

Faculté de médecine.

Département de pharmacie.

5^{ème} année de pharmacie

Service de médecine nucléaire – C.H.U.TLEMCEN -

Mémoire

Dosage des marqueurs tumoraux dans Le cancer du sein

Collaborateurs :

- *Berrichi Mustapha* TEL: 213.790.931.586
- *Bouazza Abdessamad* - TEL: 213.777.270.609.
- *Boukambouche oussama* -TEL/213.779.095.303.
- *Faredeheb Anwar walid* -TEL:213.792.421.407.
- *Tabti Mohamed* - TEL:213.699.139.202.

ENCADREURS:

- *DR. MEGHELLI*
- *DR. CHAKOURI*

RESUME :

Malgré une incidence croissante, la mortalité par cancer du sein reste stable, ce qui témoigne des progrès réalisés en matière de diagnostic et de thérapeutique. La biologie contribue au diagnostic précoce et à la surveillance avec des marqueurs sériques dont le CA 15-3 et l'ACE.

La prise en charge biologique des cancers du sein a fait l'objet de plusieurs textes de recommandations (ASCO, ANAES et SOR).

BUT DU TRAVAIL

Dans ce travail notre objectif est de présenter les principales méthodes utilisées couramment dans le dosage des marqueurs tumoraux en cas d'un cancer du sein, en s'attachant plus aux principes qu'aux détails techniques.

Mots clés :

- cancer du sein , Suivie , dosage , marqueurs .

Plan du travail

D. YECENI, M.D. Med.
Maitre Assistant
Biophysique
C.H.U. TLEM.CEN

I-INTRODUCTION

II-EPIDEMIOLOGIE

➤ FACTEURS ETIOLOGIQUE

III-PHYSIOPATHOLOGIE DU CANCER DU SEIN

1 - ANATOMOPATHOLOGIE MAMMAIE

2 - TYPES DE CANCER DU SEIN

IV- DIAGNOSTIC

1. CIRCONSTANCE DE DECOUVETRE

2. DIAGNOSTIQUE POSITIF

3 .DIAGNOSTIQUE DUFFEREN TIEL

V- BILAN PRE-THERAPEUTIQUE

1. BILAN D'EXTENSION

2 .ETAT GENERAL, ANTECEDENTS, RECHERCHE DE
CONTRE INDICATION A TEL OU TEL TRAITEMENT

VI- MOYENS THERAPEUTIQUES :

1. LA CHIRURGIE

2 .LA RADIO THERAPIE

3 .LES TRAITEMENTS MEDICAUX

4 -LE TRAITEMENT MEDICAL ADJUVANT

VII- LES DIFFÉRENTS MARQUEURS SÉRIQUES DU CANCER DU SEIN

1. DEFINITION :

2. LE CA 15-3

2.1 Structure

2.2 Rôle

2.3 Technique de dosage

2.3.1 la technique par électrochimiluminescence « ECLIA »

2.3.1.1 Principe général de la méthode par électrochimiluminescence « ECLIA »

2.3.1.2 Mode opératoire

2.3.1.3 *Etalonnage et valeurs de référence*

2.3.2 la technique radio immunologique

2.3.2.1 Introduction

2.3.2.2 Définition

2.3.2.3 Principe et Condition de la technique

2.3.2.4 Phénomène de compétition entre deux Ag, l'un marqué et l'autre non marqué

2.3.2.5 Exemple d'un dosage de mélatonine extraite chez le mouton.

2.3.2.6 Les inconvénients

2.3.2.7 *le cas de ca 15.3*

2.3.2.8 Conclusion

2.4 Temps de demi-vie

2.5 Spécificité

2.6 Variations physiologiques :

2.7 Variations pathologiques :

2.8 UTILISATION CLINIQUE DU CA 15-3

1.9 CA 15-3 et dépistage

2.10 CA 15-3 et diagnostic

2.11 Intérêt du taux initial

a .Valeur de référence

b Valeur pronostique

2.12 Recommandations nationales (France) et internationales

2.13 CA 15-3 indicateur de récurrence locorégionale ou de métastase

a Récidives locorégionales

b. Métastases à distance

2.14 CA 15-3 et suivi thérapeutique d'une rechute ou d'une métastase

a. Corrélations clinico-biologiques

b. Nature des discordances clinicobiologiques

c. Perspectives

d. Recommandations nationales (France) et internationales

2.15 SYNTHÈSE DES RECOMMANDATIONS DE LA FNCLCC

3. ACE

3.1 *Structure*

3.2 Synthèse

3.3 Rôle

3.4 Temps de demi-vie

3.5 Techniques de dosage et valeurs de référence

3.6 Principales causes d'élévation de l'ACE

3.7 Variations pathologiques

4. AUTRES MARQUEURS

4.1 CA 27.29

4.2 CA 549

4.3 MCA

4.4 TPA

4.5 c-erbB-2 ou HER-2/neu

IX- CONCLUSION

X- ANNEXE

XI- BIBLIOGRAPHIE

I-INTRODUCTION

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme dans les pays occidentaux : environ une femme sur onze développe un cancer du sein dans sa vie et en France environ 33 000 nouveaux cancers du sein sont diagnostiqués chaque année.

Malgré une incidence croissante, la mortalité par cancer du sein est restée stable, ce qui témoigne des progrès réalisés ces vingt dernières années en matière de diagnostic et de thérapeutique. Le dépistage et le diagnostic sont rendus plus précoces grâce à l'information et à l'éducation du public, mais aussi en raison des progrès de l'imagerie, en particulier pour les tumeurs de petite taille et les récidives. La biologie contribue également au diagnostic précoce et à la surveillance avec des marqueurs sériques : CA 15-3 et ACE, mais aussi des marqueurs de différenciation, de chimiorésistance etc... et la mise en évidence de gènes de susceptibilité chez les familles à risque.

Récemment la prise en charge biologique des cancers du sein a fait l'objet de plusieurs textes de recommandations: de l'American Society of Clinical Oncology, de l'Agence Nationale pour l'Accréditation et l'Evaluation Scientifique (ANAES) et les Standards Options Recommandations (SOR) des centres de lutte contre le cancer en dépit desquelles les pratiques restent diverses. Toutes les connaissances actuellement validées dans le domaine des marqueurs sériques des cancers du sein, ont fait également l'objet d'un article auquel nous ferons beaucoup référence dans ce travail.

II-EPIDEMIOLOGIE

En Algérie le taux brut de fréquence du cancer du sein est de 92 nouveaux cas pour 100 000 femmes/an et le taux brut de mortalité de 27 pour 100 000. Cela donne environ 27 000 nouveaux cas par an et environ 8500 décès par an.

Le cancer du sein est le plus fréquent des cancers féminins. Il atteint environ une femme sur onze et est responsable de 18 % des décès par cancer chez la femme.

Le nombre de cas diagnostiqués augmente d'environ 2 % par an mais le nombre de décès par cancer du sein n'augmente que de 1 %. Plus de 50 % des cancers sont observés après 65 ans et près de 10 % avant 35 ans.

On diagnostique de plus en plus de cancers du sein dans tous les pays. Il s'agit d'un cancer dont la fréquence augmente partout. Sa fréquence est cependant variable selon les pays. Elle est par exemple moins importante en Extrême-Orient. On attribue cela au fait que le volume moyen des seins est plus petit chez les femmes dans ces pays.

Dix pour 100 des cancers du sein sont bilatéraux mais rarement simultanément.

➤ Facteurs étiologiques

Il s'agit essentiellement d'un cancer de la femme. Il est rare chez l'homme (moins d'un cancer du sein sur 100) mais est plus grave, le diagnostic étant souvent plus tardif.

1) Causes génétiques :

5 à 10 % des cancers du sein diagnostiqués sont des cancers du sein à prédispositions génétiques, soit entre 2000 et 4000 personnes chaque année et responsable de 550 à 1000 décès en France.

En 2008, dix gènes sont connus comme étant associés à un risque accru de cancer du sein, quand ils portent des mutations. Parmi eux, neuf sont liés au système de réponse aux dommages de l'ADN. Le dixième code une protéine qui inhibe l'action de l'enzyme AKT1 (enzyme dont l'inhibition joue aussi un rôle dans les cancers non-génétiques). Deux de ces dix gènes (dits BRCA1 et BRCA2) sont à eux-seuls responsables de la moitié des cancers du sein familiaux.

⊗ Caractéristiques

Le plus souvent ce type de cancer du sein apparaît chez une femme sans problème de santé particulier. Très rarement la femme est porteuse d'une maladie génétique connue.

Plusieurs signes peuvent faire penser à un cancer du sein à prédisposition génétique :

- Âge jeune de la patiente (moyenne de 43 ans au lieu de 60 ans dans les formes non transmissibles)
- Antécédents familiaux de cancer du sein ;
- Cancer survenant au niveau des deux seins de manière successive ou simultanée ;
- Apparition d'un second cancer au niveau de l'ovaire ;
- Type histologique médullaire du cancer.

Mode de transmission

Il est de type autosomique dominant ; par transmission d'un gène anormal dit « muté ». Chez une femme, la présence d'une seule mutation du gène expose à un risque de 80% d'avoir un cancer de sein au lieu de 10% en l'absence de mutation.

Le risque encouru par les femmes d'une famille où existe un gène anormal dépend du fait qu'elles en ont ou non hérité. Si elles n'ont pas le gène, leur risque est le même que celui des autres femmes, alors que si elles ont hérité du gène, elles auront entre 70% à 80% de risque d'avoir effectivement le cancer du sein.

Le problème est semblable pour les risques de cancer des ovaires ou du côlon. Dans certaines familles on peut observer l'ensemble de ces cancers chez les femmes en ligne directe (grand-mère, mère, fille) ou chez des parentes proches (tante, sœur, cousine germaine). Ces cancers surviennent en règle générale dans la première partie de leur vie.

Un examen génétique peut mettre en évidence ce risque, mais un test de recherche d'un gène muté n'apporte de certitude que s'il est positif (dans ce cas, toutes les parentes devraient faire l'objet d'un suivi). Cet acte très spécialisé ne doit être demandé que pour les familles dont les femmes présentent vraisemblablement une hérédité génétique mise en évidence par

une consultation d'oncogénétique qui établira l'arbre généalogique de cette famille.

Gènes en cause

Deux gènes sont identifiés :

- BRCA1 sur le chromosome 17. Plus de 500 mutations ou variations de séquence ont déjà été décrites.
- BRCA2 sur le chromosome 13. Plus de 100 mutations différentes ont été dénombrées.

Seule une partie des mutations de ces gènes accroissent le facteur de risque de cancer. Les mutations du BRCA2 (1 femme sur 1460) sont retrouvées plus fréquemment que les mutations du BRCA1 (1 femme sur 1960). Ces mutations entraînent, outre le sur risque de cancer du sein, un sur risque de cancer de l'ovaire.

La prévalence de ces mutations reste faible chez les patientes ayant un cancer du sein (moins de 4% pour BRCA1, même si elle est double chez les juives ashkénazes).

La probabilité de développer un cancer du sein chez une porteuse d'une mutation de BRCA1 est d'environ 65% avant l'âge de 70 ans (45% pour les porteuses d'une mutation sur le BRCA2).

L'évolution des cancers porteurs de mutation sur BRCA1 varie suivant les études : aggravation pour certains ou gravité similaire pour les porteuses de mutations sur BCRA2 ou non-porteuse de mutations.

Conseil génétique

Dans certains pays, toute femme le souhaitant peut bénéficier d'une consultation génétique pour déterminer son risque de cancer héréditaire. Si le risque de prédisposition génétique est supérieur à 25 % on propose à ces patientes un diagnostic moléculaire. Cette recherche moléculaire est particulièrement prédictive si on connaît la mutation chez un parent déjà atteint d'un cancer du sein à prédisposition génétique.

☺ Surveillance des femmes à risque élevé

Les femmes à risque de prédisposition génétique ou porteuses d'une mutation, sont suivies par surveillance clinique tous les 6 mois dès l'âge de 20 ans et par mammographie annuelle dès l'âge de 30 ans.

2) Cancers sporadiques (non-familiaux)

De nombreuses molécules ou cocktails de molécules semblent pouvoir faciliter le cancer du sein ; On sait depuis peu que la protéine AKT1 est sur-exprimée dans 50% des cancers du sein sporadiques, ce qui laisse penser qu'elle pourrait prédisposer au cancer du sein et être impliquée par d'autres processus (environnementaux et non génétiques). L'activation d'AKT1 entraîne effectivement l'inhibition par séquestration de la protéine BRCA1 dans le cytoplasme, or si cette protéine ne peut plus pénétrer et circuler dans le noyau, l'ADN n'est plus réparé, (comme en l'absence de gène BRCA1 dans le cas de nombreux cancers héréditaires). Une inhibition du système de réponse aux dommages de l'ADN pourrait être en cause dans la moitié des cancers du sein, notamment pour ceux qui sont initiés ou facilités par les hormones utilisés pour les traitements hormonaux de la ménopause. Et AKT1 s'avère être aussi activée par ces hormones, de manière chronique chez les femmes suivant un long traitement hormonal à base d'œstrogènes. Dans ce cas le gène BRCA1 non muté peut être perturbé, avec comme conséquence un risque accru de cancer du sein¹²¹³

3) Causes hormonales (hyperoestrogénémie)

Le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant : les facteurs augmentant le taux d'œstrogènes sont donc à risque. Schématiquement le risque de cancer du sein croît avec le nombre de cycles menstruels qu'ils soient artificiels (pilule oestroprogestative) ou naturels.

