HAL
open science

Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin®

Mélanie Saillard

To cite this version:

Mélanie Saillard. Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin®. Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-01063580

HAL Id: dumas-01063580

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01063580

Submitted on 12 Sep 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE ROUEN
UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2014 N°

THESE
pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 2 Juillet 2014
par
Saillard Mélanie

Née le 14 Août 1987 à Dieppe

Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin®

Président du jury : *Mme Dubus Isabelle, Professeur*
Membres du jury : *Mr Daouphars Mikaël, Pharmacien hospitalier*
Mme Seguin Elisabeth, Professeur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser ma reconnaissance et mes remerciements à Madame Isabelle Dubus, Professeur de Biochimie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir d'être ma maître de thèse et également la Présidente du jury de cette thèse. Je vous remercie pour votre gentillesse et votre disponibilité, mais aussi pour votre aide et vos conseils.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur Mikaël Daouphars, Pharmacien hospitalier au Centre Henri Becquerel de Rouen, pour l'honneur que vous me faites de faire partie de mon jury de thèse. Je vous remercie pour le temps que vous m'avez accordé et pour votre aide précieuse.

Je remercie également Madame Elisabeth Seguin, Professeur de Pharmacognosie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, de me faire l'honneur de faire partie du jury de cette thèse.

Je voudrais témoigner de ma reconnaissance à toutes les équipes officinales avec lesquelles j'ai exercé jusqu'à présent, pour leur participation à l'acquisition de mes connaissances. Je remercie toute l'équipe de la Pharmacie Fossaert à Déville-les-Rouen, pour leur gentillesse et leur accueil au cours de différents stages. Un merci tout particulier à toute l'équipe de la Pharmacie de la Croix d'Yonville à Rouen, de m'avoir accueillie pendant de nombreuses heures tout au long de mes études mais aussi lors du stage de fin d'études. Je remercie sincèrement Félice de m'avoir permis d'acquérir les bases du métier mais également d'avoir été ma maître de stage de 6ème année. Merci pour votre disponibilité et vos conseils. J'adresse un grand merci à Laurence pour tout le temps que tu m'as consacré lors de mon stage et pour tous tes précieux conseils, mais aussi pour ton éternelle gentillesse avec moi ainsi que ton écoute attentive. Je remercie également Marie-France pour ta disponibilité, ta gentillesse, tes conseils et ton aide, et notamment pour les préparations ! Une pensée pour Nathalie, pour ta gentillesse et pour nos discussions entre deux ordonnances ! Je garde un très bon souvenir de mon passage dans votre équipe, avec toujours de bons moments de rires et de papotages ! Une pensée également à toute l'équipe de la Pharmacie Fauré à Héricourt-en-Caux.

C'est avec beaucoup d'amour et de gratitude que je remercie mes parents de m'avoir toujours soutenue et encouragée durant toutes mes études. Je vous remercie tous les deux de n'avoir jamais cessé de croire en mes capacités et ainsi de m'avoir permis d'en arriver là où j'en suis aujourd'hui. Merci pour votre présence, votre soutien permanent, pour tous nos moments de partage, votre

écoute et vos multiples attentions indispensables à mon cheminement personnel. Et surtout, merci énormément pour votre aide précieuse dans l'achèvement de cette thèse ainsi que pour votre intérêt porté à ce travail. Maman, je te remercie pour la relecture et surtout pour la table des matières ! J'ai gagné un temps fou ! Papa, je te remercie également pour la relecture et pour ton œil avisé pour la mise en page ! Enfin, un grand merci pour tous vos encouragements, avec parfois un peu d'impatience !! … mais voilà, j'ai fini !!!

Bien évidemment, j'ai une énorme pensée pour ma sœur, Morgane. Sœurette, comment pourrais-je ne pas te citer ?! Je voudrais te remercier pour ton omniprésence à mes côtés, dans les moments de joie comme dans les moments plus durs. Je te remercie pour tous tes précieux encouragements tout au long de ce travail personnel, pour ton aide, tes bons et nombreux conseils, pour ton soutien constant, et merci de m'avoir reboostée quand il le fallait ou calmée quand j'en avais besoin ! Nos interminables heures de discussions nous permettent d'avancer chacune sur notre chemin, mais toujours main dans la main. Je pourrais en parler encore pendant des heures ! Notre soutien et notre amour fait notre force. Je te remercie également – et je pense aussi à papa et maman pour leur participation - d'avoir fait le déplacement de Barcelone pour venir assister à ma soutenance !

J'adresse mes remerciements à toute ma famille pour leur soutien et leurs encouragements. Une pensée plus particulière pour mon grand-père paternel à qui je dédie cette thèse … « On fait sa vie sur les bancs de l'école ».

Pour finir, une grosse pensée à tous mes amis pour leurs encouragements. Notamment à Élodie : merci pour ton soutien, tes encouragements, ta présence, tes mots justes et nos moments de partage toujours si agréables. Une pensée également pour Marie : je te remercie pour ton aide et tes conseils précieux, pour tes encouragements et pour tous les bons moments passés ensemble. Geoffrey, alias Jojo : merci pour ton soutien, tes encouragements mais surtout pour nos nombreuses conversations légendaires !! Au plaisir !! Je pense aussi à tous les autres, qui se reconnaîtront, pour tous les supers moments passés ensemble. Je ne citerai personne de peur d'en oublier.

Je remercie toutes les personnes que j'aurais pu oublier et qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

« L'université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs. »

ANNEE UNIVERSITAIRE 2013-2014

U.F.R. DE MEDECINE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN :	Professeur Pierre **FREGER**
ASSESSEURS :	Professeur Michel **GUERBET** Professeur Benoit **VEBER** Professeur Pascal **JOLY**
DOYENS HONORAIRES :	Professeurs J. **BORDE** – Ph. **LAURET** – H. **PIGUET** – C. **THUILLEZ**
PROFESSEURS HONORAIRES :	MM. M-P **AUGUSTIN** – J.**ANDRIEU-GUITRANCOURT** – M.**BENOZIO**-J.**BORDE** – Ph. **BRASSEUR** – R. **COLIN** – E. **COMOY** – J. **DALION** – **DESHAYES** – C. **FESSARD** – J.P **FILLASTRE** – P.**FRIGOT** – J. **GARNIER** – J. **HEMET** – B. **HILLEMAND** – G. **HUMBERT** – J.M. **JOUANY** – R. **LAUMONIER** – Ph. **LAURET** – M. **LE FUR** – J.P. **LEMERCIER** – J.P. **LEMOINE** – Mle **MAGARD** – MM. B. **MAITROT** – M. **MAISONNET** – F. **MATRAY** – P. **MITROFANOFF** – Mme A. M. **ORECCHIONI** – P. **PASQUIS** - H. **PIGUET** – M. **SAMSON** – Mme **SAMSON-DOLLFUS** – J.C. **SCHRUB** – R.**SOYER** – B.**TARDIF** – **TESTARD** – J.M. **THOMINE** – C. **THUILLEZ** – P.**TRON** – C.**WINCKLER** – L.M.**WOLF**

I – MEDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric **ANSELME**	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle **AUQUIT AUCKBUR**	HCN	Chirurgie Plastique
M. Bruno **BACHY** *(Surnombre)*	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice **BAUER**	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya **BEKRI**	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques **BENICHOU**	HCN	Biostatistiques et informatique médicale
M. Jean-Paul **BESSOU**	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise **BEURET-BLANQUART** *(Surnombre)*	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy **BONMARCHAND**	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier **BOYER**	UFR	Immunologie
M. Jean-François **CAILLARD** (*Surnombre)*	HCN	Médecine et santé au Travail
M. François **CARON**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe **CHASSAGNE**	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Vincent **COMPERE**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Antoine **CUVELIER**	HB	Pneumologie
M. Pierre **CZERNICHOW**	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Nicolas **DACHER**	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale
M. Stéfan **DARMONI**	HCN	Informatique Médicale /Techniques de communication
M. Pierre **DECHELOTTE**	HCN	Nutrition
Mme Danièle **DEHESDIN** *(Surnombre)*	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie

M. Jean **DOUCET**	HB	Thérapeutique/Médecine-interne/Gériatrie
M. Bernard **DUBRAY**	CB	Radiothérapie
M. Philippe **DUCROTTE**	HCN	Hépato-Gastro-Entérologie
M. Frank **DUJARDIN**	HCN	Chirurgie orthopédique-Traumatologie
M. Fabrice **DUPARC**	HCN	Anatomie-Chir.orthopédique et traumato.
M. Bertrand **DUREUIL**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mle Hélène **ELTCHANINOFF**	HCN	Cardiologie
M. Thierry **FREBOURG**	UFR	Génétique
M. Pierre **FREGER**	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean François **GEHANNO**	HCN	Médecine et Santé au Travail
M. Emmanuel **GERARDIN**	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille **GERARDIN**	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel **GODIN**	HB	Néphrologie
M. Guillaume **GOURCEROL**	HCN	Physiologie
M. Philippe **GRISE**	HCN	Urologie
M. Didier **HANNEQUIN**	HCN	Neurologie
M. Fabrice **JARDIN**	CB	Hématologie
M. Luc-Marie **JOLY**	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal **JOLY**	HCN	Dermato-vénéréologie
M. Jean-Marc **KUHN**	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie **LAQUERRIERE**	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent **LAUDENBACH**	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Alain **LAVOINNE**	UFR	Biochimie et biologie moléculaire
M. Joël **LECHEVALLIER**	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé **LEFEBVRE**	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Thierry **LEQUERRE**	HB	Rhumatologie
M. Eric **LEREBOURS**	HCN	Nutrition
Mle Anne-Marie **LEROI**	HCN	Physiologie
M. Hervé **LEVESQUE**	HB	Médecine interne
Mme Agnès **LIARD-ZMUDA**	HCN	Chirurgie infantile
M. Pierre-Yves **LITZLER**	HCN	Chirurgie cardiaque
M. Bertrand **MACE**	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David **MALTETE**	HCN	Neurologie
M. Christophe **MARGUET**	HCN	Pédiatrie
Mle Isabelle **MARIE**	HB	Médecine interne
M. Jean-Paul **MARIE**	HCN	ORL
M. Loïc **MARPEAU**	HCN	Gynécologie-obstétrique
M. Stéphane **MARRET**	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique **MERLE**	HCN	Epidémiologie
M. Pierre **MICHEL**	HCN	Hépato-Gastro-Entérologie
M. Francis **MICHOT**	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno **MIHOUT** (*Surnombre*)	HCN	Neurologie
M. Jean-François **MUIR**	HB	Pneumologie
M. Marc **MURAINE**	HCN	Ophtalmologie
M. Philippe **MUSETTE**	HCN	Dermatologie-Vénéréologie
M. Christophe **PEILLON**	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc **PERON**	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian **PFISTER**	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe **PLANTIER**	HCN	Bactériologie-Virologie
M. Didier **PLISSONNIER**	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard **PROUST**	HCN	Médecine légale
M. François **PROUST**	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie **RIVES**	HCN	Biologie et médecine du développement et de la reproduction

M. Jean-Christophe **RICHARD** (*Mise dispo*)	HCN	Réanimation médicale, Médecine d'urgence
M. Horace **ROMAN**	HCN	Gynécologie Obstétrique
M. Jean-Christophe **SABOURIN**	HCN	Anatomie-Pathologie
M. Guillaume **SAVOYE**	HCN	Hépato-Gastro
Mme Céline **SAVOYE-COLLET**	HCN	Imagerie Médicale
Mme Pascale **SCHNEIDER**	HCN	Pédiatrie
M. Michel **SCOTTE**	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne **TAMION**	HCN	Thérapeutique
Mle Florence **THIBAUT**	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc **THIBERVILLE**	HCN	Pneumologie
M. Christian **THUILLEZ**	HB	Pharmacologie
M. Hervé **TILLY**	CB	Hématologie et transfusion
M. François **TRON** (*Surnombre*)	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques **TUECH**	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre **VANNIER**	HCN	Pédiatrie génétique
M. Benoît **VEBER**	HCN	Anesthésiologie-Réanimation chirurgicale
M. Pierre **VERA**	CB	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric **VERIN**	CRMPR	Médecine Physique et de réadaptation
M. Eric **VERSPYCK**	HCN	Gynécologie obstétrique
M. Olivier **VITTECOQ**	HB	Rhumatologie
M. Jacques **WEBER**	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Noëlle **BARBIER-FREBOURG**	HCN	Bactériologie-Virologie
M. Jeremy **BELLIEN**	HCN	Pharmacologie
Mme Carole **BRASSE LAGNEL**	HCN	Biochimie
Mme Mireille **CASTANET**	HCN	Pédiatrie
M. Gérard **BUCHONNET**	HCN	Hématologie
Mme Nathalie **CHASTAN**	HCN	Physiologie
Mme Sophie **CLAEYSSENS**	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Moïse **COEFFIER**	HCN	Nutrition
M. Stéphane **DERREY**	HCN	Neurochirurgie
M. Eric **DURAND**	HCN	Cardiologie
M. Manuel **ETIENNE**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Serge **JACQUOT**	UFR	Immunologie
M. Joël **LADNER**	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste **LATOUCHE**	UFR	Biologie Cellulaire
M. Thomas **MOUREZ**	HCN	Bactériologie
M. Jean-François **MENARD**	HCN	Biophysique
Mme Muriel **QUILLARD**	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent **RICHARD**	UFR	Pharmacologie
M. Francis **ROUSSEL**	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale **SAUGIER-VEBER**	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire **TOBENAS-DUJARDIN**	HCN	Anatomie
M. Pierre Hugues **VIVIER**	HCN	Imagerie Médicale

PROFESSEURS AGREGES OU CERTIFIES

Mme Dominique **LANIEZ**	UFR	Anglais
Mme Cristina **BADULESCU**	UFR	Communication

II- PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry **BESSON**	Chimie Thérapeutique
M. Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacologie
M. Roland **CAPRON** (PU-PH)	Biophysique
M. Jean **COSTENTIN** (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
M. Loïc **FAVENNEC** (PU-PH)	Parasitologie
M. Jean Pierre **GOULLE**	Toxicologie
M. Michel **GUERBET**	Toxicologie
M. Olivier **LAFONT**	Chimie organique
Mme Isabelle **LEROUX**	Physiologie
M. Paul **MULDER**	Sciences du médicament
Mme Martine **PESTEL-CARON** (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
M. Rémi **VARIN** (PU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Jean-Marie **VAUGEOIS**	Pharmacologie
M. Philippe **VERITE**	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mle Cécile **BARBOT**	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique **BOUCHER**	Pharmacologie
M. Frédéric **BOUNOURE**	Pharmacie Galénique
M. Abdeslam **CHAGRAOUI**	Physiologie
M. Jean **CHASTANG**	Biomathématiques
Mme Marie Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth **CHOSSON**	Botanique
Mle Cécile **CORBIERE**	Biochimie
M. Eric **DITTMAR**	Biophysique
Mme Nathalie **DOURMAP**	Pharmacologie
Mle Isabelle **DUBUC**	Pharmacologie
Mme Roseline **DUCLOS**	Pharmacie Galénique
M. Abdelhakim **ELOMRI**	Pharmacognosie
M. François **ESTOUR**	Chimie organique
M. Gilles **GARGALA** (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla **GHARBI**	Chimie analytique
Mle Marie-Laure **GROULT**	Botanique
M. Hervé **HUE**	Biophysique et Mathématiques
Mme Laetitia **LE GOFF**	Parasitologie Immunologie
Mme Hong **LU**	Biologie
Mme Sabine **MENAGER**	Chimie organique
Mme Christelle **MONTEIL**	Toxicologie
M. Mohamed **SKIBA**	Pharmacie Galénique
Mme Malika **SKIBA**	Pharmacie Galénique
Mme Christine **THARASSE**	Chimie thérapeutique
M. Frédéric **ZIEGLER**	Biochimie

PROFESSEUR CONTRACTUEL

Mme Elizabeth **DE PAOLIS**	Anglais

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Imane **EL MEOUCHE**	Bactériologie
Mme Juliette **GAUTIER**	Galénique
M. Romy **RAZAKANDRAINIBE**	Parasitologie

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS

M. Jean-Loup **HERMIL**	UFR	Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Pierre **FAINSILBER**	UFR	Médecine générale
M. Alain **MERCIER**	UFR	Médecine générale
M. Philippe **NGUYEN THANH**	UFR	Médecine générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Emmanuel **LEFEBVRE**	UFR	Médecine générale
Mme Elisabeth **MAUVIARD**	UFR	Médecine générale
Mme Marie Thérèse **THUEUX**	UFR	Médecine générale
Mme Yveline **SEVRIN-TARTARIN**	UFR	Médecine Générale

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique **DELAFONTAINE**

HCN – Hôpital Charles Nicolle
HB – Hôpital de BOIS GUILLAUME
CB – Centre HENRI BECQUEREL
CHS – Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray
CRMPR – Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE

Mle Cécile **BARBOT**	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry **BESSON**	Chimie thérapeutique
M. Roland **CAPRON**	Biophysique
M. Jean **CHASTANG**	Mathématiques
Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation, Economie de la santé
Mle Elisabeth **CHOSSON**	Botanique
M. Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacodynamie
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
M. Loïc **FAVENNEC**	Parasitologie
M. Michel **GUERBET**	Toxicologie
M. Olivier **LAFONT**	Chimie organique
Mme Isabelle **LEROUX-NICOLLET**	Physiologie
Mme Martine **PESTEL-CARON**	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
M. Mohamed **SKIBA**	Pharmacie galénique
M. Philippe **VERITE**	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

MAITRES DE CONFERENCES

M. Sahil **ADRIOUCH**	Biochimie et biologie moléculaire (Unité INSERM 905)
Mme Gaëlle **BOUGEARD-DENOYELLE**	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine **CLEREN**	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline **GAILDRAT**	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
M. Antoine **OUVRARD-PASCAUD**	Physiologie (Unité INSERM 1076)
Mme Isabelle **TOURNIER**	Biochimie (UMR 1079)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. Serguei **FETISSOV**	Physiologie (Groupe ADEN)
Mme Su **RUAN**	Génie Informatique

Table des matières

Liste des tableaux 23

Liste des figures 24

Liste des abréviations 26

Introduction 30

Chapitre I: L'angiogenèse 32
Partie I : L'angiogenèse physiologique 32

1. Historique 32
2. Définition de l'angiogenèse 33
3. La vasculogenèse 35
4. L'angiogenèse 36
4.1. L'angiogenèse par bourgeonnement 37
4.1.1. Vasodilatation, perméabilité endothéliale et support péri-endothélial 38
4.1.2. Prolifération et migration des cellules endothéliales 39
4.1.3. Formation de la lumière 39
4.2. L'angiogenèse par intussusception 40
4.3. L'angiogenèse par recrutement de cellules souches endothéliales circulantes 41
4.3.1. Mobilisation des CPE 41
4.3.2. Homing des CPE 42
4.3.3. Rolling des CPE 42
5. Survie et différenciation des cellules endothéliales 43
6. Remodelage vasculaire 43
7. Stabilisation du réseau vasculaire : myogenèse vasculaire 44
8. L'artériogenèse 46
9. Modulation de la croissance vasculaire 46
9.1. Influence de l'hypoxie 46
9.2. Influence de l'inflammation et recrutement de progéniteurs vasculaires 47
9.3. Influence des facteurs mécaniques 47
10. Les facteurs pro-angiogéniques 47
10.1. Le VEGF : vascular endothelial growth factor 48
10.2. La famille des fibroblast growth factor (FGF) 50
10.2.1. L'acidic FGF 50
10.2.2. Le basic FGF 50
10.2.3. Les autres FGF 51
10.2.4. Les récepteurs 51
10.3. Les angiopoïétines 51
10.3.1. L'angiopoïétine-1 52
10.3.2. L'angiopoïétine-2 52
10.4. L'éphrine 52
10.5. Les métalloprotéinases 53
10.6. Le système HIF 53
11. Les facteurs anti-angiogéniques 54
11.1. Inhibiteurs naturels de l'angiogenèse 55
11.1.1. La trombospondine 55

11.1.2. Les interférons 56
11.1.3. Les inhibiteurs des metalloprotéinases 56
11.1.4. L'angiostatine 56
11.1.5. L'endostatine 56
11.2. Inhibiteurs synthétiques de l'angiogenèse 57
11.3. Autres facteurs inhibiteurs 57

Partie II : L'angiogenèse tumorale 58

1. Importance de l'angiogenèse dans la croissance tumorale 58
2. Généralités sur l'angiogenèse tumorale 59
3. Le « switch angiogénique » 60
3.1. Les facteurs induisant l'angiogenèse tumorale 62
3.2. Mécanismes adaptatifs induisant le switch angiogénique 62
3.3. Mécanismes génétiques induisant le switch angiogénique 63
3.4. Conclusion sur le switch angiogénique 64
4. Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'angiogenèse tumorale 64
5. Les autres mécanismes 65
6. Caractéristiques des vaisseaux tumoraux 67

Chapitre II : Le VEGF 70
Partie I : Généralités sur le VEGF 70

1. Introduction 70
2. La famille des VEGF 71
2.1. Le VEGF-A = VEGF 71
2.1.1. Historique 71
2.1.2. Le gène VEGF et ses isoformes 72
2.1.3. Production du VEGF 74
2.1.4. Rôles 75
2.2. Le VEGF-B 76
2.2.1. Historique 76
2.2.2. Le gène VEGF-B et ses isoformes 76
2.2.3. Rôles 76
2.3. Le VEGF-C 77
2.3.1. Historique 77
2.3.2. Le gène VEGF-C 77
2.3.3. Production du VEGF-C 77
2.3.4. Rôles 77
2.4. Le VEGF-D 78
2.4.1. Le gène VEGF-D 78
2.4.2. Rôles 78
2.5. Le VEGF-E 79
2.5.1. Historique 79
2.5.2. Rôles 79
2.6. Le VEGF-F ou sv VEGF 79
2.6.1. Historique 79
2.6.2. Isoformes du VEGF-F 80
2.6.3. Rôles 80
2.7. Le PIGF 80
2.7.1. Historique 80
2.7.2. Le gène PIGF et ses isoformes 80
2.7.3. Production du PIGF 81
2.7.4. Rôles 81

3. Les récepteurs du VEGF 81
3.1. Les récepteurs à activité tyrosine kinase 83
3.1.1. Le VEGFR-1 83
3.1.1.1. Le gène VEGFR-1 et son variant 83
3.1.1.2. Expression du VEGFR-1 84
3.1.1.3. Affinités 84
3.1.1.4. Rôles 85
3.1.2. Le VEGFR-2 86
3.1.2.1. Le gène VEGFR-2 86
3.1.2.2. Expression du VEGFR-2 86
3.1.2.3. Affinités 86
3.1.2.4. Rôles 86
3.1.3. Le VEGFR-3 87
3.1.3.1. Le gène VEGFR-3 87
3.1.3.2. Expression du VEGFR-3 88
3.1.3.3. Affinités 88
3.1.3.4. Rôles 88
3.2. Les récepteurs sans activité tyrosine kinase 88
3.2.1. Les neuropilines 88
3.2.1.1. Structure des neuropilines 89
3.2.1.2. Expression des neuropilines 89
3.2.1.3. Affinités des neuropilines 90
3.2.1.4. Mécanisme d'activation des neuropilines 90
3.2.1.5. Rôles 91
✓ Croissance axonale 91
✓ Développement embryonnaire 91
✓ L'angiogenèse tumorale et la formation de métastases 91
3.2.2. Les Héparanes Sulfates ou Héparanes Sulfates ProtéoGlycanes (HSPG) 92
4. Régulation de l'expression du VEGF 92
4.1. Régulation par l'hypoxie 93
4.1.1. Activité transcriptionnelle importante 94
4.1.2. Stabilisation des ARNm 95
4.1.3. Quelques exemples de régulation par l'hypoxie 96
4.2. Régulation par les oncogènes et les suppresseurs de tumeur 96
4.3. Régulation par les hormones 97
4.4. Régulation par les cytokines 98
4.5. Régulation par les facteurs de croissance 99
4.6. Conclusion 99
5. Rôles du VEGF dans l'angiogenèse physiologique 99
5.1. Rôle dans le développement embryonnaire 100
5.2. Rôles chez l'adulte 100
5.3. Propriétés du VEGF 101
6. Expression génique du VEGF 102
6.1. La transcription du VEGF 102
6.1.1. Les facteurs de transcription du VEGF 103
6.1.1.1. AP-1 103
6.1.1.2. SP-1 103
6.1.2. L'initiation alternative de la transcription du VEGF 103
6.2. Maturation des ARNm du VEGF 104
6.2.1. L'épissage alternatif 104
6.2.2. Régulation de l'épissage alternatif du VEGF 105
6.2.3. La maturation en 3' 105
6.3. Contrôle de la stabilité des ARNm du VEGF 105
6.4. Traduction du VEGF 106

6.4.1. Les codons alternatifs d'initiation de la traduction du VEGF 107
6.4.2. Les IRES du VEGF 108
6.4.3. Les éléments en cis de la région 3'UTR 109
6.4.4. Le petit cadre ouvert de lecture du VEGF 109

Partie II : Rôle du VEGF dans l'angiogenèse tumorale 110

1. Introduction 110
2. Rôles du VEGF dans l'angiogenèse tumorale 111
2.1. Rôle du VEGF dans la vascularisation tumorale 112
2.1.1. Rôle des différentes isoformes du VEGF 112
2.2. Migration des cellules endothéliales 113
2.3. Prolifération des cellules endothéliales 114
2.4. Survie des cellules endothéliales 114
2.5. Perméabilité vasculaire 114
2.6. Autres rôles 115
3. Facteurs inducteurs du VEGF 115
4. Perspectives thérapeutiques 116

Chapitre III : Stratégies anti-VEGF dans la prise en charge des cancers 117

1. Introduction : rôle important du VEGF dans l'angiogenèse 117
2. Développement des anti-angiogéniques 117
3. Angiogenèse : facteur pronostique 119
4. Qu'est-ce qu'une thérapeutique ciblée? 119
5. Effets des stratégies anti-angiogéniques 119
6. Historique de la prise en charge des cancers par la stratégie anti-VEGF 120
6.1. Cancer colorectal 121
6.2. Cancer du rein 121
6.3. Cancers thoraciques 123
6.4. Cancer des ovaires 125
6.5. Glioblastome 125
6.6. Neuroblastome 127
6.7. En particulier le cancer du sein 128
7. Les différents traitements anti-VEGF 129
7.1. Les anticorps monoclonaux anti-VEGF 132
7.1.1. Historique 133
7.1.2. La production des anticorps monoclonaux 134
7.1.3. Le mécanisme d'action des anticorps monoclonaux 136
7.1.4. Pharmacocinétique des anticorps monoclonaux 136
7.1.5. Cibles des anticorps monoclonaux thérapeutiques 137
7.1.6. Exemple d'anticorps anti-VEGF : le bevacizumab (Avastin®) 137
7.1.6.1. Propriétés pharmacodynamiques 138
7.1.6.2. Production du bevacizumab 138
7.1.6.3. Mécanisme d'action 138
7.1.6.4. Affinités 139
7.1.6.5. Demi-vie 139
7.1.6.6. Administration 140
7.1.6.7. Tolérance 140
7.1.6.8. Indications actuelles du médicament en France 140
7.2. Les anticorps monoclonaux anti-récepteurs du VEGF 141
7.3. Les inhibiteurs de tyrosine kinase du récepteur du VEGF 141
7.3.1. Les ITK multikinases 143
7.3.2. Exemple d'ITK : le sunitinib (Sutent®) 144

7.3.2.1. Propriétés pharmacodynamiques 144
7.3.2.2. Mécanisme d'action 144
7.3.2.3. Indications 146
7.3.2.4. Posologie 146
7.3.2.5. Tolérance 146
7.3.3. Autre exemple d'ITK : le sorafenib (Nexavar®) 147
7.3.3.1. Mécanisme d'action 147
7.3.3.2. Indications 147
7.3.3.3. Posologie 148
7.3.3.4. Tolérance 148
7.4. Le VEGF-trap ou récepteur hybride circulant du VEGF 148
7.5. Thérapie anti-ARN du VEGF 150
8. Autres grandes stratégies anti-angiogéniques ne ciblant pas le VEGF 151
8.1. Les imids 151
8.1.1. Exemple d'imid : le lénalidomide (Revlimid®) 152
8.2. Les inhibiteurs du récepteur c-Met 152
8.3. Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice cellulaire (TIMP) 153
8.3.1. Quelques exemples de TIMP 153
8.4. Autres molécules anti-angiogéniques 154
8.4.1. Les anti-angiogéniques pharmacologiques 154
8.4.2. Les anti-angiogéniques naturels 154
9. Avantages de la thérapie anti-angiogénique 155
10. Inconvénients des anti-angiogéniques 156
11. Combinaison des traitements anti-angiogéniques avec la chimiothérapie 157
12. Normalisation de la vascularisation tumorale 158
13. Conclusion 160

Chapitre IV : Utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein 162
Partie I : Le cancer du sein et sa prise en charge classique 162

1. Introduction 162
2. Rappel : anatomie du sein et hormones sexuelles féminines 162
3. Qu'est-ce que le cancer du sein ? 164
4. Epidémiologie du cancer du sein 165
4.1. En France 165
4.2. Dans le monde 167
5. Les différents types de cancer du sein 169
5.1. Les cancers du sein non infiltrants ou « in situ » 169
5.1.1. Le cancer canalaire in situ : CCIS 170
5.1.2. Le cancer lobulaire in situ : CLIS 171
5.1.3. La maladie du mamelon ou maladie de Paget 172
5.2. Les cancers du sein infiltrants ou invasifs 173
5.2.1. Le cancer canalaire infiltrant : CCI 173
5.2.2. Le cancer lobulaire infiltrant : CLI 175
5.2.3. Autre méthode de classification des carcinomes infiltrants : classification de Perou et Sorlie ou classification intrinsèque 176
5.2.3.1. Le type luminal 176
5.2.3.2. Le type basal-like 177
5.2.3.3. Le type HER2 positif 178
5.2.3.4. Conclusion 178
5.2.4. Les formes rares de cancers infiltrants 178
5.2.4.1. Le carcinome mucineux ou colloïde 178

5.2.4.2. Le carcinome tubulaire 179
5.2.4.3. Le carcinome médullaire 179
5.2.4.4. Le carcinome papillaire 179
5.2.4.5. Le cancer du sein inflammatoire : CSI 180
5.3. Les cas particuliers de cancer du sein 180
5.3.1. Les cancers du sein hormonodépendants 181
5.3.2. Les cancers du sein HER2 positifs 182
5.3.3. Les cancers du sein héréditaires 183
5.3.3.1. Mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 185
5.3.3.2. Les autres mutations 186
5.3.3.3. Pronostic des cancers du sein chez les porteurs de mutations BRCA 187
5.3.3.4. Hétérogénéité phénotypique 187
5.3.3.5. Dépistage et recommandations pour les familles à risque 188
6. Les différents stades du cancer du sein 189
6.1. Les 3 critères d'évaluation 189
6.1.1. La taille et l'infiltration de la tumeur 189
6.1.2. L'atteinte des ganglions lymphatiques, le nombre et leur emplacement 190
6.1.3. La présence de métastases 190
6.2. Classification TNM 190
6.3. Regroupement par stade UICC 191
7. Les différents grades du cancer du sein 192
7.1. Les 3 critères d'évaluation 193
7.1.1. L'apparence des cellules cancéreuses (ou architecture cellulaire) 193
7.1.2. La forme du noyau 193
7.1.3. Le nombre de cellules en division 193
7.2. Les grades du cancer du sein 194
8. Les traitements classiques du cancer du sein 194
8.1. Les traitements locorégionaux 195
8.1.1. La chirurgie 196
8.1.1.1. Le choix du type de chirurgie 196
8.1.1.2. La chirurgie conservatrice 197
8.1.1.3. La chirurgie non conservatrice ou mastectomie 198
8.1.2. La radiothérapie 201
8.1.2.1. Le choix de la radiothérapie 201
8.1.2.2. Principe de la radiothérapie 202
8.1.2.3. La radiothérapie externe 203
8.1.2.4. La radiothérapie interne ou curiethérapie 204
8.1.2.5. Limitation de la radioexposition 205
8.2. Les traitements systémiques 205
8.2.1. La chimiothérapie 206
8.2.1.1. Principe de la chimiothérapie 206
8.2.1.2. Indications de la chimiothérapie 207
8.2.1.3. Médicaments utilisés 208
8.2.1.4. Déroulement de la chimiothérapie 209
8.2.2. L'hormonothérapie 211
8.2.2.1. Indications de l'hormonothérapie 212
8.2.2.2. Choix du type d'hormonothérapie 212
8.2.2.3. Les traitements médicamenteux 213
✓ Les anti-œstrogènes 213
✓ Les anti-aromatases 214
✓ Les agonistes de la LH-RH 215
8.2.2.4. Les traitements non médicamenteux 216

✓ L'ovariectomie 216
✓ La radiothérapie 216
9. Les protocoles thérapeutiques classiques de la prise en charge du cancer du sein 216
9.1. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein in situ 217
9.2. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein infiltrant non métastatique 218
9.3. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein métastatique 220
9.4. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein en rechute 220
9.5. Arbres décisionnels 222
10. Les limites des traitements classiques 223
10.1. Les effets indésirables des traitements classiques 224
10.1.1. Les effets indésirables de la chirurgie 224
10.1.1.1. Les effets secondaires précoces 224
10.1.1.2. Les effets secondaires tardifs 225
10.1.2. Les effets indésirables de la radiothérapie 225
10.1.2.1. Les effets secondaires précoces 225
10.1.2.2. Les effets secondaires tardifs 226
10.1.3. Les effets indésirables de la chimiothérapie 226
10.1.3.1. Les effets secondaires précoces 226
10.1.3.2. Les effets secondaires tardifs 227
10.1.4. Les effets indésirables de l'hormonothérapie 227
10.1.4.1. Les effets secondaires des anti-œstrogènes 228
10.1.4.2. Les effets secondaires des anti-aromatases 228
10.1.4.3. Les effets secondaires des agonistes de la LH-RH 228
10.2. L'atteinte des cellules saines 229
10.3. Difficultés à cibler spécifiquement et à traiter certains types de cancers 230

Partie II : La place de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein 231

1. Introduction 231
2. Rappel du mécanisme d'action du bevacizumab 232
3. Informations générales concernant la spécialité Avastin® 232
3.1. Forme pharmaceutique 232
3.2. Précautions de conservation 233
3.3. Conditions de délivrance 233
3.4. Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché et de l'autorisation de fabrication 233
3.4.1. Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché 233
3.4.2. Fabricants de la substance active d'origine biologique et titulaire de l'autorisation de fabrication responsable de la libération des lots 234
4. Intérêt de l'ajout de l'Avastin® dans les protocoles thérapeutiques actuels 234
4.1. Étude E2100 235
4.1.1. Présentation de l'étude 236
4.1.2. Résultats 237
4.1.3. Conclusion 237
4.2. Étude AVADO 238
4.2.1. Présentation de l'étude 238
4.2.2. Résultats 238
4.2.3. Conclusion 239
4.3. Étude RIBBON-1 240
4.3.1. Présentation de l'étude 240
4.3.2. Résultats 241

4.3.3. Conclusion 242
4.4. Étude RIBBON-2 243
4.4.1. Présentation de l'étude 243
4.4.2. Résultats 244
4.4.3. Conclusion 244
4.5. Étude AVEREL 245
4.5.1. Présentation de l'étude 245
4.5.2. Résultats 246
4.5.3. Conclusion 246
4.6. Étude ATHENA 247
4.6.1. Présentation de l'étude 247
4.6.2. Résultats 248
4.6.3. Conclusion 248
4.7. Résumé et conclusion sur l'intérêt de l'ajout de l'Avastin® dans les protocoles thérapeutiques actuels 249
5. Autorisations de mise sur le marché (AMM) de l'Avastin® en France dans le traitement du cancer du sein 251
6. Avis et encadrement de l'utilisation de l'Avastin® 252
6.1. Étude sur l'utilisation de l'Avastin® en monothérapie 252
6.1.1. Présentation de l'étude 252
6.1.2. Résultats 252
6.1.3. Conclusion 253
6.2. Avis de la Commission de la Transparence du 25 Mai 2011 253
6.3. Conclusion 255
7. Protocoles thérapeutiques actuels d'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein 257
7.1. Protocole Avastin® 14 jours 258
7.2. Protocole Avastin® 21 jours 258
7.3. Protocole Avastin® 21 jours + capécitabine (Xeloda®) 258
7.4. Protocole Avastin® 14 jours + paclitaxel hebdomadaire 259
7.5. Protocole Avastin® 21 jours + paclitaxel 259
8. Posologies de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein et modalités d'administration 260
8.1. Posologies utilisées pour le cancer du sein métastatique 260
8.2. Posologies pour les populations particulières 260
8.2.1. Sujets âgés 260
8.2.2. Insuffisants rénaux et hépatiques 260
8.2.3. Population pédiatrique 261
8.3. Modalités d'administration 261
9. Controverses à propos de l'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein 261
9.1. Retrait de l'AMM de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein par l'Agence Américaine des Médicaments (FDA) 262
9.2. Retrait de l'AMM de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein par le Canada 264
9.3. Méfiances vis-à-vis de l'Avastin® pour le traitement du cancer du sein en Belgique 265
9.4. Effets indésirables du bevacizumab et leur prise en charge 265
9.4.1. Effets indésirables les plus fréquents 266
9.4.1.1. Hypertension artérielle (HTA) 266
9.4.1.2. Protéinurie 268
9.4.1.3. Hémorragies mineures 269
9.4.2. Effets indésirables graves 269
9.4.2.1. Perforations gastro-intestinales 269

9.4.2.2. Hémorragies graves 270
9.4.2.3. Thromboembolies artérielles et veineuses 271
✓ Thromboembolies artérielles 272
✓ Thromboembolies veineuses 273
9.4.2.4. Complication de la cicatrisation des plaies 273
9.4.2.5. Insuffisance cardiaque congestive (ICC) 274
9.4.2.6. Atteintes rénales 276
9.4.2.7. Autres effets indésirables répertoriés 276
9.5. La résistance au bevacizumab 277
9.6. Le caractère aléatoire de la réponse au bevacizumab 279
10. Conclusion sur la place de l'Avastin® dans la prise en charge du cancer du sein 281
11. Ouverture : les nouveaux anti-angiogéniques 284
11.1. Étude RECORD-1 285
11.1.1. Présentation de l'étude 286
11.1.2. Résultats 287
11.2. Conclusion 288

Conclusion 290

Références bibliographiques 294

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principales différences qualitatives entre la vascularisation normale et la néo-angiogenèse tumorale 69

Tableau 2 : Notation des critères d'évaluation du grade du cancer du sein 194

Liste des figures

Figure 1 : Vasculogenèse, angiogenèse et artériogenèse 33
Figure 2 : Structure d'une artère, d'une veine et d'un capillaire 34
Figure 3 : Origine des cellules vasculaires 36
Figure 4 : Les différents types de processus d'angiogenèse 37
Figure 5 : Principales étapes de l'angiogenèse par bourgeonnement 40
Figure 6 : Principales étapes de l'angiogenèse par intussusception 41
Figure 7 : Représentation schématique d'un péricyte sur un vaisseau sanguin 45
Figure 8 : Interactions entre les différents VEGF et leurs récepteurs 50
Figure 9 : Mécanismes de régulation de l'activité du facteur de transcription HIF-1 et influence sur l'angiogenèse 54
Figure 10 : Les différentes étapes de l'angiogenèse tumorale 59
Figure 11 : Différents mécanismes induisant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins tumoraux 67
Figure 12 : Structure du gène humain du VEGF-A et les différents ARNm issus de sa transcription 74
Figure 13 : Les différents récepteurs du VEGF 83
Figure 14 : Mécanismes de régulation de l'expression du VEGF par l'hypoxie, via le facteur HIF 94
Figure 15 : Transcription du VEGF 102
Figure 16 : Structure du gène du VEGF, représenté avec les différents initiateurs de sa traduction, entrainant la production du L-VEGF et du N-VEGF 107
Figure 17 : Rôles du VEGF dans l'angiogenèse tumorale 111
Figure 18 : Différentes stratégies d'inhibition de la voie du VEGF 131
Figure 19 : Structure générale d'un anticorps 133
Figure 20 : Nomenclature des différents anticorps monoclonaux 135
Figure 21 : Mécanisme d'action du bevacizumab 139
Figure 22 : Schéma général d'activation d'un récepteur à activité tyrosine kinase 142
Figure 23 : Représentation schématique du mécanisme d'action du sunitinib sur les récepteurs à activité tyrosine kinase 145
Figure 24 : Représentation schématique de l'aflibercept piégeant le VEGF 150
Figure 25 : Structure du sein 163
Figure 26 : Les ganglions lymphatiques du sein 164
Figure 27 : Les différents comportements des cellules cancéreuses 165
Figure 28 : Taux d'incidence du cancer du sein, âge-normalisés selon 100 000 femmes 168
Figure 29 : Confinement des cellules cancéreuses dans les canaux galactophores 171
Figure 30 : Confinement des cellules cancéreuses au sein des lobules 172
Figure 31 : Envahissement du tissu mammaire par les cellules cancéreuses canalaires 174
Figure 32 : Envahissement du tissu mammaire par les cellules cancéreuses lobulaires 175

Figure 33 : Positions des gènes BRCA1 et BRCA2 sur les chromosomes 17 et 13, respectivement 185
Figure 34 : Représentation schématique de la chirurgie conservatrice 198
Figure 35 : Représentation schématique de la mastectomie totale 199
Figure 36 : Représentation schématique de la mastectomie radicale modifiée 200
Figure 37 : Appareil de radiothérapie externe 204
Figure 38 : Séance de curiethérapie montrant les tubes vecteurs insérés dans le sein 205
Figure 39 : Mise en place de la chimiothérapie avec PAC 210
Figure 40 : Mise en place de la chimiothérapie avec picc-line 210
Figure 41 : Mécanisme d'action des anti-aromatases 214
Figure 42 : Cascades de signalisation entrainant la synthèse des hormones féminines (et masculines) 215
Figure 43 : Arbre décisionnel général de la prise en charge thérapeutique du cancer du sein 222
Figure 44 : Présentation de la spécialité Avastin® 233
Figure 45 : Mécanismes d'activation des voies de prolifération et de survie cellulaire via le VEGF 278
Figure 46 : Mécanisme d'action de l'évérolimus 285

Liste des abréviations

5-FU	5 fluoro-uracile
A1	Annexine A1
aa	acide aminé
AcMo	Anticorps Monoclonaux
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
aFGF = FGF-1	acidic FGF
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AMPc	Adénosine MonoPhosphate cyclique
Ang	Angiopoïétine
AP-1	Activator Protein-1
ARA2	Antagoniste des Récepteurs de l'Angiotensine 2
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	Acide RiboNucléique messager
ASMR	Amélioration du Service Médical Rendu
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated
ATP	Adénosine TriPhosphate
Bcl-2	B-cell lymphoma-2
bFGF = FGF-2	basic FGF
BRCA	BReast CAncer
CBNPC	Cancer Bronchique Non à Petites Cellules
CCI	Cancer Canalaire Infiltrant
CCIS	Cancer Canalaire In Situ
CDR	Complementary Determining Region
CEC	Cellule Endothéliale Circulante
CHEK2	Checkpoint Kinase 2
CHMP	Comité des médicaments à usage humain
CLI	Cancer Lobulaire Infiltrant
CLIS	Cancer Lobulaire In Situ
CML	Cellule Musculaire Lisse
CPE	Cellule Progénitrice Endothéliale
CSI	Cancer du Sein Inflammatoire
CTC	Cellule Tumorale Circulante
CXCR4	Chemokine CC motif Receptor 4
DAG	DiAcylGlycerol
DMLA	Dégénérescence Maculaire Liée à l'Age
EAT	Evènement Artériel Thromboembolique
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EGR-1	Early Growth Response protein-1
eIF	eukaryotic Initiation Factor
EMA	Agence Européenne des Médicaments
eNOS	endothelial Nitric Oxide Synthase

EPC	Endothelial Progenitor Cells
Eph receptor	Ephrin receptor
EPO	ErythroPOïétine
ERE	Elément de Réponse aux Œstrogènes
ERK	Extracellular signal-Regulated protein Kinase
EVT	Evènement Veineux Thromboembolique
Fab	Fragment antigen-binding
FAK	Focal Adhesion Kinase
FcγR	récepteur pour le fragment Fc des IgG
FDA	Food and Drug Administration
FEVG	Fraction d'Ejection Ventriculaire Gauche
FGF	Fibroblast Growth Factor
FGF-BP	FGF Binding-Protein
FIGF	c-Fos Induced Growth Factor
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie Obstétrique
Flk-1	Fetal liver kinase-1
Flt-1	Fms-like tyrosine kinase-1
Flt-4	Fms-like tyrosine kinase-4
GAIT	Gamma-Activated Inhibitor of Translation
G-CSF	Granulocyte Colony-Stimulating Factor
GIST	Tumeur Stromale Gastro-Intestinale
G-MCSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor
Gy	Gray
HAS	Haute Autorité de Santé
HER2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HIF	Hypoxia Inducible Factor
HIS	Hybridation In Situ
H-ras	Harvey strains of rat sarcoma viruse
HRE	Hypoxia Response Element
HSPG	Héparane Sulfate ProtéoGlycane
HTA	HyperTension Artérielle
HuR	Human antigen R
ICC	Insuffisance Cardiaque Congestive
IEC	Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion
IFN	InterFéroN
IGF	Insulin-like Growth Factor
IgG	Immunoglobuline G
IHC	Immuno-HistoChimie
IL	InterLeukine
INR	International Normalized Ratio
IP3	Inositol triphosphate
IRES	Internal Ribosome Entry Site
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IV	IntraVeineuse
Kb	Kilobase
KCE	Centre fédéral d'Expertise des Soins de Santé
kDa	kiloDalton
KDR	Kinase insert Domaincontaining Receptor

KGF	Keratinocyte Growth Factor
KO	Knock-Out
K-ras	Kirsten strains of rat sarcoma viruse
LH	Hormone Lutéinisante
LH-RH	Luteinizing Hormone - Releasing Hormone (hormone de libération de la lutéinostimuline)
LIF	Leukemia Inducible Factor
LKB1	Liver Kinase B1
MAP kinase	Mitogen-Activated Protein kinase
MAT	Micro-Angiopathie Thrombotique
MEK	Mitogen-activated protein kinase
Met	Mesenchymal-epithelial transition factor
MMP	Matrix MetalloProteinase
MSKCC4	Memorial Sloan Kettering Cancer Center 4
mTOR	mammalian Target Of Rapamycin
NCI	National Cancer Institute
NO	Oxyde Nitrique
NRP	NeuRoPiline
Nt	Nucléotide
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAC	Port-A-Cath
PAI	Inhibiteur du Plasminogène
PAIP2	Poly(A) binding protein Interacting Protein 2
Pb	Paire de base
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PDGFR	Platelet-Derived Growth Factor Receptor
PF-4	Platelet Factor-4
PFS	Survie sans progression
PI3K	PhosphatidylInositol 3-Kinase
PIGF	Placenta Growth Factor
PKB = AKT	Protein Kinase B
PKC	Protein Kinase C
PLC	PhosphoLipase C
PMA	Phorbol 12-Myristate 13-Acetate
pNET	Tumeur NeuroEndocrine du pancréas
PPS	Programme Personnalisé de Soins
PTEN	Phosphatase and TENsin homologdeleted on chromosome TEN
Raf-1	v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1
RCP	Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
RECIST	Response Evaluation Criteria In Solid Tumors
SAI	Sans Autre Indication
SBR	Scarff Bloom Richardson
SDF-1	Stromal-Derived Factor-1
SEMA	SEMAphorine
SERD	Selective Estrogen Receptor Degradation
SERM	Selective Estrogen Receptor Modulator
SF	Scatter Factor

SHB	Src Homology 2 domain containing adaptor protein B
SLA	Sclérose Latérale Amyotrophique
SLPR	Syndrome de Leucoencéphalopathie Postérieure Réversible
SMR	Service Médical Rendu
SNC	Système Nerveux Central
SP-1	Specificity Protein-1
SPARC	Secreted Protein Acidic and Rich in Cystein
Src	proto-oncogene tyrosine-protein kinase
STAT3	Signal Transducer and Activator of Transcription 3
STK11	Serine/Threonine Kinase 11
TAF	Tumor Angiogenic Factor
TGF	Transforming Growth Factor
THS	Traitement Hormonal Substitutif
Tie	Tyrosine kinase with immunoglobulin and EGF homology domains
TIMP	Inhibiteur Tissulaire des MetalloProteinases
TIS11B	Tetradecanoyl phorbol acetate-Inducible Sequence 11B
TNF	Tumor Necrosis Factor
TNS	Type Non Spécifique
t-PA	Activateur tissulaire du Plasminogène
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone
TSP-1	ThromboSPondine-1
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
uORF	upstream Open Reading Frame
u-PA	urokinase-Plasminogen Activator
UTR	UnTranslated Region
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VEGFR-ITK	Inhibiteur de Tyrosine-Kinase du VEGFR
VH	chaîne lourde
VHL	Von Hippel Lindau
VL	chaîne légère
VPF	Vascular Permeability Factor

Introduction

Avec plus de 48 000 nouveaux cas en France en 2012, et plus de 11 500 décès dans l'année, le cancer du sein est un véritable problème de santé publique. En France, il est le cancer le plus fréquent chez les femmes. Dans le monde, on compte également 14 millions de nouveaux cas en 2012. Le cancer du sein représente ainsi le deuxième cancer le plus fréquent au niveau mondial. De plus, il n'y a pas un cancer du sein, mais plusieurs cancers du sein. En effet, il existe différents types de cancer du sein selon qu'ils soient par exemple in situ ou infiltrant, avec donc des protocoles de prise en charge différents.

Face à ces chiffres consternants, les scientifiques se sont attelés à la recherche de nouvelles thérapies qui permettraient d'améliorer la prise en charge du cancer du sein, afin d'améliorer le pronostic vital des patients ainsi que leur qualité de vie. Le marché des médicaments anticancéreux comptait déjà beaucoup de molécules et de techniques précises au sein de protocoles thérapeutiques bien établis. La chimiothérapie, l'hormonothérapie et la radiothérapie étaient les trois principales techniques utilisées, avec la chirurgie pour éliminer la tumeur. Cependant, ces techniques classiques, bien qu'efficaces, ont montré certaines limites au niveau de leur impact thérapeutique qui se sont faites ressentir notamment avec la stagnation du taux de mortalité dû au cancer du sein. D'autre part, les thérapeutiques classiquement utilisées présentaient également un nombre d'effets indésirables non négligeable. En outre, la majorité des médicaments possédaient un mécanisme d'action systémique, ce qui veut dire que certaines cellules saines pouvaient être endommagées voire même tuées par l'action de ces différentes substances.

C'est dans ce contexte qu'est intervenu l'avènement des thérapies ciblées. Des thérapies ciblées plus spécifiquement sur les cellules cancéreuses pour limiter les effets secondaires et l'atteinte des cellules saines. Les scientifiques ont ainsi mis au point des stratégies thérapeutiques dont la cible était définie spécifiquement. Sont donc nées les stratégies anti-VEGF. Le VEGF, ou Vascular Endothelial Growth Factor, est une protéine qui comme son nom l'indique est impliquée dans la croissance des vaisseaux sanguins. Elle va se fixer sur des récepteurs spécifiques et

va entrainer la migration des cellules endothéliales et leur prolifération pour former de nouveaux vaisseaux. Il était déjà établi depuis les années 1970, d'après les travaux de Folkman, que l'angiogenèse joue un rôle majeur dans la croissance tumorale et que la plupart des tumeurs sont hypervascularisées, suggérant une importante néo-angiogenèse lors de leur développement. Le VEGF ayant une place indispensable dans les processus de néovascularisation de l'angiogenèse tumorale, il est donc devenu une cible pharmacologique majeure, et les médicaments dirigés contre celui-ci ont donc montré un grand intérêt au sein de la communauté scientifique.

Parmi ces différentes molécules, le bevacizumab a été le premier anti-VEGF à faire ses preuves. Introduit dans les protocoles thérapeutiques de nombreux cancers comme le cancer colorectal ou le cancer du rein par exemple, il a ensuite été instauré dans la prise en charge du cancer du sein dans le but d'améliorer les résultats des traitements et notamment la survie des patients. Le bevacizumab, connu aussi sous son nom commercial Avastin®, est un anticorps monoclonal dirigés contre le Vascular Endothelial Growth Factor. Par conséquent, il inhibe la migration et la prolifération des cellules endothéliales responsables de la formation de nouveaux vaisseaux permettant l'apport de nutriments et d'oxygène qui sont indispensables à la croissance de la tumeur. Le développement tumoral est donc stoppé.

Cette nouvelle molécule a donc permis une avancée majeure dans la prise en charge du cancer du sein par une action plus ciblée sur les cellules cancéreuses et en améliorant la survie des patients, comme l'ont montré les études qui ont été réalisées.

Cependant, l'Avastin® est également un sujet de discorde au sein de la communauté scientifique dans le traitement du cancer du sein. Doit-il être instauré dans tous les types de cancers du sein ? Pour tous les patients ? Quel est le rapport bénéfice/risque de son utilisation ? Le bevacizumab doit donc se faire - et trouver - sa place dans les protocoles thérapeutiques actuels pour le traitement du cancer du sein.

Chapitre I: L'angiogenèse

Partie I : L'angiogenèse physiologique

1. Historique

La recherche en angiogenèse fut initiée il y 40 ans par le Docteur Judah Folkman, chirurgien américain travaillant à Boston. Dans les années 1970, il part de l'hypothèse que la croissance d'une tumeur cancéreuse nécessite une néovascularisation constante. C'est de cette hypothèse que paraîtra en 1971 sa première publication majeure dans le New England Journal of Medicine dans laquelle il écrit que :

– la croissance de la tumeur et le développement des métastases dépendent de l'angiogenèse. Comme les autres, le tissu cancéreux a besoin d'une alimentation,

– à partir d'un certain stade, l'angiogenèse tumorale acquiert des caractéristiques qui la distinguent de celles des tissus sains : c'est le « switch » angiogénique,

– le blocage de l'angiogenèse peut devenir une cible stratégique pour inhiber la croissance tumorale, au lieu de simplement viser à détruire directement les cellules cancéreuses,

– contrairement aux cellules cancéreuses elles-mêmes, les cellules endothéliales des vaisseaux qui les nourrissent sont génétiquement plus stables et de ce fait moins sujettes à acquérir des mutations de résistance.

Seule la dernière de ces affirmations s'est révélée partiellement inexacte.

Il réussit par la suite à développer des modèles d'angiogenèse grâce à la culture in vitro de cellules endothéliales. Ce qui lui permettra dans les années 1980 de découvrir les premiers facteurs pro-angiogéniques endogènes comme le facteur de croissance des fibroblastes basiques (bFGF) ainsi que le vascular endothelial growth factor (VEGF). C'est ensuite en 1985 que les premiers inhibiteurs de l'angiogenèse furent découverts, avec l'angiostatine et l'endostatine (Tobelem, 2007). Dès 1990, les découvertes des laboratoires ont pu progressivement s'appliquer en clinique avec deux objectifs : d'une part développer des marqueurs

pronostiques chez les patients cancéreux et, d'autre part, développer des thérapies anti-angiogéniques afin de ralentir, voire d'arrêter la progression tumorale (Couffinhal *et al.*, 2001).

2. Définition de l'angiogenèse

Ce terme a été employé pour la première fois au début du siècle pour décrire la formation vasculaire du placenta. En réalité, contrairement à la vasculogenèse qui est la formation directe de néovaisseaux à partir de précurseurs mésenchymateux, l'angiogenèse (ou néovascularisation) est le terme qui définit la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'une structure endothéliale préexistante. En effet, l'angiogenèse consiste en la croissance et le remodelage du réseau vasculaire primitif en un réseau plus complexe (figure 1) (André *et al.*, 1998).

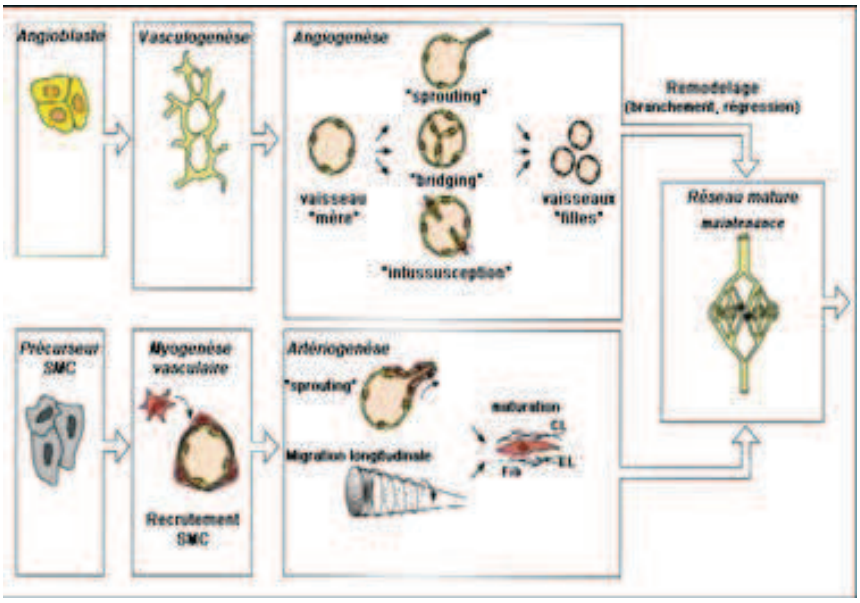


Figure 1 : Vasculogenèse, angiogenèse et artériogenèse

(d'après Carmeliet, 2000)

Chez l'adulte, l'angiogenèse physiologique survient dans très peu de situations. En revanche, c'est un phénomène indispensable à certaines étapes de la vie. Elle intervient principalement lors du développement embryonnaire, de l'implantation du placenta, mais encore durant les cycles menstruels dans

l'appareil reproducteur femelle. Elle tient également une grande importance dans les phénomènes de réparation physiologique comme la cicatrisation ainsi que dans l'adaptation musculaire à l'exercice physique (Couffinhal *et al.*, 2001) (Scoazec, 2000).

Le processus d'angiogenèse intervient aussi dans des situations pathologiques telles que la croissance des tumeurs ou le développement de métastases dans lequel il joue un rôle indispensable. L'inflammation, la rétinopathie diabétique, les arthrites rhumatoïdes, le psoriasis sont autant d'autres situations dans lesquelles l'angiogenèse intervient.

Approximativement, 1 à 6.10^{13} cellules endothéliales forment les vaisseaux sanguins (figure 2) chez un adulte, représentant un poids d'environ 1 kg et couvrant une surface d'environ 1000 m^2. Le temps de renouvellement de ces cellules, normalement quiescentes, est de 1000 jours (Guinebretiere, 2004).

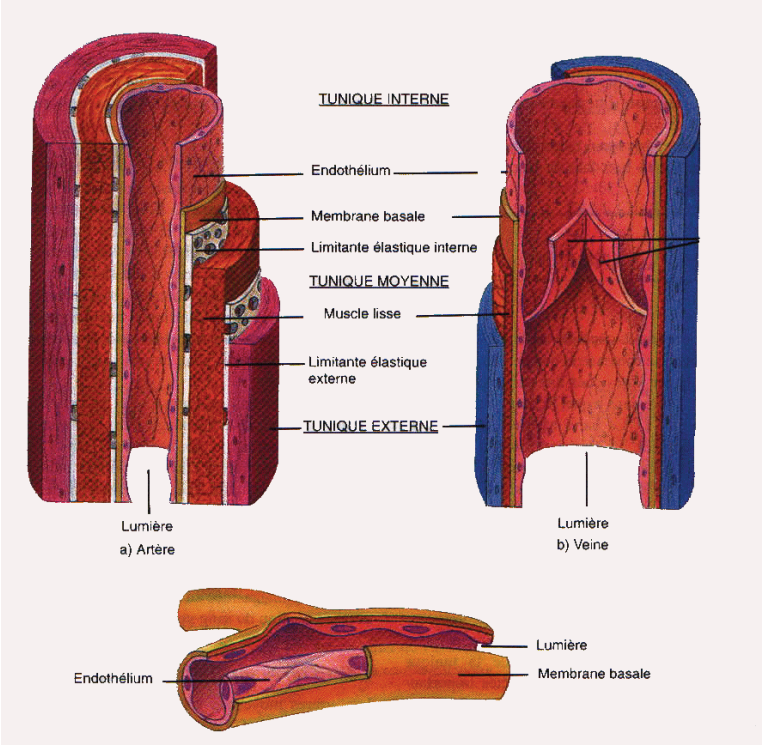


Figure 2 : Structure d'une artère, d'une veine et d'un capillaire

3. La vasculogenèse

La vasculogenèse intervient principalement au début de la vie, lors des premières étapes du développement embryonnaire.

Au tout début de la vie, en l'absence de réseaux vasculaires, les nutriments et l'oxygène indispensables à la croissance cellulaire parviennent aux tissus par diffusion simple. Puis, très rapidement, un réseau de vaisseaux sanguins se met en place à travers deux processus : la vasculogenèse et l'angiogenèse (Couffinhal *et al*., 2001).

Cellules endothéliales et hématopoïétiques partagent un progéniteur commun : l'hémangioblaste. Dans le sac embryonnaire, les hémangioblastes forment des agrégats au sein desquels les cellules internes se développent en précurseurs hématopoïétiques et la population cellulaire externe se différencie en cellules endothéliales. Puis, ces îlots angioblastiques vont migrer dans tout l'organisme avant de se différencier in situ et de former des plexus vasculaires primaires. Ce phénomène constitue donc ce que l'on appelle la vasculogenèse, caractérisée par la différenciation à partir du mésoderme, des hémangioblastes en angioblastes et enfin en cellules endothéliales. C'est ainsi que l'on obtient un réseau vasculaire primitif (figure 3) (Feron *et al*., 2007).

La différenciation des hémangioblastes puis des angioblastes est influencée par des facteurs de croissance tels que le VEGF-A (vascular endothelial growth factor-A), le FGF-2 (fibroblast growth factor-2) ou encore le TGF-β (transforming growth factor). La matrice extracellulaire et les intégrines, molécules permettant l'interaction entre les cellules endothéliales et la matrice extracellulaire, affectent également largement la vasculogenèse.

Comme expliqué précédemment, la vasculogenèse est donc principalement limitée aux étapes précoces de l'embryogénèse. Cependant, des précurseurs des cellules endothéliales ont été récemment identifiés dans le sang périphérique et dans la moelle osseuse chez l'adulte, ce qui prouve qu'une vasculogenèse peut aussi avoir lieu pour la formation de nouveaux vaisseaux. Ces progéniteurs endothéliaux ou EPC (endothelial progenitor cells), ou encore cellules progénitrices endothéliales (CPE), comporteraient des caractéristiques similaires aux angioblastes retrouvés dans l'embryon, et leur différenciation serait stimulée

par le VEGF, le G-MCSF (Granulocyte-macrophage colony stimulating factor) et le FGF-2 (Thèse Drogat, 2005).

Par conséquent, la vasculogenèse conduit essentiellement en un réseau endothélial immature et peu fonctionnel.

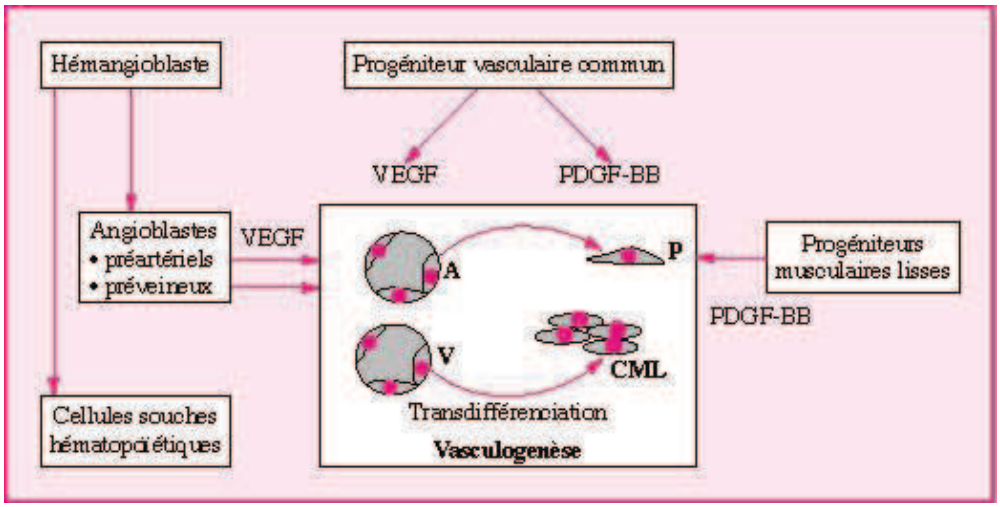


Figure 3 : Origine des cellules vasculaires

A : cellules endothéliales artérielles ; V : cellules endothéliales veineuses ; P : péricytes ; CML : cellules musculaires lisses ; VEGF : vascular endothelial growth factor ; PDGF : Platelet-derived growth factor (d'après Carmeliet, 2000)

4. L'angiogenèse

Comme nous l'avons vu en introduction, l'angiogenèse est un processus peu fréquent chez l'adulte. En effet, les cellules du réseau vasculaire sont à l'état quiescent et la croissance de nouveaux vaisseaux s'observe uniquement dans certaines situations physiologiques comme par exemple lors d'une activité physique soutenue. La diminution du taux d'oxygène présent dans les muscles provoque une hypoxie activant le processus d'angiogenèse.

L'angiogenèse intervient également lors du processus de réparation tissulaire. D'autre part, c'est une étape clé du cycle menstruel chez la femme. Durant la phase proliférative, le processus angiogénique est fortement augmenté dans la muqueuse utérine. De plus, une néovascularisation intense se met en place au niveau de l'endomètre en prévision de l'implantation de l'embryon. L'absence

de fécondation provoque une régression rapide du réseau vasculaire et de ce fait le début des menstruations (Thèse Drogat, 2005).

La croissance, l'expansion et le remodelage du plexus vasculaire primaire en un réseau vasculaire mature se produisent lors de trois types de processus d'angiogenèse :

- l'angiogenèse par bourgeonnement,
- l'angiogenèse par intussusception (Feron *et al.*, 2007),
- l'angiogenèse par recrutement des cellules souches endothéliales circulantes (figure 4) (Léopold, 2007).

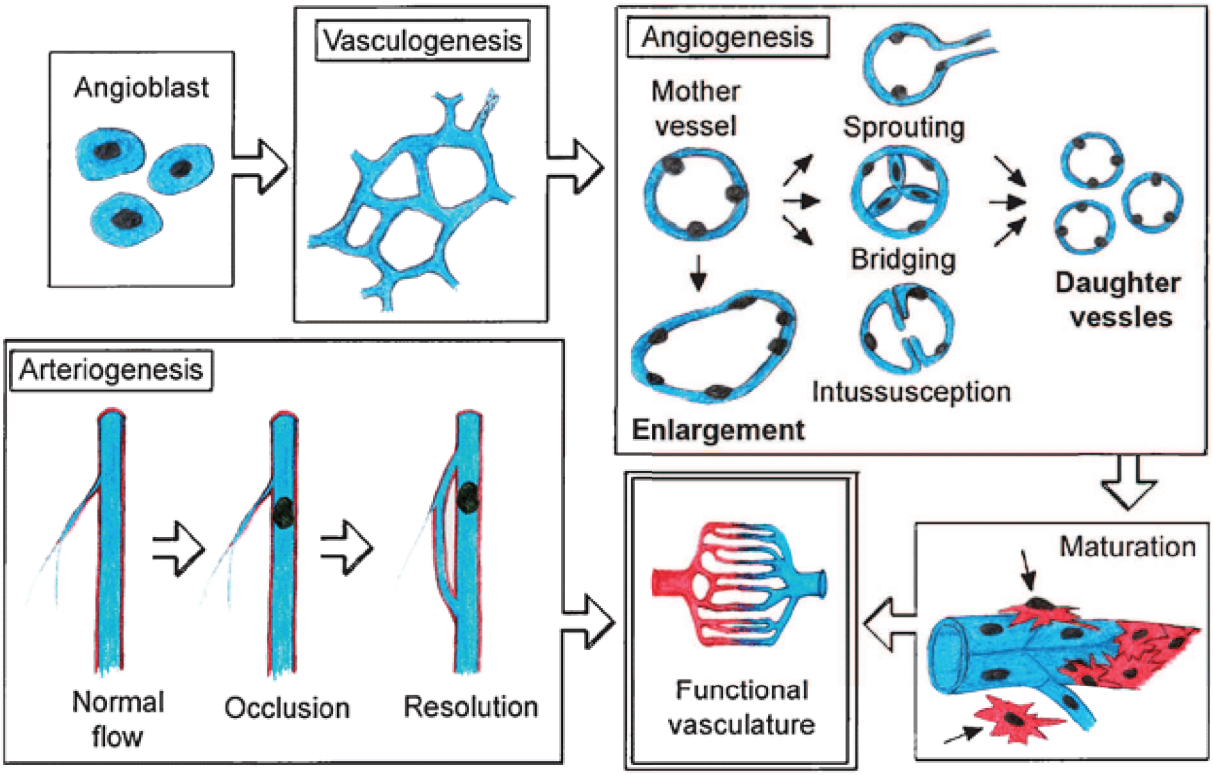


Figure 4 : Les différents types de processus d'angiogenèse

(d'après Korpisalo et Ylä-Herttuala, 2010)

4.1. L'angiogenèse par bourgeonnement

L'angiogenèse bourgeonnante est un des trois mécanismes de formation des vaisseaux chez l'adulte, c'est notamment celui qui est le mieux décrit.

Ce processus s'effectue selon plusieurs étapes qui sont sous la dépendance de facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques (figure 5). Les cellules endothéliales et les cellules tumorales sont les principaux acteurs de ce processus mais d'autres types cellulaires y participent également comme les cellules musculaires lisses, les péricytes, les cellules inflammatoires et les fibroblastes.

4.1.1. Vasodilatation, perméabilité endothéliale et support péri-endothélial

La première phase correspond à une perméabilisation vasculaire. On observe un relâchement des contacts intercellulaires inter-endothéliaux, de la matrice extracellulaire et un relâchement des cellules péri-endothéliales (péricytes), ceci sous l'influence du système Ang/Tie (angiopoïétine/tyrosine kinase with immunoglobulin and EGF homology domains). En effet, l'angiopoïétine-2 a été impliquée dans le détachement des cellules musculaires lisses et le relâchement de la matrice des vaisseaux. D'autre part, la redistribution des molécules intercellulaires de type VE-cadhérine permet aussi l'augmentation de la perméabilité vasculaire.

Les protéinases de type activateur du plasminogène (u-PA : urokinase-plasminogen activator) et métalloprotéinases (MMP matrix metalloproteinase), les molécules de la famille des héparinases influencent également l'angiogenèse en dégradant la matrice extracellulaire et la membrane basale et en permettant la libération de facteurs trappés dans cette matrice (FGF-2, VEGF). C'est ensuite sous l'action du VEGF-A (Vascular Endothelial Growth Factor-A) que va être induite une vasodilatation par l'intermédiaire de la production de monoxyde d'azote par la NO synthase.

Cette vasodilatation va permettre une extravasation de protéines plasmatiques telles que la fibrine qui va créer un support temporaire favorisant la migration, à travers la paroi vasculaire, des cellules endothéliales.

4.1.2. Prolifération et migration des cellules endothéliales

La matrice extracellulaire étant dégradée, de multiples facteurs vont venir influencer la prolifération des cellules endothéliales. Le VEGF et ses récepteurs sont des intervenants majeurs de cette prolifération et de la migration. L'angiopoïétine-1 quant à elle est impliquée dans le chimiotactisme des cellules mais elle permet aussi une maturation et une stabilisation des vaisseaux.

D'autre part, les intégrines αvβ3, αvβ5 et α5β1 qui sont impliquées dans les interactions cellule-cellule ou cellule-matrice, ainsi que des protéases comme les MMP-2 (matrix metalloproteinase-2) et MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) portent également une grande responsabilité dans la migration et l'étalement des cellules endothéliales.

C'est ainsi que, sous le contrôle de facteurs pro ou anti-angiogéniques, les cellules endothéliales vont migrer vers différents sites distants. Parmi les inhibiteurs, on retrouve l'angiostatine, l'endostatine, l'antithrombine 3, l'interféron-β, le leukemia inducible factor (LIF) et le PF-4 (Platelet factor-4).

4.1.3. Formation de la lumière

Lors de la dernière étape, on assiste à la formation des tubes endothéliaux avec l'allongement des cellules endothéliales. On a alors une corde de cellules qui vont s'assembler en un tube plein à l'intérieur duquel on retrouve une lumière ou lumen.

Le VEGF en association avec l'angiopoïétine-1 participe à la formation du tube et permet d'augmenter le diamètre luminal. Les intégrines α5β1 et αvβ3 sont également impliquées dans la formation de la lumière du tube vasculaire.

La thrombospondine-1 est un inhibiteur endogène de la formation de la lumière.

Les capillaires néoformés entrent alors dans une phase de stabilisation (Thèse Drogat, 2005) (Couffinhal *et al.*, 2001).

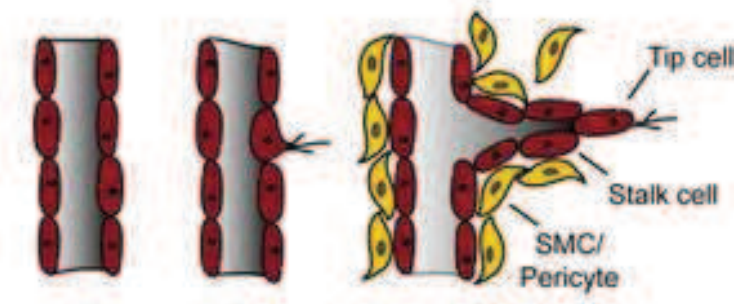


Figure 5 : Principales étapes de l'angiogenèse par bourgeonnement

(d'après Heinke *et al.*, 2012)

4.2. L'angiogenèse par intussusception

L'angiogenèse par intussusception diffère du processus d'angiogenèse par bourgeonnement car elle n'entraine pas la prolifération des cellules endothéliales pour former un nouveau vaisseau sanguin. Au contraire, le processus s'effectue par un réarrangement des structures préformées.

En effet, la phase initiale de l'intussusception correspond à une invagination de la paroi vasculaire à l'intérieur de la lumière, ce qui va créer une zone de contact entre la paroi invaginée et la paroi opposée du capillaire. Les jonctions entre les cellules endothéliales vont donc se réorganiser pour établir une séparation entre les deux parois qui sera envahie par des péricytes ou des myofibroblastes. Ces cellules vont ensuite synthétiser une matrice extracellulaire qui finalisera la séparation complète entre les deux vaisseaux fils. L'intussusception est donc un processus angiogénique au cours duquel un vaisseau existant peut se scinder en deux vaisseaux par compartimentation (figure 6). La diversification du diamètre des vaisseaux reste assurée ainsi que la hiérarchisation du réseau vasculaire (Thèse Drogat, 2005).

