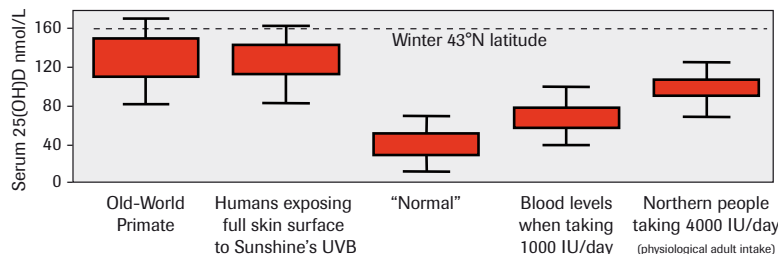


COLLOQUE NATIONAL
DU SNBH 2007

**Roche choisit
des sujets
innovants
à forte valeur
ajoutée scientifique**



Sources, include Cosman, Osteoporosis Int 2000 ;
Fuleihan NEJM 1999 ; Scharla Osteoporosis Int 1998 ; Vieth AJCN 1999, 2000

Statut de la vitamine D chez les primates et premiers humains.

Chaque année, le Colloque national des biologistes des hôpitaux, organisé par le Syndicat national des biologistes des hôpitaux (SNBH), fait une large place aux ateliers organisés par les sociétés de diagnostic et les laboratoires spécialisés, en concertation avec les collègues du syndicat. Cette année encore, Roche a été la société la plus représentée, avec cinq ateliers.

Ce sujet sera traité en 2 parties : vous trouverez ici la synthèse de 3 ateliers sur la vitamine D, la protéine S-100 et la cinétique des marqueurs. La suite sera publiée dans le prochain « 10 000 BIO ».

Ces ateliers permettent de faire une synthèse, sur des thèmes d'actualité, des différentes disciplines de la biologie médicale. Roche continue à privilégier une approche scientifique en soutien de ce colloque très dynamique, qui représente pour les congressistes un lieu de formation et de partage d'expériences. Une fois encore, des orateurs de haut vol auront su enthousiasmer et mobiliser leur public sur des thématiques médicales au cœur de vos (et de nos) préoccupations.

Ainsi le 36^e Colloque s'est-il tenu au palais des congrès de Dijon au cours de la première semaine d'octobre.

Parmi les cinq ateliers soutenus cette année par Roche Diagnostics, trois se rapportaient à des pathologies très fréquentes (ostéoporose, traumatismes crâniens, cancer), pour lesquelles nos nouveaux tests disponibles sur cobas 6 000, Elecsys et Modular (vitamine D, protéine S-100) ou nos nouvelles fonctionnalités (logiciel de suivi de la cinétique des mar-

queurs tumoraux*) permettent d'en optimiser le diagnostic et le suivi clinique.

Deux autres ateliers ont aussi permis de faire connaître, d'une part, les nouvelles applications de la PCR en temps réel avec marquage CE-IVD sur LightCycler pour la quantification des virus herpès-virus, et, d'autre part, l'intérêt que présente, en hématologie, la microscopie automatisée, avec, à l'appui, des expériences de cytologistes utilisateurs du DM96, un microscope « intelligent » capable de « robotiser » la lecture des frottis sanguins et d'archiver les images numérisées à des fins de réexamen, de travaux d'expertise et de formation des cytologistes. Ces deux derniers sujets seront publiés dans le prochain « 10 000 BIO ».

Nous présentons ci-dessous les trois premiers résumés de ces ateliers, qui se sont avérés passionnants – en témoignent la forte participation et les avis très positifs recueillis à leur issue. Nous réitérons par ailleurs nos remerciements aux orateurs, modérateurs et organisateurs de ces rencontres.

(*) Atelier sur la cinétique des marqueurs co-sponsorisé par les sociétés Abbott Diagnostics, Brahms, Diasorin, Roche et Tosoh.

Évaluation, correction et maintien du statut vitaminique D : l'ostéoporose, etc.

