



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE

FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année: 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Evaluation du BDNF et de la Fibulin-3 comme biomarqueurs pour le diagnostic de mésothéliome pleural malin

Présentée et soutenue publiquement le 26 Février 2016 à 18h au Pôle Recherche

Par Sarah Benziane Stéfanini

JURY

Président :

Madame le Professeur COPIN Marie – Christine

Assesseurs:

Monsieur le Professeur CORTOT Alexis Monsieur le Docteur BLANQUART Christophe Madame le Docteur WILLEMIN Marie – Capucine

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur SCHERPEREEL Arnaud

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

ACE: Antigène carcino-embryonnaire

AUC: Area Under Curve

BAP1: BRCA1-associated protein 1

BDNF: Brain derived neutrophic factor

Ca 125 : Cancer antigen 125

Ca 15.3: Cancer antigen 15.3

DS: Déviation Standard

FISH: fluorescence in situ hybridization

IRM : Imagerie par raisonnance magnétique

MPF: Megacaryocyte Potentiatind Factor

MPM: mésothéliome pleural malin

PA: paquets.années

RECIST: Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

Courbe ROC : Receiver Operating Characteristic

SMRP: Soluble Mesotheline Related Protein

SUV: standardized uptake value

TDM: tomodensitométrie

TEP: tomographie par émission de positons

Table des matières

lésumé	
ntroduction	•
I. Généralités sur le mésothéliome pleural malin	
•	
A. Définition	
B. L'amiante	
C. Epidémiologie	
1. Incidence	
2. Prédisposition génétique	
3. Particularités du MPM féminin	
D. Pronostic	
E. Traitement	
II. Méthodes diagnostiques actuelles	
A. Clinique	
B. Imagerie	
Radiographie thoracique	
TDM thoracique injectée	
3. TEP	
4. IRM thoracique	
5. Synthèse	
C. Anatomopathologie	
1. Cytologie pleurale	
2. Biopsies pleurales	
3. Synthèse	
III. Les biomarqueurs solubles déjà étudiés	
A. Le biomarqueur "parfait"	
B. Marqueurs historiques (28)	
1. L'antigène carcino-embryonnaire (ACE)	
2. Acide hyaluronique	
3. Cancer Antigen 125 (CA 125)	
4. Cancer Antigen 15.3 (CA 15.3)	
5. Calrétinine	
C. Mésothéline	
1. Structure	
Marqueur diagnostique	
a) Mésothéline soluble ou SMRP	
b) Megacaryocyte Potentiating Factor (MPF)	
c) Marqueur immunohistochimique	
Marqueur pronostique Marqueur de suivi sous traitement anti-tumoral (prédictif)	
D. Ostéopontine	
1. Présentation	
Potentiel marqueur diagnostique précoce	
E. Synthèse	
	1

IV.	Nouveaux biomarqueurs solubles potentiels	17
A.	PrésentationPrésentation	17
	1. Fibulin-3	17
	2. Brain-derived neutrophic factor BDNF	18
В.	Etudes préliminaires	18
	1. Fibulin-3	18
	a) Dosage plasmatique	18
	b) Dosage dans le liquide pleural	19
	c) Comparaison avec la mésothéline soluble	19
	2. BDNF	20
V.	Objectifs de l'étude	20
Matéri	iels et méthodes	21
I. F	Population de l'étude	21
A.	Recrutement de la population Lilloise	21
B.		
C.	···	
D.		
II.	Méthodes de dosages	
III.	Analyses statistiques	
1111.	Analyses statistiques	Z3
Résulta	ats	24
I. C	Caractéristiques de la population	24
II.	Résultats des dosages	26
Α.		
	Dosage plasmatique de fibulin-3	
	a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleur	
	néoplasiques ou MPM	
	b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes	27
	c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM	
	2. Dosage pleural de fibulin-3	28
	a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleur	ésies
	néoplasiques ou MPM	29
	b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes	29
	c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM	
B.	BDNF	30
	1. Dosage plasmatique de BDNF	30
	a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleur	ésies
	néoplasiques ou MPM	
	b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes	
	c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM	
	2. Dosage pleural de BDNF	
	a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleur	
	néoplasiques ou MPM	
	b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes	
	c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM	34
Discus	sion	35
	sion	
Dáfára	nces hibliographiques	40

RÉSUMÉ

Contexte : Le diagnostic de MPM, tumeur maligne rare de la plèvre liée à une exposition antérieure à l'amiante, est difficile et nécessite des procédures invasives. Aucun marqueur n'a été validé malgré de nombreux explorés. L'objectif est d'évaluer l'utilité de 2 biomarqueurs : BDNF et fibulin-3 plasmatiques et pleuraux.

Méthode: L'étude est observationnelle analytique, rétrospective, multicentrique (2 centres français). Des échantillons plasmatiques et pleuraux étaient prélevés de sujets classés en 3 groupes: "Bénins" (sains ou anomalies pleurales bénignes), "Malins" (sujets avec pleurésies néoplasiques hors mésothéliome), "MPM". Les dosages de biomarqueurs étaient déterminés par des kits ELISA (Human BDNF DuoSet (R&D Systems) et FBLN3 (USCN)).

Résultats: Etaient inclus, 310 participants (76 Bénins, 108 Malins, 126 MPM). Les taux de fibulin-3 plasmatique étaient plus élevés chez les Bénins, comparés aux Malins et MPM (p<0,0001) et supérieurs chez les MPM comparés aux Malins (p=0,0056). Il n'y avait pas de différence significative de taux de fibulin-3 pleurale entre les 3 groupes, cependant les participants avec dosages élevés au diagnostic avaient une tendance à une survie moindre (p=0.06), suggérant une possible valeur pronostique. Les taux de BDNF plasmatique étaient supérieurs chez les Malins et MPM, comparés aux Bénins (p<0,0001). À l'inverse, les taux de BDNF pleural étaient supérieurs chez les MPM, comparés aux Malins ou aux Bénins (p=0,0002).

Conclusion: Le dosage plasmatique de fibulin-3 parait peu intéressant dans le diagnostic de MPM, et nos résultats discordent avec les études précédentes. Le dosage plasmatique de BDNF pourrait avoir un intérêt pour discriminer les sujets avec étiologies malignes versus bénignes d'épanchement pleural. Le dosage pleural de fibulin-3 pourrait avoir un intérêt pronostic. Des taux élevés de BDNF pleural sont associés à des étiologies malignes de maladies pleurales, en particulier avec le MPM pour les taux les plus élevés.

INTRODUCTION

I. Généralités sur le mésothéliome pleural malin

A. Définition

Le mésothéliome pleural malin (MPM) est une tumeur rare, maligne développée le plus souvent aux dépens des cellules mésothéliales de la surface pleurale, avec plusieurs sous-types : épithélioïde le plus fréquent (60-70%), sarcomatoïde (15%) ou mixte / biphasique (15%), et beaucoup plus rarement et de très mauvais pronostic, desmoplastique (1-2%). (1) D'autres séreuses comme le péritoine, le péricarde et exceptionnellement la vaginale testiculaire peuvent être touchées.

B. L'amiante

Une exposition antérieure à l'amiante est très fréquemment retrouvée. Elle représente le facteur de risque principal du MPM.

En effet l'amiante ou asbeste, fibre minérale naturelle, a été largement utilisée à partir des années 1970 dans le bâtiment (ciment, flocage, calorifugeage, dalles vinyle amiante...) et l'industrie (automobile, bâtiment, textile...). Elle fut interdite à partir de 1997 en France, 2005 en Europe, mais est encore très utilisée dans les pays émergents (Chine, Inde, Brésil, Afrique et Asie) en raison de ses propriétés physiques, chimiques, et son faible coût.

Il existe deux variétés ; la laserpentine (chrysotile) la plus commercialisée et les amphiboles (anthophyllite, amosite, actinolite, trémolite, crocidolite).

Une relation dose-effet a été démontrée (2).

C. Epidémiologie

1. Incidence

En France, l'incidence annuelle du mésothéliome est de 800 à 1000 cas, soit une incidence d'environ 16 cas/million d'habitants/an. L'incidence est croissante, survenant classiquement 30 à 40 ans après l'exposition à l'amiante. Les estimations prévoient un pic d'incidence du MPM vers 2020 avec 1140 à 1300 cas/an (3).

Aucune influence du tabac n'a été retrouvée dans la survenue du mésothéliome malin.

2. Prédisposition génétique

La constatation de cas familiaux de MPM a permis d'identifier dans 23% des MPM (4) des anomalies génétiques d'un gène suppresseur de tumeur, BAP1 (BRCA1 associated protein) issues de mutations somatiques, ou germinales transmises héréditairement (5).

L'identification de mécanismes moléculaires impliqués dans la cancérogénèse pleurale est prometteuse et pourrait peut-être permettre dans le futur, un dépistage au sein de populations exposées et faciliter un diagnostic plus précoce.

3. Particularités du MPM féminin

Les femmes sont moins touchées que les hommes, moins fréquemment exposées à l'amiante, et la fréquence du tabagisme est moindre. Les spécificités observées chez les femmes portent essentiellement sur les facteurs de risque, cependant on n'observe pas de différence de pronostic ou de réponse au traitement (6).

D. Pronostic

La tumeur étant agressive, chimio et radiorésistante, impose un diagnostic précoce. La médiane de survie sans traitement est de 7 à 9 mois. L'analyse rétrospective du registre international de l'IASCLC montre une survie à 5 ans de 6% (7).

Les facteurs de bon pronostic validés sont un bon état général, le sexe féminin, l'absence d'anomalies de l'hémogramme, un sous-type histologique épithélioïde, un stade précoce (8).

E. Traitement

Les moyens thérapeutiques actuels restent limités, le traitement chirurgical n'est pas validé en pratique courante (9). La rareté du MPM rend difficile le recrutement dans les essais thérapeutiques disponibles.

Le traitement de première intention est, si l'état général du patient le permet, une chimiothérapie à base de cisplatine et anti-folates (pemetrexed ou raltitrexed). Deux essais randomisés ont confirmé la supériorité comparé au cisplatine seul (10) (11). Un maximum de six cures est proposé de façon arbitraire par extension au cancer bronchique non à petites cellules, mais la durée de la chimiothérapie à poursuivre demeure inconnue.

Le VEGF ayant un rôle clé dans l'angiogénèse et la lymphangiogénèse tumorale du MPM (surexpression de son récepteur), l'essai MAPS (Mesothelioma Avastin cisplatin Pemetrexed Study) a évalué l'intérêt d'ajouter du bevacizumab au protocole de chimiothérapie par cisplatine pemetrexed, et l'intérêt d'un traitement de maintenance par bevacizumab. Les résultats sont parus récemment, en faveur de l'utilisation de bevacizumab puisqu'un gain de survie globale de 2,75 mois a été montré (12).

En cas de progression tumorale après une première ligne de traitement, une inclusion en essai thérapeutique est vivement souhaitable. Une deuxième ligne de chimiothérapie ou la reprise du pemetrexed associé ou non aux sels de platine (si une rémission supérieure à 3 mois avait été observée) peuvent être envisagés.