Le traitement substitutif hormonal de la ménopause augmente sensiblement le risque de survenue d'un cancer du sein

La ménopause tardive et la puberté précoce agissent par augmentation du nombre de cycles menstruels et donc des taux d'œstrogènes.

4) Non-fécondité ou fécondité tardive

Les femmes qui n'ont pas eu d'enfant, ou qui ont eu leur première grossesse tardivement (après 30 ans) ont un risque sensiblement augmenté de développer un cancer du sein, par rapport à celles ayant eu au moins un enfant avant 30 ans. Ce sont en effet les cycles précédant la première grossesse menée à terme qui semblent les plus dangereux pour le sein. La grossesse protège le sein par la modification des cellules mammaires dans le sens d'une plus grande différenciation. Les cellules différenciées sont moins sensibles aux carcinogènes en particuliers hormonaux. La grossesse agit donc comme un vaccin vis à vis des œstrogènes. Le plus tôt elle survient, le mieux elle agit.

5) Obésité, alimentation et surpoids

L'obésité, de par l'augmentation de la quantité de tissu graisseux, augmente le taux d'œstrogène sanguin via une activation d'une enzyme appelée aromatasase. Celle-ci transforme en effet les hormones de type androgène en œstrogène. Une étude a montré l'augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes ménopausées en fonction de leur prise de poids¹⁶. L'obésité doublerait le risque de cancer du sein

Selon Le Figaro en 2008, "il a été montré que la consommation de graisses animales ainsi que celle d'acides gras trans (qui rentrent dans la composition de nombreuses préparations de l'industrie alimentaire) étaient des facteurs de risque à part entière."

Une étude (Inserm-Gustave Roussy, 1995-1998) a prouvé que le risque de cancer du sein augmente de près de 50 % chez les femmes ayant un taux sanguin élevé d'acides gras trans , produits utilisés dans les aliments industriels tels que pains et biscuits industriels, viennoiserie, gâteaux, chips, pâtes à pizzas...

6) Consommation d'alcool

L'augmentation du risque et de la fréquence du cancer du sein est au moins pour partie liée à l'augmentation de la consommation d'alcool des femmes ;

- De nombreuses études ont montré que la consommation d'alcool (quel qu'il soit ; vin, bière ou alcool fort) augmente le risque de cancer du sein. Ce risque est augmenté en moyenne de 30 % pour trois verres d'alcool par jour.
- Le risque croît (en moyenne) d'environ 10 % par 10 g d'alcool supplémentaires consommés (avec des sensibilités génétiques différentes selon les individus, certaines sous-populations de exposées à d'autres facteurs de risque cancérigène pouvant aussi y être plus sensibles .D'autres facteurs aggravent en effet ce risque : avoir plus de 50 ans, être en phase post-ménopause, être affecté par une maladie bénigne du sein, une tumeur impliquant des récepteurs aux oestrogènes et/ou des tumeurs avancées/invasives .
- Ce risque double en cas de consommation chronique d'alcool (chez les femmes ayant un indice de masse corporelle normal (IMC < 25), alors que l'obésité est un autre facteur souvent cité)
- Les conséquences de l'alcool comme facteur ou co-facteur cancérigène sur le sein pourrait être assez rapide, car les statistiques montrent que l'impact des consommations récentes es plus significatif que celui des consommations anciennes.

7) Mastopathies

C'est un terme peu précis désignant toute maladie du sein. On le réserve en général à des anomalies bénignes qui peuvent prêter à confusion avec une tumeur et pour cela justifient un prélèvement (biopsie) permettant de les identifier précisément. Certaines peuvent favoriser un cancer ultérieur et justifient une surveillance régulière.

Un aspect dense à la mammographie, surtout s'il est étendu, augmenterait très sensiblement le risque de développer un cancer du sein.

8) Autres

Historiquement, il avait été mis en évidence chez des femmes ayant subi de nombreuses radioscopies à l'époque où la tuberculose pulmonaire

était très répandue. Ce risque avait aussi été retrouvé chez des japonaises qui avaient été irradiées à des doses non mortelles lors des explosions nucléaires d'Hiroshima et de Nagasaki. Actuellement il s'agit essentiellement des cas de radiothérapie du thorax lors du traitement de certains cancers (Maladie de Hodgkin en particulier) chez la jeune femme chez qui le risque de cancer du sein augmente substantiellement. Certaines nouvelles modalités d'examens radiologiques, telle que le scanner coronaire, peuvent conduire à une irradiation suffisante pour augmenter le risque de cancer du sein des décennies après la réalisation de l'examen.

Le travail de nuit pourrait augmenter le risque de cancer du sein. Ce risque a été reconnu juridiquement au Danemark et a fait objet de compensations financières.

Allaiter agit comme un protecteur vis à vis du cancer du sein, notamment par mise en sommeil des ovaires et diminution du nombre de cycles.

Chez les hommes

1% de cancer du sein est développé par un homme. À stade égal, le pronostic est identique. Néanmoins, la glande mammaire chez l'homme est de très petite taille, le diagnostic est souvent tardif, il y a donc beaucoup plus de cancer retrouvé à un stade évolué, accompagné d'une atteinte cutanée ou des plans profonds (T4).

Facteur taille prénatale

Dans les pays riches (Il n'y a pas eu d'études sur ce point ailleurs), une taille supérieure à la moyenne à la naissance est corrélée avec un risque futur de survenue d'un cancer du sein. Une exposition fœtale à certaines hormones impliquées dans la croissance pourraient être en cause (à confirmer). 5% des cancers du sein des femmes nées dans les pays développés seraient directement concernés.

III-PHYSIOPATHOLOGIE DU CANCER DU SEIN

1-ANATOMOPATHOLOGIE MAMMAIRE

1.1) Rappel anatomique et histologique

Deux structures existent : les canaux excréteurs et le tissu conjonctif.

Les canaux excréteurs s'ouvrent individuellement au niveau du mamelon par des pores. 9 à 10 galactophores proximaux existent. Ils se divisent par dichotomie (deux par deux) et se terminent dans les lobules par les acini.

Les canaux ont deux couches cellulaires interne et externe, délimitées en dehors par une membrane basale. La couche externe renferme des cellules myoépithéliales (contractile). La couche interne est faite de cellules mucosécrétantes.

Le tissu conjonctif renferme des vaisseaux sanguins lymphatiques et du collagène.

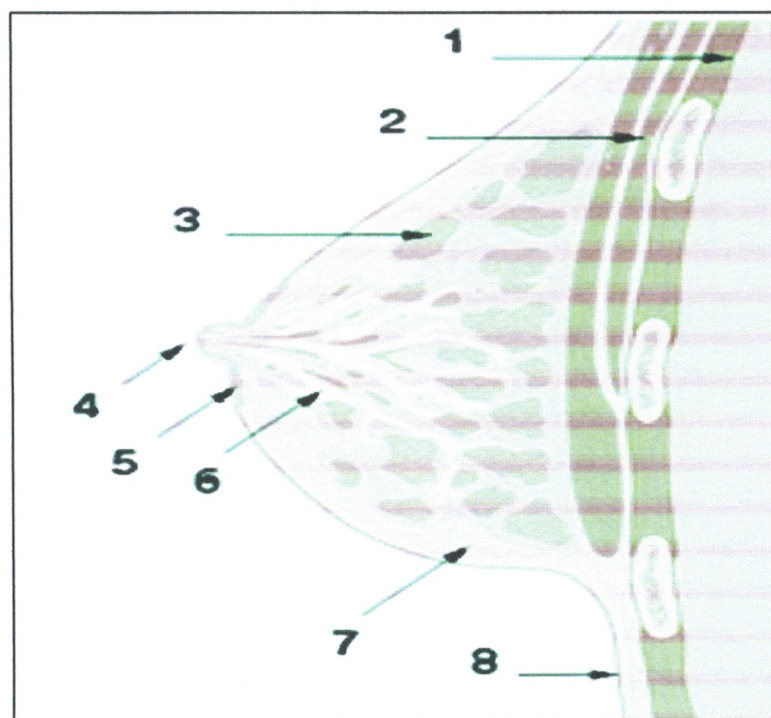
L'ensemble se modifie selon le cycle hormonal :

Grossesse : augmentation du nombre et de la taille des acini (lobule lactescent)

Ménopause : diminution des canaux et du tissu conjonctif

Structure du sein :

1. Muscle intercostal
2. Muscles pectoraux
3. Lobule mammaire
4. Mamelon
5. Aréole
6. Canaux galactophores
7. Graisse sous-cutanée
8. Peau



1.2 Place de l'anatomie pathologique

- Quels sont les prélèvements que le pathologiste peut être amené à examiner ?

📍 **Cytologie** (seules les cellules sont analysées) :

Lors d'un écoulement mammaire, le matériel est étalé sur une lame : fixé puis coloré par la technique de Papanicolaou.

Lors de la découverte d'un nodule, ce dernier peut-être ponctionné par une aiguille sous contrôle Cancer du sein échographique s'il est de petite taille.

Les cellules sont ramenées grâce à une aspiration manuelle.

📍 **Histologie** :

* Biopsie

Lors de la découverte d'un nodule du sein, une biopsie peut-être réalisée soit en consultation à l'aide d'un pistolet où l'on obtient des fragments de petite taille (carotte de 5 mm) soit au bloc opératoire, il s'agit alors d'une biopsie chirurgicale de plus grande taille.

Intérêt :

Diagnostic

S'il s'agit d'un carcinome infiltrant, le grade histopronostique et les récepteurs hormonaux sont réalisés. Si la tumeur est inflammatoire (PEV) ou de grande taille, le diagnostic de malignité étant posé, une chimiothérapie première peut-être débutée.

* Tumorectomie

Il s'agit d'un acte chirurgical, réalisé au bloc opératoire.

Indication :

Microcalcifications

Un repérage radiologique est réalisé en préopératoire, permettant de placer un hameçon au contact des microcalcifications (repérage orthogonal).

L'hameçon guide le chirurgien au cours de l'intervention.

Une Tumorectomie pour microcalcifications doit être adressée au laboratoire d'une part orientée et d'autre part avec un examen radiologique de la pièce, mettant ainsi en évidence les microcalcifications.

- nodule palpable

Devant un nodule palpable, un examen extemporané est souvent demandé.

Le but de l'examen extemporané est de modifier le déroulement d'une intervention.

Si le nodule correspond à une tumeur bénigne, l'intervention est arrêtée. Si le nodule correspond à un carcinome, le curage axillaire est réalisé. Une reprise en périphérie de la tumorectomie est faite si les limites chirurgicales sont incomplètes. Une mammectomie peut être faite si le cancer est de grande taille ou bifocal.

Déroulement de l'examen extemporané : La pièce est adressée au moment de l'intervention.

Elle doit toujours être orientée et accompagnée des renseignements cliniques et radiologiques.

Deux analyses sont faites :

L'une macroscopique (étude à l'état frais de la pièce) : permettant de préciser la couleur, la taille, la consistance du nodule et les limites chirurgicales grâce à l'orientation de la pièce.

l'autre histologique : au sein du nodule est prélevé un fragment de petite taille (5 mm), congelé rapidement et coupé au cryostat puis coloré au bleu de toluidine.

On ne réalise pas d'examen extemporané en l'absence de nodule palpable ou visible radiologiquement et si la taille du nodule est inférieure à 10 mm sauf si une microbiopsie faite au préalable est revenue positive.

* Mastectomie :

* Curage axillaire :

2- Types de cancer du sein

L'étude anatomopathologique montre l'existence de différents types de cancer du sein. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le tableau ci-dessous montre la classification histologique des cancers du sein utilisée dans tous les centres anticancéreux.

Classification histologique des carcinomes mammaires de l'OMS (année 2000)

Tumeurs épithéliales non infiltrantes

Carcinome canalaire in situ (intra-canalaire) (CCIS)

Carcinome lobulaire in situ (CLIS)

Tumeurs épithéliales infiltrantes

Carcinome canalaire infiltrant SAI (sans autre indication)

Carcinome canalaire infiltrant avec composante intra-canalaire prédominante

Carcinome lobulaire infiltrant

Carcinome mucineux (colloïde)

Carcinome médullaire

Carcinome papillaire

Carcinome tubuleux

Carcinome adénoïde kystique

Carcinome sécrétant juvénile

Carcinome apocrine

Carcinome métaplasique de type épidermoïde

Carcinome métaplasique de type à cellules fusiformes

Carcinome métaplasique de type chondroïde et osseux

Carcinome métaplasique de type mixte

Maladie de Paget du mamelon

Le cancer inflammatoire du sein est une forme très rare de cancer du sein (1 à 4%) qui se développe rapidement en quelques jours ou quelques semaines. Il se propage par voie lymphatique rapidement sans avoir le temps de former une tumeur. Le blocage des vaisseaux lymphatiques par les cellules cancéreuses est à l'origine d'une inflammation locale du sein d'importance variée.

Le diagnostic d'abcès du sein est souvent évoqué dans un premier temps d'autant que l'imagerie (mammographie et échographie) est souvent négative. Toute persistance d'une rougeur plus ou moins douloureuse du sein impose de faire des biopsies, qui seules affirmeront la maladie. Le traitement repose avant tout sur la chimiothérapie dont les progrès récents autorisent la guérison dans un grand nombre de cas.

IV-DIAGNOSTIQUE

1.CIRCONSTANCE DE DECOUVETRE

En général il s'agit de la découverte par la malade d'une tuméfaction non douloureuse d'un sein.