Le phénomène d'intussusception est régulé par des mécanismes moléculaires qui sont encore peu connus. Cependant les forces de cisaillement et de distensions ainsi que les facteurs PDGF-B (Platelet-derived growth factor-B), le VEGF-A et Ang-

1 (angiopoïétine-1) semblent jouer un rôle important dans ces mécanismes (Couffinhal *et al.*, 2001).

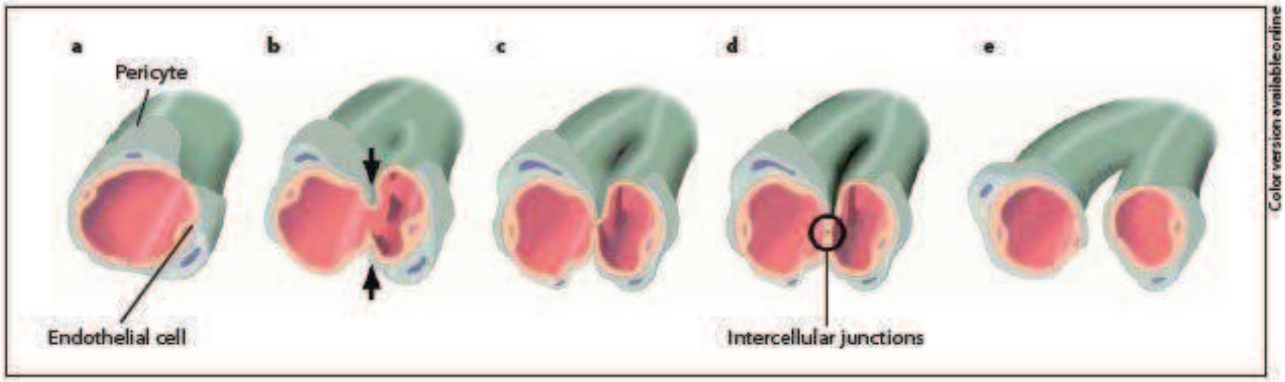


Figure 6 : Principales étapes de l'angiogenèse par intussusception
(d'après Spiegelaere *et al.*, 2012)

4.3. L'angiogenèse par recrutement de cellules souches endothéliales circulantes

Comme vu dans les chapitres précédents, il a été découvert dans les années 2000 une population de cellules, initialement appelées $CD34^+$, qui sont capables de se différencier en cellules ayant les caractéristiques de cellules endothéliales matures. Les scientifiques les ont donc nommées « cellules progénitrices endothéliales » (CPE) ou EPC.

Ces cellules sont libérées à partir de la moelle osseuse pour circuler dans le sang périphérique et vont constituer le foyer de sites de néovascularisation dans des lésions ischémiques ou tissulaires. On les retrouve notamment après un infarctus du myocarde (Léopold, 2007).

4.3.1. Mobilisation des CPE

Pour participer à la néovascularisation postnatale, certains signaux permettent de mobiliser les CPE à partir de la moelle osseuse afin qu'elles puissent se localiser dans des sites spécifiques et ainsi se différencier pour devenir des

cellules endothéliales matures. Les voies de signalisation sont encore mal connues mais certains éléments sont maintenant mieux élucidés.

L'ischémie est un des stimuli initiant la mobilisation des CPE qui résulte probablement de la régulation positive du VEGF. De plus, la mobilisation des CPE à la périphérie est également favorisée par le facteur dérivé du stroma (SDF-1 pour Stromal-Derived Factor-1), le facteur de croissance granulocytaire (G-CSF pour Granulocyte Colony-Stimulating Factor), l'angiopoïétine-1 et l'isoforme endothéliale de la synthase du monoxyde d'azote (eNOS pour endothelial Nitric Oxide Synthase). Les mécanismes par lesquels ces agents activent la mobilisation des CPE à partir de la moelle osseuse impliquent l'activation de la metalloprotéinase 9 matricielle (MMP-9), qui est exprimée par les cellules stromales de la moelle osseuse et qui déclenche le clivage et le relargage du c-Kit. Le c-Kit est un marqueur de membrane cellulaire exprimé par des cellules progénitrices, et sa libération semble être un évènement clé dans la mobilisation des CPE de la moelle osseuse (Léopold, 2007).

4.3.2. Homing des CPE

Suite à la mobilisation des CPE, la deuxième étape est ce que l'on appelle le « homing », qui correspond à la migration des CPE dans la circulation sanguine jusqu'au site de néovascularisation, processus qui nécessite une navigation active. Le processus est encore mal connu également mais on sait déjà qu'il est rapide, coordonné et constitué de plusieurs étapes. Le SDF-1 serait impliqué dans le homing de par son pouvoir chimio-attractant important pour les cellules souches hématopoïétiques. Il appartient à la famille CXC et se lie au récepteur CXCR4 (Chemokine CC motif Receptor 4). Il a été montré que les CPE expriment CXCR4 et migrent en réponse au SDF-1.

4.3.3. Rolling des CPE

D'autre part, le roulement (« rolling ») des CPE et leur adhésion ferme à la surface endothéliale est obtenu par l'action des intégrines. Enfin, l'activation des

métalloprotéinases-2 et 9 et de la cathépsine L déclenche l'invasion permettant d'avoir accès à l'espace extravasculaire (Léopold, 2007).

5. Survie et différenciation des cellules endothéliales

Une fois qu'un nouveau vaisseau est formé, les cellules endothéliales sont capables de survivre pendant des années à l'état quiescent. Plusieurs facteurs rentrent en compte pour assurer leur survie ou au contraire leur destruction.

Tout d'abord, le contact cellule-matrice via les intégrines et une stimulation par le VEGF est indispensable à la survie des cellules endothéliales. Toutes les forces hémodynamiques agissant sur le vaisseau sanguin sont également un facteur très important de la survie des cellules.

Cependant, il parait logique qu'une rupture des interactions entre la matrice et les cellules endothéliales induise l'apoptose ou la mort programmée des cellules. La destruction cellulaire est aussi la conséquence d'une diminution de l'apport en nutriments, ou bien par exemple de l'apparition d'un thrombus. Les inhibiteurs de l'angiogenèse jouent un rôle important dans l'apoptose endothéliale.

Afin de s'adapter aux demandes de la physiologie locale, les cellules endothéliales vont passer par une étape de différenciation qui va leur permettre d'acquérir des caractéristiques spécialisées. Elles pourront ainsi mieux s'adapter à l'organe dans lequel elles se situent. Par exemple, les cellules endothéliales des glandes endocrines impliquées dans l'échange de particules deviennent fenêtrées et discontinues. Cette transformation apparaît médiée par des interactions entre le VEGF et la matrice extracellulaire. Tandis que les cellules endothéliales tumorales sont anormales : multicouches, trous intercellulaires, formation de ponts … (Couffinhal *et al.*, 2001).

6. Remodelage vasculaire

Il persiste encore beaucoup d'interrogations sur les phénomènes qui guident les cellules endothéliales dans l'espace et leur façon de s'agencer pour former un réseau en trois dimensions. On sait cependant que le réseau vasculaire final

implique un remodelage important par l'intermédiaire de croissance, extension ou régression des différentes zones.

Le processus de remodelage est influencé par l'environnement tissulaire dans lequel les vaisseaux se situent. Par exemple, une augmentation des besoins en oxygène ou en nutriments provoquera la croissance des vaisseaux tandis que la diminution du flux sanguin entrainera leur régression. De plus, certains facteurs stimulant interviennent aussi comme le VEGF, le récepteur Tie-1, certaines molécules d'adhésion ou des intégrines (Couffinhal *et al*., 2001).

Le remodelage aboutit donc à l'obtention d'un réseau régulier et structuré constitué par la succession de vaisseaux de petits et gros diamètres.

7. Stabilisation du réseau vasculaire : myogenèse vasculaire

L'angiogenèse permet d'initier la constitution de nouveaux vaisseaux sanguins grâce aux cellules endothéliales mais celles-ci doivent être aidées par d'autres types cellulaires afin d'obtenir un capillaire stable. Les néovaisseaux sont stabilisés par deux processus faisant intervenir les cellules péri-endothéliales : le recrutement de cellules accessoires ou cellules murales et l'élaboration d'une matrice extracellulaire commune aux cellules endothéliales et aux cellules accessoires.

Parmi les cellules murales, on trouve les péricytes (figure 7) ainsi que les cellules musculaires lisses. L'origine des cellules musculaires lisses est complexe et dépend de leur localisation. Elles peuvent se différencier à partir de cellules endothéliales, à partir de cellules mésenchymateuses in situ, à partir de précurseurs de la moelle ou à partir de macrophages. Leur rôle consiste à stabiliser les vaisseaux naissants en inhibant la prolifération et la migration des cellules endothéliales et en stimulant la production de matrice extracellulaire. On appelle ça la myogenèse vasculaire. Par ailleurs, elles participent au contrôle hémostatique et protègent la structure endothéliale de la rupture ou de la régression.

Comme lors de toutes les étapes de l'angiogenèse, de nombreux facteurs entrent en compte pour la stabilisation vasculaire. Le PDGF-BB (Platelet-derived growth factor-BB), puissant chimio-attractant pour les cellules musculaires lisses, stimule la sécrétion du VEGF-A, ce qui induit le recrutement et la prolifération de

ces cellules sur le mur vasculaire. L'angiopoïétine-1 et le récepteur Tie-2 stabilisent les interactions entre cellules murales et cellules endothéliales. Le TGF-β et son récepteur ont été impliqués dans la maturation des vaisseaux. Ils inhibent la prolifération et la migration des cellules endothéliales, induisent une différenciation des cellules musculaires lisses et stimulent la production de matrice extracellulaire, favorisant ainsi la solidification des interactions cellules endothéliales-cellules murales. Il existe encore d'autres facteurs qui jouent un rôle dans la stabilisation et la maturation vasculaire, comme l'endogline, l'endothéline-1, le facteur tissulaire ou l'angiopoïétine-2 (Couffinhal *et al.*, 2001).

D'autres molécules ont pour conséquence la déstabilisation du réseau. L'angiopoïétine-2 détruit les interactions entre cellules endothéliales et cellules murales. Le vaisseau va alors régresser pour disparaitre si d'autres facteurs stimulants n'interviennent pas.

Les vaisseaux sont stabilisés et doivent alors acquérir une orientation artérielle ou veineuse (Thèse Drogat, 2005).

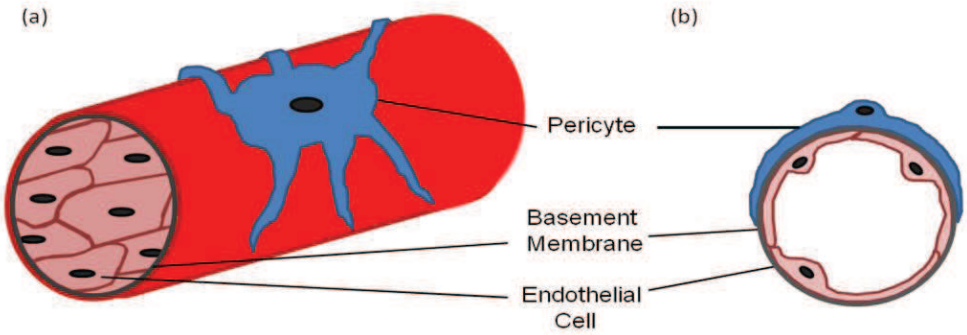


Figure 7 : Représentation schématique d'un péricyte sur un vaisseau sanguin

a) section longitudinale d'un vaisseau sanguin recouvert d'un péricyte, b) coupe transversale d'un vaisseau sanguin montrant les cellules endothéliales et le péricyte avec une membrane basale commune

(d'après Mills *et al.*, 2013)

8. L'artériogenèse

Les cellules murales recrutées vont donc s'organiser autour du réseau endothélial en proliférant le long des vaisseaux néoformés. Une couche musculaire se forme sur toute la surface des vaisseaux, ce qui leur permet d'acquérir des propriétés viscoélastiques et vasomotrices particulières. Ce phénomène est appelé artériogenèse.

Les mécanismes de l'artériogenèse ne sont pas tous élucidés mais les signaux seraient probablement identiques à ceux observés durant la myogenèse.

Suivant les organes dans lesquels se trouvent les vaisseaux, ils acquièrent des propriétés différentes afin de s'adapter aux besoins de l'organisme (Couffinhal *et al.*, 2001).

9. Modulation de la croissance vasculaire

L'angiogenèse est régulée par différents facteurs influençant la croissance des nouveaux vaisseaux.

9.1. Influence de l'hypoxie

Lorsqu'on observe une occlusion vasculaire, le tissu qui se situe en aval se retrouve alors en situation de stress hypoxique. Ce phénomène est corrélé à une diminution de la pression partielle en oxygène dans les vaisseaux, ce qui va stimuler la production d'un facteur de transcription : le facteur HIF (hypoxia inducible factor), qui coordonne la réponse à l'hypoxie en se fixant au HRE (Hypoxia Response Element). Ceci va entrainer des réponses locales comme l'accélération du débit cardiaque, une vasodilatation, hyperventilation et une production accrue d'érythrocytes grâce à la synthèse d'érythropoïétine. Le facteur HIF est aussi responsable de la stimulation de facteurs de croissance angiogéniques comme le VEGF, l'angiopoïétine-2, le PDGF ou le TGF. L'organisme va donc s'orienter en faveur d'une augmentation de la croissance des nouveaux vaisseaux pour palier à l'occlusion vasculaire néfaste (Feron *et al.*, 2007).

9.2. Influence de l'inflammation et recrutement de progéniteurs vasculaires

Outre l'hypoxie conséquente à l'occlusion vasculaire, deux autres facteurs rentrent en compte dans le processus de croissance vasculaire. A savoir : l'inflammation et le recrutement des progéniteurs vasculaires.

Des monocytes activés et des macrophages ainsi que la sécrétion de cytokines et de facteurs angiogéniques font parties de la réaction inflammatoire s'accompagnant de la croissance vasculaire.

Les précurseurs des cellules endothéliales (CPE) migrent de la moelle osseuse vers les tissus ischémiques pour venir se différencier en cellules endothéliales et participer à la croissance vasculaire.

9.3. Influence des facteurs mécaniques

L'angiogenèse apparaît influencée de façon importante par le flux sanguin. En réponse à une pression sanguine élevée, les artères coronaires présentent un recouvrement par les cellules musculaires lisses beaucoup plus précoce que les veines. L'artériogenèse et le remodelage des vaisseaux thoraciques, et notamment la formation de vaisseaux collatéraux après occlusion artérielle, dépendent aussi du flux sanguin (Couffinhal *et al*., 2001).

10. Les facteurs pro-angiogéniques

Un grand nombre de molécules ont été identifiées comme facteurs favorisant l'angiogenèse. Voici une description des principaux facteurs pro-angiogéniques les mieux connus et les mieux étudiés.

Avant de commencer, la liste non exhaustive de ces facteurs (Guinebretière, 2005) :

Angiogénine

Angiopoïétine -1, 2, 3, 4, 5

Epidermal growth factor (EGF)

Fibroblast growth factor (FGF) acide et basique

Hepatocyte growth factor (HGF) / SF (scatter factor)

Interleukine-8 (IL-8)

Placenta growth factor

Secreted protein acidic and rich in cystein (SPARC)

Transforming growth factor (TGF) α et β

Tumor necrosis factor (TNF) α

Vascular endothelial growth factor (VEGF)

VEGF-B, VEGF-C et VEGF-D, VEDF-A, VEGF-E

Granulocyte colony-stimulating factor

Proliférine

HIF

10.1. Le VEGF : vascular endothelial growth factor

Encore appelé facteur de perméabilité vasculaire, le VEGF est l'inducteur essentiel de l'angiogenèse physiologique et même pathologique, qui a pour cible les cellules endothéliales.

C'est un peptide homodimérique de 46 kDa (kiloDalton) liant l'héparine. La famille du VEGF regroupe des peptides étroitement apparentés associant les VEGF et le PIGF (placenta growth factor). Parmi les 5 homologues du VEGF, on trouve le VEGF-A qui comporte 4 isoformes et les VEGF-B, C, D et E. Les isoformes du VEGF-A sont générées par un épissage alternatif à partir d'un gène unique. On trouve ainsi : VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206. Les VEGF121 et VEGF165 sont sécrétés sous forme libre dans le milieu extracellulaire. Les formes VEGF189 et VEGF206 sont essentiellement détectées dans la matrice extracellulaire où elles sont stockées par liaison avec les protéoglycanes à héparine et à héparane sulfate.

Le VEGF possède 2 récepteurs spécifiques qui sont le Flt-1 (fms-like tyrosine kinase-1) ou VEGFR-1 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1) et Flk-1

(fetal liver kinase-1) ou KDR (Kinase domain tyrosine kinase, kinase insert domaincontaining receptor) ou encore VEGFR-2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2), situés essentiellement sur les cellules endothéliales, et coexprimés par les cellules endothéliales. Ce sont des récepteurs de type tyrosine kinase qui s'autophosphorylent après activation par leur ligand le VEGF. Chacun des deux récepteurs a un effet différent. En effet, VEGFR-1 stimule la migration cellulaire et semble associé de manière plus importante à des situations pathologiques telles que le cancer, l'inflammation et l'ischémie. Tandis que VEGFR-2 stimule la prolifération cellulaire et la survie des cellules endothéliales (Feron *et al*., 2007).

Il existe un troisième récepteur spécifique : le Flt-4 (fms-like tyrosine kinase-4) ou VEGFR-3 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-3) que l'on trouve uniquement au niveau des cellules endothéliales lymphatiques. C'est le récepteur spécifique du VEGF-C (Couffinhal *et al*., 2001).

Enfin, les neuropilines-1 et 2 constituent des corécepteurs aux VEGFR (figure8).

Le VEGF est sécrété sous l'influence de nombreux facteurs moléculaires, mécaniques… mais l'hypoxie est le principal inducteur de sa production. Il a un rôle indispensable dans le développement des vaisseaux sanguins durant l'embryogenèse mais aussi concernant la stabilisation et le maintien de l'homéostasie des vaisseaux à l'âge adulte (Scoazec, 2000).

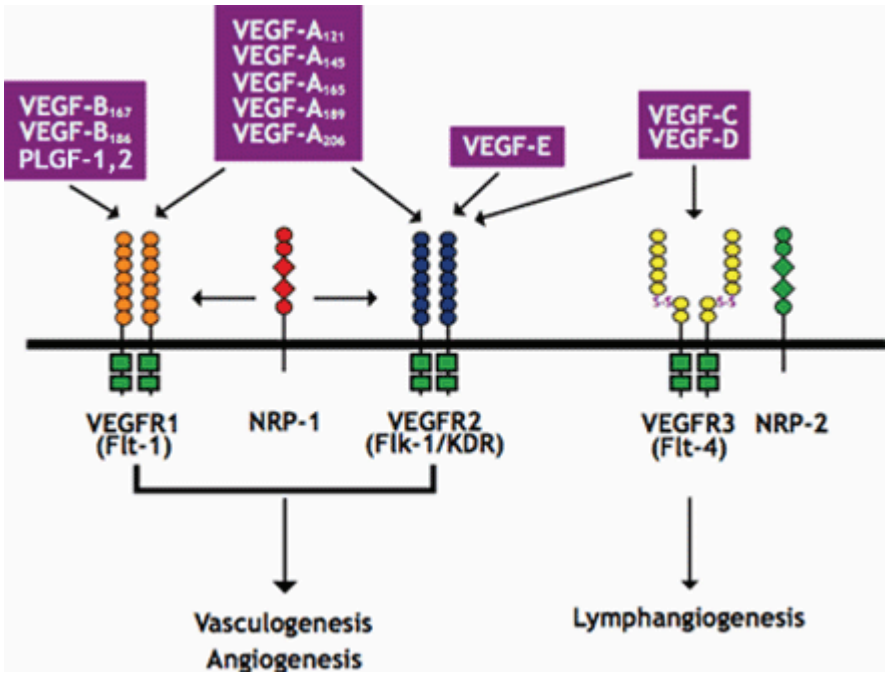


Figure 8 : Interactions entre les différents VEGF et leurs récepteurs

(d'après Hicklin et Ellis, 2005)

10.2. La famille des fibroblast growth factor (FGF)

La famille des FGF comprend au moins 9 polypeptides très homologues qui se lient à l'héparine avec une grande affinité.

Nous nous attarderons ici sur l'acidic FGF (aFGF ou FGF-1) et le basic FGF (bFGF ou FGF-2) qui sont les FGF les mieux décrits de cette famille.

10.2.1. L'acidic FGF

C'est un polypeptide qui induit la maturation des cellules endothéliales. Il est retrouvé au niveau de la matrice extracellulaire et des cellules endothéliales.

10.2.2. Le basic FGF

Comme son partenaire, le basic FGF est associé à la matrice extracellulaire ou aux cellules. De même, c'est un polypeptide qui comporte 4 isoformes produites par un seul gène. Une seule isoforme est intéressante dans cette famille, c'est

l'isoforme de 18 kDa. Celle-ci possède des effets qui sont proches du VEGF (et avec lequel il a été montré un effet synergique) et elle a la capacité d'induire seule un processus angiogénique complet (Scoazec, 2000).

On retrouve le bFGF dans de nombreuses cellules qu'elles soient normales ou tumorales. Par l'intermédiaire de la stimulation de l'expression des intégrines αv, le FGF-2 stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales (Couffinhal *et al.*, 2001).

10.2.3. Les autres FGF

Il a été identifié 4 autres polypeptides : le FGF-3, FGF-4, FGF-5 et le FGF-6. Ils sont en grande majorité présents dans les tissus anormaux où ils jouent un rôle important dans le développement tumoral, on les appelle donc des oncogènes.

10.2.4. Les récepteurs

Deux types de récepteurs sont associés aux FGF :

– les récepteurs de haute affinité : ils ont une activité tyrosine kinase entrainant la phosphorylation des phospholipases C,

– les récepteurs de basse affinité : ils se comportent comme des sites de stockage des FGF qui pourront être ensuite relargués si besoin.

Quatre récepteurs ont été identifiés. Le même récepteur peut fixer différents FGF et un FGF peut se fixer à différents récepteurs.

10.3. Les angiopoïétines

La famille des angiopoïétines comprend 4 individus : Ang-1 à 4. Nous décrirons ici Ang-1 et 2 car les deux autres sont moins bien connus.

10.3.1. L'angiopoïétine -1

L'angiopoïétine-1 joue en rôle essentiel dans le remodelage vasculaire ainsi que la stabilisation des nouveaux vaisseaux par le recrutement des péricytes et la stabilisation des interactions cellules endothéliales-matrice extracellulaire. Elle favorise également la différenciation et la survie des cellules endothéliales.

Elle est détectée au cours de l'embryogénèse et aussi au stade adulte dans de nombreuses cellules et notamment au niveau des cellules endothéliales.

L'Ang-1 se lie au récepteur Tie-2 qui lui est spécifique, et que l'on retrouve à la surface des cellules endothéliales. C'est un récepteur à activité tyrosine kinase (Scoazec, 2000).

10.3.2. L'angiopoïétine -2

La séquence de l'angiopoïétine-2 présente 85% d'homologie avec celle de l'Ang-1, et les deux facteurs possèdent un récepteur commun : la protéine Tie-2. Cependant, l'Ang-2 est un antagoniste naturel de l'Ang-1.

L'Ang-2 est exprimée au niveau des cellules endothéliales ou des péricytes, où elle inhibe les fonctions stabilisatrices de l'Ang-1, ce qui rend le tissu vasculaire plus réceptif aux différents facteurs angiogéniques qui le stimulent. En effet, l'angiopoïétine-2 potentialise le VEGF pour induire l'angiogenèse en empêchant que l'angiopoïétine-1 maintienne les interactions entre cellules endothéliales et matrice, mais il n'est pas capable à lui seul d'induire une angiogenèse. Par contre, en l'absence de VEGF, l'inhibition de l'activité de l'angiopoïétine-1 par l'angiopoïétine-2 conduirait à un détachement des cellules endothéliales de la matrice et des péricytes, à leur mort et à la régression des vaisseaux (Couffinhal *et al*., 2001) (Feron *et al*., 2007).

10.4. L'éphrine

L'éphrine joue en rôle dans l'angiogenèse mais aussi dans la vasculogenèse et la tumorigenèse. Elle intervient dans la formation de nouveaux capillaires, la

différenciation artério-veineuse, l'assemblage du réseau vasculaire, et la différenciation des cellules mésenchymateuses en cellules périvasculaires (cellules musculaires lisses, péricytes) indispensables à la maturation et la stabilité du vaisseau (Feron *et al.*, 2007).

Le récepteur fait partie de la famille des tyrosines kinase : Eph receptor (Ephrin receptor).

10.5. Les métalloprotéinases

Les métalloprotéinases participent à la dégradation de la membrane basale vasculaire puis de la matrice extracellulaire, permettant la migration des cellules endothéliales pour former de nouveaux vaisseaux.

Elles sont sécrétées par les cellules endothéliales sous forme de pro-enzymes (Feron *et al.*, 2007).

10.6. Le système HIF

Le mécanisme de ce système a déjà été décrit précédemment.

HIF-1 (hypoxia inducible factor-1) est un hétérodimère constitué de deux sous-unités HIF-1α et β. La sous-unité HIF-1α comporte une partie C-terminale porteuse d'un domaine sensible à l'oxygène. Dans des conditions de normoxie, elle est hydroxylée puis, rapidement ubiquitinylée par le facteur Von Hippel Lindau (VHL) et dégradée par le protéasome. HIF-1α est ubiquitaire.

En situation d'hypoxie, HIF-1α n'est pas hydroxylée et est donc protégée de la dégradation. Elle va alors migrer dans le noyau et elle s'hétérodimérise avec HIF-1β pour induire l'expression de ses gènes cibles, notamment les gènes codant pour le VEGF, le VEGFR-1, la NRP-1 (neuropiline-1), l'Ang-2, Tie-2, le TGF-β, le PDGF, l'endothéline-1, l'EPO (érythropoïétine), et différentes enzymes de la glycolyse (figure 9) (Feron *et al.*, 2007).

Nous avons décrit les principaux et plus connus facteurs pro-angiogéniques mais la liste de ces agents n'est pas exhaustive. De plus, elle s'agrandit au fur et à mesure des découvertes des mécanismes de l'angiogenèse.

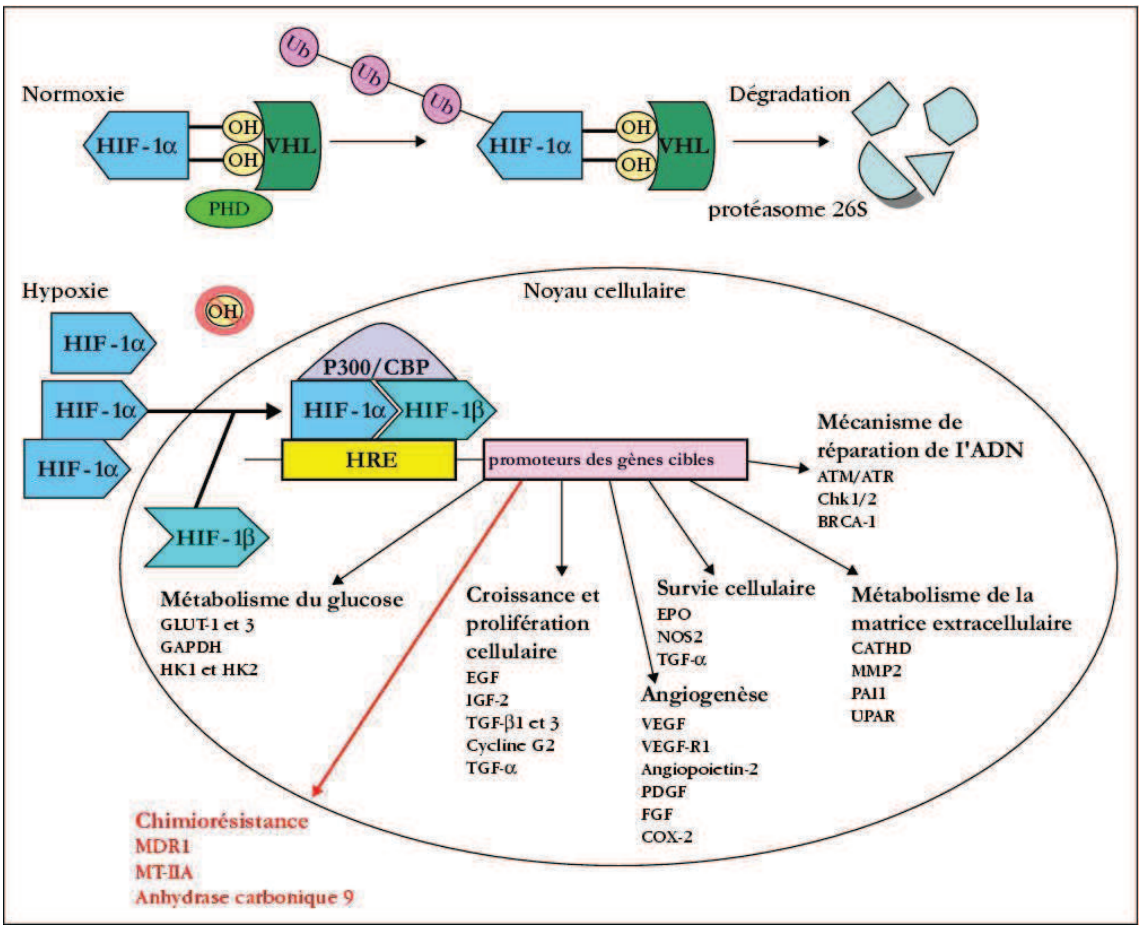


Figure 9 : Mécanismes de régulation de l'activité du facteur de transcription HIF-1 et influence sur l'angiogenèse

(d'après Trédan *et al.*, 2008)

11. Les facteurs anti-angiogéniques

Les facteurs pro-angiogéniques voient leurs effets contrebalancés par ceux des facteurs anti-angiogéniques. C'est cet équilibre qui régule le processus entier d'angiogenèse. A l'état normal, c'est l'inhibition qui prédomine toujours. Un stimulus angiogénique peut intervenir mais la durée d'action des activateurs est brève et les facteurs inhibiteurs reprennent très vite le dessus.

De même que pour la catégorie précédente, nous ne citerons que quelques-uns de ces facteurs les plus communs.

Voici une liste non exhaustive de ceux-ci (Guinebretière, 2005) :

Angiostatine

Angiopoïétine-2

Endostatine

Facteur 4 plaquettaire

Fragments de la prolactine

Fragment de la matrix metalloprotease-2 (MMP-2)

Inhibiteurs tissulaires des metalloprotéinases (TIMP)

Interférons α et β

Protamine

Transforming growth factor (TGF)

Trombospondine-1 et 2

Fragment hémopexine

Endorépelline

α2-antiplasminogène

Fragment du facteur de croissance épithélial

Kininogène de haut PM

Vasostatine

Restine

11.1. Inhibiteurs naturels de l'angiogenèse

11.1.1. La trombospondine

Localisée surtout au niveau périvasculaire, la trombospondine est une protéine de la matrice extracellulaire.

Elle bloque la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales, ce qui entraine la stabilisation des vaisseaux (Couffinhal *et al.*, 2001).

11.1.2. Les interférons

Les interférons font partie des facteurs inhibant l'angiogenèse, cependant, ils ne sont pas capables de provoquer seuls la régression importante de l'angiogenèse. Ils empêchent la migration des cellules endothéliales et interviennent dans le blocage de la production ou de l'efficacité des facteurs angiogéniques (Couffinhal *et al.*, 2001).

11.1.3. Les inhibiteurs des metalloprotéinases

Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice (TIMP) bloquent la dégradation de la matrice extracellulaire et inhibent ainsi l'angiogenèse.

On les retrouve au niveau de nombreuses cellules et de nombreux tissus. Ils empêchent la prolifération et la migration des cellules tumorales et des cellules endothéliales (Couffinhal *et al.*, 2001).

11.1.4. L'angiostatine

L'angiostatine est un petit peptide qui provient du clivage enzymatique du plasminogène circulant.

Ce fragment du plasminogène inhibe spécifiquement la prolifération et la migration des cellules endothéliales.

Il a été montré que l'inactivation du gène du plasminogène n'entraine pas d'effet sur la morphogenèse vasculaire. La conclusion à en tirer est donc que l'angiostatine n'a pas d'effet dans l'angiogenèse normale. En revanche, elle a des propriétés inhibitrices très puissantes sur l'angiogenèse tumorale. C'est donc un inhibiteur dérivé des tumeurs (Couffinhal *et al.*, 2001).

11.1.5. L'endostatine

Comme son précédent, l'endostatine est un petit peptide qui provient du clivage du collagène XVIII.

Elle inhibe la prolifération des cellules endothéliales.

De même que l'angiostatine, cette molécule dérivée des tumeurs induit l'apoptose des cellules endothéliales tumorales. Il a été démontré un effet synergique de l'association de l'angiostatine avec l'endostatine dans la régression des tumeurs (Couffinhal *et al*., 2001).

11.2. Inhibiteurs synthétiques de l'angiogenèse

L'angiogenèse peut être inhibée par des anticorps anti-intégrines. Celles-ci sont impliquées notamment dans la migration et la prolifération cellulaire.

Au même titre que les anticorps, des antagonistes des intégrines provoqueront l'arrêt de la croissance des nouveaux vaisseaux. Les cellules endothéliales des vaisseaux matures préexistants ne seront quant à elles pas touchées.

En ce qui concerne la synthèse d'inhibiteurs de l'angiogenèse, les cibles les plus approfondies sont celles du VEGF et du FGF. Parmi les diverses stratégies étudiées, il a été synthétisé des anticorps bloquants humanisés qui permettent de stopper la production de nouveaux vaisseaux.

11.3. Autres facteurs inhibiteurs

La fumagilline, qui est antibiotique, inhibe la prolifération des cellules endothéliales.

Des études sont en cours concernant le thalidomide, afin de mieux comprendre son activité anti-angiogénique.

Partie II : L'angiogenèse tumorale

1. Importance de l'angiogenèse dans la croissance tumorale

En pathologie tumorale, c'est bien connu à présent, l'angiogenèse constitue une étape essentielle de l'invasion locale des tumeurs et de leur dissémination métastatique. C'est grâce à de nombreux travaux dans ce domaine qu'en 1971, le professeur Folkman, un des fondateurs des acquis sur l'angiogenèse physiologique, a pu démontrer que les vaisseaux se développant au sein d'une tumeur étaient indispensables à l'expansion de cette même tumeur (figure 10).

En effet, une tumeur ne peut dépasser 1 à 2 mm de diamètre si elle ne peut pas produire une néovascularisation. Les vaisseaux sanguins lui sont indispensables car ils vont assurer un apport d'oxygène, de nutriments favorables à sa croissance, ainsi que l'élimination des déchets cellulaires. Ce processus requière une cascade de réactions biochimiques mettant en œuvre de très nombreuses molécules aussi bien activatrices qu'inhibitrices (Couffinhal *et al.*, 2001).

Il a été observé que la régression des vaisseaux tumoraux engendre la diminution de la masse tumorale jusqu'à devenir une sphère avasculaire de 1 à 2 mm, ce qui permet d'affirmer que la croissance vasculaire est un facteur primordial dans l'expansion tumorale. D'où la nécessité d'approfondir les recherches sur le développement d'inhibiteurs de l'angiogenèse.

D'autre part, il a été découvert également que l'angiogenèse facilite la formation de métastases. En effet, on remarque que les tumeurs richement vascularisées ont un potentiel métastatique plus important que les tumeurs dans lesquelles il n'y a pas de phénomène angiogénique. L'angiogenèse tumorale aboutit à la formation de vaisseaux sanguins très perméables et immatures, ayant une petite membrane basale et peu de jonctions intercellulaires, ce qui facilite le passage des cellules tumorales dans la circulation sanguine. Les métastases vont ainsi pouvoir aller se loger dans d'autres organes (Scoazec, 2000).

Une diminution de l'angiogenèse au sein d'une tumeur métastatique entraîne une diminution du nombre de cellules diffusées dans la circulation et donc une diminution du nombre de colonies métastatiques.

Par conséquent, les études cliniques humaines ont démontré une corrélation entre l'angiogenèse et le nombre de métastases, ceci jouant en faveur d'un mauvais pronostic du cancer : plus les tumeurs sont vascularisées, plus la dissémination des métastases est importante. Cette affirmation peut aussi être rapportée à la diminution de la survie des patients.

Un des espoirs thérapeutiques dans le traitement des cancers réside donc dans la recherche de médicaments anti-angiogéniques.

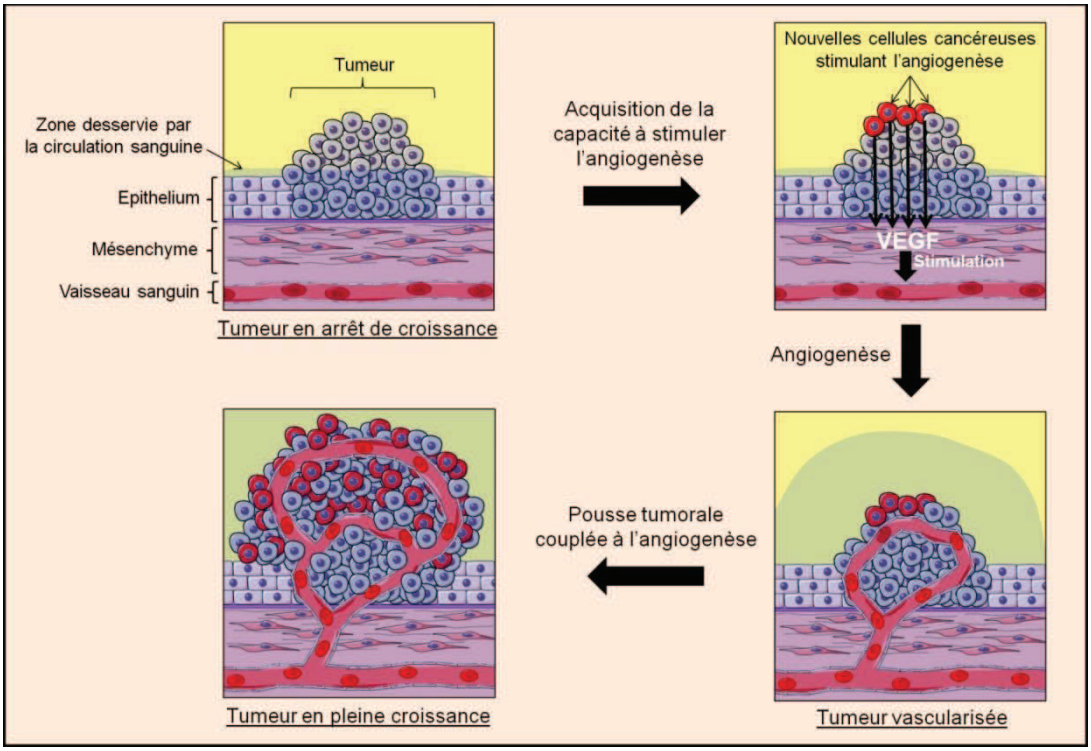


Figure 10 : Les différentes étapes de l'angiogenèse tumorale

(d'après Ségala, 2012)

2. Généralités sur l'angiogenèse tumorale

Comme expliqué précédemment, les chercheurs savent maintenant que le développement tumoral est lié à la formation de nouveaux vaisseaux mis au profit de la tumeur (Ravaud, 2007). L'angiogenèse tumorale est définie comme la formation de nouveaux vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants sous

l'influence, directe ou indirecte, d'un foyer tumoral, et destinés à répondre aux besoins métaboliques de la tumeur.

Lorsque la tumeur atteint une taille critique qui est de 1 à 2 mm de diamètre, celle-ci va alors devoir acquérir la capacité de déclencher une angiogenèse pour entrainer la continuité de sa croissance. Les cellules cancéreuses sont au départ dans un état «quiescent», et vont ensuite devenir une lésion vascularisée. Cette transformation s'effectue sous l'influence de différents facteurs pro-angiogéniques sécrétés par les cellules cancéreuses elles-mêmes ainsi que les cellules péri-tumorales.

Les facteurs identifiés dans les mécanismes d'activation ou de contrôle de l'angiogenèse tumorale sont en partie les mêmes que ceux intervenant dans l'angiogenèse physiologique. Il est encore difficile aujourd'hui de trouver des marqueurs spécifiques. Cependant, l'angiogenèse tumorale diffère complètement de l'angiogenèse normale aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif. En effet, on observe une organisation et des dimensions vasculaires anarchiques mais également une perméabilité vasculaire accrue. Ceci n'empêche pas la création d'échanges suffisants entre les cellules cancéreuses et les cellules normales, ce qui engendre la croissance et la dissémination de la tumeur.

La place de l'angiogenèse dans l'histoire d'une tumeur a donc été entièrement reconnue. Ceci annonce le début de nombreuses tentatives d'applications cliniques dont deux pistes principales ont été explorées :

- développer de nouveaux marqueurs pronostiques,
- développer de nouvelles stratégies thérapeutiques anti-tumorales visant à inhiber les processus d'angiogenèse tumorale.

A l'heure actuelle, l'angiogenèse tumorale constitue donc un des thèmes majeurs de la recherche en cancérologie (Scoazec, 2000).

3. Le « switch angiogénique »

L'angiogenèse tumorale résulte de la rupture d'un équilibre complexe entre facteurs activateurs et inhibiteurs. Il arrive un moment crucial dans l'histoire naturelle de la tumeur, où sa progression et sa propagation ne peuvent perdurer

sans l'induction d'une angiogenèse. C'est ce qu'on appelle le « switch angiogénique » ou « commutation angiogénique ». Cette étape va déterminer deux grandes phases essentielles dans le développement tumoral.

La première phase du développement de la tumeur se situe strictement in situ. Cette phase dite pré-invasive n'a pas besoin de vascularisation propre. Tant que la tumeur ne dépasse pas 1 à 2 mm de diamètre, elle va s'approvisionner grâce au réseau vasculaire normal situé dans le tissu où elle se développe. Elle puise donc son oxygène et ses nutriments par simple diffusion passive.

La deuxième phase intervient très tôt puisqu'arrivée à une taille de 1 à 2 mm de diamètre, le processus de nutrition par diffusion passive ne suffit plus au bon développement de la tumeur. C'est à ce moment-là que s'opère l'étape la plus importante de l'angiogenèse tumorale : le « switch angiogénique ». En position initiale, l'effet des molécules pro-angiogéniques est contrebalancé par celui des molécules anti-angiogéniques. Lorsque la commutation se produit, l'équilibre est rompu en faveur des facteurs pro-angiogéniques. Une partie des cellules tumorales acquière alors la capacité de former un réseau de néovaisseaux à partir des vaisseaux normaux initiaux, ceci sous l'influence de la sécrétion de nombreux facteurs pro-angiogéniques appelés TAF pour « tumor angiogenic factors ». On observe la prolifération des cellules vasculaires, leur migration puis leur agencement en vaisseaux fonctionnels par une stabilisation et un modelage des structures cellulaires. La tumeur va ainsi pouvoir s'accroitre de plus en plus en sécrétant toujours davantage de facteurs angiogéniques, ce qui va lui permettre de devenir localement invasive et secondairement facilitera sa dissémination métastatique. Le switch angiogénique marque donc l'entrée de la tumeur dans le stade invasif.

L'invasion vasculaire est donc l'étape suivante. Les cellules tumorales s'insinuent entre les cellules endothéliales ou dans les lymphatiques et pénètrent dans la circulation. Elles vont pouvoir aller se déposer à distance dans différents autres organes pour former des métastases qui reproduiront le même schéma en induisant une angiogenèse (Tobelem, 2007).

L'induction de la commutation angiogénique a donc pour conséquence l'augmentation de la densité vasculaire tumorale. Cependant, dans certaines tumeurs, en particulier les tumeurs du sein, des facteurs pro et anti-angiogéniques

peuvent être augmentés et il faut donc prendre en compte le rapport entre les quantités relatives de ces facteurs.

3.1. Les facteurs induisant l'angiogenèse tumorale

Parmi les TAF, on retrouve le FGF-2, VEGF-A, le TGF-β, l'EGF ou le TNF-α, les angiopoïétines, les metalloprotéinases et les activateurs du plasminogène (Tobelem, 2007).

Les molécules endogènes inhibitrices de l'angiogenèse jouent également un rôle, comme la thrombospondine, l'angiostatine, l'endostatine, et le facteur plaquettaire-4.

Tous ces facteurs interviennent à différentes étapes de la formation vasculaire (Thèse Drogat, 2005).

3.2. Mécanismes adaptatifs induisant le switch angiogénique

L'équilibre entre facteurs activateurs et inhibiteurs est rompu pour l'induction de l'angiogenèse tumorale. Au départ, la sécrétion de facteurs activateurs est spontanée et continue puis elle devient consécutive à l'état inflammatoire de certaines cellules tumorales (Scoazec, 2000).

En effet, l'hypoxie ou la nécrose des cellules tumorales va entrainer la sécrétion abondante de ces facteurs. L'environnement défavorable au développement de la tumeur engendre une réponse adaptative des cellules tumorales. Il faut savoir que l'hypoxie est presque constante dans les tumeurs, le système HIF est donc majeur dans l'angiogenèse tumorale.

L'hypoxie va activer le système HIF. En situation d'hypoxie, il n'y a pas d'hydroxylation de la protéine HIF comme à l'état de normoxie et les sous unités α et β d'HIF peuvent s'associer. La translocation nucléaire d'HIF-α + β permet son interaction avec des promoteurs de gènes codant les facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF ou le PDGF. Les conditions d'ischémie inhibent également la sécrétion des facteurs anti-angiogéniques. La conséquence de ce processus est bien

sûr la formation de néovaisseaux qui apporteront l'oxygène déficitaire et nécessaire à la croissance tumorale (Ravaud, 2007).

De plus, d'autres agents peuvent déclencher le switch angiogénique. En font partie certains autres stress métaboliques comme l'hypoglycémie ou l'acidification du milieu, ou encore les stress mécaniques ou « shear stress ».

3.3. Mécanismes génétiques induisant le switch angiogénique

L'apparition du pouvoir angiogénique dans les tumeurs peut également être liée à un déterminisme génétique. C'est-à-dire que la capacité à produire des facteurs pro-angiogéniques est en rapport avec certaines altérations génétiques.

Il existe des oncogènes qui sont plus ou moins responsables de la commutation angiogénique. Si ceux-ci sont activés ou s'il se passe une inactivation des anti-oncogènes, il se produira alors une augmentation de la production des TAF et en parallèle une diminution des facteurs anti-angiogéniques au niveau des cellules tumorales.

Un des exemples les plus étudiés est celui du gène p53. Il a été démontré dans différents types de tumeurs présentant une mutation de gène p53 que le taux de VEGF y est plus élevé et par conséquent que la densité vasculaire y est plus importante que dans les tumeurs ne présentant pas la mutation de p53. En effet, le gène suppresseur de tumeur p53 influence indirectement la commutation angiogénique en augmentant l'expression du facteur anti-angiogénique TSP-1 (Thrombospondine-1), en modulant les effets du facteur HIF-1α et en inhibant la transcription du VEGF-A et de la protéine FGF-BP (FGF binding-protein). Il existe donc un lien étroit entre p53, synthèse du VEGF et angiogenèse (Scoazec, 2000).

Nous pouvons également citer l'exemple de l'oncogène Bcl-2 (B-cell lymphoma-2). Retrouvé dans les cellules tumorales, il induit une augmentation du VEGF-A au vu de ses propriétés anti-apoptotiques. Il en est de même pour l'activation des oncogènes K-ras et H-ras (Kirsten and Harvey strains of rat sarcoma viruses) qui augmentent le VEGF-A, favorisant ainsi le switch angiogénique.

3.4. Conclusion sur le switch angiogénique

À l'état initial, le taux de prolifération des cellules endothéliales est faible, estimé aux environs d'une division cellulaire tous les dix ans. L'activation de l'angiogenèse multiplie d'un facteur 50 à 200 le taux de prolifération vasculaire. Toutefois celui-ci reste inférieur au taux de prolifération de la composante épithéliale carcinomateuse de la tumeur. Le switch angiogénique est une étape clé de la croissance tumorale.

4. Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'angiogenèse tumorale

La vascularisation tumorale s'effectue à partir de vaisseaux normaux préexistants, par la formation de nouveaux vaisseaux qui viendront apporter les éléments nutritifs indispensables à la croissance de la tumeur. Parallèlement à l'angiogenèse physiologique normale, l'angiogenèse tumorale se divise en quatre étapes que nous allons détailler : bourgeonnement, migration, organisation et remodelage.

Tout d'abord, au niveau des capillaires et des veinules, commence la phase de bourgeonnement. Celle-ci correspond à l'apparition de petites masses de cellules endothéliales sur la face externe des vaisseaux préexistants, à proximité du foyer tumoral. Ces cellules sont activées et deviennent capables de dégrader localement la lame basale vasculaire, grâce à l'induction de l'expression de l'activateur du plasminogène u-PA et de plusieurs métalloprotéinases. Les bourgeons endothéliaux néoformés vont ensuite se creuser pour former une lumière.

La deuxième phase représente la croissance des bourgeons à la surface des vaisseaux ainsi que leur migration vers le foyer tumoral qui envoie des stimuli angiogéniques. Les cellules endothéliales situées à l'extrémité du bourgeon endothélial synthétisent et sécrètent des protéases qui leur permettent de dégrader la matrice extracellulaire normale située à leur contact. Certaines des protéines dégradées seront utilisées comme support de migration par les cellules endothéliales activées. Simultanément, les cellules endothéliales activées

synthétisent et sécrètent de nouvelles protéines extracellulaires, comme la fibronectine et la ténascine, qui seront également utilisées pour faciliter la migration cellulaire. Le VEGF initie également la multiplication et la migration des cellules endothéliales. Enfin, pour interagir avec les protéines de leur nouvel environnement, les cellules endothéliales activées expriment de nouveaux récepteurs à la matrice extracellulaire. Les plus caractéristiques sont les intégrines contenant la chaîne αv (αvβ3 et αvβ5 notamment), absentes des cellules endothéliales quiescentes et induites à la surface des cellules endothéliales activées (Guinebretière, 2005).

L'organisation constitue la troisième phase de l'angiogenèse tumorale. Les nouveaux vaisseaux s'anastomosent les uns aux autres et acquièrent leur architecture fonctionnelle pour former un réseau à l'intérieur du foyer tumoral. C'est en fait une phase de stabilisation pendant laquelle l'équilibre entre facteurs activateurs et inhibiteurs de l'angiogenèse revient à la normal. On observe une réorganisation de la paroi vasculaire, avec le recouvrement par une lame basale riche en laminine et en collagène IV. L'accolement de péricytes est régulé par l'angiopoïétine-1 et le PDGF.

Pour finir, c'est l'étape de remodelage qui va permettre l'accompagnement la croissance du foyer tumoral. Il se produit un turn-over permanent des vaisseaux péritumoraux entre la disparition de certains et le développement d'autres. Cette évolution constante va permettre l'adaptation constante du réseau vasculaire aux besoins du foyer tumoral (Scoazec, 2000).

Récemment, il a été identifié dans le sang des cellules endothéliales circulantes quiescentes mais aussi activées et des progéniteurs vasculaires qui pourraient intervenir également lors de la formation des néovaisseaux. Leur taux augmente parallèlement à celui du VEGF sérique et diminue en cours de traitement lorsque la tumeur régresse.

5. Les autres mécanismes

Le switch angiogénique se traduit habituellement par la formation de nouveaux vaisseaux par les deux mécanismes principaux d'angiogenèse qui sont le

bourgeonnement ou l'intussusception. Cependant, il existe des tumeurs qui se développent dans des organes très richement vascularisés. Dans ce cas de figure, elles n'ont pas besoin d'induire une angiogenèse pour proliférer. Trois autres mécanismes interviennent alors pour permettre à la tumeur de constituer de nouveaux vaisseaux nécessaires à l'apport d'oxygène et de nutriments (figure 11).

La tumeur peut entourer les vaisseaux sanguins préexistants. C'est le processus de co-option vasculaire (« vascular co-option »). On parle aussi de vaisseaux cooptés.

Le deuxième phénomène est celui de l'imitation de la vasculogenèse (« vasculogenic mimicry »). Les cellules tumorales acquerraient des caractéristiques phénotypiques de type endothélial, ce qui leur permettrait de former des vaisseaux sanguins tumoraux à la place des cellules endothéliales dans des cancers de la peau et des ovaires. On peut également trouver des « vaisseaux mosaïques » quand les cellules tumorales forment des vaisseaux en association avec des cellules endothéliales (Thèse Drogat, 2005).

Enfin, on peut assister au recrutement de progéniteurs endothéliaux à partir de la moelle osseuse. Après leur transport via la circulation sanguine, ceux-ci vont être incorporés dans la paroi des vaisseaux tumoraux en formation.

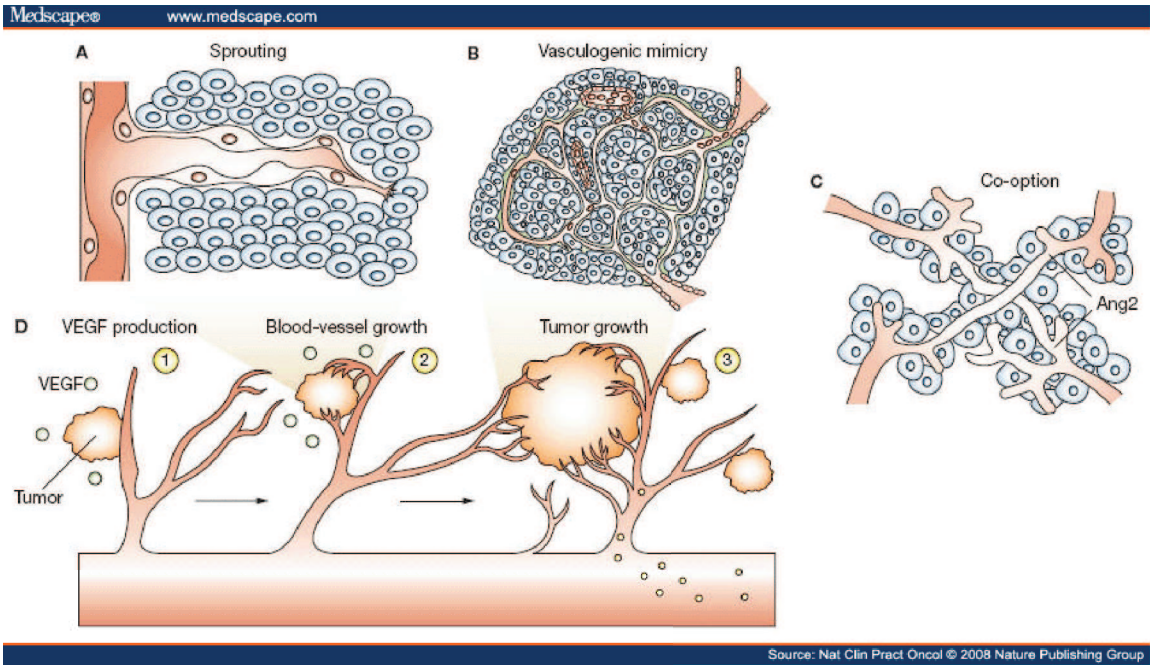


Figure 11 : Différents mécanismes induisant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins tumoraux

A : angiogenèse par bourgeonnement ; B : imitation de la vasculogenèse ; C : co-option vasculaire ; D : développement de la tumeur

(d'après Spannuth *et al.*, 2008)

6. Caractéristiques des vaisseaux tumoraux

L'angiogenèse tumorale mime l'angiogenèse physiologique pour subvenir aux besoins de la tumeur. Cependant le processus tumoral se distingue nettement du processus normal car les vaisseaux néoformés sont profondément anormaux, caractérisant une architecture vasculaire immature et anarchique (tableau 1).

La vascularisation est désordonnée, fragile, lâche et les arborisations sont irrégulières. Le diamètre vasculaire est inégal. La paroi vasculaire est bordée de cellules endothéliales souvent fenêtrées, ce qui crée une paroi interrompue à de nombreux endroits, d'autant plus que les jonctions entre les cellules endothéliales sont élargies. La membrane basale est irrégulière, discontinue ou même parfois absente.

Les péricytes ne forment pas un réseau organisé et ils sont d'ailleurs rares ou absents, comme les myocytes. Les vaisseaux lymphatiques sont absents ou anormaux. Le débit sanguin est plus faible. La pression dans les vaisseaux est mal régulée et anormalement faible. Enfin, contrairement aux cellules endothéliales normales qui sont quiescentes, celles des tumeurs se renouvellent constamment via la sécrétion de VEGF, elles sont donc protégées de l'apoptose (Guinebretière, 2005).

Il faut noter que le réseau vasculaire néoformé n'est pas identique selon les différents types de tumeurs : la richesse et l'organisation peuvent être quelque peu différentes. Ces différences suggèrent que les mécanismes d'activation pourraient également différer selon le type et la localisation anatomique de la tumeur (Scoazec, 2000).

La formation de ce réseau vasculaire complètement irrégulier et anarchique permet aux tumeurs d'obtenir une autonomie par rapport à la régulation de la circulation sanguine normale. Ainsi, la tumeur va pouvoir continuer à croitre sans avoir à supporter les contraintes exercées par l'environnement dans lequel elle se trouve.

Tableau 1 : Principales différences qualitatives entre la vascularisation normale et la néo-angiogenèse tumorale

(d'après Tobelem, 2007)

Vascularisation normale adulte	Néovascularisation tumorale
Quiescence	Remodelage permanent
Arborescence organisée, hiérarchisée	Réseau anarchique, excès de communicantes et d'anastomoses
Diamètre régulier	Diamètre irrégulier
Débit régulier, équilibre des échanges gazeux et ioniques	Débit turbulent, chaotique, présence de régions hypoxiques et hyperacides
Pression interstitielle faible	Pression intratumorale élevée
Vaisseaux matures	Vaisseaux immatures
Tonus vaso-actif régulé	Perte du tonus vaso-actif
Présence de péricytes organisés	Absence de péricytes
Endothélium continu, étanche	Endothélium fenestré, discontinu, perméable
Membrane basale continue	Membrane basale discontinue ou absente
Cellules endothéliales bien différenciées	Mosaïque de cellules endothéliales et de cellules tumorales
Jonctions interendothéliales serrées	Jonctions interendothéliales lâches
Autonomie de survie des cellules endothéliales	Survie dépendante du VEGF
Récepteurs au VEGF en nombre normal	Récepteurs au VEGF en nombre augmenté

Chapitre II : Le VEGF

Partie I : Généralités sur le VEGF

1. Introduction

Le VEGF a été beaucoup étudié lors des trente dernières années, ce qui a permis de mettre en évidence ses mécanismes d'action ainsi que ses principaux rôles.

Le VEGF est un facteur de croissance qui a été isolé à partir de cellules pituitaires bovines. Au départ, il a été démontré que le VEGF est également sécrété par les tumeurs au sein desquelles il induit une perméabilité vasculaire. Par conséquent, on lui a attribué le nom de VPF (Vascular Permeability Factor), ou facteur de perméabilité vasculaire, avant de découvrir ses autres capacités qui lui vaudront le nom de VEGF (Klein et Cartagi, 2007).

Dans les années suivantes, il a été mis en évidence une série de polypeptides de facteurs de croissances qui définissent la famille du VEGF. Cette famille comporte sept membres appelés respectivement VEGF-A, plus communément appelé VEGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, tous présents chez les mammifères, VEGF-E (décrit chez les parapoxviridae), VEGF-F (encore dénommé sv VEGF pour snake venom VEGF mis en évidence dans le venin de vipère) et PIGF (placental growth factor) (Corvol, 2010).

Le VEGF est un agent mitogène spécifique des cellules endothéliales et sécrété par les cellules en hypoxie. Il joue un rôle central dans la régulation de la vasculogenèse mais c'est aussi un médiateur clé de l'angiogenèse physiologique de même que dans la néo-angiogenèse associée à la croissance tumorale (Brenchley *et al.*, 2002). Ses principales fonctions sont l'induction de la croissance, de la migration et de la prolifération des cellules endothéliales pour aboutir à la formation de structures capillaires en trois dimensions, afin de produire in vivo des nouveaux vaisseaux. La formation de néovaisseaux est assurée par l'effet chimio-attractant du VEGF pour les cellules endothéliales, l'augmentation de la perméabilité vasculaire, ainsi que l'induction par le VEGF de la libération par les cellules endothéliales de facteurs impliqués dans le remodelage vasculaire …

2. La famille des VEGF

La famille des VEGF représente un ensemble de facteurs de croissance angiogéniques et des cellules endothéliales parmi lesquels on trouve : le VEGF-A (plus connu sous le nom de VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F, et le PIGF. Le VEGF-A est le plus étudié et le mieux connu.

Ces facteurs de croissance sont des glycoprotéines homodimériques qui diffèrent par leurs propriétés biologiques et physiologiques, ainsi que leur affinité aux différents récepteurs. Leurs rôles se répartissent donc entre la vasculogenèse, la lymphangiogenèse et l'angiogenèse (Thèse Karaa, 2008).

2.1. Le VEGF-A = VEGF

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe une grande famille de VEGF, dont le premier à avoir été étudié et le plus important est le VEGF-A, plus communément appelé VEGF.

2.1.1. Historique

Le premier à avoir travaillé sur les facteurs angiogéniques fut Senger, qui en 1983, découvrit une molécule capable d'augmenter la perméabilité vasculaire de capillaires cutanés et de stimuler la production de liquide d'ascite. Il l'appela VPF pour Vascular Permeability Factor. C'est ensuite en 1989 que d'autres travaux furent entrepris par Ferrera et Henzel. Ceux-ci conduisirent à l'isolement d'un nouveau facteur mitogène spécifique des cellules endothéliales. Ce facteur sera nommé VEGF pour Vascular Endothelial Growth Factor. Il s'avèrera dans la même année que le VEGF est en réalité la même molécule que le VPF (Maillard *et al.*, 2000).

2.1.2. Le gène VEGF et ses isoformes

Le gène du VEGF-A humain est localisé sur le chromosome 6 en position 6p21.3 et il est constitué de 8 exons séparés par 7 introns. L'ARNm résultant de la transcription de l'unique gène du VEGF aboutit à la formation de plusieurs isoformes obtenues par épissage alternatif. On dénombre aujourd'hui 9 isoformes dont la taille varie de 121 à 206 acides aminés (figure 12).

Les cinq isoformes les plus communes et les plus exprimées par les cellules sont celles de 121, 145, 165, 189 et 206 aa. Ces molécules sont donc appelées VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 et VEGF206. Elles codent pour une partie N-terminale identique comportant un peptide signal de 26 aa dont le clivage génère la sécrétion de protéines de 121, 145, 165, 189 et 206 acides aminés. Il faut savoir que le VEGF165 est l'isoforme native majoritaire, exprimée sous forme soluble ou fixée à la matrice extracellulaire. Les autres isoformes du VEGF-A sont le VEGF148, 162, 165b, et le 183, beaucoup moins répandues. Toutes les isoformes ont des propriétés communes, et certaines sont propres à chacune, résultant notamment des propriétés de fixation sur les différents récepteurs. La plupart des activités sont stimulatrices, sauf pour le VEGF165b qui exercerait des effets inhibiteurs.

Le VEGF est une glycoprotéine homodimérique de 45 kDa appartenant à la superfamille des facteurs de croissance dimériques à nœud cystéine. Il possède une affinité modérée pour l'héparine ainsi qu'un caractère basique.

La sécrétion des isoformes du VEGF se fait sous forme d'homodimères qui sont liés de façon covalente. Au départ, les monomères sont liés par des interactions hydrophobes puis celles-ci se stabilisent par la formation de ponts disulfures entre les résidus cystéines 51 d'une chaîne et 61 de l'autre chaîne. Le VEGF va alors pouvoir se lier aux héparanes sulfates de la matrice extracellulaire par l'intermédiaire des régions codées par les exons 6a, 6b et 7. Ces exons étant le siège d'épissages alternatifs, l'affinité à la matrice extracellulaire varie en fonction des isoformes, ce qui influence la diffusibilité des différents VEGF.

En effet, le plus court, le VEGF121 ne comporte pas les exons 6 et 7, il est donc plus diffusible. C'est une protéine acide, soluble, et elle ne se lie pas à l'héparine.

Le VEGF145 a perdu l'exon 7, ce qui lui accorde une certaine diffusibilité.

Le VEGF148 ne possède ni l'exon 6 ni la partie terminale des exons 7 et 8. C'est une isoforme libre.

Le VEGF165, qui est la forme la plus abondante, a perdu l'exon 6. C'est une isoforme intermédiaire car elle est sécrétée et donc soluble mais elle peut également se lier à la surface des cellules endothéliales et à la membrane extracellulaire. C'est une molécule basique.

Le VEGF189 quant à lui ne fait pas l'objet d'épissage alternatif et contient donc les 8 exons. Par conséquent, il est sécrété mais il va être associé à la cellule par l'intermédiaire de la liaison à la matrice extracellulaire via les héparanes sulfates. Le VEGF189 peut être ensuite relargué par l'action de l'héparine ou de l'héparinase ou encore sous l'influence de la plasmine. La libération de ce VEGF latent, potentiellement actif, par la plasmine se fait grâce au clivage protéolytique post-traductionnel à l'extrémité C-terminale déclenché par le VEGF lui-même, via l'augmentation du t-PA (Activateur tissulaire du Plasminogène) et de l'u-PA. De même que le VEGF165, c'est une molécule basique.

Enfin, le VEGF206 bénéficie lui aussi des 8 exons et il contient en plus une insertion de 51 paires de bases entre l'exon 6 et l'exon 7, ce qui lui confère également une faible diffusibilté. Cette isoforme reste donc également séquestrée par la matrice extracellulaire grâce aux héparanes sulfates et est libérée par le même procédé. Le VEGF206 a un caractère basique.

A savoir que récemment, un précurseur du VEGF de 47 kDa provenant d'un site d'initiation à partir d'un codon CUG (nt 499) a été identifié. Cependant, ses fonctions ne semblent pas être les mêmes que celles du VEGF classique (Brenchley *et al*., 2002) (Corvol, 2010) ((Klein et Cartagi, 2007) (Maillard *et al*., 2000).

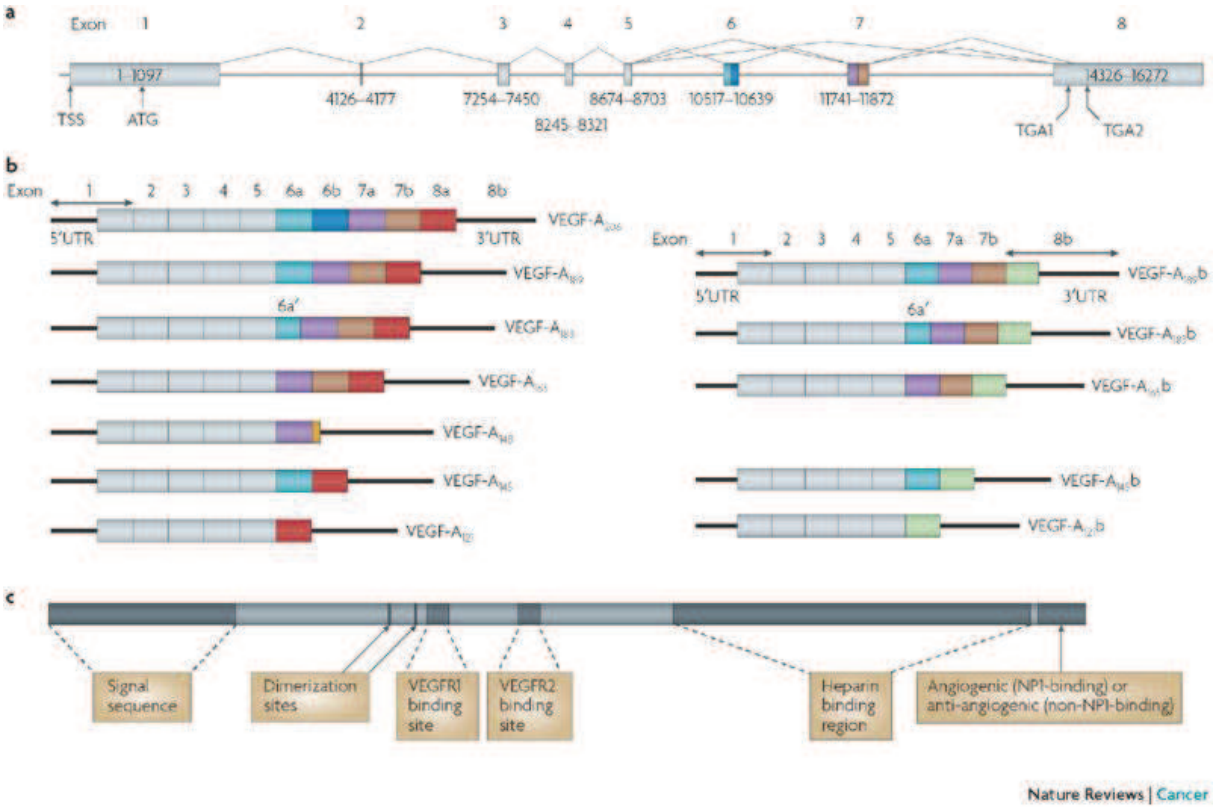


Figure 12 : Structure du gène humain du VEGF-A et les différents ARNm issus de sa transcription

a) structure du gène VEGF-A ; b) ARNm ; c) différents sites de liaison et de dimérisation sur le gène VEGF-A

(d'après Harper et Bates, 2008)

2.1.3. Production du VEGF

Le VEGF est sécrété par une multitude de cellules normales comme les macrophages, les lymphocytes T activés … ou encore par les cellules endothéliales elles-mêmes.

On peut aussi le retrouver à des taux élevés dans les liquides biologiques de certains patients atteints d'un cancer. La tumeur cérébrale primitive a besoin d'assurer sa croissance par la formation de nouveaux vaisseaux lui permettant de proliférer par l'apport d'oxygène et de nutriments. Pendant cette néo-angiogenèse tumorale, le VEGF est produit par les cellules tumorales elles-mêmes mais aussi par le stroma péri-tumoral.

D'autres tissus pathologiques peuvent sécréter le VEGF.

2.1.4. Rôles

Les différentes isoformes du VEGF semblent avoir une activité biologique semblable médiée par l'activation de ses récepteurs qui sont le VEGFR-1, le VEGFR-2 ainsi que les neuropilines.

Le VEGF-A intervient dans les processus de vasculogenèse et il est également un puissant mitogène capable de stimuler l'angiogenèse physiologique in vivo. Ses fonctions sont donc indispensables de la naissance jusqu'à l'âge adulte (Thèse Karaa, 2008).

Il va jouer un rôle important dans la croissance des cellules endothéliales. En effet, il stimule leur multiplication, leur agencement en vaisseaux tubulaires, leur arborescence. La migration des cellules endothéliales est aussi sous le contrôle du VEGF, comme il assure également leur survie. La survie est induite par l'expression de protéines anti-apoptotiques (Bcl-2 et A1 (annexines A1)) à l'intérieur des cellules endothéliales. Le VEGF est responsable de la vasodilatation des vaisseaux en stimulant la NO synthase endothéliale (eNOS) qui va engendrer l'augmentation de la production de NO.

D'autre part, le signal induit par le VEGF a un rôle important dans la néo-angiogenèse tumorale pour les mêmes raisons que précédemment à savoir la survie, la migration et la croissance des cellules endothéliales. Le VEGF-A est capable de stimuler la néovascularisation des tumeurs (Thèse Brighet, 2010).

Des actions sur d'autres variétés cellulaires ont été décrites : effet mitogène sur les cellules de l'épithélium pigmentaire rétinien, sur les cellules de Schwann et certaines fibres musculaires lisses, effet protecteur sur les motoneurones anoxiques et dans la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Des effets hématologiques ont également été décrits : développement de colonies leucocytaires, chimiotactisme positif vis-à-vis des monocytes, activation de la coagulation (Klein et Cartagi, 2007).

2.2. Le VEGF-B

2.2.1. Historique

Une nouvelle protéine présentant une forte analogie avec le VEGF a ensuite été découverte par clonage et caractérisée chez la souris en 1996 (Thèse Brighet, 2010).

2.2.2. Le gène VEGF-B et ses isoformes

Chez l'homme, le gène VEGF-B est situé sur le chromosome 11 en position 11q13. Il est constitué de 8 exons séparés par 6 introns (Thèse Karaa, 2008).

On trouve deux isoformes du VEGF-B. Une première isoforme est le VEGF-B167 que l'on retrouve au niveau des muscles squelettiques et cardiaques mais aussi dans le tissu adipeux bruns et de nombreux autres tissus. Le VEGF-B186 est lui représenté en moins grande quantité dans l'organisme.

La sécrétion des isoformes se fait sous forme d'homodimères respectivement de 21 et 32 kDa pour l'isoforme de 167 et 186 aa (Klein et Cartagi, 2007).

2.2.3. Rôles

Le VEGF-B exerce son activité par l'intermédiaire de sa fixation au récepteur VEGFR-1 et à NRP-1. Les deux isoformes peuvent se lier à ces récepteurs et elles peuvent également s'hétérodimériser avec le VEGF-A.

Son rôle in vivo est encore mal connu. Le VEGF-B interviendrait lors de la vascularisation du cœur. En effet, la souris knock-out (KO) homozygote pour le gène du VEGF-B a un cœur de plus petite taille et présente une revascularisation myocardique moins efficace après un infarctus, suggérant l'implication du VEGF-B dans l'angiogenèse coronarienne. Il jouerait également un rôle dans la vascularisation des muscles squelettiques et dans le développement de la moelle (Klein et Cartagi, 2007).

Cependant, il est certain que l'hypoxie n'induit pas l'expression de ce VEGF.

D'autre part, il ne semble pas être indispensable à l'angiogenèse chez l'adulte (Thèse Karaa, 2008).

2.3. Le VEGF-C

2.3.1. Historique

Le VEGF-C a été découvert par clonage à partir de cellules de cancers humains de la prostate.

2.3.2. Le gène VEGF-C

Chez l'homme, le gène VEGF-C est localisé sur le chromosome 4 en position 4q34 et il est constitué de 6 exons (Thèse Karaa, 2008). L'expression du gène permet la formation d'un précurseur protéique. Celui-ci subira ensuite une maturation protéolytique sous l'action de protéases du milieu extracellulaire.

Le VEGF-C partage 30% d'homologie avec le VEGF165 et 60% avec le VEGF-D (Klein et Cartagi, 2007).

2.3.3. Production du VEGF-C

La sécrétion du VEGF-C se fait dans plusieurs tissus, notamment dans la thyroïde, le cœur, les ovaires, l'intestin grêle ou encore le placenta (Thèse Brighet, 2010).

2.3.4. Rôles

Ce VEGF joue un rôle important dans l'angiogenèse où il représente un facteur mitogène des cellules endothéliales. Il est impliqué dans la prolifération, la migration ainsi que la survie de ces cellules. L'implication du VEGF-C dans l'angiogenèse se fait grâce à sa liaison au VEGFR-2. Cependant, il est aussi capable

de se lier avec une haute affinité au VEGFR-3, ce qui lui confère son rôle principal : la stimulation de la lymphangiogenèse.