J.-C. Souberbielle
 Laboratoire d'explorations fonctionnelles, Hôpital Necker-Enfants malades (AP-HP), Paris

Dans le cadre de la prise en charge de l'ostéoporose, les experts ont fait la recommandation suivante : « *La recherche et la correction d'une insuffisance en calcium et/ou vitamine D constituent non seulement un préalable indispensable à la mise en route d'un traitement anti-ostéoporotique mais doivent également être poursuivies au long cours.* » Cette recommandation doit être complétée par quelques explications pour être suivie par les médecins.

Rappels physiopathologiques

Rappelons tout d'abord que la vitamine D n'est pas une vitamine au sens strict du terme (la peau est capable de la synthétiser sous l'influence de rayonnements UVB) mais plutôt une prohormone. La vitamine D transportée par le sang est hydroxylée dans le foie pour former la 25-hydroxy-vitamine D (25-OH D), une forme de stockage de la vitamine D. Cette hydroxylation n'est pas régulée, et plus on synthétise ou ingère de vitamine D, plus on fabrique de 25-OH D. En revanche, une seconde hydroxylation déclenchée stimulée par la PTH, une hypophosphatémie ou des apports faibles en calcium par se fait au niveau rénales et aboutit à la formation du métabolite actif de la vitamine D, la 1,25-dihydroxy-vitamine D (1,25-OH² D), aussi appelée calcitriol.

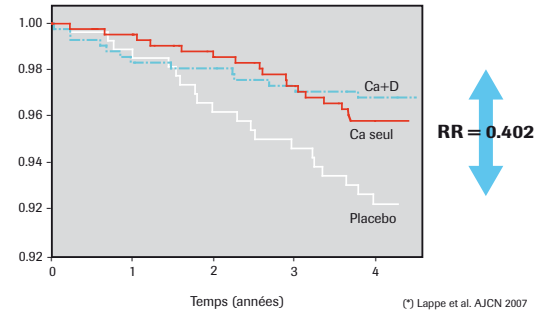
La vitamine D favorise l'absorption intestinale du calcium et du phosphore mais aussi la minéralisation osseuse. Un déficit profond en vitamine D a donc pour conséquence le rachitisme chez l'enfant

et l'ostéomalacie chez l'adulte. Une insuffisance modérée en vitamine D peut, par défaut d'absorption du calcium, entraîner une hyperparathyroïdie secondaire pouvant aggraver une ostéoporose et compromettre l'efficacité de son traitement par les bisphosphonates (cf. la recommandation ci-dessus). Des études sérieuses montrent qu'un apport journalier d'au moins 800 U de vitamine D3 et de calcium réduit le risque relatif de fractures périphériques chez le sujet âgé.

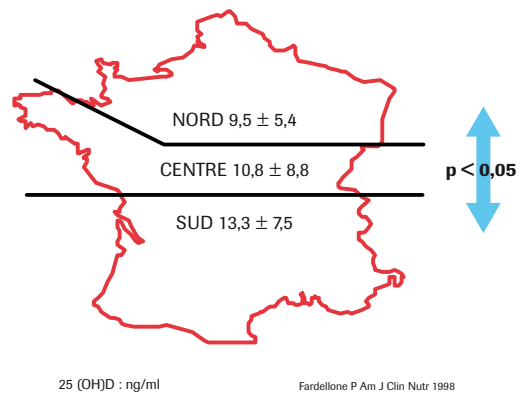
La vitamine D a de multiples autres actions, qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses études. Celles-ci suggèrent qu'une insuffisance en vitamine D augmente le risque relatif de nombreuses maladies : cancers, maladies auto-immunes (diabète de type 1, SEP, polyarthrite rhumatoïde...), HTA, infections, etc.

