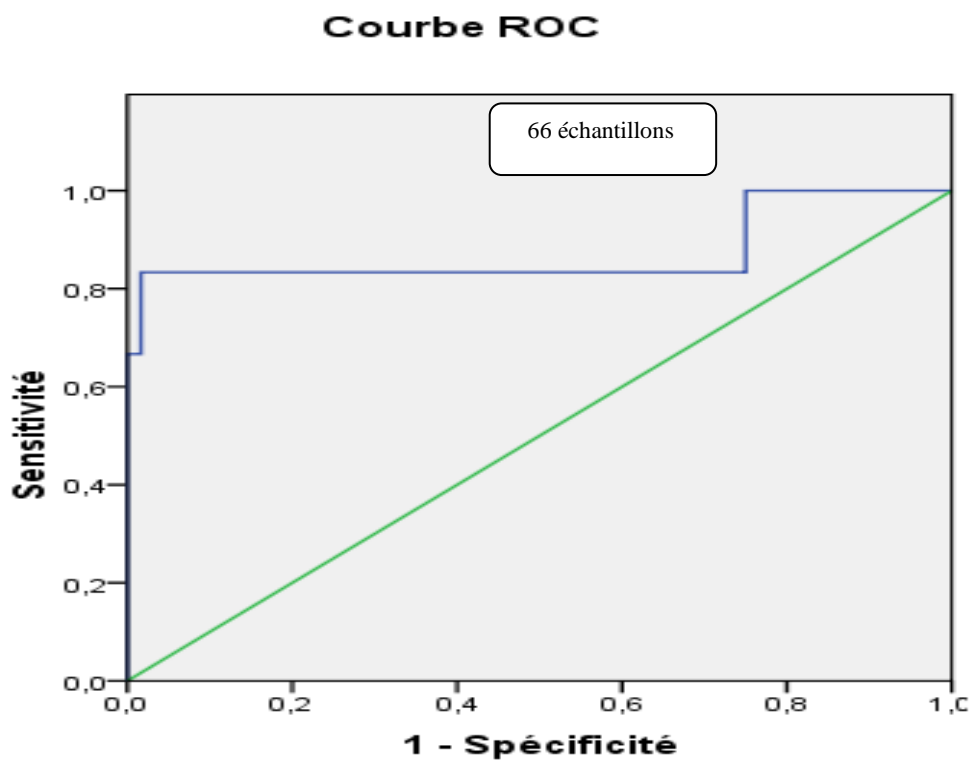


Figure 28: courbe R.O.C

Le seuil de CT qui donne la meilleure sensibilité (83%) et la meilleure spécificité (98%) pour BECKMAN-COULTER est de 13,69 pg/mL.

III.3. Discussion

La calcitonine est une hormone hypocalcémisante constituée de 32 acides aminés^[91] et produite par les cellules C parafolliculaire de la glande thyroïde. Etant un marqueur tumoral de diagnostic et de suivi, l'irrégularité de sa sécrétion doit faire évoquer la possibilité d'un CMT^{[46][47][48]}.

Le dosage biologique de la CT effectué au niveau du laboratoire du service de médecine nucléaire -CHU Tlemcen-, se fait habituellement par la trousse CIS BIO International IRMA considérée comme « gold standard ». Dans le but d'introduire une alternative à cette dernière, tout en évaluant le rapport cout/ efficacité, nous avons comparé les résultats de CT obtenus avec la trousse de référence à ceux obtenus avec la trousse de BECKMAN-COULTER-IRMA.

Au cours de ce travail, un échantillon de 66 sérums de CT a été dosé simultanément par la trousse CIS BIO International IRMA et la trousse BECKMAN-COULTER-IRMA.

Il nous semble pertinent de débiter notre discussion en mettant en avant les limites de notre étude à savoir : la taille restreinte de notre échantillon et de ce fait celui de cas confirmé de CMT et ce compte tenu de la rareté de la pathologie, de la durée de recrutement et du caractère monocentrique de l'étude.

L'analyse descriptive de l'échantillon objective une nette prédominance féminine (80 %) avec une sex-ratio de 0.24 soit 01homme pour 04 femmes, aussi la moyenne d'âge homme / femmes est respectivement de 49 et 51 ans.

La moyenne de CT obtenue chez les hommes aussi bien avec la trousse CIS BIO International que la trousse BECKMAN-COULTER est nettement supérieure à celle des femmes, ceci pourrait s'expliquer par le fait que le contingent de cellules C est nettement supérieur chez les hommes^[158]. Une étude faite sur une série autopsique conclut que le nombre de cellules C est multiplié par 2 chez les hommes^[180].

La notion de prise de tabac et d'alcool ne peut expliquer cette différence de moyennes de CT entre hommes/femmes, elle a été éliminée par l'interrogatoire avant inclusion, quand à l'IMC il n'a pas été calculé pour nos patients. Dans l'étude d'Herbomez^[158] réalisée sur 287 sujets, la corrélation entre le taux de CT, l'âge et l'IMC à bien était établie notamment chez les hommes.

Concernant les valeurs de CT et en prenant en considération la valeur seuil de 10 pg/mL (celle de la trousse de référence), le nombre de patients positifs avec BECKMAN-COULTER (14/66) s'est révélé être plus que le double de celui de CISBIO international (6/66), ceci pourrait s'expliquer par une erreur de manipulation lors du dosage (erreur aléatoire) avec des prises d'essais incorrects pour la trousse BECKMAN-COULTER, ou aussi par la sensibilité fonctionnelle qui est assez basse pour la trousse de référence (4pg/ml) alors qu'elle est non définie pour la trousse de BECKMAN COULTER.

Afin d'évaluer la précision intra-série (la répétabilité), les échantillons de sérum ont fait l'objet de 03 lectures consécutives au sein d'une même série pendant 03 jours pour chacune des trouses. Sur un total de 09 lectures, les coefficients de variation ont donné pour CISBIO international et BECKMAN-COULTER des valeurs <10 %, témoignant ainsi de la non dérive des valeurs au cours du temps sur l'ensemble des lectures.

Le test de corrélation bivarié de Pearson, a révélé une forte corrélation entre les valeurs de CT obtenu sur la trousse de CIS BIO International et celle de BECKMAN-COULTER et ceci de manière significative ($r=0,84$, $p< 0,05$). Cette forte corrélation n'est pas surprenante, sachant que ces 02 trouses utilisent le même principe d'immunodosage : radio-immunométrique de type « sandwich » et le même type d'anticorps de révélation.