De plus en plus souvent il s'agit d'une découverte de mammographie systématique.

Cet examen est en effet maintenant souvent réalisé à cause d'un facteur de risque particulier ou par principe ou dans le cadre d'une campagne de dépistage. Il est par ailleurs de plus en plus performant pour déceler de petites lésions.

Ailleurs c'est l'examen systématique d'un médecin qui découvre la lésion soit dans le cadre d'un examen général soit dans le cadre d'un examen orienté (ganglion palpé dans l'aisselle, anomalies osseuses révélées par des douleurs faisant craindre des métastases etc...)

En pratique on observe moins de tumeurs localement évoluées qu'auparavant (moins de T3-T4 moins de T2 supérieurs à 3 cm) et plus de tumeurs infracliniques. Les deux raisons principales sont, premièrement, que les femmes hésitent moins à consulter précocement en cas d'anomalie

suspecte (elles sont plus informées qu'il peut s'agir d'un cancer et elles savent que pris tôt ce cancer peut guérir plus facilement avec moins de risque d'avoir un traitement mutilant) et, deuxièmement, que des mammographies peuvent maintenant être réalisées partout facilement.

2. DIAGNOSTIQUE POSITIF

Arguments cliniques

- Cette tuméfaction dure et indolore est un cancer s'il y a une rétraction cutanée visible spontanément ou provoquée par l'examen.
- Son association à une adénopathie axillaire, surtout si le ganglion est dur et mesure plus de 1 cm.
- Beaucoup plus rarement l'existence d'une poussée inflammatoire avec rougeur et chaleur locales associées à la tuméfaction ou l'existence d'un envahissement cutané (infiltration « en peau d'orange », ulcération).

Arguments radiologiques

La mammographie

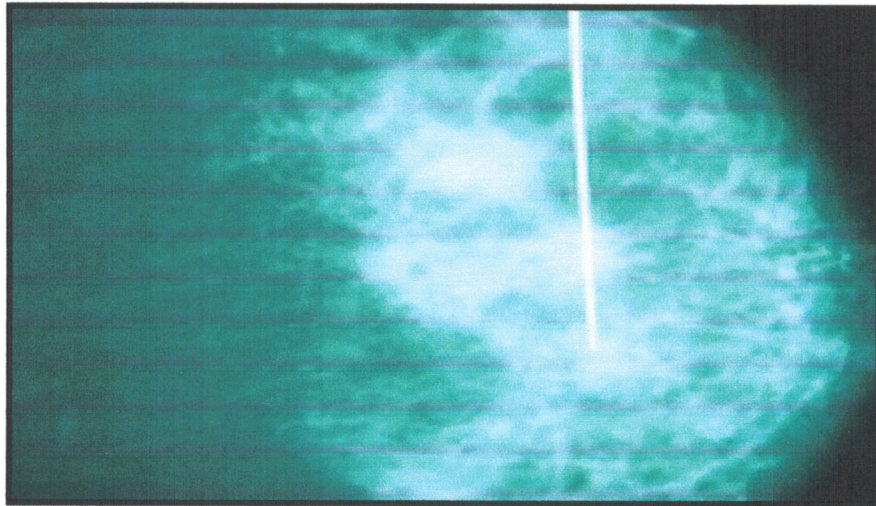
(3 incidences : face, profil, prolongement axillaire)

— Dans sa forme typique, avec ou sans tumeur palpable, le cancer infiltrant se manifeste par une opacité stellaire ou à contours spiculés, entourée d'un halo clair et associé à des micro-calcifications groupées en amas à la fois au niveau de l'opacité et un peu de distance. L'opacité est plus petite que la tumeur palpable.

Avec un pareil tableau le diagnostic est quasi certain.

— Les signes radiologiques sont souvent incomplets. L'opacité reste évocatrice si ses contours sont irréguliers. Les micro calcifications sont parfois peu nombreuses ou très petites, ou les deux obligeant à les rechercher « avec une loupe ».

— Pour les carcinomes in situ on note l'existence de micro calcifications linéaires, polymorphes.



Mammographic

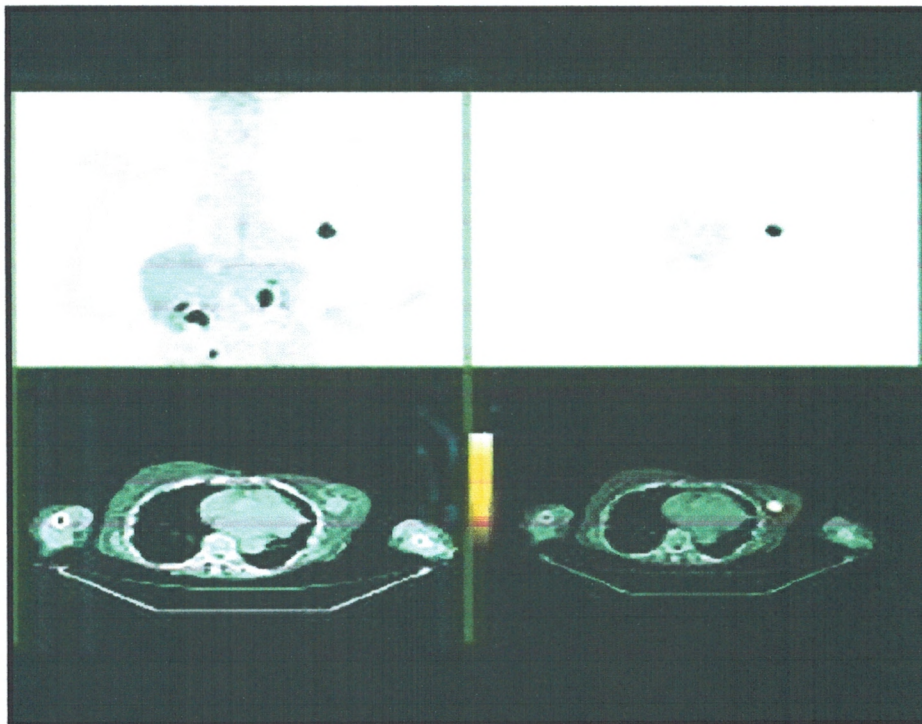
L'échographie

Elle peut donner des arguments en faveur du cancer devant certaines images mammographiques ambiguës. Elle permet dans tous les cas de repérer les kystes liquidiens.

L'IRM

L'IRM, compte tenu de sa relative rareté en France, n'est pas utilisée en routine pour le diagnostic de cancer du sein.

Elle permet de particulièrement bien définir la tumeur et ses contours.



Imagerie médicale d'un cancer du sein



Arguments cyto-histologiques

La biopsie est l'élément de base du diagnostic. Elle est réalisée soit à l'aiguille (microbiopsies par aiguilles à biopsie) soit chirurgicalement en extemporané c'est-à-dire avec lecture immédiate et traitement chirurgical immédiat. Dans ce dernier cas un examen anatomopathologique plus approfondie est réalisé secondairement (technique prenant du temps) qui non seulement confirme le diagnostic extemporané, mais précise l'histopronostic (classification de Scarff, Bloom et Richardson) permet de doser les récepteurs hormonaux etc...

Beaucoup plus rarement c'est la cytologie, faite par une personne entraînée qui réalise l'ensemble de la procédure (ponction, étalement, fixation, coloration, lecture) qui permet de porter le diagnostic, de donner un cytopronostic et de doser les récepteurs hormonaux. En cas de doute (éléments cytologiques douteux où caractères clinico-radiologiques très évocateurs de cancer avec une cytologie négative) on réalise systématiquement une biopsie.

En cas de très petit foyer les ponctions sont réalisées avec repérage stéréostaxique. Souvent dans ces cas seule l'exérèse permet de faire le diagnostic (exérèse avec repérage radiologique en préalable).

3. DIAGNOSTIQUE DIFFERENCTIEL

Le kyste mammaire donne une image mammographique à contours réguliers (une image régulière peut quand même être un cancer). Mais l'opacité est liquidienne à l'échographie. La ponction trouve le liquide, l'évacue et permet une analyse cytologique qui confirme la bénignité.

L'adénofibrome se rencontre chez la femme jeune. L'image est à contours réguliers. Elle est homogène en mammographie et en échographie.

Les calcifications bénignes sont typiquement grosses, peu nombreuses, éparses.

Elles ne sont pas groupées. Peu nombreuses mais relativement groupées et surtout si elles sont petites (presque des micro calcifications) elles peuvent

engendrer le doute. Dans ce cas on peut réaliser l'exérèse de la zone suspecte dans un but d'examen anatomopathologique ou bien on surveille avec des mammographies comparatives : si les images changent avec en particulier plus de petites calcifications, l'anomalie doit être considérée comme cancéreuse jusqu'à preuve anatomopathologique du contraire.

V-BILAN PRETHERAPEUTIQUE

1. BILAN D'EXTENSION

1.1 Sur le plan locorégional

- On précise le siège de la tumeur et ses dimensions en cm (pas uniquement la plus grande dimension). Un schéma et une photographie en position couchée (en position de traitement) avec repérage du centre de la tumeur par rapport au centre du mamelon (coordonnées géographiques).

On recherche une éventuelle extension cutanée (peau d'orange, infiltration avec ulcération) et une éventuelle extension en profondeur (tumeur mobile avec les pectoraux à la manoeuvre de Tillaux, ou fixée à la paroi thoracique).

On précise s'il y a des adénopathies cliniques leur taille et leur siège. En cas de doute sur le caractère pathologique ou non d'une adénopathie axillaire (ganglion mou de moins de 1 cm), si un geste chirurgical n'est pas d'emblée envisagé on peut réaliser une ponction cytologique.

On note des signes éventuels d'inflammation locale au niveau de la tumeur, ou régionale au niveau du sein dont la valeur pronostique est grande lorsqu'ils existent.

Sur les mammographies on recherche un éventuel deuxième foyer dans le sein homolatéral et dans l'autre sein.

1.2 A distance :

On recherche des métastases à distance pour les cancers infiltrants d'1 cm ou plus. Au minimum, pour tous les cas, afin d'avoir un élément comparatif, on réalise des radiographies pulmonaires et une échographie abdomino pelvienne. Pour les tumeurs de plus de 3 cm, les tumeurs SBRII

ou III ou avec cytopronostic 2 ou 3, les tumeurs avec adénopathie clinique ou à men anatomopathologique (curage ou cytologie) et les tumeurs évolutives, on réalise un examen TDM thoracique et abdominal, une scintigraphie osseuse et, si on peut, un PET. En cas d'anomalie suspecte à la scintigraphie on la précise par TDM et éventuellement IRM.

1.3 Sur le plan biologique

On précise le SBR si cela n'a pas été fait, On précise également qu'elle est le taux de récepteurs hormonaux aux oestrogènes et à la progestérone. On note le taux de CA15-3, qui peut être élevé en cas de tumeur importante ou déjà métastasée.

A la fin du bilan d'extension on peut classer le cas selon la classification TNM (2002) :

T is : tumeur in-situ (non infiltrante)

T1 : tumeur de 2 cm ou moins

T1 mic : $\leq 0,1$ cm

T1a : de 0,5 cm ou moins et plus de 0,1 cm

T1b : de 1 cm ou moins et plus de 0,5 cm

T1c : de 2 cm ou moins et plus de 1 cm

T2 : tumeur de moins de 5 cm, >2 cm

T3 : tumeur de plus de 5 cm

T4 : tumeur avec extension à la paroi thoracique ou à la peau, ou tumeur inflammatoire

T4a : extension à la paroi thoracique

T4b : oedème (incluant peu d'orange), ulcération de la peau ou nodules cutanés satellites

T4c : T4a + T4b

T4d : cancer inflammatoire

N0 : pas d'adénopathie axillaire

N1 : adénopathie homolatérale axillaire mobile

N2a : adénopathie homolatérale axillaire fixée

N2b : adénopathie mammaire interne clinique

N3a : adénopathie infraclaviculaire

N3b : adénopathies cliniques axillaire et mammaire interne

N3c : adénopathie sus-claviculaire

Ces éléments se regroupent en stades :

Stade 0 TisN0

Stade I T1N0

Stade IIA T0N1

T1N1

T2N0

Stade IIB T2N1

T3 N0

Stade IIIA T0N2

T1N2

T2N2

T3N1 N2

Stade IIIB T4 quelque soit le N

Stade IIIC N3 quelque soit le T

Stade IV métastases (M1) quels que soient le T et le N

2 Etat général, antécédents, recherche de contre indication à tel ou tel traitement

- On précise l'âge, le poids, la situation du malade en fonction des critères de l'état général de la classification de Karnofsky ou de ceux du Performans Status de l'OMS.
- On précise les antécédents pathologiques et les affections associées éventuelles, en particulier celles qui peuvent gêner le traitement (anesthésie, chimiothérapie avec anthracycline etc...)

3 Sur le plan psychologique :

- On s'informe de l'existence possible de cancers du sein dans la famille ou dans l'entourage

de la malade pour savoir quelle représentation du cancer du sein elle peut avoir et pour conseiller éventuellement une consultation génétique.

- On explique à la malade le traitement, ses contraintes, les bénéfices qu'on peut en espérer, les complications éventuelles. On explique également la nécessité de la surveillance à long terme à cause du risque de rechute. On note enfin dans le dossier que ces informations ont été données.