D'autres cibles thérapeutiques sont en cours d'évaluation : anticorps antimésothéline par vaccinothérapie (13) (14), inhibiteurs d'histones désacetylase (15), photothérapie dynamique avant pleurectomie décortication (16).

Afin d'améliorer la prise en charge, le réseau MESOCLIN a été mis en place : http://mesoclin.chru-lille.fr

Il permet la coordination des centres experts, d'organiser des RCP régionales et nationales, de rassembler des données épidémiologiques, de former les professionnels de santé et de favoriser les projets de recherche.

II. Méthodes diagnostiques actuelles

Selon les recommandations de la SPLF 2005 (17), aucun intérêt médical ou de santé publique n'est démontré pour un dépistage du MPM; les mauvaises performances des outils de dépistage, la faible incidence parmi les sujets exposés et l'absence de traitement curatif validé vont à l'encontre d'un dépistage systématique.

Le diagnostic est difficile et souvent tardif (18) (19).

A. Clinique

Les signes généraux sont dominés par l'altération de l'état général, souvent manifeste.

Les signes fonctionnels sont peu nombreux et non spécifiques, ils sont représentés majoritairement par une dyspnée, une toux irritative ou une douleur thoracique.

L'examen clinique met en évidence un épanchement pleural, souvent unilatéral.

Les signes d'extension sont tardifs et font preuve d'une extension péritonéale, péricardique, d'une compression médiastinale ou d'une évolution métastatique (les manifestations inaugurales sont rares).

Les syndromes paranéoplasiques sont exceptionnels.

B. Imagerie

1. Radiographie thoracique

On retrouve fréquemment un épanchement pleural liquidien souvent unilatéral, ou des épaississements pleuraux.

2. TDM thoracique injectée

A réaliser après vidange pleurale, elle peut être normale à un stade précoce.

Un épanchement liquidien, un épaississement supra centimétrique circonférentiel ou nodulaire, ou une atteinte de la plèvre médiastinale font suspecter la malignité.

On peut y observer des signes d'extension intra-thoracique au niveau du péricarde, de la paroi thoracique, un envahissement médiastinal ou diaphragmatique.

3. TEP

Elle permettrait de différencier le MPM des tumeurs pleurales bénignes : la Standardized Uptake Value (SUV) est plus élevée, et de détecter des adénopathies médiastinales ou des métastases à distance.

L'évaluation métabolique par TEP Scanner pourrait également être discriminante sur le plan pronostique (20).

Les cas de faux positifs sont représentés par les tuberculoses pleurales, les épanchements pleuraux para pneumoniques, ou un antécédent de talcage pleural.

Les MPM sarcomatoïdes et desmoplastiques peuvent être faussement négatifs au stade précoce. C'est pourquoi, à l'heure actuelle, la TEP n'a pas sa place dans le diagnostic du MPM.

4. IRM thoracique

Elle permet la distinction entre lésions pleurales malignes et bénignes. Les lésions malignes se présentent par un épaississement pleural hypointense en séquence T1, réhaussé par le Gadolinium, hyperintense en séquence T2.

L'IRM paraît intéressante dans les stades précoces mais la spécificité est insuffisante.

5. Synthèse

Au total, les techniques d'imagerie actuelles sont nettement insuffisantes dans le diagnostic du MPM.

C. Anatomopathologie

1. Cytologie pleurale

La sensibilité est très faible (environ 30%). Le rendement de l'analyse cytologique du liquide pleural dépend du stade de la maladie, et particulièrement de son extension à la plèvre viscérale (21).

L'analyse nécessite des opérateurs expérimentés car la distinction entre différenciation cytologique de mésothéliome malin et tissu normal, cellules adénocarcinomateuses, ou cellules mésothéliales réactives (hyperplasies mésothéliales réactives non spécifiques) est difficile.

2. Biopsies pleurales

Le diagnostic définitif nécessite souvent une analyse histologique de biopsies pleurales réalisées au cours d'une thoracoscopie, permettant l'exploration de la cavité pleurale et la réalisation de biopsies larges et multiples.

En cas d'impossibilité, une mini-thoracotomie pour biopsie pleurale chirurgicale peut être indiquée.

En dernier recours chez des patients inopérables, des biopsies transpariétales peuvent être effectuées sous repérage échographique ou tomodensitométrique mais la sensibilité est moindre.

Récemment, un cas de mésothéliome pleural malin diagnostiqué par échoendoscopie bronchique a été rapporté. Le patient ne présentait pas d'épanchement pleural rendant un accès difficile en thoracoscopie et une thoracotomie s'avérait trop invasive. Une échoendoscopie bronchique était réalisée, permettant de visualiser l'épaississement pleural, 3 ponctions étaient réalisées et ont permis un diagnostic cytologique et histologique de mésothéliome pleural malin épithélioïde. L'échoendoscopie bronchique pourrait représenter une alternative intéressante dans le diagnostic de MPM pour des patients inopérables, cependant sa place reste encore à définir (22).

3. Synthèse

Le diagnostic histologique, même sur biopsie est difficile et nécessite des techniques multiples :

Détermination du sous-type histologique : (1) épithélioïde, sarcomatoïde, biphasique, rarement desmoplastique.

Diagnostic différentiel avec des thymomes (23) et des carcinomes (bronchiques, mammaires et colorectaux) (24) qui peuvent prendre un aspect pseudo-mésothéliomateux.

L'étude immunohistochimique doit comprendre (25) (26) au moins deux marqueurs à visée diagnostique positive pour le MPM (calrétinine, antigène 1 de la tumeur de Wilms WT1, antigène membranaire anti-épithélial EMA, cytokératine 5/6, anti-D2-40, anti-mésothéline) et deux marqueurs à valeur négative (TTF-1, ACE, Ber EP4, anti-B72-3, anti-MOC-31, anti-EMA, anti-récepteurs œstrogène et progestérone chez la femme).

Dans tous les cas, le diagnostic doit être confirmé par le réseau expert national MESOPATH.

III. Les biomarqueurs solubles déjà étudiés

A. Le biomarqueur "parfait"

Son but serait multiple : l'aide au diagnostic, la détermination du pronostic, l'évaluation de la réponse au traitement et éventuellement l'aide au dépistage de la maladie.

En somme, le biomarqueur idéal permettrait (27) un diagnostic précoce et fiable, et quelque soit le sous-type histologique, un diagnostic différentiel entre MPM, lésions pleurales bénignes et métastases pleurales d'autres cancers, une estimation de la sévérité et/ou de la masse tumorale, de détecter le développement d'un MPM chez des sujets ayant été exposés à l'amiante.

B. Marqueurs historiques (28)

1. L'antigène carcino-embryonnaire (ACE)

Il a été l'un des premiers marqueurs étudiés dans le MPM, le dosage dans le sang ou dans le liquide pleural est toujours négatif.

Dans le sérum, les niveaux d'ACE de sujets contrôles versus patients porteurs de MPM ne différait pas de façon significative.

Dans le liquide pleural, les taux d'ACE ont tendance à être plus élevés chez les patients porteurs de MPM lorsqu'ils étaient comparés à des sujets sains, mais sans significativité statistique (29).

En somme, l'ACE ne pourrait être utilisé que par sa négativité dans le diagnostic de MPM.

2. Acide hyaluronique

L'acide hyaluronique a été proposé en raison de son élévation dans environ 60% des épanchements pleuraux de patients porteurs de MPM (30) et des taux élevés d'acide hyaluronique ont été observés dans le sérum de patients souffrant de stades évolués de MPM (31).

Cependant, un nombre non négligeable de MPM ne sécrèterait pas d'acide hyaluronique (32) (33). De plus, sa spécificité est faible puisque le taux d'acide hyaluronique sérique ne permet pas de différencier les patients avec MPM d'autres maladies pleurales, notamment les métastases de divers carcinomes (34).

Globalement, son utilité en pratique reste limitée.

3. Cancer Antigen 125 (CA 125)

La sensibilité du CA 125 dans le diagnostic du MPM insuffisante, de l'ordre de 30%. Il a été montré que l'utilisation du CA 125 en combinaison avec d'autres marqueurs plus sensibles ou spécifiques n'augmente pas leur performance diagnostique (35).

Son utilisation a donc été abandonnée pour le diagnostic de MPM.

4. Cancer Antigen 15.3 (CA 15.3)

Les données de la littérature sont globalement décevantes : séries de cas insuffisantes en nombre, sujets contrôles (patients avec lésions bénignes ou sujets sains) peu nombreux dans les études...

Le CA 15.3 ne peut pas être utilisé seul dans le diagnostic de MPM, et à ce jour, aucune combinaison de marqueur avec le CA 15.3 n'a été prometteuse.

5. Calrétinine

La calrétinine est une calcium-binding protéine, de la famille des EF-hand protéines (fréquemment retrouvées dans les neurones) (36). Elle assurerait l'homéostasie du calcium intra-cellulaire (37) et jouerait un rôle dans la survie cellulaire chez des sujets exposés à l'amiante (38). Cependant, son rôle exact dans la cancérogénèse demeure inconnu.

Elle représente un marqueur immunohistochimique performant pour le diagnostic de MPM, avec une sensibilité proche de 100% et une spécificité de 87.5% (39) (40) (41).

Ainsi, la calrétinine étant détectable dans le sérum de certains patients porteur de néoplasies (poumon, sein, ovaire) (42), un anticorps polyclonal anti-calrétinine ELISA a été développé puis testé dans les sérum et plasma de patients porteurs de MPM.

Les niveaux de calrétinine étaient significativement plus importants chez les patients avec MPM, comparés à des sujets exposés à l'amiante et à des sujets contrôles.

Elle pourrait donc être utilisée en combinaison avec d'autres marqueurs pour la détection du MPM (43). Cependant, les données concernant la calrétinine sont limitées.

C. Mésothéline

La mésothéline est un antigène présent à la surface des cellules mésothéliales, dérivées du tissu embryonnaire mésodermique. Elle a été découverte grâce au ciblage par un auto-anticorps monoclonal K1, qui réagissait avec seulement un tissu

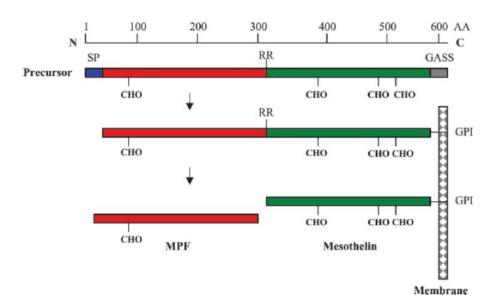
normal, le mésothelium, et avec des tissus néoplasiques. Elle jouerait un rôle d'adhésion cellulaire, de reconnaissance intercellulaire et signalement.

1. Structure

L'étude moléculaire (25) mettait en évidence une protéine précurseur clivée en :

une partie C terminale comprenant l'épitope K1, liée à la surface cellulaire par une glycosyl-phosphatidyl-inosito : la **mésothéline**

une partie N terminale agissant comme une cytokine pouvant stimuler, en présence d'Interleukine 3, la formation de mégacaryocytes au niveau de la moelle osseuse dans des modèles de souris : **Megacaryocyte Potentiating Factor** (MPF) (44).



