



La détection de l'ADN tumoral circulant dans la maladie thyroïdienne

Anthony Nichols, MD, président, équipe du site des maladies du cancer de la tête et du cou, London Regional Cancer Program
Chirurgien de la tête et du cou, LHSC

Les nodules thyroïdiens sont extrêmement fréquents, 5% de la population présentant des nodules palpables et jusqu'à 50% de la population présentant des nodules pouvant être détectés par ultrasons. Les nodules sont jusqu'à cinq fois plus fréquents chez les femmes.

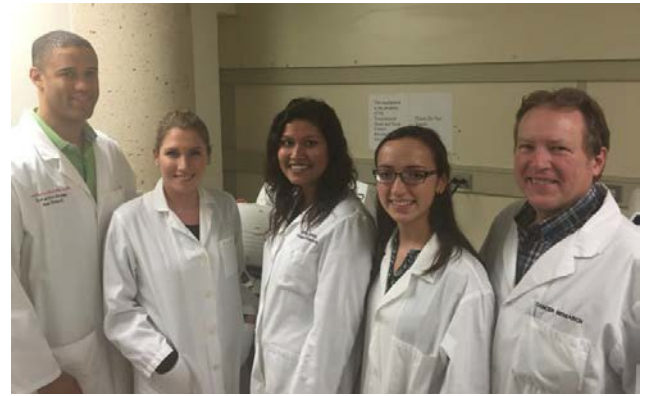
Malgré la présence fréquente de nodules, seuls 5 à 10% d'entre eux souffrent de cancer. L'évaluation standard des patients atteints de nodules thyroïdiens comprend une échographie et une biopsie à l'aiguille. Si les caractéristiques de l'échographie ne sont pas inquiétantes et que la biopsie à l'aiguille est bénigne, des nodules peuvent être observés, car le risque de malignité est faible. Inversement, si la biopsie à l'aiguille est concluante pour la malignité, la chirurgie est indiquée, car le nodule est presque certainement cancéreux.

Bien que le bilan standard oriente clairement les soins du patient dans cette situation, environ 50% des biopsies à l'aiguille et des résultats échographiques peuvent être indéterminés et ne présenter qu'un risque relatif de malignité.

Le plus souvent, environ 25% des biopsies à l'aiguille sont rapportées sous forme de lésions folliculaires de signification indéterminée (FLUS) ou de néoplasmes folliculaires qui ont respectivement 10% et 30% de chances d'être malignes.

En règle générale, les patients atteints de ces biopsies à l'aiguille fine subissent une chirurgie diagnostique, avec seulement une petite proportion de cancer. Bien que la chirurgie thyroïdienne soit généralement sans danger, il existe toujours des risques de saignement, de cicatrisation, de douleur, de lésion nerveuse, d'altération de la voix et de problèmes de calcium. Ainsi, de nombreux patients subissent une intervention chirurgicale inutile et subissent des effets secondaires cela pourrait être évité si l'amélioration des diagnostics étaient disponibles pour mieux différencier les nodules bénins des cancéreux.

En plus des problèmes de diagnostic, les récurrences doivent être surveillées chez les patients chez qui un cancer de la thyroïde a été diagnostiqué de manière définitive en pathologie finale. Cela se fait généralement avec des ultrasons et des taux de thyroglobuline (une protéine sécrétée dans le tissu thyroïdien); cependant, aucun n'est parfaitement précis pour détecter les récurrences tôt.



Membres de l'équipe de recherche translationnelle sur le cancer de la thyroïde (de gauche à droite): Anthony Nichols, MD; Morgan Black, MSc; Nicole Pinto, candidate au doctorat; Kara Ruicci, candidat MD / PhD; et John Barrett, PhD.

La thyroglobuline en particulier peut être indétectable dans la circulation sanguine, même chez les 10% de patients qui ont encore la thyroïde en place. Idéalement, un test sanguin non invasif pourrait aider au diagnostic et au suivi du patient.

Le contexte de notre projet de recherche:

Toutes les cellules contiennent de l'ADN (matériel génétique) qui peut potentiellement être libéré dans le sang lorsque les cellules meurent. Les cellules cancéreuses présentent des modifications génétiques (mutations) qui peuvent pénétrer dans la circulation sanguine et être détectées, cet ADN mutant ayant une séquence différente de celle de l'ADN des tissus normaux. Cet ADN pénètre dans la circulation sanguine à un taux plus élevé que dans les tissus normaux, car un sous-ensemble significatif de cellules meurent dans la tumeur à croissance rapide alors qu'une partie de la tumeur devient plus grande que son apport sanguin (nécrose tumorale).

Dans de nombreux types de cancer, les scientifiques ont pu identifier cet ADN mutant, appelé ADN tumoral circulant (ADNct). Il est intéressant de noter que l'ADNct semble être fortement corrélé à l'état de la maladie, les taux d'ADNct diminuant après un traitement réussi et augmentant au moment de la rechute.