Dosages

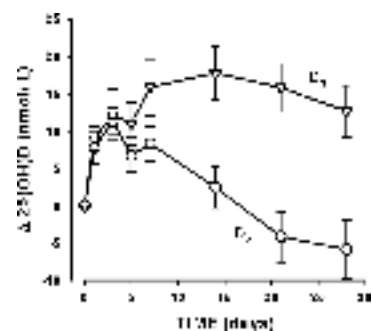
Pour évaluer le statut vitaminique D, il faut mesurer la 25-OH D (et non le métabolite actif). Ce dosage est maintenant accessible sur plusieurs automates d'immunoanalyse. Il est important de noter que les valeurs de référence pour ce paramètre ne doivent pas être obtenues à partir de populations « en bonne santé » (comme on le fait habituellement pour la plupart des paramètres biologiques) mais définies comme les concentrations limites ne présentant pas d'effet délétère pour la santé (pas d'élévation de la PTH, par exemple) et/ou pour lesquelles on observe des effets bénéfiques sous supplémentation (par exemple, réduction du risque de fractures, de chutes ou de cancers). Même s'il n'y a pas de consensus formel, la majorité des experts préconisent une concentration minimum supérieure à 30 ng/mL (soit 75 nmol/L), avec un maximum à 80 ng/mL (soit 200 nmol/L). Ces valeurs sont à comparer à celles trouvées dans une population en bonne santé, qui sont de l'ordre de 5 à 40 ng/mL (mais qui dépendent de la saison, de la latitude, de l'altitude, de l'éthnie des participants, etc.), et démontrent la fréquence élevée de l'insuffisance en vitamine D dans la



Vitamine D et cancer*.



Insuffisance en vitamine D chez les femmes de 65 ans.



Armas L, Hooley B, Heaney R. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. J Clin Endocrinol Metab 2004 ; 89 : 5387-91

La vitamine D2 est beaucoup moins performante que la vitamine D3 chez l'homme.

population générale. Si une valeur seuil diagnostique unique est utilisée, il faut que les différentes techniques de dosage soient standardisées.

Traitement

Pour corriger une insuffisance en vitamine D, le médecin pourra prescrire des doses, par exemple sous forme d'ampoules à 100 000 U de vitamine D3, qui dépendront de la concentration initiale de 25-OH D ; une ou plusieurs ampoules de 100 000 U de vitamine D3 : 4 ampoules si la 25-OH D est inférieure à 10 ng/mL, 3 si elle se situe

entre 10 et 20 ng/mL, et une ou 2 si elle est comprise entre 20 et 30 ng/mL.

Lorsque l'insuffisance sera corrigée, il faudra poursuivre la supplémentation pour maintenir la concentration de 25-OH D au-dessus de 30 ng/mL (corriger un déficit en vitamine D ne signifie pas qu'on a guéri définitivement une maladie !). Il faudra aussi privilégier une modalité de prises qui favorisera l'observance et prescrire, en fonction des préférences du patient, soit des doses quotidiennes (de 800 à 1 200 U de vitamine D2 ou D3 par jour), soit de fortes doses ponctuelles (par exemple, 100 000 U de

vitamine D3 tous les deux à trois mois).

En conclusion, l'insuffisance en vitamine D est très fréquente, et sa correction peut avoir un impact non négligeable en termes de santé publique. Tout en restant prudent dans l'interprétation des résultats des études récentes, on peut avancer que la vitamine D aura vraisemblablement des effets bien au-delà du seul métabolisme osseux. Le dosage de la 25-OH D devrait désormais occuper une place significative dans l'activité des laboratoires de biologie médicale.

Les traumatismes crâniens aux urgences : la place de la protéine S-100

**J.-L. Beaudoux¹,
P. Biberthaler²**

¹ Fédération de biochimie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris
² OA Unfallchirurgie, Chirurgische Klinik und Poliklinik Innenstadt, Klinikum der Universität München