La distribution des valeurs de CT obtenus sur les 02 trouses, objective une dispersion des valeurs plus étendue pour BECKMAN-COULTER que pour CISBIO International, ceci serait peut être dû à l'absence de parité entre les standards des deux trouses. En effet, les standards fournis avec la trousse BECKMAN-COULTER permettant d'établir la gamme de calibration ne recouvre pas correctement la zone des concentrations hautes, avec notamment un écart important à partir du 3eme (concentration théorique 50 pg/mL) 4eme (concentration théorique 159 pg/ml) et 5eme standard (concentration théorique 740 pg/ml).

Dans le but de vérifier la linéarité des valeurs obtenus avec chacune des trouses, la droite de régression de Passing & Bablok (test bilatéral) a été utilisé, donnant un p-value bilatéral de 0,44 ($>0,05$). Ceci a conclu à une bonne linéarité de la plus part des valeurs sauf pour 04 échantillons dont les concentrations sont élevées.

La comparaison des différences de moyennes des CT pour échantillons appariés sur les 02 trouses a été réalisé par le test de Bland-Altman, qui a retrouvé un facteur de signifiante $p=0,23>0,05$, témoignant de l'absence d'une différence significative entre les deux moyennes,

a l'exception d'échantillons dont les concentrations sont élevés correspondant a des cas de CMT .Ceci concorde avec étude italienne portant sur 35 cas de CMT confirmés comparant 04 trousse de dosage ayant toutes le même principe de dosage immunométrique (CISBIO International IRMA, CT US (Bio source), Ultra Sensitive Calcitonin (DSL) et Calcitonin Assay (Scanticorps) qui a conclu à une faible corrélation entre les valeurs obtenus sur les 04 trousse^[175].

Une courbe ROC a été établi pour juger de la performance de la trousse BECKMAN-COULTER par rapport au seuil de référence de 10pg/ml.

L'aire sous la courbe est de 0,87, le test est alors significatif dans la majorité des cas.

La valeur diagnostique d'un examen est d'autant plus fiable qu'il soit à la fois sensible et spécifique. De ce fait nous avons estimé à partir des coordonnées de la courbe ROC, que pour la trousse BECKMAN-COULTER, le seuil de CT qui donne le meilleur compromis entre la sensibilité (83%) et la spécificité (98%) est de : **13,69 pg/mL** (plus élevé que celui de CISBIO international).

L'analyse des performances mentionnées par les fournisseurs met en évidence une plus grande sensibilité analytique pour la trousse BECKMAN-COULTER (0.9pg/mL VS 1.5 pg/mL pour CISBIO international), elle est en théorie, plus performante dans les valeurs basses de CT. Cette différence de sensibilité entre les deux trousse dans les valeurs très basses n'a pas vraiment de conséquence sur le plan clinique, vu que l'interprétation des résultats se fait par rapport à un seuil décisionnel assez élevé (10 pg/mL pour la trousse de référence " CIS BIO International IRMA").

A la lumière de ces résultats, la trousse de CT de BECKMAN-COULTER-IRMA serait une bonne alternative à la trousse CIS BIO International IRMA chez les tous venant, d'autant plus qu'elle est 2.5 fois moins couteuse, mais chez les patients porteur de CMT, il est difficile de conclure, du fait de notre échantillon restreint. Cependant il est recommandé, pour le suivi des patients de toujours déterminer le taux de CT au sein du même laboratoire d'explorations avec la même trousse de dosage, et d'en informer le clinicien lors de tout changement.

III.4. Conclusion/ Perspectives.

Il est à noter que l'ensemble de la littérature disponible à ce jour sur la CT reprend des dosages réalisés à l'aide de la trousse CISBIO International IRMA.

Compte tenu du rôle important de la CT dans le diagnostic et le suivi du CMT, son dosage devra être effectué par la même trousse et la distinction des sujets entre malades et non malades doit être relative à cette dernière.

Malgré la bonne corrélation et l'absence de différence de moyennes des valeurs obtenues avec les 02 trouses, le problème de la dispersion des valeurs moyennes et hautes de CT constatée avec la trousse hTC-BECKMAN COULTER IRMA, et en dépit de son coût sensiblement réduit à celui de hTC-CISBIO-International IRMA, elle ne peut constituer une bonne alternative à cette dernière vu le nombre réduit de cas de CMT inclus dans cette étude.

Il serait donc indispensable dans le futur de travailler sur un échantillon plus important ne comprenant que des cas de CMT confirmés afin d'évaluer véritablement l'efficacité de la trousse hTC-BECKMAN-COULTER-IRMA. Aussi, il serait intéressant d'impliquer une troisième trousse de dosage automatisé qui permettrait d'écarter le risque d'erreur humaine, constituant ainsi un sujet pertinent pour les recherches ultérieures.

IV. Références bibliographiques

[01] André Aurengo A la découverte de la thyroïde CHU-Paris sud Jussieu 2005
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/polys.html?dispg=histoembryo>

[02] A. Ryndak-Swiercz Ontogenèse, anatomie, histologie et physiologie de la thyroïde.2009 service d'endocrinologie et maladies métaboliques, hôpital Claude-Huriez, CHRU de Lille.

[03] J.leclère, J.Orgiazzi, JL.Schlienger. la thyroïde des concepts à la clinique 2001.

[04] J.Langmam. embryologie médicale. Pradel 7^{ème} édition 2003.

[05] JC.Lifante. Anatomie de la glande thyroïde et parathyroïde, université de Lyon.

[06] Jean pierre Wainsten. Le larousse médical 2009.

[07] Julien Devaud. La thyroïde et l'autorégulation, méthodologie clinique. Collège d'études ostéopathiques 2010.

[08] Pr Lecorroller. hormonologie-reproduction – anatomie de la thyroïde et des parathyroïdes 2014

[09] Tortora Derrickson. Principe d'anatomie et de physiologie. Ed DeBoeck 2007.

[10] George Hennen. Endocrinologie. Ed DeBoeck 2001.

[11] <http://www.larousse.fr/archives/grande-encyclopedie/page/13632> consulté le 15/05/2017

[12] SI ALI A. la glande thyroïde, service d'anatomie normale chu oran, 2015

[13] La thyroïde. Université Lyon-sud. http://lyon-sud.univ-lyon1.fr/medias/fichier/la-thyroïde_1392390934112-pdf <http://histoblog.viabloga.com/texts/la-glande-thyroïde>

[14] Bernard Caillou. Classification histologique et pathologie moléculaire. service d'histopathologie, Institut Gustave-Roussy.
http://lara.inist.fr/bitstream/handle/2332/1427/INSERM_cancerenvir2008_chap10-12.pdf?sequence=5

[15] Serge Nataf, histologie de la glande thyroïde université de Lyon/hospices civiles de lyon

[16] Rosenfeld L. Discovery and early uses of iodine. *J. Chem. Educ.* 2000;77:984–987. doi: 10.1021/ed077p984.