VI. MOYENS THERAPEUTIQUES

1. La chirurgie

1.1 La chirurgie radicale

La chirurgie radicale, non conservatrice, est représentée par la mastectomie simple type Patey. Associée à une exérèse des pectoraux l'intervention prend le nom de Halstedt, autrefois très pratiquée, qu'on ne réalise plus qu'en cas d'envahissement de ces muscles.

La mastectomie simple est maintenant souvent associée à une reconstruction mammaire. Cette reconstruction est réalisée en prenant du tissu au niveau des muscles du grand dorsal ou du grand droit de l'abdomen et avec parfois l'aide d'une prothèse incluse. Cette reconstruction est d'autant plus volontiers faite que la femme est jeune et désireuse d'avoir une compensation anatomique à la perte de son sein. Elle est faite en un temps si possible, sinon dans un deuxième temps (tissus ne permettant pas la reconstruction immédiate, qualité de l'exérèse douteuse demandant d'attendre le résultat de l'analyse histologique de la pièce opératoire, important risque de récurrence locale...)

1.2 La chirurgie conservatrice

Le terme habituellement utilisé est celui de tumorectomie pour signifier qu'on enlève la tumeur et pas le sein. Dans cette intervention on enlève en fait la tumeur plus une partie de tissus sains autour car les limites effectives de la tumeur ne coïncident pas avec les limites macroscopiques de la tumeur.

D'autres noms sont parfois employés tels que « quadrantectomie » ou « segmentectomie ».

Il s'agit de nuances concernant les tissus apparemment sains enlevés.

Elle n'est réalisée que si la tumeur n'est pas trop grande comparativement à la taille du sein afin que le résultat, en terme de conservation de la forme, soit satisfaisant. En France on considère que cette chirurgie est possible jusqu'à 3 cm.

SBRI 90 % N- 90 %

SBRII 80 % N+ 60-70 %

SBRIII 70 %

1.3 Le curage axillaire

Il est associé à la mastectomie ou à la tumorectomie. Il est inutile en cas d'épithélioma in situ ou en cas de tumeur infiltrante $\leq 0,5$ cm. L'atteinte des relais ganglionnaires supérieurs sans atteinte des premiers relais inférieurs est exceptionnelle. Si les premiers relais ne sont manifestement pas envahis le curage s'arrête aux relais inférieurs et moyens réduisant ainsi le risque ultérieur de « gros bras » par lymphoedème. Pour les malades T1N0 est maintenant parfois utilisée la technique du ganglion sentinelle qui permet de repérer le 1er ganglion de drainage du relais inférieur et d'en faire l'exérèse et l'examen anatomopathologique. S'il est négatif on ne pratique pas de curage.

1.4 Pour les métastases

La chirurgie orthopédique peut être nécessaire en cas de fracture et en cas de menace de fracture, la neuro-chirurgie en cas de compression médullaire ou de métastase cérébrale unique. Ces interventions sont pratiquement toujours complétées par une radiothérapie des régions opérées.

2 .La radiothérapie

- réduit la fréquence des récurrences loco-régionales après chirurgie (fréquence divisée par 3 ou 4).
- permet les traitements conservateurs

— a une action modeste sur la survie (mais non négligeable : 5 à 10 % en plus à 5 ans si correctement faite)

— a un intérêt palliatif pour les métastases osseuses et cérébrales.

3 .Les traitements médicaux

3.1 Traitements médicaux spécifiques

• La chimiothérapie

Elle est utilisée dans 3 circonstances :

— en situation métastatique

— en adjuvant (après les traitements loco-régionaux)

— en néo-adjuvant c'est-à-dire d'emblée, de première intention avant tout traitement local. Pour éviter des résistances croisées, on utilise des associations avec des produits efficaces en monothérapie avec des mécanismes d'action différents et, si possible, sans toxicités cumulatives.

Le protocole le plus standard en France, en l'absence de contre-indication cardiaque, est

le FEC qui combine Fluoro-uracile, Epirubicine (Farmorubicine^o) et Cyclophosphamide (ou Endoxan^o).

Aux Etats-Unis, l'Adriamycine (Adriblastine^o) est souvent utilisé à la place de l'Epirubicine, tous deux appartenant à la famille des anthracyclines à risque toxique sur le myocarde. Ce risque est dose-dépendant ce qui limite la dose cumulée d'Adriamycine à 500/550 mg/m² et d'Epirubicine à 800/850 mg/m² . En cas de risque cardiotoxique ou chez les sujets fragiles ou âgés, le protocole CMF est encore utilisé (substitution de l'anthracycline par du Méthotrexate).

Plus récemment, l'arrivée de la Vinorelbine (Navelbine) et surtout des taxanes (Paclitaxel ou Taxol^o et Docétaxel ou Taxotère^o) a modifié l'évolution en particulier dans les formes métastatiques.

Dans les tumeurs surexprimant l'oncogène C-erbB2 (soit environ 1 cancer sur 4), l'utilisation d'un anticorps monoclonal spécifique (Trastuzumab ou

Herceptin^o) permet dans les formes métastatiques de 20 à 40 % de réponse et augmente l'efficacité des chimiothérapies (taxanes).

• L'hormonothérapie

Elle s'adresse aux cancers dits hormonosensibles (50 à 60 % des cas) à savoir qui possèdent des récepteurs hormonaux (RH) cytoplasmiques et nucléaires aux oestrogènes (RE+) et/ou à la progestérone (RP+) ce qui est particulièrement le cas dans les tumeurs bien différenciées.

Ces RH interviennent comme des protéines régulatrices du tissu mammaire sur lequel les oestrogènes ont un effet prolifératif par l'intermédiaire d'une stimulation de la synthèse de divers facteurs de croissance (EGF, TGF, protéases, etc...).

Les anti-oestrogènes sont des produits qui entrent en compétition avec les oestrogènes sur les sites récepteurs et bloquent la synthèse cellulaire.

Une autre voie est d'essayer de réduire au maximum la quantité d'oestrogènes arrivant au niveau des cellules cancéreuses. Chez les femmes préménopausées, plus des 3/4 proviennent de la sécrétion ovarienne d'où l'intérêt de la castration qu'elle soit chirurgicale, radiothérapique ou médicale par les analogues de la LH-RH (dans ce cas, elle est temporaire et mieux supportée psychologiquement). Une autre façon de réduire le taux d'oestrogènes circulants est l'emploi d'anti-aromatases qui inhibent l'action de l'aromatase, enzyme permettant la transformation, dans le catabolisme du cholestérol des tissus périphériques (muscles, graisse, foie mais aussi tumeur mammaire elle-même), de l'androstènedione et de la testostérone respectivement en estrone et estradiol. Les principaux anti-aromatases non stéroïdiens sont le Létrozole (Fémara^o), l'Anastrozole (Arimidex^o) et, pour les stéroïdiens l'Exemestane (Aromasine^o).

3.2 Traitements médicaux non spécifiques

Les bisphosphonates agissent sur la résorption osseuse ostéoclastique et n'ont d'intérêt qu'en cas de métastases osseuses avérées (ou d'hypercalcémie maligne)

Les antiémétiques type sétrons sont des antagonistes des récepteurs 5 HT3 de la sérotonine (sécrétée par les cellules entérochromaffines situées essentiellement dans la muqueuse du tractus gastrointestinal) agissant sur le centre des vomissements cérébral et particulièrement efficaces dans les chimiothérapies émétisantes types sels de platine.

Les facteurs de croissance sont des hormones synthétiques qui stimulent la production médullaire des cellules souches leucocytaires (G-CSF : Granocyte°, Neupogen°) en cas de leucopénie induite par la chimiothérapie et érythrocytaire (érythropoïétine recombinante ou EPO : Eprex°, Neorecormon °) en cas d'anémie (hémoglobine < 12 g/ml) induite par les sels de platine et autres chimiothérapies.

Les cytoprotecteurs sont essentiellement représentés par l'Amifostine (Ethyol°) qui protège de façon sélective les tissus sains du fait de la présence à la surface des cellules saines de phosphatases alcalines membranaires (absentes sur les cellules tumorales) qui transforment l'Amifostine en son métabolite actif qui est un dérivé thiol. Ce métabolite protège des toxicités rénales, hématologiques des chimiothérapies mais s'avère aussi être un radioprotecteur (en captant les radicaux libres et en favorisant la réparation des lésions de l'ADN par le don d'hydrogène) particulièrement intéressant pour prévenir les hyposialies dans les cancers ORL.

L'autre cytoprotecteur est le Dexrazoxane (Cardioxane°) qui protège de la cardiotoxicité des anthracyclines ; il agit comme agent chélateur du fer et du cuivre et comme anti-radicaux libres.

4. Le traitement médical adjuvant

4.1 La chimiothérapie

Elle a progressivement pris une place considérable, puisque actuellement elle est indiquée chez la majorité des patientes. Ainsi une chimiothérapie adjuvante (anthracyclines, taxanes,...) doit bénéficier à toutes les patientes chez lesquelles ne se retrouvent pas associés plusieurs facteurs :

tumeur < 1 cm ou in situ

SBR 1

N- (curage ganglionnaire négatif)

RH+ (récepteurs hormonaux positifs)

> 35 ans

Le traitement habituel classique est le protocole FEC100 (Farmorubicine à 100mg/m²) à raison d'une cure toutes les 3 semaines pour un total de 6.

Le bénéfice de la chimiothérapie est très significatif.

4.2 L'hormonothérapie

Elle s'adresse à toutes patientes avec récepteurs hormonaux positifs (RH+) et consiste en 5 ans de Tamoxifène à la dose de 20 mg par jour. Les comparaisons de durées : 2 ans versus 5 ans ont montré un bénéfice net en faveur de 5 ans ; par contre, la comparaison 5 contre 10 ans n'a retrouvé aucun intérêt à 10 ans voire un léger effet délétère.

Les effets secondaires sont rares, ne nécessitant d'arrêter le Tamoxifène que dans moins de 3 % des cas. Il s'agit essentiellement de prise de poids (3-4 kg), thrombo-embolies, bouffées de chaleur, hyperplasie de l'endomètre avec petite augmentation du risque de cancer de l'endomètre. A l'inverse, le Tamoxifène exerce un effet bénéfique sur le capital osseux, voire cardiaque (par l'intermédiaire d'une action positive sur le cholestérol).

Le bénéfice de 5 ans de traitement, avec 15 ans de recul, existe de la même façon qu'il y ait ou non atteinte ganglionnaire, ménopause ou non avec une réduction du risque annuel de :

rechute de 39 %

décès de 24 %

Avant 50 ans 50 à 69 ans

Réduction du risque de rechute 35 % 20 %

Réduction du risque de mortalité 27 % 11 %

— atteinte controlatérale de 53 %.

Ce bénéfice existe même en cas de chimiothérapie adjuvante associée (le Tamoxifène est habituellement donné après la chimiothérapie).

La castration (chirurgicale ou radiothérapique) s'adresse aux femmes préménopausées RH+.

La méta-analyse avec 15 ans de recul montre un bénéfice important en l'absence de chimiothérapie avec une réduction du risque annuel de :

rechute de 25 %

décès de 24 %

La castration médicale adjuvante par analogue de la LH-RH est en cours d'évaluation soit seule soit en association au Tamoxifène.

Le bénéfice de l'hormonothérapie persiste voire augmente avec le recul sur les courbes comparatives de survie.

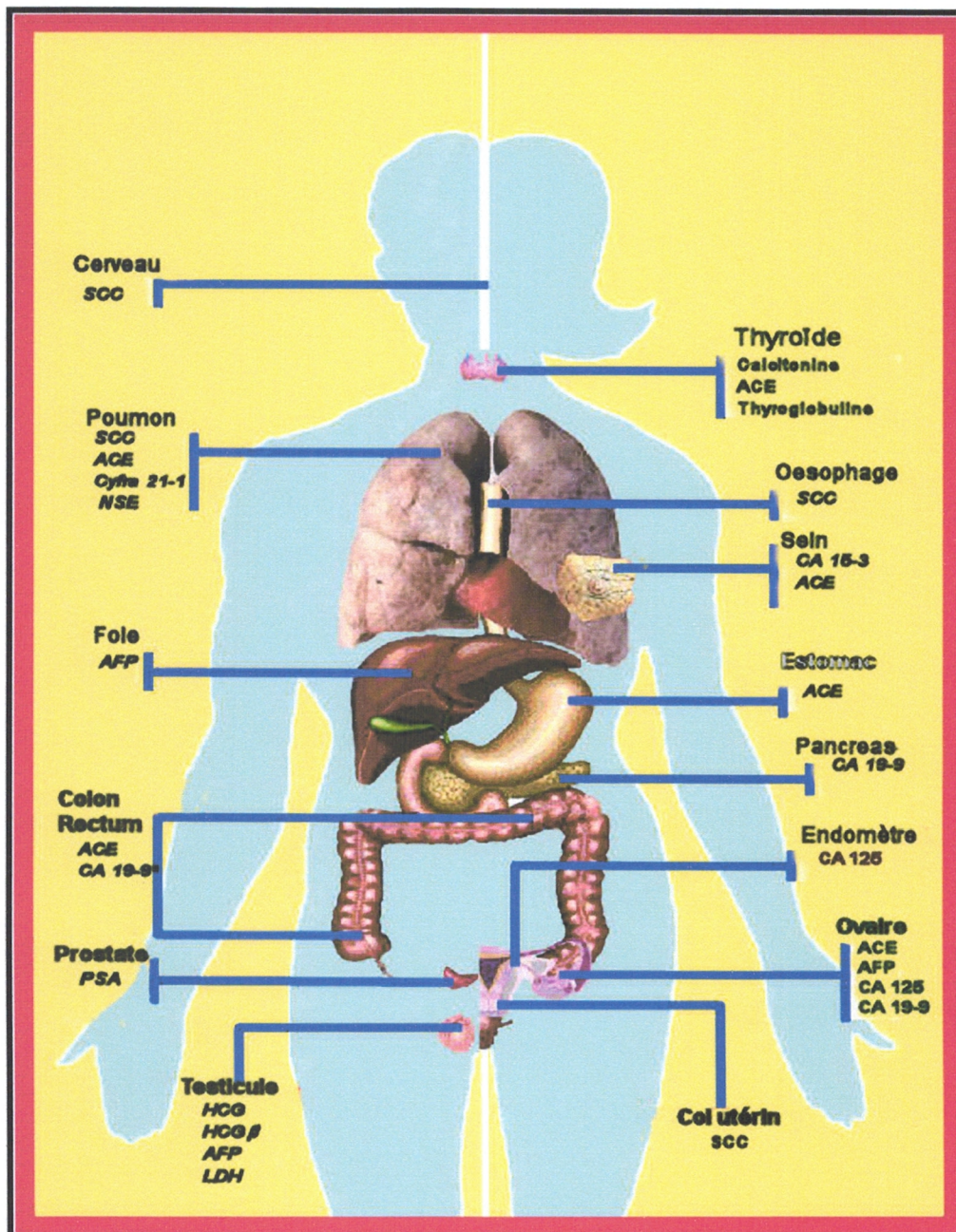
VII -LES DIFFÉRENTS MARQUEURS SÉRIQUES DU

CANCER DU SEIN

1. DEFINITION

Les marqueurs tumoraux sont des substances (protéines) qui sont produites principalement par les cellules cancéreuses et que l'on retrouve dans le sang. La quantité de marqueurs présente dans la circulation sanguine reflète souvent le nombre de cellules cancéreuses présentes dans la tumeur ou le nombre de cellules cancéreuses qui se sont disséminées à distance de la tumeur pour former des métastases.