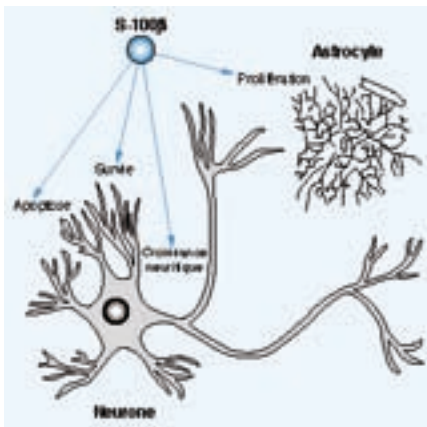
La protéine S-100 est une petite protéine dimérique, dont la sous-unité est synthétisée sélectivement par les cellules gliales cérébrales. Elle participe physiologiquement à la régulation de l'organisation structurale de la cellule, en interagissant avec différentes protéines du cytosquelette. Faiblement présente au niveau extracellulaire, elle peut interagir avec différentes protéines de membranes cytoplasmiques, et ainsi moduler les fonctions neuronales.

La protéine S-100 est retrouvée de façon physiologique dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et le sang ; sa demi-vie d'élimination plasmatique est brève (une heure environ). L'augmentation de

concentration de la S-100 dans les fluides biologiques a deux causes principales : une surexpression génique lors de certains processus, ou une libération de la protéine S-100 intracellulaire consécutive à une lyse cellulaire cérébrale aiguë. Dans ce contexte, les lésions du tissu cérébral provoquées par un traumatisme crânien (majeur ou mineur), une hémorragie cérébrale ou un accident ischémique cérébral (même transitoire) entraînent une libération de protéine S-100 dans le LCR et la circulation systémique. Le dosage de ce marqueur biologique constitue donc un élément diagnostique et/ou pronostique à court et à long terme de l'atteinte lésionnelle, en confrontation avec les données cliniques et les données d'imagerie médicale (scanner, IRM). À ce titre, son dosage systémique est proposé par la Société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR) comme biomarqueur additionnel de suivi des hémorragies intracrâniennes. Il est réalisé quotidiennement au sein du GH Pitié-Salpêtrière (AP-HP, Paris) durant les dix premiers jours suivant l'admission pour tous les patients présents en réanimation neurochirurgicale en raison d'une hémorragie intracrânienne, afin de vérifier l'évolution favorable du patient et de détecter la mise en place délétère d'un vasospasme cérébral secondaire.

Les données les plus récentes indiquent que la protéine S-100 peut également être un bon marqueur biologique de tri de patients suspectés de traumatismes crâniens mineurs. En effet, la gestion des patients qui se présentent aux urgences avec un traumatisme crânien (TC) constitue une difficulté diagnostique dans tous les hôpitaux. Les TC moyens ou graves ne posent pas de problème majeur, à la différence des TC légers (score de Glasgow de 13 à 15) qui représentent la majorité des TC. Ces difficultés diagnostiques sont en partie liées à l'absence de spécificité des symptômes neurologiques précoces de ces TC (nausées, vomissements...). C'est pourquoi l'examen tomодensitométrique précoce est devenu assez systématique en routine. Mais il présente deux inconvénients majeurs : son coût onéreux, et des difficultés logistiques à sa réalisation dans les services d'accueil des urgences de taille modeste. L'utilisation de la protéine S-100 comme marqueur biologique de tri des TC mineurs ou modérés dans les services d'accueil des urgences serait un apport important pour le clinicien.

Dans le département d'urgence du CHU de Munich (Allemagne), nous avons donc cherché à mettre en place de nouveaux paramètres qui contribueraient à ne pas prescrire de scanner à des patients avec



Actions physiologiques potentielles de la protéine S-100B sur les cellules nerveuses.

TC non suspects d'hémorragie intracérébrale. Nous avons ainsi validé la protéine S-100 en tant que marqueur biologique quantitatif indépendant pour préciser l'indication du scanner cérébral. Au cours d'une étude multicentrique effectuée sur plus de 1300 patients, nous avons démontré que ce paramètre était pertinent et l'avons introduit en routine. Ce faisant, nous avons été capables de réduire le nombre de scanners d'environ un tiers sans risques supplémentaires pour les patients et les médecins, bien entendu. Une étude multicentrique nationale est en cours pour confirmer en France ce résultat et favoriser la prescrip-

tion du dosage systémique de la protéine S-100 dans le contexte de suspicion de TC léger.