[17] Angela M. Leung, Lewis E. Braverman, and Elizabeth N. Pearce. History of U.S. Iodine Fortification and Supplementation. *Nutrients.* 2012 Nov; 4(11):1740–1746. doi: 10.3390/nu4111740

[18] Andersson M, de Benoist B, Rogers L. Epidemiology of iodine deficiency: Salt iodisation and iodine status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010 Feb;24(1):1-11. doi: 10.1016/j.beem.2009.08.005.

[19] Zimmermann MB, Jooste PL, Pandav CS *Lancet.* Iodine-deficiency disorders.. 2008 Oct 4; 372(9645):1251-62

[20] World Health Organization; UNICEF; ICCIDD. Assessment of the Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination. World Health Organization Press; Geneva, Switzerland: 2007

[21] A.Perez Martin. Régulation hormonale et chronobiologie, physiologie des hormones, physiologie de la glande thyroïde 2007.

[22] Kirsten D. The thyroid gland: physiology and pathophysiology. *Neonatal Netw.* 2000 Dec;19(8):11-26. DOI:10.1891/0730-0832.19.8.11

[23] Thomopoulos P. Thyroid hormone production and its regulation. *Rev Prat.* 1998 Nov 15;48(18):1987-91. PMID:9881007

[24] L.Perlemuter, JL.Thomas. endocrinologie. Ed Masson 2003.

[25] Donzelli R, Colligiani D, Kusmic C, Sabatini M, Lorenzini L, Accorroni A, Nannipieri M, Saba A, Iervasi G, Zucchi R. Effect of Hypothyroidism and Hyperthyroidism on Tissue Thyroid Hormone Concentrations in Rat. *European Thyroid J.* 2016 Mar;5(1):27-34. doi: 10.1159/000443523. Epub 2016 Feb 26.

[26] Tognini S, Pasqualetti G, Calsolaro V, Polini A, Monzani F1. Cognitive function and quality of life in mild thyroid hormone deficiency. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2014;8(2):124-34. PMID:25052000.

- [27] Zucchi R, Ghelardoni S, Chiellini G. Cardiac effects of thyronamines. *Heart Fail Rev.* 2010 Mar;15(2):171-6. doi: 10.1007/s10741-008-9120-z. Epub 2008 Nov 19. DOI:10.1007/s10741-008-9120-z
- [28] Danforth E Jr, Burger A. The role of thyroid hormones in the control of energy expenditure. *Clin Endocrinol Metab.* 1984 Nov;13(3):581-95. PMID:6391756
- [29] Müller MJ, Seitz HJ. Thyroid hormone action on intermediary metabolism. Part I: respiration, thermogenesis and carbohydrate metabolism. *Klin Wochenschr.* 1984 Jan 2;62(1):11-8. PMID:6321848
- [30] Tulea E, Schneider F, Schneider F, Petroiu A. The metabolic and functional effects of thyroid hormone excess in rats. *Physiologie.* 1979 Jan-Mar;16(1):37-40. PMID:106415
- [31] M.Linquette. *précis d'endocrinologie.* Ed Masson 1973.
- [32] Müller MJ, Seitz HJ. Thyroid hormone action on intermediary metabolism. Part II: Lipid metabolism in hypo- and hyperthyroidism. *Klin Wochenschr.* 1984 Jan 16;62(2):49-55. PMID:6708390
- [33] Katz AI, Emmanouel DS, Lindheimer MD. Thyroid hormone and the kidney. *Nephron.* 1975;15(3-5):223-49. PMID:1101087
- [34] Pantos C, Mourouzis I, Xinaris C, Cokkinos DV. Thyroid hormone and myocardial ischaemia. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008 Apr;109(3-5):314-22. doi:10.1016/j.jsbmb.2008.03.011. Epub 2008 Mar 8. DOI:10.1016/j.jsbmb.2008.03.011
- [35] Shuvy M, Shifman OE, Nusair S, Pappo O, Lotan C. Hypothyroidism-induced myocardial damage and heart failure: an overlooked entity. *Cardiovasc Pathol.* 2009 May-Jun;18(3):183-6. doi: 10.1016/j.carpath.2007.12.015. Epub 2008 Mar 4. DOI:10.1016/j.carpath.2007.12.015
- [36] Kalra S, Balhara YP. Euthyroid depression: the role of thyroid hormone. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2014 Jan;8(1):38-41. PMID:24372347
- [37] Rovet JF. The role of thyroid hormones for brain development and cognitive function. *Endocr Dev.* 2014;26:26-43. doi: 10.1159/000363153. Epub 2014 Aug 29. DOI:10.1159/000363153

[38] Franchini M. Hemostatic changes in thyroid diseases: haemostasis and thrombosis. *Hematology*. 2006 Jun;11(3):203-8. DOI:10.1080/10245330600667591

[39] Franchini M, Montagnana M, Manzato F, Vescovi PP. Thyroid dysfunction and hemostasis: an issue still unresolved. *Semin Thromb Hemost*. 2009 Apr;35(3):288-94.. Epub 2009 May 18. DOI:10.1055/s-0029-1222607

[40] Bassett JH, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. *Endocr Rev*. 2016 Apr;37(2):135-87. doi: 10.1210/er.2015-1106. Epub 2016 Feb 10. DOI:10.1210/er.2015-1106

[41] V.Meglioli. La thyroïde soignez là. Delville 1^{ère} édition 2006.