A l'aide d'un antigène provenant du liquide d'ascite d'une patiente présentant un carcinome ovarien, plusieurs anticorps dirigés contre la mésothéline ont été générés chez des souris. Les anticorps interagissaient peu avec les tissus normaux, mis à part les cellules mésothéliales normales, cependant le marquage était positif pour les carcinomes ovariens, les cancers bronchiques non à petites cellules, les cancers du sein, de l'endomètre et du col utérin, dans le surnageant de culture des cellules malignes et dans le sérum de patients avec cancer ovarien, colique, pulmonaire ou mammaire (45).

L'étude de cet antigène mettait en évidence une séquence N terminale identique à la partie membranaire de la mésothéline, il était alors nommé **Soluble Mesothelin Related Protein** (SMRP) ou encore **mésothéline soluble** puisqu'il résulterait d'un clivage de la forme membranaire de la mésothéline.

La forme membranaire pourrait alors être utilisée comme marqueur immunohistochimique, la mésothéline soluble et le MPF comme marqueurs circulants (46).

2. Marqueur diagnostique

a) Mésothéline soluble ou SMRP

Lorsque les taux de SMRP étaient comparés entre des patients avec MPM, des cas contrôles, des sujets exposés à l'amiante et sujets avec d'autres pathologies pulmonaires et pleurales inflammatoires ou malignes, ils apparaissaient statistiquement plus élevés chez les patients avec MPM.

Cette première étude suggère l'utilité potentielle de la SMRP dans le diagnostic du MPM, et l'éventuelle possibilité d'un dépistage et/ou d'un diagnostic précoce chez les sujets exposés à l'amiante (47).

Par la suite, les études s'intéressaient au dosage de SMRP dans le sérum et le liquide pleural chez des patients porteurs de MPM, patients avec des métastases pleurales de carcinomes et patients avec des lésions pleurales bénignes liées à l'amiante (lorsqu'elles étaient suspectes en premier lieu d'être liées à un MPM).

Dans le sérum, les taux moyens de SMRP étaient significativement plus élevés dans le groupe MPM comparé aux métastases pleurales et comparé aux lésions bénignes.

Dans le liquide pleural, le dosage de SMRP des patients porteurs de MPM était supérieur aux sujets avec métastases pleurales de carcinomes.

Ainsi, le dosage de SMRP dans le sérum et le liquide pleural pourrait être un outil intéressant dans le diagnostic de MPM, le dosage dans le liquide pleural permettrait particulièrement de différencier le MPM des atteintes pleurales métastatiques d'autres carcinomes (48).

Une méta-analyse a été menée afin d'évaluer les performances diagnostiques de la SMRP et son utilité pour la précocité du diagnostic du MPM. Elle rassemblait 16 études et les données de 4491 patients de plusieurs groupes contrôles et de 1026 patients avec MPM.

Pour un seuil défini à 2nM/L de SMRP sérique, les sensibilités variaient entre 19 et 68%, les spécificités entre 88 et 100% en raison des différences entre les populations d'étude, du type de cas contrôles, du stade et du sous-type de MPM.

Au total, l'élévation de la mésothéline sérique au delà du seuil de 2nM/L impose d'entreprendre des démarches diagnostiques complémentaires à la recherche d'un MPM (49).

Cependant, sa faible sensibilité limite évidemment son utilisation pour le diagnostic précoce.

De plus, la restriction histologique de l'expression de la mésothéline soluble aux MPM épithélioïdes essentiellement, limite clairement la valeur de la SMRP sanguine pour le diagnostic ou le dépistage du MPM. L'augmentation de ce marqueur est surtout observée dans les formes épithélioïdes, il n'y a pas de sécrétion de SMRP dans les formes sarcomatoïdes et les formes mixtes ont une sécrétion de SMRP dépendante du contingent épithélioïde (48).

b) Megacaryocyte Potentiating Factor (MPF)

Une première série comparait 14 patients porteurs de MPM, à des sujets contrôles (sujets sains, patients avec métastases pleurales d'adénocarcinomes pulmonaires et patients avec lésions pleurales bénignes). Les taux sériques de MPF paraissaient plus importants chez les patients avec MPM, comparés aux sujets sains ou avec autres maladies pulmonaires et/ou pleurales (50).

En 2008, Iwahori et al. comparaient les performances diagnostiques du MPF à celles de la SMRP. Les taux de MPF et de SMRP étaient statistiquement supérieurs chez les patients avec MPM comparés aux sujets contrôles (patients porteurs de néoplasie pulmonaire, sujets exposés à l'amiante et sujets sains). Les performances diagnostiques du MPF sérique apparaissaient supérieures à celles de la SMRP (p = 0,025) pour le diagnostic de MPM (51).

Une étude de Onda et al. suggère également des performances diagnostiques du MPF meilleures que la mésothéline soluble (52).

Cependant ces résultats n'ont pas été confirmés par des séries de patients plus importantes.

c) Marqueur immunohistochimique

Son utilisation est limitée car, malgré l'expression intense de mésothéline par 70 à 80% (53) des MPM épithélioïdes, elle est également exprimée les cellules mésothéliales normales et par 30 à 40 % des cellules cancéreuses bronchiques non à petites cellules. De plus, les MPM sarcomatoïdes n'expriment habituellement pas la mésothéline (54).

Ainsi, la mésothéline en tant que marqueur tissulaire ne permet pas de distinguer les MPM des proliférations mésothéliales bénignes ou des métastases pleurales des cancers bronchiques. Son utilisation est donc restreinte à de rares situations de doute diagnostique, où un panel d'autres marqueurs n'a pas permis d'aboutir à un résultat concluant.

3. Marqueur pronostique

Une étude était menée afin d'établir l'influence du volume tumoral sur le taux de SMRP. Les niveaux de mésothéline étaient analysés parallèlement au stade tumoral, à la présence de métastases, aux paramètres de tomographie par émission de positons (TEP), au volume tumoral, au volume total glycolytique et à la survie. Les variations de niveau de mésothéline étaient étudiées en rapport avec l'évolution tumorale sous chimiothérapie et la survie.

Un dosage initial de mésothéline > 5 nmol/L semblait être un marqueur de mauvais pronostic (HR 2,25) et corrélé au stade et au volume tumoral.

Les variations de mésothéline étaient corrélées, chez les patients présentant une réponse objective sous chimiothérapie, aux réponses radiologiques de réduction de volume tumoral et métaboliques.

La médiane de survie des patients dont le dosage de mésothéline décroissait sous chimiothérapie était significativement meilleure que ceux dont le dosage augmentait (19 vs 5 mois, p<0,001) (55).

Au total, il semblait exister une relation entre le dosage de la SMRP et le volume tumoral. Ce constat permet de proposer le dosage de SMRP en utilisation pour le monitoring du volume tumoral sous traitement par chimiothérapie.

4. Marqueur de suivi sous traitement anti-tumoral (prédictif)

Une étude rétrospective multicentrique analysait la cinétique de SMRP au diagnostic puis à 2, 4, et 6 mois au cours d'un traitement pour MPM (chimiothérapie +/- radiothérapie et chirurgie, ou participant à un essai de thérapie génique par injection intra-pleurale). Le volume tumoral et la réponse au traitement étaient évalués par un scanner thoracique selon les critères RECIST.

Pour les patients porteurs de MPM en progression tumorale, les valeurs médianes de mésothéline augmentaient progressivement, et pour les patients stables sous traitement, les médianes de mésothéline soluble ne variaient pas significativement.

D'autre part, cette étude rappelle l'utilité pronostique, démontrant que la mésothéline serait corrélée à la survie globale avec une différence significative entre les sujets dont le taux de SMRP était stable, comparés à ceux dont le taux augmentait de 10% entre le diagnostic et la fin du traitement (médiane de survie à 27.7 mois vs 4.4 mois, p=0.012).

Au total, la mésothéline soluble semble être un marqueur intéressant pour suivre la réponse au traitement (quelque soit le type de traitement entrepris), et pourrait servir de marqueur pronostique sur la survie globale. (56)

D. Ostéopontine

1. Présentation

L'ostéopontine est une glycoprotéine d'origine pléiotrope. Protéine d'adhésion cellulaire, elle représente également une cytokine clé dans la réponse immunitaire de type I. Elle serait impliquée dans la dissémination métastatique de cellules tumorales (57).

2. Potentiel marqueur diagnostique précoce

Elle différenciait dans une étude, des sujets sains, d'autres patients avec MPM (stade I), avec des niveaux sériques d'ostéopontine significativement plus élevés chez les patients avec MPM comparés aux sujets sains exposés à l'amiante : Se 77%, Sp 85% (p<0.001) (58). Cependant les cas contrôles ne présentaient aucune autre pathologie pleurale maligne ou de pleurésie bénigne liée à l'amiante.

Ces résultats étaient confirmés par une autre étude (59) montrant des valeurs sériques d'ostéopontine plus basses chez des sujets sains antérieurement exposés à l'amiante, comparés à des sujets avec lésions pleurales bénignes liées à l'amiante (p=0.006), MPM (p=0.001) ou métastases pleurales d'adénocarcinome (p=0.001). Cependant on ne retrouvait pas de différence significative parmi ces trois derniers groupes de patients. Dans le liquide pleural, l'ostéopontine montrait une tendance à être plus élevée chez les patients avec MPM comparés aux patients avec métastases pleurales ou lésions pleurales bénignes liées à l'amiante, mais sans significativité statistique.

En somme, l'ostéopontine sérique permettait de repérer parmi les sujets exposés à l'amiante, les sujets sains des patients avec atteinte pleurale bénigne ou maligne.

L'utilité du dosage de l'ostéopontine apparaît alors faible devant la faible incidence de MPM parmi les sujets exposés à l'amiante et le risque de faux positifs sur lésions pleurales bénignes (59).

E. Synthèse

Il y a, à ce jour, une réelle nécessité d'identifier un ou plusieurs marqueurs de MPM pour faciliter le diagnostic et l'évaluation de la réponse sous traitement.

Malgré de nombreux marqueurs candidats explorés, le biomarqueur idéal n'existe pas.

Une revue systématique concernant les performances diagnostiques de biomarqueurs pour le diagnostic de MPM a rassemblé 82 articles. Aucun marqueur ne ressortait suffisamment performant pour distinguer le MPM des autres maladies pleurales (60).

La SMRP et l'ostéopontine ressortent comme les marqueurs les plus prometteurs. Cependant, aujourd'hui ils ne sont pas utilisables en pratique clinique ; la SMRP pourrait être utile dans le diagnostic et la surveillance sous traitement, mais sa principale limite est sa sensibilité insuffisante, tandis que l'ostéopontine ne paraît pas assez spécifique (61).

IV. Nouveaux biomarqueurs solubles potentiels

A. Présentation

1. Fibulin-3

La fibulin-3 appartient à la famille des glycoprotéines présentes dans la matrice extracellulaire. Son rôle intervient dans la communication intercellulaire et à la matrice.