En effet, la souris KO homozygote pour le gène VEGF-C meurt in utero, dépourvue de vaisseaux lymphatiques, et très œdématiée. À l'inverse, la surexpression de VEGF-C chez la souris transgénique entraîne une hyperplasie lymphatique. Cela signifie donc que le VEGF-C est essentiellement nécessaire à la lymphangiogenèse (Thèse Karaa, 2008).

Enfin, c'est également un ligand de NRP-2 (neuropiline-2) (Klein et Cartagi, 2007).

2.4. Le VEGF-D

2.4.1. Le gène VEGF-D

Chez l'homme, le gène VEGF-D a été reconnu sur le chromosome X en position Xp22.31. Il est constitué de 7 exons.

De même que le VEGF-C, celui-ci subit une maturation protéolytique avant d'arriver à sa forme finale : une glycoprotéine comportant 80% d'homologie avec le VEGF-C (Thèse Karaa, 2008).

2.4.2. Rôles

Le VEGF-D, aussi appelé FIGF pour c-fos induced growth factor, peut se lier au VEGFR-2 et au VEGFR-3 chez l'homme.

Concernant sa liaison au VEGFR-3, cela signifie donc l'implication du VEGF-D dans la lymphangiogenèse. Cependant, le KO du gène VEGF-D donne naissance à des souris viables qui ne présentent pas de troubles majeurs sur le plan de la lymphangiogenèse. On peut donc en conclure qu'il intervient mais qu'il n'est pas indispensable dans ce processus (Thèse Karaa, 2008).

D'autre part, l'absence de VEGF-D n'affecte pas la vie intra-utérine. On lui attribue donc un rôle mineur dans l'angiogenèse physiologique, contrairement au

processus tumoral pour lequel il lui a été attribué un rôle plus important, favorisant notamment la diffusion métastatique (Klein et Cartagi, 2007).

2.5. Le VEGF-E

2.5.1. Historique

Le VEGF-E a été identifié en 1994 dans le génome des parapoxivirus et plus précisément dans le virus de l'Orf. Ce sont des virus infectant les moutons, les chèvres, et occasionnellement l'homme, et qui provoquent la formation de capillaires dilatés dans les tissus cutanés (Klein et Cartagi, 2007).

2.5.2. Rôles

Le VEGF-E possède plusieurs isoformes qui sont toutes des ligands du VEGFR-2. Les souris transgéniques exprimant le VEGF-E permettent de montrer que ce facteur est capable d'induire une forte réponse angiogénique (Thèse Karaa, 2008). Il stimule la prolifération des cellules endothéliales et la perméabilité vasculaire.

Certaines des isoformes peuvent également se lier à NRP-1 (Klein et Cartagi, 2007).

2.6. Le VEGF-F ou sv VEGF

2.6.1. Historique

Le VEGF-F a été isolé à partir du venin de serpents (Thèse Brighet, 2010).

2.6.2. Isoformes du VEGF-F

Deux variants du VEGF-F ont été identifiés : vammin et VR-1. Les deux protéines partagent 50% d'homologie avec la structure primaire du VEGF165.

2.6.3. Rôles

Les deux isoformes se lient aux récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2 mais avec des affinités qui sont différentes. La forme VR-1 se lie au VEGFR-1 avec une haute affinité ainsi qu'au VEGFR-2 avec cette fois-ci une faible affinité, tandis que la forme vammin va se fixer au VEGFR-2 par une liaison de haute affinité. Cependant, il n'y a aucune interaction avec le VEGFR-3 ni avec NRP-1.

Le sv VEGF possède une action délétère au cours de l'envenimation, sans pour autant en connaître encore toutes les subtilités (Klein et Cartagi, 2007).

2.7. Le PIGF

2.7.1. Historique

Le PIGF, encore appelé facteur de croissance placentaire, a été découvert en 1991 dans le placenta humain (Klein et Cartagi, 2007).

2.7.2. Le gène PIGF et ses isoformes

Chez l'homme, le gène PIGF est localisé sur le chromosome 14 en position 14q24-q31 et il est constitué de 7 exons.

L'épissage alternatif du gène du PIGF va engendrer la formation de quatre isoformes qui sont : le PIGF131 ou PIGF-1, PIGF152 ou PIGF-2, PIGF203 ou PIGF-3 et le PIGF224 ou PIGF-4.

C'est un homodimère de 46-50 kDa qui comporte 50% d'homologie avec le VEGF165 (Klein et Cartagi, 2007).

2.7.3. Production du PIGF

Le PIGF est sécrété dans plusieurs tissus, notamment le cœur et les poumons, la glande thyroïde, les muscles squelettiques mais encore dans les cellules endothéliales, la moelle osseuse et les kératinocytes.

2.7.4. Rôles

Sachant que le PIGF possède une grande homologie avec le VEGF-A, de même, il peut donc se fixer au VEGFR-1. Cependant, il existe parfois une compétition sur la fixation au récepteur entre le VEGF165 et le facteur de croissance placentaire. D'autre part, la fixation au VEGFR-2 n'est possible uniquement lorsque le PIGF se trouve à l'état d'hétérodimère PIGF-VEGF. L'isoforme PIGF-2 est capable de se fixer sur les récepteurs NRP-1 et 2. A noter que les isoformes PIGF-2 et 4 peuvent également fixer l'héparine.

Les expériences de laboratoire ont montré que l'absence du gène PIGF n'a pas de conséquences sur l'angiogenèse embryonnaire, suggérant ainsi que le PIGF n'est pas indispensable à cette étape (Thèse Karaa, 2008). En revanche, le KO du gène affecte l'angiogenèse et la perméabilité vasculaire au cours des phénomènes inflammatoires, ischémiques, néoplasiques et de cicatrisation. Le PIGF aurait donc un rôle dans l'angiogenèse au cours de processus pathologiques.

Il existe un synergisme entre le VEGF et le PIGF. La diminution du PIGF provoque également celle du VEGF et inversement (Klein et Cartagi, 2007).

3. Les récepteurs du VEGF

Ils ont été initialement découverts à la surface des cellules endothéliales qui sont leurs principales cibles.

Les différents membres de la famille du VEGF exercent leur activité biologique sur les cellules endothéliales en se fixant sur divers récepteurs que l'on peut regrouper en deux classes différentes. D'une part, les récepteurs spécifiques à activité tyrosine kinase, d'autre part, ceux qui n'ont pas cette activité, c'est-à-dire

les neuropilines et les héparanes sulfates protéoglycanes. Ces deux derniers sont aussi appelés corécepteurs, capables de lier le VEGF (figure 13) (Maillard *et al.*, 2000).

En ce qui concerne les récepteurs à activité tyrosine kinase, ils sont au nombre de trois : le VEGFR-1 ou Flt-1 (fms-like tyrosine kinase), le VEGFR-2 ou Flk-1 pour sa version murine (fetal liver kinase-1) ou KDR pour son homologue humain (Kinase domain tyrosine kinase, kinase insert domaincontaining receptor) et le VEGFR-3 ou Flt-4 (fms-like tyrosine kinase-4). Ce sont des récepteurs appartenant à la superfamille du récepteur au PDGF et au FGF (Corvol, 2010).

Ces récepteurs sont composés d'une partie extracellulaire, qui lie le VEGF, comportant sept domaines immunoglobulines like. La partie intracellulaire possède une séquence tyrosine kinase consensus interrompue par un domaine tyrosine kinase. Ces deux parties sont reliées par la région transmembranaire.

L'activation du signal induit par le VEGF se fait par l'intermédiaire de la liaison de celui-ci au récepteur, sous la forme d'un homodimère. Cette première étape engendre alors la dimérisation du récepteur grâce à la formation de ponts disulfures, qui sera ensuite suivie par le phénomène d'autophosphorylation. Cette dernière étape permet l'activation de l'activité catalytique tyrosine kinase, ce qui transmet le signal. L'interaction entre VEGF et son récepteur nécessite également la présence des protéoglycanes notamment l'héparine.

Chez l'adulte, le VEGFR-1 et le VEGFR-2 sont exprimés à la surface des cellules endothéliales vasculaires ainsi qu'à la surface des précurseurs hématopoïétiques des cellules endothéliales. L'expression de VEGFR-1 varie en fonction du type de lit vasculaire, tandis que VEGFR-2 est ubiquitaire. Le troisième récepteur, VEGFR-3 est localisé spécifiquement au niveau des cellules endothéliales lymphatiques. Pour favoriser la croissance des tumeurs, les récepteurs du VEGF sont également exprimés dans les cellules tumorales. Dans des conditions physiologiques, l'expression des récepteurs ne tient pas compte de la quiescence cellulaire, celle-ci se fait en permanence (Société de néphrologie, 2012).

Les VEGFR-1 et 2 sont capables de lier différents membres de la famille du VEGF, contrairement au VEGFR-3 qui se lie uniquement au VEGF-C et D et qui n'intervient que dans l'élaboration des vaisseaux lymphatiques.

Comme vu précédemment, il existe d'autres récepteurs moins spécifiques du VEGF. En effet, quelques isoformes interagissent avec la neuropiline qui compte deux représentants : NRP-1 et NRP-2.

Nous détaillerons les différents récepteurs en séparant les deux classes.

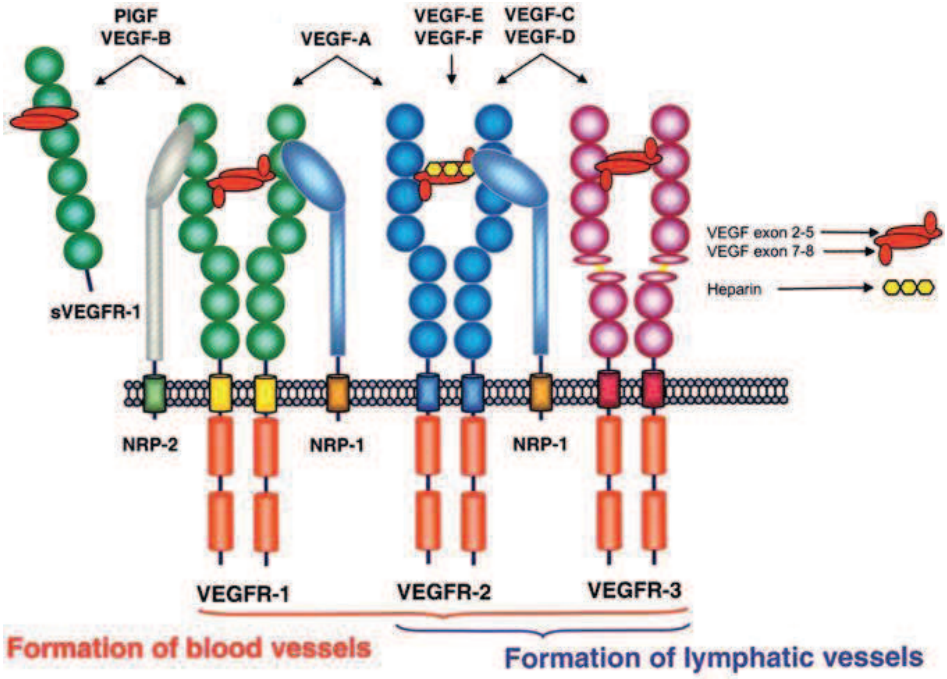


Figure 13 : Les différents récepteurs du VEGF

3.1. Les récepteurs à activité tyrosine kinase

3.1.1. Le VEGFR-1

3.1.1.1. Le gène VEGFR-1 et son variant

Le VEGFR-1 est le premier récepteur à avoir été découvert pour le VEGF.

Chez l'homme, le gène Flt-1 est localisé sur le chromosome 13 en position 13q12. Il existe également une forme soluble du récepteur R1, issue de l'épissage alternatif du gène unique. Ce variant, sFlt-1 ou sVEGFR-1, est plus court et

dépourvu du septième domaine de type immunoglobuline de la région transmembranaire et de celle cytosolique (Corvol, 2010).

L'expression du VEGFR-1 est activée pendant le processus d'angiogenèse mais elle est aussi stimulée par l'hypoxie via l'activation du facteur de transcription HIF-1.

3.1.1.2. Expression du VEGFR-1

Cette protéine de 180 kDa est exprimée à la surface des cellules endothéliales vasculaires mais aussi par des cellules non endothéliales. On peut trouver le VEGFR-1 au niveau des péricytes, des cellules trophoblastiques placentaires, les ostéoblastes, les monocytes et macrophages, les cellules musculaires lisses vasculaires, les cellules mésangiales du rein ou encore sur certaines cellules souches hématopoïétiques. Les cellules tumorales sont capables également d'exprimer ce récepteur.

La forme soluble du récepteur est présente dans le plasma humain, où elle est produite par le trophoblaste villeux et extra-villeux. Lors de la grossesse, elle est ensuite relarguée dans la circulation maternelle (Klein et Cartagi, 2007).

3.1.1.3. Affinités

Le VEGFR-1 est un récepteur qui peut se lier au VEGF-A, VEGF-B, VEGF-F et au PIGF avec une haute affinité. Le VEGF-B et le PIGF se fixent essentiellement au niveau de son deuxième domaine Ig. Une fois que les ligands ont trouvé leur cible, l'activité tyrosine kinase du VEGFR-1 est mise en place, ce qui entraine son autophosphorylation et par conséquent la voie de signalisation due à la liaison du VEGF est activée. Le VEGFR-1 est capable de s'homo ou s'hétérodimériser avec le VEGFR-2.

La liaison du VEGF pour le récepteur R1 s'effectue avec une affinité nettement plus importante que pour celle avec le VEGFR-2. Cependant, l'activité tyrosine kinase engendrée par la liaison au R1 est excessivement faible par rapport à celle induite par la fixation sur VEGFR-2, notamment pour ce qui est de la survie

et de prolifération des cellules endothéliales. Il n'y a pas ou peu d'activité mitogène.

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe également un récepteur soluble sVEGFR-1 qui possède une affinité pour le VEGF équivalente à celle du récepteur non soluble (Klein et Cartagi, 2007).

3.1.1.4. Rôles

Le VEGFR-1 est important pour l'organisation du réseau vasculaire au cours du développement embryonnaire. En effet, le KO de VEGFR-1 chez la souris entraine une mort embryonnaire précoce. On observe un excès de cellules endothéliales mais celles-ci ne s'organisent pas en vaisseaux fonctionnels. Le VEGFR-1 ne semble donc pas intervenir dans la différenciation des cellules endothéliales.

Le VEGFR-1 permet également la capture du VEGF en excès afin de limiter la signalisation via le VEGFR-2. D'autre part, ce récepteur favorise la migration des cellules endothéliales, mais il est aussi impliqué dans la migration des cellules monocytaires macrophagiques. Enfin, il intervient dans le recrutement des cellules souches hématopoïétiques et dans l'angiogenèse pathologique (Klein et Cartagi, 2007).

La forme soluble du récepteur inhibe l'activité du VEGF par sa capacité à le piéger, elle exerce donc un rôle inhibiteur du VEGF au niveau extracellulaire. Le sVEGFR-1 aurait donc un rôle de contrôle de la balance angiogenèse/anti-angiogenèse. L'expression de ce récepteur est de plus en plus importante au fur et à mesure de la grossesse, son rôle irait donc en croissant au cours de l'évolution et il serait responsable de l'établissement de la barrière maternofoetale (Thèse Brighet, 2010).

3.1.2. Le VEGFR-2

3.1.2.1. Le gène VEGFR-2

Chez l'homme, le gène VEGFR-2 est situé sur le chromosome 4 en position 4q11-q12. Chez la souris, il se trouve sur le chromosome 5.

3.1.2.2. Expression du VEGFR-2

Le VEGFR-2 est exprimé par les cellules endothéliales vasculaires et lymphatiques ainsi que par des précurseurs circulants de ces cellules endothéliales. D'autres types cellulaires sont capables d'exprimer ce récepteur, notamment les mégacaryocytes, les cellules musculaires lisses vasculaires, les cellules canalaires pancréatiques, des cellules tumorales ainsi que certaines cellules souches hématopoïétiques et rétiniennes (Klein et Cartagi, 2007).

3.1.2.3. Affinités

Le VEGFR-2 est capable de fixer le VEGF-A avec une affinité plus faible que pour le VEGFR-1. Il se lie également au VEGF-C et D, et au VEGF-E et F.

Suite à la liaison des différents VEGF, cette glycoprotéine de 200–230 kDa va s'homo ou s'hétérodimériser avec le VEGFR-1 ou VEGFR-3, ce qui induit la cascade de signalisation (Klein et Cartagi, 2007).

3.1.2.4. Rôles

La voie de signalisation du VEGFR-2 est la voie principale de stimulation des effets mitogènes et angiogéniques sur les cellules endothéliales liées au VEGF, notamment en termes de vasodilatation, de prolifération et de migration.

Le KO du gène VEGFR-2 chez la souris conduit à une létalité embryonnaire précoce. Il n'y a pas de vasculogenèse ni de développement d'ilots sanguins et l'organisation en un réseau vasculaire est inexistante. Ceci montre l'importance

primordiale du VEGFR-2 dans l'angiogenèse au cours du développement embryonnaire et dans l'hématopoïèse pour constituer le pool de cellules souches hématopoïétiques (Thèse Karaa, 2008).

Le VEGFR-2 favorise la prolifération des cellules endothéliales, par l'intermédiaire de l'activation des ERK (extracellularsignal-regulated proteins kinases).

Le KDR est en partie responsable de la survie cellulaire. L'activation par PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) de la protéine antiapoptotique AKT/PKB (protéine kinase B) entraine des signaux de survie en l'absence desquels une apoptose des cellules est induite. Le mécanisme d'activation de PI3K reste inconnu.

L'induction de la perméabilité vasculaire est une autre des fonctions induites par l'activation du VEGFR-2. La liaison du VEGF sur son récepteur provoque l'activation par phosphorylation d'eNOS via AKT. D'autre part, la protéine IP3 (inositol triphosphate) va induire une libération de calcium Ca^{2+} de par sa liaison à un récepteur spécifique sur le réticulum endoplasmique. Le calcium est responsable de la libération en grande quantité de NO (oxyde nitrique), ce qui induit l'augmentation de la perméabilité vasculaire (Thèse Brighet, 2010).

La régulation de la perméabilité vasculaire permet aussi l'extravasation de protéines plasmatiques comme la fibrine qui forme un gel, substrat de la croissance vasculaire.

La migration cellulaire via la production de NO serait également médiée par le KDR.

Comme pour VEGFR-1, une forme tronquée du VEGFR-2 pourrait exercer un effet régulateur dans le contrôle de l'angiogenèse induite par le VEGF.

3.1.3. Le VEGFR-3

3.1.3.1. Le gène VEGFR-3

Le VEGFR-3, également appelé Flt-4 est codé par le gène flt4. Chez l'homme, il est situé sur le chromosome 5 en position 5q35.3.

3.1.3.2. Expression du VEGFR-3

L'expression du VEGFR-3 diffère en fonction du stade d'évolution de l'homme. En effet, au cours du développement, il est exprimé par toutes les variétés de cellules endothéliales, tandis que chez l'adulte, on le retrouve uniquement sur les cellules endothéliales lymphatiques et des capillaires fenêtrés (Klein et Cartagi, 2007).

3.1.3.3. Affinités

Cette glycoprotéine de 170–190 kDa est capable de se lier au VEGF-C et VEGF-D avec une haute affinité.

3.1.3.4. Rôles

Le VEGFR-3 est le principal récepteur impliqué dans la lymphangiogenèse. La fixation du VEGF-C et D indique son rôle majeur dans ce processus. De plus, le lymphœdème congénital est provoqué par la mutation de ce récepteur, ce qui montre bien le rôle de celui-ci dans les processus lymphangiogéniques (Thèse Karaa, 2008).

Cependant, le Flt-4 est également mis en cause dans le développement vasculaire embryonnaire.

Contrairement au VEGFR-1 et au VEGFR-2, le VEGFR-3 est clivé par protéolyse au niveau du cinquième domaine Ig et les fragments générés restent assemblés par un pont disulfure (Klein et Cartagi, 2007).

3.2. Les récepteurs sans activité tyrosine kinase

3.2.1. Les neuropilines

Les neuropilines forment une autre famille de récepteurs capables de fixer le VEGF, mais elles sont dépourvues de domaine tyrosine kinase intracellulaire.

Il existe deux individus : la neuropiline-1 ou NRP-1 et la neuropiline-2 ou NRP-2 (Klein et Cartagi, 2007).

Ce sont des récepteurs qui font partie de la famille des sémaphorines de classe 3, facteurs de la guidance axonale et des récepteurs de la famille du VEGF, facteurs de l'angiogenèse. C'est pourquoi ils jouent un rôle dans le développement des systèmes neuronaux et vasculaires.

3.2.1.1. Structure des neuropilines

Ce sont des glycoprotéines transmembranaires de 120 à 130 kDa, composées de 5 domaines. La partie extracellulaire du récepteur est formée de 860 acides aminés et est composée de 3 domaines : a1a2, b1b2 et c. On trouve ensuite un domaine transmembranaire de 23 acides aminés. Le domaine cytoplasmique est composé lui d'environ 40 acides aminés, il est donc assez court et ne possède pas de motif kinase (Thèse Brighet, 2010).

3.2.1.2. Expression des neuropilines

En ce qui concerne les cellules saines, on peut retrouver les neuropilines sur les ostéoblastes, les cellules neuroendocrines du tractus gastro-intestinal, les cellules dendritiques, les lymphocytes T, les fibroblastes, les adipocytes de la moelle osseuse et les cellules épithéliales glomérulaires. Elles sont également présentes sur les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales. Cependant, au niveau endothélial, la NRP-2 semble être restreinte aux veines et aux vaisseaux lymphatiques.

D'autre part, les neuropilines peuvent aussi être exprimées par différents types de cellules tumorales où elles sont retrouvées sur l'endothélium vasculaire des tumeurs (Klein et Cartagi, 2007). Leur présence au sein des tumeurs permet d'expliquer une fixation du VEGF sur ces cellules tumorales en l'absence de récepteurs spécifiques types VEGFR. Pour donner un exemple, les NRP-1 et NRP-2 sont exprimées dans les cancers du poumon non à petites cellules.

3.2.1.3. Affinités des neuropilines

Les neuropilines font partie des récepteurs au VEGF, mais on peut les classer plus exactement dans la famille des corécepteurs. En effet, pour pouvoir lier le VEGF, les neuropilines doivent obligatoirement se dimériser avec des récepteurs dotés d'un domaine tyrosine kinase, d'où leur déclassement en corécepteurs. La NRP-1 se combine avec les VEGFR-1 et 2, ce qui forme un complexe qui amplifie la liaison au VEGF165 (Klein et Cartagi, 2007).

Les ligands des neuropilines sont répartis en deux classes : les sémaphorines de classe 3, et certains variants de la famille du VEGF. La NRP-1 est capable de fixer le VEGF121, VEGF165, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PIGF-2, SEMA-3A (sémaphorine de classe 3A), SEMA-3B et SEMA-3C. De son côté, la NRP-2 se lie au VEGF165, VEGF145, VEGF-C, VEGF-D, SEMA-3B, SEMA-3C et SEMA-3F. Les SEMA et le VEGF165 se lient au niveau des domaines extracellulaires A et B. Concernant le VEGF165, le domaine B des NRP est nécessaire et suffisant pour sa liaison. Néanmoins, pour NRP-1, la présence du domaine A augmente considérablement cette liaison.

3.2.1.4. Mécanisme d'activation des neuropilines

Les neuropilines sont des récepteurs qui ne possèdent pas d'activité tyrosine kinase, ils se voient donc dans l'obligation d'interagir avec d'autres récepteurs pour transmettre les signaux.

En ce qui concerne la médiation des signaux engendrés par le VEGF165, la NRP-1 aurait besoin de former un complexe avec le récepteur VEGFR-2 au niveau des cellules endothéliales, ce qui potentialise la liaison du VEGF165 à VEGFR-2. Certaines études affirment cependant que la signalisation par le VEGF via les NRP peut se faire en l'absence de VEGFR-1 ou 2.

Au niveau neuronal, il se forme également des complexes avec des corécepteurs comme les plexines. Un complexe ternaire a été décrit dans la littérature, celui entre la NRP, la plexine et la SEMA-3 (Thèse Brighet, 2010).

3.2.1.5. Rôles

Les neuropilines interviennent dans divers phénomènes, qu'ils soient physiologiques ou pathologiques.

- ✓ **Croissance axonale**

Les neuropilines lient les sémaphorines de classe 3 qui sont des agents répulsifs durant la croissance axonale.

- ✓ **Développement embryonnaire**

D'après les études menées sur les neuropilines, on remarque qu'une surexpression est responsable d'hémorragies dues à un excès de capillaires. Au contraire, une absence de neuropilines entraine une mort de l'embryon. Ces récepteurs ont donc un rôle important dans le développement des systèmes cardio-vasculaires et nerveux.

- ✓ **L'angiogenèse tumorale et la formation de métastases**

Un certain nombre d'études réalisées sur les neuropilines révèlent la complexité du système des NRP. En effet, certains travaux montrent que l'expression de la NRP-1 au niveau des cellules cancéreuses favorise l'angiogenèse tumorale. De plus, les effets mitogènes sur les cellules endothéliales induits par la liaison du VEGF165 à la NRP-1 sont également supprimés par l'utilisation d'anticorps anti-NRP-1. Cela prouve une fois encore l'implication des NRP-1 dans la migration et l'adhésion des cellules endothéliales pour entrainer la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux.

En revanche, on remarque des effets antagonistes dans certains cancers. Par exemple, la surexpression de la NRP-1 dans le cancer du pancréas entraine une diminution de la croissance tumorale.

Pour citer quelques exemples, la NRP-2 est corrélée à l'avancement du cancer de la vessie. La NRP-1 joue également un rôle très important dans l'angiogenèse

tumorale et par conséquent dans la croissance de la tumeur ainsi que l'apparition de métastases, comme dans le cancer du côlon, de la prostate, du poumon, ou encore du sein (Thèse Brighet, 2010).

3.2.2. Les Héparanes Sulfates ou Héparanes Sulfates ProtéoGlycanes (HSPG)

Les HSPG sont des molécules qui interviennent dans de nombreux processus physiologiques comme les interactions cellules-cellules … Ce sont des macromolécules ubiquitaires de structure glycoprotéique, et associées à la matrice extracellulaire et aux membranes cytoplasmiques.

Leur affinité pour le VEGF est faible. Par conséquent, elles ont un rôle de stockage du VEGF pour les isoformes qui possèdent des sites de fixation à l'héparine.

4. Régulation de l'expression du VEGF

Le VEGF est synthétisé par un certain nombre de cellules comme les cellules endothéliales bien sûr, mais aussi les macrophages, les lymphocytes T, les CML, les ostéoblastes et divers autres types cellulaires mais également par les cellules tumorales. Cependant, un grand nombre de mécanismes rentrent en compte dans le contrôle de l'expression du gène VEGF et donc dans la régulation de la synthèse du VEGF. Le plus souvent, la régulation s'opère par la voie de la protéine kinase C et celle de la protéine kinase A, ou encore par l'intermédiaire de voies agissant par l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique), mais la voie de contrôle la plus importante reste celle de l'hypoxie.

La régulation de l'expression du VEGF est contrôlée à 3 niveaux : la transcription, la stabilité de l'ARN messager (acide ribonucléique) et la traduction. La voie de signalisation RAS-MEK-ERK-1/ERK-2 (mitogen-activated protein kinase -extracellular signal-regulated proteins kinases) stimule la transcription via la phosphorylation du facteur de transcription SP-1 et de la sous-unité HIF-1α et leur recrutement au niveau du promoteur du gène du VEGF-A où ils s'associent avec le

facteur AP-1. La stabilité des ARN messagers se fait par la p38 MAP kinase (Mitogen-activated protein kinase) activée par le stress et par la voie hypoxique. Enfin, la traduction du VEGF-A est contrôlée dans les conditions d'hypoxie et d'appauvrissement nutritionnel par le biais de séquences IRES (internal ribosome entry site). Dans ces conditions de stress énergétique, la traduction « Capdépendante » est inhibée.

Il existe beaucoup de facteurs pouvant contrôler l'expression du VEGF. Nous pouvons citer le glucose, les modulateurs de la protéine kinase C, les stimulants de l'adénylate-cyclase, l'oxyde nitrique, l'influx calcique, le degré de différenciation cellulaire, la chaîne de transport des électrons, les agents dépolarisants et le degré d'expression de certains oncogènes. Il convient également de retenir certains facteurs importants comme les cytokines et prostaglandines, et certaines hormones comme la progestérone, les estrogènes, les gonadotrophines, la TSH (thyroid-stimulating hormone ou thyréostimuline) ou l'angiotensine 2 (Klein et Cartagi, 2007).

4.1. Régulation par l'hypoxie

L'hypoxie joue un rôle prépondérant dans la régulation de l'expression du VEGF de par sa puissante activité stimulatrice de l'ARNm du VEGF. Lorsque les cellules se trouvent dans une situation de stress hypoxique, la synthèse du VEGF va jouer un rôle de signal d'alarme pour remédier au contexte défavorable. L'hypoxie peut se produire dans n'importe quelle circonstance, ce qui permet d'expliquer l'ubiquité de l'expression du VEGF (figure 14).

La surexpression du VEGF, conséquence du stress hypoxique, résulte de deux phénomènes. D'une part, on observe une activité transcriptionnelle importante. D'autre part, il se manifeste aussi une stabilité très importante des ARNm du VEGF qui sont normalement labiles et dont la demi-vie passe de 30-45 min à 6-8 heures dans des états hypoxiques.

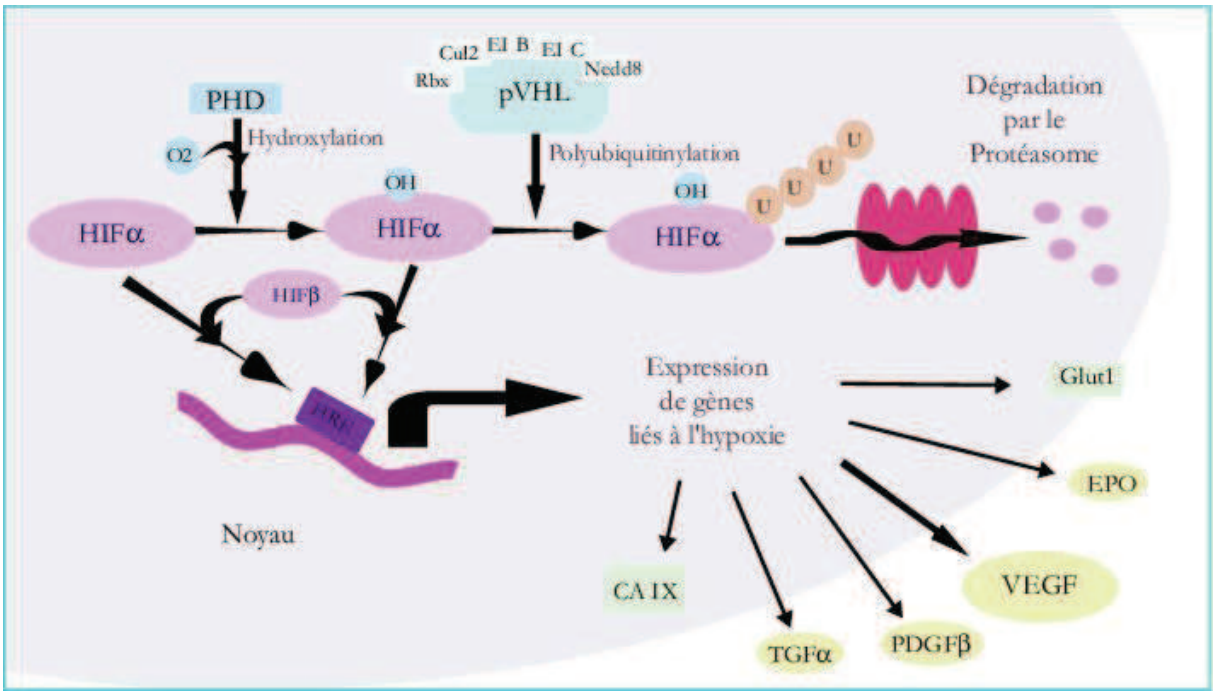


Figure 14 : Mécanismes de régulation de l'expression du VEGF par l'hypoxie, via le facteur HIF

(d'après Edeline *et al.*, 2010)

4.1.1. Activité transcriptionnelle importante

L'induction hypoxique du VEGF est stimulée en partie par HIF-1, facteur de transcription hétérodimérique qui se lie au promoteur du gène du VEGF. Le facteur HIF est composé de deux sous-unités : HIF-1α et HIF-1β. Une autre protéine joue un rôle essentiel dans la stimulation de l'expression du VEGF : VHL, qui appartient à un complexe enzymatique doté d'une activité E3-ubiquitine ligase.

Tel le mécanisme de régulation de l'érythropoïétine, la diminution de la pression partielle en oxygène (ou la présence de cobalt) dans les cellules va activer le facteur de transcription HIF qui va se lier à une séquence consensus (5'-TACGTGCT-3'), décrite initialement dans la région 3' enhancer du gène de l'érythropoïétine. On observe la formation d'un complexe liant l'ADN (acide désoxyribonucléique) contenant HIF-1α et p 300/CBP et des cofacteurs de transcription.

En effet, le promoteur du gène du VEGF possède un site de liaison pour HIF-1 (TACGTG) ainsi qu'une séquence accessoire pour HIF-1 (CAGGT). Ces deux domaines sont situés dans la région de réponse à l'hypoxie HRE comprise entre – 985 à – 939, indispensable à l'activation transcriptionnelle du VEGF.

Dans des conditions normales d'oxygène, HIF-1β est présente dans le noyau de façon constitutive, contrairement à HIF-1α que l'on retrouve à des taux beaucoup plus faibles. En effet, celle-ci est dégradée par le protéasome dans le cytoplasme. Après hydroxylation de la sous-unité HIF-1α, la protéine VHL vient se fixer sur celle-ci, ce qui entraine sa dégradation.

En revanche, dans des conditions d'hypoxie, la dégradation de la sous-unité HIF-1α n'est pas aussi importante. Ceci est dû à une diminution de l'hydroxylation de HIF-1α, la protéine VHL ne va donc pas pouvoir venir se fixer sur celle-ci, par conséquent, le protéasome aura une activité de dégradation moindre. La sous-unité HIF-1α va alors migrer vers le noyau où elle va former un complexe dimérique avec l'autre sous-unité, ce qui crée HIF-1α/HIF-1β. Ce dimère correspond au facteur de transcription du VEGF proprement dit, qui va se fixer sur des séquences enhancer du gène codant pour le VEGF et en permettre la transcription.

En plus de HIF-1α et HIF-1β, d'autres facteurs HIF-1 like (HLF's) existent et ont une expression différente selon les tissus. Ainsi, un arrangement complexe de facteurs semble être nécessaire à l'induction du VEGF par l'hypoxie, impliquant les facteurs de transcription SP-1 et AP-1 agissant possiblement en coopération avec HIF-1 (Société de néphrologie, 2002).

4.1.2. Stabilisation des ARNm

Les conditions d'hypoxie entrainent également une plus grande stabilité de l'ARNm du VEGF.

Différentes études ont été menées concernant les zones de stabilisation de l'ARNm sur les régions du gène du VEGF. Il s'avère que la région 3'UTR de 1,9 kb (kilobase) contient plusieurs copies d'une séquence consensus nonamérique d'éléments déstabilisants riches en séquences AU. La séquence codante 5'UTR (UnTranslated Region) contient également des éléments déstabilisants. La

dégradation de l'ARNm peut donc être induite par chacune des régions indépendamment, cependant, dans des conditions de normoxie, on observe un effet synergique des différentes régions déstabilisantes, ce qui entraine une dégradation plus rapide. La combinaison de deux régions seulement s'est avérée inefficace pour induire une réponse à l'hypoxie. La présence d'un élément stabilisant dans la région 5'UTR est tout à fait inhabituelle et reste à caractériser.

On remarque également une plus grande stabilité de la sous-unité HIF-1α en conditions normoxiques. Le mécanisme mis en jeu fait intervenir la voie PI3K /AKT et le gène suppresseur de tumeur PTEN (Phosphatase and TENsin homologdeleted on chromosome TEN) (Société de néphrologie, 2002) (Thèse Brighet, 2010).

4.1.3. Quelques exemples de régulation par l'hypoxie

On observe une profonde surexpression de l'ARNm du VEGF dans des reins humains dans lesquels on provoque une réduction du flux sanguin par obstruction vasculaire.

Dans les glomérules avec sclérose segmentaire, les podocytes viables montraient une expression nette de l'ARNm du VEGF.

L'ischémie transitoire dans un modèle de cœur de rat induit la production d'ARNm du VEGF en 30 min pour une durée n'excédant pas 3 heures.

Le FGF-2 stimule la synthèse de VEGF des fibres musculaires lisses vasculaires de lapin, action qui s'exerce en synergie avec les effets induits par l'hypoxie (Klein et Cartagi, 2007).

4.2. Régulation par les oncogènes et les suppresseurs de tumeur

Le VEGF lui-même est capable de stimuler la croissance tumorale grâce à son pouvoir angiogénique accru qui augmente la production du réseau vasculaire tumoral, permettant ainsi la croissance de la tumeur. Cependant, celui-ci ne peut pas être considéré réellement comme un oncogène. Néanmoins, il existe des

oncogènes proprement dits ainsi que des suppresseurs de tumeur qui interviennent dans la régulation de l'expression du VEGF.

En effet, l'activation des oncogènes est associée à une stimulation de l'expression du VEGF. En revanche, les suppresseurs de tumeur sont en général des inhibiteurs de l'expression du VEGF. En résumé, la croissance tumorale est due à l'activation des oncogènes ou à la perte de fonction des suppresseurs de tumeur, via l'activation de l'angiogenèse par stimulation du VEGF.

Par exemple, l'activation ou l'amplification du proto-oncogène ras entraine l'activation de la voie des MAP kinases qui permettent le recrutement des facteurs de transcription SP-1 et AP-2 au niveau du promoteur du VEGF. On observe donc une stimulation de l'expression du VEGF ou une potentialisation de son expression induite par l'hypoxie. L'induction hypoxique du VEGF semble également faire intervenir les proto-oncogènes c-Src (proto-oncogene tyrosine-protein kinase) et Raf-1 (v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1).

Le gène suppresseur de tumeur p53 aurait l'effet inverse. En effet, il réduit l'expression du VEGF et régule la transcription du VEGF au niveau d'une région de son promoteur comprise entre -135 et -48, soit la zone de liaison des facteurs SP-1 et AP-2. Au contraire, l'absence du gène p53 ou encore la forme mutée de celui-ci amplifierait la réponse angiogénique via le VEGF, conférant une meilleure résistance aux conditions hypoxiques, et préviendrait l'apoptose hypoxique générée par les formes non mutées de p53.

Il existe un autre gène suppresseur de tumeur : le gène VHL qui intervient également dans le contrôle de l'expression du VEGF. Il diminue son expression (Klein et Cartagi, 2007).

4.3. Régulation par les hormones

Les chercheurs étaient conscients de deux choses essentielles. D'une part, l'angiogenèse est essentielle pour le développement et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâles et femelles. D'autre part, l'angiogenèse est également importante dans les processus tumoraux comme les cancers du sein, de l'utérus ou de la prostate. Plusieurs études ont donc été réalisées concernant le rôle des hormones dans le contrôle de l'expression du VEGF induisant

l'angiogenèse. Elles ont montré que les œstrogènes et leurs antagonistes régulent l'expression du VEGF dans le tissu utérin normal et dans les tumeurs sensibles aux hormones.

Dans le cas des cancers hormonodépendants de la femme comme celui du sein, des ovaires ou encore de l'utérus, on observe une corrélation entre la surexpression hormonale et l'élévation de l'expression du VEGF, associée à l'augmentation de l'angiogenèse. Ceci est expliqué par la présence d'un élément de réponse aux œstrogènes (ERE) ER-α et ER-β dans la région 5'UTR du VEGF. Cet élément de réponse peut lier ER-α et ER-β in vitro, mais seul ER-α est capable d'induire la transcription du VEGF.

Une autre étude réalisée sur des rats montre une diminution du VEGF après castration. Cependant, l'administration d'un traitement de substitution à la testostérone rétablit la synthèse du VEGF. La testostérone est donc capable d'induire l'expression du VEGF.

Nous pouvons citer d'autres hormones jouant un rôle dans la régulation de l'expression du VEGF : la thyréostimuline, la corticotropine, gonadotropines, la progestérone (Société de néphrologie, 2002).

4.4. Régulation par les cytokines

Les conditions pro-inflammatoires induisent l'expression du VEGF via la sécrétion de cytokines.

La production du VEGF peut être stimulée par L'IL-β (Interleukine-β), PDGF-BB et TGF-β, FGF-2 dans les cellules musculaires lisses. Le TGF-β est également capable d'induire la sécrétion du VEGF dans les fibroblastes et les cellules épithéliales. Nous avons montré que TNF-α, TGF-β et PIGF augmentaient l'expression de VEGF dans les cellules mononuclées du sang, ce qui a des implications dans les maladies inflammatoires aiguës et chroniques.

Parmi les cytokines qui potentialisent la synthèse du VEGF, on trouve : PDGF, FGF, TNF-α, TGF-β, insulin-like growth factor (IGF-1), interleukine-1α et β, epidermal growth factor (EGF), keratinocyte growth factor (KGF). Tandis que l'IL-6 et l'IL-10 ont un rôle inhibiteur (Weber *et al.*, 2000) (Société de néphrologie, 2002).

4.5. Régulation par les facteurs de croissance

Il a été établi que les facteurs de croissance stimulent la prolifération des cellules tumorales et leur vascularisation ainsi que la vascularisation physiologique grâce à l'activation de l'expression du VEGF.

Il existe notamment deux facteurs importants impliqués dans le contrôle de l'expression du VEGF, qui sont le facteur de croissance TGF-α, et le TGF-β. En effet, le TGF-α active la liaison des facteurs de transcription AP-2 et EGR-1 (Early growth response protein 1) dans la région de fixation du facteur SP-1, ce qui entraine la transcription du VEGF. De même, le TGF-β possède la même propriété activatrice par l'activation de la liaison du complexe SP-1/Smad2 au niveau de son promoteur.

D'autres facteurs de croissance sont impliqués dans la régulation de l'expression du VEGF : l'EGF, IGF-1, FGF-2, et le PDGF (Linassier, 2010).

4.6. Conclusion

Nous venons ainsi de décrire plusieurs mécanismes de régulation de l'expression du VEGF dont l'hypoxie reste l'élément stimulant majeur. La sécrétion du VEGF peut également être induite par des processus moins répandus faisant intervenir par exemple le sérum, la prostaglandine E_2, l'ester de phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) et le chlorure de cobalt.

Ce qu'il est important de retenir est le fait que le niveau de transcription du VEGF pourrait résulter de l'effet coopératif de tous ces éléments. La régulation de l'expression du VEGF est un phénomène complexe faisant intervenir un grand nombre de processus indispensables.

5. Rôles du VEGF dans l'angiogenèse physiologique

Agent mitogène spécifique des cellules endothéliales, le VEGF est un facteur de croissance vasculaire qui joue un rôle central dans la régulation de la

vasculogenèse ainsi que dans celle de l'angiogenèse physiologique à tous les stades auxquels il intervient (Maillard *et al.*, 2000).

5.1. Rôle dans le développement embryonnaire

Le VEGF tient un rôle fondamental dans le contrôle de la vasculogenèse et la formation des vaisseaux sanguins durant l'embryogénèse. Son rôle a été montré par plusieurs études.

La première étude réalisée a consisté en l'inactivation spécifique du gène du VEGF, et notamment en la perte d'un seul allèle. Cette mutation a pour conséquence la létalité embryonnaire chez la souris par défaut d'angiogenèse. L'analyse des cellules embryonnaires révèle différentes anomalies du développement dues au blocage de l'expansion et de la différenciation des cellules endothéliales, ce qui provoque une diminution de la vascularisation et également une forte réduction du nombre de globules rouges. Le niveau d'expression du VEGF est donc essentiel au cours de l'embryogénèse, d'autant plus que c'est le seul facteur connu pour lequel l'invalidation d'un seul allèle conduit à une létalité embryonnaire systématique.

On remarque également que la délétion de la région 3'UTR sur un seul allèle du gène VEGF conduit aussi à la létalité embryonnaire des souris.

D'autres travaux ont montré des anomalies sévères du développement cardiaque chez la souris présentant une surexpression du VEGF d'un facteur deux à trois.

Par conséquent, la régulation minutieuse du niveau d'expression du VEGF est primordiale. De plus, l'angiogenèse indispensable au développement embryonnaire est largement régulée par le VEGF (Corvol, 2010).

5.2. Rôles chez l'adulte

Outre les étapes primitives de la vie, le facteur de croissance endothélial est également impliqué dans de nombreux processus chez l'individu adulte.

Il intervient notamment lors de la grossesse pendant laquelle il participe à la croissance folliculaire et au développement du corps jaune sous le contrôle de facteurs hormonaux, ainsi qu'à la croissance des vaisseaux de l'endomètre dans l'utérus.

Le VEGF joue un rôle dans la cicatrisation, l'ossification endochondrale, la croissance squelettique …

La néovascularisation fait partie également des processus régis par l'action du VEGF (Corvol, 2010).

5.3. Propriétés du VEGF

Le VEGF est responsable de différentes actions :

– synthèse de plusieurs types d'enzymes protéolytiques et de protéines dégradant la membrane basale et la matrice extracellulaire : collagénase, activateurs du plasminogène (t-PA et u-PA),

– induction de l'inhibiteur du plasminogène (PAI-1),

– favorise la migration et l'invasion des cellules endothéliales vers les tissus cibles,

– favorise la prolifération des cellules endothéliales,

– puissant facteur d'augmentation de la perméabilité vasculaire (il a d'abord été identifié comme un facteur de perméabilité vasculaire),

– favorise la formation de structures capillaires en trois dimensions,

– maturation et survie des cellules endothéliales,

– chimio-attractant pour les cellules endothéliales, les monocytes et les polynucléaires,

– stimule fortement la NO synthase : production d'oxyde nitrique responsable de l'effet angiogénique direct,

– entraine la formation de néovaisseaux.

6. Expression génique du VEGF

6.1. La transcription du VEGF

Le promoteur du VEGF s'étend sur environ 2,3kb. Il existe un codon initiateur AUG en amont duquel est situé le signal majeur d'initiation de la transcription, c'est-à-dire 1038 pb (paire de bases) avant. La séquence promotrice ne comprend cependant pas de boite TATA, mais elle possède un HRE dans la région comprise entre les nucléotides -985 et -939.

La transcription du VEGF fait intervenir plusieurs facteurs de transcription (HIF, SP-1, STAT3 pour Signal transducer and activator of transcription 3, AP-1 et AP-2) qui ont des sites de liaison différents. Comme nous l'avons décrit précédemment, de nombreux facteurs rentrent en compte dans la régulation de l'expression du gène (figure 15).

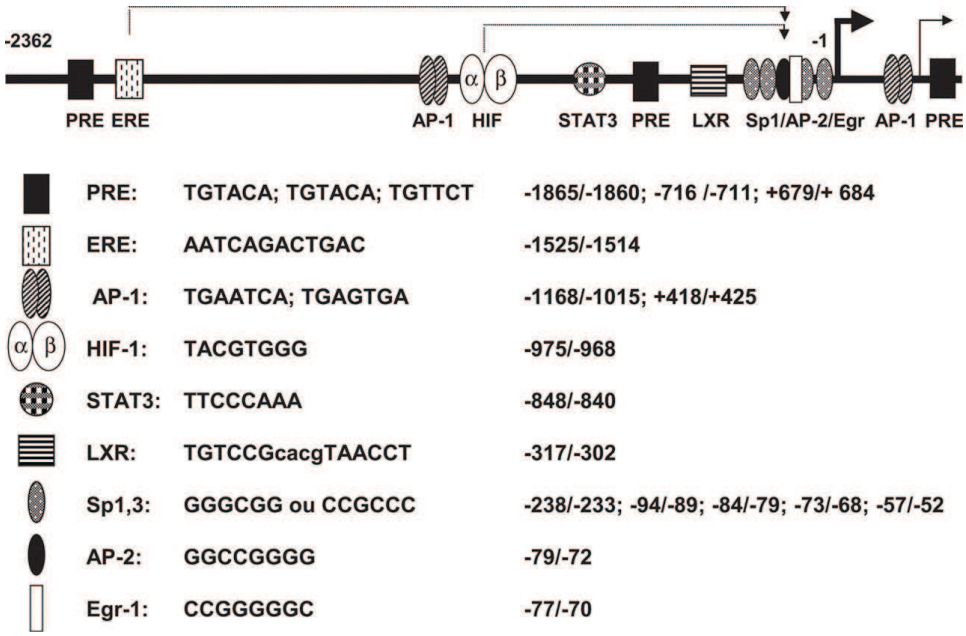


Figure 15 : Transcription du VEGF

Promoteurs et facteurs de transcription intervenant dans la transcription du gène

6.1.1. Les facteurs de transcription du VEGF

6.1.1.1. AP-1

Appartenant à la famille des leucin zipper, le facteur de transcription AP-1 (activator protein 1) est composé de protéines des familles multigéniques Fos (c-Fos, FosB, Fra-1, et Fra-2) et Jun (c-Jun, JunB, et JunD). L'activité transcriptionnelle de AP-1 est influencée par l'hypoxie, le stress oxydatif ainsi que les radiations UV qui sont capables d'activer la synthèse des protéines Fos et Jun.

Le promoteur du VEGF comporte quatre sites de liaison pour AP-1.

6.1.1.2. SP-1

Le site de fixation du facteur de transcription SP-1 (specificity protein 1) se situe dans la région proximale (riche en dinucléotides GC) du promoteur du VEGF.

SP-1 se lie à deux sites dans la région -88/-66 et sa liaison est modulée par la MAP kinase p42/p44.

Le facteur SP-1 participe à la régulation de sa transcription.

6.1.2. L'initiation alternative de la transcription du VEGF

La région 5'UTR du VEGF comporte un promoteur alternatif dont le point +1 de transcription serait situé à 633 pb en aval du site majeur d'initiation de la transcription.

Contrairement au transcrit issu du promoteur classique, ce promoteur alternatif entraine la synthèse d'un transcrit court comportant une région 5'UTR raccourcie. Ceci aura donc des conséquences notables au vu de l'importance de cette région dans le contrôle de la traduction. Aujourd'hui, on ne sait pas encore dans quelles conditions ce promoteur alternatif est utilisé (Thèse Karaa, 2008).

6.2. Maturation des ARNm du VEGF

Les ARNm (acide ribonucléique messager) issus de la transcription du gène VEGF vont subir une maturation consistant en un épissage. Comme vu précédemment, le gène est composé au départ de 8 exons qui s'étendent sur 16 272 pb.

L'épissage alternatif se concentre entre les exons 6, 7 et 8 et il va générer la formation de 9 isoformes polypeptidiques qui diffèrent par leur nombre d'acides aminés : 121, 145, 148, 162, 165, 165b, 183, 189 et 206 aa.

6.2.1. L'épissage alternatif

L'épissage alternatif est donc le principal moyen d'obtenir une maturation des ARNm du VEGF. Celui-ci peut avoir lieu au niveau du site donneur en 5', ou bien au niveau du site accepteur en 3'.

On retrouve tout d'abord les isoformes de 121, 165 et 189 aa qui diffèrent au niveau de leurs exons 6a, 6b et 7. Ce sont les trois isoformes majoritaires. L'isoforme de 121 aa est la plus diffusible car elle ne contient pas les exons 6 et 7. L'isoforme de 165 aa, qui est la plus majoritairement exprimée, contient l'exon 7 mais ne contient pas les résidus codés par les exons 6a et 6b, elle est donc moins diffusible que l'isoforme 121. Enfin, l'isoforme de 189 aa possède les séquences codées par les exons 6 et 7. Comme le domaine de liaison aux HSPG est codé par l'exon 7, l'isoforme de 189 aa a donc une très forte affinité pour ces récepteurs et par conséquent, elle est très peu diffusible.

La diffusibilté des différentes isoformes est responsable de leur liaison plus ou moins forte à la surface cellulaire. En effet, le VEGF189 est l'isoforme la plus liée à la surface des cellules car elle est très peu diffusible, contrairement au VEGF121 qui est le plus éloigné. La répartition est également directement corrélée à la fonction des isoformes : celles qui sont le plus associées à la matrice extracellulaire jouent un rôle important dans la formation de nouveaux capillaires tandis que les isoformes les plus éloignées participent au recrutement des vaisseaux distaux.

D'autre part, il y a un autre processus d'épissage qui intervient au niveau du site accepteur 3' distal qui est contenu dans l'exon 8. Le phénomène distal entraine

la formation d'une seconde famille d'isoformes appelées VEGF-B parmi lesquelles on trouve le VEGF121, 145, 165, 183 et 189. Les deux sites accepteurs en 3' contenus dans l'exon 8 sont séparés par 66 nucléotides. Prenons l'exemple du VEGF165, les deux isoformes issues des deux familles différentes diffèrent au niveau de la séquence de leur exon 8 car le VEGF165a possède un exon 8a alors que le VEGF165b possède un exon 8b. Les deux isoformes possèdent donc le même nombre d'aa, ce sont les six derniers aa qui changent mais les exons 8a et 8b comportent chacun un codon de terminaison de la traduction.

6.2.2. Régulation de l'épissage alternatif du VEGF

Les mécanismes de régulation de l'épissage ne sont pas encore bien connus. On ne peut donc pas dire si il serait faiblement régulé ou pas.

6.2.3. La maturation en 3'

La région 3'UTR du VEGF humain s'étend sur environ 1900 nucléotides et contient deux sites de polyadénylation. Le premier site AAUAAA est canonique et est situé à 404 nt en aval du codon de terminaison de la traduction. Le second site est contenu dans la séquence AAGAAAUACA qui contient deux sites de polyadénylation mineurs AAGAAA et AAUACA. Il est situé à 1874 nt en aval du codon de terminaison de la traduction.

Plusieurs expériences ont été réalisées en clonant cette région 3'UTR et on remarque la conservation de celle-ci au cours de l'évolution. L'information contenue dans cette région a donc un rôle important (Thèse Karaa, 2008).

6.3. Contrôle de la stabilité des ARNm du VEGF

Chez l'homme, la région 3'UTR contient deux séquences consensus de type UUAUUUA(A/U)(A/U) situées 1247 et 1740 nt (nucléotides) en aval du codon de terminaison de la traduction. Elle contient également six motifs AUUUA essentiellement répartis dans la seconde moitié de cette région.

Le contrôle de la demi-vie des ARNm du VEGF est régi par plusieurs protéines parmi lesquelles on trouve les protéines HuR (human antigen R), PAIP2 (poly(A) binding protein interacting protein 2) et TIS11B (Tetradecanoyl phorbol acetate-inducible sequence 11B). La demi-vie des ARNm étant très courte (environ 1h), la stabilité de ceux-ci doit être contrôlée de manière très fine car c'est cette stabilité qui détermine leur abondance.

La protéine HuR se fixe à la région 3'UTR du VEGF et augmente sa stabilité, mais uniquement en réponse à l'hypoxie.

La protéine PAIP2 stabilise l'ARNm par interaction directe avec la région 3'UTR du VEGF. Elle interagit également avec la protéine HuR. Ces deux protéines auraient donc un effet coopératif dans le contrôle de la stabilité des messagers du VEGF.

Au contraire, la déstabilisation du messager est entrainée par la liaison de la protéine TIS11B à la région 3'UTR du VEGF (Thèse Karaa, 2008).

6.4. Traduction du VEGF

La traduction du VEGF peut se faire par différents procédés faisant intervenir des éléments de séquences régulateurs de la traduction présents dans ses régions 5' et 3'UTR. La traduction peut se faire par le processus conventionnel qui consiste en un balayage du ribosome à partir de la coiffe située à l'extrémité 5'. Cependant, elle peut également être initiée au niveau de deux codons initiateurs alternatifs AUG et CUG, peut avoir lieu à partir de deux IRES, qui sont des séquences permettant le démarrage de la traduction de manière interne. Il existe l'IRES-A et B présentes dans la région 5'UTR. Enfin, la traduction peut aussi être régulée par des éléments en cis présents dans sa région 3'UTR ainsi que par la présence d'un petit cadre de lecture situé dans l'IRES-A (figure 16).

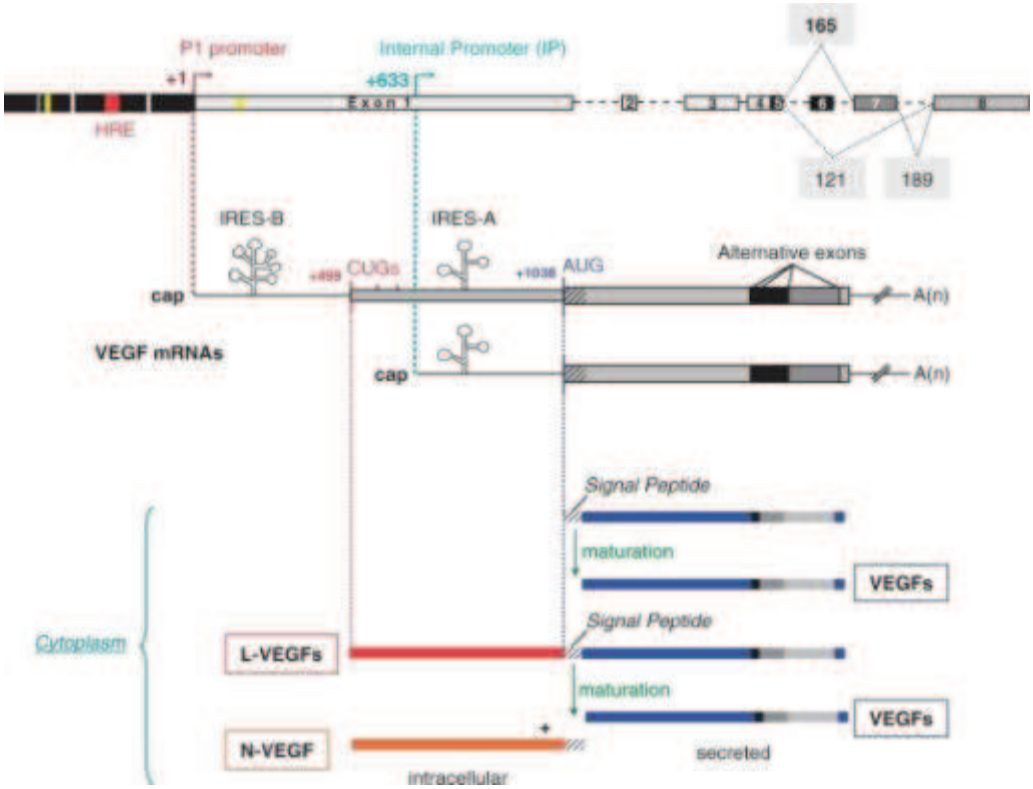


Figure 16 : Structure du gène du VEGF, représenté avec les différents initiateurs de sa traduction, entrainant la production du L-VEGF et du N-VEGF

(d'après Bastide *et al.*, 2008)

6.4.1. Les codons alternatifs d'initiation de la traduction du VEGF

Comme vu précédemment, la traduction peut se faire à partir de deux codons alternatifs.

D'une part, le processus peut être initié à partir du codon non canonique CUG, en amont et en phase avec le codon AUG, qui aboutit à la synthèse d'un précurseur spécifique du VEGF. En effet, l'isoforme ainsi formée pèse 53 kDa (kiloDalton), et contient une extension amino-terminale de 206 aa (acides aminés), elle est donc appelée L-VEGF (Long). Le L-VEGF peut se retrouver au niveau de la matrice extracellulaire, dans les éléments cellulaires en situation d'hypoxie, ou encore dans l'appareil de Golgi. Son expression se fait dans les poumons, la rate, les ovaires et le placenta chez l'adulte mais aussi chez le fœtus au niveau du cœur.

Le L-VEGF va ensuite subir une maturation à l'origine du clivage de ce précurseur en deux polypeptides : une partie amino-terminale, appelée N-VEGF, comprenant 206 aa, et une partie carboxy-terminale qui correspond au VEGF tel qu'il est produit à partir du codon d'initiation AUG, et qui est ensuite secrété.

Les fonctions du L-VEGF et du N-VEGF demeurent inconnues.

Par ailleurs, il a été démontré au laboratoire que, pour les isoformes de 121, 165 et 189 aa, l'utilisation du codon CUG est constitutive, alors que l'utilisation du codon AUG est régulée en fonction des séquences des variants d'épissage codant les isoformes VEGF121, 165 et 189. Ainsi, pour générer le VEGF 165 et 189, l'initiation de la traduction peut être alternativement initiée au codon AUG et CUG, alors que la synthèse du VEGF121 ne peut avoir lieu qu'à partir du codon CUG.

6.4.2. Les IRES du VEGF

Deux IRES ont été identifiées dans la région 5'UTR du VEGF. Celle-ci contient un grand nombre de dinucléotides GC qui lui confèrent une structure parfaite mais elle est également très longue puisqu'elle s'étend sur 1038 nucléotides.

Plusieurs études ont démontré le rôle des IRES dans la traduction du VEGF. Les expériences, réalisées sur des souris transgéniques exprimant des gènes rapporteurs sous le contrôle de chacune des IRES-A et B du VEGF, démontrent que les IRES sont indispensables au processus de traduction du VEGF, notamment elles interviennent en grande partie en réponse à un stress tel que l'hypoxie. En effet, les études révèlent que l'activité IRES est plus fortement activée dans les muscles en condition d'ischémie, contrairement aux tissus embryonnaires et adultes dans lesquels elle est moins importante.

Directement en amont du codon initiateur AUG, on trouve l'IRES-A (+745/+1038). Sa séquence, riche en GC, est extrêmement conservée et une structure secondaire forme un Y suivi d'une structure en tige boucle suivie d'une région d'homologie avec l'ARN ribosomique 18S humain.

L'IRES-B se situe en amont de l'IRES-A entre les nucléotides +91 et 483.

6.4.3. Les éléments en cis de la région 3'UTR

Il a été démontré par une étude récente la présence d'éléments de réponse dans la région 3'UTR du VEGF responsables de l'inhibition de sa traduction, par l'intermédiaire de l'interféron gamma (IFN-γ) au cours de l'inflammation.

Ceci est un mécanisme complexe qui agit en plusieurs étapes. Tout d'abord, l'IFN-γ active la liaison d'un complexe protéique appelé GAIT (IFN-gamma-activated inhibitor of translation) à une structure en tige boucle de 28 nt située 385 nt en aval du codon stop du VEGF. Le complexe GAIT contient une protéine ribosomique L13a qui va subir une phosphorylation par l'IFN-γ, ce qui active la liaison du complexe GAIT à son élément de réponse – dans la région 3'UTR – et permet la liaison directe de la protéine L13a au facteur eIF4G (eukaryotic Initiation Factor 4G). Cette liaison va ensuite empêcher l'interaction entre le facteur eIF3 et eIF4G, ce qui entraine l'incapacité de liaison du facteur eIF4F au complexe 43S. Par conséquent, la liaison du complexe GAIT à sa région 3'UTR suffit à inhiber la traduction du VEGF.

6.4.4. Le petit cadre ouvert de lecture du VEGF

Un petit cadre ouvert de lecture, appelé uORF (Upstream Open Reading Frame), se trouve dans la région 5'UTR du VEGF. Il code pour un polypeptide putatif de trois acides aminés. Cette section uORF est située 186 nt en amont du codon AUG, et les études réalisées ont montré son rôle dans le contrôle de l'initiation de la traduction à l'AUG.

D'autre part, il a également été démontré que le codon d'initiation uAUG de cette uORF est fonctionnel car il entraine la synthèse d'une chaine de trois acides aminés, qui est retrouvée dans différentes espèces.

Enfin, le blocage de la traduction dépendante de la coiffe a permis de montrer que la traduction initiée au codon uAUG est sous le contrôle de l'IRES-A (Thèse Karaa, 2008).

Partie II : Rôle du VEGF dans l'angiogenèse tumorale

1. Introduction

Le VEGF est un facteur clé de l'angiogenèse autant au niveau physiologique que pathologique, et notamment au sein des tumeurs dans lesquelles il est indispensable pour leur croissance.

En effet, dans des conditions physiologiques normales, les cellules endothéliales sont à l'état quiescent, c'est-à-dire qu'elles ne se divisent quasiment pas. Il en est de même pendant les premières étapes de la croissance d'une tumeur. En revanche, lorsque la tumeur atteint une taille critique, différents stimuli comme l'hypoxie ou l'inflammation vont déclencher le mécanisme du switch angiogénique, entrainant une surproduction de facteurs pro-angiogéniques parmi lesquels on retrouve le VEGF en majorité. On observe alors une modification du phénotype angiogénique des cellules endothéliales qui se multiplient et se différencient pour mettre en place une néovascularisation qui provoque la prolifération des vaisseaux anormaux (figure 17). Par conséquent, le VEGF a donc un rôle déclencheur de l'angiogenèse tumorale, mais il est également responsable de l'auto-entretien de ce phénomène en assurant la stabilité et la survie des nouveaux vaisseaux anormaux (Scoazec, 2000).

Au départ, le VEGF a été isolé comme un facteur sécrété par les tumeurs qui induisaient une perméabilité vasculaire, il a même été appelé VPF pour Vascular Permeability Factor. Par la suite, de nombreuses études ont montré que la plupart des tumeurs synthétisent des facteurs angiogéniques et le VEGF en est l'un des plus étudiés. En effet, le VEGF est détecté dans pratiquement toutes les tumeurs ou lignées tumorales.

De par ses propriétés angiogéniques majeures, le VEGF a un rôle très important par sa valeur pronostique dans l'évolution des tumeurs. Son expression par les cellules tumorales entrainant une augmentation de la densité vasculaire, il est un indicateur du pouvoir métastasant. Par conséquent, sa présence est associée à un mauvais pronostic dans de nombreux types de tumeurs solides et hématologiques (Maillard *et al.*, 2000).

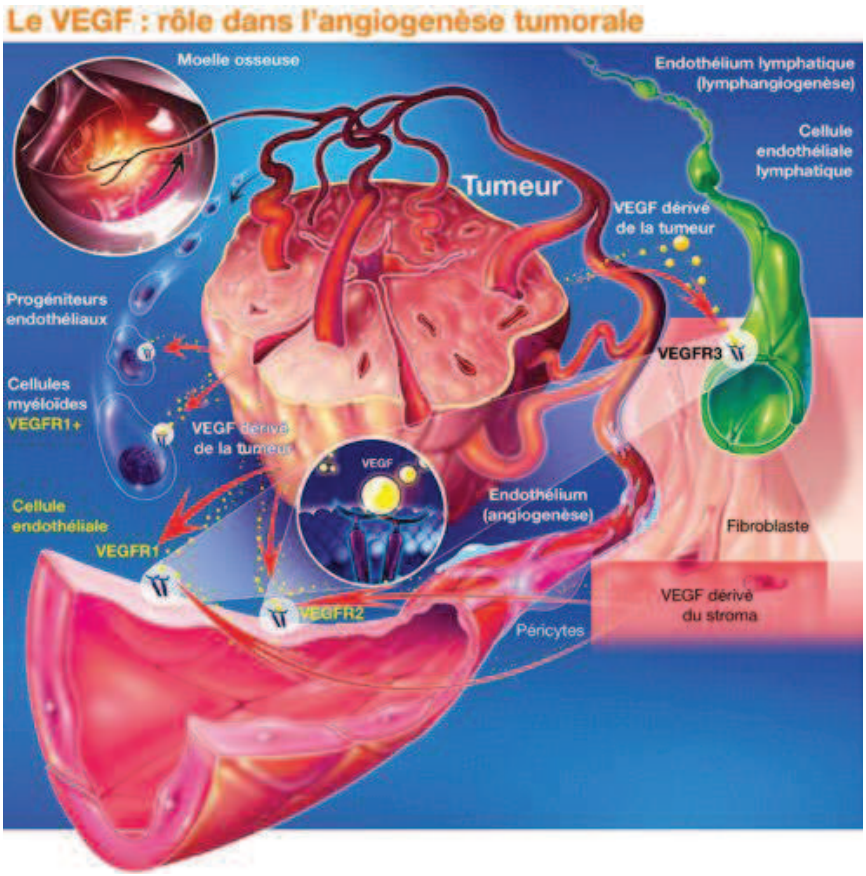


Figure 17 : Rôles du VEGF dans l'angiogenèse tumorale

Action du VEGF via ses récepteurs spécifiques pour stimuler la croissance tumorale

2. Rôles du VEGF dans l'angiogenèse tumorale

L'angiogenèse nécessite un équilibre rigoureux entre signaux pro et anti-angiogéniques. Lors de l'évolution de la croissance tumorale, il se produit un phénomène appelé switch angiogénique qui correspond à l'augmentation massive des facteurs pro-angiogéniques, ce qui entraine un excès d'angiogenèse. Le VEGF est grandement impliqué dans ce phénomène du fait de sa capacité à stimuler la néovascularisation des tumeurs.

Parmi les différentes isoformes du VEGF, il en apparait une qui est présente de façon plus importante dans plusieurs cancers, c'est le VEGF121. Une étude réalisée sur des cellules de carcinomes mammaires exprimant chacune des isoformes 121, 165 et 189 aa dans des quantités comparables a montré que

l'isoforme 121 est la plus angiogène. Parmi tous les variants d'épissage, c'est donc le VEGF121 qui est le plus tumorigène, ce qui est dû à son importante diffusibilité (Maillard *et al*., 2000).

2.1. Rôle du VEGF dans la vascularisation tumorale

Dans un premier temps, le VEGF va induire la lyse de la membrane basale et de la matrice extracellulaire en stimulant l'expression et le relargage de plusieurs enzymes protéolytiques. Cette étape est indispensable pour l'invasion des tissus environnants par les vaisseaux néoformés. Le VEGF va ensuite activer les cellules endothéliales en favorisant leur prolifération, leur migration et leur organisation en microtubules. Celui-ci est également responsable de l'augmentation de la perméabilité vasculaire ainsi que de la favorisation de la survie des cellules endothéliales.

Le VEGF possède d'autres niveaux d'action sur des types cellulaires différents. Il inhibe les cellules dendritiques présentatrices d'antigènes, mobilise les macrophages et les cellules progénitrices des cellules endothéliales, l'ensemble favorisant le développement du réseau vasculaire et d'un microenvironnement favorable à la croissance des cellules tumorales (Corvol, 2010).

2.1.1. Rôle des différentes isoformes du VEGF

Une étude a été réalisée pour apprendre à connaitre le rôle de chacune des isoformes du VEGF dans l'angiogenèse tumorale. Des cellules murines déficientes en VEGF ont été transfectées pour exprimer chacune des isoformes de 121, 165 et 189 aa en quantités comparables. Cette étude permettra de mieux renseigner le rôle de chaque isoforme dans la tumorigenèse et plus précisément dans l'expansion des capillaires de la vascularisation.

Les résultats de l'étude révèlent tout d'abord l'importance du VEGF dans l'angiogenèse des tumeurs car celles qui ne l'expriment pas possèdent un réseau vasculaire très réduit, qui correspond à une taille de la tumeur moins importante également.

Concernant les rôles des isoformes, les tumeurs n'exprimant que le VEGF121 présentent une faible vascularisation intra-tumorale bien que le réseau vasculaire soit quand même supérieur à celui des tumeurs qui n'expriment pas le VEGF. On ne remarque pas de différence de taille entre les tumeurs n'exprimant que le VEGF189 et celles qui n'expriment pas de VEGF. Cependant, ces tumeurs présentent une hypervascularisation intra-tumorale et une quasi absence de gros vaisseaux périphériques. Enfin, les plus fortes croissances concernant la masse tumorale sont observées dans les tumeurs qui n'expriment que le VEGF165 car celles-ci possèdent une très bonne vascularisation.

Ces expériences montrent le rôle complémentaire de chaque isoforme. En effet, la diffusibilité variable de chaque isoforme permet au VEGF121 de recruter les vaisseaux distaux afin de regagner la circulation systémique, à distance des cellules effectrices; au VEGF189 d'induire la microvascularisation locale ; et au VEGF165 d'assurer à la fois la formation des vaisseaux sanguins à proximité et à distance de la tumeur. En revanche, la tumorigenèse ne peut être induite pleinement que par le VEGF165.

Concernant l'isoforme 165b, on la retrouve en quantité diminuée dans certains cancers où l'angiogenèse est très importante, ce qui est en accord avec son potentiel anti-angiogénique (Thèse Karaa, 2008).

2.2. Migration des cellules endothéliales

D'après les différentes études réalisées, la migration des cellules endothéliales serait sous le contrôle uniquement du VEGFR-2. Certaines études sembleraient faire intervenir le VEGFR-1.

Il y a deux voies qui interviennent lors de la migration des cellules : la voie FAK (focal adhesion kinase) et la voie PI3K/AKT. La liaison du VEGF sur son récepteur VEGFR-2 entraine la liaison de la protéine adaptatrice SHB (Src homology 2 domain containing adaptor protein B) sur ce même récepteur. Ce phénomène va engendrer l'activation de FAK et PI3K, responsables de la migration des cellules endothéliales.

La migration pourrait également être régie par la voie p38/MAPK (Thèse Boiteux, 2008).

2.3. Prolifération des cellules endothéliales

Le VEGF est également responsable de la prolifération des cellules endothéliales pour former un nouveau vaisseau.

Il va venir se fixer sur le récepteur VEGFR-2, ce qui conduit à l'activation de la voie MAPK-ERK-1/2. La PLC-γ (Phospholipase C) active la PKC (Protein kinase C) via la formation de diacylglycerol (DAG) et provoque l'augmentation de la concentration en Ca^{2+} intracellulaire.

La prolifération fait également intervenir la PI3K (Thèse Boiteux, 2008).

2.4. Survie des cellules endothéliales

La survie des cellules endothéliales est un élément indispensable au maintien des vaisseaux néoformés. Le VEGF tient un rôle très important car il est capable de protéger ces cellules de l'apoptose induite par le TNF-α par exemple ou encore les radiations ionisantes.

Lorsque les cellules sont en conditions de stress, la fixation du VEGF sur son récepteur VEGFR-2 entraine l'activation de la voie PI3K et la phosphorylation de la protéine AKT/PKB (protein kinase B). Celle-ci est ainsi capable d'inhiber des protéines pro-apoptotiques telles que Bad.

Il existe également une régulation des protéines anti-apoptotiques qui gère la survie des cellules. On peut citer par exemple la protéine Bcl-2.

La phosphorylation de FAK maintient aussi la survie (Thèse Boiteux, 2008).

2.5. Perméabilité vasculaire

Le VEGF a été tout d'abord mis en évidence comme facteur de perméabilité vasculaire. C'est quelques années plus tard que l'on a découvert ses capacités à stimuler la croissance des vaisseaux mais l'augmentation de la perméabilité vasculaire des microvaisseaux aux macromolécules reste une des actions dues au VEGF.

La liaison du VEGF au VEGFR-2 provoque une augmentation de l'activité de la NO synthase par l'intermédiaire de la voie PI3K/AKT, ce qui entraine la production de NO qui est responsable en grande partie de l'augmentation de la perméabilité. En effet, il induit l'extravasation de protéines plasmatiques comme la fibrine qui va former un gel extracellulaire, substrat pour la migration endothéliale (Thèse Boiteux, 2008).