[42] Wolff J, Chaikoff IL. The inhibitory action of excessive iodide upon the synthesis of diiodotyrosine and of tyrosine in the thyroid gland of the normal rat. *Endocrinology* 1948;43:174-9

[43] JL Wémeau. Dysfonctions thyroïdiennes liées à l'iode. *Médecine Clinique endocrinologie & diabète*, n° 32 Janvier-Février 2008

[44] Madhuchhanda Roy, Herbert Chen, Rebecca S. Sippel .Current Understanding and Management of Medullary, 2013. AlphaMed Press18:1093–1100

[45] Maia, Ana Luiza. Diagnosis, treatment, and follow-up of medullary thyroid carcinoma: recommendations by the thyroid departement of the brazilian society of endocrinology and metabolism 2014.58/7. 10.1590/0004-2730000003427

[46] Wolfe HJ, Melvin KEW, Cervi-Skinner SJ, et al. C-Cell Hyperplasia Preceding Medullary Thyroid Carcinoma, .*New England Journal of Medicine*. 1973; 289(9):437–441. PubMed: 4587234

[47] Pelizzo MR, Boschini IM, Bernante P, et al. Natural History, Diagnosis, Treatment and Outcome of Medullary Thyroid Cancer: 37 Years Experience on 157 Patients. *Eur J Surg Oncol*. 2007; 33(4):493–497. PubMed: 17125960

[48] Fugazzola L, Pinchera A, Luchetti F, et al. Disappearance Rate of Serum Calcitonin after Total Thyroidectomy for Medullary Thyroid Carcinoma.*Int J Biol Markers*. 1994; 9(1):21–24. PubMed: 80514302

- [49] Julien Hadoux, Furio Pacini, R Michael Tuttle, Martin Schlumberger. Management of advanced medullary thyroid cancer. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015.10.1016/S2213-8587
- [50] Delellis, Ronald A. Pathology and Genetics of Thyroid Carcinoma. Wiley InterScience : *Journal of Surgical Oncology* 2006 94:662–669. 10.1002/jso.20700
- [51] Marcio Griebeler, Hossein Gharib, Geoffrey Thompson. Medullary Thyroid Carcinoma. *Endocrine Practice*: July 2013, Vol. 19, No. 4, pp. 703-711.10.4158/EP12430.RA
- [52] Mimi I. Hu, Anita K. Ying, Camilo Jimenez, Update on Medullary Thyroid cancer. Elsevier: *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*(2014) 43:423–442. 0889-8529/14
- [53] Roman S1, Mehta P, Sosa JA. Medullary thyroid cancer: early detection and novel treatments. *Curr Opin Oncol*. 2009 Jan;21(1):5-10. doi: 10.1097/CCO.0b013e32831ba0b3.
- [54] Julien, Nicolas. Glande-thyroïde 2009 <http://www.glande-thyroïde.fr> consulté le 10/01/2017
- [55] Lina BEJJANI. Tumeur de la Thyroïde 2008. Présentation Service de Pathologie Février 2008.
- [56] W.Karges, H.Dralle, F.Raue, K.Mann. Calcitonin measurement to detect medullary thyroid carcinoma in nodular goiter: German evidence-based consensus recommendation. *Thieme: Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*2003 112: 52-58. 10.1055/s-2004-8
- [57] F Orlandi, P Caraci, A Mussa, E Saggiorato, G Pancani and A Angeli. Treatment of medullary thyroid carcinoma:an update. *Endocrine-Related Cancer* (2001) 8 135–147. 1351-0088/01/008–135
- [58] N. Berger. B. Franc. C. de Micco. M. Patey. *Histoseminaire sfp tumeurs thyroïdiennes. Société Française de Pathologie* 2004
- [59] Economidou J, Karacoulis P, Manousos ON, Manesis E, Kydonakis A, Koutras DA. Carcinoembryonic antigen in thyroid disease. *J Clin Pathol*. 1977 Sep;30(9):878-80...10.1136/jcp.30.9.878

[60] Bílek R, Safarík L, Ciprová V, Vlcek P, Lisá L. Chromogranin A, a member of neuroendocrine secretory proteins as a selective marker for laboratory diagnosis of pheochromocytoma. *Physiological research*, 2008;57 Suppl 1:S171-9. Epub 2008 Feb 13. PMID: 18271679

[61] Grauer A, Raue F, Rix E, Tschahargane C, Ziegler R. Neuron-specific enolase in medullary thyroid carcinoma: immunohistochemical demonstration, but no significance as serum tumor marker. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1987;113(6):599-602. PMID:3316243

[62] Kaczka K, Mikosiński S, Fendler W, Jałocha-Kaczka A, Pomorski L. Can procalcitonin be useful for medullary thyroid cancer? *Endokrynol Pol*. 2010 Sep-Oct;61(5):430-6. PMID: 21049453

[63] Laboratoires Assia, Bethesda-Sleidan, , Hoenheim, Illkirch, Kling, Lingolsheim, Poteries, Meinau, Neudorf, Ostwald, Rosheim, Schiltigheim Centre, Schuh, Trenz. lettre d'information n°03 fevrier 2010 Interet de la procalcitonine.

[64] Grauer A, Schroth J, Ziegler R, Raue F. Evaluation of somatostatin as a plasma tumor marker in medullary thyroid carcinoma. *Thyroid*. 1995 Aug;5(4):287-91.

[65] de Groot JW, Kema IP, Breukelman H, van der Veer E, Wiggers T, Plukker JT, Wolffenbuttel BH, Links TP. Biochemical markers in the follow-up of medullary thyroid cancer. *Thyroid*. 2006 Nov;16(11):1163-70. PMID:17123344. DOI:10.1089/thy.2006.16.1163

[66] Cristina Romei, Raffaele Ciampi and Rossella Elisei. A comprehensive overview of the role of the RET proto-oncogene in thyroid carcinoma. *Nature reviews* 2016. 10.1038/nrendo.2016.11

[67] R.Cohen, H.Bihan, B.Franc. *Cancer médullaire de la thyroïde*. Elsevier Masson SAS, Paris 2008.10-008-B-10.

[68] Vera Tiedje, Denise Zwanziger, Saskia Ting, Kurt Werner Schmid, Dagmar Führer. *Molecular pathogenesis of thyroid tumors*. Georg Thieme Verlag KG : *Dtsch Med Wochenschr* 2015 140: 578–582. 10.1055/s-0041-101491

[69] Erika L. Keatts, Joanne Itano. Medullary thyroid cancer and the impact of genetic testing. *Clinical Journal of Oncology Nursing* 2005, numero5 volume10..10.1188/06.CJON.571-575

[70] Niccoli-Sire, Patricia. Cancer Médullaire de la Thyroïde et neoplasies endocriniennes multiples type 2.le Conseil Scientifique du groupe d'Etude des Tumeurs endocrines 2006

[71] Samuel A. Wells, Jr., M.D. (Chair) , Sylvia L. Asa, M.D , Henning Dralle, Rossella Elisei, Douglas B. Evans, Robert F. Gagel, Nancy Lee, Andreas Machens, Jeffrey F. Moley, Furio Pacini, Friedhelm Raue, Karin Frank-Raue, Bruce Robinson, M. Sara Rosenthal, Massimo Santoro, Martin Schlumberger, Manisha Shah, and Steven G. Waguespack. Revised American Thyroid Association Guidelines for the Management of Medullary Thyroid Carcinoma

