

ETUDE SIGNAL

Etude d'identification de déterminants génétiques de résistance/sensibilité et/ou de toxicité aux traitements en situation adjuvante et de déterminants génétiques prédisposant au cancer du sein.

Version N° 7

31 mai 2018

Approuvée par le CPP de Est II : 28.01.2009

Autorisée par l'Afssaps le : 06.11.2008

Numéro Afssaps : B881131-60

Nombre de patientes HER2+ prévu : 2500

Nombre de patientes HER2- prévu : 6500

Nombre de centres prévu : 150

Durée des inclusions : 3 ans

Durée de suivi : 5 ans

Durée totale de l'essai : 8 ans

RATIONNEL

Bases scientifiques

Les bases génétiques des prédispositions aux cancers ont fait l'objet de très nombreuses études au cours des dernières années. Les gènes de prédisposition peuvent être regroupés en deux grandes catégories :

- Les gènes majeurs de prédisposition au cancer à l'origine des formes héréditaires de cancers. Les porteurs d'une mutation sur l'un de ces gènes ont un risque très élevé de développer un cancer au cours de leur vie.
- Les gènes de susceptibilité. Ils sont *a priori* plus nombreux que les gènes majeurs de prédisposition et leur fréquence de mutation est beaucoup plus élevée dans la population générale.

On estime qu'environ 5 % des cancers du sein sont d'origine génétique alors que les gènes de prédisposition ou de susceptibilité sont encore loin d'être tous identifiés.

Deux gènes majeurs de prédisposition ont été identifiés en 1994 et 1995 : BRCA1 et BRCA2 [1, 2]. Les généticiens estiment que les mutations dans les gènes BRCA1 ou BRCA2 expliquent seulement 20 % des histoires familiales de cancer du sein. Les études à partir des familles à haut risque de cancer du sein semblent montrer qu'il n'existe pas d'autre gène majeur « BRCA3 » de prédisposition au cancer du sein [3].

Récemment, des études de gènes candidats ont mis en évidence de nouveaux gènes de susceptibilité au cancer du sein [4-7]. Les protéines codées par les gènes CHEK2, ATM, BRIP1 et PALB2 interagissent avec celles codées par BRCA1 et BRCA2. Les porteurs des allèles à risque de ces gènes ont un risque moins élevé de développer un cancer du sein que les porteurs de mutation BRCA1 ou BRCA2 : de 2 à 3 fois contre 10 à 20 fois. En revanche, la fréquence des allèles à risque dans la population est plus élevée.

Par ailleurs, plusieurs articles publiés dans des revues de référence en 2007 sont venus compléter la compréhension des bases génétiques du cancer du sein [8-11].

En particulier, sept marqueurs ont été identifiés avec certitude. Cinq d'entre eux sont dans des régions contenant des gènes codant pour une protéine : CASP8 (caspase 8, un gène impliqué dans l'apoptose, la mort cellulaire programmée), FGFR2 (un récepteur d'un facteur de croissance des cellules fibroblastes), TNRC9, MAP3K1 et LSP1. Deux des sept marqueurs de susceptibilité au cancer du sein sont situés sur les bras chromosomiques 8q et 2q, dans des régions ne contenant aucun gène connu codant pour une protéine. Des études complémentaires restent à mener pour comprendre les bases biologiques associées à cette augmentation du risque.

La fréquence de ces allèles à risque est très élevée dans la population générale. En revanche, les risques relatifs de cancer du sein associés au fait d'être porteur d'un de ces allèles à risque sont faibles : ils varient entre 1,07 et 1,26.

Il est probable que de nombreux allèles à risque restent à découvrir pour cerner le risque familial de cancer du sein non expliqué par BRCA1 et BRCA2.

La variabilité interindividuelle de la réponse et de la toxicité aux médicaments peut également s'expliquer par un polymorphisme des gènes codant pour les enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments, ou par un polymorphisme des gènes codant pour des cibles ou co-facteurs liés à l'activité du médicament.

Le trastuzumab est une incontestable avancée thérapeutique. La seule détermination de l'expression HER2 au niveau tumoral ne suffit pas à sélectionner le sous-groupe de patientes qui tirera le meilleur rapport efficacité/toxicité d'un traitement par trastuzumab. Des travaux récents de pharmacogénétique ont mis en évidence pour la première fois un déterminant génétique à la réponse au traitement par trastuzumab de patientes ayant un cancer du sein surexprimant le récepteur HER2 [12]. Il pourrait être intéressant d'identifier d'autres facteurs génétiques prédictifs de la pharmacodynamie du trastuzumab.

Bases méthodologiques

Les avancées technologiques récentes en génomique permettent d'examiner tous les variants génétiques communs dans le génome humain rapidement et à faible coût. Ces avancées ont conduit à la mise en place d'une nouvelle approche de cartographie de gènes impliqués dans des maladies par la technique dite « association pan-génomique » (genome-wide association ou GWA). Cette technique consiste à comparer les fréquences de variants génétiques ou polymorphismes entre un groupe de patients et une population témoin (ou bien, de manière générale, entre des groupes d'individus présentant des caractéristiques différentes). Les facteurs génétiques associés au phénotype étudié sont localisés dans des régions où ces fréquences sont statistiquement différentes entre les deux groupes.

Cette nouvelle approche est beaucoup plus puissante que la recherche classique par gènes candidats, car elle permet d'explorer l'ensemble des gènes dans le génome. Bien que le nombre de variants génétiques communs soit élevé (supérieur à 10 millions), ils peuvent être tous étudiés en caractérisant un nombre beaucoup moins important de ceux-ci car des corrélations existent entre eux. Ainsi, dans une population européenne, une étude d'association pan-génomique peut être réalisée avec succès en caractérisant environ 300 000 variants génétiques de type SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) par échantillon d'ADN. Cette approche a permis de réussir très récemment la mise en évidence de nombreux gènes de susceptibilité aux pathologies complexes multifactorielles les plus courantes [13].

L'INCa a récemment financé un programme majeur pour réaliser les études génétiques dans différents types de cancer dont le cancer du sein.

Ce programme est basé sur l'approche GWA et est réalisé en collaboration avec le Centre National de Génotypage (CNG) et la Fondation Jean Dausset - Centre d'étude du Polymorphisme Humain (CEPH).

Ce programme a déjà apporté une contribution internationale significative à la compréhension de la susceptibilité génétique constitutionnelle au cancer du poumon [14].

Application à l'essai PHARE

L'essai PHARE présente une occasion rare au monde d'étudier, dans une population large de patientes (3 400 inclusions prévues) dont la tumeur surexprime le récepteur HER2+ et ayant un suivi clinique optimal, des facteurs génétiques de prédisposition au cancer du sein. De plus, en étudiant les caractéristiques génétiques de cette population ayant reçu le même type de traitement, il sera possible d'identifier à large échelle des déterminants génétiques de résistance/sensibilité et toxicité. Il n'existe pas à ce jour d'autres cohortes constituées aussi importantes dans ce type de population. Les recherches entreprises dans ce cadre seraient donc pionnières et apporteraient des connaissances nouvelles dans cette classe de

patientes de mauvais pronostic qui représente environ 7 000 nouvelles patientes par an en France.

OBJECTIFS

Cette étude comporte les objectifs suivants :

- identifier des déterminants de résistance ou sensibilité après un traitement adjuvant incluant l'Herceptin® ;
- identifier des déterminants de toxicité cardiaque après un traitement adjuvant incluant l'Herceptin® ;
- identifier des déterminants génétiques prédisposant à différents types du cancer du sein : HER2+, triple négatif, RH+ ;
- identifier des déterminants génétiques prédisposant au cancer du sein.

