

# Les marqueurs biologiques des tumeurs endocrines digestives

*Michèle d'Herbomez*

DIU de Chirurgie Endocrinienne – Lille 2011

# Bilan biologique participe au

- Diagnostic
- Pronostic
- Suivi

# Trois types de marqueurs:

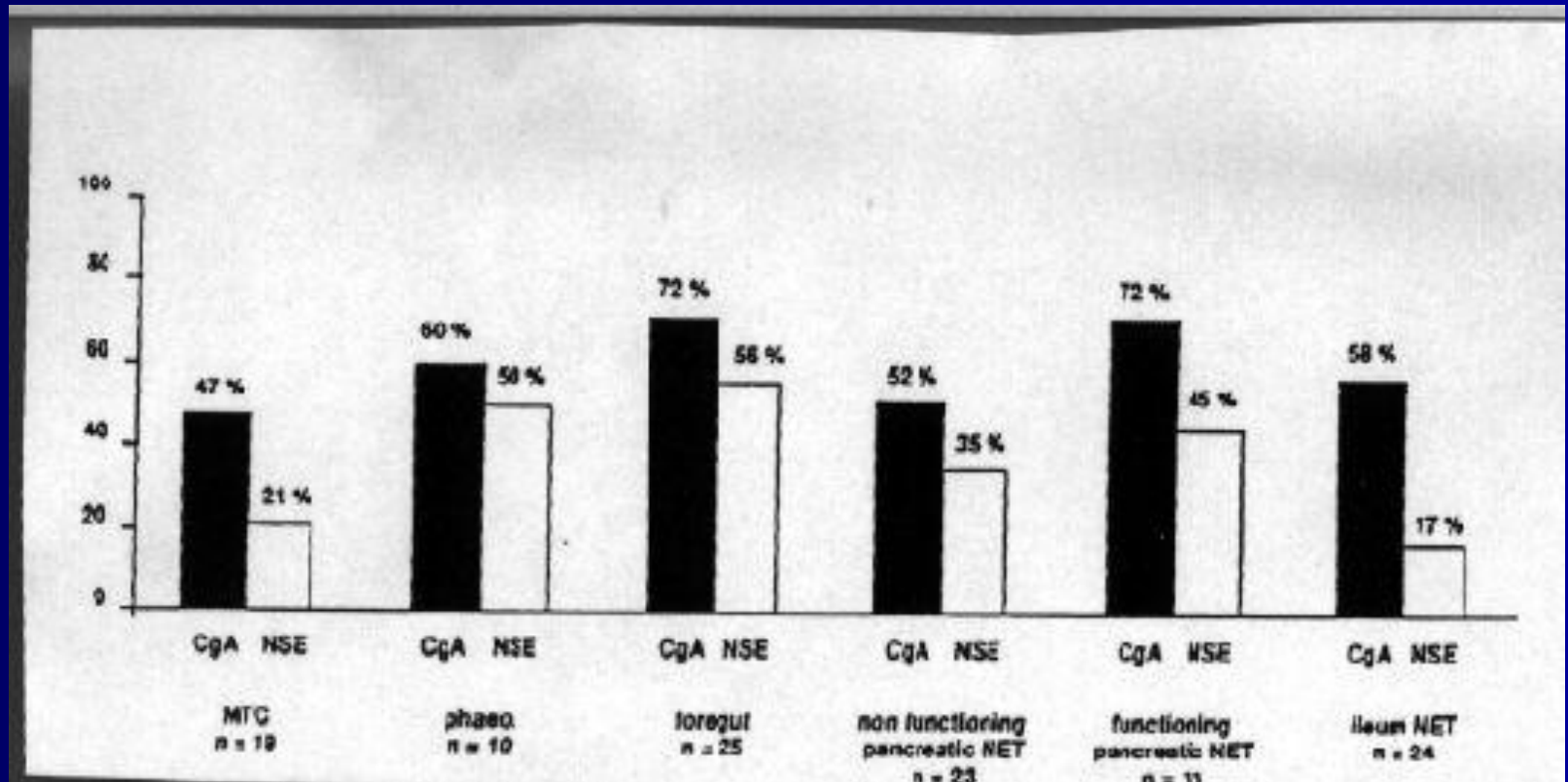
- Les marqueurs généraux
- les marqueurs dépendant du siège de la tumeur primitive
- les marqueurs permettant le dépistage de syndrome de prédisposition héréditaire aux tumeurs

# Les marqueurs généraux

- ***La Neuron Specific Enolase (NSE) :***  
**peu sensible, non spécifique. Seule indication : CE peu différenciés**
- ***La Chromogranine A (CgA) :*** taux proportionnel à la masse tumorale

# Comparaison CgA et NSE

*(Ref Baudin E Br J Cancer 1998;  
78:1102)*



Se CgA dans les GEP: 60 à 100% au stade métastatique, < 50% au stade localisé.

# Les Chromogranines et sécrétogranines :

*Ref Taupenot L NEJM 2003; 348: 1134-45*

- Famille de protéines acides (stabilisateurs osmotiques) présentes dans les granules de sécrétion à cœur dense des cellules endocrines, neuro-endocrines et des neurones
- 6 types :
  - **CgA**,
  - **CgB** (sécrétogranine I),
  - **CgC** (sécrétogranine II),
  - Sécrétogranines III, IV, V, VI (NESP55: Neuro Endocrine Secretory Protein).

# Distribution cellulaire des Cg

Hormones et types cellulaires	CgA	CgB	CgC
Cell A (glucagon)	+	±	+
Cell B (insuline)	±	-	±
Cell G (gastrine)	+	+	-
Cell D (SMS)	-	-	-
Cell EC (sérotonine)	+	±	-
Cell ECL (histamine)	+	-	-