[72] W. Van Veelen, J. W. B. De Groot,D. S. Acton,R. M. W. Hofstra,J. W. M. Höppener,C. J. M. Lips,T. P. Links. Medullary thyroid carcinoma and biomarkers: past, present and future.journal of internal medicine Volume 266, Issue 1 July 2009 Pages 126–140. 10.1111/j.1365-2796.2009.02106.x

[73] Papaparaskeva K, Nagel H, Droese M. Cytologic diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland.Diagn Cytopathol. 2000 Jun;22(6):351-8. PMID: 10820528

[74] Kathryn j. Rowland, Md, Mphs and Jeffrey F. Moley. Hereditary Thyroid Cancer Syndromes and Genetic Testing. Journal of Surgical Oncology 2015;111:51–60

[75] Claude Calmettes. Le cancer médullaire de la thyroïde : acquis et interrogations. médecine/sciences 1991 ; 7: 22-9

[76] S. Guyétant, C. Bléchet, J.-P. Saint-André. Hyperplasies des cellules C. Ann. Endocrinol., 2006 ; 67, 3 : 190-197.

[77] Vierhapper H, Raber W, Bieglmayer C, Kaserer K, Weinhausl A, Niederle B 1997. Routine measurement of plasma calcitonin in nodular thyroid diseases. J Clin Endocrinol Metab 82:1589-1593.

[78] Noullet S, Trésallet C, Godiris-Petit G, Hoang C, Leenhardt L, Menegaux F. Surgical management of sporadic medullary thyroid cancer. J Visc Surg. 2011 Sep;148(4):e244-9. doi: 10.1016/j.jviscsurg.2011.07.009. Epub 2011 Aug 31. DOI:10.1016/j.jviscsurg.2011.07.009

[79] Tracy S. Wang, Adwoa Opoku-Boateng, Sanziana A. Roman, and Julie Ann SOSA.Prophylactic Thyroidectomy: Who Needs It, When, and Why. Journal of Surgical Oncology 2015;111:61–65

[80] Bajetta E, Rimassa L, Carnaghi C, Seregni E, Ferrari L, Di Bartolomeo M, Regalia E, Cassata A, Procopio G, Mariani L 1998 . 5-Fluorouracil, dacarbazine, and epirubicin in the treatment of patients with neuroendocrine tumors. *Cancer* 83:372-378.

[81] Petursson SR 1988 Metastatic medullary thyroid carcinoma. Complete response to combination chemotherapy with dacarbazine and 5-fluorouracil. *Cancer* 62:1899-1903

[82] Jennifer A. Woyach, Manisha. H Shah. New therapeutic advances in the management of progressive thyroid cancer. *Endocrine-Related Cancer* (2009) 16 715–731. DOI: 10.1677/ERC-08-0335

[83] Clark JR1, Fridman TR, Odell MJ, Brierley J, Walfish PG, Freeman JL. Prognostic variables and calcitonin in medullary thyroid cancer. *Laryngoscope*. 2005 Aug;115(8):1445-50. DOI:10.1097/01.mlg.0000168114.90852.a6

[84] Machens A, Hauptmann S, Dralle H. Increased risk of lymph node metastasis in multifocal hereditary and sporadic medullary thyroid cancer. *World J Surg* 2007;31:1960 – 1965.

[85] Motte P, Vauzelle P, Gardet P, Ghillani P, Caillou B, Parmentier C, et al. Construction and clinical validation of a sensitive and specific assay for serum mature calcitonin using monoclonal antipeptide antibodies. *Clin Chim Acta* 1988;174:35–54.

[86] Angela M. Inzerillo , Mone Zaidi1 and Christopher L.-H. Huang. Calcitonin: Physiological Actions and Clinical Applications. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 17, 931-940 (2004)

[87] Jean-Louis Frenedo, Mohsen Moukhtar El Demerdache, Philippe Orcel. La calcitonine et son recepteur. *Rev Rhum [1?d Fr]* 2000 ; 67 Suppl2 : 46-54

[88] Pearse, A. G. E., *Proc. Roy. Soc. Ser. B.*, 164, 478 (1965).

[89] Foster, G. V., I. MacIntyre, and A. G. E. Pearse, *Nature*, 203, 1029 (1964).

[90] Pearse AGE, Carvalheira AF. Cytochemical evidence for an ultimobranchial origin of the rodent thyroid C cells. *Nature* 1997 ; 214 : 929-30

[91] : J. T. Potts, JR., H. D. Nall, H. T. Keutmann, H. B. Brewer, JR., and L. J. Deftos The amino acid sequence of porcine thyrocalcitonin. National institutes of health , Bethesda, Maryland February 21, 1968

[92] P G Byfield, K Turner, L Galante, T V Gudmundsson, I MacIntyre, B Riniker, R Neher, R Maier, and F W Kahnt. The isolation of human calcitonin. *Biochem J.* 1969 Feb

[93] Shan-Yang Lin. Salmon calcitonin: conformational changes and stabilizer effects Review Topical Section AIMS Biophysics, 2015, 2(4): 723. doi: 10.3934/biophy.2015.4.695

[94] Wimalawansa SJ. Amylin, calcitonin gene-related peptide, calcitonin, and adrenomedullin: a peptide superfamily. Department of Internal Medicine, University of Texas Medical Branch at Galveston 77555-1065, USA.

[95] Becker L, Nylèn ES, Choen R, Silva OL, Snider RH. Calcitonin gene family of peptides In “Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism” (KL Becker ed.) 2nd ed 1995. 474–483. 483 JP Lippincott Co; Philadelphia

[96] Rosenfeld MG, Amara SG, Evans RM. Alternative RNA processing: determining neuronal phenotype. *Science.* 1984 Sep 21; 225(4668):1315-20

[97] Laura Masi and Maria Luisa Brandi. Calcitonin and calcitonin receptors. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2007 May-Aug; 4(2): 117–122. PMID: PMC2781237

[98] Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, Ong ES, Evans RM. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptides products. *Nature* 1982 ; 298 : 240-4. 3. Sigrist S,

[99] Rezaelan, A.H.; et al. (2009). "AlphaCGRP and betaCGRP transcript amount in mouse tissues of various developmental stages and their tissue expression sites". *Brain and Development.* 31 (9): 682–693. doi:10.1016/j.braindev.2008.10.011. PMID 19062206

[100] Calcitonin gene-related peptide: multiple actions, multiple receptors. *Pharmacol.rev.*54, 233-246 (2002) review

[101] Chen LJ, Zhang FG, Li J, et al. (January 2010). Expression of calcitonin gene-related peptide in ventral and dorsal horns of the spinal cord after brachial plexus injury. *J Clin Neurosci.* 17 (1): 87–91. doi:10.1016/j.jocn.2009.03.042. PMID 19969463

[102] Lin HY, Harris TL, Flannery MS, Aruffo A, Kaji EH, Gorn A, Kolakowski LF Jr, Lodish HF, Goldring SR. Expression cloning of an adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor *Science*. 1991 Nov 15; 254(5034):1022-4.