Ces déterminants génétiques seront recherchés à partir d'un simple prélèvement sanguin (12 ml).

ELIGIBILITE DES PATIENTES

Critères d'inclusion :

1. Femme de plus de 18 ans.
2. Adénocarcinome du sein confirmé histologiquement, non métastatique et opérable.
3. Tumeur HER2+ : toutes les patientes traitées en adjuvant par trastuzumab.
4. Consentement éclairé signé.

Critères de non-inclusion :

1. Utilisation antérieure de traitements par anti-HER2 hors Herceptin®.
2. Patiente ne pouvant se soumettre à un suivi médical pour des raisons géographiques, sociales ou psychologiques.

NB : Les patientes sont éligibles à tout moment du suivi à condition que la date de diagnostic soit postérieure au 1^{er} juin 2006. Les patientes traitées par trastuzumab dans le cadre d'essais thérapeutiques (exemple essai PHARE) sont éligibles dans l'essai SIGNAL.

PLAN D'EXPERIENCE

La recherche de déterminants génétiques de résistance/sensibilité au traitement s'effectuera selon les critères cliniques de récurrence en comparant :

- Dans le groupe de patientes HER2+ les patientes avec et sans récurrence (Tab 1.1).
- Cette recherche de facteurs sera déclinée dans les groupes HER2-/RH- et HER2-/RH+ pour identifier les déterminants génétiques spécifiques de récurrence dans la population HER2+ traitée par trastuzumab (Tab 1.2 et 1.3).

La recherche de déterminants génétiques de prédisposition à une toxicité cardiaque sera faite à partir des études cas-témoins comparant :

- Le groupe HER2- versus témoins sains : recherche de facteurs de susceptibilité non spécifiques de trastuzumab pour la toxicité cardiaque (Tab 2.1 et 2.2).
- Le groupe HER2+ versus HER2- : recherche de facteurs de susceptibilité spécifiques de trastuzumab pour la toxicité cardiaque (Tab 2.3).
- L'analyse des groupes HER2- et HER2+ versus le groupe témoins sains permettra de confirmer la robustesse des résultats. (Tab 2.4).

Le plan d'expérience retenu pour l'identification des déterminants génétiques prédisposant au cancer du sein, est celui d'études cas-témoins comparant les groupes suivants :

- Groupe HER2+, groupe HER2- versus témoins sains : recherche de facteurs de susceptibilité non spécifiques à l'expression du récepteur HER2 (Tab 3.1).
- Groupe HER2+, versus témoins sains : recherche de facteurs de susceptibilité spécifiques à la surexpression du récepteur HER2 (Tab 3.2).
- Groupe HER2-/RH-, versus témoins sains : recherche de facteurs de susceptibilité spécifiques à l'absence de surexpression du récepteur HER2 (Tab 3.3).
- Groupe HER2-/RH+, versus témoins sains : recherche de facteurs de susceptibilité spécifiques à l'absence de surexpression du récepteur HER2 (Tab 3.4).

DEFINITION DES GROUPES

Groupe HER2+

Le groupe HER2+ sera constitué de patientes ayant un cancer du sein, surexprimant le récepteur HER2, traitées par trastuzumab et ayant consenti à participer à cette étude. Les patientes traitées par trastuzumab dans le cadre d'essais thérapeutiques (ex : PHARE) sont éligibles dans l'essai SIGNAL.

Groupe HER2-

Le groupe HER2- sera constitué de patientes ayant un cancer du sein, ne surexprimant pas le récepteur HER2, et ayant consenti à participer à cette étude.

Témoins sains

Lors de la conduite d'une étude génétique, il est fréquent que le recueil de témoins pose problème conduisant soit à un nombre trop faible de témoins recrutés (entraînant un manque

de puissance et donc des faux négatifs), soit un biais de sélection (entraînant une stratification de la population, et donc des faux positifs).

De manière très intéressante, l'accès à de larges cohortes de témoins bien caractérisées génétiquement et géographiquement peut permettre la réalisation d'études génétiques cas/témoins où seuls les cas seraient recrutés. Différentes méthodologies permettant de prendre en compte ce problème ont été développées, parmi lesquelles notamment une approche basée sur l'appariement génétique des cas et des témoins [15] ; néanmoins, une connaissance précise de l'origine géographique des cas reste nécessaire afin de contrôler les biais potentiels.

Les plateformes de géotypage étant de plus en plus standardisées, il devient donc envisageable d'utiliser une seule et même population témoin, déjà géotypée, dans plusieurs études génétiques cas/témoins, réalisées par des groupes de recherche différents, dans différentes parties du monde. De nombreuses sources d'individus témoins, déjà géotypés, deviennent ainsi disponibles de part le monde dont les données pourraient être utilisées dans le cadre de l'étude SIGNAL. De plus, il existe en France plusieurs cohortes de sujets en cours de constitution comportant un grand nombre de femmes, posant des questions de nature épidémiologique similaires à celles que nous posons ici, permettant d'identifier les 4000 témoins sains nécessaires pour cette étude. Des collaborations sont prévues avec les équipes conduisant ces études.

CONDUITE DE L'ETUDE

Les médecins responsables de l'inclusion des patientes dans l'essai clinique SIGNAL proposeront à des patientes atteintes d'un cancer du sein surexprimant et ne surexprimant pas le récepteur HER2, de participer à cette étude génétique. Les patientes qui répondront favorablement à cette demande recevront ensuite toutes les informations concernant cette étude.

Il sera demandé à toutes les patientes susceptibles de participer à cette étude de signer le formulaire de consentement éclairé (annexe 1).

Dans le cadre des bilans de suivi, un prélèvement de 6 ml sur tube EDTA et de 6 ml sur tube ACD sera réalisé. Le prélèvement sanguin peut être réalisé à n'importe quel moment de la participation des patientes à l'étude SIGNAL.

Pour les patientes incluses dans l'essai PHARE, l'étude SIGNAL pourra être présentée lors d'une visite de contrôle et le prélèvement de sang effectué après obtention de leur consentement éclairé signé.

Un questionnaire épidémiologique sera complété par la patiente lors de la première consultation dans le cadre de cet essai (annexe 2).

Un prélèvement tumoral pourra être analysé dans un sous-groupe de patientes pour lesquelles les tumeurs sont disponibles afin de rechercher les gènes de prédisposition identifiés et vérifier leur pertinence au niveau de leur expression tumorale.

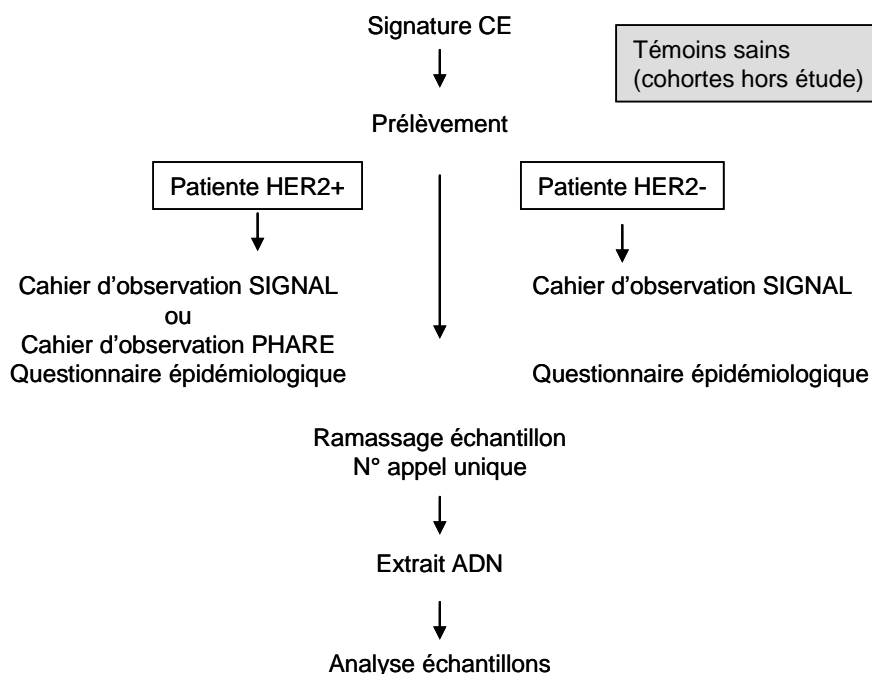
Les tubes de sang prélevés seront dûment identifiés avec une étiquette de type code à barres. Ils seront envoyés au Centre de Ressources Biologiques de la Fondation Jean Dausset-CEPH en suivant les consignes présentées en Annexe 3 ou, éventuellement, à d'autres lieux de recherche autorisés à traiter des échantillons. Chaque prélèvement sera