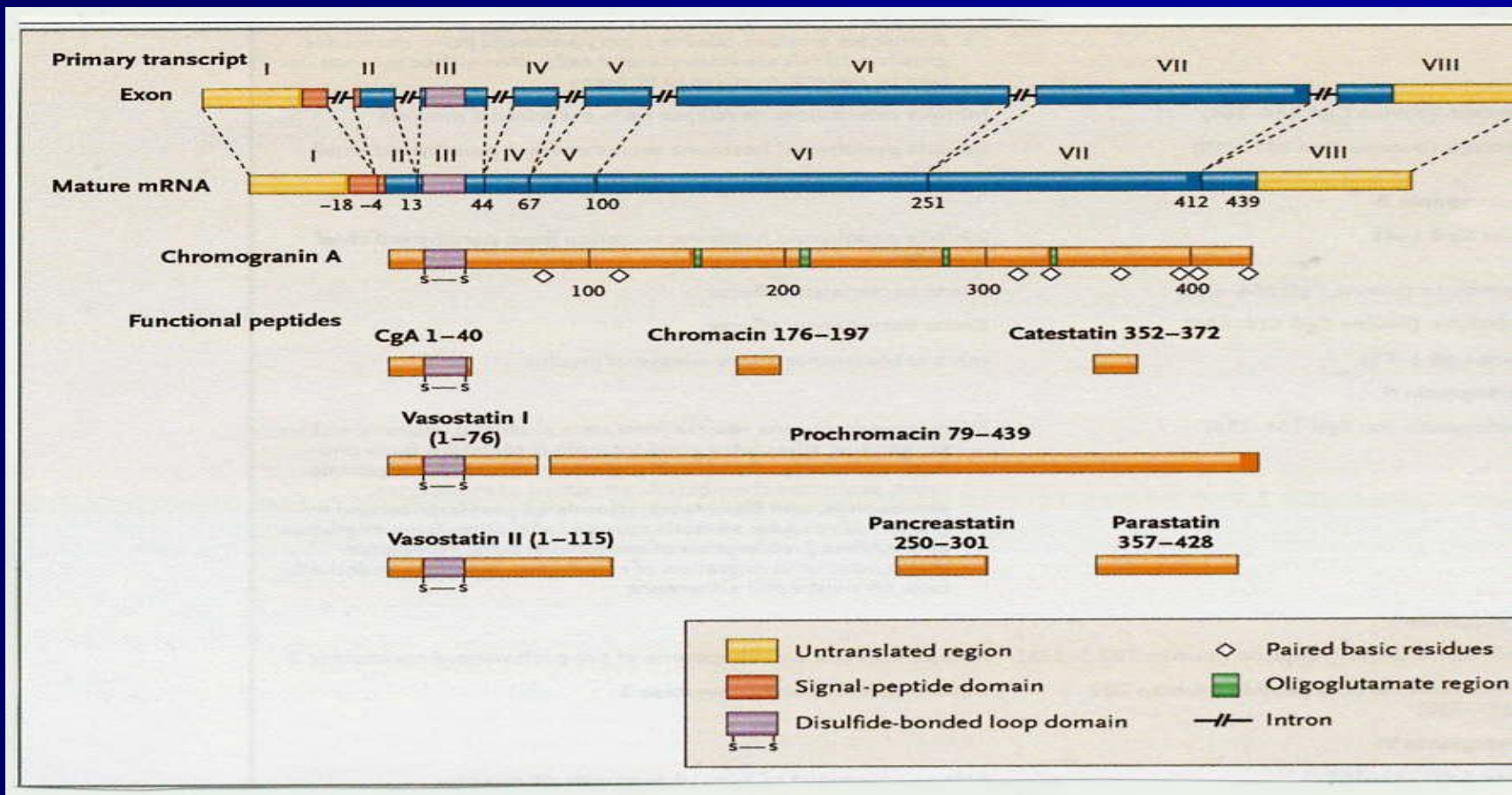
# Immunoréactivité tissulaire de la CgA :

(Ref : Takiyuddin et al JCEM 1990)

Tissue	CgA (ng/g wet wt)	CgA, (% of that found in the adrenal medulla)	n
Adrenal medulla	175,090 ± 103,371	100	4
Pituitary	43,154 ± 5,415	24.6 ± 3.1	7
Pancreas	9,132 ± 946	5.2 ± 0.54	7
Stomach	4,017 ± 1,349	2.3 ± 0.77	7
Small intestine (jejunoileum)	3,976 ± 925	2.27 ± 0.53	5
Brain (frontal cortex)	1,016 ± 326	0.58 ± 0.19	5
Parathyroid	712 ± 588	0.41 ± 0.34	2
Thyroid	189 ± 34	0.11 ± 0.07	4
Testis	49 ± 1	0.03 ± 0.001	2
Ovary	47 ± 1	0.03 ± 0.001	6
Kidney (cortex)	128 ± 8	0.07 ± 0.005	5
Liver	114 ± 17	0.07 ± 0.010	6
Skeletal muscle	46 ± 2	0.03 ± 0.001	5



# CgA : prohormone



# Peptides actifs issus de la CgA

- Les pro et chromacines : effets bactériolytiques et antifongiques
- Les vasostatines I et II : vasoconstricteurs
- La parastatine : inhibe la sécrétion de la PTH
- La pancréastatine : inhibe la libération de l'insuline
- La catestatine : inhibe la libération des catécholamines (effet rétrocontrôle négatif)
- La chromostatine.

# CgA dosages :

## CgA très stable in vitro.

- Dosage RIA contre bCgA en 1986
- Actuellement dosage le plus utilisé IRMA à 2Ac monoclonaux,
- traceur isotopique, enzymatique ou luminescent
- Normes < 120 ng/ml (réactif Cis Bio, 130 ng/ml Lyon)

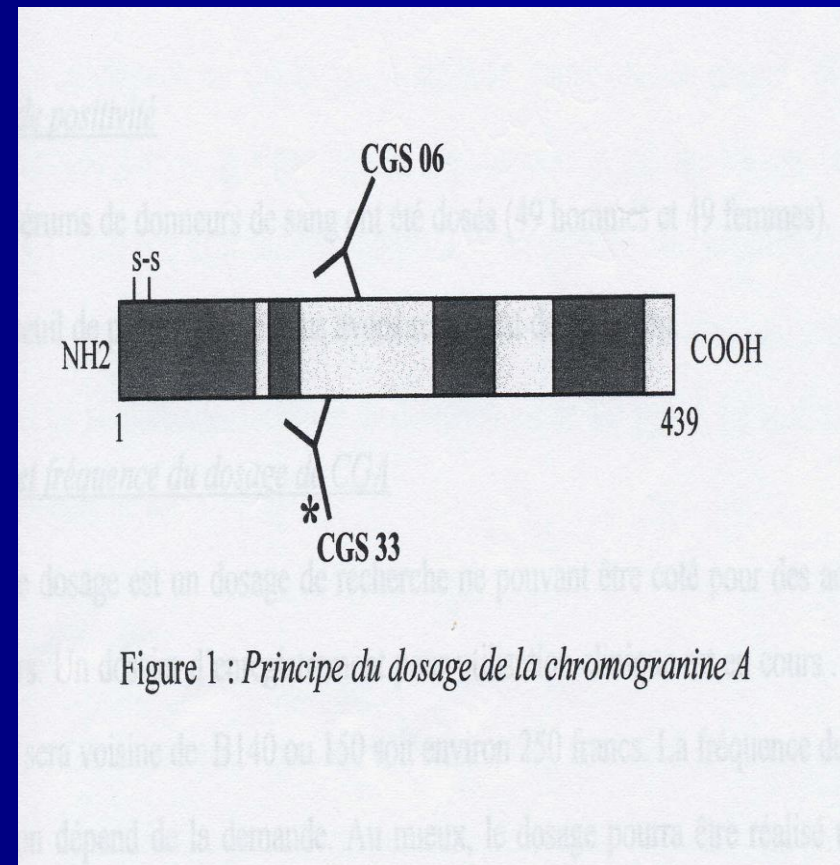


Figure 1 : Principe du dosage de la chromogranine A

# Dosages commercialisés de CgA

	Euria Diagnostica	EDI	DAKO	Cis-Bio
Type dosage	Compétitif	IMA	IMA	IMA
Anticorps	P lapin (116-439)	Mono	P lapin C term 23kDa)	2 Mono
Traceur	I 125	Elisa	Elisa	I 125 - Elisa
Standart	hCgAu TC	h Cg A	h CgA C term	CgA rec
Unités	nmol/L	ng/mL	U/L	ng/mL
Normes (notice)	< 4 Patho > 10	< 100	2 - 18	19 – 98
Prise d'essai (µl)	100	25	25	50
Durée	24 H	4H	4H	24H