[103] Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond *Int J Exp Pathol*. 2000 Dec; 81(6):405-22.

[104] Gorn AH, Lin HY, Yamin M, Auron PE, Flannery MR, Tapp DR, Manning CA, Lodish HF, Krane SM, Goldring SR.. *J Clin Invest*. Cloning, characterization, and expression of a human calcitonin receptor from an ovarian carcinoma cell line 1992 Nov;90(5):1726-35.

[105] Gorn AH, Rudolph SM, Flannery MR, Morton CC, Weremowicz S, Wang TZ, Krane SM, Goldring SR. Expression of two human skeletal calcitonin receptor isoforms cloned from a giant cell tumor of bone. The first intracellular domain modulates ligand binding and signal transduction. *J Clin Invest*. 1995 Jun; 95(6):2680-91

[106] O Bernard-Poenaru, AM Graulet, J Gukris. *La calcitonine humaine*. *Immunoanal Biol Spéc* (1996) 11, 306-310 Elsevier, Paris

[107] Sossin WS, Fisher JM, Scheller RH. Sorting within the regulated secretory pathway occurs in the trans-Golgi network. *J Cell Biol*. 1990 Jan; 110(1):1-12.

[108] Treilhou-Lahille F, Pidoux E, Day F, Milhaud G, Moukhtar M. Granular and extragranular forms of immunoreactive calcitonin in normal rat "C" cells. *Biol Cell*. 1986; 57(3):221-30.

[109] Segond N, Jullienne A, Lasmoles F, Desplan C, Milhaud G, Moukhtar MS (1984) Rapid increase of calcitonin-specific mRNA after acute hypercalcemia. *Eur J Biochem* 139, 209-215

[110] Michèle d'Herbomez. *Dosages de la calcitonine : indications et interprétation* *Presse Med*. 2011; 40: 1141–1146 2011 Elsevier Masson SAS.

[111] Care, A.D., Duncant, T. & Wester, D. (1967) Thyrocalcitonin and its role in calcium homeostasis. *J. Endocrinology*. 37, 155.

[112] Peleg S, Abruzzese RV, Cooper CW, Gage1 RF. Down-regulation of calcitonin gene transcription by vitamin D requires two widely separated sequences. *Mol Endocrinology* 1993 ;7 : 999

[113] Jaeger P, Jones W, Clemens TL, Hayslett J” Evidence that calcitonin stimulates 1,25_dihydroxyvitamin D production.

[114] Jehane Jeanne. Le Système Endocrinien Biologie 12F. <http://slideplayer.fr/slide/1601043/>

[115] Jean-Charles Ducharme. le système endocrinien. <http://slideplayer.fr/slide/4360704/>

[116] Frendo JL, Delage-Mourroux R, Pichaud F, Pidoux E, Cohen R, Moukhtar MS, et al. Expression of the calcitonin receptor mRNA during TT cells proliferation: effect of calcitonin and dexamethasone. *Mol Cell Endocrinol* 1998 ; 139 : 37-43.

[117] Jonas V, Lin CR, Kawashima E, Semon D, Swanson LW, Mermod JJ, et al. Alternative RNA processing events in human calcitonin/ calcitonin gene-related peptide gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 1994-8.

[118] Rittel W, Maier R, Brigger M, Kamber B, Riniker B, Sieber P. Structure-activity relationship of human calcitonin III. Biological activity of synthetic analogues with shortened or terminally modified peptide chains. *Experientia* 1976;32: 246–8

[119] Sekiguchi T, Shiraishi A, Satake H, Kuwasako K, Takahashi H, Sato M, Urata M, Wada S, Endo M, Ikari T, Hattori A, Srivastav AK, Suzuki N. Calcitonin-typical suppression of osteoclastic activity by amphioxus calcitonin superfamily peptides and insights into the evolutionary conservation and diversity of their structures *Gen Comp Endocrinol*. 2017 Jan 3. pii: S0016-6480(17)30004-7. doi: 10.1016/j.ygcen.2017.01.004.]

[120] Calcitonin In Man, *The British Medical Journal*, Vol. 4, No. 5623 (Oct. 12, 1968), pp. 67-67 Accessed: 18-11-2016 20:36 UTC

[121] Jean-Paul Camus, Armand De Ricqlès, Universalis, « OS », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 29 janvier 2017

[122] Omar dahmani, Amal Belcaid, Ouafa El Azzouzi, Hayat El Hami. REGULATION DU CALCIUM.

[123] Chambers, T.J. and Magnus, C.J. (1982) . Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts, *J. Pathol.* 136, 27–39

[124] Martin TJ, Findlay DM, Moseley JM, Sexton PM. Calcitonin in bone disease and clinically related disorders. Academic In: Avioli LV, Krane SM (eds) *Metabolic Press*, San Diego; 1998:95-121.

[125] Parfitt AM. Calcium homeostasis. And Mundy GR, Martin TJ. *Physiology and Pharmacology of bone.* ed Handbook Exp Pharm 107. Springer-Verlag, Berlin; 1993:1-65

[126] Talmage RV, Cooper CW, Toverud SU. The physiological significance of calcitonin in Bone and mineral research, Annual 1. Excerpta Medica, Amsterdam; 1983:74-143

[127] Zhu L-J, Bagchi MK, Bagchi IC. Attenuation of calcitonin gene expression in pregnant rat uterus leads to a block in embryonic implantation. *Endocrinology* 1998;

[128] Schmidt-Nielsen K. *Animal physiology – adaptation and environment.* Chapter 8, Water and osmotic regulation. 1990:299-352.

[129] Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptor: bone and beyond. *Int J Exp Path.* 2000;81:405–422

[130] R. Cohen , K.L. Becker , A. Jullienne. Calcitonin and related peptides. *EMC-Endocrinologie* 1 (2004) 200–213 139:330-339.