accompagné de l'original de la Fiche de prélèvement (Annexe 4), qui sera signé par le médecin investigateur certifiant la signature du consentement par la patiente. Les échantillons biologiques anonymes transmis au CEPH ou, éventuellement, dans d'autres lieux de recherche autorisés à traiter des échantillons seront documentés avec les données suivantes concernant le patient : année de naissance, sexe, statut, pathologie.

Le transport de ces échantillons sera organisé de manière à conserver l'intégrité des matériels biologiques en utilisant des conditionnements et moyens de transport conformes à la réglementation internationale de transport par route (ADR) et par avion (IATA).

Dès réception des échantillons au CEPH, le plasma sera aliquoté en tube de 500 µl et congelé à -80°C. L'ADN sera extrait en utilisant des protocoles standardisés sur un automate Autopure 98LS (Qiagen). Le plasma et l'ADN seront stockés au CEPH ou dans d'autres lieux de recherche autorisés à conserver des échantillons, en vue des analyses à effectuer. Une partie aliquote de ces échantillons d'ADN sera envoyée au Centre National de Génotypage (CNG) ou dans d'autres lieux de recherche autorisés à effectuer ce type de recherche et génotypée avec des panels de marqueurs génétiques à haute densité (300 000 marqueurs ou plus) couvrant le génome pour l'analyse génétique pan-génomique. Les génotypes obtenus sur les ADN testés seront transférés dans une base de données de génétique du Cancer maintenue conjointement par le l'INCa, le CNG, le CEPH ou d'autres lieux de recherche autorisés à effectuer ce type de recherche et qui assurent un niveau de protection suffisant des données personnelles. La comparaison entre les fréquences obtenues pour chaque polymorphisme testé sur les populations de cas et de témoins permettra de rechercher des régions associées à la prédisposition au cancer du sein. Des marqueurs génétiques supplémentaires seront analysés en se basant sur les données issues de ces comparaisons ou sur celles obtenues à partir d'autres collections de patientes. Le plasma collecté pourra être analysé pour déterminer le profil d'expression des protéines, seul ou combiné aux facteurs génétiques qui permettent de distinguer certaines patientes des autres patientes et des témoins. L'analyse combinant les marqueurs génétiques, les marqueurs biologiques et les données cliniques sera réalisée conjointement par le CNG, le CEPH ou d'autres lieux de recherche autorisés à effectuer ce type de recherche et les équipes participantes à l'essai clinique PHARE et SIGNAL.

SCHEMA DE L'ETUDE



SUIVI DES PATIENTES

L'inclusion se déroulera au moment de la signature du consentement éclairé pour l'étude SIGNAL.

Les patientes seront suivies pendant 5 ans de la manière suivante :

- examen clinique tous les 6 mois
- CA15-3 tous les 6 mois (optionnel)
- mammographie tous les ans

Les données cliniques issues du suivi de ces patientes seront consignées dans un cahier d'observation spécifique à télécharger sur le site internet de l'Institut National du Cancer (www.e-cancer.fr) lors de l'inclusion de la patiente dans l'essai.

Les patientes incluses dans l'essai PHARE seront suivies selon les modalités prévues dans cet essai (voir le protocole de l'essai PHARE). Les données cliniques issues de ce suivi sont consignées dans les cahiers d'observation de l'essai PHARE.

CONSIDERATIONS STATISTIQUES

Nous souhaitons rechercher ou valider des locus de prédisposition à l'apparition ou à la récurrence d'un cancer du sein. Nous souhaitons également examiner l'influence du polymorphisme génétique sur la survenue de complications cardiaques. Le paragraphe ci-dessous tente d'évaluer la puissance de telles études.

Considérations générales

La puissance est évaluée en faisant l'hypothèse que deux objectifs différents peuvent être recherchés :

- **contexte de validation** : C'est le cas où un locus de prédisposition pour le phénotype étudié a déjà été proposé par une autre étude. Dans ce contexte, une valeur nominale de $p < 0.05$ est alors déclarée comme étant nécessaire pour affirmer la démonstration de la réplication.
- **contexte de découverte** : il s'agit de l'identification d'un nouveau locus par une recherche d'association pan-génomique faisant abstraction de toute hypothèse fonctionnelle. Dans ce cas, une valeur nominale de $p < 10^{-7}$ est actuellement exigée pour affirmer une signification "genome wide" de l'association recherchée. De manière importante, même avec une valeur aussi faible, l'observation devra toujours être confirmée sur une série indépendante de cas et de témoins. Il faut noter que l'obtention de valeurs de $p > 10^{-7}$ n'est pas toujours sans intérêt et pourrait au cas par cas conduire au développement de collaborations en vue de confirmer les associations suggérées.

En résumé, nous présentons l'évaluation de la puissance pour deux seuils de signification très différents : 0.05 et 10^{-7} .

Dans l'évaluation de la puissance, de multiples modèles génétiques différents (dominant, récessif, additif, etc.) peuvent être envisagés. Nous nous limiterons ici au mode d'expression multiplicatif. L'homozygote pour l'allèle protecteur étant pris comme référence, dans un tel mode, un homozygote pour l'allèle à risque a un risque relatif qui est le carré de celui de l'hétérozygote. Le risque relatif de l'hétérozygote est appelé le "per-allele genotype relative risk" (GRR). L'analyse des résultats des GWAS indique que le mode d'expression multiplicatif est le plus souvent une bonne approximation de la réalité. Ici, l'évaluation de la puissance est faite pour quatre valeurs de GRR : 1.15, 1.25, 1.5 ou 2 (les homozygotes à risque ont un GRR de 1.32, 1.56, 2.25 ou 4 respectivement). Les valeurs entre 1.5 ou 2 correspondent à des GRR élevés pouvant révéler des locus ayant rapidement un intérêt médical. L'intervalle de valeurs compris entre 1.15 et 1.25 correspond aux GRR habituellement trouvés pour la prédisposition à des cancers fréquents (y compris le cancer du sein). Les GRR discutés ici sont ceux associés aux marqueurs génotypés et non à ceux associés aux polymorphismes génétiques fonctionnels éventuellement en déséquilibre de liaison imparfait avec eux.

La puissance dépend également de la fréquence de l'allèle à risque dans la population étudiée. Nous rapportons ici la valeur de la puissance pour cinq fréquences : 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 et 0.9 qui couvrent raisonnablement l'intervalle possible.

Les simulations sont faites en supposant que pour chaque recherche d'association, il a été possible d'identifier un groupe de cas et un groupe de témoins et de les appairer de manière telle que les corrections pour une éventuelle stratification entre les groupes n'ont que peu d'impact sur la puissance. Le tableau ci-dessous montre la distribution des groupes utilisés dans l'évaluation présentée.