# Dosage de CgA: importance du choix des Ac

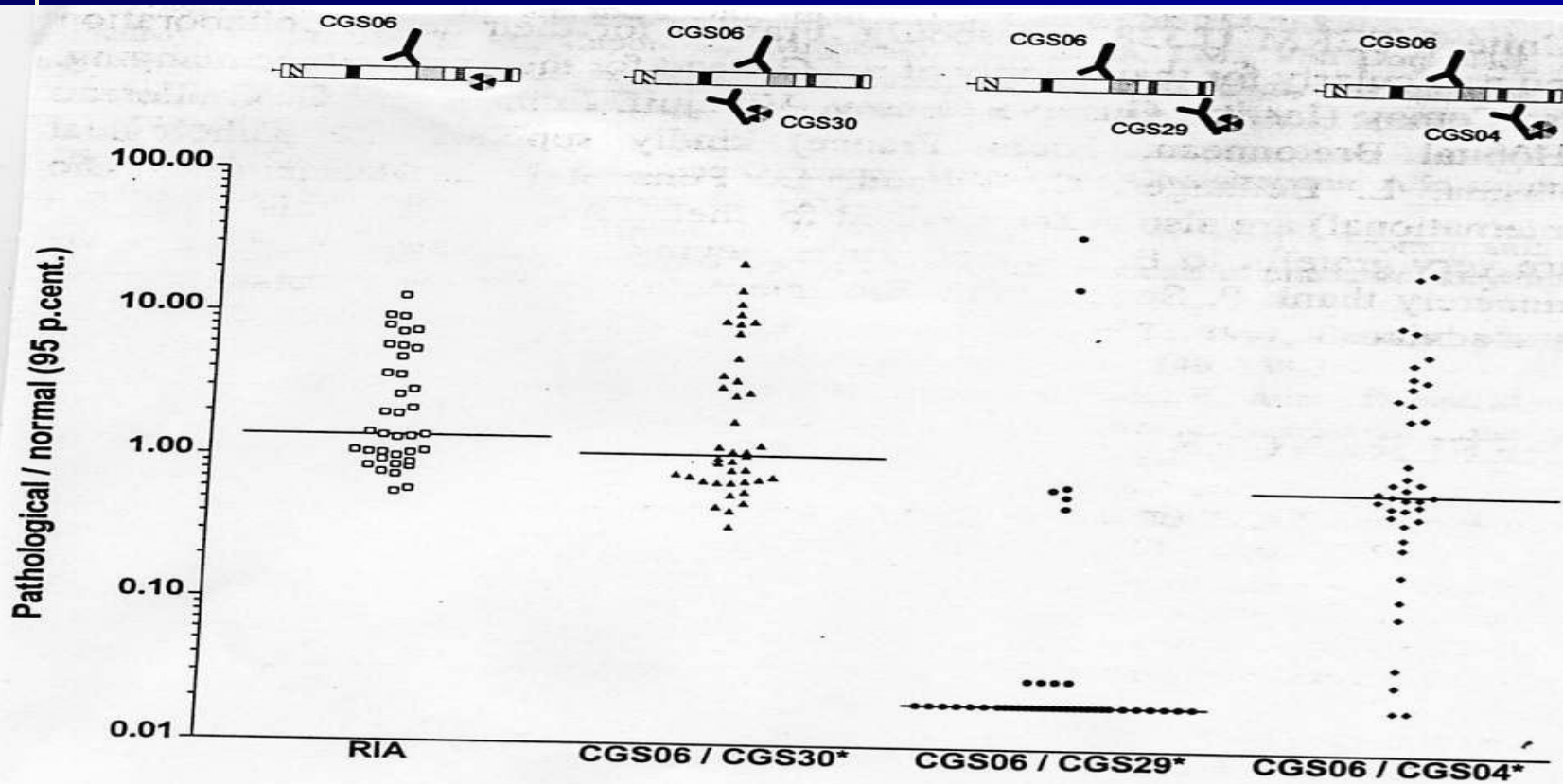


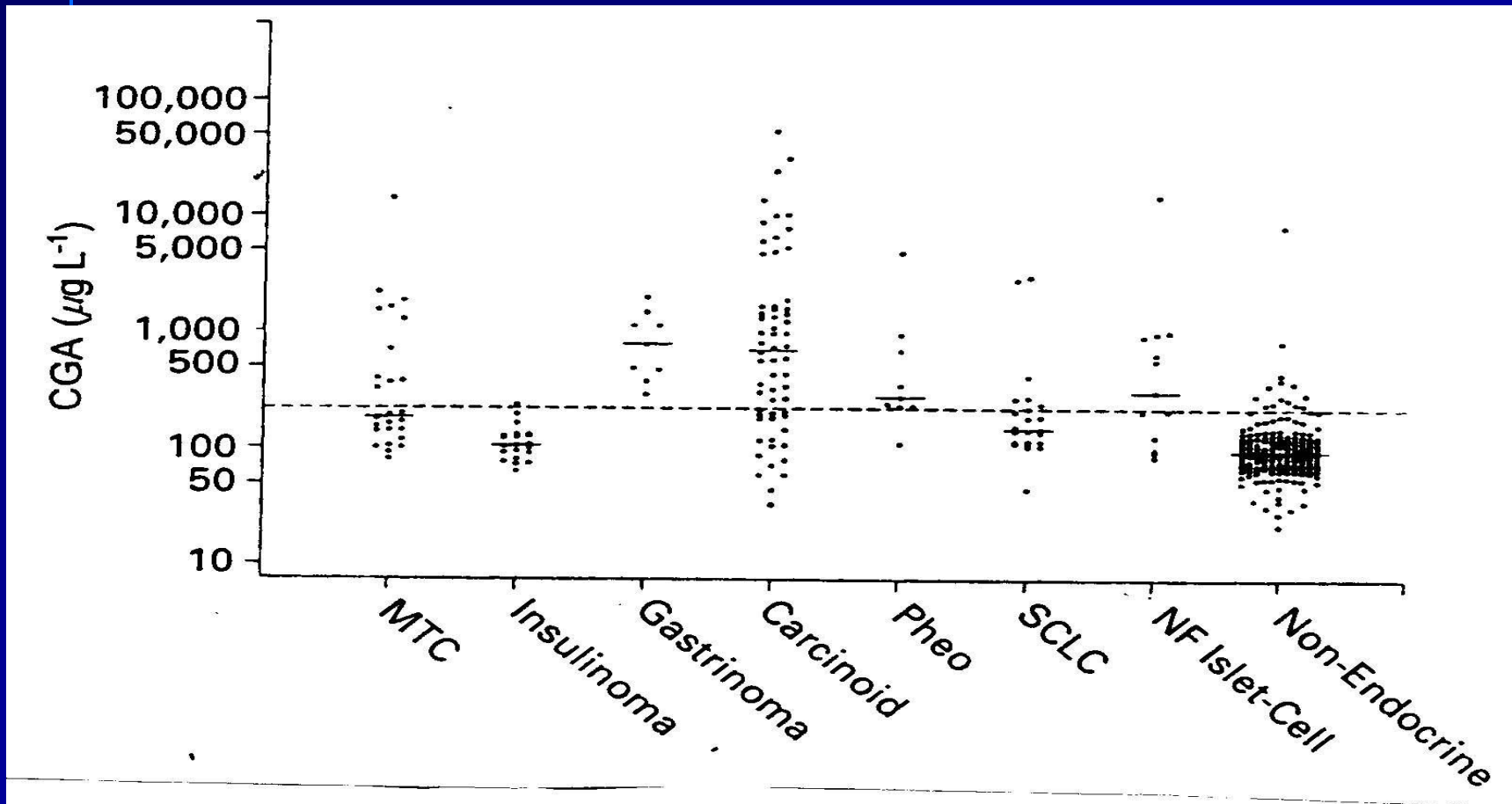
Figure 4. Comparison of three different immunoradiometric assays versus the reference RIA. Data are expressed as the concentration ratio of pathological plasma / 95 percentile value of the normal population (n = 20). Line segments indicate the median value for each group.