BIBLIOGRAPHIE

- Benabdesselam O. et al., « La protéine S-100B : biomarqueur de diagnostic et de suivi de lésions cérébrales aiguës », *Spectra Biologie*, n° 158, 2007, pp. 40-45.
- Weiss N. et al., « Prognosis value of plasma S-100B protein levels after subarachnoid aneurysmal hemorrhage », *Anesthesiology*, vol. 104, 2006, pp. 658-666.
- Biberthaler P. et al., « Serum S-100B concentration provides additional information for the indication of computed tomography in patients after minor head injury: a prospective multicenter study », *Shock*, vol. 25, 2006, pp. 446-453.
- Mussack T. et al., « Significance of Elecsys S-100 immunoassay for real-time assessment of traumatic brain damage in multiple trauma patients », *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, vol. 44, 2006, pp. 1140-1145.
- Alber B. et al., « Multicenter evaluation of the analytical and clinical performance of the Elecsys S-100 immunoassay in patients with malignant melanoma », *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, vol. 43, 2005, pp. 557-563.

Utilisation clinique de la cinétique des marqueurs tumoraux

J.-M. Riedinger¹, B. Coudert²

¹ Laboratoire de biologie clinique, Centre Georges-François-Leclerc, Dijon

² Département d'oncologie médicale, Centre Georges-François-Leclerc, Dijon

(*) Atelier sur la cinétique des marqueurs co-sponsorisé par les sociétés Abbott Diagnostics, Brahms, Diasorin, Roche et Tosoh.

Il est aujourd'hui admis que la cinétique des marqueurs tumoraux (MT) tracée en coordonnées semi-logarithmiques avec le calcul des paramètres cinétiques associés (demi-vie, nadir, temps de doublement) est beaucoup plus informative qu'une valeur absolue de MT¹. La place des cinétiques de MT en cancérologie se situe à différents stades de la maladie.

Dépistage

L'étude de la cinétique de l'antigène spécifique de prostate (PSA) pour le dépistage du cancer de la prostate est essentielle car la concentration de ce marqueur aug-

mente plus vite chez les malades porteurs d'un cancer que chez les sujets normaux ou atteints d'hypertrophie bénigne de la prostate². Mesurer cette cinétique suppose trois dosages consécutifs sur une période de 18 mois à 2 ans, effectués dans le même laboratoire. Un accroissement de plus de 0,75 ng par millilitre et par an permettrait d'obtenir une meilleure sensibilité – 72 % – tout en conservant une spécificité de 90 %. L'étude de la courbe de décroissance de l'hormone chorionique gonadotrope (HCG) chez une patiente porteuse d'une maladie trophoblastique permet le diagnostic de choriocarcinome utérin.