Les tumeurs lumineales A et B (HER2-/RH+) traitées par chimiothérapie initialement sélectionnées induisaient un biais de sélection. Il apparaît plus pertinent d'avoir un échantillon représentatif de ces tumeurs lumineales A et B non traitées par chimiothérapie. Pour se faire, 2000 patientes supplémentaires seront incluses.

Distribution des différents groupes envisagés pour les études génétiques
(ne sont envisagées que les femmes ayant fourni un prélèvement sanguin)

Recrutement étude SIGNAL

Recrutement hors
étude SIGNAL

9000 femmes atteintes de cancer du sein

Prédisposition	2500 HER2+	1000 HER2-RH-	5500 HER2-RH+	9000 témoins
Traitement	Chimiothérapie comparable			
	+Trastuzumab		+hormonothérapie	
Complications cardiaques	FEV > 90%	1760	897	2691
	FEV < 90%	200(10%)	100(10%)	300(10%)
	défaillance cardiaque	40(2%)	3(0,3%)	9(0,3%)
Récidive	NON	1500	600	2691
	FEV < 90%	500(25%)	400(40%)	300(15%)

Etude de la prédisposition à la survenue de récidive.

Les risques de récidive étant très différents entre les trois groupes de cancers du sein considérés dans cette étude, les recherches d'association sont envisagées séparément.

Tab 1.1 Récidive du cancer du sein HER+

Nb de cas : 500 ; Nb de témoins : 1500 ; fréquence 0.25

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.34	0.66	0.72	0.64	0.33
1.25	0.72	0.97	0.98	0.95	0.65
1.50	0.99	1.00	1.00	1.00	0.93
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	<0.05	0.05	<0.05	<0.05
1.50	0.12	0.90	0.95	0.79	0.08
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.84

Tab 1.2 Récidive du cancer du sein HER-RH-

Nb de cas : 400 ; Nb de témoins : 600 ; fréquence 0.40

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.35	0.66	0.72	0.63	0.32
1.25	0.74	0.97	0.98	0.95	0.63
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97
2.00	Impossible*	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	<0.05	0.05	<0.05	<0.05
1.50	0.20	0.93	0.95	0.75	0.05
2.00	Impossible*	1.00	1.00	1.00	0.7

* les paramètres proposés ne sont pas compatibles.

Tab 1.3 Récidive du cancer du sein HER-RH+

Nb de cas : 450 ; Nb de témoins : 2550 ; fréquence 0.15

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.27	0.55	0.62	0.54	0.28
1.25	0.61	0.92	0.95	0.90	0.57
1.50	0.99	1.00	1.00	1.00	0.95
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	<0.05	0.05	<0.05	<0.05
1.50	0.08	0.80	0.89	0.72	0.10
2.00	0.99	1.00	1.00	1.00	0.81

Etude de la prédisposition à la survenue de complications cardiaques

La fréquence des défaillances cardiaques est augmentée par le traitement au Trastuzumab. Elle reste cependant insuffisante pour garantir de la puissance à une recherche d'association.

La fréquence de la FEV semble comparable dans les trois groupes. Il n'y a pas d'argument suggérant que le traitement hormonal ait une incidence sur les complications cardiaques. On effectue donc l'évaluation de la puissance selon les trois scénarii suivants :

Recherche d'association pour les femmes atteintes d'un cancer du sein et ayant reçu une chimiothérapie (avec ou sans hormonothérapie ; avec ou sans administration de Trastuzumab)

Tab 2.1 Complications cardiaques chez les femmes non traitées par une chimiothérapie

Nb de cas non traités : 2000, suivi 5 ans.

L'incidence attendue de l'insuffisance cardiaque dans le groupe de femmes non traité par chimiothérapie est de 0.3 % par an (16). Sur la période de suivi de 5 ans il devait donc avoir 30 patientes non traitées chez qui une insuffisance cardiaque sévère apparaît. Cette fréquence sera vérifiée afin d'obtenir la meilleure évaluation possible de l'augmentation d'incidence due à la chimiothérapie.

Tab 2.2 Complications cardiaques chez les femmes traitées par une chimiothérapie

(les défaillances cardiaques aiguës sont exclues de l'étude)

Nb de cas : 600 ; Nb de témoins : 5348 ; fréquence 0.1

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.33	0.65	0.72	0.64	0.34
1.25	0.71	0.97	0.98	0.95	0.66
1.50	0.99	1.00	1.00	1.00	0.94
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	0.05	0.11	0.06	<0.05
1.50	0.19	0.95	0.98	0.90	0.21
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97

Tab 2.3 Complications cardiaques chez les femmes traitées par une chimiothérapie mais non exposées au Trastuzumab

(les défaillances cardiaques aiguës sont exclues de l'étude)

Nb de cas : 400 ; Nb de témoins : 3588 ; fréquence 0.1

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.23	0.48	0.55	0.48	0.25
1.25	0.52	0.87	0.91	0.85	0.51
1.50	0.98	1.00	1.00	1.00	0.92
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.50	<0.05	0.62	0.76	0.57	0.07
2.00	0.92	1.00	1.00	1.00	0.71

Tab 2.4 Complications cardiaques chez les femmes traitées par une chimiothérapie et exposées au Trastuzumab

(les défaillances cardiaques aiguës sont exclues de l'étude)

Nb de cas : 200 ; Nb de témoins : 1760 ; fréquence 0.1

Contexte de réplication ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.13	0.27	0.31	0.28	0.16
1.25	0.28	0.58	0.65	0.57	0.30
1.50	0.77	0.98	0.99	0.96	0.68
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.96

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.50	<0.05	0.08	0.16	0.1	<0.05
2.00	0.18	0.94	0.97	0.86	0.21

Etude de la prédisposition génétique à l'apparition de cancer du sein.

Cette étude ne recrutant pas de témoins sains, il est fait l'hypothèse que des collaborations avec d'autres études seront en mesure de fournir un nombre de témoins comparable à celui des cas étudiés. Les témoins seront sélectionnés de manière à minimiser la stratification de population entre les groupes de cas et de témoins et toute stratification résiduelle sera corrigée par des méthodes dérivées de l'analyse en composantes principales. Il est de plus fait l'hypothèse que l'exposition des groupes de cas et de témoins à des facteurs non

généétiques favorisant l'apparition et/ou le diagnostic du cancer du sein est similaire entre les deux groupes.

Tab 3.1 Prédiposition au cancer du sein (tous types)

Nb. de cas : 6000 ; Nb. de témoins : 6000, fréquence 0.1

Contexte de répliation ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.96	1.00	1.00	1.00	0.94
1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.05	0.61	0.75	0.54	<0.05
1.25	0.77	1.00	1.00	1.00	0.56
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Tab 3.2 Prédiposition au cancer du sein HER+

Nb de ca : 2000 ; Nb de témoins : 6000, fréquence 0.025

Contexte de répliation ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.67	0.95	0.98	0.94	0.64
1.25	0.98	1.00	1.00	1.00	0.95
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	0.08	<0.05	<0.05
1.25	0.06	0.69	0.83	0.63	0.06
1.50	0.97	1.00	1.00	1.00	0.87
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Tab 3.3 Prédiposition au cancer du sein HER-RH-

Nb de cas : 1000 ; Nb de témoins : 6000 ; fréquence 0.0125

Contexte de répliation ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.42	0.77	0.83	0.76	0.42
1.25	0.61	0.96	0.98	0.95	0.78
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	0.98
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
1.25	<0.05	0.15	0.26	0.15	<0.05
1.50	0.46	1.00	1.00	0.99	0.38
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Tab 3.4 Prédiposition au cancer du sein HER-RH+