Son gène EFEMP1 (epidermal growth factor-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1) est faiblement exprimé dans les tissus normaux, excepté la thyroïde, mais hautement exprimé dans les tissus mésenchymateux condensés à l'origine des tissus osseux et cartilagineux. Une étude a montré une surexpression de l'EFEMP1 dans tous les mésothéliomes (62).

2. Brain-derived neutrophic factor BDNF

Le BDNF appartient à la famille des neurotrophines, facteurs de croissance jouant un rôle crucial dans la survie, le développement, la différenciation, la croissance et la régulation de populations cellulaires neuronales par le biais de deux récepteurs : p75, et Trk de la famille des récepteurs de Tyrosine kinase. Il intervient également dans bien d'autres domaines (différenciation des lymphocytes B, dégranulation mastocytaire d'histamine, formation des vaisseaux intramyocardiques, croissance des follicules ovariens) (63).

Chez le sujet sain, le récepteur Trk B (récepteur physiologique de haute affinité pour le BDNF) serait impliqué dans le développement et le maintien d'une structure pulmonaire normale (64) (65). De plus, le système des neurotrophines jouerait un rôle modulateur de certaines néoplasies (66) en particulier dans certains carcinomes tels que les cancers bronchiques (67).

Une étude in vitro montre que le blocage de la voie de signalisation des neurotrophines pourrait bloquer la progression des cellules cancéreuses bronchiques (68). Le rôle des neurotrophines dans les épanchements pleuraux malins et dans le MPM reste encore à déterminer.

B. Etudes préliminaires

1. Fibulin-3

Récemment, Pass et al. a étudié l'utilité de la fibulin-3 pour discriminer les patients atteints de mésothéliome, des patients exposés à l'amiante sans cancer, des patients présentant des pleurésies bénignes ou malignes non dues à un mésothéliome, et des sujets sains.

a) Dosage plasmatique

La fibulin-3 plasmatique ne paraissait pas être influencée par l'âge, le sexe ou le sous-type histologique de mésothéliome.

Les taux plasmatiques de fibulin-3 étaient significativement plus élevés chez les patients avec mésotheliome comparés aux patients exposés à l'amiante indemnes de mésothéliome (p<0.001). En comparant les patients avec versus sans MPM, avec

un cut off de 52,8 ng/mL, la fibulin-3 plasmatique apparaissait très performante : Se=96.7% Sp=95.5%.

Les dosages ne différaient pas entre les patients traités par chimiothérapie néoadjuvante et ceux n'ayant pas reçu de chimiothérapie. Cependant, les taux de fibulin-3 semblaient s'effondrer après chirurgie de cytoréduction et augmenter lors d'une progression tumorale.

b) Dosage dans le liquide pleural

Les dosages pleuraux de fibulin-3 apparaissaient faiblement corrélés aux dosages plasmatiques.

La fibulin-3 permettrait de discriminer les épanchements pleuraux dus au mésothéliome des autres épanchements, bénins ou malins (AUC 0,93). De plus, un taux de fibulin-3 pleurale supérieur à 733,4 ng/mL au moment de la chirurgie serait un facteur de mauvais pronostic (HR 2,70 p<0,001).

Ainsi, les résultats de cette étude suggèrent que le dosage de la fibulin-3 dans le plasma et le liquide pleural pourrait être utile dans le diagnostic, le pronostic du mésothéliome pleural malin, et potentiellement pour le monitoring dans la surveillance de la maladie après traitement (69).

c) Comparaison avec la mésothéline soluble

Les performances diagnostiques de la mésothéline et de la fibulin-3 dans le plasma et dans le liquide pleural ont été évaluées en utilisation seule ou en combinaison. L'étude incluait 82 patients avec MPM, 36 patients avec une pleurésie d'origine maligne non due à un MPM et 35 patients avec un épanchement bénin.

Dans le plasma et dans le liquide pleural, la mésothéline apparaissait plus performante que la fibulin-3.

Le dosage pleural de fibulin-3 apparaissait comme un facteur pronostique indépendant (HR=2,08 p=0,017) chez les patients souffrant de MPM : les patients pour qui le dosage pleural de fibulin-3 était en dessous de la médiane avaient une survie significativement plus longue (14,1 vs 7,9 mois p=0,012) (70).

Cette étude suggère la supériorité de la mésothéline pour le diagnostic de MPM, mais place la fibulin-3 comme potentiel marqueur pronostique dans le MPM.

2. BDNF

Une étude prospective belge a inclus 170 patients se présentant pour un épanchement pleural exsudatif.

Dans le liquide pleural, le taux de BDNF était significativement plus élevé dans les épanchements d'étiologies malignes, comparés aux épanchements d'étiologies bénignes (p<0,05). Les analyses en sous-groupe retrouvent une différence significative entre les sujets avec métastases pleurales de cancer pulmonaire et MPM, comparés aux sujets avec des lésions bénignes (p<0,05) et une forte tendance à des taux supérieurs de BDNF pleural chez les patients porteurs de MPM comparés aux sujets contrôles (p=0,055) (63).

La sensibilité du BDNF paraît faible mais son potentiel à discriminer les sujets avec épanchements pleuraux malins des épanchements bénins mérite d'être exploré.

V. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer l'utilité du dosage de fibulin-3 et BDNF dans le plasma et le liquide pleural, pour le diagnostic de MPM.

L'objectif secondaire était d'étudier chez les sujets porteurs de MPM, l'influence de la valeur des dosages de fibulin-3 et de BDNF sur le délai de survie globale après diagnostic.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Population de l'étude

A. Recrutement de la population Lilloise

Des échantillons de plasma et liquide pleural étaient choisis aléatoirement parmi une collection de prélèvements congelés.

Les échantillons de plasma avaient été prélevés chez des patients suivis pour des anomalies pleurales dans le service de Pneumologie Oncologie Thoracique du CHRU de Lille et les liquides pleuraux au décours de thoracoscopies réalisées pour bilan diagnostique de pleurésies exsudatives au CHRU de Lille, depuis 2005. Les échantillons étaient congelés et conservés à -80°C à l'Institut Pasteur de Lille INSERM Unité 774.

Les prélèvements avaient été réalisés dans le cadre d'une étude locale, menée par Monsieur le Pr Arnaud Scherpereel, Service de Pneumologie Oncologie Thoracique, Hôpital Calmette – CHRU Lille, et validée par le Comité d'éthique du CHRU de Lille, après consentement éclairé des patients.

Tous les patients étaient naïfs de traitements anti-cancéreux.

B. Recrutement de la population Nantaise

De la même façon, les patients qui consultaient dans le service de Pneumologie du Professeur Antoine Magnan - CHRU de Nantes pour un épanchement pleural, une suspicion de mésothéliome, ou un antécédent d'exposition à l'amiante, naïfs de traitements anti-cancéreux, bénéficiaient de prélèvements sanguins et de liquide pleural si disponible lors de thoracoscopies, après consentement éclairé. Les échantillons étaient congelés et conservés à -80°C à l'Institut de Recherche en Santé Université de Nantes INSERM UMR 892.

Des échantillons de plasma et liquide pleural étaient sélectionnés aléatoirement parmi la collection de prélèvements disponibles.

C. Recueil de données

Les données démographiques et anamnestiques : âge, sexe, statut tabagique, exposition à l'amiante, antécédent d'autres néoplasies, date de dernières nouvelles ou date de décès, étaient recueillies à partir des dossiers médicaux informatiques du CHRU de Lille et de la base de données de l'Institut de recherche en Santé Université de Nantes.

D. Constitution des groupes de patients

À partir de l'analyse des dossiers médicaux lillois et nantais, les données cliniques, radiographiques, anatomo et cytopathologiques étaient recueillies afin de différencier les patients porteurs d'un mésothéliome pleural malin (Groupe MPM), d'une pleurésie carcinologique autre (métastase d'adénocarcinome bronchique, mammaire, ovarien...) (Groupe Malins) ou d'anomalies pleurales bénignes potentiellement liées à l'amiante (Groupe Bénins).

Les analyses anatomo et cyto-pathologiques de liquide et/ou biopsies pleurales étaient réalisées dans le service de Madame le Professeur Marie-Christine Copin – CHRU de Lille pour les échantillons prélevés à Lille, et dans le service d'anatomie et cytologie pathologiques de Madame le Docteur Elizabeth Cassagnau de l'Hôpital Nord Laennec du CHRU de Nantes.

Les fragments pour lesquels le diagnostic de mésothéliome pleural malin était retenu étaient envoyés au réseau MESOPATH pour confirmation diagnostique.

II. Méthodes de dosages

Dans les deux centres, les échantillons pleuraux et sanguins étaient transportés à température ambiante au laboratoire ; acheminés rapidement à l'Institut Pasteur de Lille INSERM UMR 774 ou transportés par navette biquotidienne à l'Institut de Recherche en Santé Université de Nantes INSERM UMR 892. Une procédure standard était effectuée après réception de tous les échantillons et recueil des données nécessaires : les échantillons étaient centrifugés, le surnageant aliquoté puis congelé à - 80°C.

Les échantillons lillois ont été transportés dans les conditions de transport exigibles (boîte hermétique à - 80°C) à l'Institut de Recherche en Santé Université de Nantes INSERM UMR 892 par les soins du Docteur Christophe Blanquart.

Les prélèvements étaient pris en charge à Nantes et les dosages de BDNF (kit ELISA DuoSet R&D Systems), fibulin-3 (human fibulin-3 enzyme-limked immunosorbent assay, USCN Life Science Inc.) étaient réalisés à une dilution de 1/50 dans les plasma et 1/5 dans les liquides pleuraux.

III. Analyses statistiques

Les paramètres quantitatifs ont été décrits en termes de médiane et d'intervalle interquartile. La distribution des paramètres quantitatifs a été vérifiée graphiquement et à l'aide du test de Shapiro Wilk.

Dans un premier temps, le groupe de patients avec mésothéliome pleural malin (MPM) a été poolé au groupe de patients avec métastases pleurales d'autres cancers (Malins) afin de les comparer aux sujets porteurs d'anomalies pleurales bénignes (Bénins) et d'identifier les dosages discriminant significativement les 2 groupes (fibulin-3 plasmatique, fibulin-3 pleurale, BDNF plasmatique, BDNF pleural). La comparaison de ces dosages entre les 2 groupes a été réalisée par un test de Mann-Whitney. Pour les dosages significativement différents entre les 2 groupes, le pouvoir discriminant a été évalué par l'aire sous la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic). Le seuil optimal de chaque dosage, permettant de discriminer les 2 groupes, a été déterminé en maximisant l'index de Youden.

Dans un second temps, les mêmes tests ont été utilisés pour identifier les dosages discriminant les patients avec mésothéliome pleural (MPM) des patients avec métastases pleurales d'autres cancers (Malins).

Dans un troisième temps, le lien entre la survie des patients MPM et les différents dosages a été étudié à l'aide d'un modèle de Cox.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.3).