Il existe des études préliminaires sur la détection de l'ADNc dans le cancer de la thyroïde, faisant allusion à son



potentiel en tant qu'outil diagnostique et thérapeutique. La plupart de ces études ont été réalisées en utilisant une technique de réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR) pour amplifier et détecter l'ADN.

Nous visons à affiner la détection de l'ADNct dans l'évaluation des nodules thyroïdiens et à œuvrer à l'intégration de cette technologie dans les soins cliniques. Notre recherche initiale, présentée ci-dessous, utilise la technique de PCR en temps réel; Cependant, nous passons à une machine de séquençage génétique appelée l'ion Torrent, qui, selon nous, donnera des résultats plus précis et reproductibles.

Progrès à ce jour:

- Un étudiant diplômé et un étudiant en médecine ont été spécifiquement recrutés pour ce projet. Deux associés de recherche recrutent des patients dans la clinique et facilitent le prélèvement d'échantillons de sang. Un pathologiste et un résident en pathologie coordonnent la récupération des échantillons de tumeurs thyroïdiennes.
- L'approbation éthique pour cette étude a été obtenue de l'Université Western. Plus de 120 patients présentant des nodules thyroïdiens devant subir une intervention chirurgicale ont donné leur accord et des prélèvements sanguins préopératoires ont été effectués. Dix patients ont décliné les prélèvements sanguins postopératoires (car les patients atteints de la thyroïde ont souvent plusieurs analyses de sang postopératoires).

Au total, 76 patients ont eu des prises de sang à la fois avant et après l'opération. Nous avons obtenu les résultats de la pathologie finale de tous les patients, ainsi que des échantillons de tumeurs provenant des tumeurs thyroïdiennes primaires, qu'ils soient bénins ou malins.

- Les tests moléculaires effectués à ce jour comprennent le test d'échantillons sanguins préopératoires provenant des 62 premiers patients pour la mutation BRAF par PCR en temps réel. Des prélèvements sanguins pré- et postopératoires ainsi que des échantillons fixés au formol à partir du nodule thyroïdien ont également été testés chez 38 patients.

Nous avons comparé les analyses sanguines pré- et postopératoires et avons découvert que les taux d'ADNct étaient indétectables en post-opératoire dans tous les cas sauf un, dans lesquels une élimination complète de la

tumeur n'était pas possible, suggérant son utilité comme marqueur tumoral. De plus, nous avons constaté que la présence d'ADNct était associée à des tumeurs plus agressives (c'est-à-dire des tumeurs plus grandes avec extension à l'extérieur de la thyroïde).

Étonnamment, nous avons détecté le mutant BRAF dans le sang de deux patients qui ne présentaient pas de cancer dans leur thyroïde. Cela pourrait se produire parce que la mutation n'est pas exclusive au cancer de la thyroïde (certains patients ont d'autres cancers qui donnent ce résultat positif) ou parce qu'un petit sous-ensemble de nodules bénins (de 5 à 10%) porte cette mutation lésions malignes.

Directions futures:

Le Département d'oto-rhino-laryngologie a acheté un séquenceur d'ions Torrent, capable de tester diverses mutations (pas seulement le BRAF). L'avantage de ce système est qu'il permet de tester plusieurs gènes dans le même cycle, et il lit chaque gène plusieurs fois (environ 20 000).

Nous pensons que cette technique sera nettement plus précise que la PCR en temps réel. Nous avons déjà acheté et reçu un "panneau thyroïdien" conçu sur mesure pour cela. Notre étudiant diplômé, le Dr Krupal Patel, effectuera ce test au cours des prochains mois.

De plus, nous avons tiré parti de nos échantillons et obtenu une subvention de l'industrie de Thermo Fisher Scientific pour tester également nos échantillons sur leur plateforme PCR numérique propriétaire. Cela nous fournira une autre technique pour comparer nos niveaux d'ADNct afin de déterminer quelle méthodologie est la plus rentable, la plus sensible et la plus spécifique.

Impact et signification:

Bien que nos résultats préliminaires ne permettent pas de distinguer clairement les tumeurs bénignes des tumeurs cancéreuses, l'ajout de gènes supplémentaires pourrait résoudre ce problème.

Nos résultats à ce jour indiquent que cette technique peut être très utile pour identifier les patients présentant une maladie agressive, ainsi que pour surveiller les rechutes après la chirurgie. Si elle est validée, cette

technologie peut nous aider à offrir des soins hautement personnalisés aux patients souffrant d'une maladie de la thyroïde.



Merci pour votre générosité en soutenant le projet de recherche du London Health Sciences Centre (LHSC) intitulé Détection de l'ADN des tumeurs circulantes dans la maladie thyroïdienne.

Nous sommes heureux de vous présenter ce rapport d'impact sur les progrès de la recherche rendus possibles grâce à votre générosité!

Note: Cette année, le TFC a fait un don de 32 883,55 \$ à ce projet, fonds qui ont été amassés pendant plusieurs années par le défilé Touch of Spring à London, en Ontario.