Nb de cas : 3000 ; Nb de témoins : 6000 ; fréquence 0.0375

Contexte de répliation ($p < 0.05$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	0.81	0.99	1.00	0.99	0.77
1.25	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Contexte de découverte ($p < 10^{-7}$)

	Fréquence de l'allèle à risque				
GRR	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9
1.15	<0.05	0.14	0.23	0.13	<0.05
1.25	0.21	0.93	0.98	0.90	0.15
1.50	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97
2.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

Conclusions

Pour une recherche de locus de prédisposition à l'apparition de cancer du sein (quel que soit le type), les puissances sont bonnes sous condition d'un appariement correct des cas avec des témoins. Pour ce phénotype, plusieurs études sont en cours (en particulier en Angleterre et aux USA) et les consortiums impliqués ont déjà publié de multiples locus de prédisposition. L'essai SIGNAL sera certainement donc très utile dans un contexte de réplification. La recherche de locus de prédisposition à l'apparition de sous types spécifiques de cancer du sein est encore peu développée et cette étude pourrait permettre de suggérer de nouveaux locus de prédisposition.

Pour la recherche de gènes favorisant la récurrence ou la survenue de complications cardiaques, la puissance est insuffisante pour identifier par une approche pan génomique des locus ayant des effets faibles ou modérés. La découverte reste possible pour des locus ayant des effets importants ($GRR > 1.5$). Ces locus, s'ils existent, auraient rapidement un intérêt médical majeur. Il semble donc intéressant de les rechercher. D'autre part, pour ces phénotypes, la puissance est généralement bonne dans un contexte de réplification.

ASPECTS ETHIQUES

L'étude est conduite conformément :

- aux principes éthiques de la déclaration d'Helsinki de 1964 révisée à Edimbourg en 2000 ;
- aux Bonnes Pratiques Cliniques de la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH-E6, 17/07/96) ;
- à la loi Huriet (n° 88-1138) du 20 décembre 1988 relative à la Protection des Personnes se prêtant à la Recherche Biomédicale et modifiée par la loi de santé publique (n° 2004-806) du 9 août 2004 ;
- à la loi n° 2004-801 du 6 août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel et modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés ;
- à la loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique.

Le protocole d'étude clinique, la note d'information et le formulaire de recueil du consentement par la patiente, ainsi que les différents amendements ou toute information ou document jugé nécessaire sont soumis par l'Institut à l'avis du CPP de Franche Comté et à l'autorisation de l'autorité compétente, Afssaps.

Le formulaire de consentement (annexe 1) sera daté et signé personnellement par la patiente et l'investigateur ou le médecin qui le représente (original archivé par l'investigateur, le duplicata sera remis à la patiente ou à son représentant légal).

L'INCa, devant assumer l'indemnisation des éventuelles conséquences dommageables de la recherche biomédicale pour la personne qui s'y prête, a souscrit une assurance de recherches biomédicales conformément à la législation en vigueur : contrat n° 126382, auprès de La Société Hospitalière d'Assurances Mutuelles, 18 rue Edouard Rochet – 69372 LYON cedex 08.

PUBLICATION DES RESULTATS

Toutes les informations résultant de cette étude sont considérées comme confidentielles jusqu'à ce que l'analyse statistique de l'essai soit achevée.

La publication principale de l'étude sera faite aux noms des investigateurs ayant le plus contribué à son accomplissement. La liste exhaustive des participants sera citée à la fin de l'article selon les règles suivantes :

1. Les participants au comité de rédaction de l'article.
2. Les participants au comité de pilotage de l'étude.
3. L'équipe opérationnelle ayant coordonné l'étude.
4. La liste de groupes collaborateurs souhaitant apparaître comme tels.
5. La liste complète des investigateurs ayant inclus des patientes dans l'étude.

Ces mêmes règles seront appliquées par défaut pour les communications et publications supplémentaires, qui pourront également être soumises au nom d'un ou plusieurs investigateurs de l'étude, après approbation par le comité de rédaction. Tout litige concernant une publication sera soumis à l'INCa, dont l'avis sera final.

REFERENCES

1. Miki, Y. *et al.* A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994, 266: 66-71.
2. Wooster, R. *et al.* Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995, 378: 789-792.
3. Antoniou, A.C. & Easton, D.F. Models of genetic susceptibility to breast cancer. *Oncogene* 2006, 25: 5898–5905.
4. Rahman, N. *et al.* PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat. Genet.* 2007, 39: 165–167.
5. Meijers-Heijboer, H. *et al.* Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(¹¹⁰⁰delC) in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat. Genet.* 2002, 31: 55–59.
6. Renwick *et al.* ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat. Genet.* 2006, 38: 873–875.
7. Seal, S. *et al.* Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene *BRIP1* are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat. Genet.* 2006, 38: 1239–1241.
8. Easton, DF. *et al.* Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 2007, 447: 1087–1093.
9. Hunter, DJ. *et al.* A genome-wide association study identifies alleles in *FGFR2* associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat. Genet.* 2007, 39: 870–874.
10. Stacey, SN. *et al.* Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nat. Genet.* 2007, 39: 865–869.

11. Cox, A. *et al.* A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat. Genet* 2007. 39: 352–358.
12. Musolino, A. *et al.* Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/*neu*-positive metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008. 26: 1789-1796.
13. McCarthy, M.I. *et al.* Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet.* 2008. 9(5): 356-69.
14. Hung, R.J. *et al.* A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25. *Nature.* 2008. 3. 452(7187):633-7.
15. Luca, D. *et al.* On the use of general control samples for genome-wide association studies: genetic matching highlights causal variants. *Am J Hum Genet* 2008. 82(2): 453-63.
16. Levy D, Kenchaiah A, Larson M, Benjamin E, Kupka M, Ho K, Murabito J, Vasani R. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002. 347(18) 1397-1402

ORGANISATION DE L'ETUDE ANNEXE

Investigateur Coordonnateur	Pr Xavier Pivot Institut Régional du Cancer – Centre Paul Strauss 3 rue de la Porte de l'hôpital BP 30042 – 67065 Strasbourg Cedex Tél. : 03 88 25 24 01 xpivot@strasbourg.unicancer.fr
Equipe promotion	Institut National du Cancer Dr Laetitia Gambotti , Responsable du département de recherche clinique Tél. : 01 41 10 15 12 lgambotti@institutcancer.fr Céline Faure-Mercier , Chef de projets Tél. : 01 41 10 15 97 cfaure@institutcancer.fr
Equipe ressources biologiques	Fondation Jean Dausset-CEPH & Centre National du Génotypage 27 rue Juliette Dodu 75010 Paris Dr Jean-François Deleuze , Directeur scientifique Tél. : 01 53 72 50 42 deleuze@cng.fr
Analyse des échantillons	Fondation Synergie Lyon Cancer Marina Rousseau-Tsangaris Tél. : 04 78 78 28 43 marina.rousseau-tsangaris@lyon.unicancer.fr
Comité de rédaction du protocole	Mark Lathrop, Iris Pauporté, Xavier Pivot, Gilles Thomas.

Annexe 1

NOTE D'INFORMATION DESTINEE A LA PATIENTE SUSCEPTIBLE DE PARTICIPER AU PROTOCOLE DE RECHERCHE BIOMEDICALE

ETUDE SIGNAL : Etude d'identification de déterminants génétiques de résistance/sensibilité et/ou de toxicité aux traitements en situation adjuvante et de déterminants génétiques prédisposant au cancer du sein.