Surveillance thérapeutique

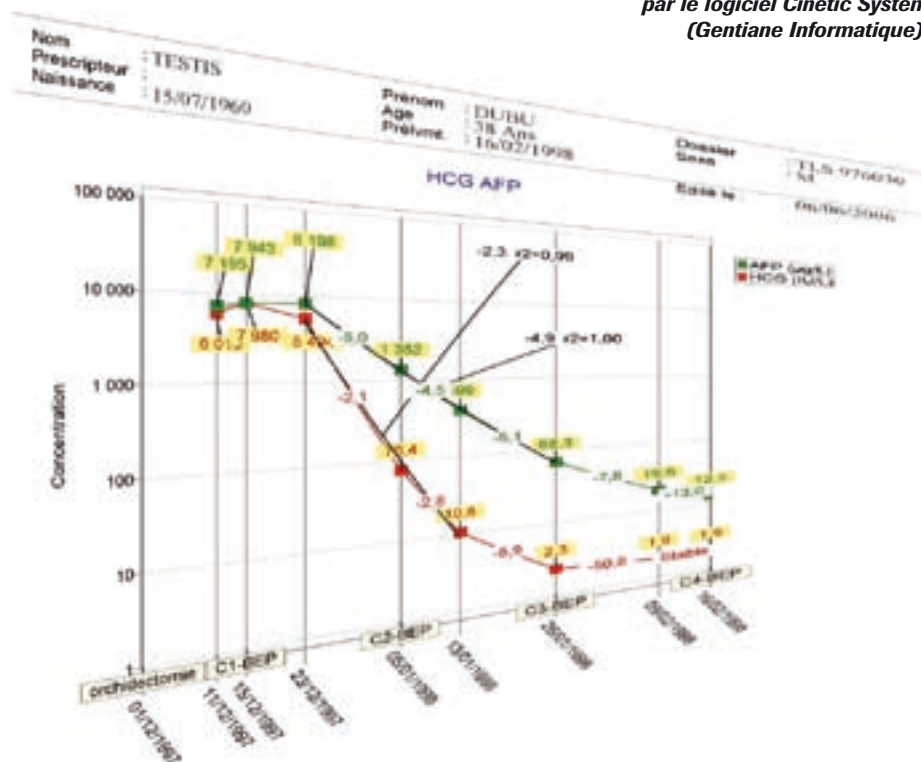
Dans le cas d'une chirurgie curatrice, si le chirurgien a procédé à l'ablation de la totalité du seul organe producteur, la concentration du marqueur tumoral doit devenir indétectable : c'est le cas de la thyroglobuline (Tg) et de la calcitonine (CT) après thyroïdectomie totale, du PSA après prostatectomie radicale, de l'HCG après traitement d'une tumeur testiculaire. Toute sécrétion résiduelle de MT signe la persistance de tissu tumoral (local ou métastatique) et plus rarement de tissu sain. La cinétique de MT fournit différents éléments pronostiques importants pour les cancers

de l'ovaire, de la prostate, de la thyroïde et les tumeurs germinales non séminomateuses (TGNS). Ces éléments peuvent intervenir dans le choix de la stratégie thérapeutique, en particulier dans la prise en charge des TGNS (un essai porte sur une intensification thérapeutique chez les patients mauvais répondeurs au plan biologique) et dans les cancers différenciés de la thyroïde, où une curiethérapie métabolique est appliquée aux patients présentant une Tg non nulle après traitement chirurgical initial. En cas de traitement par prostatectomie radicale, la curabilité est définie par l'obtention d'un PSA indétectable qui, s'il se maintient à ce niveau pendant au moins sept ans, signe la rémission complète. Chez les patients traités par radiothérapie, la décroissance est plus lente, la totalité des cellules n'étant pas tuée simultanément. Un PSA inférieur à 0,5 µg/L-1 à 6 mois est un élément de bon pronostic.

Surveillance d'un patient traité

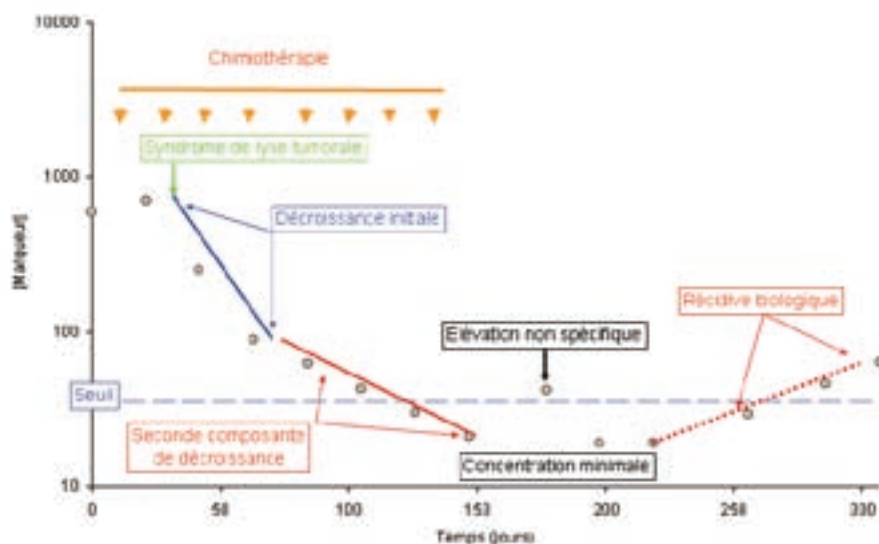
Le MT ne constitue le principal paramètre de surveillance que pour les tumeurs testiculaires et les cancers de la thyroïde : une élévation exponentielle du MT constitue une récurrence biologique qui fait le plus souvent, pour la thyroïde et, dans tous les cas, pour les tumeurs testiculaires, l'objet