2.6. Autres rôles

Afin de permettre l'angiogenèse tumorale le mieux possible, le VEGF est responsable d'autres effets biologiques que l'on ne détaillera pas. On peut citer :

– synergie avec le FGF-2 pour stimuler la migration des cellules endothéliales,

– réponse angiogénique synergique avec l'angiopoïétine,

– induit l'expression par les cellules endothéliales d'activateurs du plasminogène du type urokinase,

– induit l'expression par les cellules endothéliales d'inhibiteurs des activateurs du plasminogène,

– augmente l'expression par les cellules endothéliales de métalloprotéinases de la matrice,

– augmente l'afflux de calcium dans les microvaisseaux,

– induit l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales,

– permet le chimiotactisme des monocytes,

– inhibe la maturation des cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques).

3. Facteurs inducteurs du VEGF

Une étude de glioblastome a mis en évidence le fait que la présence du VEGF dans ces tissus anormaux est en grande majorité induite par l'hypoxie tumorale. En effet, on a retrouvé le VEGF à proximité des zones hypoxiques de nécrose

tissulaire, celui-ci est donc synthétisé dans les cellules cancéreuses sous l'influence de l'hypoxie.

D'autre part, d'autres facteurs comme les cytokines, l'hypoglycémie, les oncogènes, les facteurs de croissance … (comme vu dans les chapitres précédents) stimulent également la production de VEGF et donc l'angiogenèse tumorale (Corvol, 2010).

4. Perspectives thérapeutiques

Comme le VEGF cible spécifiquement les cellules endothéliales et qu'il est responsable en grande partie de l'induction de l'angiogenèse tumorale, l'inhibition de ce facteur constitue un traitement anticancéreux en pleine expansion.

Plusieurs stratégies ont été développées parmi lesquelles l'utilisation d'anti-VEGF ou d'anti-récepteurs. Nous détaillerons ceci dans le chapitre suivant.

Chapitre III : Stratégies anti-VEGF dans la prise en charge des cancers

1. Introduction : rôle important du VEGF dans l'angiogenèse

C'est dans les années 1970, depuis les travaux de Judah Folkman, que l'on a découvert que pour croître, une tumeur a besoin d'un apport constant en sang et en nutriments (Lièvre, 2007). De plus, ce chirurgien du Children's Hospital de Boston, avait également observé que toute tumeur de taille supérieure à 1-2 mm3 développait son propre réseau vasculaire, ce que l'on appelle la néovascularisation. Cette capacité de la tumeur à produire de nouveaux vaisseaux sanguins s'appelle l'angiogenèse, mécanisme que nous avons décrit précédemment.

Suite à cette découverte, Folkman émit alors l'hypothèse que la croissance des tumeurs solides était dépendante de l'angiogenèse et énonça pour la première fois le concept des molécules anti-angiogéniques. Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, l'angiogenèse est régulée par un équilibre complexe entre facteurs pro et anti-angiogéniques. Elle intervient à toutes les étapes de la carcinogenèse, à la fois dans le développement précoce du cancer, mais également au cours du processus métastatique. Parmi ces facteurs, le VEGF apparaît comme un acteur très important dans le développement de la néovascularisation tumorale. En effet, les cancers dits « angiogéniques » sont caractérisés par une forte densité tumorale de micro-vaisseaux et des taux élevés de VEGF.

Depuis la publication princeps de Folkman en 1971, les connaissances dans le domaine se sont améliorées, en particulier avec la mise en évidence et le clonage en 1989 du VEGF. Celui-ci est sécrété par les cellules tumorales elles-mêmes et va agir directement sur les cellules endothéliales de l'environnement péri-tumoral pour engendrer la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux. Le Vascular Endothelial Growth Factor se révèle donc être un facteur indispensable durant l'angiogenèse tumorale (Ray-Coquard *et al.*, 2007) (Garbay et Brion, 2012).

2. Développement des anti-angiogéniques

Comme il arrive souvent, les visionnaires ne voient que tardivement la concrétisation de leur hypothèse. Judah Folkmann n'échappe pas à la règle ; la

publication princeps du jeune chirurgien en 1971 qui émettait l'hypothèse selon laquelle « la croissance tumorale est dépendante de l'angiogenèse », suscita critiques et scepticisme de la part de la communauté scientifique (Lièvre, 2007) (Garbay et Brion, 2012). Quarante ans après, le bien-fondé de sa théorie, qu'il défendit avec obstination, est maintenant clairement établi.

Si la croissance des tumeurs dépend de leur capacité à stimuler la création de nouveaux vaisseaux, alors la réponse à la question: « pourquoi cibler l'angiogenèse ? » est simple ! Pour arrêter l'approvisionnement en sang de la tumeur, afin de la faire mourir de faim. C'est donc une cible intéressante dans la stratégie de lutte contre le cancer.

De plus, la découverte du VEGF comme facteur crucial dans les mécanismes d'angiogenèse de par sa surexpression dans les tumeurs constitue une cible très intéressante pour le traitement en pathologie tumorale.

C'est grâce à ces découvertes que Folkman émit l'hypothèse que le traitement avec des molécules détruisant les vaisseaux irriguant la tumeur pourrait inhiber la croissance des cellules cancéreuses, ou au moins stabiliser la tumeur. Et c'est seulement à partir des années 90 que les données expérimentales ont véritablement corroboré cette hypothèse. En effet, le rôle de l'angiogenèse dans le développement tumoral et la reconnaissance du VEGF comme un facteur clé dans ce processus ont conduit au développement de molécules anti-angiogéniques dans le traitement du cancer. Parmi elles, les principales sont celles visant à inhiber la voie du VEGF, au premier rang desquelles les anticorps anti-VEGF (bevacizumab) et les inhibiteurs de tyrosine kinase des récepteurs du VEGF (vatalanib, sorafenib, sunitinib …). D'autres stratégies d'inhibition de l'angiogenèse sont en cours d'évaluation, ciblant la voie du VEGF ou d'autres voies impliquées dans l'angiogenèse.

Par conséquent, les thérapies anti-angiogéniques suscitent beaucoup d'espoirs. De nombreuses études de phases II et III ont déjà montré le bénéfice du ciblage de l'angiogenèse dans la prise en charge de cancers solides, notamment en situation avancée ou métastatique (côlon, rein, etc.).

3. Angiogenèse : facteur pronostique

Nous avons donc compris que l'angiogenèse joue un rôle clé dans le développement des cancers. De plus, un certain nombre d'études ont montré que l'angiogenèse est un facteur important de mauvais pronostic dans diverses tumeurs, notamment le cancer du sein, du rein, de la prostate, du côlon ou encore du cerveau, ainsi que dans le mélanome.

Il a été constaté que le taux de récidive des tumeurs fortement vascularisées était plus élevé que celui des tumeurs qui l'étaient faiblement.

Par conséquent, il paraît très important de bien comprendre les mécanismes de la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux afin d'élaborer des thérapies ciblées contre la néovascularisation.

4. Qu'est-ce qu'une thérapeutique ciblée?

On identifie un traitement thérapeutique comme ciblé dès lors:

- qu'il est actif sur une cible biologique identifiée, ici en l'occurrence le VEGF,
- que la cible est impliquée dans la cancérogenèse ou dans une anomalie causale de la maladie cancéreuse,
- qu'il a un effet spécifique, épargnant les cellules normales, ce qui entraîne une diminution de la toxicité,
- qu'il est utilisé seul ou en plus des autres stratégies thérapeutiques (Laramas, 2009).

5. Effets des stratégies anti-angiogéniques

Des études expérimentales réalisées ont montré que la croissance tumorale est ralentie sous l'effet d'un traitement anti-angiogénique mais qu'elle reprend à l'arrêt du traitement. En théorie, une stratégie anti-angiogénique a surtout comme effet l'arrêt de la prolifération c'est-à-dire une action cytostatique mais pas cytotoxique.

Cependant, le ciblage d'une seule molécule impliquée dans l'angiogenèse

peut induire à terme un échappement thérapeutique par l'activation d'autres facteurs angiogéniques.

6. Historique de la prise en charge des cancers par la stratégie anti-VEGF

Les premiers essais prometteurs ont été rapportés dans le cancer du rein métastasé ainsi que celui du colon métastasé.

En effet, concernant le cancer du rein, on observe une amélioration de la survie sans progression des patients lors de l'utilisation d'un traitement standard associé au bevacizumab, contrairement au traitement standard + placebo.

D'autre part, d'autres essais concernant le cancer du côlon montrent les mêmes bénéfices des anti-VEGF. La médiane de survie sans progression des patients traités par chimiothérapie de première ligne + bevacizumab est en moyenne de 5 mois supérieure, soit un gain de quelques 5 mois d'espérance de vie. De ce fait, le bevacizumab est le premier anti-angiogénique à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché dans le traitement de première ligne du cancer colorectal métastatique. Plus récemment, le sunitinib et le sorafenib ont montré leur intérêt, respectivement dans les tumeurs stromales digestives résistantes à l'imatinib et le carcinome hépatocellulaire avancé.

Dans les cancers broncho-pulmonaires, de nombreuses études ont également été réalisées, pas toujours toutes concordantes car la survie sans progression n'est pas toujours améliorée.

En ce qui concerne le traitement du cancer du sein, l'association d'un anti-VEGF améliore la survie sans progression par rapport au cytotoxique seul.

De nombreuses autres études sont en cours de réalisation, notamment avec le bevacizumab ou des inhibiteurs de tyrosine kinase des récepteurs du VEGF dans tous ces cancers ainsi que dans les cancers des ovaires ou le glioblastome.

Nous faisons ici un petit historique de l'utilisation des anti-VEGF dans le traitement des cancers (Bouzid *et al*., 2012).

6.1. Cancer colorectal

Le traitement du cancer colorectal métastatique s'est remarquablement amélioré ces dernières années.

C'est en 2004 que Hurwitz *et al*. ont rapporté pour la première fois l'efficacité contre placebo de l'association irinotécan et oxaliplatine, en association avec une fluoropyrimidine ± acide folinique et bevacizumab, versus mêmes cytotoxiques + placebo. La survie globale des patients a été significativement augmentée puisqu'elle passe de 15,3 mois pour le bras sans anticorps versus 20,3 pour les patients recevant du bevacizumab. C'est donc en se fondant sur ces résultats que la Food and Drug Administration (FDA) puis l''Agence européenne des médicaments (EMA) ont approuvé le médicament dans la prise en charge du cancer colorectal en première ligne métastatique. A savoir que la survie sans progression a elle-aussi été augmentée, l'intérêt du bevacizumab est donc clairement démontré en traitement de première ligne.

Un autre critère important a été évalué dans des études réalisées plus récemment par Kabbinavar *et al*.: la survie sans rechute. En effet, une étude de phase II randomisée montre que la survie sans rechute est plus importante pour les patients recevant du bevacizumab que pour ceux qui reçoivent une chimiothérapie seule.

En deuxième ligne métastatique le bevacizumab a amélioré la survie sans progression et la survie globale avec une association de plusieurs cytotoxiques.

Le traitement anti-VEGF dans les cancers colorectaux tient donc une place importante (André, 2007) (Ray-Coquard *et al*., 2007).

6.2. Cancer du rein

Le carcinome à cellules rénales, dont l'incidence augmente depuis 50 ans, représente 2 à 3 % des tumeurs malignes de l'adulte. Chaque année en Europe, on recense 85 000 nouveaux cas environ, dont 8 300 en France. Parmi ces patients atteints de la maladie, on compte près de 4 000 décès par an en France.

Un tiers des patients est diagnostiqué au stade d'emblée métastatique, avec un pronostic particulièrement péjoratif et une survie globale à cinq ans inférieure à

25%. Concernant les patients qui présentent initialement une forme localisée, 30 % d'entre eux développeront des métastases après la néphrectomie.

Cependant, la place de la néphrectomie de réduction tumorale dans la prise en charge des cancers du rein est désormais controversée avec l'arrivée des nouvelles thérapies ciblées anti-angiogéniques.

Le traitement médical du cancer du rein métastatique se résumait, jusqu'en 2006, à l'immunothérapie basée sur l'utilisation de 2 cytokines: l'interleukine-2 (IL-2) et l'interféron-α (IFN-α). Les résultats obtenus avec ces traitements étaient plutôt décevants. En effet, l'utilisation de l'IFN-α seul montrait un impact modeste sur la survie des patients et l'association IL-2 plus IFN-α ne montrait pas non plus de retentissement sur la survie globale.

Devant ces résultats décevants, des alternatives thérapeutiques ont été activement recherchées. Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes de la néo-angiogenèse tumorale et de son rôle dans le développement du cancer du rein a conduit au développement de thérapies ciblées dirigées contre les effecteurs clés de ce processus, comme le VEGF et récepteurs du VEGF. La plupart de ces molécules ont fait la preuve de leur supériorité par rapport aux immunothérapies classiques en permettant une amélioration notable du pronostic avec des bénéfices cliniques chez les patients.

Une étude de phase III randomisée publiée en 2003 a permis de mettre en évidence l'intérêt du traitement par anti-VEGF. Le traitement de 116 patients par bevacizumab (anticorps monoclonal anti-VEGF) ou soit par un placebo a montré un allongement significatif de la survie sans rechute en faveur du bevacizumab.

Deux inhibiteurs ciblant plusieurs protéines kinases, dont le récepteur du VEGF, permettent d'augmenter la survie sans progression des patients atteints de cancer du rein métastatique et sont actuellement commercialisés: le sunitinib (Sutent®) en première ligne et le sorafenib (Nexavar®) en deuxième ligne de traitement (Pouessel *et al*., 2008).

L'avènement des thérapies ciblées anti-angiogéniques dans la prise en charge des cancers du rein a bouleversé les stratégies thérapeutiques actuelles. Leur place en situation néo-adjuvante ou adjuvante, dans les formes localement avancées ou métastatiques, est pour l'instant limitée. Le développement de protocoles de recherche et d'essais cliniques nous permettra dans un avenir proche de

déterminer quelle est, pour un patient donné, la séquence thérapeutique optimale (Drai *et al*., 2013).

6.3. Cancers thoraciques

Le cancer bronchique est en France la première cause de mortalité par cancer avec environ 28 000 décès annuels. Le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) est de loin le type histologique prédominant.

Au moment du diagnostic, les formes d'emblée métastatiques ou inaccessibles à un traitement local représentent plus de la moitié des cas.

Le concept soutenant l'utilisation de facteurs anti-angiogéniques dans le traitement du cancer du poumon inclut la notion de surexpression de plusieurs facteurs de croissance angiogéniques, dont le VEGF, dans les tumeurs pulmonaires ainsi qu'une augmentation de la densité des micro-vaisseaux tumoraux. De plus, l'importance de l'angiogenèse tumorale est mise en exergue par la valeur pronostique défavorable de l'expression de nombreux marqueurs de ce processus. En effet, on remarque que la majorité des cancers bronchiques présente un phénotype angiogénique. Ces affirmations sont confirmées par une méta-analyse des études publiées montrant la valeur pronostique défavorable des micro-vaisseaux tumoraux avec un risque de décès multiplié par un facteur de 1,8 à 1,99. On observe également un risque de décès plus élevé avec l'augmentation de l'expression du VEGF par la tumeur. Ces données confirment donc l'intérêt de bloquer l'angiogenèse tumorale.

Au départ, le traitement des CBNPC au stade métastatique reposait sur la chimiothérapie cytotoxique conventionnelle mais les résultats obtenus avec ces traitements montrent rapidement un plafonnement thérapeutique. Au fil des années, la meilleure connaissance des mécanismes de formation de nouveaux vaisseaux a entraîné le développement de molécules visant à inhiber la néovascularisation tumorale. Les thérapeutiques ciblées étudiées peuvent ainsi interagir avec des facteurs de croissance et leurs récepteurs.

La première étude de phase III randomisée a été publiée en 2004, elle associait carboplatine plus taxol plus bevacizumab à deux doses différentes. Celle-ci révèle à la fois un taux de réponse, une survie sans progression et une survie

globale significativement en faveur de l'association comportant la dose la plus élevée de bevacizumab. Du fait de ces premiers résultats encourageants, une autre étude randomisée de phase III a été lancée, comparant une chimiothérapie comportant du carboplatine et paclitaxel plus ou moins du bevacizumab. Les résultats présentés en 2005 montrent un bénéfice significatif en faveur du bevacizumab pour la réponse au traitement mais aussi pour la survie globale et sans progression.

Les molécules développées ciblent majoritairement la voie du VEGF, soit en empêchant la fixation du VEGF sur ses récepteurs, soit en bloquant ses récepteurs au niveau des cellules endothéliales. Actuellement, le bevacizumab est la seule molécule ayant démontrée un impact sur la survie globale en première ligne dans le CBNPC non épidermoïde de stade IV, mais les inhibiteurs de tyrosine kinase du VEGFR (VEGFR-ITK) comme le cédiranib, le vandétanib ou le pazopanib ont été associés à des résultats encourageants dans des études de phase II ou III. En conclusion, le bevacizumab est la molécule anti-angiogénique la plus étudiée en oncologie thoracique. Cette molécule est la seule aujourd'hui à disposer d'une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché), pour le traitement de première ligne et de maintenance du CBNPC non épidermoïde de stade IV. Les perspectives consistent en son extension aux stades précoces des CBNPC.

Par ailleurs, les résultats obtenus à ce jour avec les VEGFR-ITK sont encourageants, mais nécessitent pour la plupart d'être confirmés dans des essais randomisés de phase III actuellement en cours.

Parmi ces traitements, le développement d'anticorps dirigés contre l'un des facteurs clé de l'angiogenèse tumorale, le VEGF, constitue l'approche thérapeutique anti-angiogénique actuellement la plus aboutie.

Par conséquent, l'intérêt des traitements ciblant la vascularisation tumorale dans le cancer bronchique est démontré par le gain thérapeutique qu'entraîne l'adjonction du bevacizumab. Ces résultats obtenus par le bevacizumab constituent une première étape, fondamentale car apportant la «preuve du concept», mais probablement préliminaire dans le développement des traitements anti-angiogéniques et anti-vasculaires, qui concerne désormais un nombre considérable de nouvelles molécules (Pérol et Arpin, 2009) (Marco *et al*., 2011).

6.4. Cancer des ovaires

Le bevacizumab a montré des résultats intéressants dans des études de phase I et II pour les cancers de l'ovaire.

Une étude réalisée en 2005 révèle un taux de réponse et une durée de réponse médiane augmentés suite à l'utilisation en monothérapie du bevacizumab dans les cancers prétraités après une ou deux lignes de chimiothérapie.

A la suite, une autre étude de phase III a été lancée pour évaluer l'intérêt du bevacizumab en première ligne de chimiothérapie dans la prise en charge des cancers de l'ovaire de stade IC et IV. Les résultats ont également montré une grande efficacité du traitement par l'anticorps anti-VEGF.

Aujourd'hui, le bevacizumab possède une AMM pour le traitement du cancer de l'ovaire au stade avancé en association avec la chimiothérapie cytotoxique classique (Ray-Coquard *et al*., 2007).

6.5. Glioblastome

Les glioblastomes, aussi appelés astrocytomes de grade IV selon la classification de l'OMS (Organisation mondiale de la santé), sont les tumeurs cérébrales primitives malignes les plus fréquentes et les plus agressives de l'adulte. Elles représentent environ 50% de l'ensemble des tumeurs gliales, soit environ 25% de l'ensemble des tumeurs cérébrales primitives. Ces tumeurs sont caractérisées par la présence d'une prolifération astrocytaire tumorale dense, de nécrose, d'une prolifération endothéliocapillaire floride, de mitoses et d'atypies cytonucléaires marquées.

Le glioblastome garde un pronostic sombre malgré l'utilisation combinée de la chirurgie, de la radiothérapie et de la chimiothérapie. En effet, la médiane de survie des patients se situe autour de 12 à 15 mois et moins de 1% d'entre eux sont survivants à cinq ans. Cela témoigne des limites des traitements conventionnels : la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. En effet malgré ces traitements conventionnels lourds et non dénués d'effets indésirables neurologiques et systémiques, la récidive de ces tumeurs est constante.

Ces dernières années, différents travaux de recherche ont permis de mieux

comprendre, d'identifier et donc de recenser les altérations moléculaires présentes au sein des glioblastomes, et notamment concernant les processus de formation de nouveaux vaisseaux tumoraux. Ces études ont donc permis la mise en place de nouvelles thérapies ciblées anti-angiogéniques, plus prometteuses et moins toxiques. Les données cliniques montrent que les inhibiteurs du VEGF, comme le bevacizumab, ou de son récepteur, comme les inhibiteurs de tyrosine kinase, ont un intérêt potentiel dans le traitement des glioblastomes en récidive, avec une toxicité acceptable.

De plus, les glioblastomes sont des tumeurs fortement invasives et angiogéniques. Des études anatomopathologiques montrent qu'il existe autour d'une zone compacte, siège d'une angiogenèse intense, une zone d'infiltration à distance dans le parenchyme cérébral. Les glioblastomes sont donc d'excellents candidats pour les traitements anti-angiogéniques.

De nombreuses études ont été réalisées chez l'homme pour prouver l'efficacité des nouvelles thérapeutiques. Les premiers essais thérapeutiques ont utilisé de vieux anti-angiogéniques comme le thalidomide ou le TNP 470, mais les résultats obtenus se sont révélés décevants, en effet, le glioblastome en récidive se montrait résistant à ces traitements.

Le développement clinique le plus important a été obtenu avec le bevacizumab, anticorps monoclonal ciblant le VEGF, qui permet une action sur la perméabilité capillaire et donc sur l'œdème péri-tumoral. Celui-ci permet d'obtenir des taux de réponse particulièrement importants dans les glioblastomes en récidive. Cette affirmation a été montrée par différentes études de phase I révélant un taux de réponse de l'ordre de 60% avec un traitement par bevacizumab, ce qui n'avait jamais été observé avec des traitements cytotoxiques antérieurs, ainsi que des survies médianes plus élevées. Une autre étude de phase II randomisée a confirmé ces taux de réponse avec le bevacizumab. Ces résultats ont permis l'enregistrement par la FDA du bevacizumab dans les glioblastomes en récidive. Cependant, l'agence européenne du médicament n'a pas approuvé l'utilisation du bevacizumab dans cette indication, considérant qu'il n'y avait pas assez de données sur l'efficacité issues d'essais contrôlés. En revanche, en France, ce traitement est utilisé dans les glioblastomes en rechute quand aucune alternative thérapeutique n'est disponible et après validation du traitement en réunion de concertation

pluridisciplinaire de neuro-oncologie. En effet, l'utilisation de ce traitement hors AMM paraît acceptable au vu de l'amélioration clinique fréquemment observée chez les malades et aux taux de réponse visibles sur l'IRM (imagerie par résonance magnétique) dans une situation où aucun traitement n'est validé et où l'évolution est constamment fatale (Guillamo, 2011) (Ducray et Idbaih, 2012).

6.6. Neuroblastome

Le neuroblastome est la tumeur solide maligne extra-cérébrale la plus fréquente et la première tumeur solide chez l'enfant de moins de 1 an. Il existe une hétérogénéité biologique au sein de ces tumeurs qui présentent donc un large spectre de virulence clinique. De plus, différents facteurs pronostiques entrent en jeu comme notamment le stade tumoral ou l'âge du patient au diagnostic, ou encore des anomalies génétiques, facteurs qui peuvent être corrélés à la survie.

Les thérapeutiques habituellement utilisées dans le traitement du neuroblastome ne permettaient pas d'obtenir des résultats de guérison très importants puisque seulement moins de 30% des patients souffrant d'un neuroblastome de haut risque survivent au-delà de 5 ans. Les anciennes approches thérapeutiques comme la chirurgie, la chimiothérapie haute dose avec greffe de cellules souches autologues, la radiothérapie et le traitement avec des agents de différenciation doivent donc faire une place à de nouveaux traitements plus efficaces. De nombreux travaux ont montré que le neuroblastome était une tumeur dépendante de l'angiogenèse, qui représente donc une cible intéressante dans la stratégie anti-tumorale.

Il existe à ce jour peu d'études cliniques évaluant les anti-angiogéniques dans le cadre de protocoles thérapeutiques. Dans ces travaux, les agents anti-angiogéniques sont le plus souvent administrés de façon concomitante à une chimiothérapie standard. L'efficacité de l'association d'une chimiothérapie aux traitements anti-angiogéniques pourrait reposer en partie sur la capacité des agents anti-angiogéniques à bloquer le recrutement des progéniteurs endothéliaux circulants. Cependant, les résultats expérimentaux obtenus à ce jour ne permettent pas de conclure à une nette amélioration des taux de réponse. Par conséquent, l'association d'un traitement anti-angiogénique à une combinaison de

chimiothérapies efficaces reste encore à évaluer au cours d'une étude clinique afin d'intégrer ces nouvelles substances prometteuses dans la stratégie thérapeutique du neuroblastome.

A ce jour, des études supplémentaires sont encore à réaliser pour permettre de définir la place de ces anti-angiogéniques dans le traitement des neuroblastomes (Taylor *et al*., 2009).

6.7. En particulier le cancer du sein

Le cancer du sein demeure un problème de santé publique. Il se situe par sa fréquence au premier rang des cancers chez la femme et on estime qu'au moins une femme sur dix sera atteinte par cette pathologie durant sa vie. Sur les 50 dernières années, la curabilité de ce cancer est en augmentation grâce à l'apport des thérapeutiques systémiques comme l'hormonothérapie et les chimiothérapies, mais aussi grâce aux progrès du dépistage, qui ont permis une amélioration significative de la survie globale. Néanmoins, le cancer du sein métastatique reste une maladie incurable dans la majorité des cas. En effet, 40% des décès prématurés féminins (avant 65 ans) lui sont attribuables. De plus, on estime qu'environ 30% des patientes prises en charge pour un cancer du sein au stade localisé vont présenter une évolution métastatique. Ces situations soulignent les limites de la chimiothérapie cytotoxique classique.

Les avancées scientifiques en ce qui concerne la compréhension des mécanismes biologiques et moléculaires ont permis l'avènement des thérapies ciblées anticancéreuses. Les bénéfices cliniques de ces nouvelles stratégies thérapeutiques sont remarquables chez les patientes atteintes de maladies métastatiques ou à un stade localisé car les substances utilisées sont plus sélectives et entraînent moins d'effets secondaires. Ces nouveaux agents incluent des anticorps monoclonaux se complexant à des antigènes des cellules cancéreuses, mais également des molécules impliquées dans le blocage de réactions enzymatiques clés.

Les cancers du sein ont montré un haut niveau d'activité angiogénique, ce qui a entraîné le développement de thérapies basées sur leurs effets anti-

angiogéniques. On retrouve au premier plan de ces médicaments le bevacizumab qui révèle un taux de réponse plus important chez les patientes traitées lors d'une étude de phase I par rapport au bras expérimental contenant un cytotoxique classique. En revanche, il n'y a pas de différence significative de survie sans rechute ou de survie globale. D'autres études de phase III ont montré également un taux de réponse plus élevé pour les traitements avec bevacizumab contrairement à ceux sans. Cependant, un certain nombre d'effets indésirables plus ou moins graves sont survenus lors de ces travaux. C'est dans ce contexte que l'autorisation d'utilisation du bevacizumab en première ligne métastatique pour le cancer du sein a été révoquée aux États-Unis par la FDA en Novembre 2011. L'argument avancé était qu'il n'avait pas démontré une efficacité et un profil de sécurité acceptables et que les études cliniques ne sont pas parvenues à montrer un bénéfice en survie globale. Nous verrons plus en détail l'utilisation des agents anti-angiogéniques dans le traitement du cancer du sein dans le chapitre suivant (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

L'émergence de ces nouvelles thérapies ciblées promet une prise en charge innovante mais il ne faut néanmoins pas négliger la poursuite des efforts en termes de recherche et de meilleure compréhension des mécanismes complexes du développement de la tumeur pour permettre d'améliorer encore les conditions de prise en charge avec moins d'effets secondaires par exemple.

7. Les différents traitements anti-VEGF

Les recherches fondamentales dans le domaine de l'angiogenèse ont permis de mettre en évidence le rôle central du VEGF dans l'angiogenèse tumorale. La majorité des traitements anti-angiogéniques qui sont donc développés pour la prise en charge des cancers visent à inhiber la voie du VEGF. En effet, l'angiogenèse comme cible thérapeutique présente un avantage de taille qui repose sur la prévention de la formation de néovaisseaux, empêchant ainsi la croissance de la tumeur et sa survie.

Les anti-VEGF ont un mode d'action particulier au sens qu'ils n'agissent pas directement sur les cellules tumorales mais sur les cellules endothéliales qui forment les vaisseaux sanguins. Ils interfèrent donc avec des cellules normales.

D'autre part, les molécules utilisées vont bloquer les facteurs de croissance notamment le VEGF ou ses récepteurs en inhibant la relation entre ces mêmes récepteurs et leur ligand, le VEGF. De par ce mécanisme, on comprend bien que les anti-VEGF n'éradiquent pas la tumeur, mais ils contrôlent plutôt sa croissance. Ceci explique pourquoi ils doivent être utilisés comme adjuvant d'une chimiothérapie classique ou en relais pour stabiliser une maladie résiduelle minimale, voire en traitement de maintenance.

Un grand nombre de molécules sont actuellement en cours d'évaluation. Ont donc été mises au point plusieurs stratégies anti-VEGF en fonction de leur mécanisme d'action.

Ces molécules peuvent être subdivisées en cinq sous-catégories (figure 18):

- les anticorps monoclonaux dirigés contre le VEGF,
- les anticorps monoclonaux dirigés contre les récepteurs du VEGF,
- les inhibiteurs de tyrosine kinase du récepteur du VEGF,
- les récepteurs hybrides circulants du VEGF ou VEGF-trap,
- les thérapies anti-ARN du VEGF (Lièvre, 2007).

La première catégorie est une des plus développées actuellement. Elle consiste en une inhibition directe du VEGF à l'extérieure de la cellule, avant même que celui-ci ait pu se lier à son récepteur. On peut citer le bevacizumab, qui est l'anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF le plus connu. Il se fixe aux différentes formes du VEGF avec une haute affinité pour empêcher sa fixation à ses récepteurs et ainsi prévenir l'activation des voies de signalisation en aval dans la cellule endothéliale.

Les inhibiteurs du VEGFR bloquent le domaine extracellulaire du récepteur. On pourrait par analogie dire qu'ils bouchent le trou de la serrure.

Les anticorps monoclonaux sont très spécifiques d'un épitope présent sur la cible et interagissent uniquement avec des cibles extracellulaires alors que les inhibiteurs de tyrosine kinase peuvent interagir avec plusieurs cibles intracellulaires de façon moins sélective. Cette catégorie regroupe des petites molécules qui inhibent l'activité tyrosine kinase des récepteurs du VEGF au niveau de leur partie intracellulaire, bloquant ainsi les voies de signalisation du VEGF préalablement activées par l'angiogenèse tumorale. Leur activité est plus ou moins spécifique, en effet, certaines molécules sont spécifiques du récepteur du VEGF,

contrairement à d'autres qui peuvent agir également sur d'autres cibles possiblement impliquées d'ailleurs à la fois dans la néo-angiogenèse et la croissance tumorale. On observe donc un blocage des voies de la transduction intracellulaire à partir des récepteurs du VEGF.

Le VEGF-trap est une protéine de fusion qui va piéger le VEGF circulant (Lièvre *et al.*, 2008).

Il a été mis en place une nomenclature générale précise pour les différents types de molécules correspondant à des approches pharmacologiques différentes: les anticorps monoclonaux, correspondent sur le plan terminologique aux -mab (exemple: bevacizumab) et les ITK, correspondent aux -inib (exemple: vatalanib) (Lièvre, 2007).

D'autre part, il existe d'autres agents anti-angiogéniques non anti-VEGF dont on parlera dans un chapitre suivant, comme les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice, les molécules directement anti-angiogéniques (le thalidomide, le néovastat et le TNP470) et les anti-angiogéniques naturels, principalement l'endostatine et l'angiostatine.

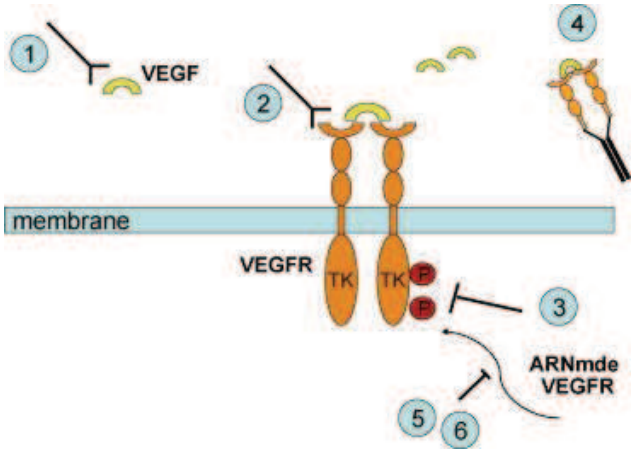


Figure 18 : Différentes stratégies d'inhibition de la voie du VEGF

1) anticorps monoclonaux anti-VEGF ; 2) anticorps anti-VEGFR ; 3) les inhibiteurs de tyrosine kinase du VEGFR ; 4) VEGFR hybride circulant ou VEGF-trap ; 5) ribozyme de synthèse anti-ARNm du VEGFR ; 6) oligonucléotide antisens anti-ARNm VEGF.

(d'après Lièvre *et al.*, 2008)

7.1. Les anticorps monoclonaux anti-VEGF

Comme précisé plus haut, les anticorps (figure 19) dirigés contre le VEGF représentent l'une des premières stratégies d'inhibition de la voie du VEGF à avoir été développées.

Leur mécanisme d'action est simple et basé sur le principe d'action des anticorps comme leur nom l'indique. En effet, l'anticorps va se lier spécifiquement et avec une forte affinité au VEGF circulant. De ce fait, le VEGF se trouve pris au piège par l'anticorps, il ne peut donc plus se fixer à son récepteur situé sur la membrane endothéliale (VEGFR-1 ou 2). Par conséquent, les mécanismes d'activation du récepteur au VEGF ne vont pas avoir lieu, notamment la dimérisation du VEGF avec son récepteur ainsi que l'activation du domaine tyrosine kinase intracellulaire du récepteur au VEGF.

Le VEGF sécrété par les cellules tumorales est donc neutralisé, ce qui entraîne une interruption des voies de signalisation en aval. On observe ainsi un blocage de la prolifération et de la migration des cellules endothéliales, mais également de l'activation de leur survie. Le développement de la tumeur va ainsi être contrôlé grâce à l'absence de formation de nouveaux vaisseaux tumoraux qui auraient permis la croissance de la tumeur (Lièvre, 2007).

Le bevacizumab, par exemple, est un anticorps monoclonal humanisé, d'où le suffixe -mab, dirigé contre le VEGF. C'est le chef de file de la famille des anticorps anti-VEGF et il est le premier anti-angiogénique à avoir obtenu une AMM en cancérologie aux États-Unis, puis en Europe pour le traitement du cancer colorectal métastatique.

Le bevacizumab a fait preuve de son efficacité dans plusieurs études réalisées sur des modèles murins de xénogreffes de tumeurs humaines, en permettant un blocage de la prolifération des cellules endothéliales tumorales d'où une diminution de l'angiogenèse mais également une réduction de la taille des tumeurs primitives et du nombre de métastases. Nous verrons plus en détail cette molécule dans un chapitre suivant (Lièvre *et al.*, 2008).

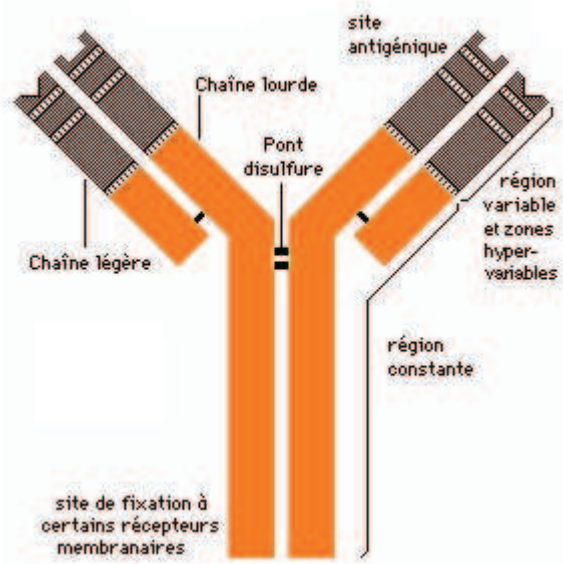


Figure 19 : Structure générale d'un anticorps

7.1.1. Historique

Les anticorps monoclonaux (AcMo) thérapeutiques ont fait irruption dans le traitement des cancers et hémopathies, il y a une vingtaine d'années.

De nombreux essais cliniques ont été réalisés, cependant ils ne furent pas immédiatement un succès du fait d'une efficacité limitée et d'effets indésirables sévères. Les chercheurs ont alors entrepris de réduire la fraction murine de l'anticorps dans les anticorps chimériques puis humanisés. Les effets indésirables étant en grande partie dus à ces fractions du fait de la présence d'une protéine étrangère au sein du corps, ceux-ci ont donc été considérablement réduits. Les nombreux travaux expérimentaux effectués ont ensuite permis un meilleur développement clinique des anticorps qui ont maintenant une place établie et croissante dans le traitement des tumeurs solides.

L'avenir à court terme est marqué à la fois par les développements technologiques aboutissant à des anticorps monocaténaires, des protéines de fusion, des conjugués cytotoxiques anticorps, par la croissance du nombre d'AcMo disponibles et par la diversité des indications et associations utilisées (Bouzid, 2012).

7.1.2. La production des anticorps monoclonaux

La découverte de la possibilité de production d'anticorps fut une étape importante dans l'histoire de la médecine. C'est en 1975 que Köhler and Milstein montrent qu'il est possible de produire par fusion cellulaire des hybridomes, hybrides de cellules myélomateuses et de lymphocytes B normaux provenant de souris immunisées contre l'antigène choisi, adaptables à la culture tissulaire indéfinie avec production d'un seul anticorps (monoclonal) et induisant la production d'un anticorps unique après transplantation chez la souris.

Les anticorps monoclonaux sont des immunoglobulines G (IgG), de préférence dérivés d'un fragment constant d'IgG1. Cette sélectivité est due au fait que le fragment constant des IgG1 se lie fortement aux récepteurs FcγR, (récepteur pour le fragment Fc des IgG) et au C1q et il active la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante et toutes propriétés importantes pour la destruction des cellules tumorales. Et l'activité effectrice est portée par ce fragment constant d'où son importance.

Plusieurs étapes sont nécessaires avant la production d'anticorps monoclonaux faiblement ou non immunogènes chez l'homme :

– clonage des fragments variables des chaînes lourdes (VH) et légères (VL) des immunoglobulines murines,

– transfection de cellules humaines afin d'exprimer les gènes des fragments variables des chaînes lourdes et légères,

– production d'anticorps chimériques associant les deux fragments variables des chaînes légères et des chaînes lourdes murines fusionnées aux régions constantes des anticorps humains (anticorps chimériques),

– humanisation des AcMo en greffant les régions hypervariables déterminant la complémentarité avec l'antigène (CDR : Complementary Determining Region) d'un anticorps murin dans la structure humaine puis en stabilisant la construction génétique par modifications des acides aminés du CDR (AcMo humanisés, 75% des AcMo thérapeutiques),

– production d'anticorps humains par des souris transgéniques humanisées produisant des anticorps sous le contrôle des gènes humains (anticorps humains, 25% des AcMo en essais thérapeutiques).

Les nomenclatures sont différentes suivant le type d'anticorps (figure 20) :

- chimérique : suffixe -ximab,
- humanisé : suffixe -zumab,
- humain : suffixe -mumab.

Depuis, plusieurs équipes ont montré la possibilité de s'affranchir de l'étape d'immunisation par la technologie de phage display*:* à partir de librairies de gènes des fragments variables des chaînes lourdes et des chaînes légères d'immunoglobulines amplifiés par PCR (polymerase chain reaction) puis combinés au hasard par une deuxième étape de PCR et exprimés fusionnés au gène P3 du phage M13. Les phages ayant l'aptitude à lier des antigènes sont sélectionnés, purifiés et les gènes clonés à la recherche de mutations. Ces librairies combinatoires permettent de sélectionner des anticorps monovalents à très haute affinité pour l'antigène (Bouzid, 2012).

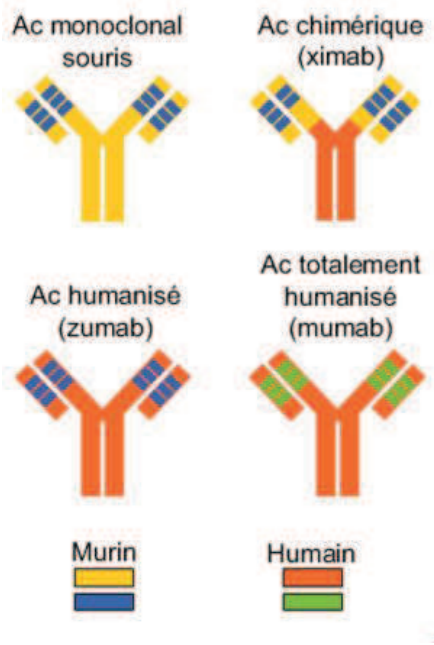


Figure 20 : Nomenclature des différents anticorps monoclonaux

7.1.3. Le mécanisme d'action des anticorps monoclonaux

Il existe une multitude de mécanismes d'action :

- inhibition de la liaison d'un facteur de croissance à son récepteur,
- inhibition par l'anticorps du récepteur de cette même liaison,
- inhibition de la dimérisation du récepteur,
- activation de l'endocytose du récepteur,
- développement d'une cytotoxicité dépendante de l'anticorps ayant fixé les cellules cibles,
- activation de la voie du complément.

Ces mécanismes d'action sont également dépendants de l'antigène cible (Bouzid, 2012).

7.1.4. Pharmacocinétique des anticorps monoclonaux

La pharmacocinétique des anticorps monoclonaux dépend de nombreux paramètres, ce qui crée une inter-variabilité importante.

Ce qui doit être pris en compte peut être la quantité plus ou moins importante de molécules cibles chez le sujet traité, la variabilité génétique en ce qui concerne l'élimination des anticorps, la génération d'une réponse immunitaire contre cet anticorps, l'élimination par endocytose de la cible, un catabolisme protéique, ainsi que l'immunogénicité et la glycosylation.

Dans la majorité des cas, les anticorps monoclonaux présentent une pharmacocinétique non linéaire car elle est saturable avec la dose. On peut cependant relever quelques exceptions comme par exemple le bevacizumab, dont la non-linéarité n'est pas observée car sa fixation précoce au VEGF circulant entraîne un effondrement des taux, ce qui masque la phase de saturation.

La demi-vie augmente avec le niveau d'humanisation: dix jours pour les AcMo chimériques, 12 à 20 pour les AcMo humanisés et pour les AcMo humains. La demi-vie longue des IgG1 s'explique par l'internalisation de l'anticorps dans les cellules endothéliales les protégeant de la dégradation liposomale et autorisant leur relargage dans la circulation (Bouzid, 2012).

7.1.5. Cibles des anticorps monoclonaux thérapeutiques

Les antigènes cibles des anticorps monoclonaux sont multiples, tout comme les tumeurs qu'ils peuvent contribuer à traiter qui en dépendent.

Les principaux anticorps monoclonaux actuellement sur le marché ou en cours de développement agissent sur des antigènes tumoraux qui peuvent être regroupés en trois systèmes que voici :

– le domaine extracellulaire de récepteurs transmembranaires de facteurs de croissance: ici l'activité n'est observée que quand la voie de transduction du signal, débutant au récepteur phosphorylé, n'est pas activée par des mutations d'aval notamment ou par un dialogue croisé avec d'autres voies de signalisation,

– les facteurs de croissance de récepteurs transmembranaires tumoraux ou des cellules endothéliales (bevacizumab) ou leurs isoformes. L'activité anti-tumorale, en fait variable d'une tumeur à l'autre, peut dépendre de la concentration du facteur de croissance, de l'existence de facteurs de croissance alternatifs se liant au même récepteur, de la vitesse de (re)production du facteur de croissance,

– des molécules régulatrices de la réponse immunitaire anti-tumorale (Bouzid, 2012).

7.1.6. Exemple d'anticorps anti-VEGF : le bevacizumab (Avastin®)

Le bevacizumab est un anticorps monoclonal humanisé recombinant anti-VEGF (d'où le suffixe -zumab) de type IgG1. Il se lie sélectivement au VEGF humain et neutralise toutes les isoformes du VEGF en se liant à un épitope distinct du site de liaison au récepteur.

La fixation du bevacizumab sur le VEGF circulant empêche donc l'activation des récepteurs du VEGF. Ceci entraîne donc le blocage de l'activité biologique qui en découle, soit un arrêt du développement des cellules endothéliales et par conséquent un arrêt de la prolifération des vaisseaux sanguins.

Un grand nombre d'expériences ont validé l'activité anti-tumorale non négligeable de l'Avastin® dont l'efficacité réside dans le contrôle des cancers. En

effet, les protocoles comprenant l'Avastin® ont permis de faire passer le taux de réponse au traitement de 35 à 45%, un allongement de temps sans progression et de la survie (Infocancer, 2014).

Le bevacizumab est historiquement la première thérapie ciblée à avoir montré un intérêt dans le cancer du rein métastatique.

7.1.6.1. Propriétés pharmacodynamiques

Classe pharmacothérapeutique : antinéoplasique et immunomodulateur, anticorps monoclonal (RCP).

7.1.6.2. Production du bevacizumab

La production du bevacizumab se fait par génie génétique.

Le principe réside dans l'humanisation d'un anticorps de souris dirigé contre le VEGF: Mab A.4.6.1. On développe une fraction humanisée Fab (fragment antigen-binding) de cet anticorps murin (Fab-12) dont est directement issu le bevacizumab. Celui-ci est donc constitué d'une partie constante d'origine humaine et d'une partie variable d'origine murine.

D'autre part, le bevacizumab a deux domaines de liaison antigénique.

7.1.6.3. Mécanisme d'action

Le bevacizumab se lie au facteur clé de la vasculogenèse et de l'angiogenèse, à savoir le VEGF. Son mécanisme d'action est basé sur l'inhibition de la liaison du VEGF à ses récepteurs, VEGFR-1 ou Flt-1 et KDR ou VEGFR-2, à la surface des cellules endothéliales (figure 21).

La neutralisation biologique du VEGF a pour conséquence la régression des vaisseaux tumoraux ainsi que la normalisation de ceux restants, la régression de la croissance des micro-vaisseaux. On observe également une inhibition de la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux, ainsi qu'une inhibition de la progression des métastases.

Le bevacizumab entraîne donc un blocage des phénomènes de

néovascularisation, ce qui a pour conséquence d'inhiber la croissance tumorale (Société de néphrologie).

A noter que le bevacizumab a un effet additif, voire synergique, avec les médicaments cytotoxiques « classiques ».

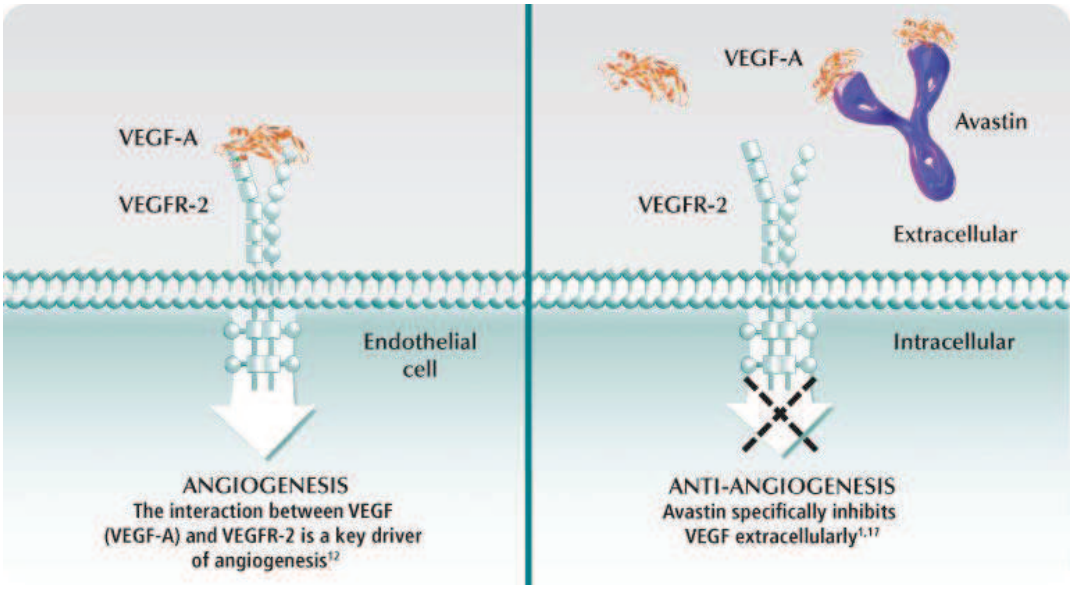


Figure 21 : Mécanisme d'action du bevacizumab

7.1.6.4. Affinités

Il a une forte affinité pour un épitope présent sur toutes les isoformes du VEGF, chevauchant partiellement les sites de liaison aux récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2, avec pour conséquence une inhibition de la liaison du VEGF à ses récepteurs à la surface des cellules endothéliales (Société de néphrologie).

7.1.6.5. Demi-vie

La demi-vie plasmatique du bevacizumab est de l'ordre de 17 à 21 jours (Fajnkuchen et Cohen, 2008).

Il existe une variabilité interindividuelle de l'exposition des patients au bevacizumab.

7.1.6.6. Administration

Le médicament s'administre en perfusion intraveineuse de 90 minutes la première fois, 60 minutes la seconde fois, puis de 30 minutes, les cures suivantes.

La dose utilisée varie de 2,5 mg/kg par semaine à 5 mg/kg par semaine ou 10 mg/kg tous les 14 jours, après la chimiothérapie, lors de la première perfusion.

Si une chirurgie est envisagée, le traitement sera arrêté au moins un mois avant l'opération (RCP).

7.1.6.7. Tolérance

Elle est généralement acceptable. Les effets secondaires les plus souvent rencontrés sont :

- un retard de cicatrisation,
- une hypertension artérielle,
- une protéinurie (albumine dans les urines),
- des embolies,
- une tendance hémorragique accrue (Infocancer, 2014).

7.1.6.8. Indications actuelles du médicament en France

Les indications sont les suivantes :

– cancer de l'ovaire au stade avancé (stades FIGO) : en association au carboplatine et à la gemcitabine (Gemzar®), en première récidive, sensible aux sels de platine et qui n'ont pas été préalablement traitées par du bevacizumab ou d'autres inhibiteurs du VEGF ; et en association au carboplatine et au paclitaxel (CarboTaxol) dans le traitement de première ligne,

– cancer colorectal métastatique : en association à une chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (Xeloda®),

– cancer du sein métastatique : en association au paclitaxel (Taxol®), dans le traitement de première ligne ; et en association à la capécitabine (Xeloda®), dans le traitement de première ligne chez des patients pour lesquelles un traitement avec d'autres options de chimiothérapie n'est pas considéré comme approprié. Les

patients ayant reçu un traitement à base de taxanes et d'anthracyclines en situation adjuvante au cours des 12 derniers mois doivent être exclus d'un traitement par Avastin® en association à la capécitabine,

– cancer du poumon non à petites cellules avancé et non opérable, métastatique ou en rechute, dès lors que l'histologie n'est pas à prédominance épidermoïde : en association à une chimiothérapie à base de sels de platine, dans le traitement de première ligne,

– cancer du rein avancé et/ou métastatique : en association à l'interféron-α2a, dans le traitement de première ligne,

– glioblastome progressant sous traitement : uniquement aux USA (RCP).

7.2. Les anticorps monoclonaux anti-récepteurs du VEGF

Bien que les plus utilisés soient les anticorps anti-VEGF, des anticorps dirigés non plus contre le VEGF en lui-même mais contre ses récepteurs ont également été développés.

Ces anticorps empêchent la fixation du VEGF à son récepteur en se fixant sur la partie extracellulaire du récepteur au VEGF. Le VEGFR devient donc inactif et la cascade de signaux entraînant le processus de néovascularisation est interrompue (Lièvre, 2007).

Un certain nombre d'anticorps anti-récepteurs au VEGF sont en cours d'évaluation, notamment dirigés contre le VEGFR-2, pour espérer obtenir in fine une autorisation de mise sur le marché. Nous pouvons donner pour exemple le ramucizumab, qui est un anticorps monoclonal dirigé contre le VEGFR-2, testé en phase clinique III dans le traitement du cancer du sein, de l'adénocarcinome gastrique et du CBNPC.

7.3. Les inhibiteurs de tyrosine kinase du récepteur du VEGF

Les anticorps anti-VEGF représentent la stratégie la plus utilisée dans le domaine du blocage de la voie du VEGF. Une autre grande stratégie anti-angiogénique inhibitrice de la voie du VEGF repose sur l'utilisation des inhibiteurs

de tyrosine kinase du récepteur du VEGF.

Ce sont des petites molécules qui vont agir ici en aval de la transduction du stimulus angiogénique en inhibant le récepteur du VEGF. En l'absence des inhibiteurs de tyrosine kinase, la liaison du VEGF à ses récepteurs va provoquer leur dimérisation. On observe alors une cascade d'activation par phosphorylation de protéines partenaires qui va permettre la transcription de gènes cibles, aboutissant ainsi au signal qui va induire la formation de nouveaux vaisseaux permettant la cancérogenèse. Lors de ce processus, l'étape clé de l'activation du signal est l'autophosphorylation des tyrosines du domaine intracellulaire des récepteurs du VEGF (figure 22) (Garbay et Brion, 2012).

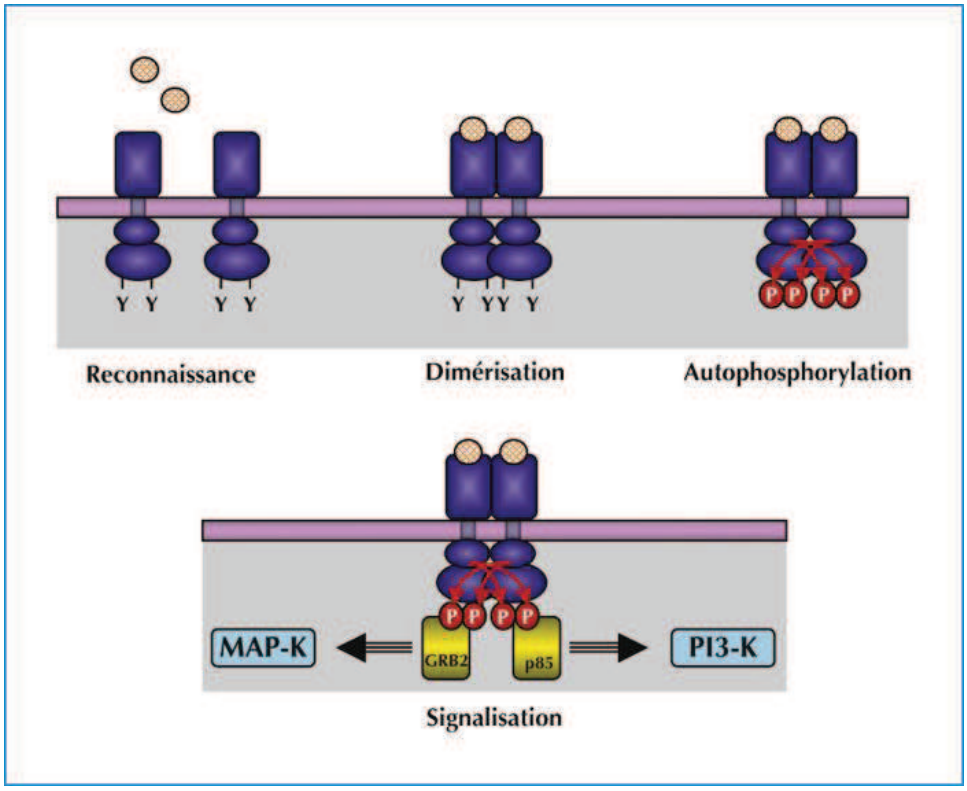


Figure 22 : Schéma général d'activation d'un récepteur à activité tyrosine kinase

(d'après Robert, 2011)

Les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du récepteur vont entrer en compétition avec l'ATP (adénosine triphosphate) ou vont inhiber le site catalytique

du domaine tyrosine kinase d'un ou de plusieurs récepteurs du VEGF. Cette inhibition entraîne le blocage de la reconnaissance du substrat, le VEGF, et empêche donc le processus de phosphorylation indispensable à l'activation des voies de signalisation intracellulaires en aval.

Il existe deux types d'inhibiteurs de tyrosine kinase : les ITK unicibles et les multicibles (Lièvre, 2007). On trouve donc des inhibiteurs qui ont été développés pour inhiber de façon sélective un seul récepteur, ceux qu'on appelle les unicibles, comme par exemple le VEGFR-2. Cependant, la plupart des ITK sont multicibles c'est-à-dire qu'ils sont capables d'agir sur plusieurs récepteurs à activité tyrosine kinase et aussi autres que le VEGFR, tels que le récepteur du FGF-2, la famille des récepteurs de l'EGF, les récepteurs de PDGF ou encore c-Kit et Flt-3 (Lièvre *et al.*, 2008).

Nous pouvons citer à titre d'exemple le gefitinib (Iressa®), ou l'erlotinib (Tarceva®).

7.3.1. Les ITK multikinases

Ces molécules sont des inhibiteurs non pas mono-spécifiques mais multicibles, c'est-à-dire qu'ils ciblent à la fois les VEGFR mais aussi d'autres récepteurs à activité tyrosine kinase. Ils agissent donc sur les cellules endothéliales des vaisseaux péri-tumoraux et sur la membrane des cellules tumorales elles-mêmes, ce qui leur confère une activité anti-angiogénique mais aussi antiproliférative. De plus, l'inhibition de ces autres cibles joue probablement un rôle important dans l'activité anti-tumorale de ces molécules et dans leur toxicité.

Nous pouvons citer plusieurs inhibiteurs multikinases. Le vatalanib inhibe essentiellement les VEGFR-1 et 2, mais aussi VEGFR-3, PDGF-β et c-Kit à de plus fortes concentrations. Le vandetanib (Zactima®) qui est un inhibiteur mixte de la tyrosine kinase des récepteurs à l'EGF, du VEGF et du Ret, actif par voie orale. Le cediranib (Resantin®) est un inhibiteur multikinase du VEGFR, du PDGFR et du Kit (Infocancer, 2014).

Le développement de thérapies multicibles est en théorie probablement plus prometteur que celui de thérapies unicibles anti-VEGF ou anti-VEGFR. Ces dernières laissent, en effet, la possibilité aux cellules tumorales de proliférer en

contournant la voie de signalisation inhibée par l'activation d'autres voies alternatives impliquées dans la carcinogenèse. Cependant, l'inhibition de cibles multiples n'est pas sans poser des problèmes potentiels importants et difficiles à régler en termes de toxicité ; certains effets secondaires pouvant être communs à plusieurs cibles, mais également en termes d'interactions pharmacologiques (Lièvre, 2007).

7.3.2. Exemple d'ITK : le sunitinib (Sutent®)

Le sunitinib est une petite molécule qui inhibe plusieurs récepteurs à activité tyrosine kinase.

7.3.2.1. Propriétés pharmacodynamiques

Classe pharmacothérapeutique : agent antinéoplasique, inhibiteur de protéine tyrosine kinase.

7.3.2.2. Mécanisme d'action

Cet inhibiteur multicible va agir sur les tyrosine kinases de récepteurs variés impliqués dans la croissance tumorale, l'angiogenèse pathologique et la progression métastatique du cancer (figure 23) : les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire VEGFR-1 et 2 impliqués dans l'angiogenèse, les récepteurs des facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGFR-β), le récepteur du facteur de cellule souche c-Kit (Société de néphrologie, 2012), le récepteur Fms-like tyrosine kinase-3 (Flt-3), le récepteur du facteur stimulant la formation de colonies (CSF-1R) et le récepteur du facteur neurotrophique de la lignée gliale (RET).

L'inhibition de tous ces récepteurs confère au sunitinib une activité anti-angiogénique et antiproliférative directe sur les cellules tumorales ainsi qu'une importante activité anti-tumorale. En effet, l'activité anti tyrosine kinase entraîne le blocage de la transduction des signaux intracellulaires de croissance comme la

croissance cellulaire, le développement des métastases et l'angiogenèse. En ce qui concerne la progression tumorale, elle est elle aussi ralentie. On observe une régression du volume tumoral et une réduction de la croissance de nombreux types de tumeurs.

L'activité anti-angiogénique du sunitinib est confirmée par l'observation d'une diminution de la perméabilité vasculaire des tumeurs, qui correspond à une diminution du nombre de micro-vaisseaux à l'intérieur des tumeurs. La tumeur va donc voir sa croissance stoppée en l'absence de nourriture suffisante acheminée normalement par les vaisseaux sanguins.

Les tests biochimiques et cellulaires ont montré que le principal métabolite du sunitinib présentait le même pouvoir inhibiteur que le sunitinib (RCP, 2006).

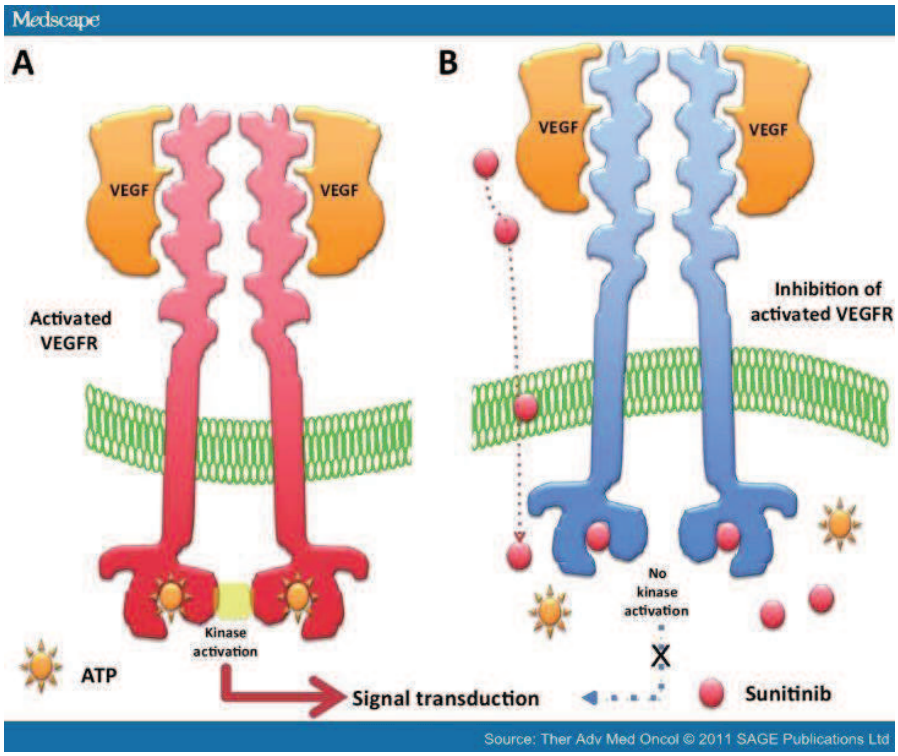


Figure 23 : Représentation schématique du mécanisme d'action du sunitinib sur les récepteurs à activité tyrosine kinase

7.3.2.3. Indications

Ce médicament est homologué en France pour le traitement :

– des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST), après échec ou intolérance d'un traitement par imatinib (Glivec®),

– du cancer du rein avancé et/ou métastatique, après échec d'un traitement par l'interféron-α ou l'IL-2 (interleukine-2),

– des tumeurs neuroendocrines du pancréas (pNET), non résécables ou métastatiques, bien différenciées, avec progression de la maladie chez l'adulte (Infocancer, 2014) (RCP, 2006).

7.3.2.4. Posologie

L'administration se fait par voie orale. La dose recommandée est de 50 mg à raison d'une prise quotidienne le matin pendant 4 semaines consécutives, suivie d'une fenêtre thérapeutique de 2 semaines, correspondant à un cycle complet de 6 semaines (Infocancer, 2014).

Pour le traitement des tumeurs neuroendocrines du pancréas, la dose recommandée est de 37,5 mg par voie orale, en 1 prise par jour, sans fenêtre thérapeutique préétablie.

Attention, avant d'être prescrit ce médicament implique un bilan cardiologique, hépatorénal, hématologique et surtout thyroïdien.

Il faut également surveiller les interactions médicamenteuses qui sont nombreuses.

Si une chirurgie est envisagée, le traitement sera arrêté au moins 15 jours avant l'opération (RCP, 2006).

7.3.2.5. Tolérance

Elle est acceptable. On peut néanmoins observer, surtout durant les 2 ou 3 premiers cycles, des effets indésirables dont les plus fréquents sont les suivants (Infocancer, 2014) :

– fatigue,

– diarrhées, mucite (stomatite), dyspepsie, nausées et vomissements,

– hypothyroïdie qui sera compensée si le taux de TSH dans le sang dépasse 6 ou 7,

– hypertension artérielle qui sera prise en charge.

Les autres effets indésirables moins fréquents, comprennent des hémorragies, en particulier du nez (épistaxis), des éruptions cutanées ou un syndrome mains-pieds, une modification de la couleur de la peau, probablement due à la couleur du principe actif (jaune), une thrombopénie et/ou une neutropénie et plus rarement des perturbations du fonctionnement du foie et du pancréas (Pouessel *et al.*, 2008).

7.3.3. Autre exemple d'ITK : le sorafenib (Nexavar®)

Le sorafenib est également un inhibiteur multikinases très utilisé.

7.3.3.1. Mécanisme d'action

Le sorafenib est un inhibiteur agissant sur plusieurs cibles moléculaires: les VEGFR-2 et 3, le PDGFR-β, le Flt-3, le stem-cell growth factor receptor ou c-Kit, mais aussi Raf-1 (Société de néphrologie, 2014).

L'interruption de la transmission des signaux activant les voies de transduction sous-jacentes entraîne une propriété anti-angiogénique tumorale au sorafenib. Il agit à la fois sur les cellules endothéliales des vaisseaux péri-tumoraux et les cellules tumorales, ce qui empêche le développement des cellules cancéreuses et induit leur mort par apoptose (Lièvre, 2007) (Pouessel *et al.*, 2008).

7.3.3.2. Indications

Il est autorisé sur le marché, en France, pour le traitement du :

– carcinome hépatocellulaire avancé (cancer primitif du foie),

– carcinome rénal avancé après échec d'un traitement préalable à base d'interféron-α ou d'interleukine-2 ou chez des patients pour lesquels ces traitements sont considérés comme inadaptés (Infocancer, 2014).

7.3.3.3. Posologie

Le médicament s'administre, seul, en continu, en deux prises quotidiennes de deux comprimés dosés à 200 mg soit 400 mg matin et soir (Pouessel *et al*., 2008).

La prise s'effectue par voie orale en dehors des repas ou avec un repas pauvre en graisse.
Il n'y a pas de limitation de durée d'administration du médicament.
Si une chirurgie est envisagée, le traitement sera arrêté au moins 15 jours avant l'opération.

7.3.3.4. Tolérance

Les effets indésirables les plus fréquents sont :

- fatigue,
- diarrhées et mucites,
- problèmes dermatologiques, rashs cutanés et syndrome mains-pieds,
- hypertension artérielle,
- parfois des retards de cicatrisation et des hémorragies.

Ces effets indésirables sont dose-dépendants (Infocancer, 2014).

7.4. Le VEGF-trap ou récepteur hybride circulant du VEGF

Plus récemment, il a été mis au point une autre stratégie anti-VEGF qui consiste à utiliser des protéines contenant les domaines extracellulaires de certains récepteurs pour en former des récepteurs solubles. Ces récepteurs appelés VEGF-trap sont donc capables de capturer le VEGF circulant.

Le VEGF-trap est donc un VEGFR hybride qui est constitué de segments de domaines extracellulaires des récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2 qui sont fusionnés avec le fragment Fc des immunoglobulines humaines IgG1 (Lièvre, 2007). Ce récepteur hybride va donc avoir la capacité, de par son homologie avec les récepteurs du VEGF, de piéger le VEGF circulant pour en diminuer la biodisponibilité.

L'affinité du VEGF-trap pour le VEGF est très accrue, soit environ 100 fois supérieure à celle obtenue avec des anticorps monoclonaux tels que le bevacizumab (Lièvre, 2007). Cette propriété lui permet une liaison puissante au VEGF, mais aussi au VEGF-B et au PIGF.

De nombreuses études expérimentales ont montré des résultats anti-tumoraux intéressants avec le VEGF-trap, qui se sont confirmés plus tard. En effet, il permet une régression de la tumeur mais aussi de la vascularisation tumorale, ce qui donne des tumeurs presque complètement avasculaires, voyant donc leur croissance diminuer par l'absence d'apport de nutriments et par conséquent une diminution des métastases.

En ce qui concerne les effets indésirables du VEGF-trap, les études ont révélé une similarité avec ceux rencontrés avec l'utilisation des anticorps anti-VEGF, c'est-à-dire une hypertension artérielle, protéinurie ... Cependant, les complications immunologiques observées avec les anticorps sont plus importantes qu'avec ce récepteur hybride.

L'aflibercept (Zaltrap®) fait partie de ces VEGFR hybrides (figure 24). Il est obtenu par fusion du domaine extracellulaire 2 du VEGFR-1 et du domaine extracellulaire 3 du VEGFR-2 avec la fraction Fc d'une immunoglobuline humaine IgG1. L'aflibercept est autorisé dans le traitement de la forme néovasculaire de la DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge) par la FDA ainsi que pour le traitement du cancer du côlon en seconde ligne en association avec une chimiothérapie de type FOLFIRI (Garbay et Brion, 2012).

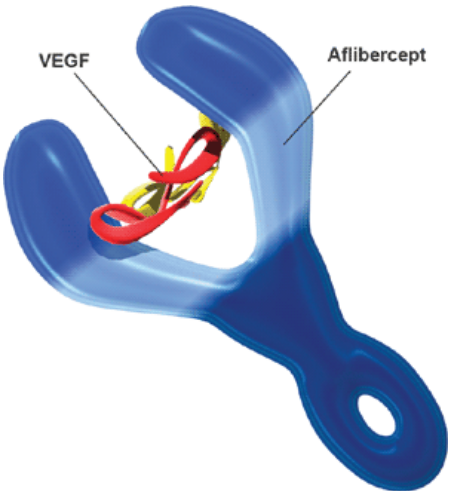


Figure 24 : Représentation schématique de l'aflibercept piégeant le VEGF

7.5. Thérapie anti-ARN du VEGF

Il existe une autre stratégie moins répandue mais qui permet également de diminuer l'expression du VEGF. Ici on n'agit plus sur le VEGF lui-même ou sur ses récepteurs mais bien plus tôt dans le processus de néovascularisation car on va neutraliser l'ARNm du VEGF grâce à l'utilisation d'oligonucléotides antisens. Ces molécules ont donc un potentiel anti-angiogénique car le VEGF ne sera pas synthétisé ce qui entraînera l'arrêt de la cascade de signaux en aval.

Cette technique peut également être utilisée dans le domaine complémentaire à savoir au niveau du récepteur du VEGF. En effet, il a été développé un ribozyme de synthèse anti-VEGFR-1 qui se fixe donc sélectivement sur le VEGFR-1 et clive son ARN messager dans le but de bloquer la synthèse protéique de ce récepteur. Cette molécule connue sous le nom d'Angiozyme®, est en cours d'essais cliniques dans le traitement du cancer du sein et du cancer colorectal.

Le veglin est aussi un oligonucléotide antisens venant interrompre l'expression des VEGF-A, C et D en se fixant directement sur le gène concerné (Lièvre *et al.*, 2008).

8. Autres grandes stratégies anti-angiogéniques ne ciblant pas le VEGF

En dehors des inhibiteurs de la voie du VEGF qui constituent les anti-angiogéniques les plus importants et les plus développés actuellement, il existe d'autres anti-angiogéniques dont le mécanisme d'action ne passe pas par une inhibition de la voie du VEGF.

8.1. Les imids

Le chef de fil de cette classe de médicaments est le thalidomide.

C'est un dérivé du glutamate qui a d'abord été utilisé dans les années 1950 pour le traitement des nausées et vomissements du début de la grossesse grâce à ses propriétés antiémétiques. Cette utilisation fut la source d'une catastrophe sanitaire car des effets tératogènes importants furent découverts sur de nombreuses naissances, ce qui conduisit au retrait du thalidomide en 1961.

C'est seulement dans les années 1990 que les scientifiques mirent en évidence la possibilité de bloquer l'angiogenèse. Idée qui avait déjà été évoquée par Judah Folkman, partant de l'hypothèse que l'absence de développement des membres du fœtus entraînée par le thalidomide pourrait résulter d'une inhibition du développement vasculaire.

C'est enfin en 1999 qu'une équipe de chercheurs américains démontre l'efficacité du thalidomide en monothérapie chez les patients porteurs de myélome multiple en rechute. Aujourd'hui, il est toujours utilisé dans cette indication et tend même à devenir un traitement de première ligne. En effet, il est indiqué, en association avec le melphalan et la prednisone (protocole MPT), pour le traitement de première ligne des patients âgés de plus de 65 ans présentant un myélome multiple non traité ou présentant une contre-indication à la chimiothérapie à haute dose.

La toxicité observée, outre le risque de neuropathies sensitives régressant lentement, est essentiellement liée à une somnolence, un état dépressif ou à des modifications du comportement, une rétention hydrique ou une constipation.

Les médicaments de la famille des imids se caractérisent en fait par un mode d'action complexe :

- un effet anti-angiogénique mais aussi,
- un effet anti-inflammatoire,
- des propriétés immuno-modulatrices et,
- un effet anti-tumoral intrinsèque.

8.1.1. Exemple d'imid : le lénalidomide (Revlimid®)

Le lénalidomide possède différentes propriétés : antinéoplasique, anti-angiogénique, pro-érythropoïétique et immunomodulatrice.

En Europe et en France, le lénalidomide est indiqué, en association avec la dexaméthasone, pour le traitement du myélome multiple réfractaire et/ou en rechute après au moins une ligne thérapeutique ayant comportée des alkylants et lorsqu'aucune alternative n'existe.

Il existe plusieurs effets secondaires relevés lors de l'administration du lénalidomide mais le plus spécifique à cette molécule est la baisse du taux de plaquettes et de globules blancs dans le sang. De plus, étant structurellement proche du thalidomide, il possède également un effet tératogène qui implique des précautions d'utilisation de rigueur chez la femme en âge de procréer ainsi que chez l'homme du fait de la présence dans le sperme.

8.2. Les inhibiteurs du récepteur c-Met

Le récepteur c-Met (mesenchymal-epithelial transition factor) est celui de l'hepatocyte growth factor/scatter factor. Il peut avoir un rôle dans la croissance tumorale car il est impliqué dans la transition épithélio-mésenchymateuse, mais aussi et surtout dans l'angiogenèse et il contribue également à la motilité des cellules normales mais aussi tumorales.

De plus, ce récepteur se trouve anormalement exprimé et fonctionnel dans certains types tumoraux dans lesquels il est corrélé à un facteur pronostique défavorable, ce qui confirme sa mise en cause dans le développement de la tumeur.