Votre médecin vous propose de participer à une étude mise en place par l'Institut National du Cancer - INCa. Votre participation à cette étude doit être entièrement volontaire. Prenez le temps de lire cette note d'information et discutez-en avec votre médecin et vos proches, si vous le souhaitez. N'hésitez pas à poser des questions à votre médecin si vous voulez plus d'informations. Si vous acceptez de participer, vous demeurerez libre de revenir sur votre accord à tout moment sans avoir à le justifier. Cette décision serait alors sans conséquence sur les relations que vous avez avec votre médecin et avec l'équipe soignante ou sur la qualité des soins que vous êtes en droit d'attendre.

Vous êtes actuellement traitée pour une tumeur du sein. Le cancer du sein est une pathologie qui concerne environ 10% des femmes au cours de leur vie. Dans la plupart des cas, le mécanisme d'apparition est inconnu.

L'étude portera sur au moins 6000 femmes. Nos objectifs sont de rechercher des facteurs susceptibles de jouer un rôle important dans la survenue du cancer du sein, des facteurs qui déterminent leurs caractéristiques et des facteurs qui orientent la réponse aux traitements. À terme, ces études ont pour objectifs d'identifier les personnes présentant un risque élevé de développer un cancer du sein et de leur proposer une surveillance particulière et attentive afin de reconnaître précocement un éventuel cancer à un moment où il est potentiellement curable dans les meilleures conditions ou de proposer des mesures de prévention.

Un autre objectif de l'étude est de comprendre pourquoi certaines tumeurs peuvent être traitées par trastuzumab (Herceptin®) et d'autres pas. Ce traitement repose sur les caractéristiques de votre tumeur. Vous avez reçu ou vous recevrez ce produit uniquement si celle-ci présente une caractéristique appelée récepteur HER2+ qui est due à une modification de votre matériel génétique. Les analyses consisteront à rechercher des variations génétiques présentes plus souvent chez les personnes atteintes de cancer du sein pouvant recevoir ce traitement par rapport aux autres. Cette recherche permettra aussi d'étudier l'existence de liens entre certaines caractéristiques génétiques et les effets de ce traitement médicamenteux.

Votre participation à cette étude consisterait :

- à remplir un questionnaire épidémiologique sur votre mode de vie, vos antécédents gynécologiques et obstétriques, vos antécédents médicaux, votre appartenance à un groupe de population, etc.
- à faire un prélèvement sanguin de 12 ml pour les analyses génétiques. Le prélèvement pourra être réalisé selon votre convenance (aucune nécessité d'être à jeun), si possible au moment d'un bilan sanguin de contrôle.
- à nous autoriser à accéder au prélèvement tumoral afin d'y prélever un échantillon qui sera utilisé dans le cadre d'études d'identification des gènes de prédisposition recherchés.

Votre échantillon sanguin, étiqueté de manière anonyme, sera envoyé à la Fondation Jean Dausset-CEPH (Centre d'Etude du Polymorphisme Humain), ou, éventuellement, dans

d'autres lieux de recherche autorisés à traiter des échantillons où il fera l'objet d'une préparation afin de permettre la conservation des acides nucléiques qui contiennent votre patrimoine génétique (ADN). Cet extrait sera identifié par un numéro de code garantissant sa confidentialité. L'ensemble des échantillons sera étudié au Centre National de Génotypage (CNG) ou dans d'autres lieux de recherche autorisés à effectuer ce type de recherche en vue de rechercher leurs caractéristiques génétiques liées au développement de la maladie. Les analyses seront réalisées dans des lieux autorisés de recherche en France ou à l'étranger dans des pays qui assurent un niveau de protection suffisant des données personnelles. La conservation de ce matériel biologique sera placée sous la responsabilité des directeurs de ces laboratoires.

Vos échantillons seront conservés en vue des recherches génétiques prévues dans le protocole de cette étude. En acceptant de participer à cette étude biologique, vous consentez aussi à l'utilisation future de ces échantillons pour tout ce qui concerne l'objectif de l'étude.

Les échantillons biologiques recueillis seront exclusivement utilisés pour la recherche. Tout échantillon non utilisé dans l'immédiat restera stocké à des fins d'utilisation future pour aider les chercheurs à progresser dans leur connaissance des relations entre l'environnement, des modifications génétiques et la santé. Les résultats issus de la recherche ne peuvent être utilisés comme tests cliniques dans le cadre de votre traitement médical.

Tous les frais postaux, de prélèvements et de transport des échantillons sanguins ainsi que d'éventuels frais annexes seront pris en charge par le Centre Coordonnateur de l'étude.

Au moment du prélèvement sanguin, il est possible que vous éprouviez une douleur légère ou qu'un bleu apparaisse sur votre bras à l'endroit du prélèvement. De même, mais peu probablement, un gonflement ou un saignement peuvent se produire à cet endroit. Vous pouvez ressentir une gêne liée à l'utilisation d'une aiguille. En cas de malaise physique, vous recevrez un traitement médical immédiat de la part du personnel hospitalier.

Si vous participez à l'essai, votre médecin vous demandera de venir en consultation au moins tous les six mois pendant toute la durée de cette étude, 5 ans, afin d'assurer au mieux votre surveillance. Un examen clinique sera réalisé à chaque consultation. Une mammographie annuelle sera également effectuée. Ce suivi correspond à celui que vous auriez eu si vous ne participiez pas à l'essai. Il n'y a pas de contraintes particulières liées à l'essai.

S'agissant d'une recherche, il n'y aura pas de bénéfice direct pour vous, mais les résultats pourront bénéficier aux générations futures. Cette étude pourra prendre plusieurs années. Le promoteur de cet essai, qui en assure la gestion et la responsabilité, est l'Institut National du Cancer (INCa) situé au 52 avenue André Morizet, 92513 Boulogne-Billancourt.

L'INCa a pris toutes les dispositions prévues par la loi relative à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales, loi Huriet (n° 88-1138) du 20 décembre 1988 modifiée par la loi de santé publique (n° 2004-806) du 9 août 2004. L'INCa, devant assumer l'indemnisation des éventuelles conséquences dommageables de la recherche biomédicale pour la personne qui s'y prête, a souscrit une assurance de recherches biomédicales conformément à la législation en vigueur : contrat n° 126382, auprès de La Société Hospitalière d'Assurances Mutuelles, 18 rue Edouard Rochet – 69372 LYON cedex 08. Lorsque la responsabilité du promoteur n'est pas engagée, les participants peuvent être indemnisés auprès de l'ONIAM (Office National d'Indemnisation des Accidents Médicaux, 36, Avenue du Général de Gaulle, 93175 BAGNOLET Cedex, N° Vert : 0800 779 887).

Les modalités de ce protocole ont été soumises à autorisation de deux instances, lesquelles ont pour mission de vérifier la pertinence scientifique de l'essai, les conditions requises pour votre protection et le respect de vos droits :

- L'Autorité Compétente (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé - Afssaps) a autorisé cet essai le 6 novembre 2008 sous le n° B881131-60.

- Le Comité de Protection des Personnes (CPP) EST II a rendu un avis délibératif favorable le 27 avril 2009.

Ce protocole a été relu par les représentants du Comité des Malades, Proches et Usagers de l'INCa.

Votre dossier médical restera confidentiel et ne pourra être consulté que sous la responsabilité du médecin s'occupant de votre traitement, par les autorités de santé et par des personnes dûment mandatées par le promoteur de l'essai et soumises au secret professionnel. Votre médecin prendra toutes les précautions nécessaires pour préserver votre anonymat. Les seules personnes habilitées à connaître votre identité et à vous contacter sont les membres de l'équipe soignante. Les seules données qu'ils transmettront aux chercheurs et à l'INCa seront de caractère médical ainsi que les questionnaires que vous aurez remplis.