# Dosages de CgA

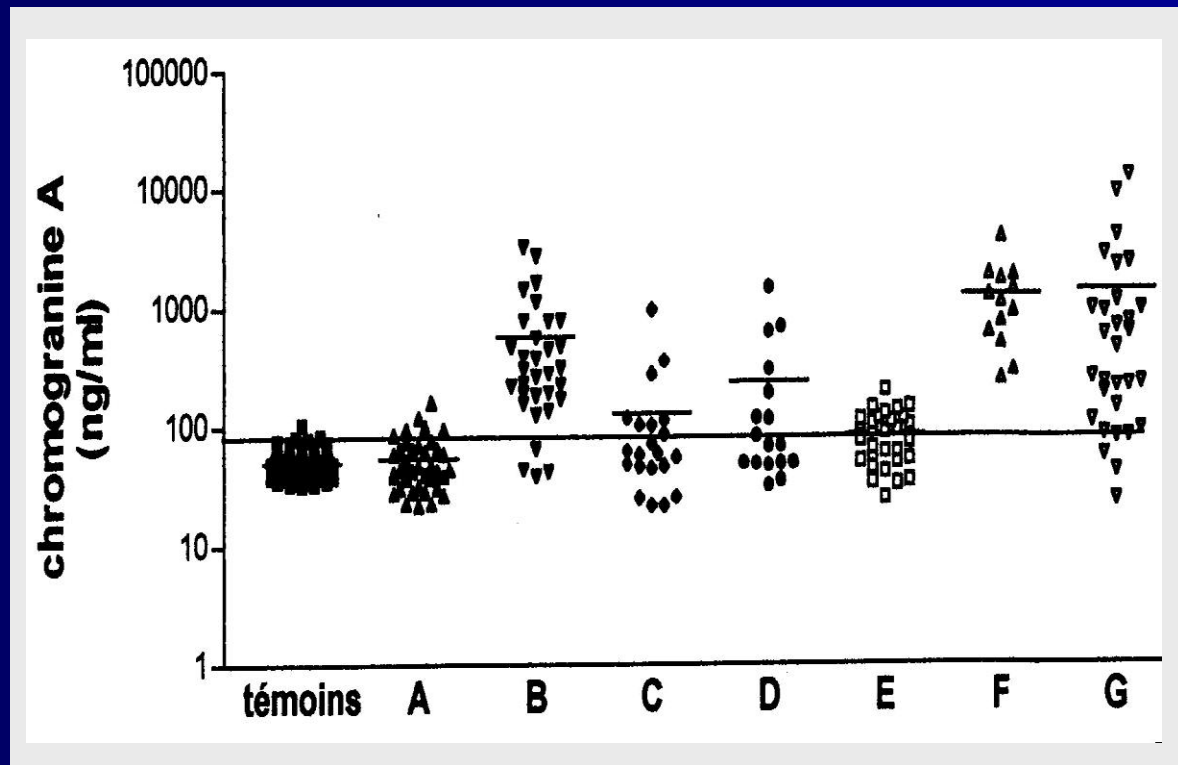
- Tous les dosages ne sont pas équivalents en terme de
  - limite de détection
  - reproductibilité (*Ref Verderio P. Clin Chem Lab Med 2007; 45 (9): 1244-50*)
  - reconnaissance par les Ac
- Certains sont fiables :
  - Taux proportionnel au volume tumoral
  - Spécificité élevée : **96%**,
- **Mais** absence de standardisation : comparaison des résultats difficile. 14 à 36% des patients peuvent être classés différemment.

**FRE Nobels** : *Europ J of Clinical Invest 1998;*  
*28, 431-40.*



# Secrétion de CgA fonction du siège T:

*Thèse V. Gouze (Lille 1999)*



- A : Témoins hypertendus (n=39)
- B: Phéochromocytomes (n=32)
- C: CMT (n=21)
- D: Insulinomes (n=17)
- E: HPT (n=30)
- F: gastrinomes (n=15)
- G: T. carcinoïdes (N=30)



# Indications du dosage de CgAs

- **Marqueur général des Tumeurs Neuro Endocrines:**

- Dans le contexte d'une NEM de type 1
- Dans le contexte d'une NEM de type 2

- **Marqueur à haute prévalence de sécrétion:**

- Pheochromocytomes et paragangliomes
- Tumeurs carcinoïdes
- Tumeurs endocrines du pancréas (exceptés les insulinomes)
- neuroblastomes

# Indications du dosage de CgAs

- *Marqueur à prévalence de sécrétion intermédiaire*
  - T non fonctionnelles du pancréas
  - Tumeurs à différenciation neuro-endocrine variable :
    - du poumon
    - De la prostate
    - Du colon
    - Du sein.

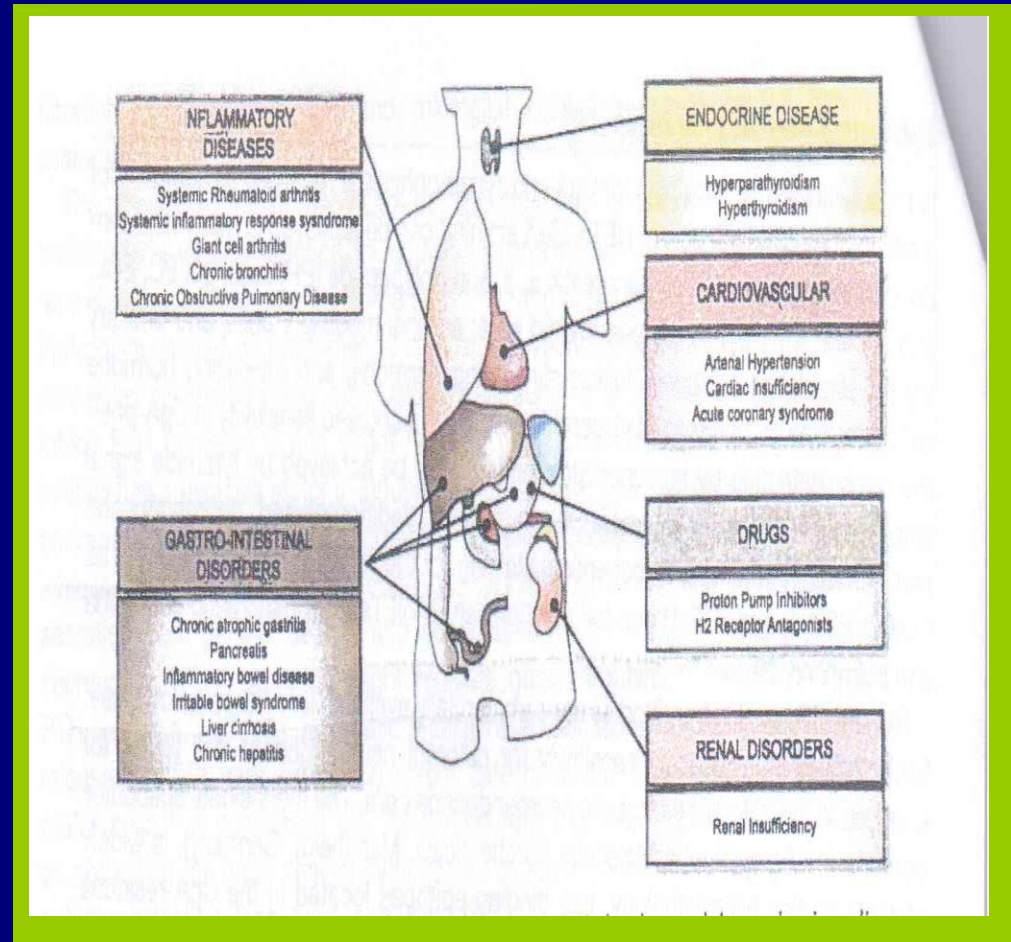
# Points forts du dosage de CgA:

1. Marqueur général des TNE bien différenciées (et NEM1) dont le taux circulant est proportionnel à la masse tumorale,
2. Mesurable dans sérum, plasma, salive, ascite....
3. Performances diagnostiques > NSE, ACE, 5HIAAu, sous-unité  $\alpha$ ,
4. Marqueur diagnostique et pronostique de survie,
5. Dosages couplés Ins, Gast, Gluc, VIP, Ser ( +/-).

# Problèmes des faux +.....

(ref Ben Lawrence Endocrinol Metab Clin N Am 2011)

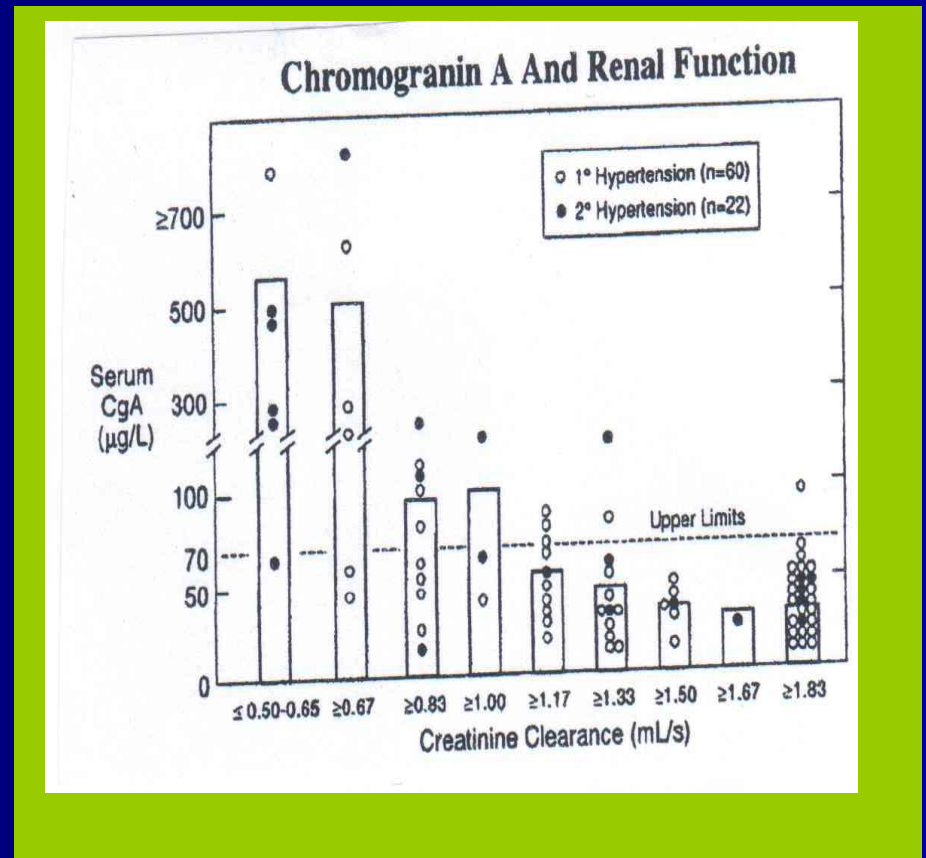
- Nombreuses causes mais surtout deux majeures:
    - Hypergastrinémie,
    - Insuffisance rénale
- (ref Vezzozi 2011)



# Taux de CgA et insuffisance rénale:

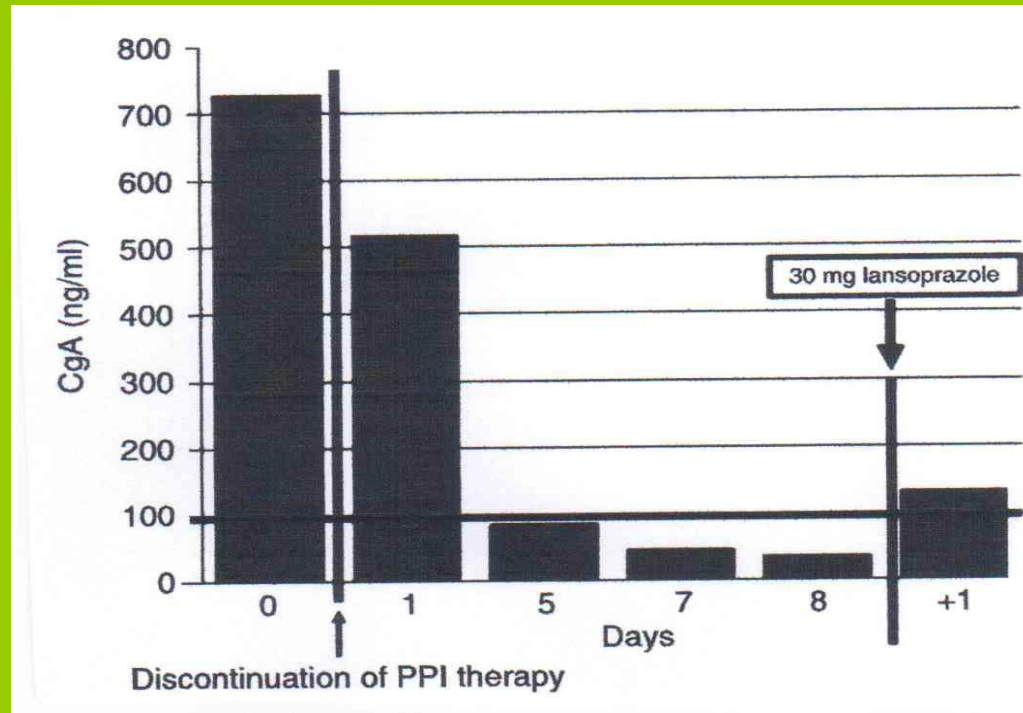
*Ref MP Canale JCEM 1994;78:1139-44, Tramonti G Ren Fail 2001;23:449-57., Hsiao RJ Kidney int 1990;37:955-64.*

- CgA : métabolisme hépatique et rénal (Seuil cl créat 80ml/min)
- Si IR, élévation CgA par rétention fragments bas PM