L'utilisation des inhibiteurs de c-Met vont donc avoir un impact sur la croissance tumorale, favorisant l'arrêt de son développement.

Nous pouvons citer pour exemple le rilotumumab qui est un anticorps monoclonal IgG2 inhibiteur du récepteur c-Met. Celui-ci est encore à l'étude actuellement pour le traitement des cancers gastriques.

8.3. Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice cellulaire (TIMP)

Les métalloprotéinases sont des enzymes responsables de la dégradation de la membrane basale des tumeurs, ce qui permet l'invasion des vaisseaux tumoraux en périphérie de la tumeur, favorisant ainsi la croissance et la dissémination des cellules cancéreuses.

La présence de ces MMP est donc un facteur de mauvais pronostique dans le développement tumoral d'autant plus que l'expression de ces enzymes est augmentée dans la plupart des tumeurs, y compris les gliomes.

Cependant, il est possible d'interférer avec le processus d'angiogenèse en mettant en place une stratégie reposant sur l'inhibition des MMP à l'aide de petits inhibiteurs synthétiques qui ciblent l'ion Zn^{2+} du site catalytique des MMP. Par conséquent, l'inhibition de la dégradation de la membrane va bloquer les étapes suivantes qui sont l'invasion par les cellules endothéliales du milieu environnant à la tumeur ainsi que leur migration pour former de nouveaux vaisseaux. La croissance de la tumeur se voit donc stoppée.

8.3.1. Quelques exemples de TIMP

Les inhibiteurs de métalloprotéinases de la matrice sont actuellement en cours d'évaluation dans des essais thérapeutiques.
Nous pouvons citer le marimastat (BB-2516) qui a fait l'objet de plusieurs essais thérapeutiques dans le traitement du cancer du poumon mais ceux-ci ont été décevants. En revanche, les résultats obtenus dans le traitement des gliomes sont assez prometteurs. C'est une molécule qui inhibe fortement les MMP mais de façon non spécifique.

Les chercheurs ont ensuite développé des inhibiteurs plus spécifiques de

certaines MMP comme le métastat qui a subi des modifications chimiques afin d'exercer une forte inhibition sur les MMP-2 et 9 dans les cancers. Cette molécule est proche d'une famille d'antibiotiques qui sont les tétracyclines et elle pourrait être utile dans le traitement des sarcomes de Kaposi.

8.4. Autres molécules anti-angiogéniques

Il reste un certain nombre de molécules ayant une activité sur la néovascularisation mais ce sont cette fois des molécules directement anti-angiogéniques.

On distingue deux catégories.

8.4.1. Les anti-angiogéniques pharmacologiques

Ce sont des molécules plutôt anciennes qui agissent directement sur les cellules endothéliales en induisant leur apoptose.

On trouve le neovastat qui agit à plusieurs niveaux puisqu'il inhibe l'action des métalloprotéinases matricielles, bloque les sites récepteurs auxquels se lie le VEGF et provoque donc l'apoptose des cellules endothéliales tout en inhibant leur prolifération. C'est un extrait liquide du cartilage qui possède des effets anti-angiogéniques multiples.

D'autre part, le TNP-470 possède également une puissante activité inhibitrice des cellules endothéliales. C'est un dérivé d'un antibiotique sécrété par le champignon Aspergillus Fumigatus: la fumagilline. Quelques études ont aussi montré les propriétés anti-tumorales dérivées de l'action sur la néovascularisation (Lièvre, 2007).

8.4.2. Les anti-angiogéniques naturels

Découverts dans les années 1990, les deux principaux sont l'endostatine et l'angiostatine (Lièvre *et al.*, 2008).

9. Avantages de la thérapie anti-angiogénique

Dans la mesure où le développement tumoral est en grande partie dépendant de l'angiogenèse, des stratégies visant à inhiber ce processus angiogénique ont été mises en œuvre afin de faire régresser les tumeurs. Le ciblage de l'angiogenèse, et en particulier du VEGF, est donc apparu comme une option thérapeutique intéressante en cancérologie et aujourd'hui beaucoup utilisée.

De plus, par rapport aux traitements anti-tumoraux classiques, les thérapies anti-angiogéniques offrent un certain nombre d'avantages théoriques que nous allons décrire.

Le premier avantage des thérapies anti-angiogéniques réside dans le fait que leur cible d'action est plus facilement accessible. En effet, les cellules endothéliales bordent les vaisseaux tumoraux donc leur accès est plus facile par une administration systémique contrairement à l'utilisation des thérapies traditionnelles où il est plus difficile d'accéder au tissu tumoral du fait de pressions interstitielles. De plus, contrairement aux cellules cancéreuses, les cellules endothéliales, elles, sont stables sur le plan génétique ce qui les rend également plus accessibles.

Nous savons qu'un seul capillaire est capable d'alimenter plusieurs cellules cancéreuses. Par conséquent, l'inhibition d'un petit nombre de vaisseaux tumoraux pourrait affecter la croissance de nombreuses cellules tumorales.

Dans un organisme adulte, l'angiogenèse physiologique est limitée donc les cellules endothéliales sont dans un état quiescent pour la grande majorité. Hors, la thérapeutique anti-angiogénique s'attaque aux cellules endothéliales associées aux tumeurs qui présentent, elles, un phénotype angiogénique contrairement à l'endothélium normal quiescent (Corvol, 2010). On observe donc une bonne tolérance de ces traitements car les vaisseaux normaux ne sont pas affectés.

Un autre avantage important de ces thérapies s'appuie sur la stabilité génétique des cellules endothéliales qui offrirait moins de résistance à l'utilisation de ces traitements. En effet, contrairement aux cellules tumorales qui sont très instables génétiquement, ceci étant donc propice à l'acquisition d'une résistance aux médicaments cytotoxiques, les cellules endothéliales sont génétiquement plus stables. L'acquisition d'une résistance, naturelle ou acquise par mutation, aux

traitements anti-angiogéniques est donc un phénomène qui a moins de chance d'apparaître.

D'autre part, toutes les tumeurs de taille supérieure à 2 mm de diamètre développent une vascularisation tumorale. L'angiogenèse est donc un processus rencontré dans la plupart des tumeurs solides, de ce fait, on peut espérer une efficacité sur la plupart des tumeurs. De plus, les cellules endothéliales associées aux tumeurs sont relativement semblables d'une tumeur à l'autre. Vient également s'ajouter le fait que l'angiogenèse tumorale agit à tous les stades de la carcinogenèse. L'universalité du processus angiogénique dans le développement des tumeurs fait des traitements anti-angiogéniques une thérapie anti-cancéreuse idéale car une seule molécule pourrait être utilisée pour traiter l'ensemble des vaisseaux tumoraux, quel que soit le type de cancer concerné alors que la chimiothérapie est individualisée en fonction du type de tumeur (Ray-Coquard *et al*., 2007).

Les agents anti-angiogéniques agissent sur les cellules endothéliales comme nous le savons, et les agents cytotoxiques agissent eux sur les cellules tumorales. Leurs mécanismes d'action sont donc complémentaires et ainsi ces deux thérapeutiques peuvent agir de façon synergique.

Le dernier avantage et non des moindres, repose sur une meilleure tolérance. L'effet thérapeutique étant basé sur la pharmacologie et non sur une toxicité comme pour la chimiothérapie ou la radiothérapie, ce type de traitement aura moins d'effets secondaires (Lièvre *et al*., 2008) (Guillamo, 2011).

10. Inconvénients des anti-angiogéniques

Les anti-angiogéniques sont perçus comme des médicaments révolutionnaires dans le domaine du traitement anti-cancéreux par de nombreux chercheurs. Il est vrai que leur apport dans la thérapeutique a été d'un bénéfice important pour la survie des malades.

Cependant, malgré tous les points positifs que l'on peut attribuer à ces médicaments, la thérapie anti-angiogénique a aussi des inconvénients potentiels.

En effet, d'une part du point de vue des effets secondaires qui peuvent être quand même nombreux et surtout qui sont nouveaux et par conséquent encore

parfois mal connus. On peut observer notamment des risques de perforation digestive, hémorragiques ou encore un retard de cicatrisation ainsi que des événements thromboemboliques artériels qui peuvent être dangereux et qui nécessitent bien sûr des précautions d'emploi strictes de ces anti-angiogéniques.

D'autre part, ces molécules ont apporté une amélioration dans le traitement de certains cancers bien entendu mais il faut rappeler que leurs effets restent néanmoins uniquement cytostatique donc ne permettent pas la destruction totale de la tumeur d'autant plus que les bénéfices de ces thérapies sont assez limités en monothérapie (Lièvre, 2007).

11. Combinaison des traitements anti-angiogéniques avec la chimiothérapie

Comme nous l'avons vu précédemment, les thérapies anti-angiogéniques apportent un bénéfice considérable mais leur utilisation est moins efficace en monothérapie. Pour l'instant, il semble donc préférable d'associer une thérapie cytotoxique à la thérapie anti-angiogénique qui elle, est cytostatique.

Le développement clinique d'inhibiteurs de l'angiogenèse comme les inhibiteurs du VEGF en cancérologie se fait donc actuellement en associant un traitement conventionnel type chimiothérapie ou radiothérapie à des médicaments anti-angiogéniques.

Plusieurs études ont d'ailleurs montré que l'association de ces deux types de thérapies était bénéfique.

Le premier essai a été réalisé dans le traitement du cancer du sein avec métastases. Ici, un groupe de patients avait reçu un traitement standard associé à un placebo et un autre groupe avait reçu ce même traitement mais cette fois-ci associé au bevacizumab. La comparaison des deux groupes de patients a révélé une amélioration de la survie sans progression du cancer chez le groupe ayant été traité avec le bevacizumab.

Un autre essai thérapeutique a été réalisé dans le but d'étudier la survie globale de patients porteurs d'un cancer du côlon métastasé. Deux groupes de patients, recevant chacun le même traitement standard ont été comparés : un

groupe recevant en plus du traitement conventionnel, un placebo et l'autre le bevacizumab. Les résultats obtenus ont encore une fois montré un bénéfice de l'ajout d'anti-angiogénique car les patients avaient gagné en moyenne 5 mois supplémentaires d'espérance de vie avec le bevacizumab. La médiane de survie des patients traités par placebo était de 15,6 mois tandis que celle des patients recevant le bevacizumab de 20,3 mois (Corvol, 2006).

Au départ, l'adjonction d'un traitement anti-angiogénique avec la chimiothérapie peut paraître paradoxale, car on pourrait penser que le blocage de la néovascularisation pourrait compromettre l'accès des cytotoxiques à la tumeur. En réalité, il n'en est que tout le contraire. Explication : au début de leur administration, les médicaments anti-angiogéniques exercent un effet de normalisation de la vascularisation tumorale en parallèle du blocage de la formation de nouveaux vaisseaux, ce qui crée ce qu'on pourrait appeler une «fenêtre» thérapeutique permettant l'amélioration de la diffusion des traitements cytotoxiques jusqu'à l'intérieur de la tumeur. Nous verrons plus en détail ce phénomène dans le chapitre suivant (Pérol et Arpin, 2009).

Les avantages pouvant donc être attendus de par cette association sont:

- une action sur plusieurs cibles cellulaires différentes,
- un effet additif ou synergique,
- une absence de résistance croisée aux médicaments,
- une absence d'effets secondaires des cytostatiques sur l'hématopoïèse.

12. Normalisation de la vascularisation tumorale

Depuis quelques temps, un phénomène nouveau a été observé au sein de la vascularisation des tumeurs. Sous l'effet de traitements anti-angiogéniques, les chercheurs ont observé un phénomène appelé « normalisation » des vaisseaux tumoraux.

En effet, l'angiogenèse tumorale diffère du processus physiologique d'angiogenèse au sens qu'elle est souvent emballée et anarchique et conduit donc à la formation de vaisseaux tumoraux malformés. La néovascularisation tumorale est structurellement et fonctionnellement très différente. On trouve une organisation chaotique des vaisseaux sanguins qui crée un flux sanguin tumoral hétérogène,

avec par conséquent la formation de régions hypoxiques qui deviennent peu accessibles aux cytotoxiques et donc résistantes aux traitements administrés aux patients. D'autre part, les vaisseaux tumoraux ont la caractéristique d'être hyper-perméables, ce qui entraîne une majoration de la pression interstitielle tumorale, encore une fois peu propice à la diffusion des cytotoxiques (Pérol et Arpin, 2009).

Le principe de normalisation des vaisseaux a été découvert peu à peu. Au départ, en toute logique, l'hypothèse initiale de l'efficacité d'un traitement anti-angiogénique dans le cancer était qu'en supprimant les vaisseaux irriguant une tumeur, on entraînerait au moins un arrêt de la croissance voire une nécrose de la tumeur. Cependant, plusieurs éléments remettent en cause l'hypothèse. Dans un premier temps, différentes expériences réalisées chez l'homme ont montré que les traitements anti-angiogéniques n'étaient pas d'une grande efficacité prescrits seuls. De plus, la destruction des vaisseaux tumoraux aurait même un effet aggravant sur la progression des tumeurs en stimulant vigoureusement la production de facteurs de croissance vasculaires en réponse à l'hypoxie induite par les anti-angiogéniques.

Un nouveau concept contre-intuitif fut alors introduit notamment par Jain et ses collaborateurs. Celui-ci affirmait que l'adjonction d'un traitement anti-angiogénique à une chimiothérapie cytotoxique améliore paradoxalement la diffusion tumorale des cytotoxiques par un effet probablement précoce de normalisation de la néovascularisation tumorale. Selon lui, l'administration d'anti-angiogéniques permettrait aux vaisseaux tumoraux de retrouver une architecture normale et élaguerait les vaisseaux bourgeonnants. Par conséquent, la tumeur retrouverait une fourniture optimale d'oxygène et de nutriments ainsi qu'un apport de médicaments anti-cancéreux, ce qui permettrait une efficacité accrue de la chimiothérapie et de la radiothérapie dont les performances dépendent d'une bonne oxygénation tissulaire (Guillamo, 2011).

Plusieurs expériences viennent conforter cette hypothèse. Par exemple, une étude bien représentative réalisée sur un petit nombre de patients atteints du cancer rectal montre que le bevacizumab prescrit isolément avant l'intervention chirurgicale diminue la perfusion sanguine dans la tumeur, abaisse la pression interstitielle intra-tumorale et décroit le taux de précurseurs circulants des cellules endothéliales. De plus, on observe une réduction de la densité micro-vasculaire et

une augmentation du nombre de vaisseaux recouverts de péricytes, indice d'une meilleure architecture vasculaire. D'autres études montrent également une amélioration de l'efficacité du traitement anti-tumorale en associant un anti-angiogénique avec un cytotoxique plutôt que l'administration des deux produits donnés à forte dose isolément comme par exemple un anti-VEGFR-2 et la vinblastine dans le traitement du neuroblastome ou encore l'angiostatine et la radiothérapie dans le gliome.

Actuellement, ce phénomène n'est plus une hypothèse car il est avéré que les traitements anti-angiogéniques rétablissent les caractéristiques d'une vascularisation tissulaire normale dans la tumeur. Le blocage de l'angiogenèse permet une maturation de la vascularisation tumorale en homogénéisant cette vascularisation par un effet de remodelage vasculaire. On observe également une suppression des capillaires immatures, une réduction de la pression interstitielle tumorale ainsi qu'une amélioration de l'oxygénation des cellules tumorales.

Ce phénomène est transitoire mais cette normalisation des vaisseaux permet une «fenêtre» thérapeutique pour l'utilisation des traitements cytotoxiques durant les premières semaines de traitement. En effet, sous l'effet d'un traitement anti-angiogénique, on observe une potentialisation de l'effet d'un traitement cytotoxique classique de par un meilleur apport des produits anti-cancéreux.

De plus, le traitement anti-angiogénique a également pour effet de prévenir l'effet pro-angiogénique de la chimiothérapie cytotoxique administrée conventionnellement, effet reposant sur la mobilisation médullaire, entre les cures, des cellules souches progénitrices des cellules endothéliales, susceptibles de s'incorporer au processus local d'angiogenèse tumorale (Corvol, 2006).

13. Conclusion

Les connaissances fondamentales sur les mécanismes de la vasculogenèse et de l'angiogenèse ont littéralement explosé au cours de ces dernières années. Elles permettent de mieux comprendre les phénomènes de l'angiogenèse au cours du développement ainsi que l'angiogenèse physiologique et réparatrice chez l'adulte. À l'inverse, ces mêmes mécanismes d'angiogenèse peuvent être délétères lorsqu'ils sont mis en jeu au cours d'une conversion phénotypique de la cellule endothéliale

quiescente en cellule endothéliale « maligne », lors de cancers ou au cours de la rétinopathie proliférative de la dégénérescence maculaire liée à l'âge chez le diabétique.

La compréhension de ces mécanismes a abouti, en l'espace de quelques années, à la mise au point de stratégies anti-VEGF, l'un des acteurs essentiels de l'angiogenèse. Les résultats des anti-VEGF comme traitement complémentaire aux thérapeutiques standard dans de nombreuses affections cancéreuses sont très encourageants. En effet, seuls les anti-angiogéniques ont fait la preuve de leur efficacité thérapeutique dans le traitement des tumeurs rebelles, même si cependant leurs effets restent parfois modestes ; la médiane de survie n'est prolongée souvent que de quelques mois. Le traitement anti-angiogénique doit obligatoirement associer une chimiothérapie. En effet, contrairement au rationnel originel, le traitement anti-angiogénique normalise la vascularisation intra-tumorale, élimine les lits vasculaires et favorise la circulation ainsi que la pénétration des agents de chimiothérapie au sein de la tumeur et donc, leurs effets cytotoxiques.

Normaliser, détruire ou déréguler la vascularisation tumorale sont donc les maîtres mots d'une nouvelle stratégie thérapeutique, qui suscite beaucoup d'espoirs.

Les directions futures s'orientent également vers la recherche de biomarqueurs, afin d'optimiser les associations et de proposer un traitement personnalisé tenant compte du phénotype tumoral et des nouvelles cibles identifiées dans l'angiogenèse.

Ainsi, 40 ans après, le concept émis par Folkmann est devenu réalité !

Chapitre IV : Utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein

Partie I : Le cancer du sein et sa prise en charge classique

1. Introduction

Les chapitres précédents faisant état des mécanismes d'angiogenèse et des traitements développés pour contrer ce mécanisme notamment dans le domaine de l'angiogenèse tumorale, mettent en évidence l'importance de l'angiogenèse parmi les processus de développement tumoral. Le VEGF, identifié comme un médiateur crucial de la formation de nouveaux vaisseaux, est mis en évidence dans de nombreux cancers et notamment le cancer du sein. En effet, dans les cancers du sein invasifs, il existe une surexpression du VEGF qui représente un facteur pronostique important et d'ailleurs plus annonciateur de mauvais pronostic. C'est donc dans ce contexte et pour son rôle important dans le processus de carcinogenèse que le VEGF est devenu une cible pharmacologique majeure dans le développement des thérapies anti-cancéreuses. Nous avons donc vu se développer un certain nombre de médicaments appelés anti-angiogéniques. Dans ce chapitre, nous allons plus particulièrement nous intéresser à l'un d'eux, le bevacizumab, plus connu sous le nom commercial Avastin®, et à sa place dans le traitement du cancer du sein (Molnar-Stanciu *et al*., 2012).

2. Rappel : anatomie du sein et hormones sexuelles féminines

Chaque sein contient une glande mammaire dans laquelle se trouvent d'innombrables canaux et lobules ramifiés, qui sont regroupés en petites unités appelées « unités ductulo-lobulaires ». Chaque unité est drainée par des canaux de grand calibre s'abouchant au niveau du mamelon.

Au sein de chaque compartiment ou unité, les rôles sont différents. En effet, la production du lait en période d'allaitement est réalisée par les lobules et plus précisément grâce aux cellules luminales de l'épithélium mammaire. Il faut rappeler que la fonction biologique du sein est de produire du lait afin de nourrir

un nouveau-né. D'autre part, les canaux sont responsables du transport du lait vers les mamelons, par l'intermédiaire des cellules basales myoépithéliales qui sont chargées de l'expulsion du lait maternel.

Les unités sont maintenues par du tissu de soutien qui contient du tissu adipeux, des vaisseaux sanguins et des fibres ainsi que des vaisseaux lymphatiques (figure 25) (Institut Curie, 2010).

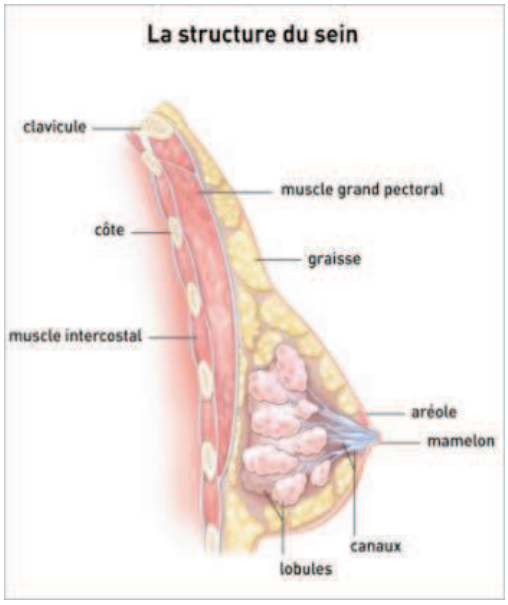


Figure 25 : Structure du sein

On trouve donc des vaisseaux lymphatiques mais aussi des ganglions qui composent ce que l'on appelle le système lymphatique (figure 26). Celui-ci permet de drainer la lymphe au niveau des ganglions afin notamment de combattre les infections. Les ganglions lymphatiques du sein sont principalement situés :

– au niveau de l'aisselle : ganglions axillaires,

– au-dessus de la clavicule : ganglions sus-claviculaire ou sous la clavicule : ganglions sous-claviculaires ou infra-claviculaires,

– à l'intérieur du thorax, autour du sternum : ganglions mammaires internes.

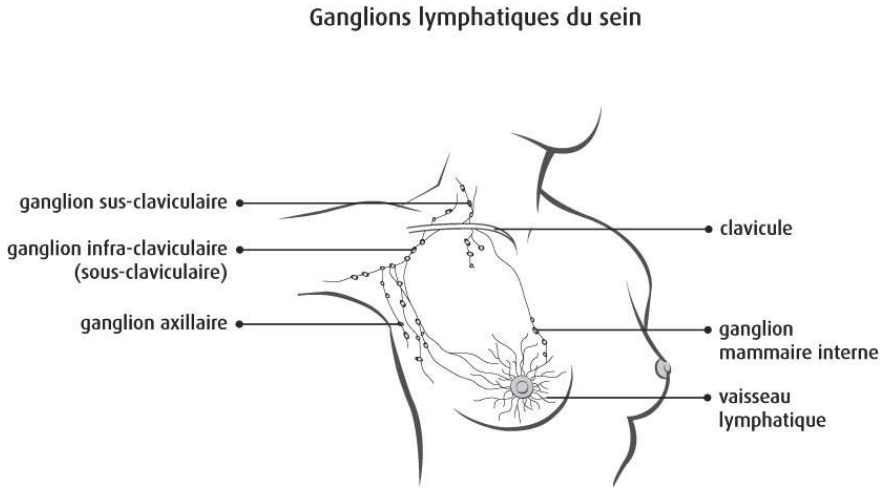


Figure 26 : Les ganglions lymphatiques du sein

Enfin, les ovaires fabriquent des hormones sexuelles qui influencent le développement et le mode de fonctionnement de la glande mammaire. On trouve deux types d'hormones sexuelles féminines :

– les œstrogènes, qui permettent notamment le développement des seins au moment de la puberté et jouent un rôle important tout au long de la grossesse (assouplissement des tissus, augmentation du volume sanguin nécessaire à l'alimentation du bébé …),

– la progestérone qui joue notamment un rôle dans la différentiation des cellules du sein et sur le cycle menstruel, en préparant par exemple l'utérus à une éventuelle grossesse (densification et développement de la vascularisation la muqueuse de l'utérus) (InCa, 2010).

3. Qu'est-ce que le cancer du sein ?

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui se développe au niveau du sein, à partir des cellules constituant la glande mammaire. Les cellules malignes se multiplient de manière anarchique et vont ainsi former une tumeur.

Il existe différents types de cancer du sein suivant que les cellules malignes envahissent les tissus voisins ou non, que nous verrons en détail dans le chapitre suivant (figure 27). De plus, les cellules cancéreuses peuvent se propager par voie sanguine ou lymphatique jusqu'à des organes situés à distance et y développer de

nouvelles tumeurs qu'on appelle alors des métastases. Dans ce cas, le cancer est dit métastatique.

Il existe donc plusieurs types de cancer du sein, c'est pour cela qu'il faut envisager plusieurs types de traitements adaptés à chacun. Dans tous les cas, la vie toute entière s'en trouve profondément modifiée (Institut Curie, 2010).

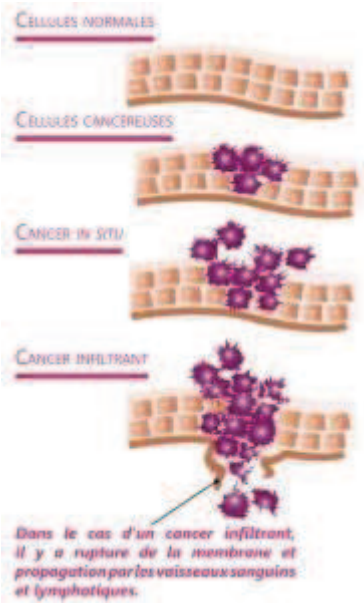


Figure 27 : Les différents comportements des cellules cancéreuses

4. Epidémiologie du cancer du sein

4.1. En France

Le cancer du sein par sa fréquence représente un problème de santé publique majeur. En effet, avec plus de 48 000 nouveaux cas estimés en 2012 et plus de 11 500 décès, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme devant le cancer colorectal et le cancer du poumon (InCa, 2013). Ainsi, il représente plus du tiers de l'ensemble des nouveaux cas de cancer chez la femme. De plus, il se situe au deuxième rang des cancers les plus fréquents, tous sexes confondus, derrière le cancer de la prostate.

On estime qu'une femme sur neuf développera un cancer du sein au cours de sa vie et qu'une femme sur vingt-sept en mourra, mais le risque augmente avec

l'âge. Dans la majorité des cas, soit 8 cas sur 10, les femmes touchées par le cancer du sein sont âgées de 50 ans et plus. La moyenne d'âge au diagnostic est de 61 ans. Et moins de 10% des cancers du sein surviennent avant 40 ans.

Ce cancer peut aussi apparaitre chez l'homme mais c'est extrêmement rare car cela représente moins de 1% des cancers du sein et seulement 0,5% des cancers masculins.

Ces 20 dernières années, l'incidence du cancer du sein a augmenté régulièrement en voyant doubler le nombre de nouveaux cas, passant d'environ 22 000 en 1980 à presque 42 000 en 2000. Cependant, l'incidence semble désormais en phase de stabilisation et les résultats récents montrent même qu'elle a tendance à diminuer depuis 2005. Les explications de cette diminution pourraient être trouvées dans la réduction massive de la prescription de traitements hormonaux substitutifs de la ménopause mais aussi dans la stabilisation de facteurs de risque comme l'âge tardif de la première grossesse ou la diminution de l'allaitement. De plus, le nombre de femmes participant au dépistage a augmenté durant ces années.

Le cancer du sein se situe en tête de mortalité avec environ 11 500 décès en 2012. Mais ce qui est plus encourageant encore que l'incidence, c'est que le taux de mortalité diminue en France depuis une quinzaine d'années. Cette diminution fait référence à la nette amélioration des traitements anti-cancéreux ainsi qu'aux progrès du diagnostic mais aussi à l'extension de la pratique du dépistage organisé et plus précoce. Les femmes atteintes de cancer du sein aujourd'hui ont donc une plus grande probabilité de guérir. Pour preuve, aujourd'hui, plus de 3 cancers sur 4 sont guéris. Le taux global de survie à 5 ans après le diagnostic est estimé à près de 89% tous types confondus. Il faut néanmoins préciser que ce taux diminue avec l'âge et la sévérité du stade au moment du diagnostic (Inserm, 2009) (Ameli, 2012).

Plusieurs facteurs de risque sont connus dans la survenue du cancer du sein. Parmi les facteurs les plus importants, on trouve l'âge, en effet l'incidence augmente après 30 ans ; les antécédents familiaux de cancer du sein en rapport avec les gènes BRCA1 et 2 (BReast CAncer 1 et 2), et les lésions histologiques à risque comme les antécédents d'hyperplasie atypique mammaire. D'autres facteurs interviennent mais sont moins importants, comme les antécédents gynéco-

obstétricaux, le mode de vie, ou encore les facteurs hormonaux (règles précoces, avant 12 ans ; ménopause tardive, après 50 ans ; absence de grossesse ou grossesses tardives après 35 ans ; absence d'allaitement), l'exposition à des radiations ionisantes chez l'enfant ou l'adolescent, ainsi que l'obésité et les facteurs alimentaires. Le rôle des contraceptifs oraux et des traitements hormonaux substitutifs de la ménopause est débattu. La densité mammaire est un facteur de risque significatif qui devrait être intégré prochainement dans des modèles prédictifs d'évaluation du risque de cancer.

4.2. Dans le monde

Le cancer du sein a augmenté à 14 millions de nouveaux cas en 2012 dans le monde. Il représente donc le deuxième type de cancer le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde après le cancer du poumon. D'autre part, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes au niveau mondial et il représente 16% de l'ensemble des cancers féminins. Bien que l'on considère cette maladie comme une maladie du monde développé, une majorité (69%) de l'ensemble des décès par cancer du sein surviennent dans les pays en développement.

Depuis une petite dizaine d'années, l'incidence du cancer du sein dans le monde a augmenté de plus de 20% et la mortalité de 14%. On observe donc une forte hausse des cancers du sein dans le monde entier, avec environ 1,7 millions de femmes chez lesquelles on diagnostique une tumeur du sein chaque année. En 2012, 6,3 millions de femmes vivaient avec un cancer du sein diagnostiqué au cours des cinq années précédentes. Bien que l'incidence soit en augmentation dans la plupart des pays du monde, on observe d'énormes inégalités entre les pays riches et les pays pauvres. En effet, les taux les plus élevés sont observés dans les pays les plus développés, comme par exemple en Europe occidentale où l'incidence est supérieure à 90 nouveaux cas pour 100 000 femmes par an. Au contraire, en Europe orientale, Amérique du Sud, Afrique du Sud et Asie occidentale, l'incidence est modérée. Enfin, c'est dans la majeure partie des pays africains que l'on retrouve les taux les plus faibles, comme en Afrique de l'Est où on retrouve 30 cas pour 100 000 (figure 28).

Concernant la survie, le cancer du sein est la cause la plus fréquente de décès par cancer chez les femmes avec 522 000 décès par an environ dans le monde. Comme pour l'incidence, les taux de survie sont extrêmement variables d'un pays à l'autre. En effet, nous avons vu que l'incidence est plus importante dans les pays développés, cependant, les taux de survie dans ces pays sont élevés comme par exemple en Amérique du Nord où il est de 80%. En revanche, malgré une incidence faible dans les pays plus pauvres, les taux de survie y sont beaucoup moins élevés, avoisinant les 40%. Le cancer du sein est aussi l'une des principales causes de décès par cancer dans les pays les moins développés. Ces taux de survie si faible sont en corrélation avec l'absence de programmes de dépistages précoces, qui se traduit par une proportion élevée de femmes présentant une maladie à un stade avancé, ainsi qu'avec l'absence d'infrastructures de diagnostic et de traitement appropriées parce que les progrès cliniques enregistrés contre la maladie ne profitent pas aux femmes vivant dans ces régions (OMS, 2013).

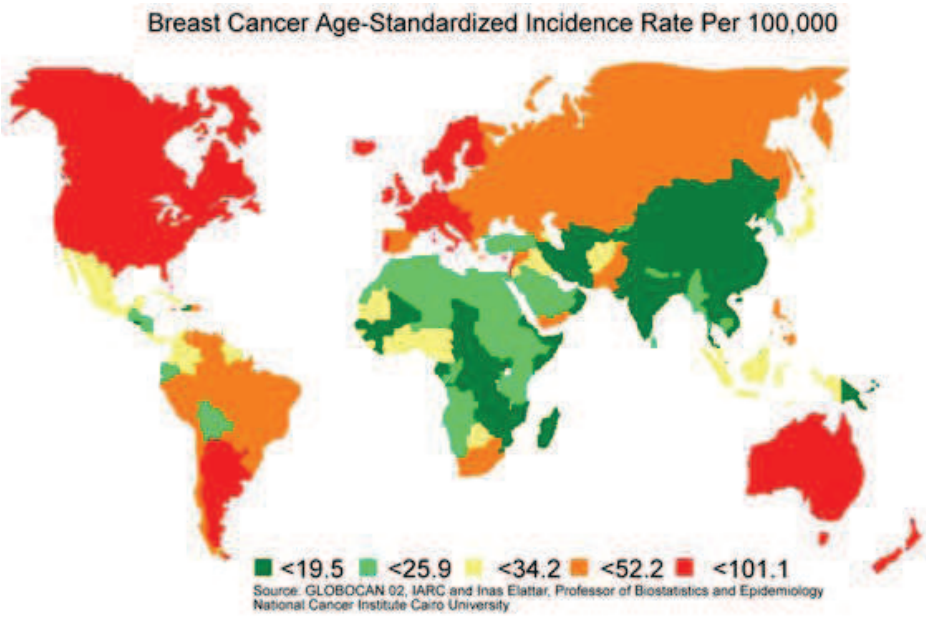


Figure 28 : Taux d'incidence du cancer du sein, âge-normalisés selon 100 000 femmes

(d'après Mandal, 2013)

5. Les différents types de cancer du sein

Le cancer du sein est une maladie très hétérogène. En effet, il n'y a pas un cancer du sein, mais des cancers du sein. Les types de cancer se différencient en fonction du lieu et des cellules à partir desquels ils se développent, et en fonction du stade d'évolution. Tous les cancers du sein ne sont donc pas les mêmes, avec des entités biologiques associées à des caractéristiques pathologiques spécifiques ainsi qu'un comportement clinique différent.

On distingue donc plusieurs types de cancer du sein qui sont le cancer in situ, le cancer infiltrant et les cancers plus particuliers. Parmi ces différents types, les plus fréquents des cancers du sein (95%) sont des adénocarcinomes, c'est-à-dire qui se développent à partir des cellules épithéliales (carcinome) de la glande mammaire (adéno). Les adénocarcinomes naissent le plus souvent à partir des cellules des canaux, ce qui va donner un cancer canalaire, et plus rarement à partir des cellules des lobules, pour donner un cancer lobulaire.

Les deux types majoritaires de cancers du sein sont les cancers in situ ou au contraire les cancers infiltrants ou invasifs :

– tant que les cellules cancéreuses restent confinées au niveau des canaux et des lobules du sein, le cancer est dit in situ ou non-invasif. Le cancer canalaire in situ (CCIS) est le plus fréquent : 8 cancers in situ sur 10,

– si les cellules cancéreuses ont traversé la membrane basale des canaux ou des lobules et ont donc envahi les tissus qui les entourent, le cancer est dit infiltrant. Dans ce type de cancer, l'invasion des cellules malignes peut se propager jusqu'aux ganglions situés sous l'aisselle (ganglions axillaires) et également par voie veineuse pour aller se loger dans d'autres organes du corps et ainsi former des métastases.

Il existe d'autres types plus rares de cancer du sein que nous verrons en détail par la suite (InCa, 2013).

5.1. Les cancers du sein non infiltrants ou « in situ »

Comme nous l'avons vu précédemment, lorsque les cellules cancéreuses se trouvent uniquement à l'intérieur des canaux ou des lobules, sans que la tumeur ait

franchi la membrane basale de ces cellules, et quand il n'y a donc pas d'infiltration dans le tissu avoisinant, on parle alors de cancer in situ.

Les cancers in situ sont quelquefois considérés comme des « pré-cancers ». Au sein des carcinomes non invasifs, il existe deux sous-catégories, et même trois si l'on sépare la maladie du mamelon.

5.1.1. Le cancer canalaire in situ : CCIS

Le cancer canalaire in situ est le cancer du sein non infiltrant le plus fréquent. En effet, 8 à 9 cancers in situ sur 10 sont des CCIS.

Le moyen le plus efficace de détecter un CCIS est la mammographie, et c'est d'ailleurs le plus souvent suite à un dépistage systématique par mammographie que l'on découvre ce type de cancer du sein. Il peut également parfois être mis en évidence par un écoulement de sang au niveau du mamelon ou bien un eczéma à ce même endroit.

Le cancer canalaire in situ est caractérisé par le confinement des cellules malignes au sein des canaux galactophores (figure 29). Contrairement aux cancers infiltrants, les cellules ne se propagent pas dans le tissu mammaire voisin. Parfois, il arrive que les cancers canalaires in situ infiltrent les tissus voisins et deviennent des cancers infiltrants (InCa, 2013).

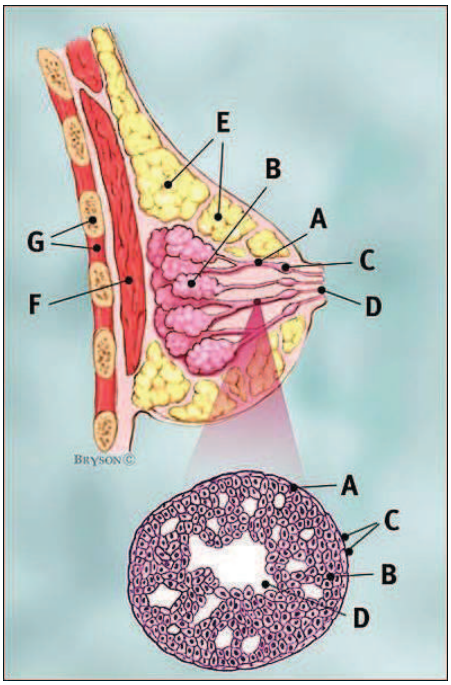


Figure 29 : Confinement des cellules cancéreuses dans les canaux galactophores

Détails : A) cellules canalaires normales ; B) cellules canalaires cancéreuses ; C) membrane basale ; D) lumen

5.1.2. Le cancer lobulaire in situ : CLIS

Le cancer lobulaire in situ est un cancer non invasif beaucoup plus rare que le précédent. Il représente seulement 10 à 15% des cancers du sein in situ. Le CLIS, qu'on appelle aussi néoplasie lobulaire, est plutôt considéré comme un facteur de risque de développer un cancer du sein que comme un cancer à proprement parlé.

La découverte d'un CLIS se fait souvent par hasard suite à un examen de changement des seins. Il faut savoir qu'ils sont plus fréquents avant la ménopause.

Dans le cas du CLIS, les cellules cancéreuses demeurent au sein des lobules et n'envahissent pas les tissus voisins (figure 30). Il passe souvent inaperçu car il entraine très rarement des modifications pouvant être détectées à la mammographie et non plus de modifications physiques comme une masse tumorale par exemple. Le CLIS est souvent bilatéral (InCa, 2013).

La prise en charge de ce cancer est différente, avec un suivi très serré.

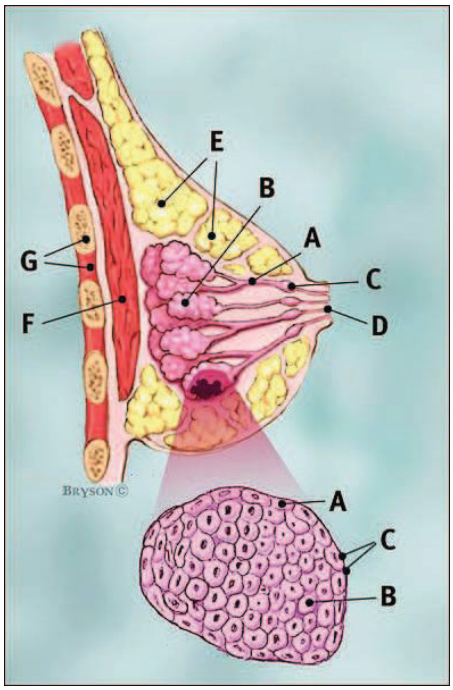


Figure 30 : Confinement des cellules cancéreuses au sein des lobules

Détails : A) cellules lobulaires normales ; B) cellules lobulaires anormales ; C) membrane basale

5.1.3. La maladie du mamelon ou maladie de Paget

La maladie de Paget du mamelon est un type particulier d'adénocarcinome in situ, c'est un cancer canalaire in situ de haut grade. C'est un type de cancer du sein moins courant, car il ne représente que moins de 5% de tous les cancers du sein. On la retrouve davantage chez les femmes âgées de plus de 50 ans.

Ce type de cancer peut être détecté grâce à la palpation des seins, où l'on retrouve une masse dans la région près du mamelon chez environ la moitié des patientes présentant cette maladie. D'autre part, à l'apparition de signes et symptômes spécifiques de la maladie, celle-ci peut être décelée à l'aide d'une biopsie ou d'une mammographie.

La maladie prend naissance dans les canaux galactophores du sein servant à acheminer le lait vers les orifices du mamelon lorsque la femme allaite. Les cellules cancéreuses se propagent ensuite via ces canaux jusqu'à la peau du mamelon où elle se manifeste par une éruption cutanée ou d'autres changements cutanés sur le

mamelon. Cependant, le cancer peut également se propager au niveau de l'aréole du sein ou encore dans les tissus plus profonds. Les symptômes rencontrés incluent une démangeaison persistante, et une desquamation du mamelon qui s'aggrave au fil du temps entrainant un écoulement au niveau du mamelon, qui va conduire à la formation d'une croute sur le mamelon et l'aréole. Ceci s'accompagne alors d'une rougeur mais surtout d'une douleur notamment due à la brûlure occasionnée. La peau se met ensuite à peler, ce qui entraine des lésions cutanées plus importantes. L'aplatissement du mamelon, ou au contraire son inversement (pointe vers l'intérieur) sont également des signes caractéristiques de cette maladie. En règle générale, la maladie de Paget affecte rarement les deux seins.

La plupart des femmes atteintes de la maladie de Paget souffrent également d'une autre forme de cancer du sein à un autre endroit dans le même sein. Le cancer sous-jacent peut être un CCIS ou bien un carcinome canalaire infiltrant (Société Canadienne du Cancer) (Fondation Canadienne du Cancer du Sein, 2011).

5.2. Les cancers du sein infiltrants ou invasifs

On parle de cancer du sein infiltrant lorsque les cellules cancéreuses ont envahi le tissu qui entoure les canaux et les lobules. Dans ce type de cancer, les cellules malignes peuvent également se propager vers les ganglions ou d'autres parties du corps. Les ganglions qui sont le plus souvent atteints dans les cancers du sein sont ceux qui se trouvent sous les bras, au niveau des aisselles, que l'on appelle les ganglions axillaires.

Parmi les cancers du sein invasifs, le plus fréquent est le cancer canalaire. En effet, 8 cancers sur 10 sont des cancers canalaires infiltrants. En revanche, le cancer lobulaire infiltrant est plus rare. Il existe plusieurs sous-catégories de cancers infiltrants que nous allons décrire ci-dessous.

5.2.1. Le cancer canalaire infiltrant : CCI

Le cancer canalaire infiltrant est le type de cancer du sein le plus fréquent car il représente 80% de toutes les tumeurs malignes. On l'appelle aussi parfois le

carcinome canalaire infiltrant de type non spécifique (TNS) ou sans autre indication (SAI) (Fondation Canadienne du Cancer du Sein, 2011).

Comme pour le CCIS, le cancer canalaire infiltrant prend naissance dans les canaux galactophores du sein dans lesquels transite le lait maternel. Mais contrairement à son homologue in situ, les cellules cancéreuses du CCI vont passer au travers de la paroi des canaux pour aller rejoindre et envahir le tissu mammaire voisin (figure 31). Celles-ci peuvent même se propager à travers le système lymphatique ou la circulation sanguine pour atteindre d'autres parties du corps et former des métastases.

L'envahissement du sein par les cellules cancéreuses entraine alors une inflammation et on observe la formation d'un tissu fibreux autour de la tumeur, ce qui provoque à la palpation la sensation d'une masse plus importante que la taille réelle de la tumeur. D'autres symptômes peuvent être observés comme un changement d'aspect de la peau, ou un écoulement au niveau du mamelon par exemple.

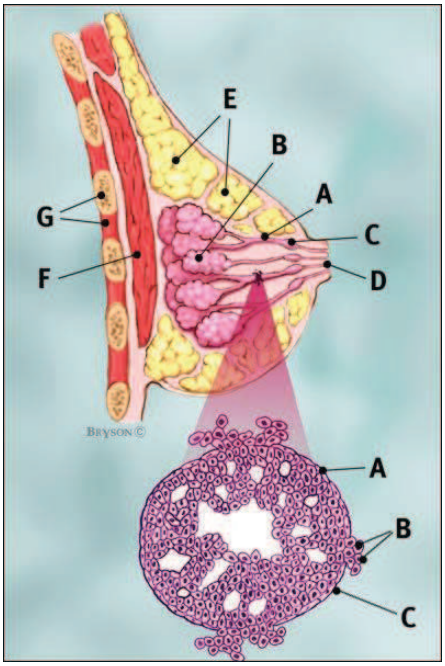


Figure 31 : Envahissement du tissu mammaire par les cellules cancéreuses canalaires

Détails : A) cellules canalaires normales ; B) cellules canalaires cancéreuses franchissant la membrane basale ; C) membrane basale

5.2.2. Le cancer lobulaire infiltrant : CLI

Le cancer lobulaire infiltrant est plus rare que le précédent car il représente 5% des cas diagnostiqués de cancer du sein.

Sur le même principe que précédemment, le CLI est une tumeur qui prend naissance dans les lobules du sein mais les cellules cancéreuses vont se propager au niveau du tissu mammaire se trouvant à la périphérie des lobules (figure 32). On pourra donc observer un épaississement subtil dans la région au-dessus et à l'extérieur du sein, cependant il n'y a pas d'inflammation associée. Par conséquent, ce type de cancer est moins palpable et moins visible à la mammographie.

En partie pour ces raisons, lors de leur découverte, ces cancers auront déjà une taille supérieure aux cancers canalaires.

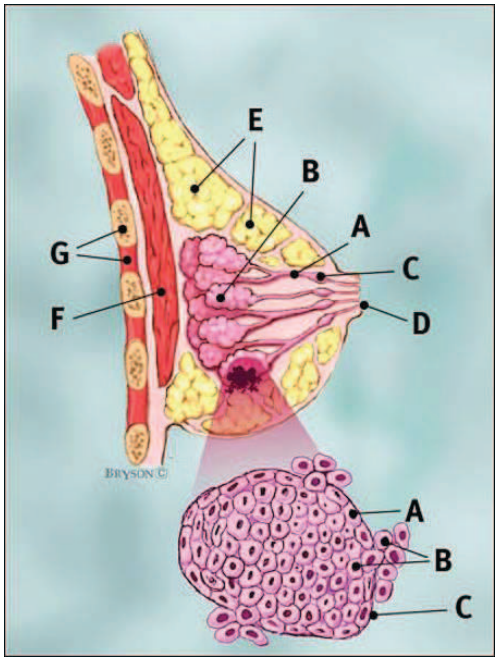


Figure 32 : Envahissement du tissu mammaire par les cellules cancéreuses lobulaires

Détails : A) cellules normales ; B) cellules lobulaires franchissant la membrane basale ; C) membrane basale

5.2.3. Autre méthode de classification des carcinomes infiltrants : classification de Perou et Sorlie ou classification intrinsèque

Aujourd'hui, les critères permettant de classer les cancers en différents types ou catégories sont nombreux. On utilise par exemple le type histologique, la taille de la tumeur, l'analyse de la présence de récepteurs hormonaux ou encore l'envahissement ganglionnaire. Récemment, l'utilisation des analyses génomiques a permis d'affiner la classification des cancers du sein infiltrants. Cette classification moléculaire forme plusieurs sous-groupes qui sont identifiés par l'expression différentielle des ADNc. La distinction majeure se fait d'abord selon le transcriptome des tumeurs à récepteurs aux œstrogènes positifs et négatifs (Penault-Llorca et Dauplat, 2011).

La classification intrinsèque permet ainsi de distinguer les types luminal, basal-like et HER2+, généralement en fonction de l'expression couplée de certaines protéines, essentiellement les récepteurs des œstrogènes et HER2 (human epidermal growth factor receptor 2).

5.2.3.1. Le type luminal

Il existe 2 types luminal-like, dont les tumeurs sont caractérisées par une majorité de récepteurs aux œstrogènes positifs, et une expression des cytokératines luminales 8, 18 et 19 et du gène GATA3. On distingue donc le type luminal A qui représente 25 à 40% des cas de cancers de sein, et le type luminal B qui lui représente 20 à 25% des cas.

Comme la majorité des cancers du sein, les phases initiales des cancers de type luminal se développent à partir des cellules épithéliales des canaux ou des lobules. Mais l'emploi du terme luminal fait référence au nom donné à un des types cellulaires du tissu mammaire normal.

Ces deux sous-groupes ont chacun des caractéristiques qui leur sont propres. D'une part, les tumeurs du sous-groupe luminal A se différencient par un grade bas ainsi qu'une faible prolifération. Un autre critère très important qui caractérise les

luminal A est le fait qu'elles expriment fortement et de façon homogène les récepteurs hormonaux, mais également généralement une négativité de p53 ainsi que de celle de HER2. Le pronostic de ces tumeurs est donc meilleur que les autres sous-groupes, notamment par le fait que le traitement hormonal peut intervenir pour ce type de cancer.

D'autre part, contrairement au type A, les tumeurs luminal B révèlent généralement une positivité de HER2, et une faible expression des récepteurs hormonaux. Le traitement dans ce cas s'orientera plutôt vers une chimiothérapie (Institut Curie, 2010) (Penault-Llorca et Dauplat, 2011).

5.2.3.2. Le type basal-like

Le terme basal se rapporte à l'origine cellulaire de ce cancer. Contrairement au type luminal, les tumeurs de type basal naissent à partir des cellules basales du tissu mammaire, qui sont en permanence exposées aux signaux issus de l'extérieur. Le type basal représente 15 à 18% des cas de cancer du sein.

Le cancer du sein de type basal-like se caractérise par une absence de récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone et également par le fait qu'il ne surexprime pas HER2 dans la majorité des cas. Ceci lui vaut donc souvent la définition de cancer « triple négatif ». Attention, cependant, tous les cancers basal-like sont dits triple négatifs, mais à l'inverse, une certaine proportion de tumeurs triple négatives n'appartient pas à la catégorie basal-like. Il faut savoir également que ce sont des tumeurs qui expriment les cytokératines de haut poids moléculaire et/ou EGFR (Epidermal growth factor receptor) et/ou c-Kit.

Les tumeurs basal-like sont de mauvais pronostic de par l'impossibilité d'utiliser les traitements anti-HER2 ainsi que les traitements hormonaux. De plus, elles présentent une forte instabilité génétique. Plusieurs études ont montré que cette catégorie de tumeurs englobait la plupart des tumeurs mammaires liées à des mutations de BRCA1, les carcinomes médullaires et les carcinomes métaplasiques du sein (anciens carcinosarcomes), les carcinomes adénoïdes kystiques. On retrouve donc une importante hétérogénéité de types histopathologiques et de comportements biologiques au sein de cette catégorie (Institut Curie, 2010) (Penault-Llorca et Dauplat, 2011).

5.2.3.3. Le type HER2 positif

Ce type de tumeur représente 15% des cas de cancer du sein. On retrouve une forte expression de plusieurs gènes de l'amplicon ERBB2 et une absence de récepteurs hormonaux dans environ 80% des cas.

Les cancers de type HER2 positif sont caractérisés par une surexpression des récepteurs HER2 à la surface des cellules tumorales. Les récepteurs HER2 sont responsables de la prolifération cellulaire, ce qui entraine donc la multiplication des cellules tumorales et par conséquent le développement de la tumeur.

Ce phénomène a longtemps été associé à un mauvais pronostic, jusqu'au développement d'un anticorps ciblant le récepteur HER2 : le trastuzumab ou Herceptin® (Institut Curie, 2010) (Penault-Llorca et Dauplat, 2011).

5.2.3.4. Conclusion

Même si cette classification moléculaire n'a pas apporté d'information pronostique plus importante que les facteurs anatomo-cliniques et immuno-histochimiques validés, elle a déjà clairement amélioré la compréhension de la maladie en démontrant son hétérogénéité moléculaire.

5.2.4. Les formes rares de cancers infiltrants

Parmi les cancers du sein infiltrants, on trouve des formes qui sont beaucoup plus rares, notamment le carcinome mucineux, tubulaire, médullaire et le carcinome papillaire. Le cancer du sein inflammatoire en fait également partie.

5.2.4.1. Le carcinome mucineux ou colloïde

Ce cancer représente environ 2% de tous les cancers du sein infiltrants et il se développe souvent chez les femmes âgées de 60 à 70 ans.

Sa particularité réside dans le fait que les cellules cancéreuses de ce type de tumeur sécrètent du mucus.

Dans la plupart des cas, il a un pronostic favorable (InCa, 2013).

5.2.4.2. Le carcinome tubulaire

Le carcinome tubulaire est un autre type de cancer infiltrant assez peu commun car il représente 1 à 2% de tous les cancers du sein infiltrants. On le retrouve principalement chez les femmes de 55 ans et plus.

Son appellation fait référence à la forme des cellules cancéreuses qui sont tubulaires lorsqu'on les examine au microscope. Généralement, le carcinome tubulaire est de petite taille et ne se propage pas aux ganglions axillaires.

Son taux de survie excellent : 95% survivront 10 ans, montre un meilleur pronostic que les carcinomes infiltrants classiques (InCa, 2013).

5.2.4.3. Le carcinome médullaire

Le cancer médullaire représente 1% des cancers du sein infiltrants et environ 15% de tous les types de cancers. Il se manifeste davantage chez les femmes de moins de 50 ans.

Il est reconnaissable à ses cellules qui ressemblent à la moelle du cerveau, et sa bordure est souvent ronde et bien définie.

Son pronostic est assez favorable. Lorsqu'un carcinome médullaire est découvert chez une femme jeune, les médecins suspectent fortement une forme génétique (InCa, 2013).

5.2.4.4. Le carcinome papillaire

Le carcinome papillaire peut être infiltrant ou non. Lorsqu'il est infiltrant, il ne représente pas plus de 1 à 2% de tous les cancers du sein infiltrants. Il a tendance à se manifester chez les femmes âgées.

Le carcinome papillaire infiltrant (hormis la forme micropapillaire) a un pronostic plus favorable que le carcinome canalaire infiltrant (InCa, 2013).

5.2.4.5. Le cancer du sein inflammatoire : CSI

Le cancer du sein inflammatoire est un autre type rare de cancer du sein infiltrant et particulièrement agressif. Il représente environ 1 à 3% de tous les cancers du sein.

Son diagnostic est souvent difficile à établir car ses symptômes ne s'apparentent pas à ceux typiquement observés dans les cas de cancer du sein. En effet, il n'y a généralement pas de masse ni de tumeur, et par conséquent il passe souvent inaperçu lors de la mammographie (Fondation Canadienne du cancer du sein, 2011).

Au départ, le CSI est souvent confondu avec une infection. Les symptômes caractéristiques de ce type de cancer font penser aux symptômes typiques de l'infection. Ils comprennent une rougeur, un gonflement des seins, une peau qui semble chaude au toucher, une texture de peau similaire à une peau d'orange, un changement dans l'apparence du mamelon et une douleur au niveau du sein. Le sein peut devenir plus gros, plus dur, plus sensible et il peut y avoir une démangeaison.

Le sein devient enflammé et rouge parce que les ganglions lymphatiques dans la peau de la poitrine sont bloqués. Le cancer inflammatoire du sein a tendance à se développer en couches, ou lamelles, et non sous forme de tumeur solide comme le font les types les plus communs de cancer du sein.

De par son risque assez élevé de se propager, le cancer du sein inflammatoire nécessite un traitement rapide et agressif.

5.3. Les cas particuliers de cancer du sein

Outre la différenciation la plus répandue pour les différents cancers du sein selon qu'ils soient in situ ou infiltrants, on trouve également des cancers du sein qui se différencient par la présence de récepteurs par exemple ou par des critères d'hérédité.

5.3.1. Les cancers du sein hormonodépendants

Dans certains cas de cancer du sein, la croissance des cellules cancéreuses est favorisée par la présence d'hormones féminines qui sont naturellement produites par l'organisme. Ces tumeurs sont donc dites hormonosensibles. Les hormones qui rentrent en jeu dans les cancers du sein hormonodépendants sont l'œstrogène et la progestérone. Ces cancers représentent 80% de tous les cancers du sein.

Les hormones féminines permettent la transmission de signaux qui ordonnent la prolifération des cellules cancéreuses. D'une part, on trouve l'œstrogène qui a pour rôle normal d'assurer le développement et le maintien des caractères sexuels féminins secondaires de la puberté jusqu'à la ménopause. Elle permet par exemple le développement des seins ou l'augmentation du volume de l'utérus, mais elle agit également sur les os en influençant leur croissance. D'autre part, la progestérone est la deuxième hormone qui intervient, elle, dans l'établissement du cycle menstruel, en lien avec l'œstrogène. Elle a aussi un rôle pendant la grossesse où elle permet de maintenir celle-ci et de préparer les seins à la lactation. Ces deux hormones sont sécrétées principalement par les ovaires sous l'influence de l'hypothalamus et de l'hypophyse.

Ces hormones sexuelles agissent par l'intermédiaire de récepteurs hormonaux. Ce sont des protéines situées à la surface des cellules cancéreuses et qui détectent les hormones qui viennent s'y fixer. Afin de déterminer si un cancer du sein est hormonosensible ou non, un examen anatomopathologique est systématiquement réalisé après intervention chirurgicale par le prélèvement de la tumeur par biopsie. L'examen des cellules au microscope va permettre de déterminer si elles possèdent ou non des récepteurs hormonaux. Un cancer du sein est dit hormonodépendant lorsqu'au moins 10% des cellules de la tumeur possèdent des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et/ou à la progestérone (InCa, 2013).

Quand un cancer du sein se développe, les cellules du sein qui deviennent cancéreuses conservent leurs récepteurs hormonaux sur lesquels vont venir se lier l'œstrogène ou la progestérone. Cette liaison entre hormones et récepteurs va ainsi entrainer la stimulation de la croissance des cellules tumorales. Ces cancers sont également dits à récepteurs d'œstrogènes positifs. Au contraire, il existe des

cancers dont les cellules ne possèdent pas de récepteurs hormonaux, ceux-ci sont donc à récepteurs négatifs.

Le but du traitement de ce type de cancer est de stopper l'effet des hormones sur les cellules tumorales. C'est le principe de l'hormonothérapie qui bloque la liaison des hormones aux récepteurs.

5.3.2. Les cancers du sein HER2 positifs

Dans certains cancers du sein, on trouve des récepteurs particuliers qui ont une importance capitale. Certaines cellules cancéreuses en contiennent beaucoup plus que les autres, et le statut des récepteurs HER2 va être déterminant dans l'évolution du cancer. La recherche de ce statut est aujourd'hui systématique chez les femmes atteintes de cancer du sein, pour permettre d'envisager une thérapie ciblée spécifique si nécessaire et utile.

La protéine HER2 est présente de façon naturelle dans l'organisme. Il s'agit d'un récepteur transmembranaire qui se trouve à la surface des cellules mammaires et qui est impliqué dans la régulation de la prolifération cellulaire (InCa, 2013). Au cours de la croissance tumorale, le nombre de récepteurs HER2 présents à la surface des cellules cancéreuses peut augmenter anormalement, ce qui va donc entrainer l'augmentation de la croissance des cellules cancéreuses et ainsi le développement de la tumeur. Les récepteurs HER2 sont activés grâce à la fixation d'une autre protéine appelée « facteur de croissance épidermique humain ». On dit alors que ces cellules surexpriment HER2 ou qu'elles sont HER2 positives.

Le statut des récepteurs HER2 est déterminé au laboratoire, après biopsie sur un échantillon de la tumeur, par l'intermédiaire de deux techniques différentes. Le principe du test réside dans la vérification de l'existence d'une dérégulation d'un oncogène qui régit la protéine HER2 « human epidermal growth factor receptor 2 », ou récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain. La technique la plus fréquemment utilisée est la technique dite IHC qui repose sur l'immunohistochimie. En second lieu, la technique d'hybridation in situ (HIS) intervient pour confirmer ou infirmer la surexpression de HER2. Dans certains cas, les cellules cancéreuses possèdent un nombre normal de récepteurs HER2, les

cancers sont HER2 négatifs. En revanche, certains cancers possèdent un nombre de récepteurs plus élevé que la normale, ils sont alors HER2 positifs. Environ 12 à 20% des cancers du sein sont HER2 positifs. Ces cancers tendent à croître et à se propager plus activement, en raison du rôle que jouent les récepteurs HER2 supplémentaires dans la croissance cellulaire (Roche).

Les cancers HER2 positifs n'évoluent pas comme les autres cancers et leur traitement est particulier. En effet, on utilise un principe actif qui cible spécifiquement les récepteurs HER2, le trastuzumab ou Herceptin®. Celui-ci bloque les signaux d'activation qui permettent la croissance cellulaire.

5.3.3. Les cancers du sein héréditaires

Le cancer du sein est une maladie qui est parfois très répandue au sein d'une même famille. L'hérédité du cancer est un problème important que les scientifiques s'attachent à appréhender pour mieux traiter ces cancers familiaux car les femmes qui ont une histoire familiale de cancer du sein ont un risque accru d'en développer un au cours de leur vie. Pour preuve, près de 20 à 30% des cancers du sein se manifestent chez des femmes ayant des antécédents familiaux de cancer du sein, c'est-à-dire plusieurs cas de cancers du sein dans leur famille.

De manière générale, les études montrent que :

– lorsque c'est une parente au premier degré (la mère, la sœur ou la fille) qui a déjà eu un cancer du sein, en particulier si le diagnostic a été posé avant 50 ans ou avant la ménopause, le risque d'être atteint de ce type de cancer est environ deux fois plus élevé ; puis 3 fois plus élevé si deux parentes du premier degré ont déjà été atteintes ; et s'il y a plus de trois antécédents (même branche parentale, premier et deuxième degrés) le risque est au moins 4 fois plus important et fait envisager un problème génétique sous-jacent,

– lorsque ce sont des parentes au second degré (comme une grand-mère, une tante ou une nièce, d'un côté ou de l'autre de la famille) qui ont déjà été atteintes du cancer du sein, ce risque augmente légèrement.

Ces études précisent par ailleurs que le risque de développer un cancer du sein augmente d'autant plus que :

– une parente au premier degré a été atteinte d'un cancer bilatéral avant la ménopause,

– deux membres de la famille ou plus ont été atteints d'un cancer du côlon ou de l'ovaire,

– une parente a été atteinte d'un cancer du sein et d'un cancer de l'ovaire ou de plusieurs cancers différents,

– un parent de sexe masculin a été atteint du cancer du sein.

La disposition à développer un cancer du sein plus facilement que chez d'autres personnes peut être due à plusieurs facteurs comme un mode de vie particulier en commun, le hasard en fait également partie, mais la probabilité la plus fréquente au sein des cancers héréditaires est la présence d'un facteur héréditaire qui se transmet des parents aux enfants. Ce facteur est un gène muté qui va donc transmettre l'anomalie génétique à la descendance. Parmi les cancers du sein, 5 à 10% sont attribuables à une mutation génétique (Lortholary, 2001).

Certaines histoires familiales doivent faire évoquer un contexte génétique :

– au moins trois cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire chez des apparenté(e)s au premier ou deuxième degré de la même branche parentale,

– deux cas de cancer du sein chez des apparenté(e)s au premier degré dont l'un diagnostiqué avant l'âge de 40 ans, ou diagnostiqué chez un homme, ou un cas de cancer bilatéral,

– deux cas de cancer de l'ovaire ou un cancer du sein et un cancer de l'ovaire chez des apparenté(e)s au premier degré (Tardivon et Malhaire, 2009).

Il faut préciser qu'une mutation peut être aussi bien transmise par le père que par la mère, il faut donc prendre en compte les antécédents dans les deux branches familiales. De plus, l'âge de survenue d'un cancer est un critère important à prendre en compte également car un âge atypique doit faire suspecter un problème génétique sous-jacent.

Le risque de cancer du sein chez des femmes porteuses d'une prédisposition génétique atteint 70 à 80% au cours de la vie. En France, près de 1 000 décès par an sont liés à ces situations de prédispositions génétiques qui peuvent être très hétérogènes. Les recherches effectuées durant ces dernières années ont permis d'identifier un certain nombre de mutations génétiques favorisant la survenue de cancers du sein. Le plus souvent, celles-ci portent sur des gènes appelés BRCA1

(pour Breast Cancer 1 : gène 1 du cancer du sein) et le BRCA2 (pour Breast Cancer 2 : gène 2 du cancer du sein). Etre porteur d'une mutation sur l'un de ces gènes ne se traduit pas systématiquement par l'apparition d'un cancer, mais augmente le risque d'en développer un. C'est ce que l'on appelle une prédisposition génétique.

5.3.3.1. Mutations des gènes BRCA1 et BRCA2

Les deux principaux gènes identifiés responsables de la majorité des cancers du sein héréditaires sont les gènes BRCA1 et 2, qui se transmettent de façon autosomique dominante (figure 33). Les mutations sur ces deux gènes sont inactivatrices de leurs fonctions. On estime qu'environ 2 femmes sur 1 000 sont porteuses d'une mutation du BRCA1 ou du BRCA2.

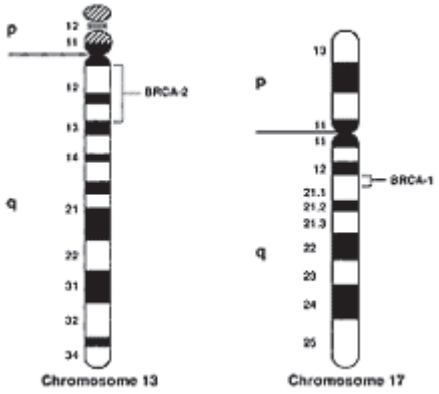


Figure 33 : Positions des gènes BRCA1 et BRCA2 sur les chromosomes 17 et 13, respectivement

(d'après Bolton *et al.*, 2012)

Ces deux gènes participent normalement à la réparation des lésions que l'ADN subit régulièrement. En effet, BRCA1, situé sur le bras long du chromosome 17, a un rôle probable de détecteur d'altérations de l'ADN, qu'il s'agisse d'altérations nucléotidiques ponctuelles, de cassure simple-brin ou de cassure double-brin. La protéine BRCA1, activée par phosphorylation, induit des modifications du cycle cellulaire et la mobilisation de protéines de réparation via une activité transcriptionnelle. BRCA2, situé sur le bras long du chromosome 13,

est impliqué de façon plus spécifique dans la réparation de cassure double-brin par recombinaison homologue ; son partenaire protéique majeur est la protéine RAD51. Un troisième gène, BRCA3, serait localisé sur le chromosome 8 (Lortholary, 2001).

Plus de 500 altérations différentes sont décrites pour le gène BRCA1 dont environ la moitié d'entre elles ne sont rapportées qu'une seule fois. La grande diversité et la dispersion des altérations du gène BRCA1 rendent difficile et lourde l'identification d'une mutation dans une famille donnée, qui va durer plusieurs mois. Lorsqu'une mutation délétère est identifiée, sa recherche chez les autres membres de la famille dans le cadre d'un test prédictif devient plus simple et plus rapide (quelques semaines).

Pour le gène BRCA2, 301 altérations différentes sont décrites (une seule fois dans 2/3 des cas). La présence d'un cancer du sein chez l'homme oriente très fortement vers une mutation BRCA2 (figure 33).

La présence de mutations dans l'un de ces deux gènes perturbe donc leurs fonctions de réparation et fait augmenter fortement le risque de cancer du sein et de l'ovaire. Néanmoins, toutes les femmes porteuses de ces mutations génétiques ne développeront pas systématiquement un jour un cancer du sein.

La mutation de ces gènes augmente le risque de développer :

- un cancer du sein à un âge jeune, habituellement avant la ménopause,
- un cancer bilatéral,
- un cancer de l'ovaire, essentiellement à partir de 40 ans (InCa, 2013).

Les altérations des gènes BRCA sont à l'origine de 65% des cas familiaux comptant au moins quatre cas survenus avant l'âge de 60 ans et appartenant à la même branche parentale. Il existe donc d'autres gènes responsables de ces prédispositions génétiques majeures.

5.3.3.2. Les autres mutations

D'autres syndromes rares de prédisposition font augmenter le risque de cancer du sein, il s'agit de la mutation de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN ou l'arrêt de la multiplication des cellules en cas de lésion au niveau de l'ADN. Il peut s'agir des gènes suivants :

– p53 : la mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Li Fraumeni. Elle confère un risque de développer un cancer du sein avant l'âge de 45 ans qui est 18 fois plus important que celui de la population générale ,

– CHEK2 (checkpoint kinase 2),

– ATM (ataxia telangiectasia mutated) : la mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes d'ataxie-télangiectasies,

– PTEN : la mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Cowden, ou maladie de Cowden caractérisée par des hamartomes multiples et une polypose intestinale. Elle expose principalement aux cancers de la thyroïde et du sein,

– STK11 (Serine/threonine kinase 11), aussi appelé LKB1 (liver kinase B1) : la mutation de ce gène est retrouvée chez les personnes atteintes du syndrome de Peutz-Jeghers (InCa, 2013).

5.3.3.3. Pronostic des cancers du sein chez les porteurs de mutations BRCA

Actuellement, aucune conclusion ne peut être portée sur le pronostic des cancers du sein associés à BRCA1 ou BRCA2, comparé aux formes sporadiques. En conséquence, il n'existe pas de raison pour envisager de traiter ces cancers de façon différente à stade égal des formes sporadiques. Il semble cependant que les cellules ayant une perte de fonction des gènes BRCA1 ou BRCA2 aient une sensibilité accrue aux rayonnements ionisants et aux chimiothérapies (Lortholary, 2001).

5.3.3.4. Hétérogénéité phénotypique

Les cancers liés à des mutations de BRCA1 ou de BRCA2 ont certaines spécificités tumorales par rapport aux tumeurs sporadiques. Ainsi les cancers « BRCA1 » présentent plus souvent un index mitotique élevé (et par-là un grade SBR III), des marges de résection atteintes et une infiltration lymphocytaire. Une histologie de type médullaire est plus fréquemment retrouvée dans les formes

BRCA1 (de l'ordre de 10% des cas liés à BRCA1 versus 1% des cas sporadiques). D'autre part, ils sont plus précoces et possèdent des récepteurs hormonaux souvent négatifs (plus de 70%). Les cancers « BRCA2 » sont également plus souvent de grade SBR II et III que les cancers sporadiques. Cette augmentation n'est pas liée à un index mitotique plus élevé mais à la moindre formation de tubules. Le taux de récepteurs hormonaux est ici comparable à celui des formes sporadiques.

Pour les cancers du sein liés à BRCA2, la survie à stade et âge égaux est identique par rapport aux formes sporadiques. Le pronostic des formes BRCA1 pourrait être par ailleurs plus réservé (Pujol, 2004).

5.3.3.5. Dépistage et recommandations pour les familles à risque

La recherche d'une mutation se fait, lorsque cela est possible, chez un membre de la famille ayant été atteint par la maladie (cas index) ; cette analyse prend alors plusieurs mois (7 mois en moyenne). Si une mutation est identifiée, elle peut être recherchée chez les autres membres de la famille à leur demande ; les résultats sont alors disponibles rapidement, sous 4 semaines environ. Dans ce contexte où une mutation génétique a été identifiée dans une famille, le risque de l'avoir transmise à sa descendance est de 50%. Ainsi, en l'absence ou dans l'attente des résultats des tests génétiques, ce pourcentage de 50% (pour les apparentées au premier degré de la personne porteuse de la mutation) est retenu pour décider de la prise en charge. En cas de tests négatifs (la mutation connue dans la famille n'est pas retrouvée chez la personne concernée), le risque redevient celui de la population générale. Cependant, dans un certain nombre de familles, aucune mutation n'est retrouvée malgré plusieurs antécédents familiaux. Dans de telles situations, on se fonde sur le degré de probabilité de prédisposition calculé en consultation pour déterminer le type de prévention ou de surveillance à mettre en œuvre.

La connaissance d'un risque familial élevé permet de mettre en place un dépistage précoce et spécifique via la consultation d'oncogénétique, chez la patiente et ensuite chez l'enfant pour repérer les éventuelles mutations délétères.

Une mammographie annuelle à partir de l'âge de 30 ans avec examen clinique des seins 2 fois par an sont recommandés. En fonction du contexte, il peut être envisagé une échographie endo-vaginale tous les 6 mois.

La chirurgie prophylactique peut être envisagée à la demande de la patiente : mastectomie bilatérale prophylactique et/ou ovariectomie bilatérale prophylactique.

Il n'existe pas encore de traitement préventif (Lortholary, 2001).

6. Les différents stades du cancer du sein

Lors du diagnostic d'un cancer du sein, les différents examens utilisés permettent de déterminer le stade du cancer, c'est-à-dire l'étendue de la maladie au moment du diagnostic. Cette stadification va permettre de savoir si le cancer est à un stade précoce, localement avancé ou bien métastatique.

Pour évaluer la propagation de la maladie, trois critères sont pris en compte : la taille et l'infiltration de la tumeur, l'atteinte ou non des ganglions lymphatiques, et la présence ou non de métastases.

La connaissance du stade du cancer permettra ensuite à l'équipe soignante de décider des meilleures options de traitement.

6.1. Les 3 critères d'évaluation

6.1.1. La taille et l'infiltration de la tumeur

Lorsque des cellules cancéreuses apparaissent, elles forment d'abord une tumeur au niveau des canaux ou des lobules du sein (carcinome in situ). Puis, progressivement, la tumeur peut traverser la membrane basale du canal ou du lobule et devenir ainsi infiltrante, ou invasive. Étudier la taille et l'infiltration de la tumeur donne donc une indication sur le degré d'évolution de la maladie (InCa, 2013).

6.1.2. L'atteinte des ganglions lymphatiques, le nombre et leur emplacement

Les cellules cancéreuses peuvent s'échapper du sein et se disséminer ailleurs. Les ganglions lymphatiques de l'aisselle (ganglions axillaires) sont les premiers à être potentiellement touchés. Lors de l'examen clinique, le médecin recherche systématiquement les ganglions anormaux en palpant les différents endroits où ils peuvent se trouver (essentiellement dans l'aisselle). Pour déterminer ou confirmer si des ganglions contiennent des cellules cancéreuses, il faut dans en second temps les analyser au microscope, après les avoir prélevés. Si des ganglions sont atteints, cela signifie que la maladie a commencé à se disséminer. Le nombre de ganglions envahis et leur emplacement permet d'en savoir plus sur le degré de propagation du cancer (InCa, 2013).

6.1.3. La présence de métastases

Les cellules cancéreuses peuvent envahir d'autres organes et y développer des métastases. Les organes les plus souvent touchés par des métastases lors d'un cancer du sein sont le foie, les os et les poumons (InCa, 2013).