Les données médicales à caractère personnel recueillies dans le cadre de cet essai clinique feront l'objet d'un traitement automatisé garantissant l'anonymat, conformément à la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, modifiée par la loi n° 2004-801 du 6 août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel (Loi Informatique et libertés).

A cette fin, les données médicales vous concernant et les données relatives à vos habitudes de vie, ainsi que, dans la mesure où ces données sont nécessaires à la recherche, vos origines ethniques que vous aurez renseignées dans le questionnaire épidémiologique seront transmises à l'Institut National du Cancer ou à des chercheurs agissant pour son compte. Ces données seront identifiées par un numéro de code et/ou vos initiales. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées.

Conformément à la loi "Informatique et Libertés", vous disposez d'un droit d'accès et de rectification relatifs aux données personnelles vous concernant, que vous pouvez exercer à tout moment, soit auprès de l'INCa, soit par l'intermédiaire du Docteur _____ ou auprès de tout médecin de votre choix désigné par vous à cet effet.

De plus, selon les dispositions de la loi n° 2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades, vous serez informée, à votre demande et par l'investigateur, des résultats globaux de l'essai. Vous pouvez avoir accès à des informations sur l'essai en consultant le site internet de l'INCa (www.e-cancer.fr).

Les prélèvements effectués et inutilisés dans le cadre de cette étude peuvent être conservés, en principe indéfiniment et gardés dans le respect de la confidentialité, afin de constituer une collection d'échantillons biologiques, au sein du CEPH ou d'autres lieux autorisés à conserver ce type d'échantillon.

Vous avez le droit de refuser que les prélèvements collectés soient conservés et vous pouvez demander la destruction de ces échantillons à tout moment. La conservation et l'utilisation ultérieure des échantillons prélevés pour cette étude sont possibles pour d'autres études biomédicales de génétique. Vous avez le droit de vous y opposer dans le formulaire de consentement. Pour toute question, vous pouvez-vous adresser aux personnes suivantes :

Vos contacts dans l'étude (titre, nom, prénom, adresse et téléphone):
Coordonnées du médecin investigateur de l'étude

FORMULAIRE DU RECUEIL DU CONSENTEMENT ECLAIRE

Titre de l'étude clinique : Etude d'identification de déterminants génétiques de résistance/sensibilité et/ou de toxicité aux traitements en situation adjuvante et de déterminants génétiques prédisposant au cancer du sein.

Je soussignée,

Nom :

Prénom :

Certifie avoir pris connaissance de la note d'information (pages 1 à 3) m'expliquant le protocole de recherche mentionné ci-dessus et concernant les objectifs de la recherche clinique, ses conditions, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques liés à la participation à cet essai. J'ai pu poser toutes les questions que je voulais, j'ai reçu des réponses adaptées et j'ai pu disposer d'un temps de réflexion suffisant entre l'information et ma décision de participer à cet essai.

J'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche biomédicale, dans les conditions précisées dans la note d'information et autorise à cette fin les professionnels de santé agissant dans le cadre de cette étude à échanger les informations me concernant dans le respect du secret professionnel et médical.

J'accepte que les données médicales enregistrées à l'occasion de cette recherche comportant des données génétiques puissent faire l'objet d'un traitement informatisé conformément à la loi.

J'ai pris connaissance de mon droit d'accès et de rectification dont je bénéficie concernant les informations personnelles me concernant, lequel s'exerce soit auprès de l'Institut National du Cancer, soit par l'intermédiaire du Dr _____ ou d'un médecin de mon choix désigné à cet effet, et de mon droit de m'opposer au traitement automatisé des données personnelles me concernant.

J'autorise l'utilisation des prélèvements à des fins de recherche dans le cadre de cette étude. OUI NON

J'autorise l'utilisation de prélèvements congelés dans le cadre de cette recherche pour des recherches ultérieures ayant le même objectif. OUI NON

J'ai bien noté que je serai libre à tout moment d'arrêter ma participation, sans avoir à me justifier et sans supporter aucune responsabilité, et que je dispose du droit de faire détruire les prélèvements congelés.

J'en informerai par écrit le Dr _____.

Le fait de ne plus participer à cette étude ne portera pas atteinte aux relations avec mon médecin et à la qualité des soins que je suis en droit d'attendre.

Mon consentement ne décharge en rien les organisateurs de leurs responsabilités. Je conserve tous mes droits garantis par la loi.

Partie à remplir par la patiente	Partie à remplir par le médecin investigateur
Nom et prénom de la patiente :	Nom et prénom du médecin :
Signature :	Signature :
Date :	Date :

HISTOIRE PERSONNELLE MEDICALE

► **Avez-vous eu les maladies du sein suivantes ayant été confirmées d'une biopsie (premier diagnostic) ?**

Kyste du sein	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>	Age _ _
Maladie Fibro-kystique	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>	Age _ _
Abcès du sein	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>	Age _ _
Mastose	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>	Age _ _
Microcalcifications	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>	Age _ _

► **Avez-vous eu un autre cancer ou d'autres cancers ?**

OUI NON

► Si oui, Age |_|_| endroit

Age |_|_| endroit

Age |_|_| endroit

► **Avez-vous pris des médicaments pendant longtemps (un an ou plus) pour le traitement d'une maladie (hors cancer du sein) ?** NON OUI (préciser)

Nom du médicament	Pour quelle maladie	Age au début	Durée du traitement (mois)
.....	_ _ ans	_ _
.....	_ _ ans	_ _
.....	_ _ ans	_ _
.....	_ _ ans	_ _
.....	_ _ ans	_ _

ANTECEDENTS FAMILIAUX

► Listez vos proches pour lesquels un diagnostic de **cancer du sein ou ovaire** a été établi :

Proche	Nombre	Age du diagnostic	Sein	Ovaire
Mère		_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sœurs	_	_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grand-mère paternelle		_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Grand-mère maternelle		_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tante paternelle	_	_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tante maternelle	_	_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Filles	_	_ _	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

► Listez vos proches pour lesquels un diagnostic **d'un autre cancer** que celui du sein ou de l'ovaire a été établi : Père – Mère – Frères – Sœurs – Fils – Filles (ne pas faire état de proches adoptés)

Proche	Age du diagnostic	Type Cancer	Est elle (il) fumeur? O/N
	_ _		<input type="checkbox"/>
	_ _		<input type="checkbox"/>

EXPOSITION AU TABAC ET CONSOMMATION D'ALCOOL

- **Fumez-vous actuellement ou avez-vous fumé dans le passé ?** OUI NON
(au moins une cigarette par jour en moyenne)
- **Combien fum(i)ez-vous de cigarettes par jour ?**
1-4 5-14 15-24 25-34 35 et plus Ne
sais pas
- **Aval(i)ez-vous la fumée ?** OUI NON
- **A quel âge avez-vous commencé à fumer régulièrement ?**
15 ans ou - 16-25 26-35 36 et plus
- **Fumez-vous encore ?**
OUI
NON j'ai arrêté depuis 6 ans et - 6-10 11-15 16 ans et +
- **Dans une journée de 24 h, combien d'heures vivez-vous dans une pièce où vous ou d'autres personnes fument ?**
En semaine 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 et +
En week-end 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 et +
- **Quelle a été votre consommation d'alcool au cours de votre vie ?**
Pour chaque période de votre vie, cochez la case correspondant au nombre de verres d'alcool consommés par semaine. On se base sur un verre classique de type duralex. Une canette équivaut à 2 verres.

- Votre consommation de cidre, bière, vin, vin cuit, etc.