[131] Michèle d’Herbomez. Dosages de la calcitonine : indications et interprétation. *Presse Med.* 2011; 40: 1141–1146. 2011 Elsevier Masson SAS. doi: 10.1016/j.lpm.2011.05.026

[132] Verburg Fa, Reiners C, Grelle I, Barth H, Fassnacht M, Luster M. Calcium stimulated calcitonin measurement: a procedural proposal. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013 May;121(5):318-20. doi: 10.1055/s-0033-1333686. Epub 2013 Feb 21.

[133] Jurgen Kratzsch, Anne Petzold, Friedhelm Raue, Walter Reinhardt, Martina Bröcker-Preu, Rainer Görge, Klaus Mann, Wolfram Karges, Nils Morgenthaler, Markus Luster, Christoph Reiners, Joachim Thiery, Henning Dralle, and Dagmar Fuhrer . Basal and Stimulated Calcitonin and Procalcitonin by Various Assays in Patients with and without Medullary Thyroid Cancer. *Clinical Chemistry* 57:3467–474 (2011) *endocrinology and metabolism*

[134] Johan Schiettecatte, Olivia Strasser, Ellen Anckaert, Johan Smits. Performance evaluation of an automated electrochemiluminescent calcitonin (CT) immunoassay in diagnosis of medullary thyroid carcinoma. 2016 The Canadian Society of Clinical Chemists. Published by Elsevier

[135] J.H. Liversey, M.J. Ellis, M.J. Evans, Pre-analytical requirements, Clin. Biochem. Rev.

[136] Leboeuf R, Langlois MF, Martin M, Ahnadi CE, Fink GD 2006 "Hook effect" in calcitonin immunoradiometric assay in patients with metastatic medullary thyroid carcinoma: case report and review of the literature. J Clin Endocrinol Metab 91:361-364. Clin Endocrinol (Oxf). 1995 May;42(5):453-60. PMID:7621562

[137] N. Levy-Bohbot , M. Patey , H. Larbre , A.-C. Hecart , J. Caron , B. Delemer . How to interpret hypercalcitoninemia?. La Revue de médecine interne 27 (2006) 610–615. doi:10.1016/j.revmed.2006.02.010.

[138] Elecsys® Calcitonin Test immunologique par électrochimiluminescence (ECLIA) pour le dosage in vitro de la calcitonine (hCT) dans le sérum et dans le plasma. Diagnostics (Suisse) SA Industriestrasse 7 CH-6343 Rotkreuz Suisse www.roche-diagnostics.ch

[139] Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27–33

[140] Simona Censi, Elisabetta Cavedon, Sara Watutantrige Fernando, Susi Barollo, Loris Bertazza, Laura Zambonin, Martina Zaninotto, Diego Faggian, Mario Plebani and Caterina Mian. Calcitonin measurement and immunoassay interference: a case report and literature review. Clin Chem Lab Med 2016; aop. DOI 10.1515/cclm-2015-1161

[141] Lorenz K, Elwerr M, Machens A, Abuazab M, Holzhausen HJ, Dralle H 2013. Hypercalcitoninemia in thyroid conditions other than medullary thyroid carcinoma: a comparative analysis of calcium and pentagastrin stimulation of serum calcitonin. Langenbecks Arch Surg 398:403-409.

[142] Trimboli P, Giovanella L, Crescenzi A, Romanelli F, Valabrega S, Spriano G, Cremonini N, Guglielmi R, Papini E 2014. Medullary thyroid cancer diagnosis: An appraisal. Head Neck 36:1216-1233

[143] Caterina Mian, Michela Perrino, Carla Colombo, Elisabetta Cavedon, Gianmaria Pennelli, Stefano Ferrero, Simone De Leo, Cristiano Sarais, Chiara Cacciatore, Gloria Irene Manfredi, Uberta Verga, Maurizio Iacobone, Loredana De Pasquale, Maria Rosa Pelizzo, Leonardo Vicentini, Luca Persani, and Laura Fugazzola. Refining Calcium Test for the Diagnosis of Medullary Thyroid Cancer: Cutoffs, Procedures, and Safety. *J Clin Endocrinol Metab*, May 2014, 99(5):1656–1664 doi: 10.1210/jc.2013-4088

[144] Iacobone M., Niccoli-Sire p., Sebag F., De Micco C., Henry JF. Can sporadic medullary thyroid carcinoma be biochemically predicted ? Prospective analysis of 66 operated patients with elevated serum calcitonin levels. *World J. Surg.* 2002, 26 :886-890.

[145] Carole Bélanger. Épreuve fonctionnelle en endocrinologie. Test de stimulation au Gluconate de calcium. CHU Sainte-Justine 3175, chemin de la Côte-Sainte-Catherine Montréal (Québec) H3T 1C5

[146] Patricia Doyle, Christian Du` ren, Kai Nerlich, Frederik A. Verburg, Inge Grelle, Hanne Jahn, Martin Fassnacht, Uwe Ma` der, Christoph Reiners, and Markus Luster. Potency and Tolerance of Calcitonin Stimulation with High-Dose Calcium Versus Pentagastrin in Normal Adults. *J Clin Endocrinol Metab*, August 2009, 94(8):2970–2974. doi: 10.1210/jc.2008-2403

[147] Marco Russo, Claudia Scollo, Giuseppa Padova, Riccardo Vigneri, and Gabriella Pellegriti. Cardiac Arrest After Intravenous Calcium Administration for Calcitonin Stimulation Test. *THYROID* Volume 24, Number 3, 2014 DOI: 10.1089/thy.2013.0394

[148] Trimboli P, Cremonini N, Ceriani L, Saggiorato E, Guidobaldi L, Romanelli F, Ventura C, Laurenti O, Messuti I, Solaroli E, Madaio R, Bongiovanni M, Orlandi F, Crescenzi A, Valabrega S, and Giovanella L 2014 Calcitonin measurement in aspiration needle washout fluids has higher sensitivity than cytology in detecting medullary thyroid cancer: a retrospective multicentre study *Clin Endocrinol* 80: 135–140

[149] Boi F, Maurelli I, Pinna G, Atzeni F, Piga M, Lai ML, Mariotti S 2007. Calcitonin measurement in wash-out fluid from fine needle aspiration of neck masses in patients with primary and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 92:2115-2118.

[150] Kudo T, Miyauchi A, Ito Y, Takamura Y, Amino N, Hirokawa M 2007. Diagnosis of medullary thyroid carcinoma by calcitonin measurement in fine-needle aspiration biopsy specimens. *Thyroid* 17:635-638.