Visualisation de la cinétique des marqueurs par le logiciel Cinetic System (Gentiane Informatique).



d'un traitement immédiat. L'apparition des signes cliniques sera d'autant plus rapide que le temps de doublement du marqueur tumoral sera court. Pour certaines autres localisations, le MT est un paramètre utile pour détecter une récurrence. Souvent précoce, il peut être pris en défaut et ne doit donc pas être utilisé seul, mais associé à un examen clinique et radiologique.

Dans le cancer de la prostate, une élévation exponentielle de PSA signe une récurrence biologique, considérée actuellement comme une authentique récurrence, et que les cliniciens peuvent traiter rapidement. La précocité et la vitesse d'élévation du PSA peuvent renseigner sur la nature locale ou métastatique de la récurrence et ainsi orienter la thérapeutique.



Représentation schématique montrant l'intérêt de l'étude des cinétiques des marqueurs.

Dans le cancer du sein, le Cancer Antigen 15-3 (CA 15-3) s'élève dans moins de 15 % des cas de récurrences locorégionales, mais dans 80 % des cas de métastases. Le consensus actuel^{3,4} préconise de ne pas utiliser le CA 15-3 dans la surveillance des cancers traités car le bénéfice d'un traitement précoce des métastases n'est pas actuellement prouvé. Cette attitude peut faire débat puisque les possibilités thérapeutiques faisant maintenant du cancer du sein métastatique une pathologie chronique, de nombreuses équipes s'appuient sur ce MT pour diagnostiquer précocement les métastases et différer l'apparition des signes cliniques. Cela est important pour les métastases osseuses, qui font l'objet d'un traitement efficace, peu agressif et peu coûteux par biphosphonates et hormonothérapie.

Dans les cancers ovariens, le CA 125 est dans la grande majorité des cas le signe le plus précoce de récurrence. Les possibilités de prise en charge sont toutefois beaucoup moins nombreuses que pour le cancer du sein, et le bénéfice d'un traitement précoce des récurrences, qui fait l'objet d'un essai thérapeutique complexe, n'est pas démontré.

Les progrès récents dans la compréhension des mécanismes de la cancérogenèse et la découverte de nouvelles drogues devraient permettre d'élargir les champs d'intérêt des cinétiques de marqueurs tumoraux. Cependant, la validation de nouveaux paramètres cinétiques devra s'intégrer dans des essais cliniques dédiés, où ces paramètres devront faire la preuve d'un pouvoir discriminant supérieur à ceux des facteurs pronostiques classiques.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) « Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides », Cahier de formation de biologie médicale, Bioforma, n° 32, 2005.
- (2) « Cancer de la prostate et dépistage - Recommandations de l'Association française d'urologie », Association française d'urologie, 2002.
- (3) « Clinical practice guidelines for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. Adopted on May 17, 1996 by the American Society of Clinical Oncology », Journal of Clinical Oncology, vol. 14, 1996, pp. 2843-2877.
- (4) Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES). « Serum markers for breast and colorectal cancers. Working group reunited by the National Health Agency for Accreditation and Evaluation (NHAEE) », Gastroentérologie clinique et biologique, vol. 22, 1998, pp. 442-457.