Période	Nombre de verres par semaine				
	0	Moins de 1	1 à 5	6 à 10	Plus de 10
Avant l'âge de 15 ans	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16-25	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26-35	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36-45	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
46-55	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
56-65	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Après 65 ans	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Votre consommation d'alcools forts type whisky, vodka, pastis, digestif, etc.

Période	Nombre de verres par semaine				
	0	Moins de 1	1 à 5	6 à 10	Plus de 10
Avant l'âge de 15 ans	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16-25	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26-35	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36-45	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
46-55	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
56-65	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Après 65 ans	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

EXPOSITIONS AUX IRRADIATIONS

- **Avez-vous exercé ou exercez-vous actuellement une profession où des rayons X ou des éléments radioactifs étaient ou sont utilisés ?**

OUI NON

- Si oui :

Pendant combien d'années ? |_|_|

A partir de quel âge |_|_| ans

Portez-vous ou avez-vous porté un badge (dosimètre individuel) ? OUI NON

- **Avez-vous déjà été soignée par des rayons pour une maladie bénigne** (angiomes, etc.) ?

Merci de répondre pour la période avant votre cancer.

OUI NON

Si oui, précisez :

A quel âge ?

Pour quelle raison ?

	OUI	NON		
Tête (cerveau, maxillaires, végétations, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Cou (thyroïde, pharynx, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Poumon droit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Poumon gauche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Sein droit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Sein gauche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Ovaire droit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Ovaire gauche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Utérus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Peau	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Autres (préciser)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans

- **Avez-vous déjà été soignée par des rayons pour une maladie maligne ?**

Merci de répondre pour la période avant votre cancer.

OUI NON

Si oui, précisez :

A quel âge ?

Pour quelle raison ?

	OUI	NON		
Tête (cerveau, maxillaires, végétations, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Cou (thyroïde, pharynx, etc.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Poumon droit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Poumon gauche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Ovaire droit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Ovaire gauche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Utérus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Peau	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans
Autres (préciser)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_ _ ans

Annexe 3

Consignes de prélèvement et ramassage

Pour toute question concernant la préparation des échantillons et le transfert contacter le CEPH à l'adresse suivante: crb@cephb.fr

Fondation Jean Dausset-CEPH
Centre de Ressources Biologiques
27 rue Juliette Dodu
75010 PARIS

RECEPTION DU LUNDI AU VENDREDI 15H00.

Chère Madame, Cher Monsieur,

Vous trouverez ci-dessous des consignes relatives à l'étude pharmacogénétique SIGNAL. Dans tous les cas, n'hésitez pas à nous contacter soit au siège de l'Institut National du Cancer au 01.41.10.15.97 ou 14.86, soit à la Fondation Jean Dausset-CEPH au 01.53.72.50.42.

Protocole de prélèvement

- Pour chaque participant un kit de prélèvement vous a été transmis. Chaque kit contient deux tubes Vacutainer pré-étiquetés avec un code à barre spécifique, une étiquette comportant un numéro de patient, le document d'accompagnement du prélèvement, l'emballage et le bordereau de transport nécessaires à l'envoi.
- Pour chaque participant, **deux tubes** de sang contenant chacun environ **6 ml** de sang seront prélevés.
- Les prélèvements seront réalisés dans des tubes **fournis** avec comme anti-coagulant pour l'un de l'**EDTA** pour permettre l'extraction d'ADN et pour l'autre de l'**ACD** pour permettre l'isolement de lymphocytes en vue d'une immortalisation ultérieure. Les tubes de sang seront homogénéisés par retournements successifs.
- Les tubes seront toujours conservés à **température ambiante**.
- L'étiquette portant le numéro de patient est à conserver par le médecin investigateur dans le dossier du participant.

* *Prélèvements à faire du lundi au jeudi jusqu'à 15h00.*

Procédure d'envoi des échantillons

1. Les échantillons seront envoyés le jour du prélèvement par transporteur express (TNT) de préférence du lundi au jeudi. La personne en charge du prélèvement contactera **TNT** par téléphone **au : 0 825 033 033** avant 15 h pour tout enlèvement le jour même en précisant l'adresse précise d'enlèvement (service, étage, pièce...). TNT prendra en charge les paquets entre 15h et 19h le même jour.
2. Chaque tube sera emballé dans une feuille absorbante puis dans du papier à bulle.
3. Les deux tubes seront placés dans la pochette en plastique souple de petite taille type EXAKT-PAK BIOHAZARD qui sera fermée hermétiquement.
4. La pochette en plastique contenant les tubes sera placée dans le sachet EXAKT-PAK BIOHAZARD résistant à 95 KPa (Specimen Transport Bag) fermé hermétiquement.
5. Le sachet type Specimen Transport Bag sera placé dans l'emballage en carton EXAKT-PAK (Biological Substance Category B).
6. La fiche d'accompagnement du prélèvement **remplie** (date de prélèvement et d'envoi, **numéro de patient dans l'étude Signal ou Phare**, prélèvement réalisé ou non à jeun, identification du centre préleveur) et **signée par le médecin** intégrant le volontaire dans l'étude sera placée dans la boîte. Le document sera ensuite **faxé à l'INCa au 01 41 10 72 41** puis placé dans la boîte d'envoi.
7. Sur le carton seront mentionnées les **coordonnées de l'expéditeur** (nom, nom du centre, adresse et téléphone)
8. Le carton sera mis dans un sachet en plastique transparent de grande taille fermé. Les coordonnées de l'expéditeur et du destinataire (Fondation **Jean Dausset-CEPH**) ainsi que le marquage UN 3373 BIOLOGICAL SUBSTANCE CATEGORY B doivent rester parfaitement visibles.

Sur chaque emballage sera collé le bon de transport pré-imprimé qui mentionne les coordonnées de la Fondation Jean Dausset-CEPH.

*Dans le cas particulier où un tube comportant une étiquette code à barres ne pourrait être utilisé, un autre tube en plastique contenant les mêmes anti-coagulants, EDTA ou ACD, pourra être employé. Il sera dans ce cas étiqueté **manuellement** en indiquant le **numéro de patient** mentionné sur l'étiquette du tube inutilisable ainsi que sur la fiche d'accompagnement.*

Annexe 4

FICHE D'ACCOMPAGNEMENT DE PRÉLÈVEMENT

Fiche à faxer à l'INCa au 01.41.10.72.41 avant l'envoi au CEPH

<i>Cadre réservé au service de réception et traitement des échantillons</i>	
DATE DE RÉCEPTION : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Heure : <input type="text"/> H <input type="text"/> min
IDENTIFICATION DU SUJET	
Code identifiant anonyme :	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/> 00001 10
IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS	
0000101 EO	0000102 FO

Cadre réservé au centre préleveur : remplir ou cocher les rubriques nécessaires

PRELEVEMENT			
Date de prélèvement : <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		Heure : <input type="text"/> H <input type="text"/> min	
Individu à jeun : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non			
Type de prélèvement	Nombre de tubes	Volume total	Numéro patiente Signal ou Phare
<input type="checkbox"/> sang sur EDTA	1	6 ml	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
<input type="checkbox"/> sang sur ACD	1	6 ml	
ENVOI			
Document accompagnant le prélèvement		Date: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
<input checked="" type="checkbox"/> fiche d'accompagnement de prélèvement		Modalités d'acheminement <input checked="" type="checkbox"/> TNT	
IDENTIFICATION DU CENTRE PRÉLEVEUR			
Équipe / Centre :			
<i>Cadre réservé au médecin intégrant le patient dans l'étude</i>			
Je déclare avoir reçu le consentement éclairé du donneur.			
Prénom, Nom :			
Signature :			