# Taux de CgA et IPP:

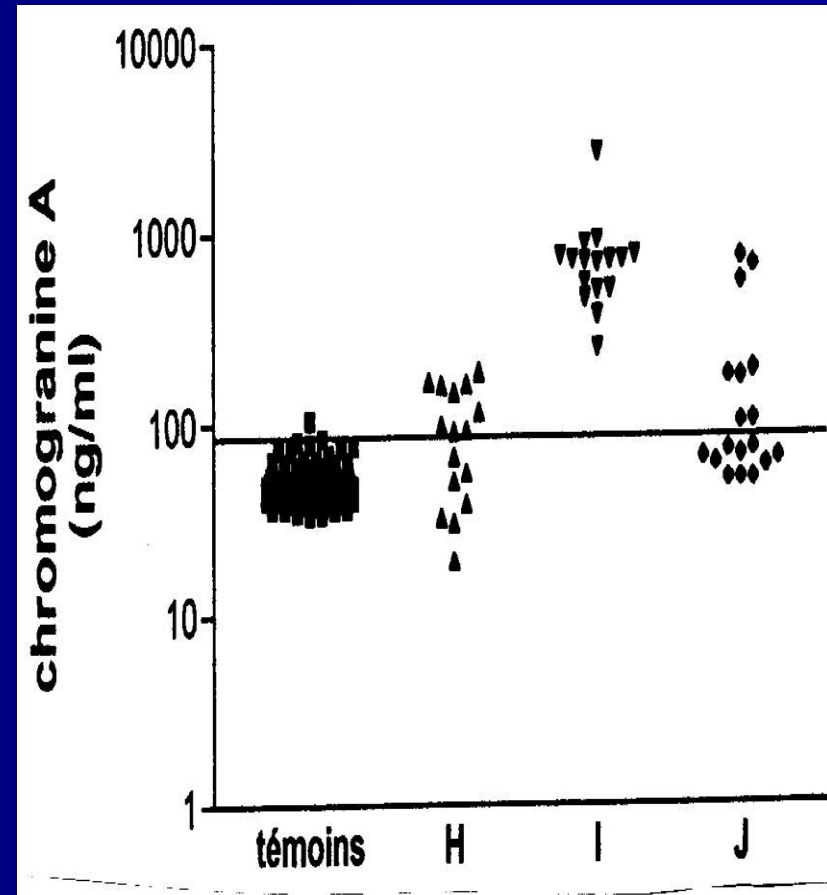
Ref Igaz P Clin Endocrinol 2007;67:805-6.



# Dosage de CgA : **interférences**

*(n=51)*

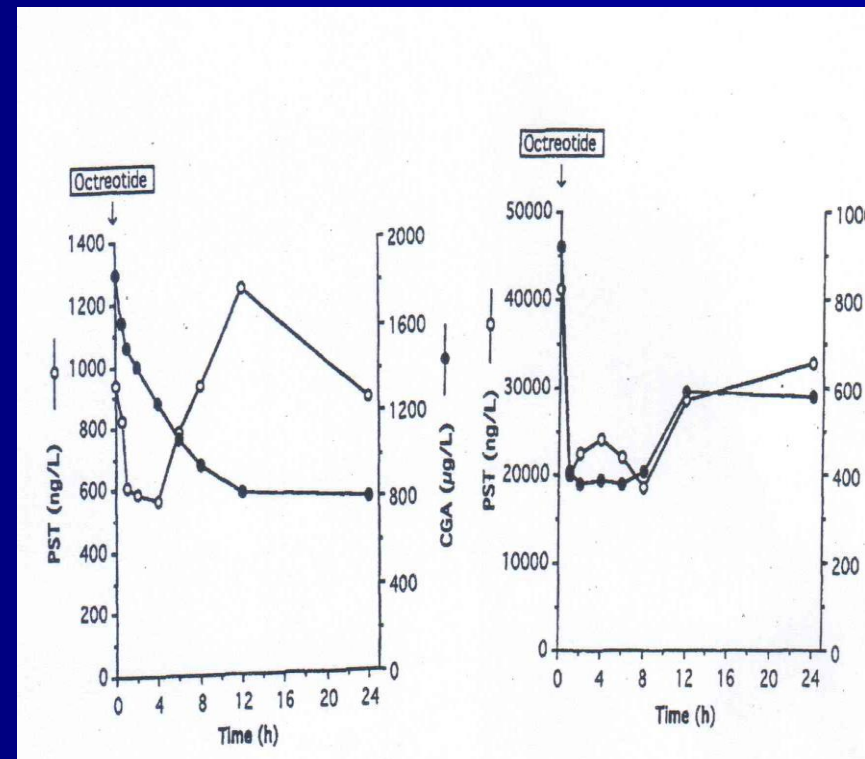
- **Insuffisances Rénale (I), cardiaque ou hépatique** (élimination) : corrélation avec la sévérité
  - **Hypergastrinémie (IPP) (J)**
  - **Corticoïdes (H)**



# Faux négatifs: traitement par SMS

(Ref K Tateishi Life Sciences 1995;57:889-95 et Moattari AR JCEM 1989;69:902).

- SMS inhibe croissance cell par effets directs et indirects, incluant inhibition des sécrétions ,
- Dans la majorité des cas les diminutions des taux de CgA sont en accord avec la clinique et les autres H sécrétées (Campana 2007).





# CgA : f pronostique de survie

Janson 1997	Bajetta 1999	Arnold 2008	Ekeblad 2008	Welin 2009	Bergestuen 2009	Ahmed 2009
n=301	n=106	N=344 M+	N=324	N=56	N=258	N=360
>5000 µg/L	x	200 U/l = 10 N	>3N univarié	F précoce récurrente	>6N Univ et multi	Univarié
Euro D	Dako	Dako	X	Euro D	X	X

# Conclusion et perspectives :

- Certains dosages sériques ou plasmatiques de CgA sont **fiables**,
- Performances pas idéales pour les T GEP.....  
(sécrétion de départ faible, Se du dosage, chevauchement, patients sous analogues de SMS),
- apport dans le suivi des patients encore à préciser: données de la littérature difficilement comparables,
- **Améliorations possibles:**
  - Dosage automatisé avec marqueur luminescent,
  - Correction systématique des résultats par la créat,
  - Couplage avec dosages peptides dérivés (?)
  - 5HIAA p (?).

# ***Dosages de sérotonine et de 5HIAA***

Tumeurs à sérotonine : activité  
sécrétoire dépendante du site

# ***Métabolisme de la sérotonine***

- Sérotonine est synthétisée à partir du Trp dans les cellules entérochromaffines et certaines cellules nerveuses
- A l'état normal 2% du Trp ingéré est destiné à la synthèse de la Ser. En cas de tumeur 60% →



# *Dosages de sérotonine et de 5HIAA*

- Tumeurs à sérotonine : activité sécrétoire dépendante du site
- Dosage de 5HIAA u : extraction puis HPLC (C18), correction des R/créat. Possibilité de dilutions (suivi, 3N).
- HIAA p faisable par chromatographie liquide couplée spectro masse (Ref Miller AG J of Chromatography 2010) à suivre...