RÉSULTATS

I. Caractéristiques de la population

Au total, 251 échantillons nantais (115 de patients avec MPM, 105 de patients avec pleurésies malignes hors MPM, 31 patients avec étiologies bénignes d'épanchement pleural) et 59 lillois (11 de patients avec MPM, 3 de patients avec MPM, 45 patients avec étiologies bénignes d'épanchement pleural) étaient analysés pour les dosages de fibulin-3 et BDNF.

La population était majoritairement composée d'hommes (71 soit 94,67% des sujets avec anomalies bénignes, 57 soit 52,78% des patients avec pleurésies carcinologiques, 105 soit 83,33% des patients porteurs de MPM, au total 233, soit 75,4%)

Le statut tabagique était variable selon l'étiologie de l'épanchement pleural : les sujets avec anomalies pleurales bénignes étaient plus souvent fumeurs (28 soit 52,83%) à l'inverse des sujets avec pleurésies malignes (68 soit 73,91%) et des patients porteurs de MPM (96 soit 85,71%) qui étaient plus souvent non fumeurs.

L'exposition à l'amiante était documentée chez 50 soit 78,13% des sujets avec pathologies bénignes, 21 soit 26,25% des patients avec pleurésies malignes et 92 soit 79,31% des patients porteurs de MPM.

On retrouvait des antécédents d'autres néoplasies chez 12 soit 21,43% des sujets avec anomalies bénignes, 45 soit 48,91% des patients avec pleurésies malignes et 15 soit 13,64% des patients porteurs de MPM.

Les patients porteurs de MPM pour qui les données de survie étaient disponibles étaient tous décédés.

Tableau 1 : Caractéristiques de la population d'étude

	Pathologies	Malignes	MPM	Population totale
	bénignes	hors MPM		
	n=76	n=108	n=126	
	24,52%	34,84%	40,65%	
Lillois	45 (59,21%)	3 (2,78%)	11 (8,73%)	59 (19,03%)
Nantais	31 (40,79%)	105 (97,22%)	115 (91,27%)	251 (80,97%)
Age (années)	68,46	64,16	67,74	66,66
Moyenne (DS)	(12,34)	(12,49)	(9,88)	(11,57)
Sexe :				
masculin	71 (94,67%)	57 (52,78%)	105 (83,33%)	233 (75,40%)
féminin	4 (5,33%)	51 (47,22%)	21 (16,67%)	76 (24,60%)
Statut tabagique :				
non fumeurs	25 (47,17%)	68 (73,91%)	96 (85,71%)	189 (73,54%)
fumeurs actifs ou sevrés	28 (52,83%)	24 (26,09%)	16 (14,29%)	68 (26,46%)
PA (paquets.années)	28,56 (19,05)	28.08 (17,67%)	17,36 (14,93)	26.32 (18,04)
Exposition à l'amiante :				
Non documentée	14 (21,88%)	59 (73,75%)	24 (20,69%)	97 (37,31%)
Oui	50 (78,13%)	21 (26,25%)	92 (79,31%)	163 (62,69%)
Antécédent néoplasie :				
non	44 (78,57%)	47 (51,09%)	95 (86,36%)	186 (72,09%)
oui	12 (21,43%)	45 (48,91%)	15 (13,64%)	72 (27,91%)
Décès :				
non	21 (70%)	0	0	21 (11,80%)
oui	9 (30%)	61 (100%)	87 (100%)	157 (88,20%)
Survie à partir du	1719	274,05	452,61	425,42
diagnostic (jours)	(1046,77)	(277,70)	(464,56)	(499,42)

II. Résultats des dosages

A. Fibulin-3

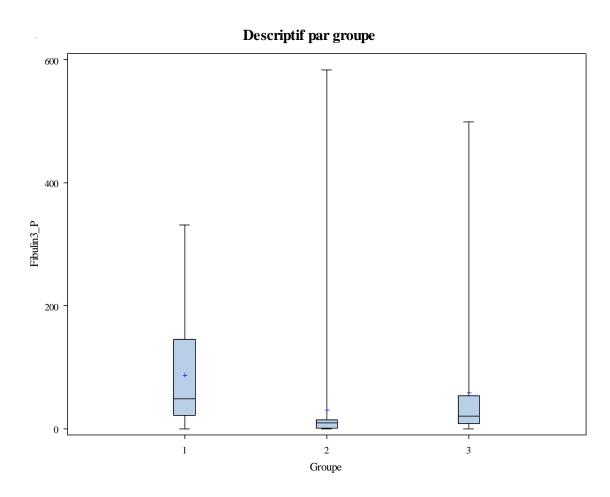
1. Dosage plasmatique de fibulin-3

Le dosage a pu être effectué chez 126 sujets (47 avec pathologies pleurales bénignes, 31 avec pathologies pleurales malignes non dues au MPM, 48 porteurs de MPM).

Tableau 2 : Résultats des dosages de fibulin-3 plasmatique

Fibulin-3 plasmatique		Pathologies	Malignes hors	MPM
(ng/mL)		bénignes	MPM	
	Lille	38	2	9
	Nantes	9	29	39
	Population totale	n=47	n=31	n=48
	Lille	75,91	47,27	124,23
		[36,00 – 164,65]	[34,94 – 59,59]	[25,92 – 135,77]
Médiane	Nantes	12,03	8,83	13,18
[Q25-75]		[4,88 – 20,91]	[0,48 - 12,72]	[7,02 – 27,25]
	Population totale	49,15	9,09	20,78
		[21,94 – 145,28]	[0,48 – 14,69]	[8,24 – 53,85]
	Lille	103,15 (84,88)	47,27 (17,43)	105,63 (82,86)
Moyenne (DS)	Nantes	15,71 (14,34)	29,70 (106,93)	47,00 (106,24)
	Population totale	86,40 (83,90)	30,84 (103,44)	57,99 (104,06)

Figure 1 : Box Plot Fibulin-3 plasmatique par groupe



Groupe 1 : Pathologie pleurale bénigne

Groupe 2 : Pathologie pleurale maligne hors MPM

Fibulin3_P: dosage plasmatique de fibulin-3 en ng/mL

Groupe 3: MPM

a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleurésies néoplasiques ou MPM

Les taux plasmatiques de fibulin-3 des patients porteurs d'anomalies pleurales bénignes étaient statistiquement supérieurs, comparés aux sujets avec pleurésies malignes ou MPM (p<0,0001).

b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes

Les taux plasmatiques chez les sujets porteurs de MPM étaient statistiquement supérieurs, comparés aux sujets avec pleurésies malignes (p=0,0056). L'analyse de la courbe ROC retrouve une AUC=0,6855. Le meilleur seuil diagnostic de fibulin-3

plasmatique pour différencier les sujets avec MPM des sujets avec pleurésies carcinologiques était de 11,9 ng/mL avec une sensibilité de 67% et une spécificité de 68%.

c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM

Les courbes de survie n'ont pas retrouvé d'influence entre le taux de fibulin-3 plasmatique et le délai de survenue du décès après diagnostic chez les patients porteurs de MPM (p=0.9557).

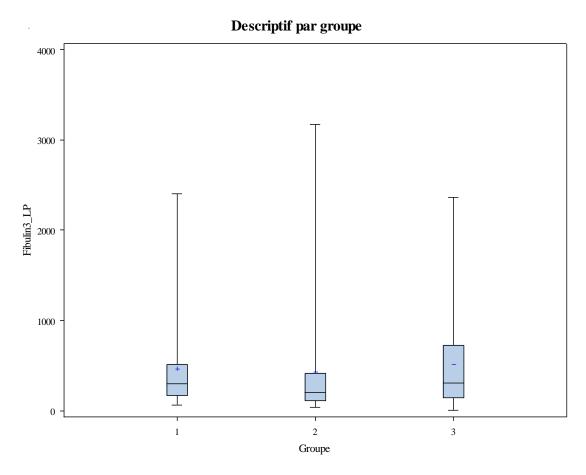
2. Dosage pleural de fibulin-3

Le dosage de fibulin-3 pleural était disponible pour 157 patients (33 avec une pathologie pleurale bénigne, 53 avec une pleurésie maligne, 71 avec un MPM).

Tableau 3 : Résultats des dosages de fibulin-3 pleurale

Fibulin-3 pleurale		Pathologies	Malignes	MPM
(ng/mL)		bénignes	Hors MPM	
	Lille	15	1	1
	Nantes	18	52	70
	Population totale	n=33	n=53	n=71
	Lille	340,70	114,00	64,59
		[223,84 – 636,96]	[114,00 - 114,00]	[64,59 – 64,59]
Médiane	Nantes	254,78	202,98	317,10
[Q25-75]		[151,75 – 439,12]	[114,77 – 432,22]	[163,87 – 720,59]
	Population totale	299,23	198,45	307,26
		[168,37 – 512,13]	[114,00 – 416,15]	[147,63 – 720,59]
	Lille	497,99 (422,33)	114,00	64,59
Moyenne (DS)	Nantes	432,51 (556,03)	433,50 (596,82)	519,54 (539,06)
	Population totale	462,28 (493,34)	427,47 (592,68)	513,13 (537,91)

Figure 2 : Box Plot Fibulin-3 pleurale par groupe



Groupe 1 : Pathologie pleurale bénigne

Groupe 2 : Pathologie pleurale maligne hors MPM

Fibulin3_LP: dosage pleural de fibulin-3 en ng/mL

Groupe 3: MPM

a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleurésies néoplasiques ou MPM

Aucune différence statistiquement significative n'était retrouvée pour les dosages pleuraux de fibulin-3 entre les sujets avec anomalies pleurales bénignes et les sujets avec pleurésies malignes ou MPM (p=0,5195).

b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes

On observait une tendance chez les patients porteurs de MPM à avoir des dosages plus élevés de fibulin-3 pleurale, lorsqu'ils étaient comparés aux sujets avec pleurésie carcinologique, mais sans significativité statistique (p=0,0981).

c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM

Les courbes de survie ont montré chez les patients porteurs de MPM, une tendance à des taux de fibulin-3 pleurale au diagnostic plus importants chez les patients dont le délai de survenue du décès après diagnostic était court (p=0.0608).

B. BDNF

1. Dosage plasmatique de BDNF

Le dosage était disponible pour 94 patients (42 avec pathologies pleurales bénignes, 19 avec pleurésies malignes, 33 avec MPM).