En mesurant la quantité d'un marqueur tumoral ou de plusieurs marqueurs tumoraux présents dans le sang, on peut estimer le nombre de cellules cancéreuses présentes dans l'organisme. De fait, les marqueurs tumoraux les plus sensibles sont capables de détecter des tumeurs contenant environ 100 000 cellules cancéreuses. Ce nombre de cellules paraît élevé. Pourtant, on considère que pour se propager à distance et former des métastases, une tumeur doit contenir 100 fois plus de cellules cancéreuses soit environ un million de cellules tumorales. Ainsi, le dosage des marqueurs tumoraux dans le sang est une des techniques les plus sensibles pour détecter la présence de petites tumeurs ou suivre leur évolution au cours du traitement avant qu'elles n'acquière la capacité de former des métastases. Par comparaison, les techniques d'imagerie médicale permettent de détecter au mieux une tumeur de la taille d'une tête d'épingle qui contient déjà 10 millions de cellules tumorales alors qu'un clinicien ne peut détecter par la palpation que des tumeurs superficielles qui ont environ la taille d'une noisette et contiennent déjà un milliard de cellules tumorales. Seul, le pathologiste peut détecter une seule cellule tumorale qui sera visible sous son microscope.



2. Le CA 15-3

Le CA 15-3 est le marqueur sérique le plus spécifique utilisé dans le cancer du sein.

2.1 Structure

C'est une glycoprotéine circulante de haut poids moléculaire (300 à 400 kDa) appartenant à la famille des mucines et définie par son immunoréactivité avec deux anticorps monoclonaux:

- Le 115 D8 dirigé contre la membrane du globule graisseux du lait humain. Cet anticorps, obtenu à partir de souris immunisées avec des membranes de

globules lipidiques de lait humain, reconnaît l'antigène de différenciation situé à la surface des cellules épithéliales de la glande mammaire.

Il se lie à une glycoprotéine appelée MAM-6 présente sur la plupart des cellules épithéliales normales et cancéreuses de plusieurs organes (sein, utérus, ovaire, prostate, vessie, estomac, colon et poumon).

- Le DF3 dirigé contre la membrane de cellules humaines de cancer du sein. L'anticorps DF3, obtenu à partir de souris immunisées avec une lignée cellulaire (MCF-7) d'un carcinome du sein métastatique humain, reconnaît un autre épitope du complexe MAM-6. Cet épitope est présent au pôle apical des cellules épithéliales mammaires les plus différenciées et dans le cytoplasme des cellules moins différenciées. L'antigène DF3 est mis en évidence également dans le cytoplasme des tumeurs malignes de l'ovaire et au pôle apical des tumeurs bénignes de l'ovaire.

2.2 Rôle

Le CA 15-3 est l'expression sérique de la Polymorphic Epithelial Mucin (PEM) codée par le gène MUC-1 dont deux variants résultant d'épissage alternatif viennent d'être décrits dans des lignées cellulaires de cancer. Ces trois gènes partagent la faculté d'activer le système d'oncogènes ras augmentant le pouvoir tumorigène de certains cancers murins. L'expression du gène MUC-1 bien que plus élevée dans les carcinomes n'est pas restreinte aux tumeurs d'origine épithéliale. Le travail de Regimbald a permis de mettre en évidence l'interaction entre la mucine MUC-1 et la molécule d'adhérence intercellulaire ICAM-1. La résultante de cette interaction peut être une facilitation de l'attachement des cellules tumorales à l'endothélium vasculaire péri-tumoral, inhibant ainsi l'action défensive des cellules impliquées dans les phénomènes inflammatoires. Un rôle immunosuppresseur de la mucine MUC-1 des cancers a également été démontré sur plusieurs modèles animaux et sur les lymphocytes T en culture. Cette observation est à rapprocher de la valeur pronostique péjorative d'un taux élevé de CA 15-3.

2.3 Technique de dosage

Le dosage du CA 15-3 sérique s'effectue par des techniques immunométriques.

Dans le CHU de Tlemcen on utilise 2 technique

- 1) la technique par électrochimiluminescence « ECLIA »
- 2) la technique radio immunologique

2.3.1 la technique par électrochimiluminescence « ECLIA » :

En dépit de certaines variations, les résultats présentaient une bonne homogénéité interlaboratoires. La commercialisation de nouveaux systèmes, utilisant parfois d'autres anticorps, entraîne, pour certains patients, une variation importante des résultats qui rend indispensable le suivi de chaque patient par une même technique. La plupart des méthodes actuelles de dosage du CA 15-3 utilisent les deux anticorps monoclonaux 115 D8 et DF3 décrits précédemment

(Ac 115 D8 fixé sur le support et l'Ac DF3 marqué). Ces deux anticorps étant protégés par un brevet, des anticorps monoclonaux reconnaissant d'autres épitopes ont été développés par d'autres firmes. Ils sont utilisés dans différents tests commercialisés sous les noms de BR, BR-MA et BCA.

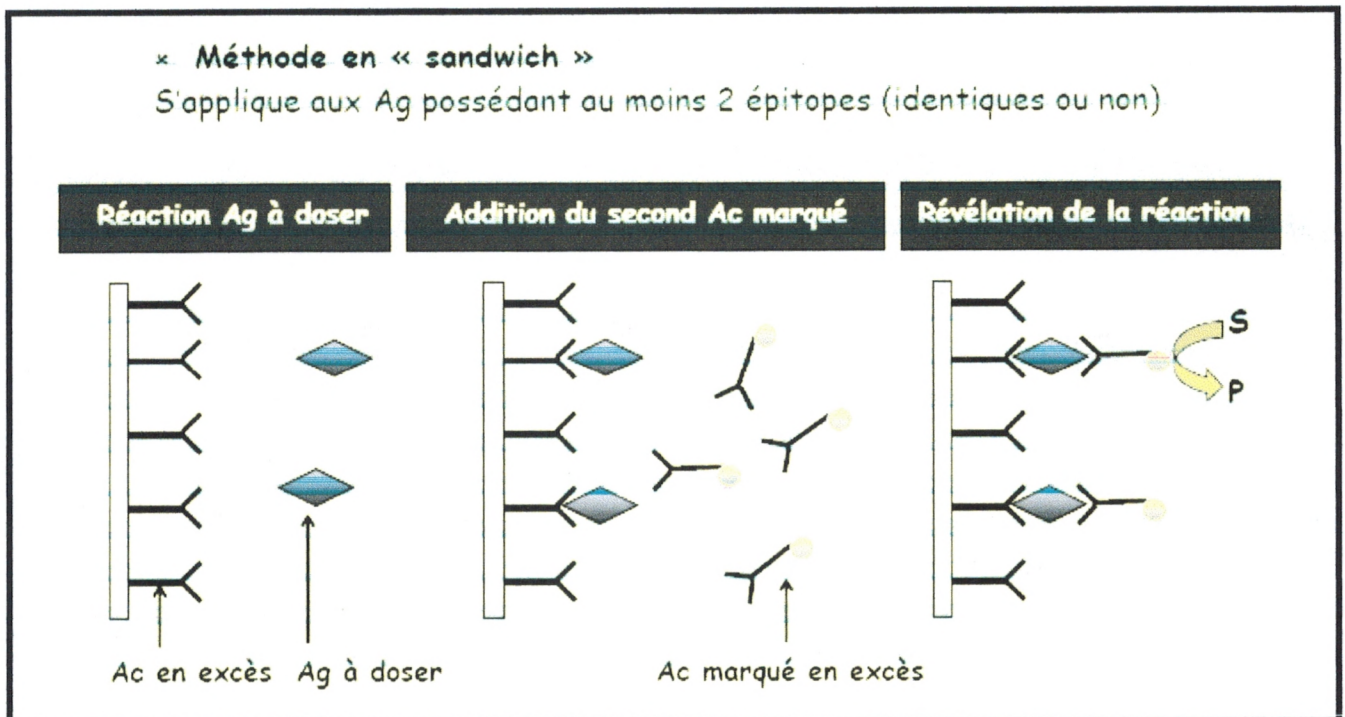
Le test BR, de type compétitif en chimiluminescence, utilise l'anticorps B27-29 qui reconnaît une partie protéique voisine de celle reconnue par DF3. Les tests BR-MA et BCA sont des dosages immunométriques utilisant deux anticorps différents. Ce test par électrochimiluminescence « ECLIA » s'utilise sur

les analyseurs Elecsys et cobas e.

2.3.1.1 Principe général de la méthode par électrochimiluminescence

« ECLIA »

Méthode "Sandwich". Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.



2.3.1.2 Mode opératoire

- 1ère incubation : Après une dilution automatique de l'échantillon au 1/10, une prise d'essai de 20 µl met l'antigène en présence de l'anticorps monoclonal anti-CA 15-3 spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-CA 15-3 spécifique marqué au ruthénium. Il se forme un "sandwich".
- 2e incubation : Les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.

Remarque

La biotine (coenzyme facile à lier aux Ig) a une très forte affinité pour la streptavidine (*Streptomyces avidinii*) et la liaison streptavidine-biotine fixe le complexe immunologique à la phase solide (Les microparticules tapissées de streptavidine)

- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

2.3.1.3 Etalonnage et valeurs de référence

Il n'existe pas actuellement de référence internationale. Une gamme standard exprimée en unités est préparée à partir d'une lignée de tumeur mammaire (IR75-1). Les résultats sont exprimés en unités arbitraires U.mL-1 ou kU.L-1. L'expression en unités internationales est impossible en l'absence de standard international. La valeur seuil le plus souvent admise est de 30 kU/L-1. Certains auteurs ont proposé selon les études et les techniques de dosage des seuils compris entre 25 et 35 kU/L-1. Le pourcentage de valeurs supérieures au seuil dans une population de patientes saines est compris entre 2 et 7 %.

2.3.2 La technique radio immunologique

2.3.2.1 Introduction

La présence et la concentration d'un Ag spécifique ou d'un Ac spécifique à un antigène dans la solution peuvent être déterminées par les radio-immuno- dosages (radio-immuno-assays : RIA), ou par le dosage ELISA. L'antigène attaché à une surface solide capture l'anticorps avec lequel il réagit, il est dosé en utilisant un second anticorps marqué réactif au premier. Ces dosages permettent de mesurer une grande variété d'antigènes ainsi que la concentration et l'isotype des Ac spécifiques à un Ag donné.

2.3.2.2 Définition

La méthode Radio-Immuno-Aissey (RIA) a été mise au point dans les années 1950 par les américains *Solomon Aaron Berson* et *Rosalyn Sussman Yalow*. C'est une technique très précise de dosage des substances biologiques telles que les enzymes, les hormones, les stéroïdes..., dans le sang, l'urine, la salive, ou tout autre liquide corporel dont lequel la formation du complexe antigène anticorps est détectée grâce à la désintégration d'un atome radioactif (iode 125). Ce dosage repose sur l'inhibition compétitive par la substance (froide).