6.2. Classification TNM

Les 3 critères précédents sont regroupés pour former le système de stadification le plus fréquemment utilisé : le système TNM de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) et de l'American Joint Committee on Cancer (AJCC), 7éme édition, qui est donc utilisé pour décrire l'étendue des tumeurs cancéreuses.

Les initiales TNM font référence à :

- T pour Tumor en anglais, soit tumeur,
- N pour Nodes en anglais, soit ganglions lymphatiques,
- M pour Metastases en anglais, soit métastases.

Au sein de cette classification TNM, on utilise 2 lettres supplémentaires pour distinguer le stade au moment de l'examen clinique, et après la chirurgie. L'examen clinique réalisé avant tout traitement permet de définir un stade du cancer dit stade pré-thérapeutique, on parle de classification cTNM (c pour clinique). Et après la chirurgie, l'examen anatomopathologique des tumeurs et l'analyse microscopique des ganglions prélevés permet de définir un stade du cancer dit stade anatomopathologique, on parle de classification pTNM (p pour post-chirurgical).

En fonction des caractéristiques observées lors de cet examen, une annotation par lettre ou par chiffre est portée pour T, N ou M :

- Tx (la tumeur ne peut pas être évaluée) à T4 pour la taille de la tumeur,
- Nx (l'envahissement des ganglions ne peut pas être évalué) à N3 pour le degré d'envahissement des ganglions,
- Mx (renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance), M0 et M1 pour la présence ou non de métastases à distance.

Si les caractéristiques observées lors de cet examen anatomopathologique sont différentes de celles observées lors de l'examen clinique réalisé avant tout traitement, le stade est réévalué après la chirurgie (InCa, 2013) (Société Canadienne du cancer).

6.3. Regroupement par stade UICC

Les 3 facteurs utilisés pour déterminer les différents stades du cancer sont très souvent combinés par l'UICC pour obtenir un stade d'ensemble exprimé en chiffre romain allant de 0 à IV. Les médecins utilisent cette classification pour donner une stadification du cancer, on parle par exemple de cancer de stade II.

La classification permet une meilleure compréhension du pronostic car elle permet de déterminer si le cancer est en stade avancé ou à ses débuts. En effet, un plus petit nombre indique un cancer qui en est à ses débuts et un nombre plus élevé indique un cancer plus avancé ou métastatique.

- Stade 0 : est considéré comme un état dans lequel les cellules atypiques sont localisées dans le tissu mammaire et il n'y a aucun signe qu'elles se soient propagées aux ganglions lymphatiques
- Stade 1 : la taille de la tumeur est de moins de 2 cm (environ un pouce) et elle ne s'est pas propagée aux ganglions lymphatiques environnants ou en dehors de la poitrine
- Stade 2 : le cancer du sein est divisé en deux catégories selon la taille de la tumeur et si oui ou non il s'est propagé aux ganglions lymphatiques:

– 2A : la tumeur est de moins de 2 cm de section et les ganglions lymphatiques sont affectés, ou la tumeur mesure de 2 à 5 cm sans atteinte des ganglions lymphatiques axillaires,

– 2B : la tumeur est de plus de 5 cm de section (le résultat de la recherche des ganglions lymphatiques auxiliaires est négatif pour les cellules cancéreuses) ou tumeur de 2 à 5 cm de diamètre avec la participation des ganglions lymphatiques axillaires

- Stade 3 : est également divisé en deux catégories:

– 3A : la tumeur est de plus de 5 cm, et s'est propagée aux ganglions lymphatiques axillaires, ou une tumeur de toute taille avec des métastases dans les ganglions lymphatiques axillaires, qui sont aussi attachés aux tissus environnants,

– 3B : la tumeur de toute taille avec des métastases dans la peau, muscles ou glande mammaire interne

- Stade 4 : est déterminé par la propagation du cancer à d'autres organes ou tissus, tels que le foie, les poumons, le cerveau, le système squelettique, ou les ganglions lymphatiques près de la clavicule (Société du cancer du sein du Canada).

La classification détaillée est disponible sur le site de l'HAS (HAS, 2010).

7. Les différents grades du cancer du sein

Tous les cancers du sein n'ont pas la même agressivité. C'est l'examen anatomopathologique d'un échantillon de tumeur qui permet d'évaluer le type exact de cancer et de définir son degré d'agressivité, ce qui permet d'établir une classification par grade.

Le pathologiste examine au microscope la tumeur et évalue trois paramètres morphologiques : l'architecture tumorale, la forme et la taille du noyau de la cellule et le nombre de cellules qui se divisent (ou activité mitotique) qui reflète la vitesse à laquelle les cellules cancéreuses se développent.

7.1. Les 3 critères d'évaluation

7.1.1. L'apparence des cellules cancéreuses (ou architecture cellulaire)

En devenant cancéreuse, la cellule perd progressivement sa fonction d'origine, elle se met à se développer plus rapidement que les autres et finit par changer d'apparence. On dit alors qu'elle est indifférenciée, c'est-à-dire qu'elle a perdu toutes ses caractéristiques d'origine.

Il y a plusieurs degrés de malignité. Plus une cellule cancéreuse ressemble aux cellules normales (elle est dite alors bien différenciée), moins elle est agressive. Plus une cellule s'est modifiée par rapport aux cellules normales (elle est alors indifférenciée), plus elle agressive (InCa, 2013).

7.1.2. La forme du noyau

Lorsque la cellule devient maligne, le noyau peut changer de taille et de forme (InCa, 2013).

7.1.3. Le nombre de cellules en division

Plus une cellule cancéreuse se développe vite, plus elle se divise rapidement et plus le risque de propagation du cancer dans l'organisme augmente. Ce critère est étroitement lié au nombre de cellules qui se divisent. L'aspect microscopique d'une cellule qui se divise (on dit aussi qui est en mitose) est caractéristique. Le pathologiste va compter, sur une surface définie, le nombre de cellules qui se divisent (InCa, 2013).

Chacun de ces 3 critères est évalué et une note allant de 1 à 3 lui est attribué (tableau 2).

Tableau 2 : Notation des critères d'évaluation du grade du cancer du sein

CRITÈRE	NOTE 1	NOTE 3
Architecture	La tumeur contient beaucoup de structures bien formées.	La tumeur contient peu ou pas du tout de structures bien formées.
Noyau	Les noyaux de la tumeur sont petits et uniformes.	Les noyaux de la tumeur sont gros et leur taille et leur forme varient.
Activité mitotique	Les cellules de la tumeur se divisent lentement = faible nombre de mitoses.	Les cellules de la tumeur se divisent rapidement = important nombre de mitoses.

7.2. Les grades du cancer du sein

Le grade d'un cancer correspond à la somme des notes obtenues pour chacun des trois critères. On obtient ainsi un score global classé de I à III qui correspond au grade histo-pronostique d'Elston-Ellis. Lorsqu'on obtient les scores 3, 4 et 5, on parle de grade I; pour des scores de 6 et 7, on parle de grade II et pour des scores de 8 et 9, on parle de grade III.

De manière générale :

- le grade I correspond aux tumeurs les moins agressives,
- le grade III correspond aux tumeurs les plus agressives,
- le grade II est un grade intermédiaire entre les grades I et III.

Sur les comptes rendus d'examen qui sont remis par le médecin, le grade est souvent exprimé par la lettre G ou SBR (Scarff Bloom Richardson), suivie des chiffres I, II ou III. Le grade peut aussi être exprimé en termes de « bas grade » pour les tumeurs les moins agressives et « haut grade » pour les tumeurs les plus agressives (InCa, 2013).

8. Les traitements classiques du cancer du sein

Il existe différents types de traitement régulièrement utilisés dans les protocoles thérapeutiques du cancer du sein. Les médecins privilégient telle ou telle méthode selon certains facteurs qui influencent l'évolution de la tumeur ainsi

que sa réponse aux thérapeutiques, comme la taille, la localisation, et le stade de la tumeur. Les tests de détection des récepteurs hormonaux par exemple sont aussi très importants dans la prise de décision car ils ont une valeur pronostique et permettent de prédire l'effet du traitement.

Les objectifs des traitements du cancer du sein peuvent être diverses :

– supprimer la tumeur ou les métastases, c'est le principe de la chirurgie qui se fait généralement en début de protocole,

– réduire le risque de récidive, c'est ce qu'on appelle un traitement adjuvant en plus de la chirurgie afin de bloquer la croissance d'éventuelles cellules cancéreuses restantes. On peut trouver par exemple la chimiothérapie, la radiothérapie ou encore des traitements médicamenteux,

– ralentir le développement de la tumeur ou des métastases, par un traitement néo-adjuvant, avant la chirurgie afin de réduire sa taille et augmenter par conséquent l'impact de la chirurgie. On utilise les mêmes techniques que pour un traitement adjuvant,

– améliorer le confort et la qualité de vie de la personne malade en traitant les effets secondaires engendrés par la maladie et les traitements utilisés. Ces médicaments ne seront pas détaillés ici car nous nous intéressons aux traitements curatifs (InCa, 2013).

Le choix du traitement pour un malade s'effectue en concertation avec les médecins et l'équipe soignante qui l'entoure.

Nous allons expliquer les différents traitements utilisés : la chirurgie, la radiothérapie, l'hormonothérapie et la chimiothérapie.

8.1. Les traitements locorégionaux

Parmi les différents types de traitement du cancer du sein, on trouve les traitements qui sont dits locorégionaux, c'est-à-dire que leur intervention se manifeste à un endroit localisé du corps, en l'occurrence ici au niveau de la tumeur. La chirurgie et la radiothérapie en font partie.

8.1.1. La chirurgie

La chirurgie reste une étape très importante dans les protocoles de traitement du cancer du sein. Elle est le plus souvent réalisée en premier dans le but d'éliminer les tissus atteints par les cellules cancéreuses. Elle pourra ensuite être suivie par d'autres traitements comme une chimiothérapie ou autre. Et elle est parfois précédée d'un traitement dit néo-adjuvant qui permet de réduire la taille de la tumeur afin de faciliter l'intervention.

La chirurgie mammaire peut être de deux types :

– soit une chirurgie conservatrice ou tumorectomie ou encore segmentectomie,

– soit une chirurgie non conservatrice encore appelée mastectomie (InCa, 2013).

8.1.1.1. Le choix du type de chirurgie

Le choix du type de chirurgie qui sera utilisé pour le retrait de la tumeur dépend de deux critères très importants : les raisons médicales et les préférences de la patiente (Centre Léon Bérard).

En premier lieu, ce sont bien sûr les caractéristiques de la tumeur qui permettent de donner un avis sur le type de chirurgie qui pourra être choisi. La chirurgie conservatrice n'est envisageable que lorsque la tumeur est unique (ou lorsque les deux foyers sont proches) et suffisamment petite pour permettre d'enlever celle-ci avec une marge de tissu sain autour tout en gardant un résultat esthétique satisfaisant. Il faut également tenir compte du risque de récidive qui n'est en général pas plus élevé lors d'une tumorectomie. En revanche, si la tumeur est multiple à différents endroits du sein et de plus si elle est d'une taille assez importante, on envisagera dans ce cas-là une mastectomie totale.

D'autre part, l'autre critère très important réside dans les préférences de la patiente. En effet, lorsque le choix entre une chirurgie conservatrice ou non est possible médicalement, la préférence de la patiente est un argument important dans la décision finale. Grace aux informations données par le médecin, les avantages et inconvénients peuvent être pesés et l'intervention chirurgicale est en

général toujours mieux vécue par la patiente lorsqu'elle a pu participer à la décision thérapeutique (InCa, 2013).

8.1.1.2. La chirurgie conservatrice

La chirurgie mammaire conservatrice consiste à retirer la tumeur ainsi qu'une marge suffisante de tissus sains qui l'entourent, appelée marge chirurgicale, de façon à conserver la plus grande partie du sein et à éliminer le maximum de cellules cancéreuses (figure 34) (Gustave Roussy, 2014). C'est cette technique qui sera privilégiée dans la mesure du possible car elle entraine moins de changements physiques.

Il existe deux grands types de chirurgie conservatrice : la tumorectomie (encore appelée zonectomie) et la quadrantectomie (encore appelée exérèse locale élargie ou mastectomie segmentaire) (InCa, 2013). La différence entre ces deux types de chirurgie correspond notamment au volume de glande mammaire enlevé :

– on parle de tumorectomie lorsque la lésion est palpable alors que la zonectomie correspond à une lésion non palpable mais identifiée lors des examens radiologiques (grâce au repérage mammaire),

– la quadrantectomie intéresse une zone plus large de glande mammaire correspondant environ à un quadrant du sein, elle est donc réservée à des lésions plus étendues.

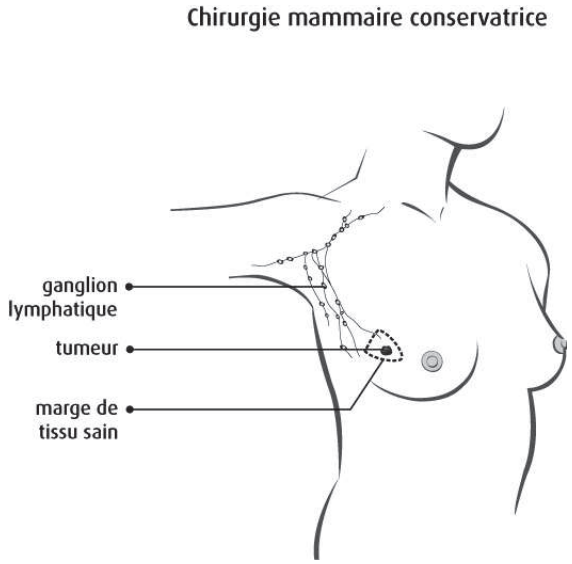


Figure 34 : Représentation schématique de la chirurgie conservatrice

Avant l'intervention, il faut repérer avec précision l'anomalie pour que le chirurgien retrouve facilement la tumeur et retire le moins de tissu sain possible. Pour ce faire, on procède donc à un repérage de la tumeur, soit par simple marquage sur la peau à l'encre, en face de la tumeur, ou bien si celle-ci n'est pas palpable, on place un fil métallique très fin au niveau de la tumeur à l'intérieur du sein, inséré à l'aide d'une petite aiguille (Gustave Roussy, 2014).

Sous anesthésie, le chirurgien pratique une incision tout près de la tumeur pour l'enlever avec une marge de sécurité autour. Dans le cas d'un cancer infiltrant, on enlèvera les ganglions sentinelles lors de la même intervention. La plaie est ensuite refermée avec des points de suture ou des agrafes.

L'avantage de cette technique est de garder intacte une bonne partie du sein.

La tumorectomie est toujours accompagnée d'une radiothérapie pour détruire les cellules cancéreuses qui pourraient être restées dans le sein en périphérie de ce qui a été retiré.

8.1.1.3. La chirurgie non conservatrice ou mastectomie

La chirurgie mammaire non conservatrice consiste à retirer la totalité du sein affecté, y compris l'aréole et le mamelon. Dans le cas où le cancer est de type

infiltrant, il est également nécessaire de supprimer tout ou une partie des ganglions lymphatiques axillaires.

Il existe deux types de chirurgie mammaire non conservatrice : la mastectomie totale, appelée aussi mastectomie simple, et la mastectomie radicale modifiée.

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe certaines situations où la chirurgie conservatrice ne peut pas être envisagée, comme dans le cas de tumeurs trop volumineuses, ou encore quand il y en a plusieurs à des endroits opposés du sein. La mastectomie est alors indiquée.

La mastectomie totale consiste à enlever le sein avec son mamelon, ainsi que le revêtement des muscles du thorax. Cependant, les ganglions lymphatiques, les nerfs et les muscles du thorax sont laissés en place (figure 35). Cette technique est envisageable quand le cancer est à un stade précoce in situ et que les ganglions ne sont pas touchés (InCa, 2013).

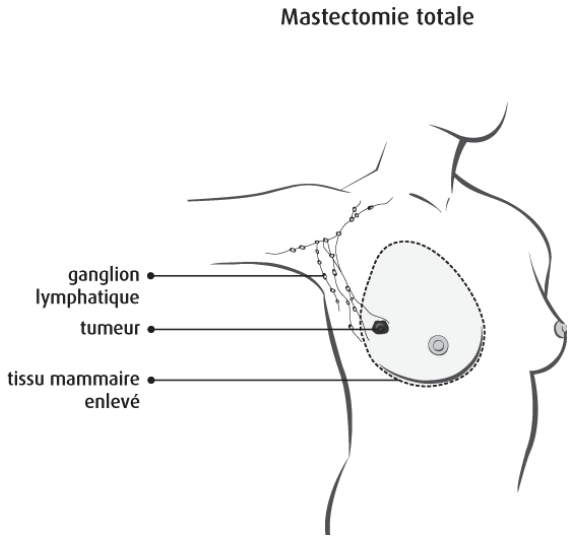


Figure 35 : Représentation schématique de la mastectomie totale

La mastectomie radicale modifiée est basée sur le même principe que la mastectomie totale, à la différence que dans ce cas de figure, certains ganglions lymphatiques au niveau de l'aisselle sont retirés (figure 36). Ils seront analysés pour savoir s'ils contiennent des cellules cancéreuses. Cette information permet de

déterminer le degré d'extension du cancer du sein et va ainsi déterminer un traitement adapté (InCa, 2013).

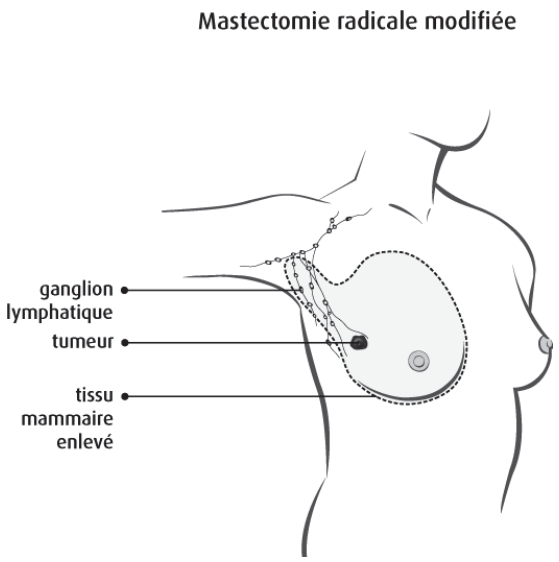


Figure 36 : Représentation schématique de la mastectomie radicale modifiée

Il existe deux techniques pour enlever les ganglions axillaires : l'exérèse des ganglions sentinelles ou le curage axillaire. L'exérèse consiste à enlever le ou les premiers ganglions lymphatiques de l'aisselle les plus proches de la tumeur, sous anesthésie générale grâce à une injection de colorant bleu qui permet de les repérer. Si les ganglions ne sont pas atteints par les cellules cancéreuses, on parle de ganglions négatifs. En revanche, si on détecte la présence de cellules cancéreuses, les ganglions sont dits positifs et dans ce cas, le curage axillaire est envisagé. Il consiste à retirer un ensemble de ganglions lymphatiques, environ 8 ou 10, pour éviter le risque de récidive du cancer (InCa, 2013).

Bien que la mastectomie implique l'altération physique de la poitrine, la chirurgie permet aujourd'hui la reconstruction du sein. Elle peut être soit immédiate en même temps que l'intervention qui vise à enlever la tumeur, ou bien différée. Différentes techniques sont possibles, comme l'implantation de prothèse interne ou encore la reconstruction par lambeau de peau.

8.1.2. La radiothérapie

La radiothérapie est l'une des principales formes de traitement du cancer du sein. Elle utilise des rayonnements ionisants (rayons X) à haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier. Les radiations sont dirigées précisément sur la zone à traiter dans un périphérique précis pour préserver le mieux possible les tissus sains et les organes avoisinants. Cette technique est destinée à diminuer les risques de récidive locale du cancer (Fondation Canadienne du cancer du sein).

On distingue deux types de radiothérapie :

– la radiothérapie externe réalisée grâce à un appareil qui émet des rayons à distance du corps,

– la radiothérapie interne, encore appelée curiethérapie. Dans ce cas, une substance radioactive est insérée directement dans la tumeur ou dans la zone initiale si elle a été enlevée, à l'intérieur du corps (InCa, 2013).

8.1.2.1. Le choix de la radiothérapie

Le choix de la radiothérapie se fait en fonction du stade du cancer et des traitements déjà réalisés auparavant.

Quand il s'agit d'un cancer du sein in situ ou infiltrant, et qu'une tumorectomie a déjà été réalisée, la radiothérapie est quasiment toujours réalisée à la suite de la chirurgie. Dans ce cas, c'est une radiothérapie adjuvante qui a pour but de détruire toutes les cellules cancéreuses qui seraient encore présentes dans le sein après la chirurgie afin de diminuer le risque de récidive. Il existe des cas où la tumeur est très volumineuse, dans ces cas précis, la radiothérapie peut être utilisée en traitement dit néo-adjuvant, avant la chirurgie, pour réduire la taille de la tumeur et par conséquent faciliter l'intervention.

Lorsqu'une chirurgie non conservatrice a déjà été effectuée, la radiothérapie est discutable. En règle générale, l'irradiation de la paroi thoracique est uniquement indiquée pour les cancers infiltrants en présence de facteurs de risque de récidive. Elle est aussi indiquée en cas de tumeur qui mesurait plus de 5 cm, ou

si celle-ci était localisée dans la partie interne du sein. La radiothérapie est réalisée de préférence avant la reconstruction du sein.

Pour certains cancers du sein métastatiques, une radiothérapie du sein peut être envisagée pour freiner l'évolution de la tumeur. La radiothérapie est également utilisée pour traiter des métastases cérébrales ou osseuses (InCa, 2013).

L'irradiation peut également traiter les régions proches du sein, comme l'aisselle ou le cou dans le cas où les ganglions sont atteints. Les récidives étant plus élevées dans ces cas, c'est une bonne façon de diminuer ce risque.

8.1.2.2. Principe de la radiothérapie

La radiothérapie consiste à envoyer des rayons X (photons et/ou électrons) d'intensité élevée sur une zone délimitée du corps, en l'occurrence ici au niveau du sein et des ganglions. Ces rayonnements ionisants vont casser les brins d'ADN du noyau des cellules tumorales, les empêchant ainsi de se multiplier et provocant donc leur apoptose. La croissance de la tumeur s'arrête et le risque de récidive locale du cancer est diminué (CHU de Québec).

L'exposition des rayons X est limitée le plus possible à une région du sein bien délimitée pour éviter l'irradiation des organes avoisinants, comme le poumon ou le cœur. Quelques cellules aux alentours sont quand même inévitablement détruites également.

Pour un cancer du sein, quatre zones du corps peuvent être traitées par radiothérapie :

- la glande mammaire (après chirurgie conservatrice),
- le lit tumoral, c'est-à-dire la région du sein où se trouvait la tumeur avant l'intervention chirurgicale (après chirurgie conservatrice),
- la paroi thoracique (après chirurgie non conservatrice),
- les ganglions de la chaine mammaire interne et ceux situés au-dessus de la clavicule (dits sus-claviculaires) et ce quel que soit le type de chirurgie (InCa, 2013).

8.1.2.3. La radiothérapie externe

La radiothérapie externe est le type de radiothérapie le plus courant. Un accélérateur de particules produit des rayonnements ionisants qui sont dirigés vers la zone à traiter, à travers la peau. Ce traitement ne nécessite pas d'hospitalisation, il est réalisé dans un centre spécialisé.

Avant le début du traitement, il y a toujours un laps de temps car il faut d'abord déterminer l'endroit précis d'irradiation ainsi que la distribution de la dose, ou dosimétrie. Le repérage se fait à l'aide d'un scanner pendant lequel la tumeur est localisée précisément ainsi que la position de la patiente. Un marquage sur la peau est effectué, semblable à un tatouage, et des contentions spéciales sont réalisées pour permettre de retrouver la même position lors de chaque séance. Grâce à des outils informatiques, la distribution de la dose à appliquer sur la zone à traiter est calculée (CHU de Québec).

Le nombre total de séances ainsi que le rythme hebdomadaire sont adaptés à chaque cas mais dans la majorité des cas, la radiothérapie est débutée 2 à 3 semaines après le traitement chirurgical, à raison d'une séance par jour, 5 jours par semaine durant trois à six semaines en moyenne (Centre Léon Bérard). Une séance ne dure que quelques minutes. La dose de rayons en radiothérapie est exprimée en gray (abrégé en Gy), du nom d'un physicien anglais. 1 Gy correspond à une énergie de 1 joule absorbée dans une masse de 1 kilo.

La séance se déroule dans une salle adaptée. L'appareil tourne autour du patient sans jamais le toucher, et celui-ci ne ressent aucune sensation, c'est indolore (figure 37).

Figure 37 : Appareil de radiothérapie externe

8.1.2.4. La radiothérapie interne ou curiethérapie

La curiethérapie est la deuxième méthode de radiothérapie, mais elle est peu fréquemment utilisée dans le cas du cancer du sein. Cette technique utilise également des radiations pour détruire les cellules cancéreuses. Cependant, dans ce cas, la source radioactive est représentée par des petites pastilles qui sont introduites directement à l'intérieur du corps, au contact de la zone à traiter. Les radiations sont donc émises directement à l'endroit de la tumeur (CHU de Québec).

La curiethérapie est souvent utilisée après une chirurgie conservatrice, et après une radiothérapie externe. Le but de ce processus est de donner une dose supplémentaire dans la zone opérée, on appelle ça un « boost ».

Les particules de radiation sont insérées dans la région du sein à traiter à l'aide de cathéters ou tubes vecteurs qui sont mis en place sous anesthésie avant les séances (figure 38). Ils resteront en place pendant toute la durée du traitement. Ensuite, comme pour la radiothérapie externe, les modalités de traitement ainsi que la dosimétrie sont programmés. Le traitement peut alors démarrer. Il existe trois modes de curiethérapie, selon l'activité de la source et le déroulement de l'irradiation. On distingue donc la curiethérapie à bas débit de dose continu, la curiethérapie à bas débit à dose pulsée, et la curiethérapie à haut débit de dose, dont les deux premières sont le plus souvent utilisées pour le cancer du sein. Dans

tous les cas, c'est l'iridium 192 qui est utilisé car il dégage une faible énergie et est de ce fait rapidement absorbé. A la fin du traitement, les cathéters sont retirés.

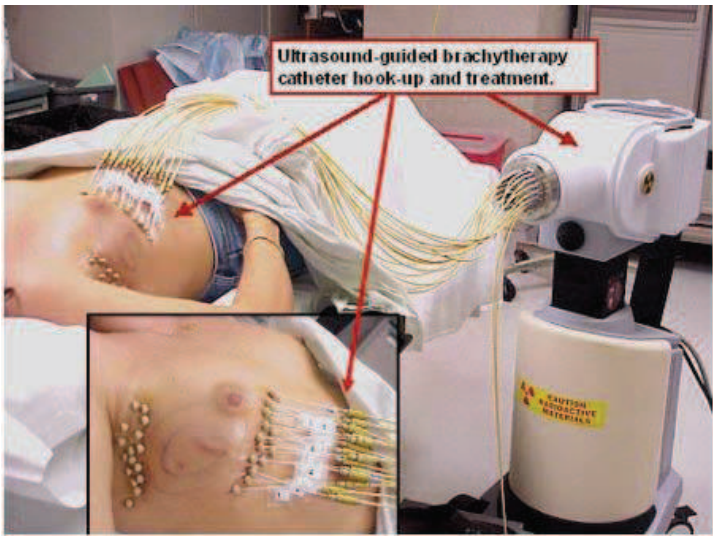


Figure 38 : Séance de curiethérapie montrant les tubes vecteurs insérés dans le sein

8.1.2.5. Limitation de la radioexposition

Les effets des radiations se cumulent dans l'organisme avec le temps. Par conséquent, plusieurs traitements répétés par radiothérapie peuvent être déconseillés car la radioexposition totale d'une personne est limitée (Fondation Canadienne du cancer du sein).

8.2. Les traitements systémiques

Contrairement aux traitements locorégionaux qui ciblent précisément la tumeur, les traitements systémiques, comme leur nom l'indique, utilisent des mécanismes d'action qui vont agir au niveau systémique. Ce sont des traitements qui sont administrés par voie orale ou par voie veineuse, ils vont donc atteindre différentes parties de l'organisme et pas uniquement les cellules cancéreuses, au

risque donc de détruire quelques cellules saines. Dans cette catégorie, on trouve la chimiothérapie et l'hormonothérapie.

8.2.1. La chimiothérapie

La chimiothérapie est un des traitements du cancer à base de médicaments anti-cancéreux que l'on appelle des antinéoplasiques. Ce type de traitement est administré par voie intraveineuse dans la majorité des cas, ou par voie orale, c'est donc un traitement systémique qui va agir sur l'ensemble du corps. En effet, le médicament est transporté par les vaisseaux sanguins jusqu'aux cellules cancéreuses quelle que soit leur localisation dans le corps, même si elles sont isolées et non détectables aux examens de diagnostic, et va les détruire. Il existe plusieurs antinéoplasiques qui ont des mécanismes d'action différents mais le but principal de ces médicaments est d'agir sur la division cellulaire en interférant avec la synthèse de l'ADN des cellules cancéreuses. Les médicaments de chimiothérapie peuvent être utilisés seuls ou en association.

8.2.1.1. Principe de la chimiothérapie

La chimiothérapie est un traitement systémique qui vise à tuer les cellules cancéreuses. Pour ce faire, l'action des médicaments utilisés est basée sur une altération de l'ADN de ces cellules, à différentes étapes de la croissance et de la division cellulaire (Société du cancer du sein du Canada). Le blocage de ces étapes clés va entrainer un arrêt de la multiplication des cellules tumorales qui vont donc être détruites.

Le problème est que ce traitement est également toxique pour les cellules saines, en particulier pour celles qui se renouvellent rapidement, comme dans la moelle osseuse, le tube digestif ou les phanères (cheveux). Cela explique les effets secondaires plus marqués pour ces organes.

8.2.1.2. Indications de la chimiothérapie

La chimiothérapie n'est pas proposée de façon systématique à toutes les patientes atteintes d'un cancer du sein. Les critères principaux de choix d'une chimiothérapie sont le stade du cancer au moment du diagnostic ainsi que les facteurs de risque de récidive.

Si l'on détermine le choix en fonction du stade, en ce qui concerne les cancers infiltrants, la chimiothérapie peut être nécessaire et elle est utilisée soit avant ou après le traitement par chirurgie. On trouve donc deux séquences de traitement :

– la chimiothérapie adjuvante : c'est la chimiothérapie qui est utilisée après la chirurgie. Son but est de détruire d'éventuelles cellules tumorales résiduelles et non détectables qui n'auraient pas pu être supprimées lors de la chirurgie de la tumeur et qui seraient encore présentes dans le corps. Cette technique est très souvent mise en place afin de diminuer le risque de rechute du cancer et d'améliorer les chances de guérison. La diminution du risque de rechute peut varier selon les cas de 5 à plus de 50%,

– la chimiothérapie néo-adjuvante : elle est administrée avant la chirurgie. C'est une situation moins fréquente qui a pour but de réduire la taille de la tumeur trop volumineuse pour être opérée d'emblée, pour pouvoir permettre par la suite d'effectuer une chirurgie conservatrice. La réduction du risque de rechute est aussi un objectif. Elle peut également être prescrite an cas de tumeur inflammatoire.

Pour les cancers présentant des métastases, le traitement repose principalement sur des médicaments : une chimiothérapie, éventuellement associée à une thérapie ciblée et/ou hormonothérapie. L'objectif est de stabiliser l'évolution de la maladie et d'améliorer la qualité de vie.

L'envahissement ganglionnaire est également un critère important d'instauration d'une chimiothérapie. Lorsque les ganglions sont négatifs, un certain nombre d'autres critères sont pris en compte. Si le risque de récidive est faible, on n'utilisera pas de chimiothérapie car les effets indésirables seraient plus importants que les bénéfices escomptés. En revanche, chez les femmes à risque plus élevé, la décision de recevoir la chimiothérapie peut être discutée avec l'oncologue afin de déterminer si les bénéfices dépassent les effets secondaires

possibles du traitement. D'autre part, lorsque les ganglions sont positifs, la chimiothérapie s'impose.

En plus du stade du cancer, d'autres critères rentrent en compte :

- l'état général,
- l'âge,
- les préférences,
- les antécédents chirurgicaux,
- les traitements antérieurs,
- la taille de la tumeur,
- le grade,
- l'expression des récepteurs hormonaux (InCa, 2013).

8.2.1.3. Médicaments utilisés

Il existe un très grand nombre de médicaments utilisés en chimiothérapie. On trouve par exemple :

- le docétaxel (famille des taxanes) administré en intraveineux,
- la doxorubicine (famille des anthracyclines) administrée en intraveineux,
- l'épirubicine (famille des anthracyclines) administrée en intraveineux,
- le 5 fluoro-uracile (appelé aussi 5-FU) administré en intraveineux,
- le méthotrexate administré en intraveineux,
- le paclitaxel (famille des taxanes) administré en intraveineux,
- les anthracyclines administrées en intraveineux,
- la capécitabine administrée sous forme de comprimés par voie orale,
- le cyclophosphamide administré sous forme de comprimés par voie orale ou en intraveineux,
- l'éribuline administré en intraveineux,
- la gemcitabine (en association au paclitaxel) administrée en intraveineux,
- la vinorelbine administrée en intraveineux,
- la capécitabine administrée par voie orale (InCa, 2013).

Le plus souvent, plusieurs médicaments sont associés, on parle alors de poly-chimiothérapie ou de protocole de chimiothérapie selon un calendrier et des doses précis. L'addition des différents mécanismes anti-cancéreux propres à chaque

médicament permet d'augmenter l'efficacité des produits. De très nombreuses associations sont donc utilisées. Les médecins utilisent souvent les initiales des molécules ou de leurs noms commerciaux pour former un acronyme. À titre d'exemple, le protocole FEC associe 5-FU (F), épirubicine (E) et cyclophosphamide (C).

Voici un aperçu des combinaisons utilisées :

- AC (doxorubicine et cyclophosphamide),
- AC +T (doxorubicine et cyclophosphamide suivi de paclitaxel),
- FEC (fluorouracil, epirubicine et cyclophosphamide),
- FAC (fluorouracil, doxorubicine et cyclophosphamide),
- TAC (docetaxel, doxorubicine et cyclophosphamide),
- EC (epirubicine et cyclophosphamide),
- CMF (cyclophosphamide, methotrexate et fluorouracil),
- FEC + D (fluorouracil, epirubicine et cyclophosphamide suivi de docetaxel),
- TC (Taxotère (ou docetaxel) et cyclophophamide) (CHU de Québec).

8.2.1.4. Déroulement de la chimiothérapie

Le déroulement de la chimiothérapie est soigneusement planifié par l'équipe médicale en fonction de la situation du patient. Le médecin qui prend en charge remet un calendrier qui détermine le lieu et les jours de traitement, ainsi que les noms des médicaments utilisés ou le nom du protocole.

L'administration répétée des médicaments dans les petites veines peut être difficile et toxique, et même douloureux. On procède donc à la pose d'une chambre implantable reliée à un cathéter mis en place avant le début du traitement et qui servira aux injections dans une voie centrale. La pose se fait sous anesthésie locale. Il existe plusieurs types de chambres utilisées, le plus courant est le port-à-cath ou PAC qui est un boitier relié à un cathéter inséré sous la peau en haut du thorax (figure 39). On trouve également le picc-line qui est un cathéter inséré dans une veine périphérique profonde du bras (figure 40). Les médicaments seront donc injectés directement dans la chambre à l'aide d'une aiguille.

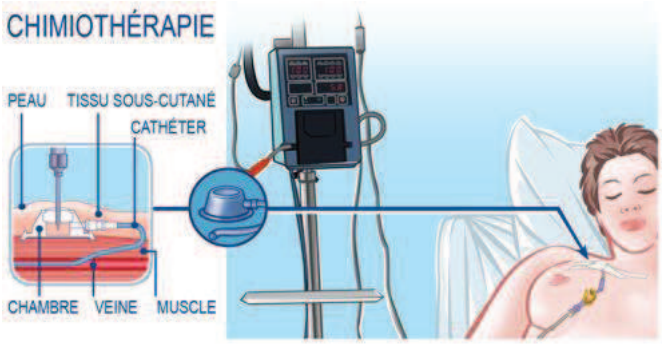


Figure 39 : Mise en place de la chimiothérapie avec PAC

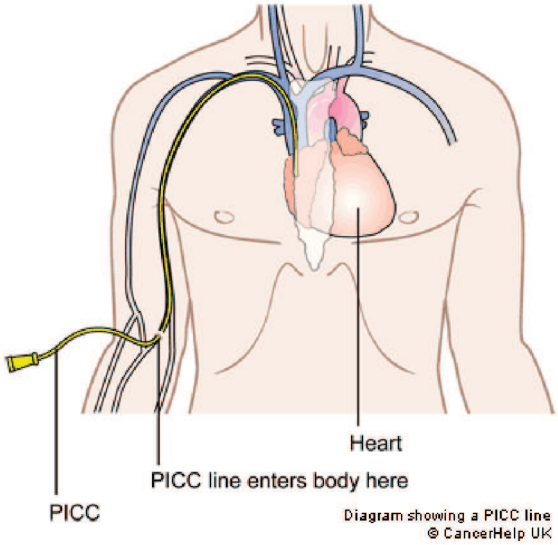


Figure 40 : Mise en place de la chimiothérapie avec picc-line

La chimiothérapie ne nécessite pas d'hospitalisation, les injections sont faites généralement en ambulatoire car elles durent quelques heures et le patient peut ensuite retourner à son domicile, sauf en cas de fatigue importante ou de soins particuliers. La durée totale du traitement et leur mode d'administration sont variables mais le principe général d'administration reste toujours le même. Il se présente sous forme de cures, qui sont les séances de perfusion, qui sont à chaque fois suivies par une période de repos qui permet au corps de récupérer. Le jour de la première administration de la chimiothérapie est considéré comme le jour numéro 1 qui est donc suivi d'une période de repos : en tout, le cycle combinant l'unique jour de soin plus le repos dure habituellement 21 jours. De manière générale, la chimiothérapie comprend 4 à 8 cycles qui s'étalent sur une période de 3 à 6 mois (Institut Gustave Roussy).

Avant chaque cure, des examens sont réalisés pour vérifier si l'état du patient permet de poursuivre le traitement. En cas d'anomalies, le traitement est remis à plus tard.

Pendant la perfusion, le malade est installé dans un fauteuil ou un lit. La séance dure une demi-journée environ, de 1 à 4 heures. A noter qu'il existe également maintenant de la chimiothérapie par comprimé où le patient a donc plus de liberté, c'est la chimiothérapie orale.

Un suivi personnalisé est bien sûr mis en place tout au long du traitement pour vérifier la bonne tolérance des médicaments et l'état général du patient. A la fin du traitement, la chambre implantable est retirée sous anesthésie locale (InCa, 2013).

8.2.2. L'hormonothérapie

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, il existe des hormones féminines qui jouent un rôle important dans le développement du système reproducteur et dans celui des organes féminins, qui sont l'œstrogène et la progestérone. Ces deux hormones possèdent également une place primordiale dans la croissance tumorale si le cancer du sein est dit hormonosensible. Comme expliqué plus haut, certains cancers sont dits à récepteurs hormonaux négatifs, dans ce cas l'hormonothérapie n'a aucun bienfait. En revanche, lorsque le cancer est à récepteurs hormonaux positifs, la présence d'œstrogène favorise la croissance des cellules cancéreuses et l'hormonothérapie s'avère alors utile.

Le but du traitement dans ces circonstances est de stopper l'effet de l'œstrogène sur ces cellules pour ralentir la croissance tumorale. C'est le rôle de l'hormonothérapie. En effet, l'hormonothérapie utilise des médicaments qui empêchent l'action stimulante des hormones féminines sur les cellules cancéreuses et elle vise également à réduire le risque de récidive du cancer. Cette technique est généralement administrée après les autres types de traitements.

On distingue deux types d'hormonothérapie :

– les traitements médicamenteux qui agissent par voie générale : parmi eux on trouve les anti-œstrogènes, les inhibiteurs de l'aromatase et les agonistes de la LH-RH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone),

– les traitements non médicamenteux qui consistent à stopper la production d'œstrogènes par les ovaires en les retirant par intervention chirurgicale appelée suppression ovarienne ou en les irradiant (InCa, 2013).

8.2.2.1. Indications de l'hormonothérapie

Cela parait évident, le traitement par hormonothérapie est proposé uniquement si le cancer du sein est hormonosensible. Les bénéfices attendus sur le risque de rechute sont aussi pris en compte.

On différencie ici deux types d'indication de l'hormonothérapie. D'une part, l'hormonothérapie adjuvante qui est proposée en complément de la chirurgie, notamment dans le cas de cancers infiltrants localisés ou non métastatiques, qui est prescrite habituellement pour une période de 5 ans. Dans ce cas, l'objectif du traitement est de diminuer le risque de récidive locale du cancer mais aussi de généralisation (InCa, 2013). D'autre part, on peut mettre en place une hormonothérapie néo-adjuvante, c'est-à-dire qu'elle est instaurée avant la chirurgie. L'objectif ici est de réduire la taille de la tumeur trop volumineuse afin de pouvoir ensuite réaliser une chirurgie conservatrice.

Attention à ne pas confondre hormonothérapie, qui est en fait un traitement antihormones et traitement hormonal substitutif (THS) qui remplace les hormones pendant la ménopause !

8.2.2.2. Choix du type d'hormonothérapie

Le type d'hormonothérapie qui sera proposé à la patiente ainsi que les doses administrées varient d'une personne à l'autre mais le choix va se faire principalement en fonction de l'état hormonal, c'est-à-dire si la patiente est ménopausée ou non. D'autres critères interviennent comme l'âge ou les antécédents de problème de coagulation par exemple.

D'une manière générale, chez la femme non ménopausée, on utilise les anti-œstrogènes ou les agonistes de la LH-RH. Pour une femme ménopausée, on proposera plutôt les anti-aromatases et les anti-œstrogènes.

8.2.2.3. Les traitements médicamenteux

✓ **Les anti-œstrogènes**

Les anti-œstrogènes empêchent les œstrogènes de stimuler les cellules cancéreuses en prenant leur place au niveau des récepteurs hormonaux ou en abîmant ces récepteurs. En effet, ces médicaments entrent en compétition avec les œstrogènes au niveau des récepteurs hormonaux. La sécrétion des hormones féminines n'est pas supprimée, cependant, les anti-œstrogènes prennent la place des hormones au niveau des récepteurs, ce qui bloque la transmission des signaux permettant la stimulation de la croissance des cellules tumorales potentiellement encore présentes dans l'organisme et susceptibles de continuer à se développer après une chirurgie. Ces traitements ont donc pour rôle de prévenir également le risque de récidive du cancer (Fondation Canadienne du cancer du sein).

Il existe deux types d'anti-œstrogènes :

– les SERM (de l'anglais « Selective Estrogen Receptor Modulators ») entrent en compétition avec les œstrogènes en prenant leur place au niveau des récepteurs hormonaux, les empêchant ainsi d'exercer leur effet sur les cellules cancéreuses. Les SERM utilisés pour le cancer du sein sont le tamoxifène et le toremifene. Ces médicaments se prennent sous forme de comprimés,

– les SERD (de l'anglais « Selective Estrogen Receptor Degradation ») agissent sur les récepteurs hormonaux des cellules en les abîmant et empêchent de cette façon les œstrogènes d'exercer leur effet sur les cellules cancéreuses. La molécule commercialisée en France s'appelle le fulvestrant. Il est administré sous forme liquide par injection intramusculaire (InCa, 2013).

Le médicament le plus courant et le plus utilisé des anti-œstrogènes est le tamoxifène, plus connu sous le nom commercial de Nolvadex®. Il est prescrit à raison d'un comprimé par jour pendant 5 ans (Institut Gustave Roussy). Ce médicament a fait ses preuves sur de nombreux patients.

✓ **Les anti-aromatases**

Les inhibiteurs de l'aromatase n'agissent pas sur les récepteurs hormonaux mais ils empêchent la fabrication des œstrogènes. Ils sont utiles uniquement chez la femme ménopausée. En effet, avant la ménopause, l'aromatase n'intervient pas dans le processus de fabrication des hormones car les œstrogènes sont produits directement en majorité par les ovaires. Cependant, après la ménopause, les ovaires cessent leur production et ce sont les tissus adipeux et autres du corps qui prennent le relai pour la fabrication à partir d'autres hormones appelées androgènes. C'est ici qu'entre en jeu l'aromatase qui transforme les androgènes en œstrogènes (Fondation Canadienne du cancer du sein).

Les anti-aromatases sont donc des médicaments qui entrent en compétition avec l'enzyme aromatase. Les androgènes ne peuvent donc plus se fixer à l'enzyme pour se transformer (figure 41). Par conséquent, la production d'œstrogènes diminue et la stimulation des récepteurs hormonaux s'en voit affaiblie également. La croissance des cellules cancéreuses est donc arrêtée (CHU de Québec).

Les médicaments les plus utilisés sont le létrozole (Fémara®), l'anastrozole (Arimidex®) et l'exémestane (Aromasine®). Ils sont prescrits à raison d'un comprimé par jour pendant 2 à 5 ans. Des études ont démontré une réduction du risque de récidive locale mais également sous forme de métastases (InCa, 2013).

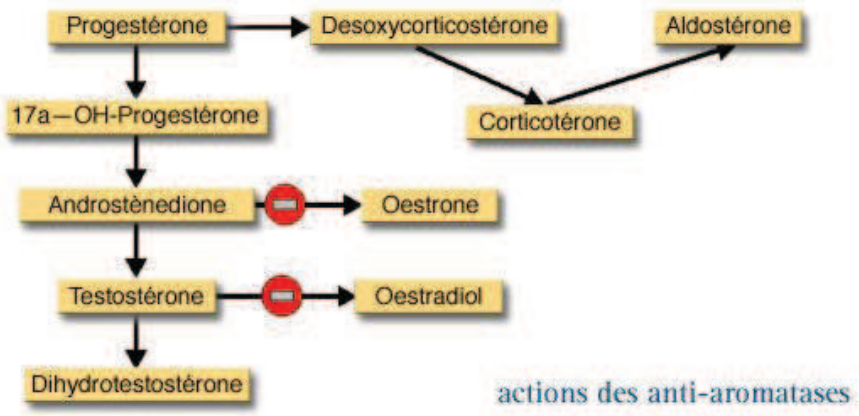


Figure 41 : Mécanisme d'action des anti-aromatases

✓ **Les agonistes de la LH-RH**

Les agonistes de la LH-RH ont pour rôle la suppression de la production des hormones féminines par les ovaires chez la femme non ménopausée.

Comme nous l'avons vu précédemment, avant la ménopause, les œstrogènes sont majoritairement produits par les ovaires via plusieurs cascades de signalisation. Pour faire simple, l'hypothalamus produit d'abord la LH-RH qui va stimuler l'hypophyse, qui à son tour va produire la LH (hormone lutéinisante), qui elle, va stimuler les ovaires qui vont alors sécréter les œstrogènes (figure 42). Le principe du traitement par analogue de la LH-RH joue sur la ressemblance de ces analogues à la LH-RH, qui vont de ce fait prendre la place de cette hormone et jouer son rôle. On observe alors une hyperstimulation de l'hypophyse qui va finir par ne plus répondre et donc arrêter de stimuler les ovaires. La production d'œstrogène s'en voit ainsi stoppée. Les cellules cancéreuses hormonosensibles ne sont donc plus stimulées à leur tour. Cette technique équivaut à engendrer en réalité une ménopause artificielle non irréversible (InCa, 2013).

Les médicaments utilisés sont la goséréline (Zoladex®) et la leuproréline (Enantone®), qui sont administrées par injection sous-cutanée ou intramusculaire une fois par mois ou tous les trois mois pour une durée de 3 à 5 ans.

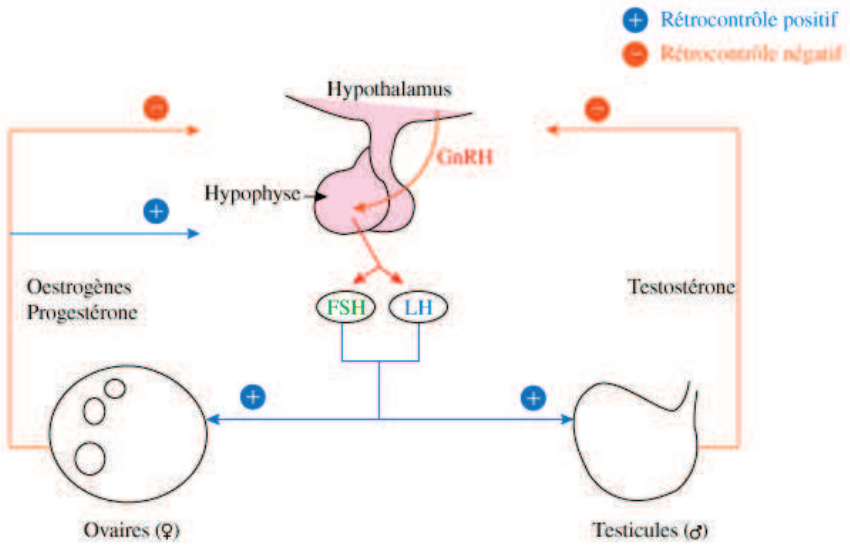


Figure 42 : Cascades de signalisation entrainant la synthèse des hormones féminines (et masculines)

8.2.2.4. Les traitements non médicamenteux

Ils consistent à stopper la production d'œstrogènes par les ovaires chez les femmes non ménopausées.

Il existe deux possibilités d'agir localement au niveau des ovaires :

- par ablation des ovaires au cours d'une chirurgie : l'ovariectomie,
- ou par l'irradiation de ceux-ci : la radiothérapie (InCa, 2013).

Il est important de noter que dans les deux cas, la suppression des ovaires se fait de manière définitive et la ménopause engendrée est donc irréversible. Il convient donc de faire le nécessaire pour le prélèvement d'ovules car une grossesse n'est ensuite plus envisageable.

✓ **L'ovariectomie**

L'ablation des ovaires est le plus souvent réalisée par cœlioscopie ou par laparotomie. Une fois les ovaires retirés, les effets sont immédiats : la production d'œstrogènes est instantanément supprimée et les symptômes de la ménopause sont plus intenses que la normale (Fondation Canadienne du cancer du sein).

✓ **La radiothérapie**

L'irradiation des ovaires provoque également un arrêt de l'activité de ceux-ci mais dans ce cas, les effets ne sont pas immédiats. La production d'œstrogènes est stoppée dans les trois mois suivant l'irradiation (Fondation Canadienne du cancer du sein).

9. Les protocoles thérapeutiques classiques de la prise en charge du cancer du sein

Le protocole thérapeutique pour un patient donné est établi lors d'une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) entre différents médecins, suivant les recommandations de bonne pratique. Ensuite, cette proposition est faite au

patient lors d'une consultation d'annonce pendant laquelle on lui énonce le protocole et surtout on lui demande de réfléchir à son consentement. Lorsque le patient donne son accord, le traitement est décrit dans un programme personnalisé de soins (PPS) qui l'accompagnera pendant tout le traitement.

En règle générale, le traitement anti-cancéreux se fait grâce à une association de différents traitements dont les actions vont être additionnelles. Il y a le traitement premier, puis le traitement adjuvant qui vient s'ajouter ensuite, ou bien un traitement néo-adjuvant avant.

Le choix des traitements dépend des caractéristiques suivantes :

- du type de cancer dont le patient est atteint et de l'endroit où il est situé dans le sein,
- de son caractère unifocal (un foyer cancéreux) ou multifocal (plusieurs foyers cancéreux),
- de son stade au moment du diagnostic,
- de son grade,
- du statut des récepteurs hormonaux ou de HER2,
- des éventuelles contre-indications aux traitements,
- de l'état de santé général, de l'âge, des antécédents personnels médicaux et chirurgicaux et des antécédents familiaux,
- de l'avis du patient et de ses préférences (InCa, 2013).

9.1. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein in situ

Le traitement d'un cancer localisé comprend en principe au minimum une chirurgie afin d'éliminer la tumeur. Le plus souvent, s'ajoutent à cette chirurgie des traitements complémentaires dits adjuvants dans le but de supprimer les éventuelles cellules cancéreuses restantes et également pour diminuer le risque de rechute. D'autres traitements peuvent néanmoins être administrés avant la chirurgie, on les appelle alors néo-adjuvants. Ici ils ont pour rôle principal de diminuer la taille de la tumeur initialement trop importante pour réaliser une chirurgie conservatrice d'emblée.

Parmi les traitements adjuvants, on trouve la chimiothérapie, l'hormonothérapie, la radiothérapie ainsi que les thérapies ciblées. Les traitements néo-adjuvants peuvent être une chimiothérapie ou bien une radiothérapie (HAS, 2010).

Comme vu dans les chapitres précédents, il existe différents types de cancers in situ. Le protocole thérapeutique peut être différent pour chacun.

Concernant le CCIS, le traitement repose principalement sur un traitement locorégional. En effet, on peut procéder à une tumorectomie suivie d'une radiothérapie. Ou bien, la mastectomie peut également être utilisée. Dans les deux cas, l'exérèse des ganglions sentinelles peut être utile parfois.

Le CLIS étant particulier, sa prise en charge est basée sur une surveillance régulière avec parfois une biopsie et une exérèse des ganglions (InCa, 2013).

9.2. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein infiltrant non métastatique

Le traitement d'un cancer du sein infiltrant repose principalement sur un traitement locorégional :

- soit une chirurgie mammaire conservatrice incluant une chirurgie des ganglions (exérèse du ganglion sentinelle ou curage ganglionnaire), complétée d'une radiothérapie,
- soit une chirurgie mammaire non conservatrice incluant une chirurgie des ganglions (exérèse du ganglion sentinelle ou curage ganglionnaire) et au besoin complétée d'une radiothérapie (InCa, 2013).

Ce traitement principal peut être complété en fonction de la présence ou non de facteurs de risque de récidive, c'est-à-dire de caractéristiques du cancer qui augmentent son risque de récidiver après un traitement locorégional. Parmi les facteurs de risque de récidive d'un cancer du sein, on compte par exemple :

- la taille de la tumeur,
- son grade c'est-à-dire son degré d'agressivité,
- le fait que les ganglions lymphatiques soient atteints ou non et leur nombre,

– le caractère hormonodépendant ou non de la tumeur,

– la surexpression de la protéine HER2 ou non.

En présence de facteurs de risque de récidive, les médecins étudient l'opportunité de réaliser le ou les traitements complémentaires suivants :

- en cas de chirurgie conservatrice :

– une radiothérapie de la glande mammaire. Selon l'âge, une dose additionnelle (appelée boost ou surimpression) peut être réalisée sur le lit tumoral, c'est-à-dire la région du sein où se trouvait la tumeur avant l'intervention chirurgicale,

– une radiothérapie des aires ganglionnaires,

- en cas de chirurgie non conservatrice :

– une radiothérapie de la paroi thoracique,

– une radiothérapie des aires ganglionnaires,

- quelle que soit la chirurgie :

– une chimiothérapie, éventuellement associée à une thérapie ciblée si la tumeur est HER2 positive,

– une hormonothérapie si la tumeur est hormonosensible.

Dans tous les cas, l'objectif est de limiter le risque de récidive et d'optimiser les chances de guérison.

Par ailleurs, dans certains cas, comme un cancer inflammatoire ou quand la tumeur est trop volumineuse pour être opérée d'emblée, l'intervention chirurgicale peut être précédée d'un traitement médical (chimiothérapie ou hormonothérapie en cas de tumeur hormonosensible) néo-adjuvant.

Si la radiothérapie est le seul traitement complémentaire de l'intervention chirurgicale, le délai de mise en route de la radiothérapie après la chirurgie ne doit pas dépasser 12 semaines.

Si, après la chirurgie, une chimiothérapie (associée ou non à une thérapie ciblée selon le statut HER2 de la tumeur) et une radiothérapie sont prescrites, la chimiothérapie est le plus souvent réalisée en premier. Ceci s'explique par le fait que certains médicaments de chimiothérapie entraînent des effets secondaires plus importants lorsqu'ils sont administrés après la radiothérapie. Pour les éviter, la radiothérapie est commencée une fois que la chimiothérapie est terminée et ce au maximum 5 semaines après. Enfin, un délai maximum de 6 mois

ne doit pas être dépassé entre la chirurgie et le début de la radiothérapie. Si une hormonothérapie est indiquée, elle démarre à l'issue de la radiothérapie.

9.3. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein métastatique

Les protocoles de prise en charge d'un cancer du sein métastasé sont nombreux et sont établis au cas par cas, il est donc difficile de donner un protocole précis ici. Cependant, le traitement principal repose bien évidemment sur un traitement systémique qui va attaquer toutes les cellules cancéreuses de l'organisme.

On peut donc instaurer par exemple une chimiothérapie pendant quelques mois à plusieurs années. L'hormonothérapie est utile si la tumeur est hormonosensible. De temps en temps, la chirurgie peut être utilisée pour éliminer une lésion spécifique à un endroit précis, et aussi la radiothérapie ciblée sur une lésion spécifique gênante, douloureuse, ou difficilement atteignable par les autres traitements. Les thérapies ciblées peuvent aussi être instaurées (HAS, 2010). Enfin, en cas de métastases osseuses, les bisphosphonates peuvent être prescrits pour diminuer le risque de complications notamment les fractures (InCa, 2013).

9.4. Protocole thérapeutique dans le cadre d'un cancer du sein en rechute

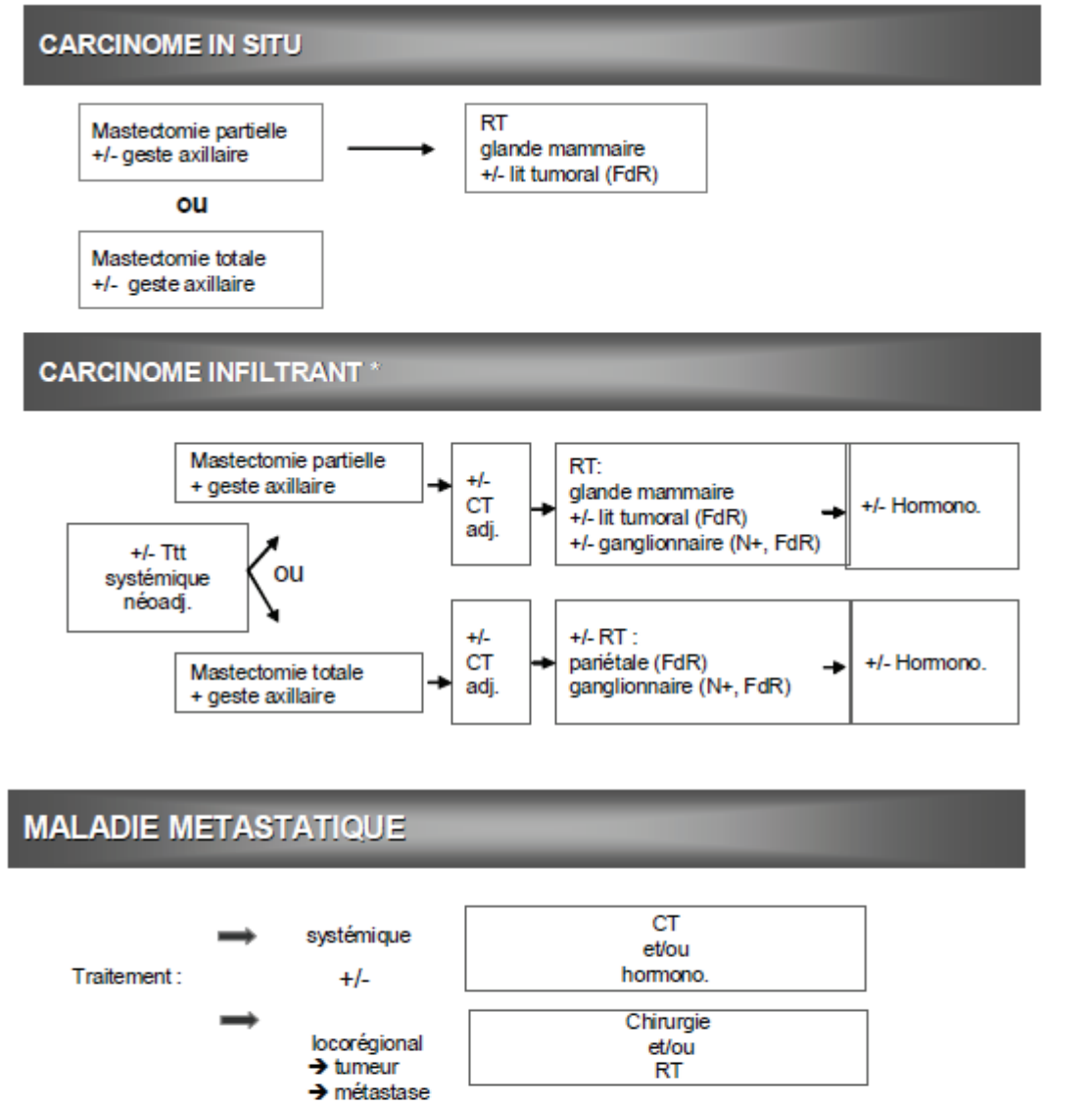
Il existe deux types de rechute du cancer du sein. La rechute locale pour laquelle les cellules cancéreuses se développent donc à nouveau dans le sein. En revanche, la rechute métastasée, comme son nom l'indique, se caractérise par le développement de nouvelles tumeurs cancéreuses à d'autres endroits du corps que la tumeur de départ.

En ce qui concerne la rechute locale, le traitement repose alors sur une chirurgie non conservatrice du sein car une tumorectomie avec radiothérapie ne peut plus être envisageable dans la mesure où une radiothérapie a déjà été réalisée

auparavant. Il faut savoir quand même qu'une reconstruction mammaire pourra être proposée en même temps que l'opération si c'est possible, ou plus tard. Des traitements complémentaires seront éventuellement discutés après l'intervention, en fonction de la date de la rechute par rapport au traitement initial, et des caractéristiques de cette rechute.

Comme pour le traitement d'un cancer métastasé, le traitement d'un cancer en rechute métastasée sera complexe (Institut Gustave Roussy).

9.5. Arbres décisionnels



* *Hors cancer du sein inflammatoire*

CT : chimiothérapie (incluant les thérapies ciblées)
RT : radiothérapie
Hormono. : hormonothérapie

Ttt : traitement
Néoadj. : néoadjuvant
FdR : indication discutée selon les facteurs de risque de récidive
N+ : indication discutée selon l'envahissement ganglionnaire

Figure 43 : Arbre décisionnel général de la prise en charge thérapeutique du cancer du sein

10. Les limites des traitements classiques

Le cancer du sein est caractérisé par une vaste hétérogénéité, autant au niveau des différents types de cancers existants, comme au niveau des traitements qui peuvent être utilisés, et aussi de la réponse aux thérapeutiques instaurées.

Sur les cinquante dernières années, l'apport des thérapeutiques nouvelles comme l'hormonothérapie, la radiothérapie, ou bien la chimiothérapie a été majeur dans la prise en charge de la pathologie mammaire maligne avec une amélioration de la survie globale des patients.

Cependant, les bénéfices apportés par ces techniques restent limités. En effet, les réponses sont souvent trop brèves et le taux de rechute reste relativement important, ce qui oblige à subir par la suite de nouveaux traitements complémentaires qui seraient volontiers éliminés par les patients. Les réponses sont également souvent partielles, ce qui entraine l'utilisation de plusieurs traitements afin de réussir à stopper l'avancement de la maladie. De plus, les réponses aux traitements ne sont pas prévisibles (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012). Il existe bien quelques marqueurs qui permettent de prédire la réponse aux traitements comme la présence de récepteurs hormonaux ou HER2, mais même avec ces prédictions, certaines patientes aux mêmes caractéristiques cliniques et pathologiques peuvent avoir des réponses thérapeutiques très différentes (Penault-Llorca et Dauplat, 2011). Les paramètres d'études de résultats sont encore trop limités, et les patientes éligibles sont identifiées mais l'identification de celles qui vont répondre n'est pas encore capable d'être faite par les scientifiques de façon précise. Ainsi, certaines patientes vont être surtraitées et d'autres pas assez. Il est donc dès lors indispensable de progresser vers l'individualisation du pronostic et de la prédiction de la réponse au traitement en améliorant les outils d'analyse.

D'autre part, les traitements actuels n'interviennent qu'à un stade avancé de la maladie et se font de manière macroscopique, par chirurgie majoritairement, et par irradiation et chimiothérapie. Par conséquent, ces différents traitements provoquent également la destruction de cellules saines car ce sont des thérapeutiques à action systémique, qui ne sont donc pas ciblées uniquement sur les cellules malignes. Ce phénomène engendre donc de nombreux effets

indésirables sur différents organes et cellules de l'organisme (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

Ces situations soulignent les limitent des traitements classiques du cancer du sein.

10.1. Les effets indésirables des traitements classiques

Comme nous l'avons vu, les nombreux effets indésirables font partie des limites des traitements classiques du cancer du sein. Dans ce chapitre, nous ferons un résumé rapide des différents effets non souhaités rencontrés lors des traitements.

10.1.1. Les effets indésirables de la chirurgie

Les effets secondaires de la chirurgie sont de deux types selon qu'ils apparaissent immédiatement, on parle alors d'effets précoces, ou plus tard, ce sont dans ce cas des effets tardifs.

10.1.1.1. Les effets secondaires précoces

Ces effets peuvent se manifester tout de suite après l'intervention ou quelques semaines plus tard, mais sont en général temporaires.

Les principaux problèmes rencontrés sont :

– la douleur due à l'intervention chirurgicale, accompagnée d'un inconfort ou d'une sensation de resserrement parfois au niveau de l'incision,

– un œdème au niveau de la zone opérée,

– des problèmes lymphatiques dus au curage des ganglions,

– un hématome ou une infection au niveau du site opératoire,

– une faiblesse ou une raideur du bras, ainsi que des troubles de la sensibilité,

– une fatigue,

– un changement de l'image corporelle entrainant un changement de l'estime de soi (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.1.2. Les effets secondaires tardifs

Ils peuvent se manifester longtemps après l'intervention et durer un certain temps.

On trouve :

– un lymphœdème du membre supérieur, qu'on appelle aussi « gros bras », dû à l'accumulation de liquide lymphatique suite au curage axillaire,

– des infections notamment en cas de curage axillaire,

– des séquelles fonctionnelles comme une diminution de la force du bras par exemple (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.2. Les effets indésirables de la radiothérapie

L'irradiation de la tumeur ne permet pas complètement d'éviter les cellules saines qui se trouvent en périphérie de celle-ci. La curiethérapie, étant plus localisée, permet une moindre irradiation des cellules saines, mais la radiothérapie externe touche une région plus étendue, c'est ce qui explique l'apparition d'effets indésirables.

De même que pour la chirurgie, on distingue les effets précoces et tardifs.

10.1.2.1. Les effets secondaires précoces

Parmi les effets immédiats, on citera :

– une rougeur de la peau, appelée érythème cutané, qui ressemble à un coup de soleil, et parfois accompagnée d'une desquamation,

– une fatigue, une douleur,

– un œdème du sein,

– rarement, une gêne à avaler si les ganglions lymphatiques à proximité de la clavicule sont traités (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.2.2. Les effets secondaires tardifs

Les progrès ont permis de réduire les effets tardifs, on peut néanmoins observer :

- des troubles cutanés à titre d'irritation, de changement de couleur de la peau ou bien de rougeurs appelées télangiectasies,
- un lymphœdème du bras,
- des douleurs et un inconfort, une raideur de l'épaule,
- une modification du sein, par la taille ou la forme mais aussi la fermeté,
- des troubles pulmonaires et cardiaques (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.3. Les effets indésirables de la chimiothérapie

Comme pour la radiothérapie, la chimiothérapie est un traitement systémique du cancer, c'est-à-dire que certaines cellules saines du corps peuvent être également affectées par ces médicaments, et plus particulièrement les cellules qui se développent rapidement comme celles des cheveux, de la moelle osseuse et de tout le tube digestif. C'est pourquoi les effets indésirables les plus fréquents sont retrouvés dans ces parties du corps.

Les effets secondaires sont variables d'un patient à l'autre. Et encore une fois, on distingue les effets à court terme et à plus long terme.

10.1.3.1. Les effets secondaires précoces

Les plus fréquemment rencontrés sont (Ligue contre le cancer, 2013) :

- la chute de cheveux, appelée alopécie, qui est temporaire,
- les nausées et vomissements qui commencent souvent le soir même ou le lendemain. On observe parfois également des nausées anticipatoires qui commencent avant même que la perfusion ait commencé, dues à l'anxiété,
- la fatigue,
- une diarrhée ou constipation,

– la diminution des globules blancs (leucopénie), rouges (anémie) et des plaquettes (thrombopénie). Il arrive que les trois composants diminuent simultanément, on parle alors d'aplasie. Cet effet indésirable augmente considérablement le risque d'infection car les défenses immunitaires sont faibles,

– des lésions de la bouche : mucite. Il peut s'agir d'aphtes, de rougeur ou bien des douleurs, ou même d'ulcères,

– des douleurs musculaires ou articulaires,

– modification et fragilisation des ongles jusqu'à leur chute parfois,

– sensation d'engourdissement ou de fourmillement des mains et des pieds dus à des atteintes toxiques des nerfs,

– des troubles cutanés et syndrome mains-pieds (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.3.2. Les effets secondaires tardifs

Parmi les effets secondaires qui apparaissent plus tard, on peut citer (Ligue contre le cancer, 2013) :

– des troubles du cycle menstruel qui peuvent se manifester par des irrégularités, et même un arrêt des règles allant parfois jusqu'à la ménopause,

– des troubles cardiaques : essoufflement, tachycardie,

– des réactions allergiques (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.4. Les effets indésirables de l'hormonothérapie

L'hormonothérapie repose sur des médicaments qui sont « antihormones », entrainant ainsi l'arrêt de la production d'œstrogènes ou l'empêchement de son action. Les principaux effets secondaires observés avec l'utilisation de ces thérapeutiques ressemblent donc à ceux de la ménopause.

10.1.4.1. Les effets secondaires des anti-œstrogènes

Le médicament le plus utilisé dans cette classe est sans aucun doute le tamoxifène. Les effets secondaires cités ici lui font donc référence :

- des bouffées de chaleur,
- des nausées,
- des problèmes vaginaux comme les démangeaisons, sécheresses, ou pertes vaginales,
- une prise de poids,
- des kystes au niveau des ovaires, ou bien des polypes de l'endomètre,
- un dérèglement du cycle menstruel chez la femme non ménopausée,
- rarement, une augmentation du risque de développement du cancer de l'endomètre,
- rarement, des maladies thromboemboliques chez les femmes qui possèdent des facteurs de prédispositions,
- des malformations fœtales (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.4.2. Les effets secondaires des anti-aromatases

Les inhibiteurs de l'aromatase sont en général bien tolérés mais les effets indésirables peuvent être les suivants :

- bouffées de chaleur,
- sécheresse vaginale,
- fatigue,
- douleurs musculaires et articulaires,
- une accentuation de l'ostéoporose qui peut entrainer des fractures,
- une augmentation du cholestérol (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.1.4.3. Les effets secondaires des agonistes de la LH-RH

Les effets indésirables les plus souvent rencontrés sont :

- des bouffées de chaleur avec parfois une sudation excessive,

- une diminution de la densité minérale osseuse, qui entraine l'ostéoporose,
- une diminution du désir sexuel,
- une sécheresse vaginale (InCa, 2013) (CHU de Québec).

10.2. L'atteinte des cellules saines

Il existe différents types de traitements pour la prise en charge du cancer du sein, à savoir les traitements locorégionaux et ceux qui ont une action systémique. Cependant, même parmi les traitements localisés, les cellules saines peuvent être détruites.

Effectivement, la radiothérapie, comme nous l'avons vu, est basée sur l'irradiation des cellules cancéreuses. Avant le début du traitement, un marquage sur le corps est effectué afin de délimiter le plus précisément possible la zone à traiter en essayant d'épargner au maximum les cellules aux alentours. Cependant, il est impossible d'éviter très précisément la périphérie et il persiste toujours une atteinte des cellules saines qui entourent la tumeur.

En ce qui concerne la chimiothérapie et l'hormonothérapie, ce sont ici des traitements systémiques qui sont pris par voie orale ou directement par injection veineuse. Le principe même des mécanismes d'action réside donc sur une action sur toutes les cellules de l'organisme, qu'elles soient malades ou non. De nombreuses cellules saines et organes non malades sont donc détruits ou endommagés par ces traitements non ciblés.

L'atteinte des organes et cellules sains est donc un véritable problème au sein des traitements classiques du cancer du sein car le but n'est pas de détruire les zones non malades mais uniquement de toucher les cellules tumorales. De plus, ce phénomène est une des causes principales de formation d'effets indésirables multiples décrits plus haut qui sont un vrai handicap dans la compliance au traitement mais aussi et surtout sur les conditions de vie des patients.

Le but des recherches étant donc de développer des traitements plus ciblés uniquement sur les cellules cancéreuses.

10.3. Difficultés à cibler spécifiquement et à traiter certains types de cancers

En dehors de la chirurgie qui reste inévitable dans la majorité des cas de cancer du sein, les traitements classiques agissent de façon non spécifique sur les cellules cancéreuses. Ces traitements ne possèdent aucune spécificité par rapport à tel ou tel type de cancer, donc ils vont être utilisés pour tous les patients quelle que soit leur pathologie précise, au risque de ne pas être efficace sur ce type de cancer ou du moins pas totalement efficace. De plus, on ne peut donc pas prévoir les résultats des thérapeutiques utilisées. Le patient se voit donc parfois administré des médicaments qui ne lui seront pas toujours bénéfiques et dont il n'avait par conséquent pas forcément besoin, sans oublier par-dessus tout, les nombreux effets secondaires qu'il aura dû supporter.

Les traitements classiques ne sont donc pas assez ciblés pour certains types de cancers en particulier qui nécessitent des médicaments plus adaptés au vu de leur spécificité. En effet, pour les cancers hormonodépendants, il existe l'hormonothérapie qui cible spécifiquement les cellules responsables de la formation d'œstrogènes pour la stopper. Néanmoins, en ce qui concerne les cancers HER2 positifs ou même les cancers dits triples négatifs (HER2 négatif, œstrogène et progestérone négatifs), ces thérapies ne permettent pas de cibler spécifiquement.

Les recherches des scientifiques se basent donc sur des traitements qui seraient plus ciblés et qui permettraient donc une amélioration de la prise en charge de certains cancers du sein.

Partie II : La place de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein

1. Introduction

Comme expliqué dans le chapitre précédent, les thérapies classiques utilisées pour le traitement du cancer du sein présentent des limites qui doivent être prises en compte et auxquelles les chercheurs ont voulu remédier. Grâce aux nombreuses études qui ont été réalisées ces dernières années sur l'amélioration de la prise en charge du cancer du sein, l'une des avancées les plus importantes et prometteuses a été la validation clinique de molécules capables de cibler spécifiquement et d'inhiber des vois métaboliques pro-oncogéniques : ce sont les thérapies ciblées (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012). Ces médicaments bloquent de façon spécifique la croissance des cellules cancéreuses et permettent donc d'éviter ainsi les nombreux effets indésirables engendrés par les thérapeutiques classiques mais aussi l'atteinte et la destruction des cellules saines car les substances utilisées sont plus sélectives. Rappelons la définition même d'une thérapie ciblée : c'est un médicament sélectif qui cible spécifiquement une protéine ou un mécanisme impliqué dans le développement des cellules cancéreuses en repérant une cible précise et en épargnant au maximum les cellules saines. Ces médicaments sont donc théoriquement sans effets sur les cellules saines (Inserm). De ce fait, ils engendrent moins d'effets indésirables que les chimiothérapies antitumorales classiques.