[151] Marc Pusztaszeri, Vincent Greloz, Jean-Claude Pache, Patrick Meyer, Frédéric Triponez, Massimo Bongiovanni. Ponction à l'aiguille fine de la thyroïde : intérêts de l'évaluation cytologique immédiate *Rev Med Suisse* 2011;1491-1495

[152] Constantine G.A. Theoharis, Kevin M. Schofield, Lynwood Hammers, Robert Udelsman, and David C. Chhieng. The Bethesda Thyroid Fine-Needle Aspiration Classification System: Year 1 at an Academic Institution. *THYROID* Volume 19, Number 11, 2009 Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089=thy.2009.0155

[153] Machens A, Ukkat J, Hauptmann S, Dralle H. Abnormal carcinoembryonic antigen levels and medullary thyroid cancer progression : a multivariate analysis. *Arch Surg* 2007; 142:289-93.

[154] Walter MA, Meier C, Radimerski T, Iten F, Kränzlin M, Müller-Brand J et al. Procalcitonin levels predict clinical course and progression free survival in patients with medullary thyroid cancer. *Cancer* 2010;116:31-40.

[155] Roman S1, Mehta P, Sosa JA. Medullary thyroid cancer: early detection and novel treatments. *Curr Opin Oncol.* 2009 Jan;21(1):5-10. doi: 10.1097/CCO.0b013e32831ba0b3.

[156] Wémeau JL, Sadoul JL, d'Herbomez M, Monpeyssen H, Tramalloni J, Leteurtre E, et al. Recommandations de la Société française d'endocrinologie pour la prise en charge des nodules thyroïdiens. *Presse Med.* 2011: doi:10.1016/j.lpm.2011.05.001

[157] Rieu M, Lame MC, Richard A, Lissak B, Sambort B, Vuong-Ngoc P, Berrod JL, Fombour JP. Prevalence of sporadic medullary thyroid carcinoma: the importance of routine measurement of serum calcitonin in the diagnostic evaluation of thyroid nodules.

[158] d'Herbomez M, Caron P, Bauters C, Cao CD, Schlienger JL, Sapin R et al. Reference range of serum calcitonin levels in humans: influence of calcitonin assays, sex, age and cigarette smoking. *Eur J Endocrinol* 2007;157:749-55.

- [159] Iwashita T, Murakami H, Kurokawa K, et al. A two-hit model for development of multiple endocrine neoplasia type 2B by RET mutations. *Biochemical and biophysical research communications* 2000;268:804-8
- [160] Cranston AN, Carniti C, Oakhill K, et al. RET is constitutively activated by novel tandem mutations that alter the active site resulting in multiple endocrine neoplasia type 2B. *Cancer research* 2006;66:10179-87
- [161] Basuyau JP, Mallet E, Leroy M, Brunelle P. Reference intervals for serum calcitonin in men, women and children. *Clin Chem* 2004;50:1828-30.
- [162] Costante G, Durante C, Francis Z, Schlumberger M, Filetti S. Determination of calcitonin levels in C-cell disease: clinical interest and potential pitfalls. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2009;5:35-44.
- [167] Pellegriti, G., Frasca, F., Regalbuto, C., Squatrito, S. & Vigneri, R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors 2013. *J. Cancer Epidemiol.* 2013, 965212.
- [168] Hazard JB, Crile G Jr. Medullary (solid) carcinoma of the thyroid; a clinicopathologic entity. *J Clin Endocrinol Metab* 1959; 19:152–161.
- [169] Williams E. Histogenesis of medullary carcinoma of the thyroid. *J Clin Pathol* 1966; 19:114–118
- [170] Bergholm U, Telenius-Berg M, Johansson H, et al. Incidence of sporadic and familial medullary thyroid carcinoma in Sweden 1959 through 1981. A nationwide study in 126 patients. *Acta Oncol* 1990; 29:9–15.
- [171] Tashjian AH, Jr., Melvin EW 1968 Medullary carcinoma of the thyroid gland. Studies of thyrocalcitonin in plasma and tumor extracts. *N Engl J Med* **279**:279-283.
- [172] Wells SA, Jr., Baylin SB, Linehan WM, Farrell RE, Cox EB, Cooper CW 1978 Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. *Ann Surg* **188**:139-141.
- [173] Niccoli P., Wion-barbot N., Caron P., Henry J.F, De Micco c., Saint Andre J.P., et al. Interest of routine measurement of serum calcitonin (CT): study in a large series of thyroidectomized patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, 82:338-341.

[174] Peter J. Delves, Dennis R. Burton, Seamus J. Martin, Ivan M. Roitt Les fondements de l'immunologie page 127. De Boeck Supérieur

[175] Martinetti A , Seregini E , Ferrari L , Pallotti F , Aliberti G , Coliva A , Fracassi S , Bombardieri E . Evaluation of circulating calcitonin: analytical aspects. Tumori [2003, 89(5):566-568]. (PMID:14870789)

[176] Bieglmayer C, Vierhapper H, Dudczack R, Niederle B. Measurement of calcitonin by immunoassay analyzers. Clin Chem Lab Med 2007;45:662 – 6.

[177] Ramachandran R, Benfi eld P, Dhillo WS, White S, Chapman R, Meeran K, et al. Need for revision of diagnostic limits for medullary thyroid carcinoma with a new immunochemiluminometric calcitonin assay. Clin Chem 2009;55:2225 – 6

[178] Cavalier E, Carlisi A, Chapella JP, Delanaye P. Analytical quality of calcitonin determination and its effect on the adequacy of screening from medullary carcinoma of the thyroid. Clin Chem 2008;54:2008 – 9.

[179] Giovanella L, Suriano S. Spurious hypercalcitoninemia and heterophilic antibodies in patients with thyroid nodules. Head Neck 2010;33:95 – 7.

[180] Engelbach M, Gorges R, Forst T, Pfutzner A, Dawood R, Heerdt S, Kunt T, Bockisch A & Beyer J. Improved diagnostic methods in the follow-up of medullary thyroid carcinoma by highly specific calcitonin measurements. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2000 85 1890–1894.

V. Annexes

V.1. Formulaire de recrutement

Nom :		
Prénom :		
Date de naissance :		
Sexe :		
Numéro de dossier :		
Critères :		
à jeun	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>
Insuffisance rénale	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>
Grossesse ou allaitement	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>
Consommation de tabac et d'alcool	oui <input type="checkbox"/>	non <input type="checkbox"/>