2.3.2.3 Principe et Condition de la technique

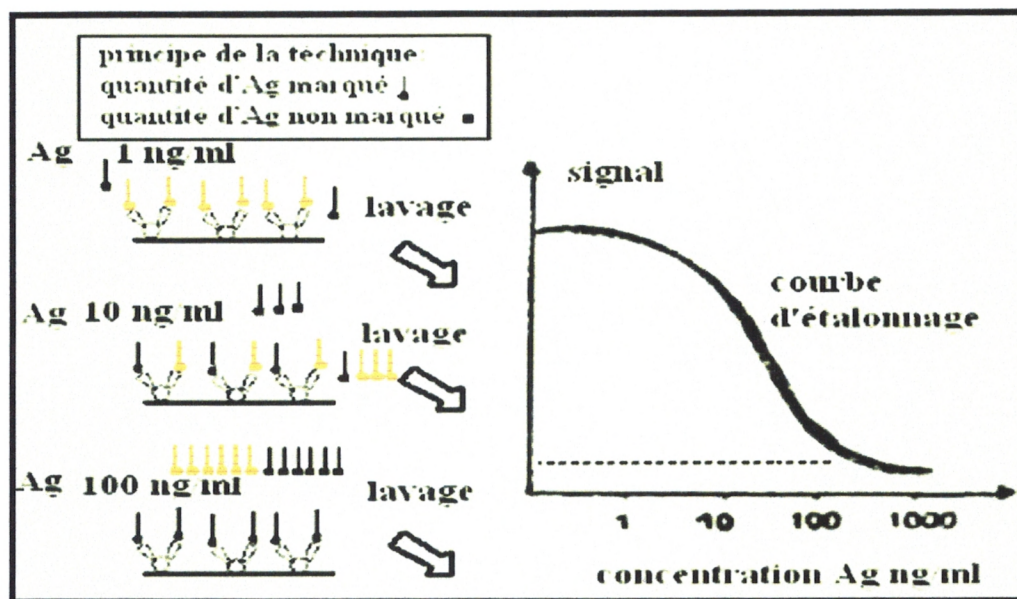
- Principe :

La RIA classique repose sur le principe d'une liaison compétitive, mettons en présence une certaine quantité d'anticorps spécifique d'un antigène donnée et cette même antigène préalablement marqué par radio isotope. Un complexe anticorps antigène se forme selon l'équation suivante : $Ac + Ag^* \rightarrow [AcAg^*]$

La réaction Ag-Ac est due à l'interaction entre les épitopes de l'antigène et les paratopes de l'anticorps. Elle fait intervenir quatre type de liaison non covalentes (des liaison : hydrogène, électrostatique, hydrophobe, et les forces de van der waals). Les Ac constituent des sondes moléculaires spécifiques vis-à-vis de n'importe quelle substance antigénique. La réaction Ag-Ac a deux grands type d'applications : la détection et le dosage des antigènes (par méthodes dont il faut vérifier la spécificité, la reproductibilité et la sensibilité). Et la détection et le titrage des anticorps (vis-à-vis d'un Ag ou d'un mélange d'Ag). L'équation dépend de l'affinité de l'anticorps pour l'antigène et la constante K rend compte de cette affinité : $K = \frac{[AcAg^*]}{[Ac].[Ag]}$

Si la quantité d'Ag augmente, la concentration du complexe Ag-Ac augmente également de telle façon que le rapport $\frac{[AcAg^*]}{[Ac].[Ag]}$

reste constant. Si l'Ag non marqué est ajouté au milieu le phénomène est doublé : d'une part il y a augmentation de la concentration du complexe Ag-Ac, d'autre part il se produit un déplacement sur les sites de fixation de l'Ac, des molécules d'Ag marqué par des molécules d'Ag non marqué .lorsque, dans un tel système, on augmente la quantité d'Ag non marqué, on déplace l'Ag marqué. La radioactivité de l'Ag marqué lié à l'Ac diminue. La figure en dessous représente l'aspect typique d'un étalonnage en radio immunologie.



- Condition

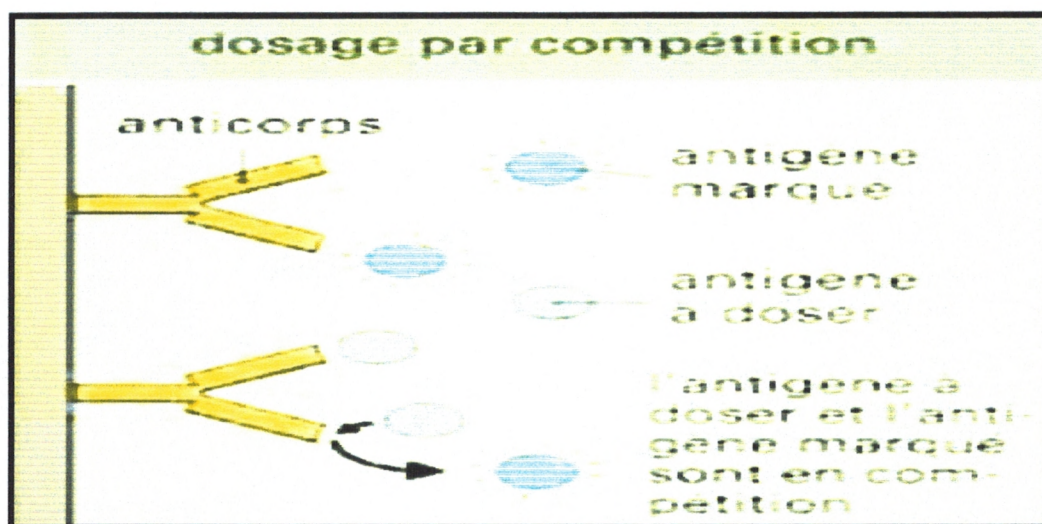
- L'antigène marqué doit présenter une haute activité spécifique et une bonne stabilité.
- Les laboratoires doivent être équipés d'un spectromètre de détection et respecter en outre les contraintes de sécurité et de réglementation définies quand à l'emploi « in vitro » de substances radioactives.
- L'Ag est totalement pur après le marquage radio actif : actuellement, le marqueur radioactif le plus utilisé en immuno-analyse est l'iode 125.

2.3.2.4 Phénomène de compétition entre deux Ag, l'un marqué et l'autre non marqué

Phénomène de compétition entre deux Ag, l'un marqué et l'autre froid :

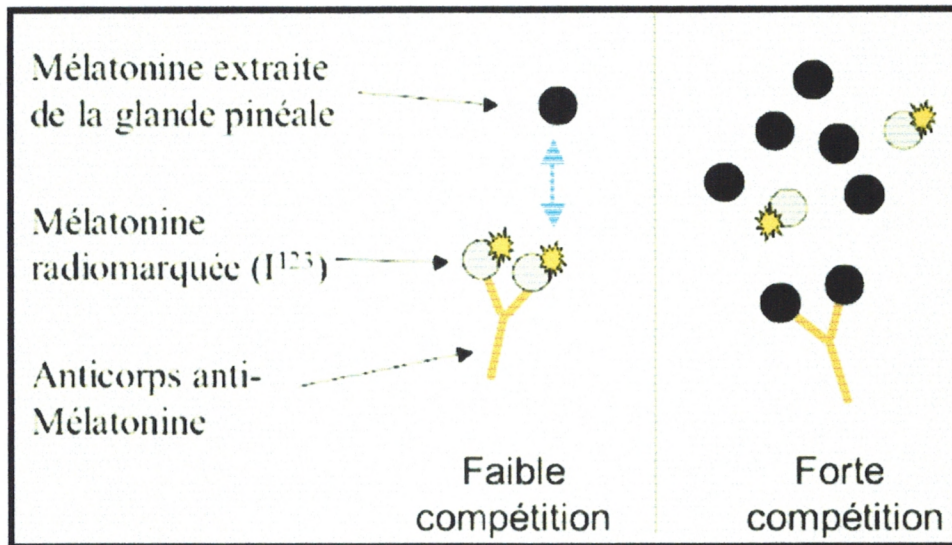
La technique radio immunologie est basé sur un phénomène de compétition entre un antigène marqué par radio isotope et un antigène non marqué que l'on veut doser ; cette compétition s'exerce vis-à-vis d'un anticorps spécifique. L'Ag à doser est placé en même temps que l'Ag marqué sur une plaque recouverte de l'Ac spécifique.

Plus il y a d'Ag dans l'échantillon, moins les Ag marqué peuvent lier l'Ac



2.3.2.5 Exemple d'un dosage de mélatonine extraite chez le mouton.

Le principe est de créer une compétition entre de la mélatonine marquée radioactive (mélatonine chaude) et de la mélatonine non marquée (dite froide). Des anticorps anti mélatonine sont saturés de mélatonine radioactive. L'ajout de mélatonine non radioactive va générer une compétition. Plus il y aura de mélatonine froide dans le tube et plus la compétition est forte. L'anticorps va donc se décharger de sa mélatonine radioactive. Et ensuite on récupère l'anticorps et on compte la radioactivité qui lui est associée.



Réalisation d'une gamme étalon pour la RIA

Au laboratoire, nous allons utiliser de la mélatonine non radioactive purifiée (achetée dans le commerce par exemple) de concentration connue et nous allons faire une gamme étalon comprise (par exemple) entre 0 et 1000pg/mL. Tous ces tubes sont passés en RIA. La gamme étalon peut être représentée de différentes manières

2.3.2.6 Les inconvénients

- Absence d'Ag froid grande quantité de traceur (nombreux complexes Ag*-Ac)
- L'immunisation est plus difficile à obtenir pour des substances de faible poids moléculaire
- Plus il y a d'Ag dans l'échantillon, moins les Ag* peuvent lier l'Ac.
- La plage de mesure est restreinte
- la réalisation du blanc est parfois difficile

2.3.2.7 le cas de ca 15.3

Le principe du dosage repose sur la compétition entre *ca 15.3* marquée à l'iode 125 et la *ca 15.3* contenue dans les standards ou les échantillons à doser vis-à-vis d'un nombre donné et limité de sites anticorps anti- *ca 15.3*.

A la fin de la période d'incubation, la quantité de *ca 15.3* marquée liée à l'anticorps est inversement proportionnelle à la quantité de *ca 15.3* non marquée présente dans l'essai.

La méthodologie proposée pour la séparation des fractions libre et liée utilise un réactif immunoprécipitant dans lequel un deuxième anticorps, en excès, se trouve pré-précipité.

2.3.2.8 Conclusion

La radio-immuno-assay est devenu un outil de recherche précieux, que l'on utilise couramment dans les hôpitaux pour faciliter le diagnostic du diabète des troubles de la thyroïde, de problème de stérilité et bien d'autre pathologie.

2.4 Temps de demi-vie

La demi-vie plasmatique du CA 15-3 n'a pas pu être déterminée de façon précise à ce jour.

2.5 Spécificité

Le CA 15-3 existe à l'état circulant chez les individus normaux. Il n'est donc pas spécifique de cancer et peut être élevé dans diverses situations physiologiques ou pathologiques.

2.6 Variations physiologiques

Les causes de variations physiologiques des taux de CA 15-3 sont rares. L'âge, le sexe, le tabagisme, la lactation, la période du cycle sont sans incidence sur les taux de sériques de CA 15-3 . En revanche, la grossesse s'accompagne parfois d'élévations de CA 15-3 pouvant atteindre 80 kU/L-1. Cette augmentation serait due à des modifications de la glande mammaire entraînant une augmentation de la sécrétion des mucines.

2.7 Variations pathologiques

Le CA 15- 3 peut être augmenté dans diverses situations cancéreuses parmi lesquelles les cancers ovariens, pulmonaires, gastriques, colorectaux, pancréatiques

2.8 Utilisation clinique de CA 15-3

L'utilisation clinique des marqueurs tumoraux nécessite le respect de trois règles rappelées dans le document de l'ANAES de 1997 :

"l'utilisation clinique du CA 15-3 impose que pour une patiente les dosages soient effectués dans un même laboratoire et avec la même technique"

"une première valeur supérieure aux valeurs usuelles doit être vérifiée sur un autre prélèvement"

"le résultat d'un dosage de marqueur sérique doit être interprété en fonction du contexte clinique et des résultats d'autres examens"

2.9 CA 15-3 et dépistage

L'analyse de la littérature montre que le CA 15-3 n'est élevé au moment du diagnostic du cancer du sein que dans moins de 30 % des cas et seulement dans 9 % des stades I et 19 % des stades II. Les marqueurs tumoraux ne peuvent donc en aucun cas être utilisés comme élément de dépistage des cancers du sein

2.10 CA 15-3 et diagnostic

Une méta-analyse regroupant 23 études publiées entre 1988 et 1998 accorde au CA 15-3 une sensibilité comprise entre 13 et 65 % pour une spécificité variant de 87 à 100 %.

En dépit d'une excellente spécificité, le CA 15-3 ne peut donc pas être utilisé comme moyen de diagnostic des cancers du sein .

2.11 Intérêt du taux initial

a . Valeur de référence

L'intérêt de mesurer le taux de CA 15-3 avant tout traitement est de disposer d'une valeur de référence individuelle indispensable pour évaluer l'efficacité d'un traitement ou pour réaliser un suivi ultérieur. La détection d'une récurrence biologique est en effet plus précoce si l'on se réfère à la valeur basale de chaque patiente plutôt qu'à un seuil issu d'une statistique de groupe.

b. Valeur pronostique

Un taux initialement élevé de CA 15- 3 est plus fréquemment rencontré dans les formes évoluées que dans les formes localisées de la maladie. La sensibilité moyenne du CA 15-3 recalculée à partir des données de 7 études différentes utilisant des valeurs seuils comprises entre 25 et 38 kU.L-1 sont de 9,8 % pour les stades I, 21, 5 % pour les stades II, 43,1% pour les stades III et 76 % pour les stades IV .