Tableau 4 : Résultats des dosages de BDNF plasmatique

BDNF		Pathologie bénigne	maligne hors MPM	MPM
plasmatique	Lille	38	2	10
(ng/mL) Nantes		4	17	23
	Population totale	n=42	n=19	n=33
	Lille	4,51	7,67	3,40
		[2,07 – 8,29]	[2,96 – 12,38]	[1,92 – 6,69]
Médiane	Nantes	9,31	16,10	27,08
[Q25-75]		[4,11 – 25,31]	[7,23 – 33,18]	[21,77 – 32,01]
	Population totale	4,86	12,51	23,58
		[2,28 – 9,28]	[5,09 – 33,18]	[5,98 – 28,82]
	Lille	6,12 (5,52)	7,67 (6,66)	6,37 (7,63)
Moyenne (DS)	Nantes	14,71 (15,35)	19,90 (14,44)	26,56 (10,38)
	Population totale	6,94 (7,16)	18,61 (14,24)	20,44 (13,39)

Figure 3 : Box Plot BDNF plasmatique par groupe

Groupe 1 : Pathologie bénigne

Groupe 2 : Pathologie maligne hors MPM

BDNF_P: dosage plasmatique de BDNF en ng/mL

Groupe 3: MPM

a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleurésies néoplasiques ou MPM

Les taux de BDNF plasmatique des sujets avec pleurésies malignes ou MPM étaient statistiquement plus élevés, comparés aux sujets porteurs d'anomalies bénignes (p<0,0001) avec une AUC à 0,78. Le meilleur seuil de BDNF plasmatique pour différencier les sujets porteurs d'anomalies pleurales bénignes, versus les sujets avec pleurésie carcinologique ou MPM est de 9,67 ng/mL, avec une sensibilité à 67% et une spécificité à 79%.

b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes

Il n'y avait pas de différence de taux de BDNF plasmatique en comparant les sujets avec pleurésies malignes aux sujets avec MPM (p=0,83).

c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM

Aucune corrélation n'était mise en évidence, entre le taux de BDNF plasmatique et le délai de survie après diagnostic chez les patients porteurs de MPM (p=0,40).

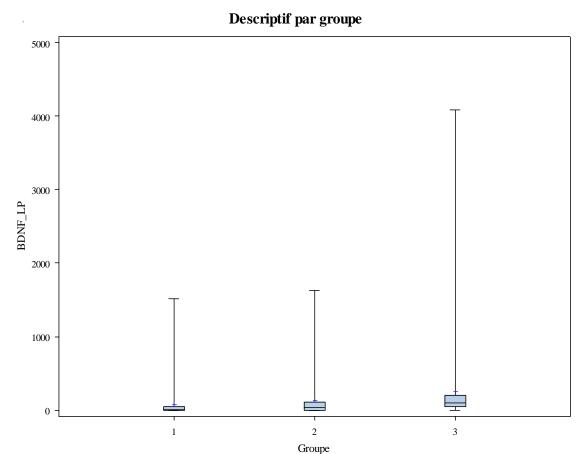
2. Dosage pleural de BDNF

Le dosage était disponible pour 194 patients (36 avec anomalies pleurales bénignes, 77 avec pleurésies malignes, et 81 avec MPM).

Tableau 5 : Résultats des dosages de BDNF pleural

		Pathologie bénigne	Maligne hors MPM	MPM
BDNF pleural	Lille	15	1	1
(pg/mL)	Nantes	21	76	80
	Population totale	n=36	n=77	n=81
Médiane	Population totale	8,88	39,37	95,32
[Q25-75]		[1,00 – 53,19]	[1,20 – 104,84]	[43,46 – 201,15]
Moyenne	Population totale	79,23	134,67	256,97
(DS)		(254,56)	(295,50)	(600,55)

Figure 4: Box Plot BDNF pleural par groupe



Groupe 1 : Pathologie bénigne

Groupe 2 : Pathologie maligne hors MPM BDNF_LP : de

Groupe 3: MPM

BDNF_LP: dosage pleural de BDNF en pg/mL

a) Comparaison des sujets porteurs de pathologies pleurales bénignes, aux sujets avec pleurésies néoplasiques ou MPM

Les dosages pleuraux des sujets avec pleurésies malignes ou MPM apparaissaient significativement plus élevés, comparés aux sujets avec pathologies bénignes (p=0,0002). L'analyse de la courbe ROC retrouve une AUC = 0,6986. Le meilleur seuil statistique de BDNF pleural s'élève à 41,85 pg/mL, avec une sensibilité de 63% et une spécificité de 72%.

b) Comparaison des sujets porteurs de MPM aux sujets avec autres pleurésies malignes

Les patients porteurs de MPM présentaient des valeurs statistiquement supérieures de BDNF pleural comparés aux patients avec pleurésies néoplasiques (p=0,0002). L'analyse de la courbe ROC retrouve une AUC = 0,6712. Le meilleur statistique de BDNF pleural s'élève à 48,49 pg/mL, avec une sensibilité de 73% et une spécificité de 57%.

c) Analyse des courbes de survie chez les patients porteurs de MPM

Les courbes de survie ne retrouvaient pas de relation entre le taux de BDNF pleural et le délai de survenue du décès chez les patients porteurs de MPM (p=0,67).

DISCUSSION

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à développer de nouveaux moyens non invasifs de diagnostic du MPM. Les biomarqueurs solubles, dosables dans le sang ou dans le liquide pleural, représentent potentiellement un outil adéquat dans ce sens. Cependant, de nombreux candidats marqueurs ont déçu dans cette indication, de l'acide hyaluronique au CA125.

Seule la mésothéline semble être considérée par certains comme ayant un possible rôle en clinique pour le MPM, même si ses performances diagnostiques sont clairement limitées dans les MPM non épithélioïdes (49).

Plus récemment, la fibulin-3 (69) puis le BDNF (63) ont été proposés comme nouveaux biomarqueurs pour le diagnostic de MPM.

Concernant la **fibulin-3 plasmatique**, de façon cohérente, les dosages de notre série chez les patients atteints de MPM sont similaires avec les valeurs retrouvées antérieurement (69) (70). En revanche, chez les "sujets sains" de *Pass et al* (69), exposés à l'amiante sans épanchement pleural ni MPM, les valeurs plasmatiques de fibulin-3 étaient beaucoup plus faibles que celles de nos patients porteurs d'anomalies pleurales bénignes. Cependant, dans les données de l'étude de *Creaney et al* (70), parmi les sujets considérés comme contrôles, les patients avec une pathologie pleurale liée à l'amiante avaient des valeurs plus élevées que les patients avec un épanchement pleural non malin, non dû à l'amiante. Leur analyse ne mettait pas en évidence de différence entre les dosages des patients porteurs d'une pathologie bénigne liée à l'amiante et les patients porteurs de MPM, à l'inverse des autres sujets contrôles. Enfin, dans nos données, les valeurs des patients lillois porteurs d'une pathologie pleurale bénigne apparaissaient très élevées, comparées aux données nantaises.

L'ensemble de ces constatations pourrait être expliqué par l'hétérogénéité des sujets contrôles entre l'étude américaine (69), l'étude australienne (70) et nos données. En effet, notre mode de recrutement de sujets porteurs d'anomalies bénignes semble différent puisque les sujets inclus dans notre série étaient tous

porteurs de pathologies pleurales et on relevait 78% d'exposition documentée à l'amiante, particulièrement chez les participants lillois. A l'inverse, l'étude américaine (69) incluait par exemple des sujets avec uniquement des stigmates radiologiques d'exposition à l'amiante (plaques pleurales).

Globalement, le taux de fibulin-3 plasmatique pourrait être le reflet systémique d'une pathologie inflammatoire pleurale, bénigne ou maligne, dans un contexte d'exposition à l'amiante. En effet, les plaques pleurales représentant des séquelles ou des cicatrices liées à une exposition à l'amiante mais n'engendrant pas d'inflammation pleurale, seraient plutôt associées à des taux de fibulin-3 plasmatiques faibles. À l'évidence, compte tenu de notre mode de recrutement, nos patients porteurs de pathologies pleurales bénignes présentaient des dosages statistiquement supérieurs comparés aux sujets avec pleurésies carcinologiques ou MPM. De plus, les dosages chez les sujets porteurs de MPM, dont l'exposition à l'amiante est nettement plus importante, étaient statistiquement supérieurs aux sujets avec pleurésies néoplasiques hors MPM.

Concernant la fibulin-3 pleurale, les dosages chez les participants porteurs de MPM étaient comparables avec les études antérieures (69) (70). À nouveau, les valeurs américaines (69) des sujets considérés comme contrôles et des patients porteurs de pathologies malignes non dues au MPM étaient moindres par rapport à nos données. Les sujets étaient très différents de notre série, comprenant très peu de patients avec une pleurésie liée à l'amiante et beaucoup d'autres causes diverses d'épanchements pleuraux non dus au MPM (inflammation chronique, origine cardiaque, hydropneumothorax spontané, post-immuno ou chimiothérapie, postopératoire, carcinomes bronchiques, rénaux, mammaires, lymphome...). Par contre, les valeurs australiennes (70) des sujets porteurs de lésions pleurales bénignes ou de pleurésie néoplasique hors MPM étaient similaires aux nôtres. L'étude australienne (70) ne retrouvait pas non plus de différence significative de taux de fibulin-3 pleurale entre les participants avec pathologies bénignes, malignes ou avec MPM. Comme décrit (70), nous avons retrouvé une tendance chez les patients porteurs de MPM décédant à court terme, à des taux de fibulin-3 pleurale plus élevés, cependant les résultats concernant notre série n'étaient pas significatifs.

Concernant le **dosage plasmatique de BDNF**, nous ne disposons à ce jour d'aucune donnée dans la littérature sur les valeurs plasmatiques de BDNF chez des patients porteurs d'épanchement pleural, quelle qu'en soit l'étiologie. Les sujets avec une pleurésie maligne ou un MPM avaient des taux statistiquement plus élevés que les patients porteurs d'anomalies pleurales bénignes. Cependant, certaines valeurs plasmatiques de BDNF paraissaient anormalement élevées chez 8 sujets du groupe avec pathologies pleurales bénignes. Parmi eux, un patient a développé un adénocarcinome prostatique 2 ans après son prélèvement plasmatique, un patient a présenté un glioblastome 6 ans plus tard, un patient avait un antécédent d'adénocarcinome prostatique, un patient n'a développé aucun cancer, deux patients étaient perdus de vue. Le BDNF plasmatique pourrait représenter un marqueur prédictif d'une pathologie maligne, non limitée au MPM.

Concernant le **BDNF pleural**, les valeurs absolues de nos dosages sont plus élevés que ceux décrits dans l'étude belge pour les patients avec MPM ou étiologies malignes d'épanchement pleural, mais similaires pour les sujets avec anomalies pleurales bénignes (63). Cependant, nos analyses sont concordantes puisqu'on retrouve des taux significativement plus élevés chez les sujets avec une pleurésie maligne ou un MPM, comparés aux sujets avec pathologies bénignes. Dans notre série, les patients porteurs de MPM présentaient des taux supérieurs comparés aux patients avec pleurésies malignes, mais nous ne disposons pas de données de la littérature pour comparaison.

En résumé, la fibulin-3 plasmatique semble avoir un faible intérêt pour le diagnostic de MPM et paraît plutôt refléter une inflammation pleurale consécutive à l'amiante. Il paraît nécessaire de poursuivre les études avec des sujets contrôles bien définis, tels que des patients avec des pathologies pleurales liées à l'amiante et non pas des simples stigmates radiologiques (plaques pleurales), afin d'interpréter les résultats de façon cohérente dans une situation clinique donnée. Cependant, la fibulin-3 pleurale pourrait représenter un facteur pronostique chez les patients porteurs de MPM dans nos résultats, comme suggéré par *Creaney et al* (70).