Parmi ces nouveaux agents, on trouve des anticorps monoclonaux ou des molécules qui sont capables de bloquer certaines réactions enzymatiques clés. De ce fait, la prolifération et la croissance des cellules tumorales vont être stoppées, et ces mécanismes entrainent la mort cellulaire et donc l'arrêt de la croissance de la tumeur cancéreuse.

L'Avastin® fait partie de ces thérapies ciblées novatrices, anti-VEGF, dont la dénomination commune internationale est le bevacizumab. Son développement est parti d'une étude de xénogreffes tumorales sur des souris immunodéficientes. Les scientifiques ont démontré que la neutralisation du VEGF pouvait inhiber la croissance de divers modèles tumoraux. L'anticorps murin utilisé dans ces études a

donc été ensuite humanisé pour former le bevacizumab qui se lie spécifiquement au VEGF, d'où son action ciblée. Il a été le premier anti-angiogénique à montrer une efficacité dans le cancer du sein et à obtenir une autorisation de mise sur le marché par la suite.

2. Rappel du mécanisme d'action du bevacizumab

Le bevacizumab, commercialisé sous le nom d'Avastin®, est un anticorps monoclonal anti-angiogénique. Il se lie au facteur de croissance endothélial vasculaire (le VEGF) qui est responsable de la croissance des vaisseaux sanguins. Par cette liaison, le bevacizumab empêche le VEGF circulant de se lier à ses récepteurs à la surface des cellules, ce qui bloque donc l'activité de celui-ci. Le développement des vaisseaux sanguins est donc arrêté, associé également à une normalisation de ceux restants, ainsi qu'une inhibition de la formation de nouveaux vaisseaux et cela engendre l'arrêt simultané du développement de la tumeur cancéreuse. Effectivement, les vaisseaux sanguins permettent l'apport de composants essentiels nécessaires à la croissance des cellules tumorales. En l'absence de ces vaisseaux, les cellules cancéreuses ne peuvent plus se développer car elles ne reçoivent plus les nutriments et l'oxygène indispensables à leur survie. On observe donc un ralentissement de la croissance de la maladie.

3. Informations générales concernant la spécialité Avastin®

3.1. Forme pharmaceutique

L'Avastin® se présente sous forme de solution à diluer pour perfusion (figure 44).

C'est un liquide limpide à légèrement opalescent, incolore à brun pale (RCP).

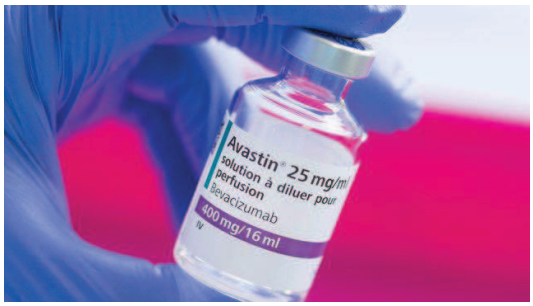


Figure 44 : Présentation de la spécialité Avastin®

3.2. Précautions de conservation

Le flacon doit être conservé dans son emballage à l'abri de la lumière, et au réfrigérateur entre 2 et 8°C (RCP).

3.3. Conditions de délivrance

C'est un médicament soumis à prescription médicale restreinte (RCP).

3.4. Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché et de l'autorisation de fabrication

3.4.1. Titulaire de l'autorisation de mise sur le marché (RCP)

Laboratoire Roche Registration Limited
6 Falcon Way
Shire Park
Welwyn Garden City
AL7 1TW
Royaume-Uni

3.4.2. Fabricants de la substance active d'origine biologique et titulaire de l'autorisation de fabrication responsable de la libération des lots (RCP)

Nom et adresse des fabricants de la substance d'origine biologique

Genentech, Inc.
1 DNA Way
South San Francisco, CA 94080-4990
Etats-Unis

Genentech, Inc.
1 Antibody Way
Oceanside, CA 92056
Etats-Unis

F. Hoffmann-La Roche Ltd
Grenzacherstrasse 124
CH-4070 Bâle
Suisse

Roche Singapore Technical Operations, Pte. Ltd.
10 Tuas Bay Link
Singapour 637394
Singapour

Nom et adresse du fabricant responsable de la libération des lots

Roche Pharma AG
Emil-Barrell-Str. 1,
D-79639 Grenzach-Wyhlen
Allemagne

4. Intérêt de l'ajout de l'Avastin® dans les protocoles thérapeutiques actuels

L'intérêt de l'apport du bevacizumab réside dans les limites rencontrées par les traitements plus classiques du cancer du sein. Dans le cas de l'Avastin® qui est

une thérapie ciblée, l'apport est caractérisé par une spécificité d'action sur une cible précise afin de limiter la croissance tumorale, contrairement aux autres traitements auparavant moins ciblés. Ceci est un avantage considérable qui évite la destruction des cellules saines environnantes et limite donc le nombre d'effets indésirables rencontrés. Les scientifiques voient donc en cette nouvelle molécule un espoir d'amélioration de la prise en charge des patients traités pour un cancer du sein.

Suite à la découverte de ce médicament, de nombreuses études ont été réalisées dans le but de démontrer les bénéfices cliniques apportés par le bevacizumab utilisé en monothérapie ou en association avec d'autres chimiothérapies par exemple, et d'en étudier également sa tolérance.

Les chapitres suivants font une retranscription des différentes études qui ont été réalisées avec les résultats obtenus.

4.1. Étude E2100

L'étude E2100 fut la première étude de phase III évaluant l'efficacité et la tolérance de l'association bevacizumab + paclitaxel versus paclitaxel seul, dans le traitement de première ligne du cancer du sein localement récidivant ou métastatique et n'ayant pas reçu de chimiothérapie antérieure pour leur maladie métastatique ou en rechute locale. L'étude était sponsorisée par le National Cancer Institute (NCI), qui fait partie des US National Institutes of Health, et conduite par un réseau de chercheurs placés sous l'égide de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG).

Les critères de jugement qui ont été pris en compte lors de cette étude étaient d'une part, la médiane de survie sans progression, définie comme le délai entre la randomisation et la progression de la maladie ou le décès, quelle qu'en soit la cause. Et d'autre part, la survie globale qui correspond au délai entre la randomisation et la survenue du décès, le taux de réponse objective, la durée de réponse objective, la qualité de vie et la toxicité des traitements (HAS, 2011).

4.1.1. Présentation de l'étude

L'étude E2100 était une étude ouverte, randomisée, contrôlée et multicentrique. Au total, 722 patients ont été inclus (Molnar-Stanciu *et al*., 2012), dont :

– 368 dans le groupe bevacizumab + paclitaxel à raison de 90 mg/m^2 de paclitaxel en perfusion IV d'une heure toutes les semaines pendant 3 semaines suivies d'une semaine d'arrêt, associé à 10 mg/kg en perfusion IV de bevacizumab administré toutes les deux semaines. Les cycles de traitement ont duré 4 semaines,

– et 354 dans le groupe paclitaxel seul avec des schémas et posologies d'administration identiques à ceux de l'autre groupe (HAS, 2011).

La durée moyenne de traitement a été de 9,6 mois dans le groupe paclitaxel + bevacizumab versus 5,8 mois dans le groupe paclitaxel seul.

Un traitement antérieur de la maladie métastatique par hormonothérapie était autorisé. Un traitement adjuvant antérieur par taxane était autorisé, uniquement s'il avait été terminé au moins 12 mois avant l'entrée dans l'étude. Parmi les patients randomisés, près de 90% avaient un statut HER2 négatif. Un petit nombre de patients avait un statut inconnu (8%) ou un statut HER2 positif confirmé (2%) et avait été précédemment traité par trastuzumab ou considéré comme non éligible au trastuzumab. Par ailleurs, 65% des patients avaient reçu une chimiothérapie adjuvante comportant des taxanes (19%) et des anthracyclines (49%). Les patients avec des métastases du système nerveux central, y compris celles antérieurement traitées ou opérées étaient exclus.

Dans l'étude E2100, les patients étaient traités jusqu'à progression de la maladie. Dans les cas où un arrêt prématuré de la chimiothérapie était nécessaire, le traitement par Avastin® en monothérapie était poursuivi jusqu'à progression de la maladie. Les caractéristiques des patients étaient similaires dans les deux bras de traitement. L'objectif principal de l'étude était la survie sans progression (PFS), selon une évaluation de la progression de la maladie faite par les investigateurs de l'étude (RCP).

4.1.2. Résultats

La médiane de survie sans progression a été plus haute dans le groupe bevacizumab + paclitaxel avec 11,3 mois contre 5,8 mois dans le groupe paclitaxel seul, soit un gain absolu de 5,5 mois.

La médiane de survie globale a été semblable entre les deux groupes, soit 26,5 mois dans le groupe bevacizumab + paclitaxel contre 24,8 mois dans l'autre groupe.

La survie globale à 1 an de traitement a été plus importante dans le groupe bevacizumab + paclitaxel avec 81,2% contre 73,4% dans l'autre groupe.

Le taux de réponse objective était de 37% pour le groupe bevacizumab + paclitaxel contre 21% pour l'autre groupe.

L'analyse de la qualité de vie n'a pas été faite car il y avait beaucoup de données manquantes sur les questionnaires distribués.

En ce qui concerne la tolérance, on a observé une fréquence plus importante du nombre d'effets indésirables de grade 3-5 dans le groupe traité par bevacizumab + paclitaxel avec 71,1% contre 50,6% pour le groupe recevant le paclitaxel seul. Parmi ces effets secondaires, les principaux sont représentés par des neuropathies sensorielles, de l'hypertension artérielle et des infections et neutropénies fébriles. Cependant, dans le groupe bevacizumab + paclitaxel, 8 cas d'insuffisance cardiaque congestive ont été observés contre 1 seul dans l'autre groupe (HAS, 2011) (RCP).

4.1.3. Conclusion

D'une manière générale, dans l'étude E2100, l'ajout d'Avastin® au paclitaxel a montré une nette amélioration des résultats cliniques de la prise en charge du cancer du sein, avec notamment une amélioration importante de la survie sans progression. L'utilisation de l'Avastin® en association avec le paclitaxel s'est révélée également être plutôt bien tolérée avec dans l'ensemble relativement peu d'effets indésirables graves.

L'ajout de l'Avastin® a donc apporté un intérêt bénéfique dans la prise en charge du cancer dans cette étude.

4.2. Étude AVADO

L'étude AVADO est la deuxième étude de phase III qui s'est intéressée à l'association docétaxel plus ou moins bevacizumab en première ligne de traitement chez des patientes ayant un cancer du sein avec récidive locale ou métastasée dont la tumeur était HER2 négative. L'objectif dans cette étude était d'évaluer l'efficacité et la tolérance de l'ajout d'Avastin® au docétaxel versus docétaxel seul (HAS, 2011) (Delahousse, 2008).

Le premier critère d'évaluation était la survie sans progression, ainsi que le taux de réponse, la durée de réponse, la survie globale et la qualité de vie.

4.2.1. Présentation de l'étude

L'étude AVADO est une étude de phase III, randomisée en double aveugle. L'étude a inclus 736 patientes qui ont été réparties dans 3 bras différents, avec deux posologies de bevacizumab testées comme suit :

– un premier bras de 241 patientes recevant docétaxel à 100 mg/kg + placebo toutes les 3 semaines,

– un second bras de 248 patientes recevant docétaxel à 100 mg/kg + bevacizumab à 7,5 mg/kg toutes les 3 semaines,

– et un dernier bras de 247 patientes recevant docétaxel à 100 mg/kg + bevacizumab à 15 mg/kg toutes les 3 semaines (HAS, 2011).

Le protocole de traitement était prévu sur 9 cures maximum. Le bevacizumab et le placebo ont été administrés jusqu'à progression de la maladie. Le suivi a duré environ 25 mois (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

4.2.2. Résultats

La médiane de survie sans progression était de 10,1 mois dans le groupe bevacizumab 15 mg/kg et de 9,0 mois dans le groupe bevacizumab 7,5 mg/kg contre 8,2 mois dans le groupe docétaxel + placebo. Le gain de survie en valeur absolue le plus élevé dans les groupes bevacizumab était donc de 1,9 mois.

L'étude n'a pas montré de différence en termes de survie globale avec l'ajout d'Avastin® au docétaxel quelle que soit la posologie testée.

Le risque de progression de la maladie était réduit de 21% dans le groupe bevacizumab 7,5 mg/kg et de 28% dans le groupe bevacizumab 15 mg/kg par rapport au docétaxel + placebo.

On a également observé un taux élevé de réponse, soit 44% pour le groupe docétaxel + placebo, 55% pour le groupe recevant docétaxel + bevacizumab à 7,5 mg/kg, et 63% pour le groupe recevant bevacizumab à 15 mg/kg.

Concernant la toxicité, l'incidence des effets secondaires de grade 3-5 s'est révélée légèrement supérieure dans les deux groupes bevacizumab avec un pourcentage de 75 et 78% contre 68% pour le groupe docétaxel + placebo. On remarque également un pourcentage légèrement plus important d'arrêt de traitement avec les groupes bevacizumab (11,7% et 8,0%) par rapport au groupe docétaxel + placebo où il est de 11,2%. Les effets indésirables les plus souvent rencontrés et ayant conduits à un arrêt de traitement ont été des neutropénies, inflammation des muqueuses et diarrhées, et neuropathies périphériques pour le groupe docétaxel + placebo. Dans les groupes ayant reçus le bevacizumab, ce sont des hypertensions artérielles et neutropénies qui ont été observées (HAS, 2011) (Delahousse, 2008) (Molnar-Stanciu *et al*., 2012).

4.2.3. Conclusion

Au terme de cette étude, les résultats rapportés sont clairement en faveur de l'association docétaxel + bevacizumab. Ces résultats viennent confirmer ceux de l'étude E2100, démontrant également un gain en matière de survie sans progression et de réponse objective au traitement quel que soit le dosage du bevacizumab, en faveur de l'association Avastin® + docétaxel. Au total, cette étude confirme donc le bénéfice clinique de combiner, en première ligne chez des femmes HER2 négatives dont la maladie avance, le docétaxel et le bevacizumab. Pour les investigateurs d'AVADO, « cette étude démontre clairement le bénéfice de cette approche anti-angiogénique combinée ; nous avons démontré son efficacité sans que la toxicité soit significativement augmentée ce qui est rassurant pour les cliniciens. » (Delahousse, 2008).

L'ajout de l'Avastin® a donc apporté un intérêt bénéfique dans la prise en charge du cancer dans cette étude.

4.3. Étude RIBBON-1

La troisième étude de phase III réalisée est l'étude RIBBON-1, réalisée chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ou localement récidivant, HER2 négatif, et non prétraitées pour leur maladie métastatique (HAS, 2011). L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité et la tolérance de l'Avastin® en traitement de première ligne, en association à une chimiothérapie, comparé à une chimiothérapie seule. Les patients éligibles ont été randomisés pour recevoir Avastin® ou un placebo en association à une anthracycline ou une chimiothérapie à base de taxanes ou en combinaison à la capécitabine. Le choix de la chimiothérapie était laissé à la discrétion de l'investigateur.

Le critère principal encore une fois dans cette étude était la survie sans progression (RCP).

4.3.1. Présentation de l'étude

L'étude RIBBON-1 est une étude de phase III, multicentrique, randomisée, en double aveugle, contrôlée versus placebo. Au total dans cette étude, 1 237 patientes ont été incluses dans les bras chimiothérapie plus placebo ou bien dans les bras chimiothérapie en association avec le bevacizumab à 15 mg/kg en perfusion intraveineuse toutes les 3 semaines.

Les patientes ont été réparties comme suit :

– une cohorte anthracycline ou taxane, à savoir docétaxel ou paclitaxel : soit anthracycline ou taxane plus placebo toutes les 3 semaines ou bien anthracycline ou taxane plus bevacizumab à 15 mg/kg toutes les 3 semaines,

– une autre cohorte capécitabine : soit capécitabine plus placebo toutes les 3 semaines ou bien capécitabine plus bevacizumab à 15 mg/kg toutes les 3 semaines.

Le placebo était également administré à 15 mg/kg (HAS, 2011).

Le choix de la chimiothérapie associée (paclitaxel, docétaxel, anthracyclines ou la capécitabine) était fait par l'oncologue référent de chaque patiente, en toute discrétion, avant randomisation selon un ratio 2 :1, pour recevoir soit une chimiothérapie plus Avastin®, soit une chimiothérapie plus placebo. Comme indiqué plus haut, la chimiothérapie pouvait contenir soit la capécitabine, un taxane (paclitaxel, docétaxel), des traitements à base d'anthracyclines (doxorubicine/cyclophosphamide, epirubicin/cyclophosphamide, 5-fluorouracil/doxorubicine/cyclophosphamide, 5-fluorouracil/epirubicin/cyclophosphamide) administrés toutes les 3 semaines.

Cette étude comprenait une phase de traitement en aveugle, une phase optionnelle en ouvert après progression et une phase de suivi de la survie. Durant la phase de traitement en aveugle, les patients ont reçu une chimiothérapie en association au bevacizumab ou au placebo toutes les 3 semaines jusqu'à progression de la maladie, toxicité limitant le traitement, ou décès. Après progression documentée de la maladie, les patients qui entraient dans la phase optionnelle en ouvert pouvaient recevoir le bevacizumab en ouvert en association à un large choix de traitement de deuxième ligne. Le pourcentage de patients ayant reçu le bevacizumab pendant la phase en ouvert était de 62,1% dans le bras capécitabine + placebo et de 49,9% dans le bras capécitabine + bevacizumab.

La durée du suivi a été de 19,2 mois dans le groupe taxane/anthracycline et de 15,6 mois dans le groupe capécitabine (RCP).

4.3.2. Résultats

Les analyses de cette étude ont été réalisées indépendamment de manière à distinguer les patients traités par capécitabine + bevacizumab ou placebo de ceux traités par un taxane ou anthracyclines + bevacizumab ou placebo.

D'une part, en ce qui concerne le groupe anthracycline/taxane : on a observé une augmentation de la médiane de survie sans progression, avec 9,2 mois pour le groupe avec bevacizumab contre 8 mois dans le groupe avec placebo, soit une hausse de 1,2 mois en valeur absolue. Par contre, comme dans les études précédentes, la survie globale reste inchangée avec l'ajout d'Avastin®.

D'autre part, pour le groupe capécitabine : la médiane de survie sans progression a été améliorée de 2,9 mois dans le groupe bevacizumab + capécitabine contre capécitabine seule avec respectivement 8,6 et 5,7 mois. De même, aucun avantage en survie globale n'a été montré par l'ajout d'Avastin®.

Les taux de réponse objective étaient aussi en faveur de l'adjonction du bevacizumab dans ces deux cohortes avec 33,2% pour la combinaison avec la capécitabine et 49,3% pour les taxanes ou anthracyclines.

D'un point de vue de la tolérance, le nombre total d'événements indésirables de grades 3-5 a été près de deux fois plus élevé dans le groupe bevacizumab que dans le groupe placebo dans les deux cohortes : 57,1% contre 38,2% dans le sous-groupe taxane, 34,8% contre 15% dans le sous-groupe anthracycline et 36,6% contre 22,9% dans la cohorte capécitabine. De plus, les arrêts de traitement ont été également plus fréquents dans le groupe bevacizumab que les groupes comparateurs : 25,1% contre 8,8% dans le sous-groupe taxane, 15,2% contre 4% dans le sous-groupe anthracycline et 12,6% contre 11,9% dans la cohorte capécitabine. Les principaux effets indésirables rencontrés avec le bevacizumab ont été l'hypertension artérielle, des hémorragies et neutropénies fébriles (HAS, 2011) (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012) (RCP).

4.3.3. Conclusion

En conclusion, cette étude a apporté une fois encore la preuve que l'ajout de l'Avastin® à un traitement classique de chimiothérapie entraine un gain important en matière de survie sans progression et de réponse objective au traitement comparé à l'utilisation des chimiothérapies seules. De plus, les évènements indésirables restent assez peu fréquents et peuvent être pris en charge facilement du fait de leur gravité relativement faible. Cette étude confirme donc encore une fois le bénéfice engendré par l'ajout du bevacizumab aux chimiothérapies classiques en traitement de première ligne du cancer du sein avancé.

L'ajout de l'Avastin® a donc apporté un intérêt bénéfique dans la prise en charge du cancer dans cette étude.

4.4. Étude RIBBON-2

L'étude RIBBON-2 est une autre étude de phase III réalisée sur l'administration d'Avastin® à des femmes souffrant de cancer du sein HER2 négatif de stade avancé et ayant déjà été traitées en première ligne par chimiothérapie. L'objectif de cette étude est donc de démontrer le bénéfice de l'ajout du bevacizumab chez les femmes avec cancer du sein avancé mais cette fois-ci en traitement de deuxième ligne. La tolérance est aussi importante dans l'étude de cette association. Pour ce faire, l'étude a évalué l'association d'Avastin® ou d'un placebo à une chimiothérapie choisie par l'investigateur.

Le critère d'évaluation principal de cette étude était la survie sans progression. Elle est définie comme correspondant à la période allant de la randomisation à la progression de la maladie ou au décès, selon l'évaluation des médecins traitants de l'étude (évaluation de l'investigateur). En second plan arrivent le taux de réponse objective, le taux de survie à un an, la survie globale et la sécurité d'emploi (Molnar-Stanciu *et al*., 2012).

4.4.1. Présentation de l'étude

RIBBON-2 est une étude clinique internationale, multicentrique, randomisée, contrôlée contre placebo et en double insu. Au total dans cette étude, 684 patientes déjà traitées pour un cancer du sein HER2 négatif métastatique ont été randomisées en deux bras. Les protocoles chimiothérapiques utilisés étaient soit un taxane (paclitaxel ou docétaxel), la gemcitabine, la capécitabine ou la vinorelbine. Le premier bras de l'étude associait une chimiothérapie parmi celles citées juste avant et le bevacizumab. Dans le deuxième bras, on trouvait un placebo avec une chimiothérapie.

Le bevacizumab a été administré toutes les deux ou trois semaines jusqu'à progression de la maladie et le suivi a duré environ 15 mois dans les quatre bras (Molnar-Stanciu *et al*., 2012).

4.4.2. Résultats

Les chances de rester en vie sans progression de la maladie ont augmenté significativement dans les bras bevacizumab plus chimiothérapie de 28%.

La médiane de la survie sans progression était de 7,2 mois dans les groupes bevacizumab + chimiothérapie contre 5,1 mois dans les groupes sans bevacizumab, soit un gain en valeur absolue de 2 mois.

Comme dans les autres études, la survie globale n'a pas été changée avec l'ajout du bevacizumab à la chimiothérapie.

Le taux de réponse objective était de 39,5% dans les groupes ayant reçu le bevacizumab plus chimiothérapie contre 29,6% dans les groupes ayant reçu uniquement la chimiothérapie.

Une analyse réalisée en sous-groupes montre que contrairement à l'association taxanes, gemcitabine ou capécitabine–bevacizumab, l'association vinorelbine–bevacizumab n'a pas montré de bénéfice en termes de progression ou de PFS. L'explication peut être liée au nombre insuffisant de patients inclus dans ce sous-groupe.

Concernant la tolérance, les événements indésirables ont été semblables à ceux déjà rapportés lors d'études précédentes et aucun nouvel élément n'a été signalé en termes d'innocuité (Communiqué Roche, 2009) (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

4.4.3. Conclusion

Dans les études précédentes réalisées sur le bevacizumab, à savoir E2100, AVADO et RIBBON-1, les scientifiques s'étaient attelés à établir le rôle de l'Avastin® en traitement de première ligne du cancer du sein ; bénéfice qui avait été largement démontré dans les trois études avec des résultats homogènes en termes d'efficacité mais également d'innocuité quelle que soit le type de chimiothérapie associée à l'Avastin®.

Cette nouvelle étude était la première étude de phase III sur le traitement de deuxième ligne du cancer du sein. Cette étude a montré que l'association d'un anti-angiogénique à une chimiothérapie classique dans le traitement de deuxième ligne

apportait une amélioration significative dans la prise en charge des malades avec un prolongement de la vie des femmes sans que la maladie ne progresse, tout en en conservant un nombre limité d'effets indésirables. Par conséquent, les résultats de l'étude RIBBON-2 ont montré le nouveau rôle qu'Avastin® pourrait être appelé à jouer en tant que traitement de deuxième ligne du cancer du sein de stade avancé.

L'ajout de l'Avastin® a donc apporté un intérêt bénéfique dans la prise en charge du cancer dans cette étude.

4.5. Étude AVEREL

L'étude AVEREL est une autre étude qui a été réalisée chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique HER2 positif. Le bevacizumab était évalué en traitement de première ligne dans cette étude, avec l'association trastuzumab + docétaxel. L'objectif de l'étude AVEREL était d'évaluer les bénéfices et la tolérance de l'ajout du bevacizumab chez des patientes traitées par du docétaxel et du trastuzumab en situation métastatique HER2 positive (Pierga, 2011).

4.5.1. Présentation de l'étude

L'étude AVEREL a randomisé au total 424 patientes en première ligne métastatique pour un cancer du sein HER2 positif. Elles recevaient soit du bevacizumab associé au docétaxel et au trastuzumab, soit uniquement l'association docétaxel + bevacizumab. Les patientes incluses dans l'étude n'avaient antérieurement pas déjà été traitées au stade métastatique.

Les patientes étaient réparties en deux groupes, avec les doses suivantes :

– dans le groupe bevacizumab + docétaxel + trastuzumab, elles recevaient le trastuzumab à raison de 8 à 6 mg/kg, le docétaxel à 100 mg/kg et le bevacizumab à 15 mg/kg toutes les 3 semaines,

– dans l'autre groupe ayant reçu uniquement l'association, elles recevaient les deux substances aux mêmes dosages que dans le groupe précédent, toutes les 3 semaines également (Pierga, 2011).

4.5.2. Résultats

La survie sans progression n'a pas montré une grande différence lorsqu'elle était évaluée par les investigateurs, celle-ci étant de 13,7 mois pour le groupe ayant reçu uniquement l'association contre 16,5 mois pour le groupe ayant reçu le bevacizumab. En revanche, après évaluation centralisée par un comité indépendant, la différence devenait significative avec 13,9 mois contre 16,8 mois.

Le taux de réponse objective était de 66% pour le groupe sans bevacizumab contre 76,5% pour celui qui avait reçu le bevacizumab + l'association.

La survie globale n'avait pas montré de différence significative.

En ce qui concerne la tolérance, les effets indésirables survenus ont été globalement les mêmes que ceux rencontrés dans les études précédemment menées. Ils étaient donc attendus pour le bevacizumab (Pierga, 2011).

4.5.3. Conclusion

L'étude AVEREL est une des seules études qui ait été réalisée sur des patientes présentant un cancer du sein HER2 positif. Les bénéfices obtenus avec l'ajout du bevacizumab au traitement habituel de ce type de cancer (à savoir trastuzumab + docétaxel) ont été relativement limités, montrant une amélioration de la survie sans progression assez faible. D'autre part, la tolérance restait la même que pour les autres études.

Il faut noter qu'une analyse en sous-groupe selon le taux plasmatique de VEGF-A montrait que le bénéfice du bevacizumab était surtout significatif dans le groupe de patientes ayant un taux de VEGF-A élevé, ce qui rappelle bien le principe d'action de l'Avastin® et l'importance de la présence du VEGF pour assurer son efficacité.

L'ajout de l'Avastin® a donc un intérêt plus limité dans la prise en charge des cancers de cette étude.

4.6. Étude ATHENA

L'étude ATHENA est une étude de phase IIIb réalisée sur des patientes atteintes de cancer du sein métastatique. Les principales études qui avaient été précédemment réalisées sur le bevacizumab concernaient majoritairement l'évaluation des bénéfices apportés par celui-ci dans la prise en charge des cancers du sein. Dans cette étude, l'objectif est bien sûr d'étudier l'efficacité de l'Avastin® mais il est également et surtout d'évaluer la tolérance du bevacizumab en association aux taxanes en traitement de première ligne dans le cancer du sein métastatique (Hardy-Bessard *et al.*, 2012).

4.6.1. Présentation de l'étude

L'étude ATHENA est une étude internationale de phase IIIb, menée chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique traité en première ligne par bevacizumab + chimiothérapie à base de taxanes.

L'étude a inclus au total 2 251 patients dans différents pays. En ce qui concerne la France, 365 patients ont été inclus âgés de 24 à 93 ans, soit un âge médian de 56 ans.

Le bevacizumab était principalement associé au docétaxel à raison de 37,3% ou au paclitaxel pour 28,8% ou à une association à base de taxanes pour 9,4%.

L'incidence, le type et la fréquence de survenue des évènements hémorragiques post-chirurgicaux et des complications de la cicatrisation ont été évalués. Les recommandations étaient de maintenir l'administration du bevacizumab pendant au moins 6 semaines avant une intervention chirurgicale et d'attendre 28 jours (ou jusqu'à ce que la plaie ait été complètement guérie) après une chirurgie majeure avant de recommencer le bevacizumab (Hardy-Bessard *et al.*, 2012).

4.6.2. Résultats

Dans cette étude, on a rapporté 6 patients, soit 0,9%, qui ont subi un évènement hémorragique important parmi ceux ayant été opérés et un seul patient (0,1%) qui a connu un évènement hémorragique de grade 4. Il n'a pas été rapporté d'évènements hémorragiques de grade 5 chez les patients ayant subis une intervention chirurgicale (Cortés, 2012).

L'incidence des complications de cicatrisation de grade 3-4 a été de 2,2% et de 1,3% chez les patients subissant une intervention chirurgicale majeure ou mineure, respectivement.

A noter que l'événement indésirable le plus fréquent de grade supérieur ou égal à 3 était la neutropénie (34,5%). Les effets secondaires de grade supérieur ou égal à 3 liés au bevacizumab étaient : thromboembolies artérielles ou veineuses (5,1%), hypertension artérielle (4,2%), protéinurie (2,3%) et hémorragie (2%).

Le temps jusqu'à progression médian était de 9,5 mois (Hardy-Bessard *et al.*, 2012).

4.6.3. Conclusion

L'étude ATHENA avait pour objectif d'évaluer en particulier la tolérance du bevacizumab associé à un taxane dans la prise en charge du cancer du sein métastatique. Les résultats obtenus montrent une incidence des effets indésirables légèrement supérieure à celle observée sans l'ajout du bevacizumab, avec des évènements qui restent de grade relativement faible et qui peuvent être pris en charge assez facilement.

Le profil de tolérance et l'efficacité de bevacizumab-taxanes sont donc comparables à ceux rapportés dans les essais randomisés précédents, qui se résument par une légère augmentation des évènements secondaires survenus avec l'ajout du bevacizumab aux traitements classiques de chimiothérapie.

L'étude montre également qu'il est possible de réaliser une chirurgie sur des patients subissant une thérapie avec bevacizumab, avec un faible risque d'hémorragie grave ou de complications de cicatrisation après la chirurgie, si les recommandations actuelles d'étiquetage sont respectées.

4.7. Résumé et conclusion sur l'intérêt de l'ajout de l'Avastin® dans les protocoles thérapeutiques actuels

Parmi les différentes études que nous venons de décrire, nous avons pu observer que dans la majorité des cas, l'ajout du bevacizumab présentait un intérêt bénéfique majeur dans la prise en charge des cancers du sein.

En effet, les trois premières études réalisées, de phase III, à savoir l'étude E2100, AVADO et RIBBON-1 ont toutes les trois confirmé l'apport important du bevacizumab dans les protocoles thérapeutiques classiques. Toutes menées en traitement de première ligne du cancer du sein, HER2 négatif, le bevacizumab a permis une nette amélioration de survie sans progression ainsi qu'une survenue d'effets indésirables de grade important raisonnable. Il a donc montré qu'il apportait une amélioration de la prise en charge de la maladie qu'il soit administré avec le paclitaxel (E2100), le docétaxel (AVADO) ou bien d'autres chimiothérapies classique comme notamment la capécitabine (RIBBON-1).

Une autre étude, RIBBON-2, a été menée en traitement de deuxième ligne cette fois-ci chez des patientes présentant un cancer du sein HER2 négatif. Les résultats obtenus ont également vanté les bénéfices de l'ajout du bevacizumab à des chimiothérapies classiques. Ce résultat est significatif en ce sens que la plupart des femmes avec cancer du sein de stade avancé présentent une aggravation de leur maladie dès que leur chimiothérapie initiale n'agit plus et que, jusqu'à présent, la seule option disponible pour ces patientes était une reprise de chimiothérapie.

Les deux dernières études présentées dans ce chapitre ont cependant révélé des résultats un peu moins significatifs que les précédentes. L'étude AVEREL a montré des bénéfices limités de l'ajout du bevacizumab en traitement de première ligne du cancer du sein HER2 positif cette fois-ci, associé au trastuzumab et au docétaxel habituellement utilisés dans le traitement de ce type de cancer. Il en est de même pour l'étude ATHENA qui était en charge d'évaluer la tolérance de l'ajout du bevacizumab au traitement de première ligne, associé aux taxanes. Les effets indésirables se sont révélés être légèrement augmentés avec l'ajout du bevacizumab, ce qui confirme les résultats obtenus dans toutes les études précédentes également.

Dans l'ensemble de ces études, à l'exception de AVEREL dans laquelle les résultats sont moins significatifs, l'ajout du bevacizumab aux protocoles thérapeutiques actuels de traitement du cancer du sein a permis une augmentation de la survie sans progression et des effets secondaires maitrisés. Le pronostic vital des malades se voit donc revu à la hausse également.

Par conséquent, c'est suite à ces différentes études et notamment le premier essai de phase III, E2100, que les scientifiques ont abouti à l'enregistrement du bevacizumab en première ligne de traitement chez des patientes avec un cancer du sein métastatique non précédemment traité, en association avec le paclitaxel hebdomadaire (EMA, 2012). Cette association semblait d'autant plus intéressante que des études précliniques suggèrent une potentielle activité anti-angiogénique au paclitaxel hebdomadaire. En effet, l'étude avait montré que les femmes souffrant de cancer du sein métastatique ont la possibilité de vivre deux fois plus longtemps sans que leur cancer progresse en recevant Avastin® combiné au paclitaxel, par rapport à un traitement par le paclitaxel seul. A cette époque, Avastin® était le premier et seul agent anti-angiogénique dont il avait été montré qu'il entraînait régulièrement une amélioration de la survie globale et/ou un avantage en termes de survie sans progression chez des patients souffrant de cancer colorectal, de cancer du poumon, de cancer du sein et de cancer du rein. Les scientifiques portaient donc beaucoup d'espoir sur cette nouvelle molécule, espoirs qui avaient été confirmés.

Williams M. Burns, CEO de la division Pharma de Roche, a déclaré à ce propos: « Cette décision représente une étape importante sur la voie qui doit permettre aux patientes atteintes de cancer du sein ainsi qu'à la communauté médicale d'accéder largement, en Europe, à un nouveau traitement anti-cancéreux hautement efficace. Avastin® a en effet donné, dans le traitement de cette maladie, d'excellents résultats en termes de survie sans progression. Venant après l'homologation, il y a deux ans, de cet anti-cancéreux dans le traitement de première ligne du cancer colorectal métastatique, la décision du CHMP (Comité des médicaments à usage humain) confirme qu'Avastin® est potentiellement en mesure de devenir un élément à part entière de l'arsenal thérapeutique déployé pour combattre toute une série de tumeurs ».

Comme nous l'avons déjà vu, le cancer du sein est un problème de santé majeur que les médecins ont à cœur de pouvoir traiter avec plus d'efficacité tout en limitant les effets indésirables engendrés par les différentes substances administrées aux patients. Les études réalisées sur le bevacizumab ont permis d'envisager un avenir plus optimiste concernant la prise en charge du cancer du sein, grâce à l'autorisation de mise sur le marché de l'Avastin® obtenue par le laboratoire Roche.

William M. Burns avait également rajouté : « Roche s'emploie à rendre meilleure la vie des patientes souffrant de cancer du sein. Une nouvelle étape significative a été franchie pour les femmes avec un cancer du sein ». (Communiqué Roche, 2009).

5. Autorisations de mise sur le marché (AMM) de l'Avastin® en France dans le traitement du cancer du sein

L'Avastin® a d'abord obtenu une AMM centralisée au mois de Janvier 2005.

Comme vu ci-dessus, il a ensuite obtenu l'AMM dans le traitement de première ligne du cancer du sein métastatique en association avec le paclitaxel, ceci en Avril 2007 sur la base de l'étude E2100. Suite à cette étude, et cette fois-ci sur la base de l'étude AVADO réalisée ensuite, l'utilisation de l'Avastin® a été élargie au traitement de première ligne du cancer du sein métastatique en association avec le docétaxel, en Juillet 2009. Cependant, les données concernant l'association au docétaxel n'avaient pas été déposées à la Commission de la Transparence. Par conséquent, après un examen de ces données, effectué un peu plus tard, l'indication de l'Avastin® en association au docétaxel dans le traitement du cancer du sein avait été retirée en Décembre 2010.

D'autre part, la molécule a également obtenu une AMM en association avec la capécitabine, dans le traitement de première ligne du cancer du sein métastatique, pour lesquels un traitement avec d'autres options de chimiothérapie incluant des taxanes ou des anthracyclines n'est pas considéré comme approprié. Les patients ayant reçus un traitement à base de taxanes et d'anthracyclines en situation adjuvante au cours des 12 derniers mois, doivent être exclus d'un traitement par

Avastin® en association à la capécitabine. Cette autorisation de mise sur le marché a été délivrée en Juillet 2011 (RBU, 2012).

6. Avis et encadrement de l'utilisation de l'Avastin®

6.1. Étude sur l'utilisation de l'Avastin® en monothérapie

L'utilisation de l'Avastin® en monothérapie d'emblée a été évaluée dans une étude menée chez des femmes atteintes de cancer du sein métastatique.

L'objectif de cette étude était de déterminer l'efficacité et la tolérance du bevacizumab lorsqu'il est utilisé seul en monothérapie d'emblée, dans les cancers prétraités.

Les critères principaux pris en compte étaient la tolérance et le taux de réponse (RBU, 2012).

6.1.1. Présentation de l'étude

C'est une étude de phase I/II d'escalade de dose du bevacizumab en monothérapie toutes les 2 semaines.

Au total, l'essai a inclus 75 patientes qui ont reçu trois doses différentes de bevacizumab :

- un premier groupe de 18 patientes avec du bevacizumab à 3 mg/kg,
- un deuxième groupe de 41 patientes ayant reçu du bevacizumab à la dose de 10 mg/kg,
- un troisième groupe comprenant 21 patientes ayant reçu du bevacizumab à 20 mg/kg.

Le bevacizumab a été administré jusqu'à progression de la maladie (RBU, 2012).

6.1.2. Résultats

La réponse complète a été nulle pour les groupes à 3 et 20 mg/kg et elle était de 2,4% pour le groupe à 10 mg/kg.

La réponse partielle était de 5,6% pour le groupe à 3 mg/kg contre 9,8% pour le groupe à 10 mg/kg et 6,3% pour le dernier groupe.

La réponse de la maladie stable à 22 semaines était respectivement de 11, 17 et 19%.

La durée médiane de réponse était respectivement de 3,1 ; 5,5 et 8 mois.

Enfin, la médiane de survie était de 14 mois pour le groupe à 3 mg/kg, 12,8 mois pour le groupe à 10 mg/kg et 7,6 mois pour le groupe à 20 mg/kg.

En ce qui concerne la toxicité, on a observé une incidence des évènements indésirables qui était très aléatoire comme les résultats précédents et non exponentielle avec l'augmentation de la dose du bevacizumab. Les effets indésirables rencontrés étaient l'hypertension artérielle, la protéinurie, et quelques cas de thromboses, insuffisance cardiaque et céphalées (RBU, 2012).

6.1.3. Conclusion

L'étude a montré une certaine activité du bevacizumab dans le traitement du cancer du sein, cependant, on remarque que les réponses obtenues ne sont pas proportionnelles aux doses administrées, ce qui pose problème quant à la prédiction de la réponse au traitement. Concernant la tolérance, elle a été correcte avec dans l'ensemble peu d'effets secondaires rencontrés mais là encore une incidence très aléatoire qui fait défaut. Enfin, le critère principal et le plus significatif de cette étude était la médiane de survie, hors, celle-ci est inversement corrélée à la dose de bevacizumab administré.

Au vu de ces résultats, l'utilisation du bevacizumab en monothérapie d'emblée dans le cancer du sein métastatique ne peut donc pas être envisagée car les bénéfices obtenus sont inférieurs et trop aléatoires par rapport aux autres alternatives thérapeutiques. Par conséquent, l'utilisation du bevacizumab dans cette situation n'est pas acceptable actuellement (RBU, 2012).

6.2. Avis de la Commission de la Transparence du 25 Mai 2011

Suite à l'autorisation de mise sur le marché obtenue en 2007 pour l'Avastin® en association avec le paclitaxel suite aux résultats observés dans l'étude E2100, et

dans l'optique de l'autorisation en association avec la capécitabine, la Commission de la Transparence a décidé de réévaluer le Service Médical Rendu (SMR) et l'Amélioration du Service Médical Rendu (ASMR) du bevacizumab dans l'indication « Traitement de première ligne, chez les patients atteints de cancer du sein métastatique, en association au paclitaxel » en application de l'article R 163-21 du code de la Sécurité Sociale.

Pour ce faire, il a donc été fait une évaluation des nouvelles études réalisées sur l'ajout du bevacizumab aux chimiothérapies classiques et notamment aux taxanes. La haute autorité de santé (HAS) déclare ainsi que les résultats sur la médiane de survie sans progression du groupe traité par bevacizumab en association à un taxane dans les études AVADO (docétaxel) et RIBBON-1 (docétaxel ou paclitaxel) n'ont pas confirmé l'ampleur de l'amélioration de la survie sans progression observée dans l'essai E2100 où le bevacizumab a été associé au paclitaxel. D'autre part, elle signale également qu'aucune amélioration de la survie globale n'a été observée dans les groupes traités par bevacizumab en association à un taxane et ceci quel que soit le taxane utilisé (paclitaxel ou docétaxel). Enfin, elle rajoute que l'ajout de l'Avastin® à la chimiothérapie a entraîné une augmentation de l'incidence des événements indésirables graves ainsi que ceux de grades 3-5.

En résumé, selon les différentes études et l'avis de l'HAS qui présente des limites aux résultats obtenus dans les dernières études, l'impact du bevacizumab en association au paclitaxel sur la morbi-mortalité et la qualité de vie liée au cancer du sein métastatique n'est pas établi. En traitement de première ligne du cancer du sein métastatique, l'HAS considère que l'Avastin® n'apporte pas de réponse supplémentaire majeure et significative par rapport aux autres alternatives thérapeutiques déjà existantes. De ce fait, la réponse rendue par la Commission de la Transparence est un SMR faible.

En ce qui concerne l'ASMR, la Commission de la Transparence considère qu'Avastin® n'apporte pas d'amélioration du service médical rendu (niveau V) dans la prise en charge des patients atteints d'un cancer du sein métastatique, de statut HER2 négatif ou non éligibles à un traitement par Herceptin® (HAS, 2011).

6.3. Conclusion

Nous pouvons donc remarquer que le bevacizumab possède des restrictions d'utilisation.

En effet, en premier lieu, il convient de préciser la restriction qui est posée pour l'utilisation du bevacizumab en monothérapie. Comme le montre l'étude réalisée dans cette indication, le bevacizumab ne doit pas être utilisé en monothérapie d'emblée dans le traitement du cancer du sein métastatique au vu des résultats insatisfaisants et trop aléatoires que cette utilisation apporte. Il doit donc toujours être utilisé en association avec une autre chimiothérapie classique, comme dans ses deux AMM où il est utilisé avec le paclitaxel ou la capécitabine. Néanmoins, l'Avastin® peut cependant être poursuivi en monothérapie d'entretien uniquement après un traitement de première ligne en association au paclitaxel dans les cancers du sein métastatiques.

En second temps, l'HAS mentionne un SMR limité de l'Avastin® dans la prise en charge du cancer du sein métastatique en association avec le paclitaxel. Malgré les résultats des différentes études réalisées sur le bénéfice de l'ajout du bevacizumab aux chimiothérapies classiques, il est vrai que l'amélioration de la survie sans progression reste assez faible, tout comme la survie globale qui reste inchangée avec l'ajout de cette nouvelle substance. L'amélioration de la prise en charge des patients est présente mais reste quand même limitée selon l'HAS. De plus, on a noté également une augmentation du nombre d'effets indésirables suite à l'ajout du bevacizumab, hausse qui reste raisonnable mais qui est quand même à prendre en considération, notamment en ce qui concerne la qualité de vie des patients lors du traitement de la maladie.

Par conséquent, l'utilisation de l'Avastin® va être limitée à certains types de cancers qui ont un mauvais pronostic même avec les thérapeutiques proposées jusqu'à présent. Les cancers du sein qui possèdent déjà un protocole thérapeutique et des médicaments présentant des bénéfices importants dans leur protocole de traitement vont être écartés de l'utilisation de l'Avastin® pour limiter notamment les effets secondaires qui pourraient se manifester.

Comme nous l'avons déjà décrit précédemment, il existe différents types de cancer du sein. On trouve notamment les cancers du sein qui sont dits

hormonodépendants, chez lesquels les médicaments les plus utilisés appartiennent à l'hormonothérapie qui possède des bénéfices très bien établis et améliore donc considérablement le pronostic de ces cancers. D'autre part, on trouve le cancer du sein à récepteurs HER2 positifs. Au départ, celui-ci présentait un très mauvais pronostic car il n'existait pas de médicaments ciblant spécifiquement ces récepteurs. Plus tard, on a vu apparaitre une nouvelle molécule, le trastuzumab, plus connu sous le nom de Herceptin®, qui est une thérapie ciblée sur ces récepteurs HER2 positifs, et qui a donc considérablement amélioré le pronostic de ces cancers. Enfin, le troisième type de cancer souvent rencontré est le cancer dit triple négatif, c'est-à-dire à récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la progestérone négatifs et aux récepteurs HER2 négatifs également. Pour ce type particulier de cancer, il n'existe pas de médicament spécifique comme dans les deux autres car tous les récepteurs sont absents, le pronostic est donc très mauvais et c'est ici que le bevacizumab va donc trouver sa place. En effet, même avec l'utilisation des thérapeutiques chimiothérapiques classiques, le cancer triple négatif garde un pronostic très mauvais du fait de sa non spécificité de ses récepteurs qui ne peuvent donc pas être pris pour cible dans les protocoles de prise en charge, ce qui constitue à l'heure actuelle une limite dans les traitements classiques. Par conséquent, l'Avastin® trouve sa place dans la prise en charge de ce type de cancer car il permet d'améliorer ici la survie, même si les bénéfices ne sont pas énormes. Il trouve un avantage car les améliorations engendrées par son ajout vont être ici plus significatives face aux déboires des thérapies actuelles, avec des effets indésirables qui vont rester limités. Le rapport bénéfice/risque dans les cancers triple négatifs est plus élevé que dans les autres types de cancer.

Les experts s'accordent donc pour dire que la place de l'Avastin® serait limitée aux cas des patientes triples négatives. En effet, dans cette situation, l'hormonothérapie n'a pas d'indication et la chimiothérapie est peu efficace.

7. Protocoles thérapeutiques actuels d'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein

Comme nous l'avons décrit ci-dessus, la place de l'Avastin® dans la thérapeutique anti-cancéreuse du cancer du sein se situe dans le traitement des cancers triple négatifs pour lesquels les autres traitements déjà existants ont une efficacité limitée.

Les protocoles thérapeutiques classiques ont été décrits dans les chapitres précédents. Il convient ici de préciser que :

- s'il n'y a pas de facteurs de mauvais pronostic et si le cancer possède des récepteurs hormonaux, le traitement de première ligne peut être une hormonothérapie seule, notamment chez les patientes âgées ou avec des comorbidités,
- au contraire, s'il y a des facteurs de mauvais pronostic, le traitement de première ligne est la chimiothérapie. Si en plus les récepteurs hormonaux sont présents, l'hormonothérapie peut être associée à la chimiothérapie de manière séquentielle, et de plus :

– si la tumeur est HER2 positive : le traitement de première ligne recommandé est le trastuzumab associé au paclitaxel ou docétaxel,

– si la tumeur est HER2 négative : on utilise alors des polychimiothérapies à base d'anthracyclines et de taxanes. Si la patiente a déjà été traitée préalablement par des anthracyclines, on associe alors un taxane à la capécitabine. En cas d'échec, la vinorelbine, la gemcitabine sont alors utilisées (HAS, 2011).

Les traitements classiques utilisés dans la prise en charge des patientes HER2 négatives font face à un nombre assez conséquent d'échecs, et notamment chez les cancers dits triple négatifs. Comme expliqué, c'est ici que l'Avastin® trouve sa place actuelle.

Il existe différents protocoles d'utilisation du bevacizumab pour le traitement du cancer du sein.

7.1. Protocole Avastin® 14 jours

Indication : traitement d'entretien du cancer du sein métastatique après un traitement associant le bevacizumab au paclitaxel ou à la capécitabine (AMM).

Il est utilisé de J1 à J15 à raison de 10 mg/kg à J1 par voie IV (intraveineuse). La première cure dure 1h30, la seconde 1h et les suivantes 30min.

Potentiel émétisant : très faible

Traitement antiémétique recommandé : rien (Réseau Onconormand, 2013).

7.2. Protocole Avastin® 21 jours

Indication : traitement d'entretien du cancer du sein métastatique après un traitement associant le bevacizumab au paclitaxel ou à la capécitabine (AMM).

Il est utilisé de J1 à J22 à raison de 15 mg/kg à J1 par voir IV. Les cures ont la même durée que le protocole précédent.

Potentiel émétisant : très faible

Traitement antiémétique recommandé : rien (Réseau Onconormand, 2013).

7.3. Protocole Avastin® 21 jours + capécitabine (Xeloda®)

Indication : traitement de 1ère ligne du cancer du sein métastatique chez des patients pour lesquels un traitement avec d'autres options de chimiothérapie incluant des taxanes ou des anthracyclines n'est pas considéré comme approprié; les patients ayant reçus un traitement à base de taxanes et d'anthracyclines en situation adjuvante au cours des 12 derniers mois doivent être exclus de ce traitement (AMM).

Il est utilisé de J1 à J22 à raison de 15 mg/kg de bevacizumab à J1 et 1 250 mg/m^2 2 fois par jour pour la capécitabine de J1 à J14. L'administration du bevacizumab se fait par voie IV sur le même principe de cures que les précédents. Celle de la capécitabine se fait par voie orale.

Recommandations d'utilisation de la capécitabine :

- respecter un intervalle de 12h entre les prises,

– prendre au cours d'un repas ou dans les 30min suivant la prise alimentaire.

Potentiel émétisant : faible

Traitement antiémétique recommandé :

– phase aiguë : corticoïde J1 (voire pas de traitement antiémétique selon avis d'experts),

– phase retardée : rien (Réseau Onconormand, 2013).

7.4. Protocole Avastin® 14 jours + paclitaxel hebdomadaire

Indication : traitement de 1ère ligne du cancer du sein métastatique (AMM).

Il est utilisé de J1 à J15 à raison de 10 mg/kg de bevacizumab à J1 et 80 mg/m^2 de paclitaxel de J1 à J8. L'administration du bevacizumab est toujours la même, et le paclitaxel est administré par voie IV d'1h.

Dose cumulative maximale de paclitaxel : 1 000 mg/m^2

Concentration finale de la solution de paclitaxel : comprise entre 0,3 et 1,2 mg/ml

Potentiel émétisant : faible

Traitement antiémétique recommandé :

– phase aiguë : corticoïde J1 J8,

– phase retardée : rien (Réseau Onconormand, 2013).

7.5. Protocole Avastin® 21 jours + paclitaxel

Indication : traitement de 1ère ligne du cancer du sein métastatique (AMM).

Il est utilisé de J1 à J22 à raison de 15 mg/kg de bevacizumab à J1 et 175 mg/m^2 de paclitaxel à J1 également. L'administration du bevacizumab reste la même et le paclitaxel est administré par voie IV de 3h.

Dose cumulative maximale de paclitaxel : 1 000 mg/m^2

Concentration finale de la solution de paclitaxel : comprise entre 0,3 et 1,2 mg/ml

Potentiel émétisant : faible

Traitement antiémétique recommandé :

- phase aiguë : corticoïde J1,
- phase retardée : rien (Réseau Onconormand, 2013).

8. Posologies de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein et modalités d'administration

D'une manière générale, l'administration d'Avastin® doit être faite sous le contrôle d'un médecin expérimenté dans l'utilisation des agents antinéoplasiques.

Une réduction de dose n'est pas recommandée en cas de survenue d'effets indésirables. Si nécessaire, le traitement doit être soit arrêté de façon définitive, soit suspendu de façon temporaire.

8.1. Posologies utilisées pour le cancer du sein métastatique

Avastin® est recommandé à la posologie de 10 mg/kg de poids corporel administré une fois toutes les 2 semaines ou à la posologie de 15 mg/kg de poids corporel administré une fois toutes les 3 semaines, en perfusion intraveineuse (HAS, 2011).

Il est recommandé de poursuivre le traitement jusqu'à la progression de la maladie sous-jacente ou une toxicité inacceptable (RCP).

8.2. Posologies pour les populations particulières

8.2.1. Sujets âgés

Il n'est pas nécessaire d'adapter la dose chez le sujet âgé (RCP).

8.2.2. Insuffisants rénaux et hépatiques

La tolérance et l'efficacité n'ont pas été étudiées chez les patients insuffisants rénaux et hépatiques (RCP).

8.2.3. Population pédiatrique

La sécurité et l'efficacité du bevacizumab chez les enfants et les adolescents n'ont pas été établies. Il n'y a cependant pas d'utilisation justifiée du bevacizumab dans la population pédiatrique pour les indications autorisées (RCP).

8.3. Modalités d'administration

La dose initiale doit être administrée par une perfusion intraveineuse de 90 minutes. Si la première perfusion est bien tolérée, la deuxième perfusion peut être administrée en 60 minutes. Si la perfusion administrée en 60 minutes est bien tolérée, toutes les perfusions ultérieures pourront être administrées en 30 minutes. Les protocoles présentés auparavant respectent bien ce principe, 1h30, 1h puis 30 min pour les cures suivantes.

Ne pas administrer par voie IV rapide ou en bolus (RCP).

9. Controverses à propos de l'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein

De nombreuses études ont permis de mettre en évidence les bénéfices plus ou moins importants qu'apporte l'ajout de l'Avastin® aux chimiothérapies classiques dans le traitement du cancer du sein. La Haute Autorité de Santé a par la suite émis des limites dans l'utilisation de cette nouvelle molécule vite considérée comme révolutionnaire en présentant un service médical rendu faible. Néanmoins, l'Avastin® conserve une place importante aujourd'hui dans la prise en charge des cancers du sein en France et notamment pour les cancers particuliers dits triple négatifs.

Cependant, cet avis n'est pas du goût de tout le monde ! En effet, l'Avastin® fait face à de nombreuses critiques par rapport à son rapport bénéfice/risque qui ont entrainé des retraits de l'autorisation de mise sur le marché dans d'autres pays du monde. L'augmentation du nombre d'effets indésirables potentiellement graves est largement mise en cause également dans ces controverses.

9.1. Retrait de l'AMM de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein par l'Agence Américaine des Médicaments (FDA)

Suite à l'autorisation de mise sur le marché octroyée à l'Avastin® en 2007 en France au vu des résultats obtenus dans l'étude E2100, L'Agence Américaine des Médicaments avait également attribué à celui-ci une AMM dans le cancer du sein en association au paclitaxel. Cette homologation avait été réalisée grâce à une procédure d'autorisation accélérée sur la base également de l'étude E2100, ceci en Février 2008. Cependant, la FDA avait exigé de l'industriel de fournir des données supplémentaires pour confirmer et décrire les bénéfices (HAS, 2011).

Quatre études supplémentaires ont été réalisées par la suite, dont les résultats ont été fournis à la FDA. Mais en Novembre 2011, après avoir entendu l'industriel et sur la base des résultats obtenus lors des nouvelles études, la FDA a décidé de retirer la procédure d'homologation accélérée précédemment accordée au bevacizumab pour le traitement du cancer du sein métastatique (Neyt et Hulstaert, 2012) (FDA, 2011). Les experts estimaient que l'Avastin® n'offrait pas de bénéfices assez suffisants au regard de ses risques importants. En effet, dans les différentes études menées, les risques comprenaient des crises cardiaques, des hypertensions artérielles, des hémorragies potentiellement fatales, des perforations gastro-intestinales, la formation de caillots, autant d'effets non souhaités qui avaient été répertoriés en nombre limité mais qui suffisaient à la FDA pour affirmer que les bénéfices chez les patients étaient trop limités pour justifier de tels risques. De plus, les études supplémentaires n'ont pas confirmé que l'allongement de la survie sans progression était aussi important que ne le suggérait la première étude E2100 (Neyt et Hulstaert, 2012).

Plus en détails, selon la FDA, sur les cinq études qui lui ont été soumises pour soutenir l'indication du bevacizumab dans le traitement du cancer du sein, elle a conclu que le médicament ne s'était pas montré sûr et efficace. Aucune de ces études n'a montré de bénéfice en termes de survie globale ou d'amélioration de la qualité de vie. Aucune des trois études, AVADO, RIBBON-1 et RIBBON-2, n'a réussi à reproduire ou se rapprocher du gain démontré en termes de survie sans progression par l'étude E2100. De plus, il se produit une augmentation du nombre d'effets indésirables (Neyt et Hulstaert, 2012). Il n'a pas été démontré qu'Avastin®

pourrait fournir un avantage, en termes de retard dans la croissance tumorale, qui justifierait ces risques.

C'est finalement suite à la clôture du dossier d'examen des nouvelles études réalisées sur la molécule que la FDA décide d'interdire l'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein métastatique en Novembre 2011. Cette décision ne concerne que les Etats-Unis et pas les 80 autres pays dans lesquels l'Avastin® est toujours indiqué pour cette utilisation. Toutefois, les autres indications qui sont attribuées au bevacizumab ne sont pas concernées par cette révocation, il pourra donc être toujours prescrit pour le cancer du côlon, du poumon, du rein et des tumeurs cérébrales. La décision finale de retrait de l'AMM de l'Avastin® pour l'utilisation dans le traitement du cancer du sein répond donc à une augmentation trop importante des effets indésirables selon la FDA avec des preuves d'efficacité qui n'ont montré qu'un bénéfice limité. L'Agence Américaine estime donc que le profil bénéfice/risque de la molécule ne peut pas être considéré comme positif (Neyt et Hulstaert, 2012).

A noter qu'à la suite de la décision de la FDA, l'EMA a imposé en Décembre 2011 l'arrêt de l'utilisation de l'Avastin® en association au docétaxel dans le traitement du cancer du sein métastatique, mais elle a maintenu en revanche son utilisation en association avec le paclitaxel (HAS, 2011).

Une des réponses donnée par le groupe Genetech, en charge de la fabrication du bevacizumab, serait que les écarts observés entre les résultats de l'étude E2100 et ceux des autres études seraient expliqués par le fait que le produit est plus efficace lorsqu'il est associé au paclitaxel qu'à d'autres médicaments de chimiothérapie. Cette affirmation n'a pas été vérifiée par de quelconques études mais elle concorde avec la décision de l'EMA de conserver l'AMM de l'Avastin® en association avec le paclitaxel. D'autre part, le laboratoire rappelle que le bevacizumab montre un rapport bénéfice/risque favorable chez les patientes atteintes de cancer du sein triple négatif. Pour sa défense, le laboratoire Roche déclare à son tour que l'Avastin® représente parfois la dernière chance pour ces patientes dont les traitements plus classiques connaissent une impasse et qu'il est toujours utilisé en association pour permettre davantage d'efficacité.

La décision de la FDA fait donc débat car le retrait de l'AMM fait face à des résultats certes limités mais qui permettent cependant d'offrir un espoir supplémentaire à certaines patientes.

9.2. Retrait de l'AMM de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein par le Canada

L'homologation conditionnelle pour l'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein métastatique avait été délivrée en Février 2009 par Santé Canada à la suite des premières études menées sur cette nouvelle molécule. Comme pour la FDA, Santé Canada avait cependant émis des réserves concernant cette autorisation en attendant des études de confirmation des bienfaits apportés par le bevacizumab.

Quelques temps plus tard, les résultats obtenus par l'agence canadienne ne satisferont pas ses demandes car Santé Canada a pris la décision de révoquer elle-aussi l'homologation de l'Avastin® pour le traitement du cancer du sein métastatique. Comme pour les Etats-Unis, le retrait ne concerne que le cancer du sein et la molécule pourra donc continuer d'être utilisée dans d'autres types de cancers. Avastin® reste autorisé au Canada pour traiter les cancers métastatiques du colon, du rectum et du poumon, ainsi qu'un certain type de cancer du cerveau (glioblastome).

Devant les résultats des études, Santé Canada a conclu que non seulement, le bevacizumab ne diminue pas de façon significative la taille d'une tumeur et ne prolonge pas la vie, mais il peut également entraîner des effets indésirables graves et potentiellement mortels, comme des crises cardiaques, l'hypertension grave, des saignements et des petites fissures au niveau de certains organes (par exemple le nez, l'estomac et les intestins). Il existe au Canada plusieurs autres solutions pour le traitement du cancer du sein métastatique qui sont aussi - sinon plus - efficaces qu'Avastin® et comportent moins de risques. Les affirmations rendues par Santé Canada s'appuient également sur les données de la FDA, celles du fabricant et de l'EMA rendues auparavant.

Santé Canada a aussi tenu compte de conseils d'un groupe consultatif d'experts indépendants, convoqué en Mars 2011 à la demande du Ministère. Le groupe, composé d'oncologues, de chercheurs et de défenseurs des droits des personnes atteintes du cancer du sein, a conclu à l'unanimité que les risques associés à l'utilisation d'Avastin® l'emportent haut la main sur ses bienfaits potentiels et que, selon les données actuelles, il ne valait pas la peine de continuer à l'offrir comme option de traitement.

La décision de Santé Canada fait donc rappel à celle de l'Agence Américaine précédemment rendue, sur les mêmes critères d'évaluation, à savoir un bénéfice et une sécurité d'utilisation qui sont limités par rapport aux risques encourus par les patients au regard des effets secondaires qui peuvent survenir (Canada, 2013).

9.3. Méfiances vis-à-vis de l'Avastin® pour le traitement du cancer du sein en Belgique

Sans grande surprise suite aux désaveux des précédents pays, le Centre fédéral d'Expertise des Soins de Santé (KCE) a décidé également de déconseiller le recours à l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein métastatique en Juillet 2013.

L'anticorps qui avait suscité d'immenses espoirs lors de sa mise sur le marché n'a pas entièrement tenu ses promesses d'après le comité d'expertise. La prolongation de la vie qui était de 5,5 mois dans l'étude E2100 n'a pas été confirmée dans les études supplémentaires et des effets indésirables sont venus se greffer en plus (Fondation contre le cancer, 2013).

L'Avastin® est donc déconseillé en Belgique pour le traitement du cancer du sein. Il reste cependant utilisé dans d'autres types de cancers.

9.4. Effets indésirables du bevacizumab et leur prise en charge

Que ce soit dans les autres pays du monde ou même en France, les effets secondaires engendrés par l'utilisation du bevacizumab représentent un point important qui est responsable de nombreuses controverses. En effet, ces effets

indésirables parfois potentiellement graves constituent une limite majeure dans l'utilisation de cette molécule, qui a entrainé comme nous l'avons vu auparavant des retraits de l'autorisation de mise sur le marché. En France, bien que l'AMM de l'Avastin® soit toujours d'actualité dans le traitement du cancer du sein, la survenue de ces effets non souhaités est toujours au centre de polémiques à propos de la sécurité d'emploi de cette nouvelle thérapeutique ciblée. L'HAS avait notamment signalé dans son avis de 2011 l'augmentation du nombre d'effets indésirables avec l'ajout du bevacizumab.

La liste des effets indésirables qui sont attribuables à l'Avastin® est basée sur les effets rencontrés lors des différentes études qui ont été réalisées sur différents types de tumeurs malignes sur un très grand nombre de patients. Les effets indésirables qui sont le plus souvent rencontrés sont l'hypertension artérielle, la protéinurie, les hémorragies muqueuses mineures telles que des épistaxis, l'asthénie, les diarrhées ainsi que les douleurs abdominales. Cependant, il existe également des effets secondaires plus graves qui peuvent être des perforations gastro-intestinales, des hémorragies et des thromboembolies artérielles.

9.4.1. Effets indésirables les plus fréquents

9.4.1.1. Hypertension artérielle (HTA)

L'hypertension artérielle est l'effet indésirable le plus fréquemment rencontré chez les patients traités par bevacizumab. Son ajout dans les études cliniques réalisées montre une augmentation de l'incidence de l'hypertension de tous grades chez environ 22% des patients traités par la molécule. Il existe également des cas d'hypertension de grades 3 et 4 qui peuvent varier de 1 jusqu'à 18% des patients traités (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012). Il faut savoir que l'hypertension artérielle engendrée par le bevacizumab est dose-dépendante, il convient donc d'essayer de limiter les doses administrées pour limiter l'incidence de cet effet non souhaité.

L'HTA n'est souvent pas détectée dès le départ car les mesures ne se font pas toujours systématiquement au cabinet médical. Dans le cas de l'ajout de l'Avastin®,

l'élévation de la pression artérielle est constante dès les premières semaines de traitement chez tous les patients qu'ils soient initialement hypertendus ou normotendus. Chez les patients qui n'étaient pas sujets à l'augmentation de la pression artérielle, le stade d'hypertension artérielle est souvent atteint, ainsi le contrôle des patients hypertendus à la base est plus difficile. C'est pourquoi il est recommandé que les patients initialement hypertendus soient contrôlés avant l'instauration du traitement. De plus, la surveillance de la pression artérielle est indispensable tout au long du traitement pour tous les malades notamment par l'utilisation de l'automesure.

Le mécanisme de développement de l'hypertension artérielle n'est pas complètement élucidé mais les chercheurs ont compris qu'il passe par la neutralisation des effets physiologiques majeurs du VEGF au niveau de la cellule endothéliale et donc de la paroi vasculaire. De manière physiologique, la libération du VEGF entraine une hypotension par le biais de l'activation de la NO-synthase endothéliale et de la production de monoxyde d'azote NO. L'administration du bevacizumab qui a un rôle anti-VEGF entraine donc une inhibition de l'enzyme et par conséquent une diminution de la libération de NO par les cellules endothéliales. La conséquence directe est donc une augmentation de la pression artérielle engendrée par une altération de la vasodilatation endothéliale, une raréfaction artériolaire et capillaire, une altération structurale des microvaisseaux et une augmentation de l'activité sympathique adrénergique.

Dans certains cas, les tableaux cliniques peuvent être un peu plus graves comme une HTA maligne, une HTA sévère réfractaire et une leucoencéphalopathie postérieure réversible associée à une HTA sévère ont aussi été rapportées.

Dans la majorité des cas, l'hypertension artérielle iatrogène est généralement contrôlable par des traitements antihypertenseurs standards qui doivent être adaptés à chaque patient, et la poursuite du traitement est rarement compromise. On peut utiliser par exemple les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ou les antagonistes des récepteurs de type 2 à l'angiotensine. En revanche, l'Avastin® doit être définitivement arrêté si l'hypertension artérielle médicalement significative ne peut pas être contrôlée efficacement par un traitement antihypertenseur ou en cas de survenue de crise hypertensive ou d'encéphalopathie hypertensive (Société de néphrologie) (RCP).

9.4.1.2. Protéinurie

La protéinurie est une autre des complications les plus couramment rencontrées par l'utilisation du bevacizumab et c'est la plus fréquente des complications rénales. Les patients ayant des antécédents d'hypertension artérielle sont plus facilement exposés à un risque accru de protéinurie lors de l'utilisation de l'Avastin®. Le taux de survenue de protéinurie de tous grades est très variable selon les études, il peut varier entre 20 et 65% ce qui reste donc très fréquent. La majorité des cas rapportés faisaient référence à une protéinurie de grade 1. Cependant, il existe des cas plus graves comme des grades 3 (> 3,5 g/jour) qui varient de 1 à 6% selon les études. La protéinurie de grade 4 (syndrome néphrotique) a été observée chez jusqu'à 1,4% des patients ayant reçu le bevacizumab. Cet effet secondaire est dose-dépendant (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

Le délai d'apparition de la protéinurie après l'instauration du traitement par bevacizumab est variable mais celle-ci est presque constamment associée à l'hypertension artérielle. De même que pour l'augmentation de la pression artérielle, la protéinurie est réversible à l'arrêt du traitement et sa recherche est vivement recommandée avant l'instauration du bevacizumab par le biais d'analyses d'urine sur bandelettes, comme tout au long du traitement.

L'augmentation du taux de protéines dans les urines est expliquée également par l'invalidation des effets physiologiques du VEGF. En effet, dans le rein, le VEGF est produit par les podocytes et joue un rôle autocrine essentiel dans le fonctionnement de l'endothélium fenestré des capillaires glomérulaires, via sa liaison avec ses récepteurs exprimés par la cellule endothéliale. L'invalidation du VEGF podocytaire entraîne donc une protéinurie, une microangiopathie thrombotique et une HTA. La neutralisation du VEGF par des anticorps induit également une protéinurie associée à un détachement des cellules endothéliales de la membrane basale glomérulaire et une altération des diaphragmes de fente.

L'apparition d'une protéinurie est le plus souvent sans conséquence sur la poursuite du traitement et n'entraine pas de disfonctionnements rénaux. Les seuls cas qui nécessitent un arrêt du traitement sont la survenue d'une protéinurie de grade 4, ou supérieure à 2g/24h.

La prise en charge dépend du taux et les médicaments utilisés pour palier à cet effet indésirable sont en général les mêmes que pour l'hypertension, à savoir les IEC (Inhibiteurs de l'enzyme de conversion) ou les ARA2 (antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2) (RCP).

9.4.1.3. Hémorragies mineures

L'essentiel des hémorragies mineures observées avec l'utilisation de l'Avastin® se résume à la survenue d'épistaxis bénignes de grade 1 d'une durée de moins de 5 minutes qui se résolvent généralement spontanément sans intervention chirurgicale. La modification du traitement n'est pas justifiée non plus. Dans tous les essais cliniques qui ont été réalisés, les hémorragies cutanéo-muqueuses non graves ont été observées chez jusqu'à 50% des patients traités par le bevacizumab. L'incidence de ces hémorragies serait également dose-dépendante.

Des évènements moins fréquents à type de saignements mineurs cutanéo-muqueux ont également été rapportés dans d'autres localisations, tels que des saignements gingivaux ou vaginaux.

Il existe également des hémorragies plus graves de grade supérieur ou égal à 3 dont l'incidence varie entre 0,5 et 1,7%, ce qui reste raisonnable (Molnar-Stanciu *et al.*, 2012).

9.4.2. Effets indésirables graves

9.4.2.1. Perforations gastro-intestinales

Les patients traités par Avastin® peuvent être exposés à un risque accru de perforations gastro-intestinales et de perforations de la vésicule biliaire. En effet, quelques cas de perforations gastro-intestinales ont été associés à l'utilisation de l'Avastin®. Selon les études cliniques, l'incidence de cet évènement indésirable se limitait à moins de 1% des patients traités pour le cancer du sein métastatique.

La clinique de ces évènements non souhaités peut varier de la présence d'air libre observée à la radiographie abdominale, avec résolution spontanée sans traitement, jusqu'à la perforation gastro-intestinale avec abcès abdominal. Il arrive même dans quelques cas que l'issue soit fatale. En effet, la perforation a entrainé le décès du patient dans environ un tiers des cas de survenue de perforation grave, soit entre 0,2 et 1% de l'ensemble des patients traités par le bevacizumab.

La survenue d'une perforation gastro-intestinale impose l'arrêt définitif du traitement (RCP).

9.4.2.2. Hémorragies graves

L'utilisation du bevacizumab majore le risque de survenue d'hémorragies graves, notamment des hémorragies liées à la tumeur. Au sein des études cliniques qui ont été réalisées sur l'utilisation de la molécule, pour tous les types de cancers confondus, l'incidence globale des évènements hémorragiques de grade les plus graves comme les grades 3 à 5 a été de 0,4 à 5% de la totalité des patients traités par l'Avastin®, contre au maximum 2,9% dans les groupes témoins sous chimiothérapie classique sans bevacizumab ; différence assez limitée. Parmi ces effets secondaires hémorragiques rencontrés, la plupart d'entre eux étaient des hémorragies liées à la tumeur ou bien des saignements mineurs bénins comme vu dans les effets indésirables les plus fréquents précédemment.

Aucune information n'est disponible quant au profil de tolérance de l'Avastin® chez les patients présentant une prédisposition congénitale aux hémorragies, une coagulopathie acquise ou recevant un anticoagulant à pleine dose pour le traitement d'un évènement thromboembolique avant l'instauration du traitement. En effet, ces patients étaient exclus des études cliniques. Le traitement sera donc instauré avec prudence chez de tels patients. Néanmoins, les patients qui ont développé une thrombose veineuse au cours du traitement et qui ont été traités simultanément par la warfarine à pleine dose et par l'Avastin® n'ont pas présenté une fréquence accrue d'hémorragies de grade 3 ou plus. De toute façon, dans tous les cas, il convient d'effectuer une surveillance régulière de la survenue éventuelle d'évènements hémorragiques même mineurs tout au long de l'administration du bevacizumab pour limiter les risques de survenue

d'hémorragies graves. Les patients doivent notamment être surveillés pour des signes et symptômes d'hémorragie du système nerveux central.

La majorité des cas d'hémorragies graves survenues lors de l'utilisation du bevacizumab sont des hémorragies liées à la tumeur, c'est-à-dire qu'elles dépendent du type de cancer.

D'une part, des hémorragies pulmonaires majeures ou massives ont été observées principalement dans les études menées chez des patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules. Les facteurs de risque possibles étaient multiples. Les seules variables ayant été corrélées de façon statistiquement significative à ces hémorragies ont été le traitement par bevacizumab et l'histologie de type épidermoïde. Chez ces patients atteints de CBNPC, à l'exclusion de ceux ayant une histologie épidermoïde prédominante, les évènements indésirables de tous grades ont été observés avec une fréquence allant jusqu'à 9% chez les patients traités par Avastin® plus chimiothérapie, comparé à 5% chez les patients traités par chimiothérapie seule. Des hémorragies pulmonaires/hémoptysies majeures ou massives peuvent survenir de manière soudaine : jusqu'à deux tiers des hémorragies pulmonaires graves ont été fatales.

D'autre part, des cas d'hémorragies gastro-intestinales, notamment rectorragies et méléna, ont été rapportés chez des patients atteints d'un cancer colorectal.

Une hémorragie associée à la tumeur chez des patients atteints de métastases du système nerveux central (SNC) a également été observée dans de rares cas, dans d'autres types de tumeurs et dans d'autres localisations.