Deux études font du taux initial de CA 15-3 un facteur pronostique indépendant. Dans l'étude rétrospective rouennaise toutes les patientes avec un taux initial de CA 15-3 supérieur à 55 kU.L-1 sont décédées à 10 ans. Dans l'étude prospective de Shering, les patientes dont le taux initial de CA 15-3 est supérieur à 30,4 kU.L-1 ont une survie sans récurrence et une survie globale à 5 ans respectivement de 44 % et 67 % contre 65 % et 83% pour les patientes dont le CA 15- 3 initial est inférieur à 30,4 kU.L-1.

Une valeur initiale élevée doit donc faire rechercher activement, et avant toute décision thérapeutique, une éventuelle dissémination métastatique dont l'existence est de nature à modifier radicalement la stratégie thérapeutique.

2.12 Recommandations nationales (France) et internationales

Elles ne sont pas unanimes pour reconnaître le CA 15-3 comme indicateur de risque métastatique. Les recommandations de l'ANAES sont de ne pas doser le CA 15-3 au stade initial de la maladie en dehors d'un protocole de recherche. Les recommandations de l'ASCO sont que les données actuelles sont insuffisantes pour recommander l'usage du CA 15- 3 dans le staging. Les recommandations du groupe de travail du SOR sont d'inclure les marqueurs dans le bilan initial et de les utiliser comme dosage de référence en présence de facteurs pronostiques péjoratifs.

Dans leur nouvelle version, les SOR précisent qu'au moment du bilan initial, "Une élévation du marqueur peut orienter vers une thérapeutique générale plutôt que vers un simple traitement local".

CA 15-3 indicateur d'efficacité du traitement d'une maladie localisée Dans le cas d'un cancer localisé où le CA 15-3 est initialement élevé, sa non-normalisation constitue un index d'inefficacité thérapeutique et un facteur de mauvais pronostic . Boccara identifie en effet la normalisation d'un CA 15-3 initialement élevé (au seuil de 30 kU.L-1) comme un indicateur d'efficacité thérapeutique et un facteur pronostique indépendant. Pichon confirme que la non-normalisation du CA 15-3 est un facteur de mauvais pronostic.

2.13 CA 15-3 indicateur de récurrence locorégionale ou de métastase

a. Récurrences locorégionales

S'agissant du diagnostic de récurrence loco-régionale, la plupart des études s'accordent sur le fait que le pourcentage de patientes présentant un taux de CA 15-3 élevé à ce stade de la maladie est faible. Une analyse portant sur un total de 242 patientes ayant présenté une récurrence locorégionale accorde au CA 15-3 une sensibilité proche de 20 % . Cette sensibilité médiocre du CA 15-3 pour la détection des récurrences locales n'est pas alarmante dans la mesure où ces sites de première rechute demeurent accessibles à la détection clinique.

Le taux de CA 15-3, associé à une récurrence locorégionale est significativement plus élevé quand la récurrence locale est suivie d'une métastase que lorsqu'elle reste isolée. Pour Coveney, il existe une relation entre le taux de CA 15-3 lors de la récurrence locorégionale et le délai d'apparition des métastases. Au stade de la récurrence locale, un taux élevé de CA 15-3 doit donc inciter à rechercher des métastases à distance synchrones dont l'existence est de nature à modifier la prise en charge de la patiente. Ainsi dans la série d'O'Dwyer la valeur prédictive d'un taux de CA 15-3 supérieur à 40 kU.L-1 à ce stade de la maladie est-elle de 97 %. Dans la série rouennaise de Basuyau, la valeur prédictive positive de métastase ultérieure est de 88,2 % lorsque le CA 15-3 est supérieur à 30 kU.L⁻¹.

b. Métastases à distance

De nombreuses études ont montré qu'environ 75 % des premières évolutions métastatiques étaient associées à une élévation significative de CA 15-3. Une méta-analyse réalisée à partir de 18 études et portant sur un total de 4697 patientes dont 1940 sont porteuses de métastase accorde à une élévation confirmée de CA 15-3 des valeurs prédictives positive et négative respectivement de 92,5% et 85,6 %.

Il est important de noter que la plupart de ces études utilisent toujours la notion de seuil et non pas celle de cinétique pourtant plus intéressante dans la mesure où celle-ci améliore de façon notable la sensibilité et la spécificité. En effet, le pourcentage moyen de faux négatifs proche de 30% peut chuter à moins de 10 % si l'on substitue à la notion de taux celle de cinétique. De même le pourcentage de faux positifs compris selon les auteurs entre 0 et 14 % est probablement à pondérer si on élimine de façon systématique les diagnostics différentiels classiques par des explorations répétées et élargies. La sensibilité du CA 15-3 varie selon la nature du site d'évolution métastatique. Elle est maximale pour les localisations osseuses et hépatiques (80 %), intermédiaire pour les localisations pulmonaires (50 à 70 %), faible pour les localisations cutanées, ganglionnaires (15 à 20 %) ou cérébrales. En cas de rechute plurifocale la sensibilité du CA 15-3 peut atteindre 91 %. L'élévation du CA 15-3 anticipe la récurrence clinique et/ou radiologique d'un délai médian de 6 à 9 mois avec des extrêmes variant de 0 à 18 mois. Ces valeurs qui dépendent de la vitesse de croissance de la récurrence (donc du temps de doublement du CA 15-3) sont également à nuancer en fonction du rythme et de la nature des investigations effectuées durant l'élévation du marqueur. Les valeurs prédictives positives qui varient selon les séries sont de 60 % quand le suivi est inférieur à 14 mois et atteignent 75 à 100 % quand le suivi médian est de plus de 24 mois. Toutes ces données suggèrent une réelle possibilité de détection précoce des métastases.

2.14 .CA 15-3 et suivi thérapeutique d'une rechute ou d'une métastase

a. Corrélations clinico-biologiques

De nombreux auteurs ont tenté de corréler l'évolution des taux de CA 15-3 durant le traitement des métastases à l'efficacité de ce dernier. Généralement on admet une corrélation positive lorsque le CA 15-3 régresse de plus de 50 % en cas de réponse objective, augmente de plus de 25% en cas de progression tumorale et reste stable (variation inférieure à 25 %) en cas de stabilisation de la maladie. Les données de la littérature suggèrent une corrélation entre la réponse au traitement de la métastase et les variations du taux de CA 15-3 dans près de 80 % des cas. Ces résultats autorisent l'emploi du CA 15-3 comme indicateur d'efficacité thérapeutique notamment pour les localisations difficilement évaluables par la clinique telles que les métastases osseuses.

b. Nature des discordances clinico-biologiques

Les discordances entre la clinique et la biologie représentent 20 à 30% de cas et peuvent s'expliquer en partie par l'effet pointe correspondant au relargage initial du marqueur en cas de destruction tumorale importante lors d'un traitement systémique. Cette élévation paradoxale de CA 15-3, variable dans son intensité et sa durée (de 1 à 3 mois), est à différencier d'une réelle progression tumorale sous traitement. Un certain nombre de discordances clinico-biologiques peuvent également s'expliquer par l'existence de réponses cliniques dissociées, associant une réduction de la cible initiale à l'apparition d'une nouvelle cible ou encore par la difficulté fréquente de mesurer (voire de définir) des cibles ou d'harmoniser les critères d'évolution biologique.

c. Perspectives

Bien que le consensus actuel en terme d'évaluation précoce de l'efficacité thérapeutique s'appuie sur la notion de variation relative des taux de CA 15-3, l'interprétation du signal peut être encore beaucoup plus précise si elle s'appuie sur la notion de cinétique de marqueur en intégrant l'analyse

des courbes d'évolution individuelle du CA 15-3 et le calcul du ou des temps de demi-vie. La généralisation de cette méthode interprétative est subordonnée à la découverte d'un traitement curateur de la maladie métastatique ou à l'existence d'alternatives thérapeutiques enthousiasmantes.

d. Recommandations nationales (France) et internationales

Pour l'ANAES, lors du suivi biologique d'une rechute ou d'une métastase le dosage du CA 15-3 est un élément d'évaluation de l'efficacité thérapeutique mais ne peut en aucun cas être l'indicateur unique de l'efficacité du traitement. L'ASCO ajoute:

"However, in the absence of measurable disease, an increasing CA 15-3 (or CA 27.29) may be used to suggest treatment failure». Le groupe de travail des SOR reconnaît "qu'en cas de valeur initiale élevée, l'évolution du taux de CA 15-3 sous traitement constitue un reflet de l'efficacité thérapeutique

2.15 synthèse des recommandations de la FNCLCC

1. L'ACE et surtout le CA 15.3 sont les marqueurs tumoraux sériques les plus usités dans les cancers du sein. Si le taux de CA 15.3 est initialement élevé, il n'y a pas lieu de doser d'autres marqueurs en routine. Les résultats étant dépendants des techniques de dosage, tous les examens effectués pour un patient doivent être effectués dans le même laboratoire, avec la même technique.

D'autres marqueurs sont en cours d'évaluation. Il s'agit le plus souvent d'épitopes présents sur des glycoprotéines appartenant au groupe des mucines. A ce jour, ils n'ont pas fait la preuve de leur utilité, leur dosage n'est donc pas recommandé.

2. Le CA 15.3 ne doit pas être utilisé comme test de dépistage ou de diagnostic en raison de sa faible sensibilité.

Dans le cadre du diagnostic de métastase d'adénocarcinome d'origine inconnue, le CA 15.3 est susceptible d'orienter le diagnostic, donc le choix thérapeutique.

3. Le taux de CA 15.3 avant tout traitement est un facteur pronostique reconnu, mais dont l'indépendance n'est pas prouvée.

Un taux initialement élevé de CA 15.3 est plus souvent rencontré dans les formes évoluées que dans les formes localisées ; plusieurs études ont montré qu'il était lié au stade de la maladie. Une valeur initiale supérieure à 50 kU.L-1 doit donc faire rechercher activement, et avant toute décision thérapeutique, une éventuelle dissémination, surtout si la connaissance de celle-ci va faire modifier la stratégie thérapeutique. Le taux de CA 15.3 avant tout traitement constitue une valeur de référence si l'on est amené ultérieurement à suspecter une récurrence métastatique.

4. Dans les cas où le CA 15.3 est initialement élevé, sa non-normalisation constitue un index d'inefficacité thérapeutique et un facteur puissant de mauvais pronostic.

5. L'efficacité des marqueurs tumoraux et en particulier du CA 15.3 dans le diagnostic précoce de métastases de cancer du sein est reconnu.

Le bénéfice pour les patients du diagnostic précoce en termes de délai d'apparition des signes cliniques et de survie globale, n'est pas prouvé.

6. La concentration du CA 15.3 lors du diagnostic de métastase ne semble pas être un élément pronostique de réponse au traitement. Il existe une corrélation entre l'évolution biologique et l'évolution clinique des patientes, pendant le traitement de leurs métastases. Le dosage du CA 15.3 pendant le suivi du traitement des phases métastatiques constitue une aide à l'évaluation de l'efficacité thérapeutique qui ne doit pas remplacer l'examen clinique. La mise en place d'essais prospectifs prenant en compte les critères définis par le WGTM et la cinétique du marqueur est hautement souhaitable.

7. Le bénéfice de l'association systématique de plusieurs marqueurs n'est pas suffisant pour que celle-ci puisse être proposée. Le CA 15.3 reste le marqueur de référence dans le cancer du sein. L'association systématique d'autres marqueurs ne peut être proposée que dans le cadre d'essais

thérapeutiques visant à démontrer l'intérêt du diagnostic et du traitement précoces des métastases (accord d'experts).

Si l'on veut s'appuyer sur des paramètres biologiques pour apprécier l'efficacité d'un traitement, il peut être intéressant de disposer d'un marqueur efficace (ACE, TPA ou TPS) quand le CA 15.3 reste normal .

3. ACE :

L'antigène carcino-embryonnaire (ACE) a été décrit pour la première fois en 1965 par Gold et Freedman. Il a été obtenu par immunisation d'un lapin contre une lignée cellulaire d'un carcinome colique humain.

3.1 Structure

Cet antigène est une glycoprotéine de masse relative d'environ 200 kDa, composée en moyenne de 45 % de protéines et de 55% d'hydrates de carbone.

Elle appartient à la super-famille des immunoglobulines. L'ACE est composé de macromolécules étroitement voisines ayant un haut degré d'immunoréactivité croisée. Les anticorps monoclonaux ont permis de mieux individualiser l'ACE au sein de sa famille hétérogène des glycoprotéines membranaires. On décrit jusqu'à six antigènes proches de l'ACE :

- le groupe des NCA (Non specific Cross reaction Antigen) : NCA 55, NCA 95, NCA 160,
- l'ACE-M, variante membranaire de l'ACE, de bas poids moléculaire,
- la BGPI (Biliary Glycoprotein I), constituant normal de la bile,
- la NFA1 (Normal Foetal Antigen I). Ces protéines, très proches structurellement de l'ACE, présentent la même distribution foetale, tissulaire, physiologique ou oncologique que l'ACE.

3.2 .Synthèse

L'ACE est une protéine oncofoetale synthétisée essentiellement chez le foetus (intestin, foie et pancréas) pendant les deux premiers mois de la

gestation. En dehors de ces trois localisations foetales, l'ACE était autrefois uniquement mis en évidence dans les cancers du colon à l'aide d'anticorps polyclonaux de souris. L'utilisation d'anticorps monoclonaux révèle maintenant sa présence dans d'autres tissus. C'est un antigène présent à la surface du pôle apical des cellules épithéliales embryonnaires du tube digestif. Chez l'adulte, on le retrouve à la surface des cellules de l'intestin grêle, du colon, du rectum, du pancréas, du poumon et du sein. La quantité d'antigène mise en évidence dans les tissus normaux reste cependant beaucoup plus faible que dans les tissus néoplasiques.