Le dosage du BDNF, plasmatique et pleural, mérite d'être exploré par d'autres travaux pour son rôle potentiel dans la distinction des étiologies malignes versus bénignes d'épanchement pleural. Ceci est d'autant plus vrai pour le dosage plasmatique, qui pourrait être utile dans le diagnostic précoce de pathologies malignes, non limitées au MPM.

Enfin, les tentatives d'amélioration des méthodes diagnostiques pour le MPM sont nombreuses. Récemment, de nouveaux marqueurs tissulaires ont été mis en évidence, tels que BAP1 et p16 (FISH) pouvant permettre la distinction entre lésions de MPM et hyperplasie mésothéliale, et sont particulièrement prometteurs (71).

Ces marqueurs nécessitent des prélèvements tissulaires mais leurs performances sont en cours d'évaluation sur des cytoblocs, réalisables au décours de ponctions pleurales à condition d'obtenir un matériel cellulaire suffisant. Par leurs excellentes performances, ils pourraient alors remettre en cause l'utilité des biomarqueurs solubles.

CONCLUSION

Le dosage plasmatique de fibulin-3 parait peu intéressant dans le diagnostic de MPM, et nos résultats discordent avec les études précédentes.

Le dosage plasmatique de BDNF pourrait avoir un intérêt pour discriminer les sujets avec étiologies malignes versus bénignes d'épanchement pleural, et pourrait représenter un marqueur diagnostique précoce dans les pathologies malignes, non limitées au MPM.

Des taux élevés de BDNF pleural semblent être associés à des étiologies malignes d'épanchement pleural, en particulier au mésothéliome pleural malin pour les valeurs les plus élevées.

Enfin, le niveau de fibulin-3 pleurale mesuré lors du diagnostic de MPM pourrait représenter un facteur pronostique pour ces patients.

Ces résultats méritent cependant d'être explorés par des études complémentaires larges et prospectives, avec notamment une définition précise du ou des groupes contrôles (sujets sains exposés ou non à l'amiante, patients porteurs de simples plaques pleurales et/ou de pathologies pleurales ou pulmonaires liées à l'amiante, patients avec d'autres pathologies pleurales ou d'autres cancers...) pour clarifier la valeur absolue de ces biomarqueurs solubles ou d'autres candidats, ainsi que leur valeur comparée à celle des nouveaux marqueurs cellulaires et tissulaires dans le MPM.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. Johansson L, Lindén CJ. Aspects of histopathologic subtype as a prognostic factor in 85 pleural mesotheliomas. Chest. 1996 Jan;109(1):109–14.
- 2. Becklake MR, Case BW. Fiber burden and asbestos-related lung disease: determinants of dose-response relationships. Am J Respir Crit Care Med. 1994 Dec;150(6 Pt 1):1488–92.
- 3. Goldberg M, Imbernon E, Rolland P, Gilg Soit Ilg A, Savès M, de Quillacq A, et al. The French National Mesothelioma Surveillance Program. Occup Env Med. 2006;23(6S):78–92.
- 4. Bott M, Brevet M, Taylor BS, Shimizu S, Ito T, Wang L, et al. The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21.1 losses in malignant pleural mesothelioma. Nat Genet. 2011 Jul;43(7):668–72.
- 5. Testa JR, Cheung M, Pei J, Below JE, Tan Y, Sementino E, et al. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. Nat Genet. 2011 Oct;43(10):1022–5.
- 6. Veillon R, Willemin MC, Scherpereel A, Zalcman G, Galateau-Salle F, Brochard P, et al. Étude multicentrique du mésothéliome pleural de la femme. Rev Mal Respir. 2014 Jan;31:A29.
- 7. Rusch VW, Giroux D, Kennedy C, Ruffini E, Cangir AK, Rice D, et al. Initial analysis of the international association for the study of lung cancer mesothelioma database. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2012 Nov;7(11):1631–9.
- 8. Fennell DA, Parmar A, Shamash J, Evans MT, Sheaff MT, Sylvester R, et al. Statistical validation of the EORTC prognostic model for malignant pleural mesothelioma based on three consecutive phase II trials. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2005 Jan 1;23(1):184–9.
- 9. Dhalluin X, Scherpereel A. Treatment of malignant pleural mesothelioma: current status and future directions. Monaldi Arch Chest Dis Arch Monaldi Mal Torace Fondazione Clin Lav IRCCS Ist Clin Tisiol E Mal Appar Respir Univ Napoli Secondo Ateneo. 2010 Jun;73(2):79–85.
- 10. Van Meerbeeck JP, Gaafar R, Manegold C, Van Klaveren RJ, Van Marck EA, Vincent M, et al. Randomized phase III study of cisplatin with or without raltitrexed in patients with malignant pleural mesothelioma: an intergroup study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Group and the National Cancer Institute of Canada. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2005 Oct 1;23(28):6881–9.

- 11. Vogelzang NJ, Rusthoven JJ, Symanowski J, Denham C, Kaukel E, Ruffie P, et al. Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2003 Jul 15;21(14):2636–44.
- 12. Zalcman G, Mazieres J, Margery J, Greillier L, Audigier-Valette C, Moro-Sibilot D, et al. Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet Lond Engl. 2015 Dec 21;
- 13. Ho M, Hassan R, Zhang J, Wang Q-C, Onda M, Bera T, et al. Humoral immune response to mesothelin in mesothelioma and ovarian cancer patients. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2005 May 15;11(10):3814–20.
- 14. Hassan R, Bera T, Pastan I. Mesothelin: a new target for immunotherapy. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2004 Jun 15;10(12 Pt 1):3937–42.
- 15. Ramalingam SS, Belani CP, Ruel C, Frankel P, Gitlitz B, Koczywas M, et al. Phase II study of belinostat (PXD101), a histone deacetylase inhibitor, for second line therapy of advanced malignant pleural mesothelioma. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2009 Jan;4(1):97–101.
- 16. Friedberg JS, Mick R, Culligan M, Stevenson J, Fernandes A, Smith D, et al. Photodynamic therapy and the evolution of a lung-sparing surgical treatment for mesothelioma. Ann Thorac Surg. 2011 Jun;91(6):1738–45.
- 17. Scherpereel A. [The experts' conference of the Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF) on malignant pleural mesothelioma (MPM): useful and necessary recommendations]. Rev Mal Respir. 2006 Sep;23(4 Pt 3):11S5–6.
- 18. Delourme J, Dhalluin X, Cortot AB, Lafitte J-J, Scherpereel A. [Malignant pleural mesothelioma: diagnosis and treatment]. Rev Pneumol Clin. 2013 Feb;69(1):26–35.
- 19. Scherpereel A, Astoul P, Baas P, Berghmans T, Clayson H, de Vuyst P, et al. Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma. Eur Respir J. 2010 Mar;35(3):479–95.
- 20. Sharif S, Zahid I, Routledge T, Scarci M. Does positron emission tomography offer prognostic information in malignant pleural mesothelioma? Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2011 May;12(5):806–11.
- 21. Pinelli V, Laroumagne S, Sakr L, Marchetti GP, Tassi GF, Astoul P. Pleural fluid cytological yield and visceral pleural invasion in patients with epithelioid malignant pleural mesothelioma. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2012 Mar;7(3):595–8.
- 22. Guinde J, Laroumagne S, Kaspi E, Martinez S, Tazi-Mezalek R, Astoul P, et al. [Endobronchial ultrasound in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma]. Rev Mal Respir. 2015 Sep;32(7):750–4.

- 23. Pan C-C, Chen PC-H, Chou T-Y, Chiang H. Expression of calretinin and other mesothelioma-related markers in thymic carcinoma and thymoma. Hum Pathol. 2003 Nov;34(11):1155–62.
- 24. Frierson HF, Moskaluk CA, Powell SM, Zhang H, Cerilli LA, Stoler MH, et al. Large-scale molecular and tissue microarray analysis of mesothelin expression in common human carcinomas. Hum Pathol. 2003 Jun;34(6):605–9.
- 25. Chang K, Pastan I. Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Jan 9;93(1):136–40.
- 26. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M. Expression of calretinin, thrombomodulin, keratin 5, and mesothelin in lung carcinomas of different types: an immunohistochemical analysis of 596 tumors in comparison with epithelioid mesotheliomas of the pleura. Am J Surg Pathol. 2003 Feb;27(2):150–8.
- 27. Scherpereel A, Lee YCG. Biomarkers for mesothelioma. Curr Opin Pulm Med. 2007 Jul;13(4):339–443.
- 28. Grigoriu BD, Grigoriu C, Chahine B, Gey T, Scherpereel A. Clinical utility of diagnostic markers for malignant pleural mesothelioma. Monaldi Arch Chest Dis Arch Monaldi Mal Torace Fondazione Clin Lav IRCCS Ist Clin Tisiol E Mal Appar Respir Univ Napoli Secondo Ateneo. 2009 Mar;71(1):31–8.
- 29. Shi H-Z, Liang Q-L, Jiang J, Qin X-J, Yang H-B. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in malignant pleural effusion: a meta-analysis. Respirol Carlton Vic. 2008 Jun;13(4):518–27.
- 30. Thylén A, Hjerpe A, Martensson G. Hyaluronan content in pleural fluid as a prognostic factor in patients with malignant pleural mesothelioma. Cancer. 2001 Sep 1;92(5):1224–30.
- 31. Frebourg T, Lerebours G, Delpech B, Benhamou D, Bertrand P, Maingonnat C, et al. Serum hyaluronate in malignant pleural mesothelioma. Cancer. 1987 Jun 15;59(12):2104–7.
- 32. Boersma A, Degand P, Biserte G. Hyaluronic acid analysis and the diagnosis of pleural mesothelioma. Bull Eur Physiopathol Respir. 1980 Feb;16(1):41–5.
- 33. Chiu B, Churg A, Tengblad A, Pearce R, McCaughey WT. Analysis of hyaluronic acid in the diagnosis of malignant mesothelioma. Cancer. 1984 Nov 15;54(10):2195–9.
- 34. Grigoriu B, Chahine B, Zerimech F, Grégoire M, Balduyck M, Copin M-C, et al. Serum mesothelin has a higher diagnostic utility than hyaluronic acid in malignant mesothelioma. Clin Biochem. 2009 Jul;42(10-11):1046–50.
- 35. Creaney J, van Bruggen I, Hof M, Segal A, Musk AW, de Klerk N, et al. Combined CA125 and mesothelin levels for the diagnosis of malignant mesothelioma. Chest. 2007 Oct;132(4):1239–46.