Enfin, dans les cas de cancer du sein, peu d'évènements hémorragiques liés à la tumeur ont été répertoriés.

La survenue d'une hémorragie de grades 3 ou 4 au cours du traitement impose l'arrêt définitif du traitement par Avastin®, ainsi que la survenue d'hémorragie cérébrale (RCP).

9.4.2.3. Thromboembolies artérielles et veineuses

Les patients qui reçoivent un traitement par bevacizumab voient les risques de survenue d'évènements artériels ou veineux (EAT ou EVT) thromboemboliques

augmenter, et ceci d'autant plus chez les patients âgés de plus de 65 ans ou ayant déjà des antécédents de maladies thromboemboliques.

- ✓ **Thromboembolies artérielles**

Parmi les patients traités par l'Avastin®, toutes indications confondues, les études ont montré une augmentation de l'incidence des évènements thromboemboliques artériels, incluant les accidents vasculaires cérébraux, les accidents ischémiques transitoires et les infarctus du myocarde ainsi que tous les autres évènements thromboemboliques artériels, ceci chez les patients ayant été traités par une chimiothérapie associée à l'Avastin®. En effet, dans tous les essais cliniques qui avaient été réalisés sur le bevacizumab, l'incidence totale de ces effets indésirables chez tous les patients ayant reçu celui-ci dans diverses tumeurs était d'environ 3% dans les groupes recevant le bevacizumab contre environ 1,5% dans les groupes témoins sans bevacizumab. L'observation de ces effets non souhaités était donc doublée, cependant le taux reste relativement bas, et de plus en ce qui concerne les cancers du sein, l'incidence allait seulement de 0 à 1,9% des patientes recevant le bevacizumab.

Il faut noter également que ces effets peuvent se retrouver chez des patients qui ne reçoivent pas le bevacizumab, ceci d'après une étude qui a montré que l'issue de ces évènements était fatale chez 0,8% des patients recevant l'Avastin® comparé à 0,5% de ceux recevant une chimiothérapie seule.

Les accidents vasculaires cérébraux (dont les accidents ischémiques transitoires) ont été rapportés chez jusqu'à 2,3% des patients traités par bevacizumab associé à une chimiothérapie comparé à 0,5% des patients traités par une chimiothérapie seule. Des infarctus du myocarde ont été rapportés chez 1,4% des patients traités par bevacizumab associé à une chimiothérapie comparé à 0,7% des patients traités par une chimiothérapie seule.

Comme pour les autres effets indésirables, la prudence est nécessaire lors de l'instauration du traitement afin de vérifier la préexistence de maladies thromboemboliques antérieures, et un suivie doit être effectué régulièrement pendant tout le traitement.

La survenue d'un accident thromboembolique impose l'arrêt définitif du traitement.

- ✓ **Thromboembolies veineuses**

Les patients recevant l'Avastin® sont susceptibles de présenter des évènements thromboemboliques veineux, hors dans les études qui ont été menées, on observe que l'incidence des évènements thromboemboliques veineux est comparable ou très légèrement supérieure entre les patients recevant le bevacizumab en association avec une chimiothérapie et ceux du groupe témoin sans celui-ci. Parmi ces effets, on répertorie les thromboses veineuses profondes, les embolies pulmonaires ainsi que les thrombophlébites.

D'après les résultats des études, sur toutes indications confondues, l'incidence globale des évènements thromboemboliques veineux était de 2,8% à 17,3% des patients traités par bevacizumab comparé à 3,2% à 15,6% des patients des groupes témoins. Quelques évènements thromboemboliques veineux de grades 3 à 5 ont été rapportés chez les patients ayant reçu le bevacizumab (Molnar-Stanciu *et al*., 2012).

Encore une fois, les patients ayant des antécédents connus de maladie thromboembolique veineuse sont exposés à un plus grand risque et doivent donc être davantage surveillés avant l'instauration du traitement, et tous les patients doivent être ensuite suivis régulièrement. En cas de survenue d'effets indésirables de grade inférieur à 3, la surveillance doit être très étroite pour la bonne poursuite du traitement. Cependant, dans le cas d'effets de grade 4 mettant en jeu le pronostic vital et notamment en cas d'embolie pulmonaire, l'Avastin® doit être arrêté immédiatement.

9.4.2.4. Complication de la cicatrisation des plaies

Le bevacizumab est responsable d'une altération du processus de cicatrisation des plaies, ce qui peut entrainer par la suite des complications comme des réouvertures des plaies engendrant des hémorragies ou bien des infections. Même si ces effets restent rares, il faut quand même rester vigilant par rapport aux grades supérieurs ou égaux à 3 qui se manifestent à raison de moins de 1%.

D'après les études, on observe que les problèmes de cicatrisation ne sont pas constants dans tous les types de cancers aux mêmes pourcentages. En effet, en ce qui concerne le cancer colorectal métastatique, il n'a pas été observé d'augmentation du risque hémorragique post-opératoire ou de complications de la cicatrisation des plaies, chez les patients ayant subi une intervention chirurgicale majeure 28 à 60 jours avant l'initiation du traitement par Avastin®. Cependant, une augmentation de l'incidence des saignements post-opératoires ou des complications de la cicatrisation des plaies a été observée dans les 60 jours suivant une intervention chirurgicale majeure chez les patients traités par l'Avastin® au moment de l'intervention chirurgicale. L'incidence variait de 10 à 20%. Pour le cancer du sein métastatique ou en rechute locale, des complications de la cicatrisation des plaies de grades 3-5 ont été observées avec une incidence allant jusqu'à 1,1% des patients traités par l'Avastin® comparé à un maximum de 0,9% des patients dans les bras contrôle, on peut donc dire que les complications sont comparables d'un groupe à l'autre. Enfin, pour le cancer de l'ovaire, des complications de la cicatrisation des plaies de grade 3-5 ont été observées avec une incidence allant jusqu'à 1,2% des patientes dans le bras bevacizumab par rapport à 0,1% des patientes dans le bras contrôle.

Pour permettre de limiter la survenue de ces effets non souhaités, un traitement par bevacizumab ne doit pas être initié pendant au moins 28 jours suivant une intervention chirurgicale lourde, ou tant que la plaie chirurgicale n'est pas totalement cicatrisée. De même, lorsqu'une chirurgie est planifiée, le traitement doit être suspendu.

En cas de complications de la cicatrisation d'une plaie pendant le traitement, celui-ci doit être interrompu jusqu'à la cicatrisation totale (RCP).

9.4.2.5. Insuffisance cardiaque congestive (ICC)

Les patients qui reçoivent un traitement par bevacizumab présentent un nombre d'insuffisances cardiaques congestives plus élevé que la normale, et notamment chez les patients qui sont traités pour un cancer du sein. En effet,

l'incidence est augmentée par rapport aux groupes de patients qui ont reçu un placebo à la place du bevacizumab.

La toxicité cardiaque de l'anticorps peut se manifester sous différentes formes. Il peut s'agir d'un allongement de l'espace QT ou bien d'une diminution asymptomatique de la fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) et jusqu'à l'insuffisance cardiaque congestive symptomatique, nécessitant un traitement ou une hospitalisation.

Chez les malades qui vont être pris en charge avec l'administration d'Avastin®, il convient de faire particulièrement attention aux patients atteints d'affections cardiovasculaires cliniquement significatives préexistantes telles qu'une pathologie coronarienne par exemple. En effet, les évènements cardiaques de grades 3 et 4 sont plus fréquents si le patient était déjà souffrant de pathologie cardiaque ou d'hypertension artérielle. Dans ce cas, une attention particulière est recommandée chez ces patients et une évaluation de la FEVG est recommandée tous les 2 cycles de traitement.

Dans les études réalisées, l'utilisation du bevacizumab a conduit à la formation d'ICC quelles que soit les indications étudiées mais principalement chez des patientes atteintes de cancer du sein métastatique, et d'autant plus si celles-ci avaient déjà été précédemment traitées avec des anthracyclines ou par la radiothérapie de la paroi thoracique gauche, ou en présence d'autres facteurs de risque. En effet, dans quatre études de phase III réalisées dans le cancer du sein métastatique, une ICC de grade 3 ou plus a été rapportée chez un maximum de 3,5% des patients traités par bevacizumab en association à une chimiothérapie comparé à un maximum de 0,9% dans les groupes témoins. En revanche, d'autres études révèlent que les résultats d'incidence obtenus en comparaison des patients recevant le bevacizumab et ceux qui ont reçu le placebo étaient similaires même pour des grades importants d'effets indésirables.

La plupart des patients ayant développé une ICC au cours des études cliniques conduites dans le cancer du sein métastatique ont bénéficié d'une amélioration de leurs symptômes et/ou de la fonction ventriculaire gauche suite à un traitement médical approprié (Société de néphrologie).

9.4.2.6. Atteintes rénales

Le bevacizumab est également responsable d'atteintes rénales plus graves, autre que la protéinurie déjà citée plus haut. On peut trouver des syndromes néphrotiques, des insuffisances rénales aiguës, des glomérulopathies proliférives ou bien des néphrites interstitielles par exemple. Plusieurs cas de micro-angiopathies thrombotiques (MAT) ont été rapportés sous bevacizumab.

Les mécanismes de survenue de ces effets indésirables ont été expliqués dans le paragraphe concernant la protéinurie.

L'aspect morphologique de la lésion glomérulaire de MAT des anti-VEGF à fortes doses est particulier et permet d'identifier des lésions glomérulaires spécifiques de l'action des anti-VEGF sur le glomérule : il existe une endothéliose définie par des cellules endothéliales très turgescentes bombant dans la lumière capillaire et une mésangiolyse avec des cellules endothéliales gonflées dont la matrice extracellulaire mésangiale est œdémateuse, fibrillaire et s'accompagnant de la perte de noyaux mésangiaux. Les parois montrent des "double contours" avec espace clair et les lumières capillaires sont réduites. Les lumières capillaires sont souvent congestives remplies d'hématies. En immunofluorescence, on observe peu ou pas de dépôts, de la fibrine et du C3 dans les thromboses glomérulaires ou artériolaires (Société de néphrologie).

9.4.2.7. Autres effets indésirables répertoriés

La liste des effets indésirables donnée ci-dessus n'est pas exhaustive. Voici d'autres effets secondaires rencontrés avec l'utilisation du bevacizumab :

– fistules gastro-intestinales, urogénitales ou biliaires qui entrainent l'arrêt du traitement et qui peuvent engendrer des décès,

– syndrome de leucoencéphalopathie postérieure réversible (SLPR) qui est un trouble neurologique rare impliquant l'arrêt du traitement,

– réactions d'hypersensibilité de type anaphylactique liées à la perfusion,

– insuffisance ovarienne réversible à l'arrêt du traitement et fertilité endommagée,

– modification des paramètres biologiques : diminution du nombre des neutrophiles, une diminution du nombre de globules blancs, hyperglycémie, diminution de l'hémoglobine, hypokaliémie, hyponatrémie, augmentation de l'INR (International Normalized Ratio),

– neutropénie sévère et infections parfois fatales,

– ostéonécroses de la mâchoire majoritairement associées à un traitement antérieur de bisphosphonates par voie IV (RCP).

9.5. La résistance au bevacizumab

Outre les effets indésirables associés à l'utilisation du bevacizumab et ses retraits du marché dans différents pays face à ce problème considéré comme rédhibitoire, il existe une autre raison de controverse. De nombreux médecins dénoncent le problème de résistance qui se développe face à l'action de l'Avastin® pour le traitement des cancers en général. Ce phénomène de résistance ne doit en effet pas être pris à la légère car il peut entrainer des conséquences graves en termes de survie des patients et de qualité de vie bien sûr face à un traitement qui ne donnera pas de résultats efficaces.

Comme nous l'avons expliqué dans les chapitres concernant l'angiogenèse, le VEGF va être synthétisé sous l'influence de différents facteurs comme principalement l'hypoxie ; HIF-1α dont la synthèse est induite par l'hypoxie, et les mutations du gène VHL. Une fois synthétisé, le VEGF va aller se fixer sur son récepteur spécifique qui voit ses tyrosine kinases se phosphoryler. Ce phénomène entraine donc un signal de transduction en cascade qui permet l'activation des voies de prolifération cellulaire, voie Raf-MEK-ERK, et des voies de la survie cellulaire, voie PI3K-AKT-mTOR (mammalian target of rapamycin) (figure 45). L'activation de la voie du VEGF et de ses récepteurs va donc permettre la survie des cellules endothéliales mais aussi et surtout leur multiplication, leur migration, et leur prolifération, ce qui va entrainer la formation de vaisseaux sanguins supplémentaires qui vont ainsi permettre eux-mêmes la croissance de la tumeur par la prolifération également des cellules tumorales qui vont avoir des vaisseaux sanguins pour se nourrir et mieux se développer.

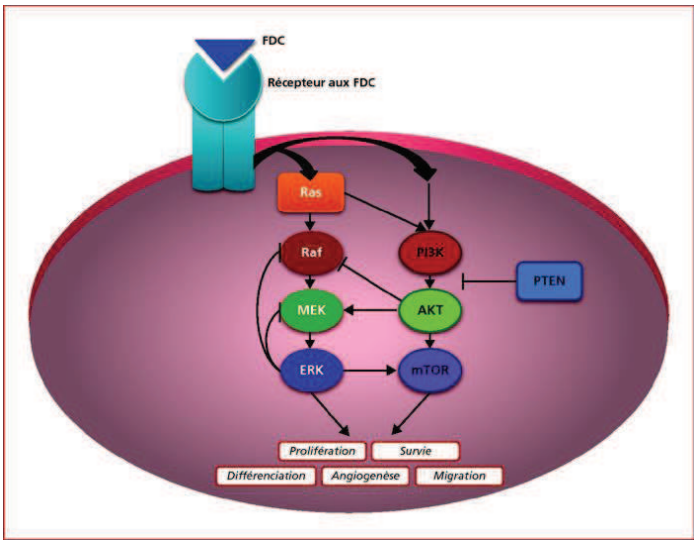


Figure 45 : Mécanismes d'activation des voies de prolifération et de survie cellulaire via le VEGF

Les molécules anti-angiogéniques comme le bevacizumab vont donc bloquer ces mécanismes pour stopper la prolifération des vaisseaux et arrêter la croissance tumorale. Cependant, la plupart des tumeurs vont développer une résistance aux anti-angiogéniques. Ces mécanismes de résistance se manifestent en fait par l'apparition d'un échappement à l'inhibition du VEGF via l'activation d'autres voies alternatives qui permettent la reprise de la prolifération des cellules endothéliales.

La voie des chimiokines et des récepteurs CXCR4 (Chemokine CC motif Receptor 4) sont les voies qui permettent de contourner l'inhibition de la voie du VEGF. En effet, d'une part, les chimiokines sont indispensables à la progression tumorale car en se liant à leurs récepteurs dits « serpentins » à 7 domaines transmembranaires et couplés aux protéines G, elles stimulent la voie PI3K-AKT-mTOR. La protéine mTOR a un rôle majeur dans la croissance tumorale car elle va permettre la synthèse de protéines impliquées dans la croissance et la prolifération cellulaires, l'angiogenèse et la survie des cellules par l'inhibition de l'apoptose. L'axe de chimiokines CXCR4/SDF-1 (Stromal-Derived Factor-1) est également activé par l'hypoxie et la mutation de VHL comme pour la voie du VEGF et va donc contourner cette voie qui est inactivée par l'utilisation des anti-angiogéniques. Le récepteur CXCR4 va se trouver activé par le mécanisme de résistance aux anti-angiogéniques et va ainsi stimuler la migration des cellules

endothéliales pour former de nouveaux vaisseaux sanguins qui entrainent à nouveau la prolifération des cellules cancéreuses (Neuzillet, 2011).

Par ce phénomène d'échappement, les chimiokines constituent donc un mécanisme qui favorise la reprise de la dissémination cellulaire et métastatique via la reprise de l'angiogenèse responsable de la croissance de la tumeur, créant donc ainsi une résistance au blocage complet de la voie du VEGF par l'utilisation des anti-angiogéniques et notamment de l'Avastin®. Ces mécanismes d'échappement peuvent donc constituer de nouvelles cibles thérapeutiques importantes pour limiter les mécanismes de résistance aux anti-angiogéniques actuels ciblant la voie du VEGF.

9.6. Le caractère aléatoire de la réponse au bevacizumab

Une autre critique qui est faite à l'encontre du bevacizumab est le caractère aléatoire et non prédictif de la réponse à son utilisation. L'utilisation de l'Avastin® est très efficace dans un certain nombre de cancers du sein, de types particuliers qui sont restreints et notamment nous avons vu son indication la plus appropriée dans les cancers du sein de type HER2 triple négatif, correspondant donc à une signature génétique particulière. Le problème qui persiste face à l'utilisation de cette nouvelle molécule est que les médecins peuvent difficilement prédire les patients qui pourront bénéficier des effets anti-cancéreux du bevacizumab de façon importante. A l'heure actuelle, l'administration de la molécule se fait sans souvent pouvoir présélectionner les patients dont la réponse va être plus bénéfique par rapport aux effets indésirables qui peuvent survenir.

Le cheval de bataille des scientifiques aujourd'hui est donc de trouver un moyen de pouvoir choisir les patients à qui l'on administre l'Avastin® grâce à une prédiction positive de ses effets tout en limitant les effets indésirables.

C'est ainsi qu'une nouvelle étude a été lancée en Mars 2012 afin d'identifier les patientes susceptibles de répondre au bevacizumab associé à une chimiothérapie. L'étude est réalisée sur le cancer du sein, promue par Unicancer et coordonnée par l'institut Curie et par le professeur Jean-Yves Pierga, oncologue médical. Le but de cette étude est d'identifier les facteurs prédictifs biologiques et d'imagerie susceptibles d'améliorer la réponse à l'Avastin® associé à une

chimiothérapie par paclitaxel en première ligne chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Le Professeur Pierga explique « Notre objectif est d'identifier la sous-population de patientes ayant un bénéfice élevé de l'association paclitaxel et bevacizumab et de définir un groupe de patientes chez lesquelles ce traitement doit être évité » (Regnault, 2012).

L'efficacité du bevacizumab a déjà fait l'objet de beaucoup de critiques auprès de la communauté scientifique et notamment aux Etats-Unis où la FDA a fait retirer son AMM. Cet essai, nommé GRT02-COMET, vient donc essayer de prédire les patientes chez qui l'administration de celui-ci aura des conséquences positives sur leur survie et leur qualité de vie.

L'essai COMET est une étude de cohorte qui recherche des facteurs prédictifs auprès de 510 femmes porteuses d'un cancer du sein métastatique HER2 négatif, recrutées dans les centres de lutte contre le cancer du Groupe Unicancer (Pierga, 2012).

Grâce à l'analyse de plusieurs prélèvements biologiques, son objectif principal est de valider prospectivement les taux initiaux et de variation de cellules endothéliales circulantes (CEC) et des cellules tumorales circulantes (CTC) dans le sang, ainsi que le volume de la graisse viscérale, comme facteurs prédictifs de survie sans progression et de réponse à l'association bevacizumab et paclitaxel.

Dans ses objectifs secondaires, l'étude vise à identifier prospectivement d'autres facteurs prédictifs de survie sans progression, de survie globale et de réponse grâce à des études biologiques, immunologiques, pharmacogénétiques, génomiques et protéomiques (Unicancer, 2012).

Ces biomarqueurs pourront aussi être corrélés à la tolérance au traitement. Une évaluation de la qualité de vie du patient sera également réalisée pendant tout le traitement.

L'étude COMET représente donc un espoir important de pouvoir, dans les années à venir, prévoir la réponse au bevacizumab, ce qui permettra de sélectionner les patients qui en bénéficieront et ainsi éviter d'administrer à d'autres patients une substance qui ne leur serait pas bénéfique, et qui plus est, qui pourrait leur être plutôt déficitaire. Cette perspective serait une avancée majeure dans l'utilisation de l'Avastin®. Il faudra attendre encore deux ans pour connaitre les résultats de cet essai car la durée de l'étude est de 4 ans (Regnault, 2012).

10. Conclusion sur la place de l'Avastin® dans la prise en charge du cancer du sein

Le cancer du sein fait partie des cancers les plus répandus dans le monde et par conséquent les scientifiques sont attachés à mettre en place sans cesse de nouvelles options thérapeutiques visant à améliorer la prise en charge du cancer du sein.

En effet, les thérapeutiques classiques anti-cancéreuses utilisées pour la prise en charge du cancer du sein ont fait leurs preuves en termes d'efficacité, cependant, elles connaissent aussi des limites à leur utilisation. Ces médicaments possèdent d'une part de nombreux effets secondaires qui portent atteinte à la qualité de vie du patient mais également parfois à l'observance du traitement qui peut être suspendu à cause de ces effets néfastes. D'autre part, dans la majorité des cas de thérapeutiques utilisées de manière classique, les effets sont systémiques. Par conséquent, les cellules saines ne sont pas épargnées des effets toxiques de ces médicaments.

C'est donc dans ce contexte que sont nées les thérapies ciblées qui vont aller tuer spécifiquement les cellules cancéreuses et limiter ainsi la destruction des cellules saines du corps. Parmi ces nouvelles molécules, on a vu arriver le bevacizumab ou Avastin® de son nom de commercialisation. Ce nouveau médicament est aujourd'hui utilisé pour le traitement de plusieurs types de cancers dont le cancer du sein auquel nous nous intéressons plus particulièrement ici.

Comme nous l'avons décrit dans les chapitres précédents, le bevacizumab a subi l'épreuve obligatoire de nombreuses études cliniques afin de prouver son efficacité et sa tolérance. Quelles que soit les études réalisées, toutes ont démontré une très légère ou une augmentation significative de la survie sans progression de la maladie. Cependant, la survie globale était comparable dans les groupes ayant reçu le bevacizumab aussi bien que dans les groupes ayant reçu le placebo. Ces études ont donc prouvé le bénéfice apporté par l'ajout du bevacizumab dans les protocoles de prise en charge du cancer du sein, qui a conduit ensuite à l'obtention d'une AMM dans cette indication, en association avec d'autres chimiothérapies classique, notamment le paclitaxel et la capécitabine. En revanche, les études ont

également montré une augmentation de l'incidence des effets indésirables parfois graves dans les groupes ayant été traités par bevacizumab. Suite à ces constatations, un avis a été émis par l'HAS en 2011 conférant un SMR faible à l'Avastin® au vu des bénéfices jugés trop limités comparés aux effets secondaires encourus. Celui-ci a alors trouvé sa place dans des cancers du sein pour lesquels l'utilisation des thérapies classiques ne permettait pas d'observer une amélioration du pronostic vital des patients. En effet, les scientifiques ont donc vu en l'Avastin® une molécule capable d'améliorer la prise en charge de certains types de cancers à mauvais pronostic, comme le cancer du sein HER2 triple négatif pour lequel l'hormonothérapie n'est pas indiquée et la chimiothérapie est limitée. L'utilisation du bevacizumab est donc préconisée chez les patientes atteintes d'un cancer du sein HER2 triple négatif.

L'Avastin® a donc trouvé une place dans l'arsenal thérapeutique du cancer du sein. Cependant, il a ensuite fait l'objet de nombreuses critiques venant ternir sa réputation. La majorité des critiques qui concernent le bevacizumab reposent sur les nombreux effets indésirables qu'il peut entrainer au cours de son utilisation, qui peuvent être potentiellement graves et parfois fatals. C'est ainsi que l'Avastin® a vu son AMM retirée dans certains pays du monde comme le Canada, ou encore les Etats-Unis qui représentent évidemment une grande influence pour les décisions prises au sein de la communauté scientifique. Les représentants des différentes organisations de santé au sein de ces pays ont souligné une efficacité limitée du bevacizumab et qui plus est, des effets indésirables importants. Selon eux, les résultats de l'étude E2100 n'avaient pas été confirmés dans les études suivantes avec une amélioration de la survie sans progression qui était inférieure à la première étude menée. Ils ont donc estimé que les bénéfices apportés ne justifiaient pas de tels risques. De plus, il existe d'autres controverses à l'égard du bevacizumab, comme la présence de résistances au traitement, ainsi qu'une absence de moyens prédictifs de la réponse au traitement ; deux problèmes importants.

L'Avastin® fait donc débat au sein de la communauté scientifique ! Il faut cependant émettre des nuances pour chaque considération. En ce qui concerne les retraits d'AMM à l'étranger et les avis français donnés sur la non confirmation des résultats obtenus dans l'étude E2100 sur la survie sans progression, en effet, les

résultats dans les études suivantes ont été moindres mais cependant il faut quand même rappeler que la survie sans progression a également été augmentée avec l'ajout du bevacizumab dans les études suivantes. Les bénéfices sont donc bien présents. D'autre part, concernant les effets indésirables qui représentent le gros du problème du bevacizumab, il convient également de nuancer les critiques. Il est vrai que l'utilisation de l'anti-VEGF engendre une augmentation de l'incidence des effets indésirables, cependant, les études qui ont été menées sur ces effets démontrent des incidences qui sont très basses dans la majorité des cas avec des pourcentages de patients touchés qui avoisinent en général les 5%. De plus, comme nous l'avons vu dans le chapitre sur ces effets non souhaités, ils se manifestent en général moins pour le cancer du sein que dans les autres types de cancer, et il n'existe même parfois pas de différence de survenue entre les groupes avec et sans bevacizumab comme pour les évènements thromboemboliques et les problèmes de cicatrisation. L'effet indésirable qui se rencontre plus particulièrement dans le cancer du sein est l'insuffisance cardiaque. Il faut également noter que certains effets sont dose-dépendants; une limitation de la dose administrée permet donc de les limiter et il existe également des prédispositions qui facilitent la survenue de ces effets. Enfin, il existe aussi des effets similaires qui sont retrouvés dans les études sans l'utilisation du bevacizumab, ce qui prouve donc qu'il n'est pas toujours à mettre en cause. La prise en charge de différents effets indésirables est possible. D'autre part, il faut rappeler que chaque médicament possède des effets secondaires, il n'est donc pas rationnel d'envisager l'utilisation de molécules qui n'entraineraient pas d'effets collatéraux ! L'augmentation des effets indésirables avec l'Avastin® serait aussi retrouvée avec l'ajout d'une autre molécule. Outre l'iatrogénie, le problème de résistance au traitement est également rencontré avec les autres chimiothérapies classiques. Pour finir, l'absence de caractères prédictifs de réponse au traitement reste un problème qui devrait être résolu à la suite des études menées actuellement.

Si l'AMM est toujours d'actualité en France, celle-ci fait donc débat et fait même face à des retraits. La place actuelle de l'Avastin® se trouve donc aujourd'hui dans la prise en charge de certains cancers spécifiques, comme le cancer du sein HER2 triple négatif. Il est aujourd'hui indispensable de réussir à pouvoir cibler une

population en particulier pour permettre ainsi de limiter les prises en charge « inutiles » qui entraineraient, de surcroit, des effets indésirables. Les défis futurs pour l'utilisation de l'Avastin® résident dans la possibilité d'avoir des facteurs prédictifs de réponse au médicament pour éviter l'administration à certaines personnes qui n'en auraient donc pas l'utilité. Ce premier défi sera résolu prochainement et améliorera encore considérablement les avantages de l'Avastin® chez certains patients. Le deuxième défi est de réussir à neutraliser les mécanismes de résistances au bevacizumab pour améliorer également la prise en charge. Les mécanismes étant basés sur des phénomènes d'échappement à l'inhibition du VEGF par d'autres voies de stimulation d'angiogenèse, comme la voie des protéines mTOR et des récepteurs CXCR4, ces voies doivent donc faire l'objet de nouvelles cibles thérapeutiques dans les traitements anti-angiogéniques. Par conséquent, il apparait aujourd'hui que le futur des médicaments anti-angiogéniques réside donc dans le développement de nouvelles molécules qui ciblent les voies alternatives comme la voie CXCR4.

11. Ouverture : les nouveaux anti-angiogéniques

Face au développement de résistances envers les premiers médicaments anti-angiogéniques ciblant la voie du VEGF, il est apparu évident qu'il faille développer de nouvelles molécules plus efficaces capables de contrôler les phénomènes de résistances apparus, grâce au ciblage de ces voies de réactivation parallèles. De cette constatation, les scientifiques ont donc développé de nouveaux anti-angiogéniques dirigés contre la voie de la protéine mTOR, qui nous l'avons vu, est l'une des voies d'échappement à l'inhibition du VEGF et qui entraine donc les mécanismes de résistances observés.

La première molécule qui a vu le jour dans cette classe est l'évérolimus qui cible la voie mTOR (figure 46). Cette protéine se trouve au milieu de nombreuses voies de signalisation et notamment l'une des voies responsable des mécanismes de résistance aux anti-VEGF. L'activation de cette voie est donc à l'origine de non-réponses tumorales.

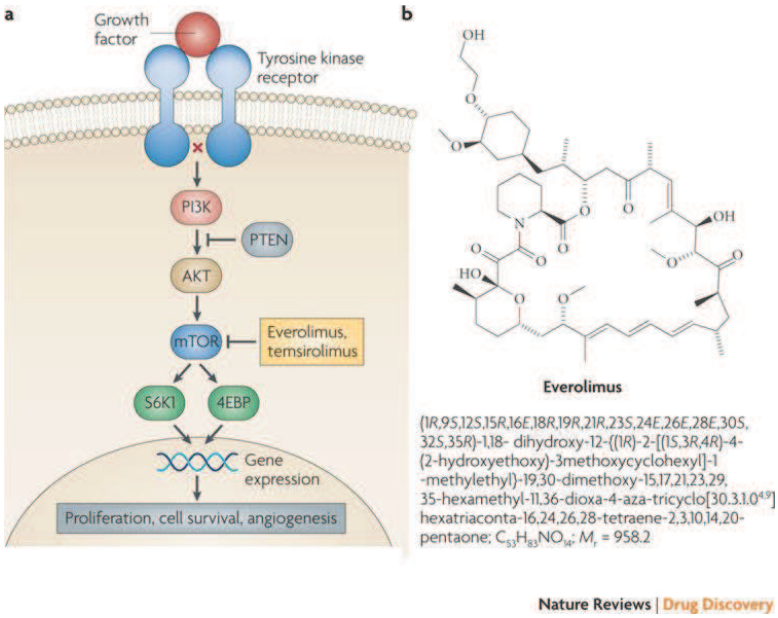


Figure 46 : Mécanisme d'action de l'évérolimus

(d'après Atkins *et al.*, 2009)

Dans ce contexte, une étude a été lancée pour vérifier le bénéfice de l'évérolimus (Afinitor®) dans le traitement des cancers résistants aux anti-angiogéniques classiques. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'efficacité et la tolérance de l'Afinitor® dans la prise en charge du cancer du rein.

11.1. Étude RECORD-1

L'étude pivot RECORD-1 est une étude comparative, randomisée en double aveugle, ayant évalué l'efficacité et la tolérance de l'Afinitor® à 10 mg par jour versus placebo, tous deux associés à un traitement symptomatique optimal, chez les patients atteints d'un cancer du rein métastatique ayant progressé sous inhibiteurs de la tyrosine kinase du VEGFR-2 (sunitinib et/ou sorafénib). Le traitement symptomatique optimal pouvait comporter notamment des analgésiques, des hormones stéroïdiennes, des transfusions ainsi qu'une radiothérapie palliative.

Le principal critère d'évaluation était la survie sans progression. Les critères secondaires étaient la survie globale, le pourcentage et la durée de réponse

objective complète ou partielle, la tolérance et la qualité de vie ainsi que les symptômes associés à la maladie (HAS, 2010) (Riesen, 2013).

11.1.1. Présentation de l'étude

Au total dans cette étude, 416 patients ont été randomisés dans un rapport 2 :1 de la façon suivante :

– 277 patients ont reçu l'évérolimus à 10 mg/j en association avec les mesures symptomatiques,

– et 139 patients ont reçu un placebo également en association avec les mesures symptomatiques.

L'âge médian des patients était de 61 ans. Plus de 95% des patients avaient subi une néphrectomie totale ou partielle ; 74% avaient reçu un seul inhibiteur de la tyrosine kinase du VEGFR : sunitinib (45% des cas), sorafénib (29%) ; et 10% avaient également été traités par bevacizumab.

Dans 85% des cas, les patients avaient un pronostic favorable ou intermédiaire selon la classification MSKCC4 (Memorial Sloan Kettering Cancer Center 4). Les patients à haut risque représentaient 15% des cas dans chaque groupe.

Trois quarts des patients étaient en échec à un seul inhibiteur de la tyrosine kinase.

Les patients inclus dans l'étude répondaient aux critères suivants :

– âge ≥ 18 ans,

– diagnostic histologique ou cytologique de carcinome rénal métastatique à cellules claires ou mixte à composante claire,

– les patients devaient avoir une progression de la maladie sous traitement par inhibiteur de tyrosine kinase du VEGFR (sunitinib et/ou sorafénib) ou dans les 6 mois suivant l'arrêt du traitement. Les patients pouvaient avoir été traités par l'une ou l'autre des 2 molécules ou les deux,

– un traitement antérieur par cytokines (comme IL-2 ou Interféron) ou/et par inhibiteur du VEGF-ligand était autorisé,

– les patients devaient avoir au moins une lésion mesurable selon les critères RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), confirmée par l'examen clinique ou évaluée par tomodensitométrie (scanner) ou par IRM,

– indice de performance selon l'échelle Karnofsky ≥ 70%,

– espérance de vie ≥ 6 mois.

En revanche, n'étaient pas inclus dans l'étude les patients recevant un autre traitement par inhibiteur de mTOR ou un traitement concomitant par chimiothérapie, immunothérapie ou radiothérapie ou au cours des 4 semaines précédant l'inclusion. Une hypersensibilité connue à l'Afinitor® ou à une autre rapamycine ou à l'un des excipients était également un critère de non inclusion, tout comme la présence de métastases cérébrales non traitées ou traitées dans les 6 mois précédant l'inclusion. Enfin, les patients ayant été atteints d'une autre tumeur maligne au cours des 3 dernières années à l'exception des cancers cutanés autres qu'un mélanome et d'un cancer in situ du col de l'utérus étaient exclus de l'étude également (HAS, 2010).

11.1.2. Résultats

Les résultats disponibles sont ceux d'une deuxième analyse intermédiaire prévue au protocole.

La médiane de survie sans progression a été de 4,9 mois dans le groupe évérolimus contre 1,9 mois dans le groupe placebo, soit une différence en valeur absolue de 3 mois (EMA, 2013).

Aucune différence n'a été observée entre les deux groupes sur le pourcentage de réponse objective (réponse complète + réponse partielle). Cependant, une réponse tumorale partielle a été observée chez 5 patients, soit 2%, traités par l'évérolimus et chez aucun des patients ayant reçu le placebo. Le pourcentage de stabilisation de la maladie a été de 66,8% versus 32,4%.

En ce qui concerne la survie globale, elle a été comparable dans les deux groupes. Il en est de même pour la qualité de vie et l'évaluation des symptômes associés à la maladie.

Du point de vue de la tolérance, on a noté des arrêts de traitement pour évènements indésirables à hauteur de 7% dans le groupe ayant reçu l'évérolimus

contre 0% dans le groupe placebo. Les effets secondaires rencontrés avec une fréquence plus élevée dans le groupe évérolimus étaient des pneumopathies, hyperglycémies, hypercholestérolémies, hypertriglycéridémies et une élévation de la créatininémie.

Au vu des résultats de la deuxième analyse intermédiaire, l'étude a été arrêtée sur recommandation du comité de surveillance des données et les patients qui étaient randomisés pour le placebo ont alors reçu l'Afinitor®. Le service médical rendu pour l'évérolimus dans cette indication a donc été noté comme important (HAS, 2010) (Riesen, 2013).

11.2. Conclusion

Les résultats de cette étude ont donc apporté de grands espoirs quant au développement de ces nouveaux anti-angiogéniques grâce à la nette amélioration de la survie sans progression et à la maitrise des résistances ainsi qu'à des effets secondaires sans impact sur la qualité. L'évérolimus a donc reçu une autorisation de mise sur le marché par la suite. Il est indiqué dans le traitement du cancer du rein avancé chez les patients ayant progressé sous ou après une thérapie ciblée anti-VEGF (EMA, 2013).

Les thérapies ciblées anti-VEGF sont utilisées de manière croissante de nos jours, proposant des bénéfices nettes dans la prise en charge de diverses tumeurs. La meilleure compréhension de leurs mécanismes d'action et des mécanismes de résistances qui se développent face à ces thérapeutiques nouvelles a permis de développer de nouvelles molécules comme l'évérolimus qui a fait ses preuves dans de premières études. Ces nouvelles molécules suscitent donc de nouveaux espoirs pour une amélioration du pronostic vital des malades, tout en gardant une prudence vis-à-vis des effets secondaires qui sont encore mal connus, bien que pour l'instant sans gravité.

D'autres investigations concernant d'autres types de cancers, notamment le cancer du sein, pourraient donc ainsi être réalisées pour permettre d'étendre les indications de ces nouveaux anti-angiogéniques plus efficaces, comme par exemple pour les cancers du sein HER2 triple négatifs qui sont actuellement pris en charge par l'Avastin® et dont le pronostic pourrait encore certainement s'améliorer avec

les inhibiteurs de mTOR grâce à la maitrise des résistances. Il convient de préciser que l'évérolimus possède déjà une AMM en association avec l'exémestane, dans le cancer du sein avancé avec récepteurs hormonaux positifs, HER2 négatif, dès récidive ou progression, sans atteinte viscérale symptomatique et précédemment traité par un inhibiteur non stéroïdien de l'aromatase ; AMM obtenue en Avril 2013. Les résultats de l'étude RECORD-1 dans la prise en charge du cancer du rein laissent à penser que des résultats similaires pourraient être obtenus dans le traitement des cancers du sein résistants aux anti-angiogéniques classiques afin d'améliorer davantage leurs pronostics.

Conclusion

Depuis les années 1970, grâce aux travaux du célèbre Docteur Judah Folkmann, il a été établi que l'angiogenèse joue un rôle majeur dans les processus de développement tumoraux. En effet, l'angiogenèse n'intervient que dans certaines situations physiologiques à l'âge adulte, comme la cicatrisation ou au cours du cycle menstruel chez la femme. Cependant, elle possède une place très importante au cours des processus de croissance tumorale : le développement de nouveaux vaisseaux sanguins au sein de la tumeur favorise sa croissance par l'apport de nutriments et d'oxygène qu'ils permettent.

L'avènement des thérapies ciblées contre les facteurs angiogéniques fut une seconde avancée majeure dans les protocoles de prise en charge des cancers de différents types. La découverte du VEGF, facteur angiogénique majoritaire, a été l'élément déclencheur de la production de molécules anti-VEGF, dans le but de stopper la croissance des nouveaux vaisseaux, et par conséquent, interrompre également l'expansion des cellules tumorales.

Parmi ces anti-VEGF, il existe plusieurs molécules dont le bevacizumab auquel nous nous sommes intéressés plus particulièrement, chef de file des médicaments anti-VEGF. Il a été le premier à être utilisé et à faire ses preuves, et notamment dans la prise en charge du cancer du sein. Cependant, malgré des débuts très encourageants, l'Avastin® fait face aujourd'hui à de nombreuses controverses en ce qui concerne son indication dans le traitement des tumeurs mammaires. Le bénéfice de la molécule a pourtant été démontré dans plusieurs études scientifiques dans lesquelles son ajout aux traitements classiques permettait une augmentation du taux de réponse et de la survie sans progression, ainsi qu'une nette amélioration du pronostic vital des patients. Ces constatations lui ont par la suite valu l'obtention de son AMM en France en Avril 2007, dans le traitement de première ligne du cancer du sein métastatique en association avec le paclitaxel. Les Etats-Unis en font de même en Février 2008, via une procédure accélérée, sur la base des résultats des premières études.

Dans l'attente d'études complémentaires venant confirmer les résultats des premiers essais cliniques, le bevacizumab conserve son AMM jusqu'à l'annonce en Novembre 2011 de son retrait par la FDA. S'en suivra ensuite le retrait au Canada et des interrogations pour d'autres pays. Les organisations de santé de ces différents pays estiment que les bénéfices apportés par l'utilisation de l'Avastin® ne sont pas assez probants pour accepter les effets indésirables potentiellement mortels qu'il entraine. A préciser que le retrait n'est valable que pour son utilisation dans le traitement du cancer du sein, et non pour certains autres cancers pour lesquels il possède également une AMM.

Néanmoins, l'AMM est conservée en France. Malgré tout, l'HAS, dans un avis rendu en Mai 2011, attribue un SMR faible au bevacizumab dans son indication « Traitement de première ligne, chez les patients atteints de cancer du sein métastatique, en association au paclitaxel », au vu de l'augmentation de la survie sans progression qu'elle considère faible et des effets secondaires graves qu'il peut engendrer. Les nombreux effets secondaires rapportés avec l'utilisation du bevacizumab sont un point important de critiques à son égard.

La place de l'Avastin® dans les protocoles thérapeutiques de traitement du cancer du sein est donc source de discordes au sein de la communauté scientifique. En France, il reste utilisé, mais les avis de l'HAS ont entrainé la limitation de son utilisation. Dans le souci de trouver un rapport bénéfice/risque qui soit convenable, les scientifiques ont conclu que l'Avastin® doit être limité à la prise en charge des cancers du sein métastatiques de type HER2 triple négatif. Il y a encore quelques années, ces cancers du sein avaient un très mauvais pronostic, car il n'existait pas de thérapeutique ciblée, pour la simple et bonne raison que ces cancers ne possèdent pas de récepteurs spécifiques. Contrairement aux cancers HER2 positifs pour lesquels on peut utiliser le trastuzumab dirigé contre ces récepteurs HER2, ou aux cancers à récepteurs hormonaux positifs pour lesquels on a recours à l'hormonothérapie, les cancers HER2 triple négatifs ne possèdent pas de récepteurs spécifiques. L'hormonothérapie n'apporte donc aucun intérêt et de plus, les chimiothérapies classiques sont peu efficaces. Les cancers du sein triple négatifs conservaient donc un pronostic très médiocre malgré les anti-cancéreux disponibles sur le marché. C'est dans ce contexte que le bevacizumab a trouvé sa place car les bénéfices apportés dans ces cancers sont plus importants que les

effets indésirables rencontrés, permettant une amélioration majeure de leur pronostic.

A ces diverses contestations, est venu se rajouter plus tard le problème de résistance au bevacizumab. Il a été découvert qu'il existait des voies parallèles alternatives qui permettent de reprendre une activité angiogénique au sein de la tumeur : la voie des chimiokines et de la protéine mTOR. De plus, les scientifiques regrettent l'absence de caractères prédictifs qui permettraient de pouvoir augurer de la réponse au bevacizumab chez les patients, et ainsi éviter une administration inutile et éventuellement à risque.

Pour conclure, force est de constater que l'utilisation de l'Avastin® dans le traitement du cancer du sein fait débat ! Pour synthétiser, malgré des retraits d'AMM dans certains pays, la molécule est toujours autorisée en France en association avec des chimiothérapies classiques dans les indications suivantes :

– traitement de première ligne du cancer du sein métastatique en association avec le paclitaxel,

– en association avec la capécitabine, dans le traitement de première ligne du cancer du sein métastatique, pour lequel un traitement avec d'autres options de chimiothérapie incluant des taxanes ou des anthracyclines n'est pas considéré comme approprié.

L'Avastin® trouve plus particulièrement sa place dans la prise en charge des cancers du sein HER2 triple négatifs. Il n'y a pas de retrait d'AMM attendu en Europe.

La pérennité de l'utilisation de cet anti-VEGF dans le traitement du cancer du sein réside dans le contrôle de ses effets indésirables et leur limitation par le ciblage des populations auxquelles le médicament est administré (caractères prédictifs de réponse) et des types de cancers dans lesquels il est utilisé. Ces deux points rappellent l'importance de l'individualisation de l'administration du bevacizumab. En ce qui concerne les résistances, de nouvelles molécules ont été mises sur le marché pour contrer les voies alternatives de réactivation des processus d'angiogenèse, comme les inhibiteurs des protéines mTOR.

Finalement, l'avenir des thérapies ciblées anti-angiogéniques réside dans le blocage des voies alternatives comme celle du CXCR4/SDF-1 et de la protéine mTOR.

Je terminerai mon propos en avançant que la médecine se doit d'apprendre à associer plusieurs thérapies ciblées entre elles ou avec d'autres agents anti-cancéreux classiques pour pouvoir améliorer les pronostics vitaux des patients et outrepasser les résistances.

Références bibliographiques

Articles

- ✓ Carlhant-Kowalski D., Divanon F., Fumoleau P., Jaubert D., Madeleine-Chambrin I., Paul M. et al. (2012). Référentiels de bon usage hors ghs. Protocoles thérapeutiques hors ghs. Cancers du sein. 6-9 et 23-25, consulté le 7 Février 2014.

- ✓ De Spiegelaere, W., Casteleyn, C., Van den Broeck, W., Plendl, J., Bahramsoltani, M., Simoens, P., Cornillie, P. (2012). Intussusceptive angiogenesis: a biologically relevant form of angiogenesis. *Journal of vascular research*, 49(5), 390-404.

Thèses

- ✓ Boiteux G. Effet de ligands de PPAR sur l'expression de deux marqueurs potentiels de progression des cancers de la vessie : VEGF et A-FABP. Th D Sciences de la vie et de la santé, Université de Franche-Comté, 2008.

- ✓ Brighet A. Strategies d'adressage des nanoparticules à base de dextrane dirigées contre les récepteurs au vegf. Th D Pharm, Université Henri Poincaré - Nancy 1, 2010.

- ✓ Drogat B. Ischémie et angiogenèse tumorale : effets des carences en glucose et en acides aminés sur l'expression du VEGF-A par les cellules tumorales et implication de la réponse UPR (« Unfolded Protein Response »). Th D. Biologie cellulaire et moléculaire, Université Bordeaux I, 2005.

- ✓ Karaa Z. MicroARN et Hypoxie : Etude du contrôle de l'expression de HIF-1α et du VEGF. Th D. Biologie, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2008.

Documents électroniques trouvés sur internet

- ✓ About Avastin: Proposed Mechanism of Action. http://www.avastin-hcp.com/about-avastin/proposed-moa, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Adcn. À propos du cancer du sein. http://www.adcn.fr/cancer-du-sein/a-propos_du-cancer-du-sein, consulté le 1 juin 2014.

- ✓ Ameli. Prévention du cancer du sein. http://www.ameli.fr/professionnels-de-sante/medecins/vous-former-et-vous-informer/prevention-prise-en-charge-par-l-assurance-maladie/prevention-du-cancer-du-sein/epidemiologie-du-cancer-du-sein.php, consulté le 12 Mars 2014.

- ✓ Ananya Mandal M. Épidémiologie de Cancer du Sein. http://www.news-medical.net/health/Breast-Cancer-Epidemiology-(French).aspx; consulté le 1 Juin 2014.

- André T. Les antiangiogéniques dans les cancers colo-rectaux métastatiques. Journal de Chirurgie Viscérale - Vol 144, N° HS3 - novembre 2007 - pp. 12-16. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/132817/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- André T., Chastre E., Kotelevets L., Vaillant JC., Louvet C., Balosso J. et al. Angiogenèse tumorale: physiopathologie, valeur pronostique et perspectives thérapeutiques. La Revue de Médecine Interne - Volume 19, Issue 12, December 1998, Pages 904- 913. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0248866399800630, consulté le 11 Novembre 2012.

- Arizona Oncology Services. Curiethérapie à haut débit. http://www.laradioactivite.com/fr/site/illustration/images/SeinCurietherapie.htm, consulté le 1 Juin 2014.

- Atkins M., Yasothan U. & Kirkpatrick P. FIGURE 1 | Selected signalling pathways and drugs for RCC. Nature Reviews Drug Discovery 8, 535-536 (July 2009). http://www.nature.com/nrd/journal/v8/n7/fig_tab/nrd2924_F1.html, consulté le 1 Juin 2014.

- Bastide A, Karaa Z, Bornes S, Hieblot C, Lacazette E, Prats H et al. An upstream open reading frame within an IRES controls expression of a specific VEGF-A isoform. Nucleic Acids Res. (2008). http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=2367723_gkn093f1&req=4, consulté le 30 Mai 2014.

- Bolton KL, Chenevix- Trench G, Goh C, et al. BRCA1 and BRCA2 Mutations Yield Better Prognosis in Ovarian Cancer Patients. http://www.onclive.com/web-exclusives/BRCA1-and-BRCA2-Mutations-Yield-Better-Prognosis-in-Ovarian-Cancer-Patients, consulté le 1 Juin 2014.

- Bouzid K., Bedairia N., Marty M. Anticorps monoclonaux thérapeutiques en cancérologie. Pathologie Biologie Volume 60, Issue 4, August 2012, Pages 223–228. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811412000892, consulté le 7 Octobre 2013.

- Brenchley PEC., Ralph SA. Et Summers A. Polymorphisme du vegf et rôle en pathologie rénale. Flammarion médecine-sciences — actualités néphrologiques 2002. http://www.soc-nephrologie.org/PDF/enephro/publications/actualites/2002/2002_02.pdf, consulté le 20 Mars 2013.

- Cardiovascular research. Transcriptional regulation of the Vascular Endothelial Growth Factor gene–a concert of activating factors. http://cardiovascres.oxfordjournals.org/content/65/3/564/F1.expansion, consulté le 30 Mai 2014.

- Centre International de Recherche sur le Cancer. OMS. Dernières statistiques mondiales sur le cancer En augmentation à 14,1 millions de nouveaux cas en 2012 : L'augmentation marquée du cancer du sein demande des réponses. http://www.iarc.fr/fr/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_F.pdf, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ Centre Léon Berard. Chirurgie. http://www.centreleonberard.fr/228-Traitements.clb.aspx?language=fr-FR, consulté le 18 Mars 2014.

- ✓ CHU de Québec. Radiothérapie. http://www.centredesmaladiesdusein.ca/traitements/radiotherapie/index.html, consulté le 13 Mars 2014.

- ✓ CHU de Québec. Hormonothérapie. http://www.centredesmaladiesdusein.ca/traitements/hormonotherapie/index.html, consulté le 19 Mars 2014.

- ✓ Communiqué de presse Roche. Avastin associé à des chimiothérapies courantes améliore la survie sans progression lors de cancer du sein avancé déjà traité. Les résultats de l'étude RIBBON 2 montrent le nouveau rôle qu'Avastin pourrait être appelé à jouer en tant que traitement de deuxième ligne du cancer du sein de stade avancé. file:///C:/Users/user/Downloads/med-cor-2009-12-11-f%20(2).pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Cortés J, Caralt M, Delaloge S, Cortes-Funes H, Pierga JY, Pritchard KI et al. Safety of bevacizumab in metastatic breast cancer patients undergoing surgery. Eur J Cancer. 2012 Mar;48(4):475-81. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=22196033%5Buid%5D, consulté le 20 Mars 2014.

- ✓ Corvol P. Bases moléculaires de l'angiogenèse tumorale. Annales de Pathologie Volume 30, numéro 5S1 - pages 32-36 (novembre 2010). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/270680/resultatrecherche/1, consulté le 21 Mars 2013.

- ✓ Corvol P. Médecine expérimentale, Angiogenèse et cancer. http://www.college-de-france.fr/media/pierre-corvol/UPL17128_pcorvolcours0506.pdf, consulté le 24 Septembre 2013.

- ✓ Couffinhal T., Dufourcq P., Daret D. et Duplaà C. Les mécanismes de l'angiogenèse. Applications médicales et thérapeutiques. La revue de médecine interne, Vol 22 - N° 11 - P. 1064-1082 - octobre 2001. http://www.em-consulte.com/article/5885/figures/les-mecanismes-de-l-angiogenese-applications-medic, consulté le 6 Novembre 2012.

- ✓ Delahousse P. Docétaxel et bevacizumab, un mariage réussi. ASCO 2008 American Society of Clinical Oncology - 30 mai au 3 juin 2008 - Chicago, Etats-Unis. http://www.medical-congress.com/article.php?event=50&id=89&type=1, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Drai J., Pignot G., Bessede T., Boulière F., Hammoudi Y., Ferlicot S. et al. Nouvelles stratégies anti-angiogéniques dans la prise en charge du cancer du rein. Progrès en Urologie - Volume 23, Issue 10, September 2013, Pages 841–848. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1166708713000444, consulté le 7 Octobre 2013.

- ✓ Ducray F., Idbaih A. Thérapies moléculaires ciblées et antiangiogéniques dans le traitement des glioblastomes. Neurologie. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/692923/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Edeline J., Vigneau C., Patard JJ., Rioux-Leclercq N. Voies moléculaires dans le cancer du rein : de la biologie aux traitements de demain. Bulletin du Cancer. Volume 97, 5-15, Cancers du rein, Synthèse. http://www.jle.com/e-docs/00/04/57/39/article.phtml?fichier=images.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ EMA. Avastin. http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000582/WC500029260.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ EMA. Afinitor. http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/001038/WC500089454.pdf, consulté le 15 Avril 2014.

- ✓ Fajnkuchen F., Cohen SY. Utilisation des anti-VEGF dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge. Journal Français d'Ophtalmologie - Vol 31, N° 1 - janvier 2008 pp. 94-110. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/138321/resultatrecherche/1, consulté le 19 Mars 2014.

- ✓ FDA. Proposal to withdraw approval for the breast cancer, Indication for Avastin (bevacizumab), decision of the commissioner. http://www.fda.gov/downloads/NewsEvents/Newsroom/UCM280546.pdf, consulté le 26 Mars 2014.

- ✓ Feron JG., Roumieux M., Pocard M., Plouet J. Angiogenèse normale et tumorale. Journal de Chirurgie Viscérale - Vol 144, N° HS3 - novembre 2007 - pp. 3-6. http://www.empremium.com.ezproxy.unrrunn.fr/article/132815/resultatrecherche/1, consulté le 7 Novembre 2012.

- ✓ Fondation Canadienne du cancer du sein. Les types de cancer du sein. http://cbcf.org/fr-fr/central/aboutbreastcancermain/diagnosis/pages/breastcancertypes.aspx, consulté le 13 mars 2014.

- ✓ Fondation Canadienne du cancer du sein. La radiothérapie. http://www.cbcf.org/fr-fr/central/aboutbreastcancermain/treatment/rt/pages/default.aspx, consulté le 19 mars 2014.

- ✓ Fondation Canadienne du cancer du sein. L'hormonothérapie. http://www.cbcf.org/fr-fr/central/aboutbreastcancermain/treatment/hormonetherapy/pages/default.aspx, consulté le 19 mars 2014.

- ✓ Fondation contre le cancer. L'Avastin® perd des plumes ! http://www.cancer.be/nouvelles/avastin-deconseille-cancer-sein, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Garbay C. et Brion JD. Le vaisseau tumoral : une cible de choix... Vers les stratégies thérapeutiques de demain ! http://www.acadpharm.org/dos_public/Ch_GARBAY__JDB__acad_Janv_2012_.pdf, consulté le 24 Septembre 2013.

- ✓ Guillamo JS. Stratégies anti-angiogéniques dans le glioblastome. Revue Neurologique - Volume 167, Issue 10, October 2011, Pages 662–667. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0035378711003080, consulté le 7 Octobre 2013.

- ✓ Guinebretiere JM. Angiogenèse des tumeurs. Mécanismes et déroulement. Journal de Radiologie Volume 85, Issue 9, September 2004, Pages 1375. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0221036304772157, consulté le 11 Novembre 2012.

- ✓ Guinebretière JM. Angiogenèse et tumeurs du sein. L'apport du pathologiste. Gynécologie Obstétrique & Fertilité - Volume 33, Issue 3, March 2005, Pages 140–146. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1297958905000470, consulté le 11 Novembre 2012.

- ✓ Hardy-Bessard AC., Delva R., Pivot X., Espié M., Dalenc F., Coulon Sfairi MH. et al. Tolérance et efficacité du bévacizumab en association aux taxanes en première ligne dans le cancer du sein métastatique : étude ATHENA-France. Bulletin du Cancer. Volume 99, Numéro 6, 609-18, Juin 2012, Article original. http://www.jle.com/e-docs/00/04/78/61/resume.phtml, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ HAS. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique : Cancer du sein. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-02/ald_30_gm_ksein_vd.pdf, consulté le 18 Mars 2014.

- ✓ HAS. Commission de la transparence. Avis 25 Mai 2011. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-08/avastin_-_ct_9954.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ HAS. Synthèse d'avis de la commission de la transparence. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-01/avastin_25-05-2011_synthese_ct9954.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ HAS. Commission de la transparence, AVIS, 13 janvier 2010. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-01/afinitor_-_ct-7009.pdf, consulté le 15 Avril 2014.

- ✓ Heinke J., Patterson C., Moser M. Life is a pattern: vascular assembly within the embryo. [Frontiers in Bioscience E4, 2269-2288, January 1, 2012]. http://www.bioscience.org/2012/v4e/af/541/fulltext.php?bframe=figures.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ InCa. Quelques chiffres sur le cancer du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/quelques-chiffres, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. Les cancers du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/les-maladies-du-sein/les-cancers-du-sein, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. En savoir plus sur les hormones féminines. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/hormonotherapie/hormones-feminines, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. L'examen anatomopathologique. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/le-diagnostic/lexamen-anatomopathologique, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. Les prédispositions génétiques. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/les-facteurs-de-risque/les-predispositions-genetiques, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. Les stades et les grades d'un cancer du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/stades-et-grades, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. Les différents traitements possibles du cancer du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/traitements-possibles, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. La chirurgie des cancers du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/chirurgie, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. La radiothérapie du cancer du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/radiotherapie, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. La chimiothérapie du cancer du sein et ses indications. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/chimiotherapie, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InCa. L'hormonothérapie du cancer du sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/hormonotherapie, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ InfoCancer. L'hormonothérapie. http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/traitements/lhormonotherapie.html, consulté le 1 juin 2014.

- ✓ InfoCancer. Les inhibiteurs du vegf. http://www.arcagy.org/infocancer/traitement-du-cancer/traitements-systemiques/therapies-ciblees/les-inhibiteurs-de-l-angiogenese/les-inhibiteurs-du-vegf.html, consulté le 24 sept 2013.

- ✓ Inserm. Cancer du sein. http://www.inserm.fr/thematiques/cancer/dossiers/cancer-du-sein, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ Inserm. Thérapie ciblée. http://www.inserm.fr/dossiers-d-information/therapie-ciblee, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ Institut Curie. Brigitte Sigal. Des cancers du sein très différents. http://www.cancersdusein.curie.fr/infos-cancers-du-sein/des-cancers-du-sein-tres-differents/des-cancers-du-sein-tres-differents-00756, consulté le 13 mars 2014.

- ✓ Institut Gustave Roussy. Principes généraux de chirurgie du sein et des ganglions axillaires. http://www.gustaveroussy.fr/index.php?p_id=1309, consulté le 18 mars 2014.

- ✓ Institut National du Cancer. Le sein. http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-du-sein/le-sein, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ J. Harper S. & O. Bates D. VEGF-A splicing: the key to anti-angiogenic therapeutics?. Nature Reviews Cancer 8, 880-887 (November 2008). http://www.nature.com/nrc/journal/v8/n11/fig_tab/nrc2505_F1.html, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ J. Mills S., J. Cowin A. and Pritinder. Pericytes, Mesenchymal Stem Cells and the Wound Healing Process. Cells 2013, 2(3), 621-634. http://www.mdpi.com/2073-4409/2/3/621/htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Klein M., Catargi B. Le VEGF en physiologie et pathologie thyroïdienne. Annales d'Endocrinologie
Volume 68, numéro 6 - pages e45-e56 (décembre 2007). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/135215/resultatrecherche/1, consulté le 22 Mars 2013.

- ✓ Korpisalo P. and Ylä-Herttuala S. Stimulation of functional vessel growth by gene therapy. *Integr. Biol.*, 2010,2, 102-112. http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010/ib/b921869f/unauth#!divAbstract, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Laramas M. Les thérapies ciblées anti-angiogéniques en cancérologie. http://granted.ujf-grenoble.fr/biblio/staffEPP/Antiangiogeniques16_06_09.pdf, consulté le 24 Septembre 2013.

- ✓ Léopold JA. Cellules progénitrices endothéliales : implications cliniques et thérapeutiques. Société de néphrologie. http://www.soc-nephrologie.org/PDF/enephro/publications/actualites/2007/2007_01.pdf, consulté le 2 Février 2013.

- ✓ Lièvre A. Les antiangiogéniques. Journal de Chirurgie Viscérale - Vol 144, N° HS3 - novembre 2007 - pp. 7-11. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/132816/resultatrecherche/1, consulté le 7 Octobre 2013.

- ✓ Lièvre A., Landi B., Mitry E., Taïeb J. Les antiangiogéniques en oncologie digestive. Gastroentérologie Clinique et Biologique - Volume 32, numéro 5P1 - pages 504-520 (mai 2008). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/164712/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Ligue contre le cancer. Les effets secondaires lors d'une chimiothérapie. http://www.ligue-cancer.net/article/7727_les-effets-secondaires-lors-d-une-chimiotherapie#.Uzl5Qvl_tUB, consulté le 21 Mars 2014.

- ✓ Linassier C. DPRB 2010 .La néoangiogenèse tumorale. http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Recherche/Cours/CL-Angiog.pdf, consulté le 21 Mars 2013.

- ✓ Lortholary A. Le cancer du sein et les facteurs de risque génétique. Imagerie de la Femme Vol 11, N° 1-2 - juin 2001 - p. 17. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/100784/resultatrecherche/1, consulté le 17 Mars 2014.

- ✓ Maillard L., Peycher P., Fichaux O., Vincentelli-Djeffal D. Apport de la thérapie génique par le VEGF. La Presse Médicale - Vol 29, N° 31 - octobre 2000 - p. 1731. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/91318/resultatrecherche/1, consulté le 25 Mars 2013.

- ✓ Marco S., Tomasini P., Greillier L., Barlesi F. Traitements antiangiogéniques en oncologie thoracique : succès, échecs et perspectives. Revue des Maladies Respiratoires - Volume 28, numéro 10 pages 1216-1229 (décembre 2011). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/678931/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Molnar-Stanciu D., Guimas V., Bensalem A., Thiery-Vuillemin A. Thérapie ciblée et cancer du sein : état de l'art. Pathologie Biologie - Volume 60, numéro 4 - pages 254-263 (août 2012). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/742607/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Neuzillet Y. Les voies anti-angiogéniques du futur. Progrès en urologie (2011) 21, supplément 2, S13-S15. http://www.urofrance.org/fileadmin/documents/data/PU/2011/v21sS2/S1166708711700033/main.pdf, consulté le 2 Avril 2014.

- ✓ Omédit. Réseau OncoNormand. Thésaurus régional harmonisé des protocoles de chimiothérapie
SEIN. http://www.omedit-hautenormandie.fr/Files/sein_version_finale_du_7_mars_2013__1_.pdf, consulté le 10 Avril 2014.

- ✓ OMS. Cancer du sein: prévention et lutte contre la maladie. http://www.who.int/topics/cancer/breastcancer/fr/index1.html, consulté le 23 Février 2014.

- ✓ Penault-Llorca F., Dauplat MH. Les signatures moléculaires des cancers du sein : le point de vue du pathologiste. Revue Francophone des Laboratoires - Volume 2011, Issue 428, January 2011, Pages 43–47. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773035X11708607, consulté le 18 Mars 2014.

- ✓ Pérol M., Arpin D. Bevacizumab et cancer bronchique non à petites cellules : une nouvelle étape ? Revue des Maladies Respiratoires - Vol 26, N° 2 - février 2009 - pp. 125-138. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/203371/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Pierga JY. Le bévacizumab apporte-t-il un avantage aux patientes traitées par du docétaxel et du trastuzumab en situation métastatique HER2+ ? SABCS 2011. http://www.edimark.fr/ejournaux/SABCS/2011/9dec/breves.php, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Positive news for vegf trap in colorectal cancer. http://fightcolorectalcancer.org/positive_news_for_vegf_trap_in_colorectal_cancer/, consulté le 30 mai 2014.

- ✓ Pouessel D., Culine S., Verhoest G., Patard JJ. Antiangiogenèse et cancer du rein. La Presse Médicale
Volume 37, numéro 4P2 - pages 628-633 (avril 2008). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/150644/resultatrecherche/1, consulté le 25 Septembre 2013.

- ✓ Pujol P. Prédispositions familiales aux cancers du sein. Imagerie de la Femme - Vol 14, N° 2 - mai 2004 - pp. 141-144. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/100967/resultatrecherche/1, consulté le 17 Mars 2014.

- ✓ Radiologie Montpellier. PICC line. http://www.radiologie-montpellier.fr/imageriemedicale/picc-line/, consulté le 1 Juin 2014.

- ✓ Ravaud A. Le mécanisme de l'angiogenèse tumorale. Prog Urol, 2007, 144. http://www.urofrance.org/science-et-recherche/base-bibliographique/article/html/le-mecanisme-de-langiogenese-tumorale.html, consulté le 6 Novembre 2012.

- ✓ Ray-Coquard I., Bachelot T., Saba C., Confavreux C., Brantus JF., Rustam F. et al. Traitements anti-VEGF : un emploi universel ? Bulletin du Cancer. Volume 94, 191-6, numéro spécial, juillet 2007 : Angiogenèse, Synthèse. http://www.jle.com/e-docs/00/04/34/32/article.phtml, consulté le 9 Octobre 2013.

- ✓ RCP. Résumé des caractéristiques du produit. http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2006/2006071911567/anx_11567_fr.pdf, consulté le 7 Octobre 2013.

- ✓ RCP. Résumé des caractéristiques du produit Avastin. http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000582/WC500029271.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Regnault M. Cancer du sein : identifier des patientes répondant à l'avastin couplé à une chimiothérapie. Institut curie. http://curie.fr/fr/actualites/cancer-sein-identifier-patientes-repondant-l%e2%80%99avastin-couple-chimiotherapie-004035?prehome=0, consulté le 26 mars 2014.

- ✓ Riesen F. Inhibition de la voie de signalisation mTOR, Une nouvelle stratégie thérapeutique parvient à vaincre la résistance. info@onkologie _ 02 _ 2013. file:///C:/Users/user/Downloads/onko_2-13_SR_Novartis_Afinitor_Fr.pdf, consulté le 15 Avril 2014.

- ✓ Robert J. Les inhibiteurs de tyrosine kinase. Bulletin du Cancer. Volume 98, Numéro 11, 1321-34, Novembre 2011, Synthèse. http://www.jle.com/fr/revues/medecine/bdc/e-docs/00/04/6E/88/article.phtml?fichier=images.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Roche Fiche Info. Cancer du sein : le statut HER2. http://www.roche.fr/content/dam/corporate/roche_fr/doc/fiches_patients/p2-03_01_StatutHER2.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Santé Canada ordonne à Hoffmann-La Roche de retirer de la monographie d'Avastin (bevacizumab) l'indication pour le traitement du cancer du sein métastatique. Santé Canada. http://www.healthycanadians.gc.ca/recall-alert-rappel-avis/hc-sc/2011/13560a-fra.php, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Scoazec J-Y. L'angiogenèse tumorale. Annales de Pathologie - Vol 20, N° 1 - janvier 2000 p. 25. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/88298/resultatrecherche/1, consulté le 7 Novembre 2012.

- ✓ Ségala G. Cancer : les mécanismes biologiques. http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dossiers/d/medecine-cancer-mecanismes-biologiques-1453/page/13/, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Société du cancer du Canada. Stades de cancer du sein. http://www.bcsc.ca/p/124/l/185/t/Soci%C3%A9t%C3%A9-du-cancer-du-sein-du-Canada---Stades-de-cancer-du-sein, consulté le 13 Mars 2014.

- ✓ Société du cancer du sein du Canada. Traitement. http://www.bcsc.ca/p/126/l/186/t/Soci%C3%A9t%C3%A9-du-cancer-du-sein-du-Canada---Traitements, consulté le 13 Mars 2014.

- ✓ Société Canadienne du cancer. Anatomie et physiologie du sein. http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/anatomy-and-physiology/?region=on, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Société Canadienne du cancer. Stades du cancer du sein. http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/pathology-and-staging/staging/?region=on, consulté le 13 Mars 2014.

- ✓ Société Canadienne du Cancer. Maladie de Paget du mamelon. http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/pathology-and-staging/malignant-tumours/paget-disease-of-the-nipple/?region=qc, consulté le 13 Mars 2014.

- ✓ Société Canadienne du cancer. Chirurgie du cancer du sein. http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/treatment/surgery/?region=qc, consulté le 1 Juin 2014.

- ✓ Société de néphrologie. Utilisation des médicaments anti-angiogéniques en oncologie. http://www.soc-nephrologie.org/esociete/groupes/angiogeniques/antiangio2.htm, consulté le 24 Septembre 2013.

- ✓ Structure des artères des veines et des capillaires. http://bio.m2osw.com/gcartable/cardiologie/arterveinetcap.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Tardivon, Malhaire C. Cancer du sein (I). Épidémiologie, facteurs de risque, imagerie. Radiologie et imagerie médicale : Génito-urinaire - Gynéco-obstétricale – Mammaire. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/221872/resultatrecherche/1, consulté le 17 Mars 2014.

- ✓ Taylor M., Geoerger B., Lagodny J., Farace F., Vassal G., Rössler J. Neuroblastome : intérêt des traitements anti-angiogéniques. Archives de pédiatrie - Volume 16, numéro 5 - pages 457-467 (mai 2009). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/210987/resultatrecherche/1, consulté le 7 Octobre 2013.

- ✓ Tobelem G. Angiogenèse physiologique et tumorale. Journal de Chirurgie Viscérale, Vol 144, N° HS5 - décembre 2007, pp. 3-6. http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/132833/resultatrecherche/5, consulté le 7 Novembre 2012.

- ✓ Tobelem G. Les cellules souches vasculaires : une nouvelle étape vers la régénération des vaisseaux. Sang Thrombose Vaisseaux. Volume 13, Numéro 10, 521-8, Décembre 2001, Mini-revues. http://www.jle.com/e-docs/00/03/D3/29/article.phtml?fichier=images.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Trédan O., Grantab R., Dumontet C. L'hypoxie tumorale peut-elle devenir un avantage pour la chimiothérapie ? Bulletin du Cancer. Volume 95, Numéro 5, 528-34, mai 2008, synthèse. http://www.jle.com/e-docs/00/04/3D/3B/article.phtml?fichier=images.htm, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Unicancer. Protocole GRT02 COMET. Etude de cohorte de validation prospective de facteurs prédictifs biologiques et d'imagerie de la réponse au bevacizumab (AVASTIN®) associé à une chimiothérapie par paclitaxel hebdomadaire en 1ère ligne de traitement chez des patients atteints d'un cancer du sein métastatique. file:///C:/Users/user/Downloads/08_GRT%2002-COMET.pdf, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ Unicancer. Cancer du sein : un essai de médecine personnalisée pour identifier les patientes susceptibles de répondre à l'avastin associé à une chimiothérapie. http://www.unicancer.fr/actualites/groupe/cancer-sein-essai-medecine-personnalisee-identifier-patientes-avastin-chimiotherapie, consulté le 25 Mars 2014.

- ✓ VEGF et angiogenèse tumorale. http://www.illustration-medicale.fr/biologie.php?action=afficheFolio&id=42&idGal=3, consulté le 30 Mai 2014.

- ✓ Weber AJ., De Bandt M. Angiogenèse : mécanismes généraux et implications au cours de la polyarthrite rhumatoïde. Revue du rhumatisme - Volume 67, numéro 8 - pages 573-592 (octobre 2000). http://www.em-premium.com.ezproxy.unr-runn.fr/article/4463/resultatrecherche/42, consulté le 22 Mars 2013.

SERMENT DE GALIEN

JE JURE D'HONORER CEUX QUI M'ONT INSTRUIT DANS LES PRÉCEPTES DE MON ART ET DE LEUR TÉMOIGNER MA RECONNAISSANCE EN RESTANT FIDÈLE A LEUR ENSEIGNEMENT.

D'EXERCER DANS L'INTÉRÊT DE LA SANTÉ PUBLIQUE MA PROFESSION AVEC CONSCIENCE ET DE RESPECTER NON SEULEMENT LA LÉGISLATION EN VIGUEUR MAIS AUSSI LES RÈGLES DE L'HONNEUR, DE LA PROBITÉ ET DU DÉSINTÉRESSEMENT.

DE NE JAMAIS OUBLIER MA RESPONSABILITÉ ET MES DEVOIRS ENVERS LE MALADE ET SA DIGNITÉ HUMAINE.

DE NE DÉVOILER À PERSONNE LES SECRETS QUI M'AURAIENT ÉTÉ CONFIÉS OU DONT J'AURAIS EU CONNAISSANCE DANS L'EXERCICE DE MA PROFESSION.

EN AUCUN CAS, JE NE CONSENTIRAI À UTILISER MES CONNAISSANCES ET MON ÉTAT POUR CORROMPRE LES MŒURS ET FAVORISER LES ACTES CRIMINELS.

QUE LES HOMMES M'ACCORDENT LEUR ESTIME SI JE SUIS FIDÈLE A MES PROMESSES.

QUE JE SOIS MÉPRISÉ DE MES CONFRÈRES SI JE MANQUE À MES ENGAGEMENTS.

SAILLARD Mélanie

Traitements anti-angiogéniques dans le cancer du sein : place de l'Avastin®

Th. D. Pharm., Rouen, 2014, 307 p.

RESUME

Dans les années 1970, la découverte de l'importance de l'angiogenèse dans les mécanismes de croissance tumorale et notamment du VEGF, a permis le développement de nouvelles molécules qui sont utilisées dans la prise en charge de différents cancers, y compris le cancer du sein. Parmi celles-ci, le but est toujours le même : bloquer la synthèse et la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins via une action anti-VEGF, ce qui entraine l'arrêt du développement de la tumeur cancéreuse.

Les thérapeutiques utilisées jusqu'à ces dernières années présentent des limites, à savoir de nombreux effets indésirables mais aussi une destruction des cellules saines, ainsi que des difficultés à cibler spécifiquement et à traiter efficacement certains types particuliers de tumeurs mammaires. C'est donc dans ce contexte que les scientifiques ont instauré le bevacizumab (anticorps monoclonal humanisé recombinant anti-VEGF), ou Avastin®, dans les protocoles thérapeutiques. La molécule a fait ses preuves au travers de plusieurs études scientifiques, ce qui lui a valu par la suite l'obtention de son AMM. Cependant, l'utilisation du bevacizumab pour le traitement du cancer du sein fait débat au sein de la communauté scientifique. En effet, plusieurs pays ont retiré son AMM, évoquant des effets indésirables trop importants par rapport aux bénéfices jugés trop restreints. De plus, les scientifiques dénoncent des problèmes de résistances ainsi que l'absence de caractères prédictifs de réponse au bevacizumab.

Aujourd'hui, le bevacizumab est toujours autorisé dans la prise en charge du cancer du sein en France. Selon les experts, la place de l'Avastin® serait limitée aux patientes HER2 triples négatives.

MOTS CLES : angiogenèse - VEGF - cancer du sein - thérapie ciblée - Avastin®

JURY

Président : Mme DUBUS Isabelle, Professeur
Membres : Mr DAOUPHARS Mikaël, Pharmacien hospitalier
Mme SEGUIN Elisabeth, Professeur

DATE DE SOUTENANCE : 2 Juillet 2014