3.3 Rôle

L'ACE est une molécule dotée de propriétés adhésives, capable d'adhésion homotypique (ACE-ACE) ou hétérotypique (ACE-BGP) ou (ACE-NCA) avec d'autres membres de la famille des antigènes carcino-embryonnaires, le collagène de type I et certaines souches d'E. Coli. Physiologiquement, l'ACE est impliqué dans la différenciation cellulaire au cours de l'embryogenèse et dans la reconnaissance et la régulation de la flore bactérienne du colon normal. La participation active de l'ACE dans la cancérogenèse et la dissémination métastatique est actuellement clairement établie pour les cancers du colon. En effet, le dérèglement de l'expression de plusieurs membres de la famille des antigènes carcinoembryonnaires est un événement précoce dans la cancérogenèse colique. Mais l'ACE peut également interférer avec l'immunité cellulaire anti-tumorale en protégeant les cellules tumorales qui l'expriment de la lyse par Lymphokine-Activated Killer. Enfin, l'hyperexpression de l'ACE et du NCA est en partie responsable de la résistance aux chimiothérapies, la transfection par de l'ADNc d'ACE diminuant la sensibilité des cellules à l'adriamycine.

3.4 Temps de demi-vie

La clairance de l'ACE est essentiellement hépatique. Son temps de demivie plasmatique est de l'ordre de quelques jours.

3.5 Techniques de dosage et valeurs de référence

La multiplicité des anticorps monoclonaux conduit à une importante dispersion inter-technique des résultats.

La variabilité interlaboratoire décrite à 17 % en 1997 peut atteindre sur certains sérums jusqu'à 49 %. Les valeurs seuils les plus souvent admises sont comprises entre 2,5 et 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Environ 85 % des patients sains ont un taux d'ACE inférieur à 2,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et 98 % ont un taux sérique d'ACE inférieur à 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Les principales méthodes de dosage et leurs principes sont les mêmes que celles du ca 15 . 3 avec la seule différence c'est l'utilisation des anticorps anti ACE

3.5.1 Principe de dosage par la technique par électrochimiluminescence «ECLIA»

Méthode « sandwich » durée totale du cycle analytique : 18 minutes

- 1^{ère} incubation : une prise d'essai de 10 μl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-ACE spécifique biotinylé et d'un anticorps polyclonal Anti -ACE spécifique marqué au ruthénium .il se forme un « sandwich »
- 2^e injection : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle .le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine –biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure,les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant . L'élimination de fraction libre est effectuée par le passage de PROCELL. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur .
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration .celle-ci est générée ,pour l'analyseur utilisé ,par une calibration en 2 point et une courbe de référence mémorisée dans le code –barres du réactif.

3.5.2 Principe du dosage par la technique radio immunologique :

Le dosage radioimmunologique de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) est un dosage de type sandwich.

La trousse utilise deux anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule ACE et réagissant sans compétition. Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée. La concentration de ACE est déterminée par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de ACE dans l'échantillon.

3.6 Principales causes d'élévation de l'ACE

L'ACE est très ubiquitaire et une élévation de ses taux peut être observée dans diverses situations. Variations physiologiques : L'âge, la grossesse et le sexe ont une influence sur les taux sériques d'ACE. En effet, l'ACE est en moyenne plus élevé chez les hommes, les sujets âgés et dans les deux premiers trimestres de la grossesse. Le tabagisme augmente notablement les taux d'ACE qui sont corrélés à l'intensité du tabagisme : chez le fumeur, la valeur seuil couramment admise est de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

3.7 Variations pathologiques :

Des concentrations sériques d'ACE modérément élevées sont observées chez les sujets alcooliques et chez les patients porteurs de lésions bénignes inflammatoires hépatiques, digestives ou pulmonaires. En cas d'insuffisance rénale chronique et d'hémodialyse des élévations du taux d'ACE atteignant jusqu'à cinq fois la normale peuvent être observées. De nombreux cancers peuvent être à l'origine d'une élévation des taux d'ACE (tractus digestif, ovaire, poumon, utérus, thyroïde, lymphome, mélanome, tumeurs neuro-endocrines).

4. Autres marqueurs

4.1 CA 27.29

Les mucines sont des macrocomplexes glycoprotéiques exprimés par de nombreux tissus épithéliaux. Les mucines sont regroupées en 7 familles

distinctes de MUC 1 à MUC 7 selon leurs caractéristiques génétiques et moléculaires. Un antigène associé aux mucines, le CA 27.29 est détecté grâce à un anticorps monoclonal le B27.29, spécifique de la protéine core de MUC 1. Les études de screening des différents Ac monoclonaux de MUC 1 : B27.29 (CA 27.29), DF3 (CA 15.3), b12 (MCA), BC4E549 (CA 549) reconnaissent en fait des séquences virtuellement identiques. De nombreuses variations peuvent perturber la reconnaissance in vivo et la quantification des marqueurs de MUC 1. La variabilité du nombre de séquences répétitives et la glycosylation post transcriptionnelle, propres à chaque patient, modifient l'accessibilité des différents épitopes. La glycosylation des sites jouxtant les épitopes affecte la reconnaissance de l'Ac. Cette reconnaissance peut être augmentée ou diminuée. Chez un patient atteint de cancer, les enzymes de glycosylation peuvent être altérées. De ce fait, on doit s'attendre à une hétérogénéité des antigènes produits par les mucines. De plus, cette variabilité phénotypique évolue chez un même patient au cours de sa maladie.

La détection in vivo des produits de MUC1 est délicate en raison de la présence

d'autoanticorps antimucines circulants. Ces derniers peuvent effectivement être sécrétés chez les patients atteints de cancer en réponse à la présence de mucines biochimiquement modifiées. Ces anticorps peuvent former des immuns complexes anti-mucines. Ces complexes modifient la reconnaissance des mucines.

4.2 CA 549

Le CA 549 est une glycoprotéine acide comprenant deux sous-unités de masse relative 400 et 512 kDa. Il appartient à la famille des mucines circulantes comme le CA 15-3 et le MCA, constituant des antigènes circulants associés aux tumeurs mammaires humaines. Il est défini grâce à deux anticorps monoclonaux :

- BC4 E 549 obtenu après immunisation de souris avec des membranes purifiées d'une lignée cellulaire de cancer du sein,
- BC4 N 154 obtenu après immunisation de souris avec des membranes lipidiques de globules de lait humain Le dosage immunométrique du CA 549 à l'aide de ces deux anticorps a permis de définir une valeur seuil de 12 kU.L-1. A ce taux, la sensibilité du CA 549 dans la détection des cancers du sein reste faible et varie de 30 à 50% selon les stades.

4.3 MCA

Le MCA (Mucin-like Carcinoma associated Antigen) est une glycoprotéine de masse relative 350 kDa de type mucinoïde, utilisée comme antigène tumoral associé aux cancers du sein.

Son dosage s'effectue par un test immunoradiométrique en deux étapes, avec un anticorps monoclonal :

MCA-b-12, qui reconnaît un épitope protéique répétitif. Le MCA est produit par des tissus normaux (épithéliums des canaux mammaires et des tubules rénaux) et est retrouvé en grande partie dans les urines et le lait. La valeur seuil est fixée à 13 kU.L-1.

4.4 TPA

L'antigène tissulaire polypeptidique (TPA) a été isolé à partir de différents types de cancers humains. Il est constitué d'un ensemble hétérogène de molécules de 25 à 45 kDa. Il s'apparente aux protéines du cytosquelette (cytokératines 8, 18, 19). Il est surtout produit au cours des phases S et G2 du cycle cellulaire. Il est donc ainsi un reflet de l'activité proliférative d'un pool cellulaire. Dans le domaine de l'oncologie, le TPA est utilisé comme un marqueur ubiquitaire non spécifique de tissu, dont l'intérêt réside dans sa corrélation au degré de prolifération tumorale. Actuellement, il est parfois utilisé en association avec le CA 15-3 comme aide au diagnostic et à la surveillance des métastases dans le cancer du sein.

4.5 c-erbB-2 ou HER-2/neu

c-erbB-2 code pour une protéine de 185kDa (p185) qui appartient à la famille des récepteurs à l'Epidermal Growth Factor (EGF). La protéine p185 HER-2/neu comprend un domaine cytoplasmique à activité tyrosine kinase, un domaine transmem-branaire et un domaine extra-cellulaire (ECD) qui est présent à la surface des cellules cancéreuses mammaires. De nombreuses études ont montré que l'ECD de Her-2/neu est une glycoprotéine de poids moléculaire compris entre 97 et 115 kDa, appelé p105. C'est ce domaine ECD qui peut être quantifié par technique ELISA grâce à des anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes externes de la protéine Her2/neu.

IX.CONCLUSION

Au stade diagnostique, les marqueurs sériques ne sont des outils ni de dépistage ni de diagnostic du cancer du sein. Leur taux initial sert de valeur de référence individuelle. Il est utile d'associer deux marqueurs complémentaires, tels qu'une mucine (CA 15-3) et l'ACE. Un taux supérieur au seuil de dissémination métastatique du CA 15-3 conditionne la recherche de métastases même sans signe d'appel évident. En raison de la variabilité intertechnique importante, le seuil de dissémination métastatique doit être déterminé pour chaque technique. La stratégie de surveillance privilégie le marqueur initialement élevé ou le plus sensible (CA 15-3). La surveillance biologique individuelle doit être assurée par un seul laboratoire et une seule technique. Tout changement de technique doit s'accompagner d'une reprise des antécédents. Tout résultat positif impliquant une décision thérapeutique doit être contrôlé sur un nouveau prélèvement. L'interprétation du taux du marqueur doit tenir compte de son profil évolutif et du contexte clinique ou radiologique. Lorsqu'un marqueur est élevé, sa normalisation et sa vitesse de diminution constituent des critères

précoces d'efficacité thérapeutique. La prescription doit être adaptée à la nature des traitements institués,

Au risque de récurrence et aux alternatives thérapeutiques disponibles. On doit éviter de doser les marqueurs en l'absence d'alternatives thérapeutiques. Le compte-rendu doit intégrer la cinétique d'évolution individuelle du marqueur, les antécédents et la valeur biologique apparente du marqueur si celle-ci est utile au clinicien dans sa démarche de soin.

Annexe

Étapes du dosage des marqueurs tumoraux

1- Saisie et contrôle des demandes de dosages de marqueurs. Figure 1



2- une prise de sang



Ce sang contient des cellules (globules rouges, globules blancs ...) qui « flottent » dans un liquide appelé sérum. En centrifugeant le sang, on récupère le sérum qui contient les marqueurs tumoraux.

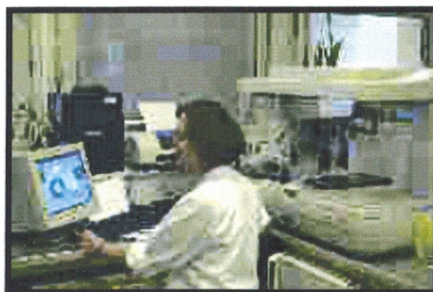
3- distribution des réactifs pour doser les marqueurs.



4 - préparation des échantillons de sérum avec un automate.



5 –calibration de l'appareil de dosage



6- Réalisation des dosages par un automate capable de doser un marqueur en comptant la radioactivité d'un réactif de mesure



XI-BIBLIOGRAPHIE

1. Magazine européenne RDT info n °50 aout 2006
2. Journal d'information biomédicale N ° 55 – aout septembre 99.
3. Cancérologie DCEM3 2002 – 2003 , Université Paris –VI- 2007
4. Marqueurs tumoraux sériques , prescrire à bon escience , Dr Laurence Vitu Loas. édition Masson 2000.
5. Thérapeutique anti cancéreuses cibles ,docteur Gilles Pagès,polutech nice sophia . édition de Boeck 2004
6. Le cancer du sein : Des femmes témoignent Emmanuel Cuzin & Jean-Yves Génot .édition Masson 2001.
7. Cancer du sein ,Jean-Philippe Brettes & Carole Mathelin & Béatrice Gairard & Jean-Pierre Bellocq &Collectif , édition Masson 2001 .
8. Après le cancer du sein : Un féminité à reconstruire Elise Ricadat & Lydia Taïeb & Noëlle Châtelet , De Boeck 2001
9. J'ai un cancer du sein, et après... , Pascal Bonnier ,masson 2000
- 10.Reduction et cacer du sein ,jean –claude ferrandez ,masson
- 11.Cancer du sein question et réponses au quotidien .masson
- 12.Cacer du sein etape pre therapeutique –jacques rouessé, john libbe
- 13.Gynecologie ,7 ème eddition collection pour le praticien j.lansac ,masson
- 14.Cancer du sein avancé ,journées de la societé fracaise de sénologie et de pathologie mammaire (sfspm),springer,avignon du 14-16 novembre 2007
- 15.soins infirmiers en médecine et en chirurgie , 4^{ème} édition , brunner & suddarth ,de Boeck ,2003
- 16.250 Examens de laboratoire prescription et interprétation , rené caquet ,Masson 2008
- 17.La médecine nucléaire ,richard zimrmann ,EDP sciences2006
- 18.Medicine nucléaire ,manual pratique ,rubinstien -laurent-stegen .De Boeck 1999
- 19.site de OMS : [http: www.who.int](http://www.who.int)