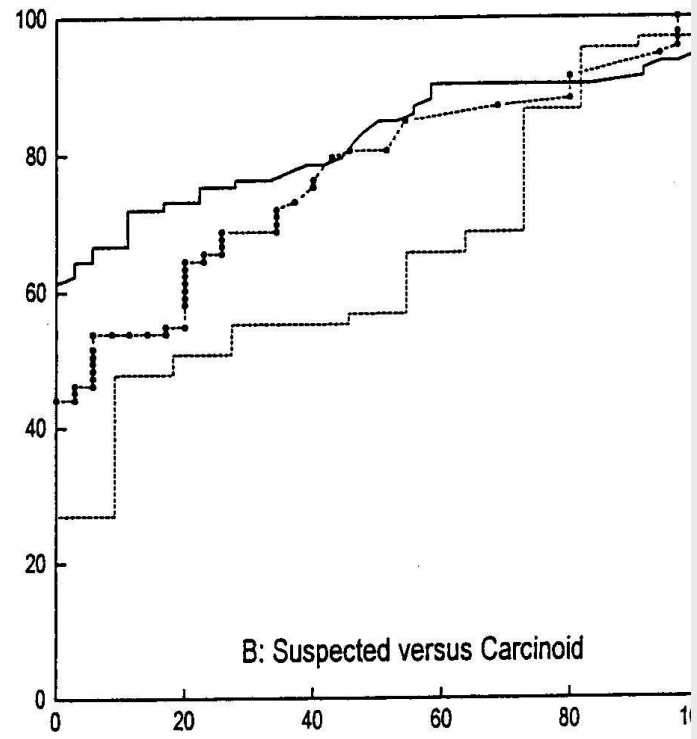
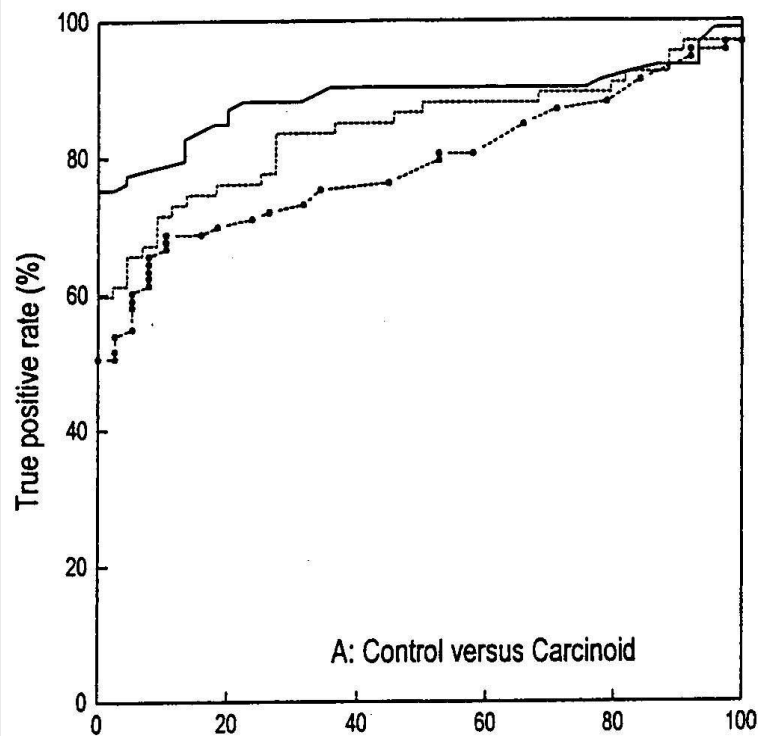
# *Tumeurs à sérotonine*

- **limiter les prescriptions  
.....5HTAAu++(3N) et Séro  
plaquettaire**
- Doser devant :
  - Un syndrome carcinoïde
  - Une suspicion de TE (masse hypervascularisée)
- Ne pas Doser :
  - Pour équilibrer les traitements par les analogues

# *Problèmes liés aux dosages de Sérotonine*

- Taux de **sérotonine sérique** très lié à l'alimentation (riche en Trp, avocat, noix banane, chocolat....)
- Taux de sérotonine plasmatique dépendant de la durée d'acheminement du prélèvement (nombreux faux +)
- Taux de **sérotonine plaquettaire** apparaît comme étant le plus fiable (ref Clin Chem 2000) non affecté par le stress, ni la position et les variations diurnes

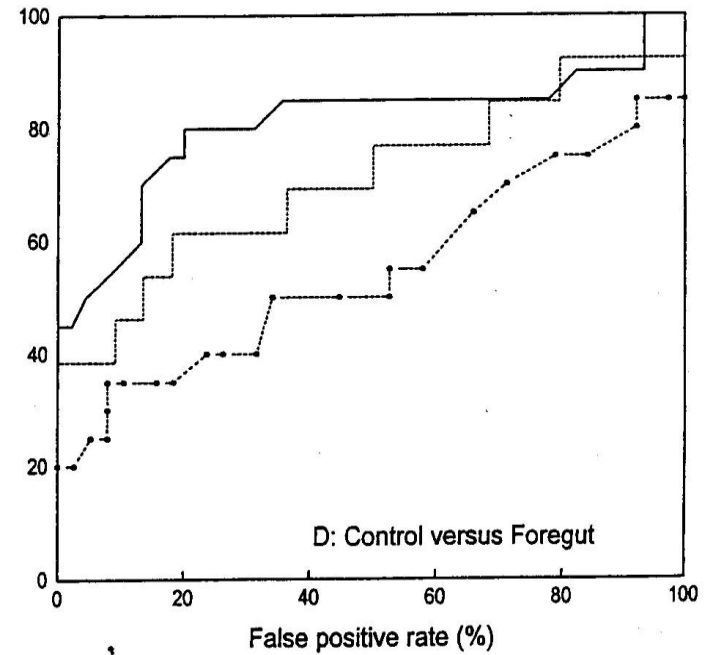
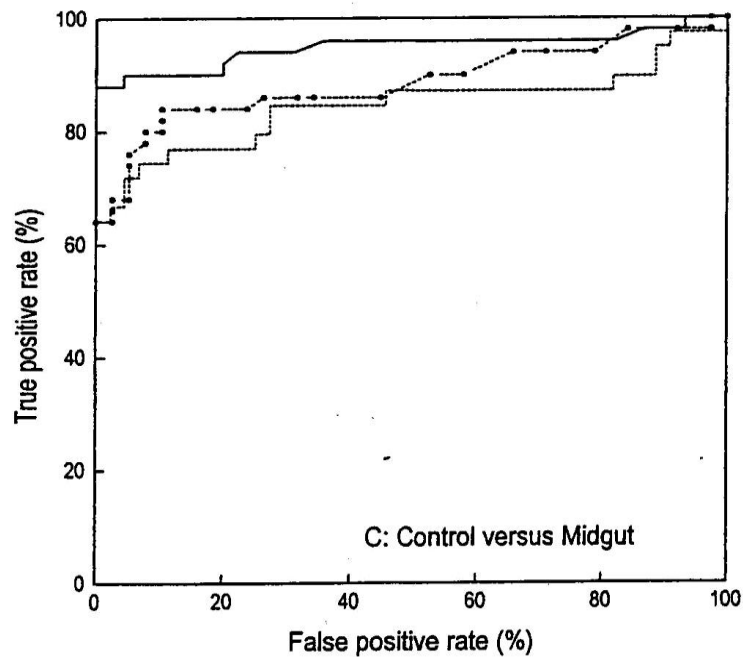
# Courbes ROC: *Ref Meijer WG Clin Chem 2000; 46:10:1588-96, Kema IP Clin Chem 2001;47/10:1811-20).*