- 36. Rogers JH. Calretinin: a gene for a novel calcium-binding protein expressed principally in neurons. J Cell Biol. 1987 Sep;105(3):1343–53.
- 37. Schwaller B, Meyer M, Schiffmann S. "New" functions for "old" proteins: the role of the calcium-binding proteins calbindin D-28k, calretinin and parvalbumin, in cerebellar physiology. Studies with knockout mice. Cerebellum Lond Engl. 2002 Dec;1(4):241–58.
- 38. Henzi T, Blum W-V, Pfefferli M, Kawecki TJ, Salicio V, Schwaller B. SV40-induced expression of calretinin protects mesothelial cells from asbestos cytotoxicity and may be a key factor contributing to mesothelioma pathogenesis. Am J Pathol. 2009 Jun;174(6):2324–36.
- 39. King JE, Thatcher N, Pickering C a. C, Hasleton PS. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. Histopathology. 2006 Feb;48(3):223–32.
- 40. Comin CE, Saieva C, Messerini L. h-caldesmon, calretinin, estrogen receptor, and Ber-EP4: a useful combination of immunohistochemical markers for differentiating epithelioid peritoneal mesothelioma from serous papillary carcinoma of the ovary. Am J Surg Pathol. 2007 Aug;31(8):1139–48.
- 41. Ordóñez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. Hum Pathol. 2007 Jan;38(1):1–16.
- 42. Schwaller B, Meyer-Monard S, Gander JC, Pugin P, Celio MR, Ludwig C. The calcium-binding protein calretinin-22k is detectable in the serum and specific cells of cancer patients. Anticancer Res. 1998 Oct;18(5B):3661–7.
- 43. Raiko I, Sander I, Weber DG, Raulf-Heimsoth M, Gillissen A, Kollmeier J, et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of human calretinin in plasma and serum of mesothelioma patients. BMC Cancer. 2010;10:242.
- 44. Urwin D, Lake RA. Structure of the Mesothelin/MPF gene and characterization of its promoter. Mol Cell Biol Res Commun MCBRC. 2000 Jan;3(1):26–32.
- 45. Chang K, Pastan I, Willingham MC. Isolation and characterization of a monoclonal antibody, K1, reactive with ovarian cancers and normal mesothelium. Int J Cancer J Int Cancer. 1992 Feb 1;50(3):373–81.
- 46. Grigoriu B-D, Grégoire M, Chahine B, Scherpereel A. [New diagnostic markers for malignant pleural mesothelioma]. Bull Cancer (Paris). 2008 Feb;95(2):177–84.
- 47. Robinson BWS, Creaney J, Lake R, Nowak A, Musk AW, de Klerk N, et al. Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. Lancet. 2003 Nov 15;362(9396):1612–6.
- 48. Scherpereel A, Grigoriu B, Conti M, Gey T, Grégoire M, Copin M-C, et al. Soluble mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. Am J Respir Crit Care Med. 2006 May 15;173(10):1155–60.

- 49. Hollevoet K, Reitsma JB, Creaney J, Grigoriu BD, Robinson BW, Scherpereel A, et al. Serum mesothelin for diagnosing malignant pleural mesothelioma: an individual patient data meta-analysis. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2012 May 1;30(13):1541–9.
- 50. Shiomi K, Miyamoto H, Segawa T, Hagiwara Y, Ota A, Maeda M, et al. Novel ELISA system for detection of N-ERC/mesothelin in the sera of mesothelioma patients. Cancer Sci. 2006 Sep;97(9):928–32.
- 51. Iwahori K, Osaki T, Serada S, Fujimoto M, Suzuki H, Kishi Y, et al. Megakaryocyte potentiating factor as a tumor marker of malignant pleural mesothelioma: evaluation in comparison with mesothelin. Lung Cancer Amst Neth. 2008 Oct;62(1):45–54.
- 52. Onda M, Nagata S, Ho M, Bera TK, Hassan R, Alexander RH, et al. Megakaryocyte potentiation factor cleaved from mesothelin precursor is a useful tumor marker in the serum of patients with mesothelioma. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2006 Jul 15;12(14 Pt 1):4225–31.
- 53. Yaziji H, Battifora H, Barry TS, Hwang HC, Bacchi CE, McIntosh MW, et al. Evaluation of 12 antibodies for distinguishing epithelioid mesothelioma from adenocarcinoma: identification of a three-antibody immunohistochemical panel with maximal sensitivity and specificity. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. 2006 Apr;19(4):514–23.
- 54. Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. 2006 Mar;19(3):417–28.
- 55. Creaney J, Francis RJ, Dick IM, Musk AW, Robinson BWS, Byrne MJ, et al. Serum soluble mesothelin concentrations in malignant pleural mesothelioma: relationship to tumor volume, clinical stage and changes in tumor burden. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2011 Mar 1;17(5):1181–9.
- 56. Grigoriu BD, Chahine B, Vachani A, Gey T, Conti M, Sterman DH, et al. Kinetics of soluble mesothelin in patients with malignant pleural mesothelioma during treatment. Am J Respir Crit Care Med. 2009 May 15;179(10):950–4.
- 57. Chakraborty G, Jain S, Behera R, Ahmed M, Sharma P, Kumar V, et al. The multifaceted roles of osteopontin in cell signaling, tumor progression and angiogenesis. Curr Mol Med. 2006 Dec;6(8):819–30.
- 58. Pass HI, Lott D, Lonardo F, Harbut M, Liu Z, Tang N, et al. Asbestos exposure, pleural mesothelioma, and serum osteopontin levels. N Engl J Med. 2005 Oct 13;353(15):1564–73.
- 59. Grigoriu B-D, Scherpereel A, Devos P, Chahine B, Letourneux M, Lebailly P, et al. Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2007 May 15;13(10):2928–35.

- 60. Van der Bij S, Schaake E, Koffijberg H, Burgers JA, de Mol B a. JM, Moons KGM. Markers for the non-invasive diagnosis of mesothelioma: a systematic review. Br J Cancer. 2011 Apr 12;104(8):1325–33.
- 61. Porcel JM. Pleural fluid biomarkers: beyond the Light criteria. Clin Chest Med. 2013 Mar;34(1):27–37.
- 62. Davidson B, Stavnes HT, Holth A, Chen X, Yang Y, Shih I-M, et al. Gene expression signatures differentiate ovarian/peritoneal serous carcinoma from breast carcinoma in effusions. J Cell Mol Med. 2011 Mar;15(3):535–44.
- 63. Duysinx BC, Paulus A, Heinen V, Nguyen D, Henket M, Corhay J-L, et al. Diagnostic value of neurotrophin expression in malignant pleural effusions. Exp Ther Med. 2011;2(5):941–6.
- 64. García-Suárez O, Pérez-Pinera P, Laurà R, Germana A, Esteban I, Cabo R, et al. TrkB is necessary for the normal development of the lung. Respir Physiol Neurobiol. 2009 Jul 31;167(3):281–91.
- 65. Prakash Y, Thompson MA, Meuchel L, Pabelick CM, Mantilla CB, Zaidi S, et al. Neurotrophins in lung health and disease. Expert Rev Respir Med. 2010 Jun;4(3):395–411.
- 66. Krüttgen A, Schneider I, Weis J. The dark side of the NGF family: neurotrophins in neoplasias. Brain Pathol Zurich Switz. 2006 Oct;16(4):304–10.
- 67. Ricci A, Greco S, Mariotta S, Felici L, Bronzetti E, Cavazzana A, et al. Neurotrophins and neurotrophin receptors in human lung cancer. Am J Respir Cell Mol Biol. 2001 Oct;25(4):439–46.
- 68. Perez-Pinera P, Hernandez T, García-Suárez O, de Carlos F, Germana A, Del Valle M, et al. The Trk tyrosine kinase inhibitor K252a regulates growth of lung adenocarcinomas. Mol Cell Biochem. 2007 Jan;295(1-2):19–26.
- 69. Pass HI, Levin SM, Harbut MR, Melamed J, Chiriboga L, Donington J, et al. Fibulin-3 as a blood and effusion biomarker for pleural mesothelioma. N Engl J Med. 2012 Oct 11;367(15):1417–27.
- 70. Creaney J, Dick IM, Meniawy TM, Leong SL, Leon JS, Demelker Y, et al. Comparison of fibulin-3 and mesothelin as markers in malignant mesothelioma. Thorax. 2014 Oct;69(10):895–902.
- 71. Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, Travis WD, World Health Organization Committee for Tumors of the Pleura. The 2015 World Health Organization Classification of Tumors of the Pleura: Advances since the 2004 Classification. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2016 Feb;11(2):142–54.

AUTEUR : Benziane - Stéfanini Prénom : Sarah

Date de Soutenance : 26 Février 2016

Titre de la Thèse : Evaluation du BDNF et de la Fibulin-3 comme potentiels

biomarqueurs pour le diagnostic de mésothéliome pleural malin (MPM)

Thèse - Médecine - Lille 2016

Cadre de classement : Pneumologie

DES + spécialité : Pneumologie

Mots-clés: Mésothéliome, Biomarqueurs, BDNF, Fibulin-3

Résumé

Contexte : Le diagnostic de MPM, tumeur maligne rare de la plèvre liée à une exposition antérieure à l'amiante, est difficile et nécessite des procédures invasives. Aucun marqueur n'a été validé malgré de nombreux explorés. L'objectif est d'évaluer l'utilité de 2 biomarqueurs : BDNF et fibulin-3 plasmatiques et pleuraux.

Méthode: L'étude est observationnelle analytique, rétrospective, multicentrique (2 centres français). Des échantillons plasmatiques et pleuraux étaient prélevés de sujets classés en 3 groupes : "Bénins" (sains ou anomalies pleurales bénignes), "Malins" (sujets avec pleurésies néoplasiques hors mésothéliome), "MPM". Les dosages de biomarqueurs étaient déterminés par des kits ELISA (Human BDNF DuoSet (R&D Systems) et FBLN3 (USCN)).

Résultats: Etaient inclus, 310 participants (76 Bénins, 108 Malins, 126 MPM). Les taux de fibulin-3 plasmatique étaient plus élevés chez les Bénins, comparés aux Malins et MPM (p<0,0001) et supérieurs chez les MPM comparés aux Malins (p=0,0056). Il n'y avait pas de différence significative de taux de fibulin-3 pleurale entre les 3 groupes, cependant les participants avec dosages élevés au diagnostic avaient une tendance à une survie moindre (p=0.06), suggérant une possible valeur pronostique. Les taux de BDNF plasmatique étaient supérieurs chez les Malins et MPM, comparés aux Bénins (p<0,0001). À l'inverse, les taux de BDNF pleural étaient supérieurs chez les MPM, comparés aux Malins ou aux Bénins (p=0,0002).

Conclusion: Le dosage plasmatique de fibulin-3 parait peu intéressant dans le diagnostic de MPM, et nos résultats discordent avec les études précédentes. Le dosage plasmatique de BDNF pourrait avoir un intérêt pour discriminer les sujets avec étiologies malignes versus bénignes d'épanchement pleural. Le dosage pleural de fibulin-3 pourrait avoir un intérêt pronostic. Des taux élevés de BDNF pleural sont associés à des étiologies malignes de maladies pleurales, en particulier avec le MPM pour les taux les plus élevés.

Composition du Jury:

Président : Madame le Professeur COPIN Marie - Christine

Assesseurs : Monsieur le Professeur CORTOT Alexis

Monsieur le Docteur BLANQUART Christophe

Madame le Docteur WILLEMIN Marie – Capucine