# Courbes ROC :

*ref Ref Meijer WG Clin Chem 2000; 46:10:1588-96.*



— Serotonin in platelets,    - - - Urinary Serotonin,    ··· Urinary 5-HIAA

# ***Bilan biologique conseillé pour un siège tumoral pancréatique***

	Marqueur général	Marqueurs spécifiques
<b>Pancréas</b>	Cg A (sauf insulinomes)	Ins, Gast, Glucagon, SMS, VIP, PP

Si tumeur non fonctionnelle : Gluc, PP, NSE

# *Peptides pancréatiques:*

## ■ *Insuline et proinsuline :*

– dosages d'insuline RIA versus IRMA.  
Automatisation possible

– Dosages de proinsuline pour les  
insulinomes (*Ref D. Vezzosi EJE 2007; 157  
(1): 75-83, KA Placzkowski JCEM 2009, 94 (4),  
1069-73*)

## Diagnostic biologique d'insulinome :

*KA Placzkowski JCEM 2009, 94 (4), 1069-73)*

69 Insulinomes versus 20C	Sensitivité %	Spécificité %
Insuline (> 3 $\mu$ U/mL)	93	95
Peptide C (> 0.6 ng/mL)	100	60
Proinsuline (> 5 pmol/L)	100	68

# *Tumeurs endocrines fonctionnelles du pancréas*

	Incidence annuelle: cas/an	Marqueurs Biologiques diagnostiques
<i>Insulinome</i>	75-100	Ins, Proins, peptide C
Gastrinome	50	Gast (base ou test), débit acide basal
Glucagonome	1- 2	CgA, glucagon, diabète
Vipome	3 - 5	CgA, VIP, iono
Somatostatinome	0.1	CgA, SMS, CT

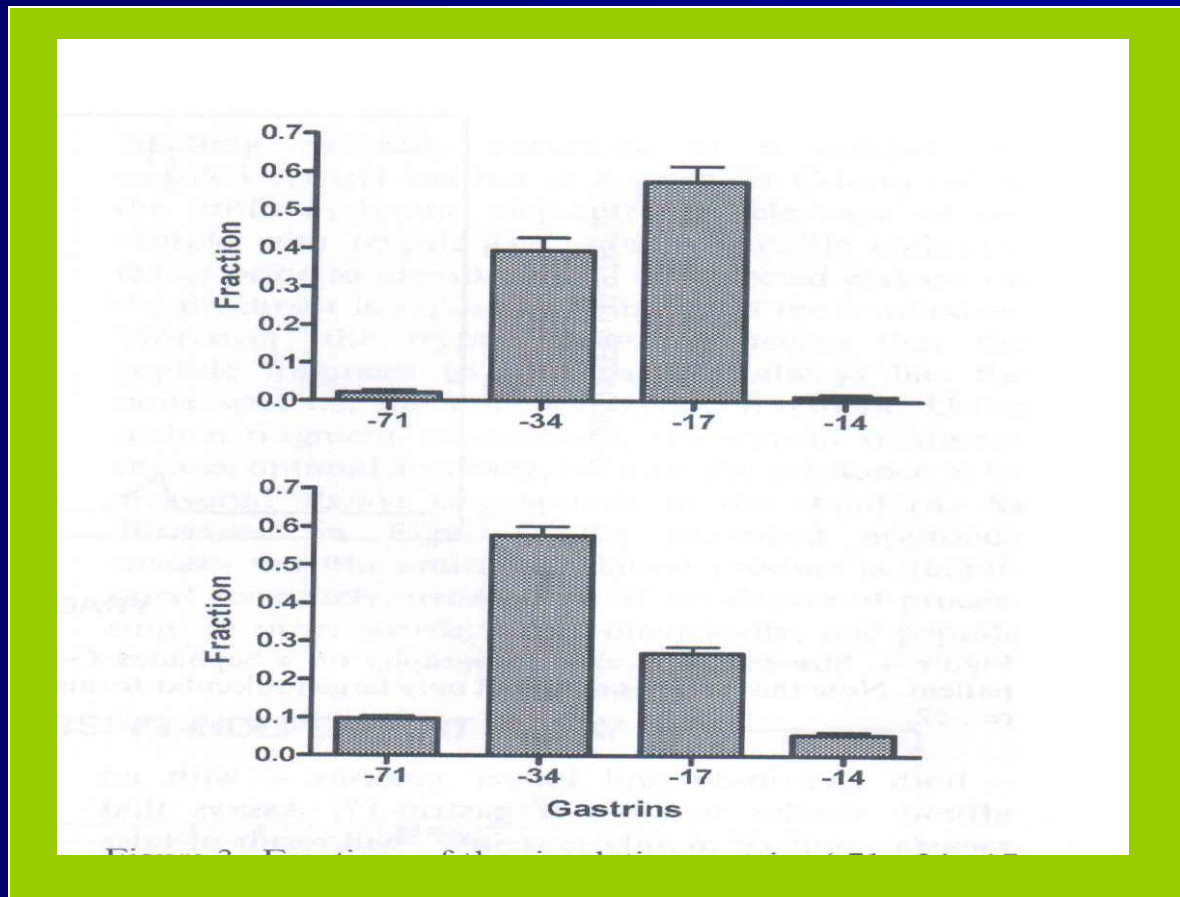
# Dosages de gastrine plasmatique:

*Ref Rehfeld JF Sand J of clinical and Laboratory invest  
2008*

- Mixture plasmatique de peptides: gastrine-34, gastrine-71,..gastrine 17,
- Dosage classique: compétitif Ria (Ac polyclonal),
- Apparition nouveau test Elisa, et/ou d automatisé,
- Ac spe Gast 17: méconnaissance de certains gastrinomes.

# Dosages de gastrine plasmatique:

*Ref Rehfeld JF Sand J of clinical and Laboratory invest  
2008*



# Dosages de gastrine plasmatique:

*Ref Rehfeld JF Sand J of clinical and Laboratory invest  
2008*

**Table 1. Serum concentrations of amidated gastrins and the gastrin-17 form in gastrinoma patients.**

Gastrinoma patient	Amidated gastrins, pmol/L	Gastrin-17 ELISA, pmol/L
1	475	10
2	235	42
3	270	90
4	82	15
5	57	24
6	60	26
7	305	6
Median (range)	235 (57-475)	24 (6-90)



## Dosage de PP

- A été utilisé comme marqueur général des GEP avant apparition du dosage de CgA
- Manque de sensibilité
- Combinaison avec CgA pourrait augmenter la Se diagnostique dans les GEP pancréatiques non fonctionnelles (*ref JEI 2004; 27: 6-11*)

# ***Bilan biologique conseillé***

	Marqueur Général	Marqueur spécifique
Duodénum	CgA	gastrine
Iléon	CgA	5 - HIAA
Appendice	CgA	
Côlon	CgA	
Rectum	CgA, CgB?	

# *Dosages per-opératoires*

- Dosages de PTH +++
- Dosages d'insuline : plus d'intérêt
- Dosages de Proinsuline : impossible
- Dosages de Gastrine
  - Test à la sécrétine en fin d'opération

# En conclusion,

- Bilan biologique des T GEP est à adapter en fonction du siège et du stade tumoral
- Bilan parfois complexe (x sites potentiels)
- Standardisation de + en + précise
- Possibilité d'association au sein de syndrome héréditaire de prédisposition.



***Merci de votre attention***